Original Article

Paramedical Sciences and Military Health

Volume 18, Number 1, 2023

Analyzing the Fractal Spectrum Behavior of Human Umbilical Vein Endothelial Cells in Response to Ionizing Photon Beams for Two Modalities of Single Irradiation and Fractionation Radiotherap

Alireza Mohammadkarim[1]

[1]*Department of Radiology, Faculty of Paramedicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

Abstract

Introduction: Previous studies have illustrated that each physiological change in blood supply following the ionizing beam irradiation is caused by damaging the inner wall of vessels, which is attributed to changes in the cytoskeleton in the endothelium layer. The aim of this study is to investigate the effect of radiotherapy on the fractal dimension parameter of endothelial cells as a biomarker of the cytoskeleton following the single irradiation and fractionation radiotherapy.

Methods and Materials: In this study, human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) were irradiated by the doses of 0, 2, 4 and 8 Gy by using cobalt-60 therapeutics machine in two situations of single continuous irradiation and fractionation radiotherapy. The cytoskeleton of each group was separately stained within 24 hours after irradiation. Then, the fractal dimension spectrum was performed for each radiation-induced group by processing the confocal microscopy images with the related command in the ImageJ software package.

Results: The results showed that the fractal dimension parameter of endothelial cells is significantly changed following the external radiotherapy in two modes of single and fractionation irradiation modalities. Moreover, the reduction of this parameter for the fractionation radiation treatments is statistically higher than that following the continuous irradiation for the same radiation dose.

Discussion and Conclusion: Assessing the fractal dimension can be considered as a reliable secondary index for the prognosis of the response of human umbilical vein endothelial cells to radiotherapy with two procedures of single and fractionation modalities.

Key words: Radiotherapy, Endothelial Cells, Confocal Imaging, Fractal Dimension, Cytoskeleton

***(Corresponding Author) Alireza Mohammadkarim**, Department of Radiology, Faculty of Paramedicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

E-mail: Mohammadkarim.medphys@gmail.com

مجله علوم پیراپزشکی و بهداشت نظامی
سال هجدهم، شماره یکم، ۱۴۰۲

مقاله تحقیقاتی

تحلیل رفتار طیف فرکتال سلول‌های اندوتلیال ورید بند ناف انسانی در پاسخ به پرتوهای فوتونی یونیزان برای دو حالت تابش دهی یک باره و پرتودرمانی تقطیعی

علیرضا محمدکریم[۱]

[۱] گروه رادیولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران

چکیده

مقدمه: مطالعات گذشـــته نشـــان داده که هر گونه تغییر فیزیولوژیکی در خون‌رسانی در تابش پرتوهای فوتونی یونیزان ناشی از ایجاد آســـیب در دیواره داخلی عروق می‌باشد و این امر به تغییر اسکلت سلولی در لایه اندوتلیوم نسبت داده می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر پرتودرمانی بر پارامتر بعد فرکتال سلول‌های اندوتلیال به عنوان یک شاخص بیولوژیکی اسکلت سلولی پس از تابش دهی یک باره و پرتودرمانی تقطیعی می باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه سلول‌های اندوتلیال ورید بند ناف انسانی (HUVECs) تحت تابش دهی دوزهای ۰، ۲، ٤ و ۸ گری با استفاده از ماشین درمانی کبالت-٦۰ در دو حالت تابش دهی یک باره و تقطیع تابش قرار گرفتند. طی مدت ٢٤ ساعت بعد از تابش دهی، ساختار اسکلتی هر گروه به تفکیک رنگ آمیزی گردید. در ادامه با پردازش تصاویر استخراج شده از میکروسکوپ کانفوکال با استفاده از دستور مربوطه در بسته نرم افزاری ImageJ، آنالیز طیف فرکتال برای هر گروه تابشی انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان دادند که در پی پرتودرمانی خارجی در دو حالت تابش دهی یک باره و تقطیع تابش، پارامتر بعد فرکتال سلول‌های اندوتلیال به صورت معناداری تغییر می‌یابد. از طرفی، کاهش این پارامتر برای گروه پرتودرمانی تقطیعی در مقایســـه با تابش یک‌باره پرتو به جای دوز پرتویی مشابه به لحاظ آماری بیشتر می‌باشد.

بحث و نتیجه گیری: تحلیل طیف فرکتال می‌تواند به یک شـــاخص کمکی قابل اعتماد در پیش بینی پاسخ سلول‌های اندوتلیال ورید بند ناف انسانی به پرتودرمانی با دو روش تابش یک‌باره و تقطیع تابش دهی مورد بررسی قرار گیرد.

کلمات کلیدی: پرتودرمانی، سلول‌های اندوتلیال، تصویربرداری کانفوکال، بعد فرکتال، اسکلت سلول

مقدمه

امروزه بررســـی رفتار ریخت شناسی سلول‌ها به عنوان شاخص قابل اعتمادی در بررســـی روندهای درمانی شـــناخته شده است (۱). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که اعمال هر درمان خارجی به سلول‌ها منجر به ایجاد تغییر معنادار در عملکرد آن‌ها می‌شود و تغییرات معناداری را در پارامترهای اسکلت سلولی ایجاد می‌کند (٤-۲). یکی از پارامترهای شـــناخته شده که در بررسی اسکلت ســـلولی مجموعه‌ای از ســـلول‌ها مورد ارزیابی قرار می‌گیرد و فرکتال که با پردازش تصاویر اسکلت سلولی یک مجموعه سلول همســـان در کنار هم حاصل می‌گردد، این بیان کننده هم ترازی و نظم پیکر بندی اســـتقرار آن‌ها در کنار یکدیگر می‌باشد. تعیین میزان کمی این پارامتر به کمک آنالیز طیف فرکتال انجام می‌شود و مقـــدار آن همواره مابین ۱ و ۲ اســـت. هر مقدار این کمیت به عدد ۱ نزدیک تر باشد، ساختار قرارگیری سلول‌ها در تصویر به ســـمت نظم بیش‌تر و خط مستقیم تمایل می‌یابد و هر چه این به عدد ۲ میل کند، تمایل تصویر سلول‌ها به سمت بی‌منظمی بیش‌تر تصویر یک مربع تو پر خواهد بود (۵).

