دانشجویان رادیولوژی ورودی ۸۹
دانشگاه علوم پزشکی تهران

جلسه ششم

در جلسه ی گذشته فرایضی را گفتیم که منحنی ها را بررسی می کنند و قابلیت مقایسه کمی ایجاد می کنند. مثال یک منحنی در یک موضوع چقدر از دیگری قوی تر بوده.

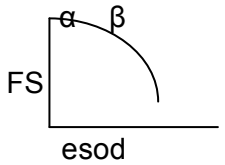
فرضیه تک هدفی همان طور که گفتیم تقریبا منسوخ شده است. در فرضیه چند هدفی گفتیم که ۲ مشکل وجود داشت. ۱.وجود مشکلاتی در طراحی اش ۲.عدم توانایی اندازه گیری شانه های کوچک یا شانه هایی که آنقدر کوچک اند که در منحنی قابل رویت نیستند. در این حالت فقط D_0 را می دهد و N و D_q را نمی دهد. ۳. به دلیل مشکلات ذکر شده فرضیه دیگری را بیان کردند به نام LQ (linear quadratic) که یک مدل می باشد.

مدل : استفاده ریاضی در همه ی علوم می باشد به طوری که دانشمندان که اساسا ریاضی دان اندیکسری آزمایشات بیولوژیکی را انجام می دهند و نتایج را بر فاکتورهای ریاضی و معادله بیان می کنند که می توان از آن ها به عنوان اساس آزمایشهای دیگر استفاده کرد.

در اینجا این معادله ی ما LQ می باشد. $S=e^{-aD+BD}$

D = دوز S = نسبت بقا e = پایه ی انوسی (لگاریتمی)

اگر منحنی بقا را در نظر بگیریم: αابتدای منحنی را محاسبه می کند و β شانه را محاسبه می کند.



α انهدام سلول هایی است که با اولین ضربه (تابش) نابود شده اند. β ناحیه شانه را محاسبه می کند و شانه ناحیه ی مقاومت می باشد. به همین دلیل با توان ۲ دوز در ارتباط است یعنی محاسبه صدماتی که جهت ایجاد آن ها توان دویی از دوز لازم بوده تا سلول ما منهدم گردد و یک ضربه کافی نبوده است.

عدد α را محاسبه می نماید و اگر قابل استناد بود یعنی سلول با همان ضربه اول منهدم شد. این انهدام هم به انرژی و سلول و حساسیت آن برمی گردد و هم به ضربه.

جهت محاسبه معادلاتی وجود دارد یعنی برنامه ای داریم و داده ها را به آن می دهیم و عدد α و β را طبق آن محاسبه می کند و می گوید معنی دار هست یا نیست.

در آمار حیاتی فاکتوری به نام P value داریم. به طور مثال ملاک قرار می دهند که P زیر، معادل و یا بالای 0.05 باشد یا نه. مثلا ما می خواهیم تاثیر عاملی را روی روی جامعه بدانیم مثال در جامعه ای اگر نمک ید دار دهیم آیا بیماری های تیروئیدی کمتر می شود یا فرق نمی کند.

۲جامعه انتخاب می کنند و به یکی نمک یددار و دیگری نمک معمولی می دهند و درصد شیوع بیماری را اندازه می گیرند بعد اعداد را در T test می گذاریم و P value را محاسبه می کنیم اگر از 0.05 کوچکتر باشد یعنی عدد معنی دار است و آن ها که ید مصرف کرده اند نسبت به جامعه دیگر احتمال ابتلا به بیماری در آن ها کمتر است ولی اگر بالای 0.05 بود یعنی معنی دار نیست و فرق نمی کرده چه ید مصرف کنند و چه نکنند میزان ابتلا یکسان می باشد.

در اینجا هم ما یک P value داریم. اگر P value نشان بدهد که αعدد معنی دار است یعنی سلول با همان ضربه اول منهدم شد ه که این بیشتر به انرژی بر می گردد که آنقدر شدید بود که با همان اولین ضربه و تابش سلول را نابود کند و اگر β معنی دار باشد یعنی انرژی ما توان اینکه با یک ضربه سلول را منهدم کند نداشته و چندین ضربه لازم بوده و در منحنی شانه داریم

اگر از مواد رادیواکتیویته با LET بالا استفاده کنیم α ما معنی دار است اما β برای آن دسته از موادی که LET کمتری دارند و X یا گاما بوده اند مطرح می شود.

بعد از محاسبه ی آلفا و بتا و نشان دادن در یکسری منحنی می توان آلفاها و بتاها را با هم مقایسه کرد که کدام نسبت به دیگری قوی تر می باشد. حسن دیگر معادله این است که اگر برای بتا شبه عدد به دست آورد ولی ظاهرا در منحنی شانه نشان داده نشود یعنی منحنی شانه دارد ولی ما نمی بینیم. حال جهت قابل رویت کردن شانه باید تعداد نقاط ابتدای منحنی را بیشتر کرد یعنی ۲ محور را به اعداد ریزتر تبدیل کرد تا شانه را بهتر نشان دهد. و تعداد نقاط ابتدای منحنی ما بیشتر گردد و تنها راه ما همین است زیرا اگر دز را کم کنیم اساسا آزمایش ما به هم می ریزد و انرژی نیز ثابت است و نمی توان آن را تغییر داد.

این مدل بسیار جا افتاده است و در منحنی بقا بسیار پرکاربرد است.

نسبت آلفا بر بتا (α/β) نسبتی است که در نمودار نقطه ای را مشخص می کند که تاثیر مرگ آوری عامل روی منحنی یکسان (تاثیر ضربات با هم برابر است در آن نقطه ها) این نسبت در رادیوتراپی بسیار مهم می باشد و نشان می دهد تومورها به چه میزان حساس یا مقاوم است ، اگر نسبت کم باشد یعنی تومور ما حساس تر است و دوز کمتری نیاز است جهت درمان و به عکس. هم چنین مازاد دز را که برای سلول های نرمال ایجاد صدمه می کند نشان می دهد.

هدف از درمان: استفاده از روش، ماده ، انرژی و.... که بتواند بیشترین میزان صدمه را در سلول توموری ایجاد نماید.

این بیشترین میزان صدمه فاکتورهایی دارد مثلا اگر انرژی را زیاد کنیم، دوز بیمار زیاد می شود و محدودیت داریم و غیر قابل امکان است، اگر انرژی را کم کنیم و بافت نرمال را به حساب آوریم که کم صدمه بخورد به همان نسبت بافت توموری هم کم آسیب می بیند و امکان ترمیم زیاد می شود و برآیند درمان ناموفق می شود.

انتخاب دوز از دید حفاظت باید min خود باشد و بیشترین صدمه به بافت توموری باشد نه نرمال.

یکی از راه ها جهت عملی شدن این هدف، شناسایی دامنه حساسیت و target سلول است. دامنه حساسیت قسمت های مختلف سلول با هم متفاوت است و اگر با یک تشعشع کور و بی هدف بخواهیم عمل کنیم درصد موفقیت زیر سوال می رود.

به طور عمده در حالت شماتیک سلول از ۳ جز هسته ، سیتوپلاسم، غشا تشکیل شده که باید با آزمایش مشخص کرد که میزان حساسیت آن ها با هم برابر است یا نه.

جهت این کار ما باید یک دوز یکسانی را فقط به غشا ، فقط به سیتوپلاسم و فقط به هسته بدهیم و صدمات حاصله را ببینیم و میزان حساسیت را بسنجیم. اگر همزمان به هرسه دوز بدهیم مرگ حاصل برآیند ۳ جز و جمع آن هاست و حساسیت هر قسمت را به ما نشان نمی دهد حال چه طور جز به جز اشعه بدهیم؟

در اینجا ما یک انرژی می خواهیم که از دامنه و برد خود تجاوز نکند هم چنین یک حامل یا ناقل نیاز داریم تا انرژی را حمل کند. باید از ناقلی استفاده کرد که قابلیت اتصال به قسمت خاص سلول را داشته باشد مثل آنالوگ تیمین‌تیمین را فقط در هسته داریم. اگر تیمین را رادیواکتیویته کنیم و بعد داخل سلول بریزیم انرژی را با خود حمل و داخل هسته می برد و با غشا و سیتوپلاسم کاری ندارد وهمهی انرژی که دارد را به هسته می دهد. همین طور برای غشا و سیتوپلاسم.