لایه داخلی عروق مشـــتمل بر یک ردیف از سلول‌های اندوتلیال

*(نویسنده مسئول) **علیرضا محمدکریم**، گروه رادیولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران.
آدرس الکترونیکی: Mohammadkarim.medphys@gmail.com

اســـت که قســـمت درونی آن در تماس با سلول‌های خونی قرار دارد و به آن اندوتلیوم گفته می‌شود (٦). اندوتلیوم به طور مداوم حامل‌های مربوط به انتقال مواد بین جریان خون و رگ را فراهم نموده و نقش فعال ســـازی عملکـــرد فیزیولوژیک رگ را عهده دار اســـت. لایه اندوتلیوم به هر تغییر محیطی در ماتریس خارج سلولی واکنش متناسبی نشان می‌دهد تا عملکرد طبیعی رگ حفظ شود (۹-۷). سلول‌های اندوتلیال از لحاظ ساختاری سلول‌هایی چسبنده و دوکی شکل هستند (۷).

هدف عمده از پرتودرمانی آن اســـت که بیشترین دوز به تومور و کمترین دوز به بافت‌های ســـالم اطراف منتقل گردد (۱۰). در تکنیک‌های مختلف پرتو درمانی بیماران ســـرطانی، دریافت دوز قابل توجه توسط ســـلول‌های اندوتلیال اجتناب ناپذیر است که این امر در درمان ارگان‌های ســـر و گردن به عنوان یک علامت منتهی به آســـیب فیزیولوژیکی گزارش شـــده است (۱۱،۱۲). از طرفی چنان چه این سلول‌ها در معرض آسیب قرار داشته باشند ممکن است بر ادامه کیفیت زندگی بیماران بسیار تاثیرگذار باشد. آترواسکلروز یا تصلب شـــریان به عارضه‌ای اطلاق می‌گردد که بر اثر تنگ شـــدگی عروق، عبور خون با مشکل مواجه شود که این امر به وقوع تغییرات اسکلت سلول‌های اندوتلیال نسبت داده می‌شود (۱۰).

به طور عمده مطالعات ســـلولی که تا به امروز به منظور بررسی تاثیـــر پرتوهـــای یونیزان بـــر خصوصیات رفتاری ســـلول‌های اندوتلیال عروق صورت پذیرفته اســـت، در دو قالب طبقه‌بندی می‌شـــوند. در مطالعات دســـته اول، محققیـــن مربوطه با مطالعه منحنی بقا ســـلول‌ها در پی اعمال دوزهای مختلف پرتودرمانی، پاســـخ ســـلول‌های اندوتلیال به پرتوهای یونیزان را در شرایط مختلف تعیین نموده‌اند (۱۳،۱٤). در مطالعات دسته دوم، بررسی اسکلت سلول‌های اندوتلیال و پارامترهای بیوفیزیکی مربوطه در پـــی دریافت دوزهای مختلف پرتوهـــای یونیزان مورد تحلیل و ارزیابی قرار گرفته است (۷، ۱٦،۱۵).

در این مطالعه با رنگ آمیزی پیکربندی غشا سلول‌های اندوتلیال و تصویربـــرداری کانفوکال، تاثیر پرتو درمانی تقطیعی ۸ گری با گام‌های ۲ گری بر تغییر پارامتر بعد فرکتال مورد بررســـی واقع گردیـــده و نتایج حاصله با مقادیر این پارامتر به هنگام تابش یک باره دوزهای ۰-۸ گری مقایســـه می‌شـــود. برای این منظور در انطباق با مطالعات پیشـــین (۱۷، ۱۸)، رده ســـلول‌های اندوتلیال ورید بند ناف جنین انســـانی[1](HUVEC) به عنوان رده ســـلولی مورد نظر در برآورد عملکردی سلول‌های اندوتلیال انسانی عروق بـــزرگ جهت تابش دهی انتخاب گردیـــد. از این‌رو با انجام این مطالعه و مقایســـه نتایج حاصل از پرتودرمانی یک‌باره و تقطیعی بر ســـاختار اسکلت سلولی، امکان بررســـی تاثیر احتمالی ترمیم و اختلال چرخه ســـلولی میان جلســـات متوالی تابش بر مبنای تغییرات در نظم استقرار سلول‌های اندوتلیال فراهم خواهد شد.