پس انرژی و دوز ثابتی را به ناقل های مختلف ملحق می کنیم تا فقط به آن جایی که می خواهیم برود و بعد نسبت صدمه را ارزیابی و در نتیجه میزان حساسیت را می فهمند. طبق این آزمایشها هسته جزو target های حساس سلول می باشد و نسبت به اجزای دیگر سلول در برابر واکنش ه ای بیرونی حساسیت و عکس العمل بیشتر و قوی تری نشان می دهد و این به دلیل

وجود کروموزوم هاست زیرا ساختارهایی می باشند که در اثر تشعشع دچار شکست می شوند و صدمه سلولی را ایجاد می کنند. با هدف قرار دادن هسته میزان دز و انرژی کمتری مصرف و میزان بیشتری صدمه می بیند.

سلول بسیار پیچیده است و با شناخت آن می توان حساسیت ها و target های بیشتری را در سلول شناسایی کرد.

فقط هسته جزو target های ما نیست و ما target های حساس تری هم داریم. مثال در روی غشا گیرنده های فاکتور رشد GFR (grow factor receptor) داریم که وظیفه ی دریافت GF (فاکتور رشد) را دارند و بعد که گرفتند پالسی را داخل هسته می دهند در نتیجه آنزیم ها پروتئین هایی را که متولی رشد سلولی اند فعال می کنند در نتیجه سلول آماده تقسیم می گردد که این آغاز رشد است. پس اگر GF نباشد عملا رشد و تقسیم صورت نمی گیرد مثل pr ها که برای بدن ما نیازاند و در صورت نبود آن ها سلول ها پالسی جهت رشد دریافت نمی کنند.

ما می توانیم از GFR جهت انهدام سلول استفاده کنیم یعنی رابطه GFR و هسته را قطع کنیم و نگذاریم سیگنال رشد به هسته برسد در نتیجه سلول رشد نمی کند و مرگ رخ می دهد و یا اینکه صدمه جدی به سلول وارد می شود که سریع فعالیت حیاتی را متوقف می کند و جلوی تولید مثل را می گیرد که برابر مرگ است. پس می توان گفت غشا از target هایی است که شاید حساسیتش از هسته کمتر نباشد.

هم چنین می توان در سیتوپلاسم، میتوکندری را مورد هدف قرار داد. برای رساندن صدمه جدی به سلول : ۱.ما باید target ها را خوب بشناسیم ۲. بتوانیم آن ها را مورد هدف قرار دهیم.

خیلی ساده می توان ارتباط غشا با هسته را قطع کرد. خود GF را برداریم و با ماده رادیواکتیو به طور مثال ید 125 ، cable کنیم وقتی وارد بدن می شود روی گیرنده ی رشد می نشیند و آن تشعشع، receptor را تخریب می کند و سیگنال را قطع می کند و در نتیجه مرگ سلول اتفاق می افتد. در واقع حامل ما در اینجا خود GF است. اما در درمان از این روش استفاده نمی شود زیرا در سیستم حیاتی وقتی GF رادیواکتیویته شده وارد می شود همه ی سلول ها را مورد هدف قرار می دهد چرا که همه ی سلول ها GFR را دارند. در نتیجه سلول نرمال هم نابود می شود.

در کل ما ناقل های مختلفی را در آزمایشات می توانیم مصرف کنیم مثل آنتی بادی ها اما چون درشت اند به راحتی نمی توانند از غشا عبور کنند اما میکروتوبول ها مثل آنالوگ T این مشکل را ندارند.

مشکل ما در targeting عدم کنترل بر عوامل انرژی است.

تفاوت عمده اینکه در اکسترنال رادیوتراپی به صورت لوکالیزه دوز می دهیم ولی در اینجا در کل بدن دوز پخش می شود و صدمات جدی تری می زند ولی در اکسترنال بیم تراپی بیشتر آن ناحیه لوکالیزه دچار مشکل می شود.