مواد و روش‌ها

- **کشت سلولی:** رده ســـلول‌های اندوتلیال HUVEC که چرخه میتوزی آن‌ها حدود ۳۰ ساعت اســـت، از انستیتو پاستور تهران تهیه شـــد. محیط کشـــت این ســـلول‌ها DMEM F۱۲ (ساخت شـــرکتSigma-Aldrich ، آمریکا) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی FBS (ســـاخت شـــرکت Sigma-Aldrich، آلمان) بوده و جهت نگه‌داری آن‌ها با شـــرایط مشـــابه بـــدن، از انکوباتور با دمای ۳۷ درجه ســـانتی‌گراد حاوی ۵ درصد گاز CO_2 (ساخت شـــرکت New Brunswick، آمریکا) اســـتفاده گردید. به منظور جداسازی ســـلول‌ها از کف فلاسک نیز از تریپسین-EDTA ۲۵ درصد (ســـاخت شرکت Sigma-Aldrich، آمریکا) استفاده شد. درمطالعـــات رادیوبیولوژیکی، بهترین زمان به منظور تابش دهی ســـلول‌های HUVEC بین پاســـاژ چهار تا هفت است؛ زیرا در عمل پس از پاســـاژ هفتم، شرایط پاســـخ دهی مناسب این رده ســـلولی به سبب پاســـاژهای مداوم، کاهش می‌یابد (۷). در این پژوهش به منظور ایجاد شـــرایط یکســـان فیزیکـــی برای تمامی نمونه‌های ســـلولی گروه‌های مختلف تحت تابش دهی پرتوهای یونیزان، فلاسک‌های حاوی سلول‌ها پس از پنجمین پاساژ برای پرتودرمانی انتخاب گردیدند.

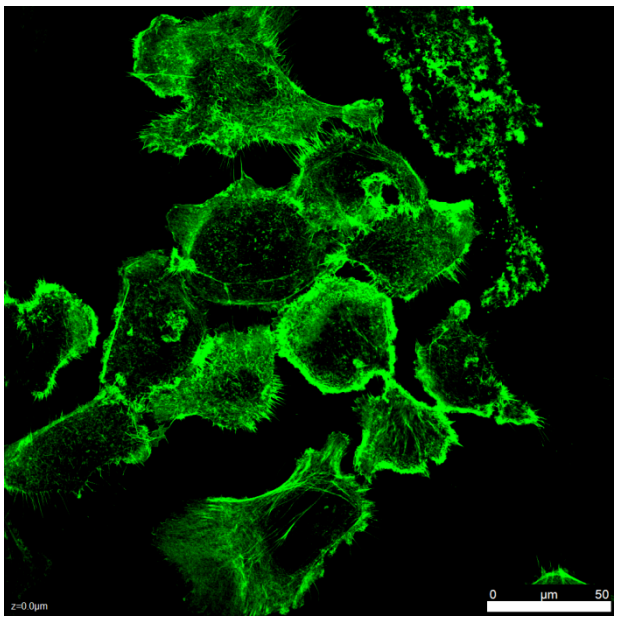
- **پرتـــو دهی با تابش فوتون‌های درمانی یونیزان:** در هر گروه بعد از پاســـاژ پنجم، سلول‌ها به پلیت‌های شـــش خانه جهت تابش دهی منتقل شـــدند. به منظور لحاظ نمـــودن عمق بیلدآپ، ۰/۵ ســـانتی متر محیط کشت بر روی هر پلیت ریخته شد. پلیت‌های شش خانه به دقت توسط پارافیلم بسته بندی شدند و به تفکیک تحت تابش دســـتگاه درمانی کبالت-٦۰ با انرژی میانگین ۱/۲۵

1. Human Umbilical Vein Endothelial Cells

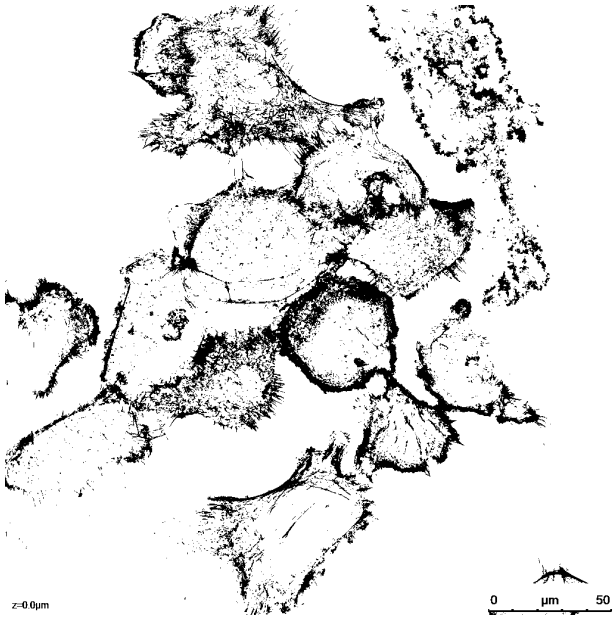
مگا الکتـــرون ولت (مدل C 780 Theratron ، اتاوا، کانادا) قرار گرفتنـــد. به منظور جلوگیری از اثر پراکندگی به عقب پرتوها، به هنگام تابش دهی ســـلول‌ها ۵ لایه ۱ سانتی‌متری لایه فانتوم پلی استیرن معادل بافت زیر ظرف حاوی سلول‌ها قرار داده شد. این فانتوم‌ها شرایط جذب پرتویی معادل آب دارند و با به کارگیری این فانتوم‌ها اطمینان حاصل می‌شـــود که دوز مورد نظر توســـط ســـلول‌های چســـبیده به ته پلیت اعمال می‌گـــردد. پرتو درمانی سلول‌ها با شرایط فیزیکی اندازه میدان ۳۰×۳۰ سانتی متر مربع و فاصله چشمه از سطح ۸۰ سانتی متر به اجرا درآمد. در این مطالعه پرتودرمانی با دوزهای ۰، ۲، ٤ و ۸ گری به صورت تابش یک جا و همیـــن طور با همین مقادیر دوز به صورت تقطیع دوز ۲ گری انجام گردید. مدت زمان بین دو تقطیع تابش همانند پرتودرمانی بالینی، حـــدود ۲٤ انتخاب گردید. دلیل آن کـــه دوز ۸ گری به عنوان بالاترین دوز تابشـــی مورد نظر در این مطالعه انتخاب شد آن اســـت که بنا بر یافته‌های پیشین، رده سلولی به‌کارگیری شده و در پی دریافت دوزهای بالاتر از ۸ گری در مسیر آپوپتوز قرار گرفته و در نتیجه نمی‌توان میزان نظم در اســـتقرار ســـلول‌ها را برای دوزهای بالا با عملکرد اندوتلیال‌ها مرتبط دانســـت (۱۳).