انواع شکست ها : ۱.کروموزومی ۲.کروماتیدی

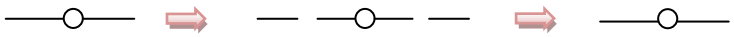
۱.کروموزومی: اگر صدمه قبل از سنتز اتفاق افتد.

در اینجا اگر در یک شاخه کروماتیدی در اثر تشعشع شکست ایجاد شود هنگام سنتز ، کروماتید خواهری دقیقا در همان‌نقطه ، مشابه همان شکست را دریافت می کند. پس اگر در کروموزومی دیده شود که در هر ۲ کروماتید در یک نقطه روی هر ۲ شکست مشابه وجود داشته باشد شکست کروموزومی است.

۲.شکست کروماتیدی : بعد از سنتز رخ می دهد یعنی کروماتید خواهری تشکیل شده پس با دادن دز شکست در یکی‌از کروماتیدها و یا در هر ۲ ایجاد می شود ولی مشابه نیست.

ما شکست های مختلفی داریم :

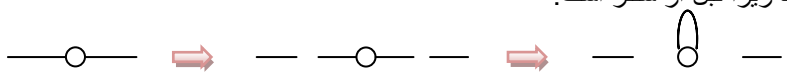
فرض کنیم یک کروموزوم داریم که در آن ۲ شکست ایجاد شده است و دو انتهای محل شکست چسبنده اند و می تواند دوباره به جای اول بچسبد در اصل در این حالت گویا اتفاقی نیوفتاده صدمه ایجاد شده و دوباره ترمیم صورت گرفته است.



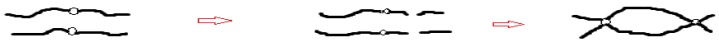
گاهی ممکن است این اتفاق نیوفتد و ۲ قطعه جدا شده بیایند و به هم بچسبند و یک قطعه با هم ایجاد کنند. تکه کروموزومی که از اتصال قطعات جدا شده ایجاد می شود deletion نام دارد.

گاهی قطعات جدا شده به حالت ضربدری روی هم قرار می گیرند و به حالت یک کروموزوم ۲ کروماتیدی به هم وصل می شوند با این تفاوت که سانترومر ندارند پس کروموزوم نیستند. این حالت double Miny + نام دارد.

گاهی ۲ سر تکه وسط کروموزوم شکسته شده به هم وصل می شوند و حالت حلقه مانندی را ایجاد می کنند که ring نام دارد و این شکست کروموزومی نام دارد زیرا قبل از سنتز است.



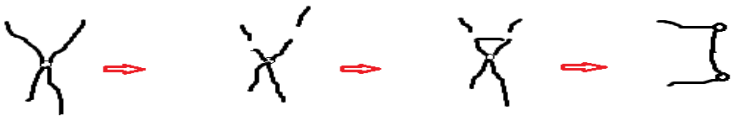
گاهی ۲ کروموزوم کنار هم داریم که در آن ها شکست صورت می گیرد بعد قطعاتی از کروموزوم ها که حاوی سانترومر اند به هم وصل می چسبند که dicentric (۲ سانترومری) نام دارد. این شکست نیز کروموزومی است زیرا قبل از سنتز رخ داده است و بعد شبیه سازی می شود و زیر میکروسکوپ بسیار کوچک دیده می شوند.



گاهی کروموزوم ها به این شکل شکست می خورند (دقت شود که کروموزوم ها در اینجا دو کروماتیدی است)

بعد ۲ قطعه به هم می چسبد و بعد در مرحله آنافاز در ۲ قطب قرار می گیرد و به ۲ قطب کشیده می شود تا سلول تقسیم شود در این حالت تبدیل به ۲ سانترومره می شود اما ۲ قطعه به وصل است و جدا نمی شود و به آن پل آنافاز می گوییم زیرا در آن مرحله رخ داده و چون شبیه پل است پل آنافاز نام دارد. این شکست کروماتیدی است زیرا در حضور کروماتید خواهر رخ می دهد.

تمام این شکست ها مرگ آورند.



کروموزوم ها ساختارهای به شدت حساس و آسیب پذیرند و تشعشع انرژی ای است که خیلی تغییرات جدی در کروموزوم و سلول ایجاد می کند پس با هدف قرار دادن کروموزوم می شود به درمان نگاه مثبت کرد و اگر بافت نرمال هم آسیب ببیند حفاظت زیر سوال می رود.