لازم به ذکر اســـت شـــرایط انتقال و نگه‌داری سلول‌های تمامی گروه‌ها یکســـان در نظر گرفته شـــدند و در هیچ یک از مراحل ســـلول‌ها بیش از ٤۰ دقیقه خارج انکوباتـــور نبودند تا کم ترین شـــوک احتمالی ممکن از محیط به سلول‌ها وارد شود، از طرفی در بررسی‌های مقدماتی تغییر معناداری در رفتار سلول‌های گروه های شاهد و کنترل ایجاد نگردید.

- **رنگ آمیزی ســـلول‌ها و تصویربرداری از ســـاختار اسکلتی:** به منظور رنگ آمیزی، پس از آخرین پاســـاژ، سلول های هر گروه روی دو لامل فاقد پوشاننده مستقر بر هر شش خانه، کشت داده می‌شود. سپس ســـلول‌ها را فیکس نموده و مراحل رنگ آمیزی صـــورت می‌پذیرد. مراحل فیکس نمودن و رنگ آمیزی غشـــا با اســـتفاده از فالوئیدین AlexaFlor ٤۸۸ (ساخت Invitrogen، آمریکا) مطابق با آن چه که از قبل اجرا گردیده اســـت (۱۸)، در گروه‌های متفاوت تابش یک باره و پرتودرمانی تقطیعی انجام شد. به منظور مشاهده پیکربندی اسکلتی غشا سلول از تصویربرداری میکروســـکوپ کانفـــوکال TCS SP5 (Leica Microsystem، آلمان) استفاده شد.



(الف)



(ب)

شکل ۱- نمایی از اسکلت سلولی سلول‌های ورید بند ناف انسانی در دو قالب رنگ آمیزی با فالوئیدین (الف) و تصویر باینری مربوطه به منظور تحلیل طیف فرکتال (ب). مقیاس نشانه گذاری شده در تصاویر ۵۰ میکرومتر است.

- **آنالیز طیـــف فرکتال:** پس از تهیه تصاویر کانفوکال از مجموعه ســـلول‌های اندوتلیال، با اســـتفاده از باکس مربـــوط به پردازش

تصاویـــر در نرم افزار ImageJ ســـنجش بعد فرکتـــال به منظور ســـنجش نظم پذیری ســـلول‌ها در پی تابـــش پرتودرمانی برای تصاویـــر مختلف در هر گروه انجام گردیـــد. در این روش ابتدا تصاویر با کمک نرم افزار به حالت ۸ بیتی تبدیل شدند. در ادامه، هر تصویر ۸ بیتی به تفکیک در فضای نرم افزار به فرمت باینری تبدیـــل گردید. نمونه‌ای از اســـتخراج تصویر با فرمت باینری به همراه تصویر رنگ آمیزی شده اولیه برای مجموعه از سلول‌های اندوتلیال ورید بند ناف انسانی در شکل ۱ به نمایش گذاشته شده اســـت. در انتها با اعمال آنالیز طیـــف فرکتال، پارامتر بعد فرکتال برای مجموعه‌ای از سلول‌های در معرض دوز پرتویی خاص، بر مبنای بســـته نرم افزاری مربوطه و در مقیاس لگاریتمی به کمک قابلیت پـــردازش تصاویر حاصل گردیده و یافته های مربوطه به ازاء تصاویر تمامی گروه‌های مورد مطالعه به لحاظ آماری تحت تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

بـــرآورد نمونه و تحلیل آماری: در این مطالعه ، از هر گروه تابش دهی حداقل ۳ مرتبه تصویربرداری کانفوکال انجام گردید و پس از اطمینان از توزیع نرمال مقادیر پارامتر بعد فرکتال با استفاده از تست Kolmogorov Smirnov (KS)، نتایج به صورت انحراف معیـــار میانگین ارائـــه گردید. آنالیز آماری داده ها با اســـتفاده از آنالیز Anova(one-way analysis of variance) توسط نرم افزار SPSS انجام شـــد و مقایسه آماری نتایج بین هر ۲ گروه با آنالیز LSD انجام گردید و اختلاف معنی دار در نظر گرفته شـــده برای داده ها در محدوده P>۰/۰۵ گزارش شد. هم چنین مقایسه مقادیر بعـــد فرکتال بین حالت های تابش دهی یکباره و تقطیع تابش به ازاء دوزهای ٤ و ۸ گری با استفاده از آنالیز t-test توسط نرم افزار SPSS انجام گردید و محدوده P>۰/۰۵ به عنوان اختلاف معنی دار آماری برای مقایسه داده ها در دو گروه گزارش شد.