شکست های کروموزومی amination یا بیراهه های کروموزومی نام دارند که هر چه تعداد این ها بیشتر باشد و شکل تغییر یافته کروموزومی بیشتر باشد میزان صدمه بیشتر و جدی تر است.

تشخیص این صدمات که اصطلاحا کروموزوم آنالیز می گوییم یکی از راه های ارزیابی صدمات است.

جهت ارزیابی صدمه روش هایی که اصطلاحا سیتوژنتیکی نام دارد وجود دارد که تغییرات ایجاد شده در سلول را بر اساس میزان دوز دریافتی محاسبه می کند حتی صدمات پایین را نیز محاسبه می کند.

هر چه تکنیک ما ، روش ارزیابی قوی تر و حساس تری باشد که با آن بتوان صدمات ریزتری را حساب کرد کارآیی بیشتری دارد.

روش های سیتوژنیک اساس علم biological dozimetri است.

خیلی از این روش ها صدمات شدید را حساب می کنند.

ما قبلا روش هایی داشتیم که coloni formation (تشکیل کولونی ها) نام داشت. در این روش سلول را می کاریم می بینیم چند تا از این سلول ها توانایی تولیدمثل دارن حالا به نسبتی که سلول تشکیل می شود و کلنی درست می کند می گوییم سالم است و از نظر ما مشکلی ندارد و سلولی که کولونی تشکیل نمی کند مشکل دارد. اما تکنیک هایی که امروزه استفاده می شود نشان داده است که ممکن است سلول مشکل داشته باشد اما تولید مثل هم کند.

مثال: فردی که سرطانی است ممکن است بچه دار هم شود و چون بچه دار شده نمی توان گفت که سالم است.

روش coloni formation بسیار مهم و پرکاربرد است اما به تنهایی کافی نیست. باید روشی داشته باشیم که تغییرات ژنی را بتوان اندازه گرفت یعنی تشعشع چقدر در بیان ژن می تواند موثر باشد. یکی از روش هایی که گفتیم ژن درمانی است. در اینجا کار ما این است که بیان ژن ها را در ارتباط با میزان صدمات وارده به سلول ارزیابی کنیم. یعنی آن ژن هایی که می شناسیم وقتی تحت تشعشع قرار می گیرند در کپی برداری از آن ها تغییر ایجاد می شود یا نمی شود، اگر شد یعنی صدمه وجود داشته است پس می توان بیان ژن را محاسبه و میزان شکست های DNA را اندازه گرفت. اما باید به این نکته توجه کرد که شکست DNA به طور قطع به منزله ی مرگ سلول نیست زیرا شاید بتوان آن را ترمیم کرد. در اینجا صدمه را می توان محاسبه کرد و در coloni formation میزان بقا و احتمال زنده بودن را محاسبه می کنند پس این یک دبل مارکر می باشد.

بقا یعنی درمان

درمان زمانی موفق است که شناخت و تشخیص کامل باشد. اگر تشخیص target درست باشد درمان در دوز پایین درست انجام می شود.

در خود رشته DNA چه تغییراتی ایجاد می شود؟

در اثر تابش اشعه در رشته ی DNA چسبندگی ایجاد می شود و باعث می شود یک مولکول پروتئین به آن بچسبدکه P-LINK (پروتئین لینک) نام دارد. گاهی ممکن است چند رشته پروتئین به رشته DNA وصل شود یعنی مثلا یک پروتئین به یک پروتئین دیگر می چسبد و بعد به رشته DNA که این P-P-LINK نام دارد.

گاهی ممکن است تشعشع پایه را دچار صدمه کند که Base damage نام دارد. مثال در DNA بازها به وسیله ی فسفات روی رشته DNA قرار گرفته اند و توسط هیدروژن هم به هم وصل شده اند که هر کدام از این پایه ها(بازها) دو به دو روبروی هم G-C و A-T قرار گرفته اند. گاهی ممکن است جای یکی از این پایه ها جابه جا شود و رفتار سلول تغییر کند و یا پایه ای از بین برود و پایه ی جدیدی ایجاد شود که با پایه های قبلی Match نمی شود و.... که این base dameges نام دارد.