یافته‌ها

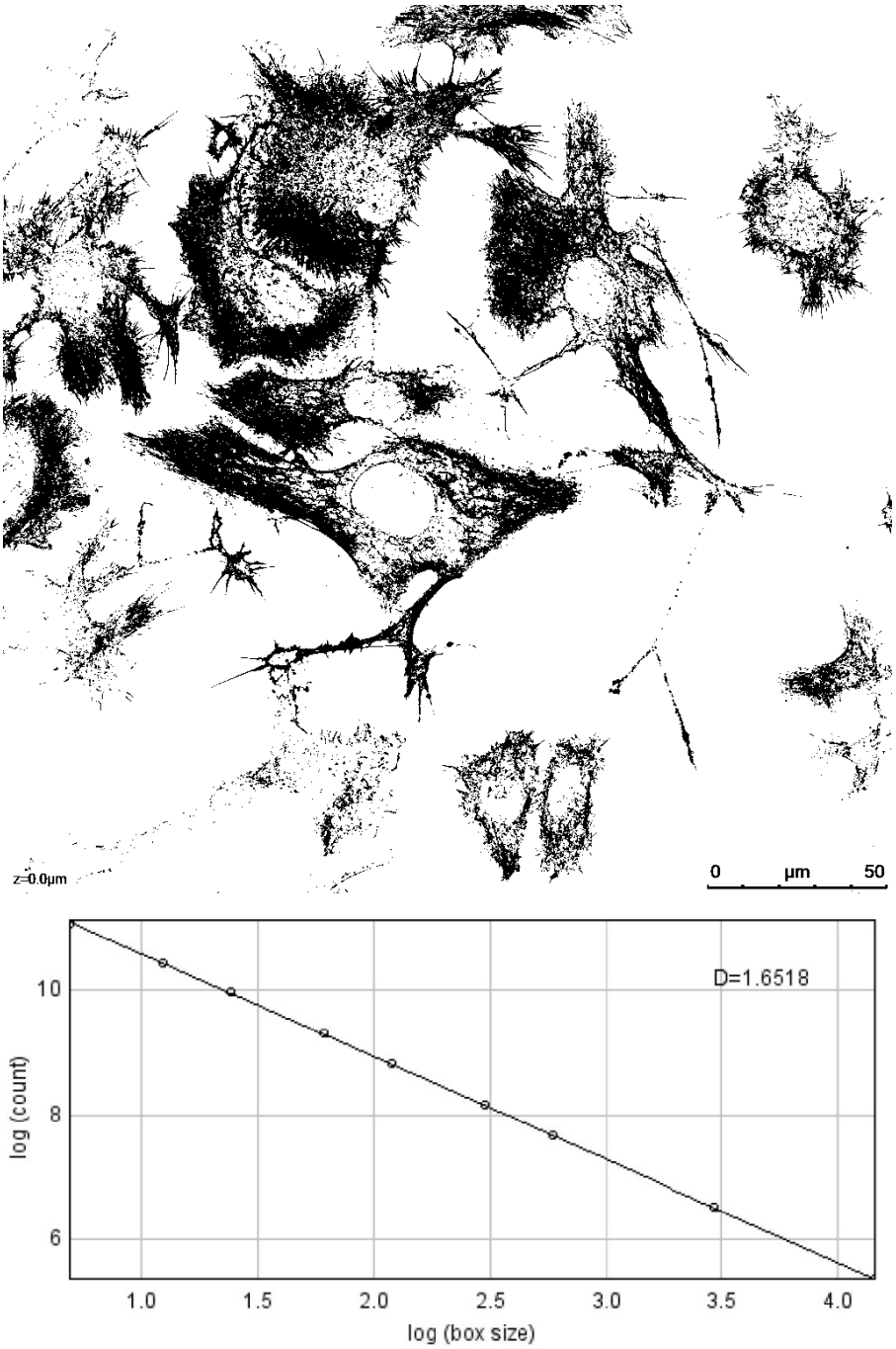
در پی اجرای پروتکل پردازش تصاویر آنالیز طیف فرکتال برای ســـلول‌های گردآوری شـــده در هر گروه، پارامتر بعد فرکتال به کمک نرم افزار مربوطه اســـتخراج گردید که نتایج آن در جدول ۱ ارائه شـــده است. بر اســـاس این نتایج، پارامتر بعد فرکتال بین گروه‌های تابشی در پی اعمال یک باره دوزهای مختلف پرتویی به صورت معناداری تغییر می‌نماید (P>۰/۰۵). هر چند یک روند افزایشی یا کاهشی در این جا ایجاد نمی‌شود. نتایج آنالیز آماری با اســـتفاده از روش LSD نشان دادند اختلاف آماری معنی داری اغلب بین نتایج به دســـت آمده در گروه سلول‌های تحت تابش۲ گری با تمامی گروه‌های دیگر شامل: گروه کنترل(p= ۰/۰۰٤) و تابش‌های یک‌باره ٤ گـــری (p=۰/۰٤٦) و ۸ گری (p= ۰/۰۲۹) وجـــود دارد؛ اما بین نتایج هیچ یـــک از گروه‌های دریافت کننده پرتـــو در پارامتر بعد فرکتال تمایز آماری معنی دار حاصل نشـــد (P>۰/۰۵). هم چنین آنالیز آمـــاری، تغییرات به صورت کاهش معنادار پارامتر بعد فرکتال ســـلول‌ها را در پی اعمال پرتودرمانی تقطیعی نشان داد (P>۰/۰۵). در ادامه به کمک روش آماری LSD نشان داده شد اختلاف آماری معنی داری بین نتایج به دست آمده در گروه ســـلول‌های گروه کنترل با تمامی گروه‌های پرتودرمانی تقطیعی شامل: ۲ گری (p= ۰/۰۰٤)، ٤ گری (p= ۰/۰۰٤) و ۸ گری (P>۰/۰۰۱) وجود دارد. از طرفی نتایج آنالیز آماری با استفاده از روش LSD در پرتودرمانی تقطیعی نشان دادند پارامتر بعد فرکتال در ســـلول بعد از اخذ دوز۸ گری در مقایســـه با گروه‌های دیگر تابشـــی شـــامل تابش‌های تقطیعی۲ گری (p= ۰/۰۰۲) و ٤ گری (p= ۰/۰۲۳)کاهش معناداری پیدا می‌کنند. حال آن که بین نتایج بعـــد فرکتال دو گروه دریافت کننده تابـــش تقطیعی۲ گری و ٤ گری تمایز آماری معنی داری ملاحظه نشد (P>۰/۰۵).

جدول ۱- نتایج تحلیل بعد فرکتال سلول‌های HUVEC رنگ آمیزی شده ۲٤ ساعت پس از پرتودرمانی در دو حالت پرتودهی یک‌باره و تقطیع تابش دهی. عدد-p کوچک‌تر از ۰/۰۵ بیان کننده تمایز معنادار آماری بین گروه های مختلف آزمایش‌ها است.

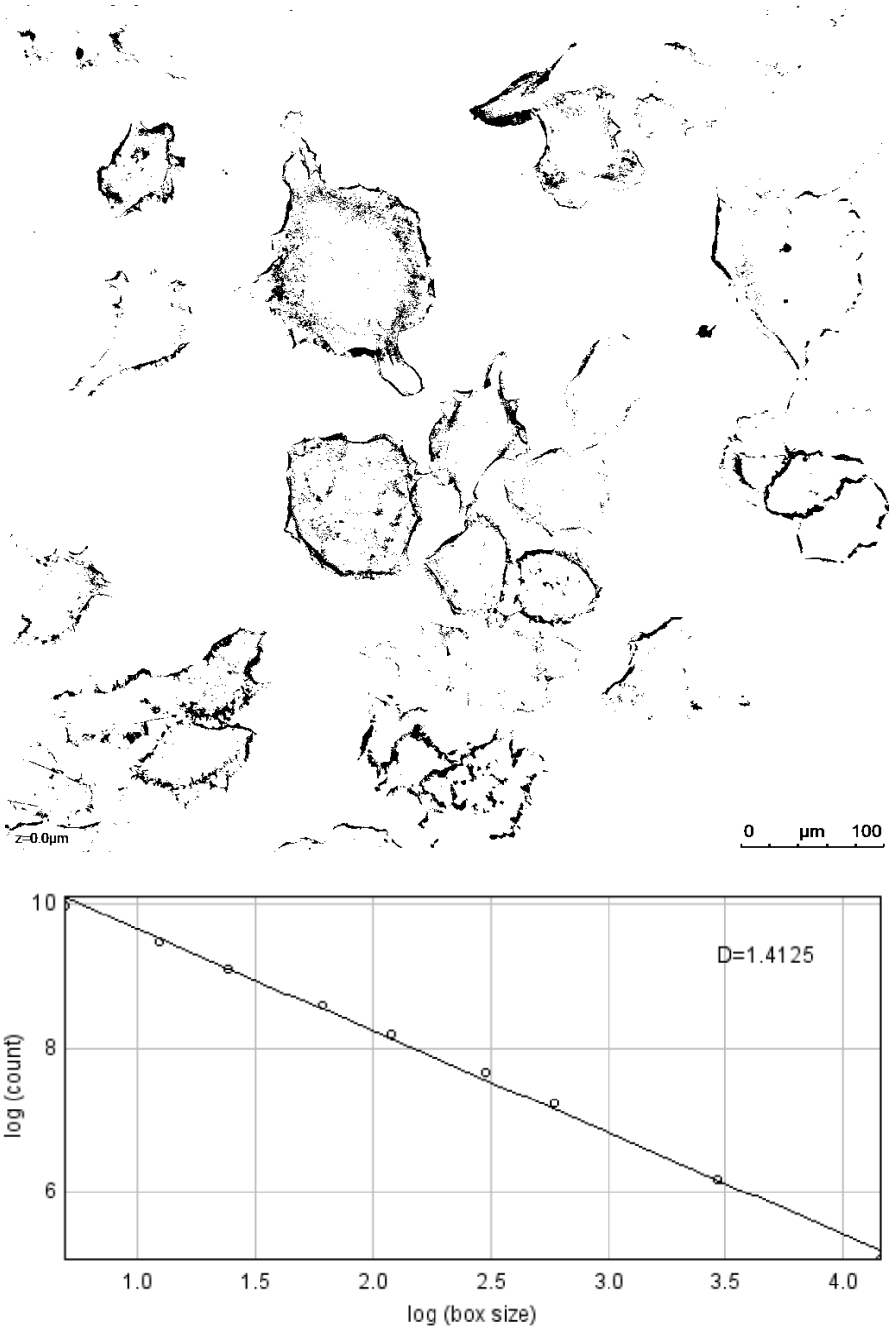
پارامتر بعد فرکتال	۰ گری	۲ گری	٤ گری	۸ گری	عدد-p
پرتوتابی یک‌باره	۱/۷۱۹±۰/۰٤۸	۱/۶۱۰±۰/۰۲۹	۱/۶۶۳±۰/۰۲۰	۱/۶۸۱±۰/۰۲۸	۰/۰۲۲
پرتوتابی تقطیعی	۱/۷۱۹±۰/۰٤۸	۱/۶۱۰±۰/۰۲۹	۱/۵۲۷±۰/۰۲۸	۱/۳۹۲±۰/۰۹۹	۰/۰۰۱

با مقایســـه نتایج بعد فرکتال ســـلول‌های اندوتلیال در دو گروه پرتودرمانـــی یک باره و تقطیعی بـــه ازا دریافت دوز ٤ گری بر