گاهی ممکن است یکی از رشته های DNA بشکند و جدا شود که (SSB) Single strank brake نام دارد. (شکست تک رشته ای)

گاهی ممکن است شکست در هر ۲ رشته رخ دهد (DSB) double strand brake (شکست ۲ رشته ای) نام دارد.

گاهی ۲ انتهای شکسته به هم می چسبد که internal link یا اتصال داخلی نام دارد.

فراوانی SSB و DSB به نوع انرژی ، شرایط سلولی و حساسیت سلولی و... بستگی دارد..

آنچه به طور متداول معمولا به عنوان عامل درمانی در درمان ها رخ می دهد شکست های SSB و DSB است.

با توجه به تعددی که در SSB و DSB رخ می دهد تعدد صدمات را ارزیابی می کنند.

در DSB الزاما شکست ۲رشته رو به روی هم نیستند ولی گاهی هم رو به رو اند.

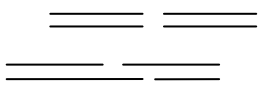
معمولا تعدد SSB بیشتر از DSB است.

از نظر شکل صدمات ۱۰۰۰ SSB با ۴۰ تا DSB برابری می کند. شایع ترین مشکلات SSB ها این است که به سرعت قابل ترمیم اند زیرا در یک رشته شکستگی داریم نه در ۲ رشته.

شکست در ۲ رشته به شدت امکا ترمیم را کاهش می دهد پس درمانی که‌تعدد DSB در آن بیشتر است موثرتر است.

اکسترنال بیم تراپی خیلی موفق نیست زیرا غالب صدماتش SSB است و انرژی به صورت پراکنده برخورد می کند و میزان صدماتش کم است. هم اینکه SSB است و هم فاصله ای که بین ۲ قطعه ایجاد می کند خیلی ریز است و امکان چسبیدن این ۲ قطعه به هم بسیار بالاست پس یکی از فاکتورها فاصلع قطعات است که هر چه از هم دورتر باشد امکان ترمیم کمتر است و اگر بتوان نوعی از صدمه را ایجاد کرد که هم DSB ایجاد شود و هم فواصل ۲ قطعه زیاد باشد درمان موفق تر است.

اگر شکست DSB باشد و شکست در ۲ رشته DNA رو بروی هم باشد قطعات از هم جدا می شود ولی اگر شکست ۲ رشته رو به روی هم نباشد از هم جدا نمی شود و احتمال ترمیم وجود دارد پس نوع DSB هم مهمه.



نوعی از DSB را می توانیم ایجاد کنیم که استفاده از مواد رادیواکتیو high LET است. High LET این ویژگی را دارند که شکستشان غالبا DSB است و فواصل شکست بسیار زیاد است زیرا نوع E و میزان انتقال انرژی بسیار بالاست پس فاصله زیاد است.

در high LET میزان انتقال انرژی در بعضی موارد کم است و فقط در یک رشته آسیب ایجاد می کند و آن را جدا می کند و در رشته ی بعدی نمی تواند آسیب ایجاد کند. اما باز می گوییم DSB است ،چرا؟

High LET ها برد کوتاهی دارند و فقط به یک رشته آسیب وارد می کنند و تحت تاثیر قرار می دهند در اصل در اینجا انرژی ما یک ناقل می خواهد. High LET ها به تنهایی و بدون ناقل وارد هسته نمی شوند تا روی DNA بشینند.

وقتی ناقل ما T باشد چون روی هر ۲ رشته T داریم وقتی ناقل را با ماده رادیواکتیو lable کنیم تعدادی از آن ها بعد از اینکه وارد بدن شدند روی پایه یک رشته DNA و تعدادی دیگر روی پایه ی رشته ی دیگر DNA می نشینند و شکست ایجاد می کند و شکست آن از نوع DSB است. چون آنالوگ T است ناقل ما روی T می رود.

به همین دلیل می گوییم درمان با high LET موفق تر است زیرا نوع آن DSB و شدت صدمه زیاد است و قدرت ترمیم سلول به‌میزان زیادی کم می شود.