اســـاس آنالیز t-test مشاهده شـــد این پارامتر به لحاظ کمی در حالت تقطیع دوز کمتر بوده و تمایز آماری معنی‌داری بین نتایج حاصله برقرار است (p> ۰/۰۰۱). هم چنین تحلیل آماری t-test نشـــان داد که میزان پارامتر بعد فرکتال سلول‌های اندوتلیال به ازا دریافت دوز ۸ گری درحالت پرتودرمانی تقطیعی نیز درمقایســـه بـــا پرتودرمانی یک باره به صورت معنی داری کمتر می باشـــد (p> ۰/۰۰۱). در شکل ۲ نمونه‌ای از یافته‌های شکل‌های باینری شـــده از اســـکلت ســـلولی برای پرتودرمانی با اعمال دوزهای یک‌بـــاره و تقطیعی ۸ گری به همـــراه منحنی‌های طیف فرکتال در مقیاس لگاریتمی به منظور تعییـــن پارامتر بعد فرکتال جهت مقایسه به نمایش گذاشته شده است.



(الف)



(ب)

شکل ۲- نمایی از شکل‌های باینری شده از تصویربرداری کانفوکال اسکلت سلولی برای پرتودرمانی با اعمال دوزهای یک‌باره (الف) و تقطیعی (ب) به میزان ۸ گری به همراه منحنی‌های مربوط به طیف فرکتال هر یک در مقیاس لگاریتمی (D) می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات رادیوبیولوژیکی انجام شده بر روی سلول‌های اندوتلیال اغلب به بررسی پارامترهای زیستی نظیر تکثیرپذیری و تمایز و ارزیابی رفتار بیوفیزیکی در پی پرتودرمانی پرداخته‌اند. از منظر بررسی اثر پرتودرمانی بر رفتار این سلول‌ها، برای اولین بار Kern و همکارانش در سال ۲۰۰۰(۱۹) به این حقیقت دست یافتند که اعمال دوزهای پرتودرمانی در یک مرحله تا محدوده ۱۰ گری منجر به کاهش میزان چسبندگی معمول بین سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های تک هسته‌ای خونی پیرامونی[1] (PBMC) می شود. در پی اعمال پرتو به سلول‌های اندوتلیال، پدیدار شدن

1. Peripheral Blood Mononuclear Cells

کانون انفصال اندوتلیالی و ایجاد حفره مانندهایی در سلول‌های اندوتلیال مشاهده گردیده است. هم چنین چسبندگی لکوسیتی، نفوذ عناصر سرم به دیواره عروقی و ادم اندوتلیالی در پی دریافت اشعه گزارش گردیده که بنا بر استنادات این موارد می‌توانند منجر به تشکیل لخته شوند. لیکن امروزه نقش اثرات ناشی از اعمال پرتوهای یونیزان که در زمان‌های آغازین پس از پرتوتابی رخ می‌دهد، مورد بحث در تحقیقات نوین می‌باشد (۱۵). از طرفی تا کنون مطالعه‌ای که در آن نظم ساختاری سلول‌های اندوتلیال در پی پرتودرمانی مورد ارزیابی قرار گرفته باشد، گزارش نشده است.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد گروه های تحت پرتو درمانی تقطیعی بعد از گذشت ۲٤ ساعت از تابش دهی از منظر هندسه غیراقلیدسی به صورت مشهود به سمت نظم بیشتر در چیدمان تمایل پیدا می‌کنند. حال آن که این امر بعد از پرتودرمانی با دوز یک‌باره با آهنگ کمتری بروز می‌یابد. (جدول ۱) دلیل این امر می‌تواند مرتبط با فرصت بیشتر سلول های تحت تابش تقطیعی دوز به منظور ترمیم طی ۲٤ ساعت باشد که در این جا با استقرار منظم تر در مقایسه با کیفیت استقرار سلول‌ها پس از اعمال یک باره دوزهای ٤ و ۸ گری همراه می‌باشد. هم چنین این پدیده در ارتباط با مقایسه نظم بیشتر استقرار سلول‌ها در پی پرتودرمانی تقطیعی با دوزهای ۸ گری در مقایسه با دوز پرتویی مشابه پس از اعمال یک‌باره پرتو در شکل ۲ با دید چشمی نیز قابل تشخیص است. (شکل ۲)

یافته‌های منتشر شده پیشین نشان دادند که در پی پرتودرمانی تقطیعی سلول‌های اندوتلیال از منظر ریخت شناسی به سلول‌های گروه کنترل در مقایسه با پرتوتابی یک‌باره شباهت بیش‌تری دارند. بدین صورت که کاهش شاخص شکل سلول نسبت به گروه کنترل در دو حالت پرتودهی یک باره (٥٦ درصد) و تقطیع پرتودهی (۲۳ درصد) برای دوز تابشی ۸ گری گزارش گردیده است. چرا که در پی پرتودرمانی تقطیعی سلول‌ها فرصت ترمیم ساختمان اسکلتی و بازسازی به ریخت ظاهری اولیه را می‌یابند که این امر نشانه‌ای از وقوع ترمیم ساختار اسکلتی سلولی بین دو جلسه تابش دهی است (۲۱). با مقایسه نتایج پژوهش حاضر و تحقیق پیشین مشاهده می‌شود سلول‌های اندوتلیال در پی پرتودرمانی تقطیعی استقرار منظم‌تری در محیط پیدا می‌کنند و این امر با فرصت بیشتر جهت ترمیم اسکلت سلولی همراه بوده که منجر به تشابه بیشتر ریخت شناسی سلول‌های اندوتلیال تحت تقطیع تابش به سلول‌های تابش ندیده در مقایسه با اعمال یک‌باره دوز مشابه می شود.

با تحلیل نتایج پژوهش حاضر و مقایسه با مطالعات پیشین مشاهده شد پارامتر بعد فرکتال نیز می‌تواند به یک شاخص کمکی در کنار سایر نشان‌گرهای زیستی برای پیش بینی پاسخ سلول‌های اندوتلیال ورید بند ناف انسانی در پی پرتودرمانی با دو روش تابش یک باره و تقطیع تابش دهی یاری رسان بوده و یافته‌های آن به عنوان یک پارامتر جانبی مورد ارزیابی قرار گیرد.

References

1. 1. Guo Q, Xia Y, Sandig M, Yang JJOB. Characterization of cell elasticity correlated with cell morphology by atomic force microscope. J Biomech. 2012; 45: 304-9.
2. 2. Eke I, Cordes N. Radiobiology goes 3D: How ECM and cell morphology impact on cell survival after irradiation. Radiother Oncol. 2011; 99: 271–278.
3. 3. Alford PW, Nesmith AP, Seywerd JN, Grosberg A, Parker KK. Vascular smooth muscle contractility depends on cell shape. Integr Biol. 2011; 3: 1063-1070.
4. 4. Gadhari N, Charnley M, Marelli M, Brugger J, Chiquet M. Cell shape-dependent early response of fibroblasts to cyclic strain. Biochemica Biophysica Acta. 2013; 1833: 3415-3425.
5. 5. Ghazanfari S, Tafazzoli-Shadpour M, Shokrgozar MAJB, communications br. Effects of cyclic stretch on proliferation of mesenchymal stem cells and their differentiation to smooth muscle cells. Biochem Biophys Res Commun. 2009; 388: 601-5.
6. 6. Holzampfel AG, Gasser TC.A new constitutive framework for arterial wall mechanics and comparative study of material models. J Elasticity. 2000; 61: 1-48.
7. 7. Sharma P, Templin T, Grabham P. Short term effects of gamma radiation on endothelial barrier function: Uncoupling of PECAM-1. Microvasc Res. 2013; 86: 11-20.
8. 8. Rombouts C, Aerts A, Beck M, Vos WHD, Oostveldt PV, Benotmane MA, Baatout S. Differential response to acute low dose radiation in primary and immortalized endothelial cells.Int J Radiat Biol. 2013; 89: 841-850.
9. 9. Theret DP, Levesque MJ, Sato M, Nerem RM, Wheeler LT. The application of a homogeneous half-space model in the analysis of endothelial cell micropipette measurements. J Biomech Eng. 1988; 110: 190–199.
10. 10. Gujral DM, Chahal N, Senior R, Harrington KJ, Nutting CM. Radiation-induced carotid artery atherosclerosis. Radiother Oncol. 2014; 110: 31-38.
11. 11. Vitolo V, Millender LE, Quivey JM, Yom SS, Schechter NR, Jereczek-Fossa BA, Milani F, Orrecchia R, Xia P. Assessment of carotid artery dose in the treatment of nasopharyngeal cancer with IMRT versus conventional radiotherapy. Radiother Oncol. 2009; 90: 213-220.

12. 12. Mohammadkarim A, Mokhtari-Dizaji M, Kazemian A, SaberiH,AyobiYazdi N, Esfehani M. Assessing the short-term effect of radiotherapy on the shear modulus of the common carotid artery as a new biomarker of radiation-induced atherosclerosis. Ultrasonography. 2022; 41: 114-123.
13. 13. Kaffas AE, Al-Mahrouki A, Tran WT, Giles A, Czarnota GJ. Sunitinib effects on the radiation response of endothelial and breast tumor cells. Microvasc Res. 2014; 92: 1-9.
14. 14. Bischof M, Abdollahi A, Gong P, Stoffregen C, Lipson KE, Debus J, Weber KJ, Huber PE. Triple combination of irradiation, chemotherapy (pemetrexed), and VEGFR2 in human endothelial and tumor cells. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2004; 60: 1220-1232.
15. 15. Rombouts C, Aerts A, Beck M, Vos WHD, Oostveldt PV, Benotmane MA, Baatout S. Differential response to acute low dose radiation in primary and immortalized endothelial cells. Int J Radiat Biol. 2013; 89: 841-850.
16. 16. Kim KS, Kim JE, Choi KJ, Bae S, Kim DH. Characterization of DNA damaged-induced cellular senescence by ionizing radiation in endothelial cells.Int J Radiat Biol. 2014; 90: 71-80.
17. 17. Jelonek K, Walaszczyk A, Gabrys D, Pietrowska M, Kanthou CC, Widlak P. Cardiac endothelial cells isolated from mouse heart – a novel model for radiobiology. Acta Biochem Pol. 2011; 58: 397-404.
18. 18. Gabrys D, Greco O, Patel G, Prise KM, Tozer GM, Kanthou G. Radiation effects on the cytoskeleton of endothelial cells and endothelial monolayer permeability. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2007; 69: 1553-1562.
19. 19. Kern PM, KeilholzL, ForsterC, HallmannR, HerrmannM, SeegenschmiedtM. Low-dose radiotherapy selectively reduces adhesion of peripheral blood mononuclear cells to endothelium in vitro. Radiother Oncol. 2000; 54: 273-282.
20. 20. Joiner M, Kogei AVD. Clinical radiobiology, 4thedition, Hodder Arnold, 2009.
21. 21. Mohammadkarim A, Mokhtari-Dizaji M, Kazemian A, Saberi H, Khani MM, Tabatabaei SM, Bakhshandeh M. Investigation of morphological behavior of large vessel human endothelial cells during radiation therapy based on cytoskeleton imaging. Pathobiology Research 2017; 20: 63-77.