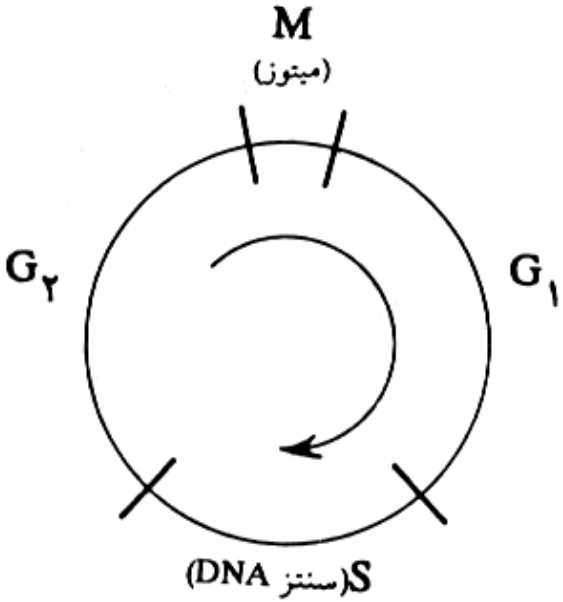
سایت جامع رادیولوژی
WWW.RADIOLOGYHA.COM

چرخة سلول

- فاصلة زمانی متوسط بین دو میتوز یا دو تقسیم متوالی ، چرخة سلول یا زمان چرخة میتوزي (T_C) نامیده می شود.
- پیش ساز DNA در اختیار جمعیتي از سلول های در حال رشد قرار می گیرد که برداشت می شود و در ساختمان DNA سلول هایي که فعالانه DNA سنتز می کنند ، مشارکت می نماید.
- بنابراین سلول هایي که DNA سنتز نمی کنند ، نشانه را دریافت نمی کنند.

چرخة سلول

- سپس سلول ها تثبیت و رنگ آمیزي شده و با میکروسکوپ مشاهده می شوند.
- سلول ها پس از گذر از مرحله میتوز (M) مرحله ای ظاهراً غیر فعال به نام G_1 وجود دارد.



چرخة سلول

- این اولین شکاف در فعالیت مشاهده شده در چرخة سلول بوده پس از این دورة عدم فعالیت ، سلول ها در مرحلة S فعالانه DNA سنتز می کنند.
- بین مرحله S و شروع میتوز یا تقسیم بعدی ، شکاف دیگری به نام G_2 وجود دارد.

سنجش کمی قسمت های تشکیل دهنده چرخة سلول

- دو اندازه گيري نسبتاً ساده را می توان برای یک جمعیت سلولی انجام داد.

- اول ، شمارش نسبت سلول هايي که در میتوز دیده می شوند ، این کمیت ، اندکس میتوزي (MI) نام دارد.

- فرض می شود که تمام سلول های موجود در حال تقسیم باشند و تمام آنها از چرخة میتوزي مشابهی برخوردار باشند.

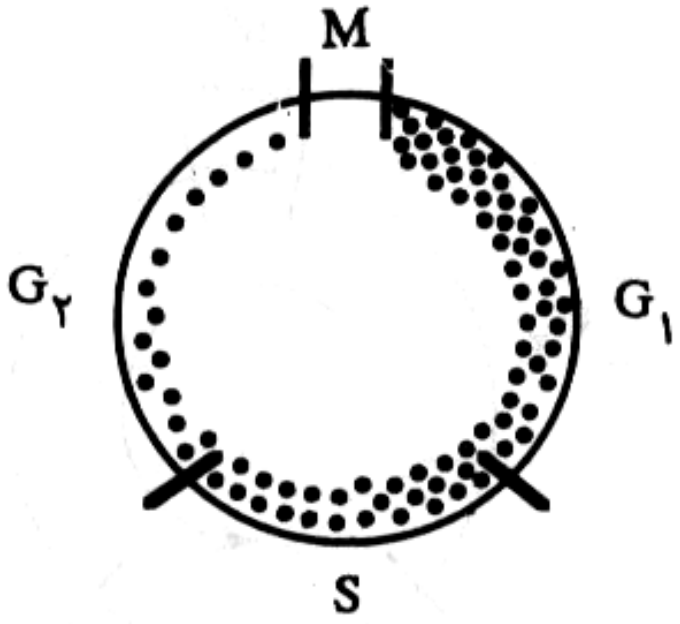
سنجش کمی قسمت های تشکیل دهنده چرخة سلول

- آنگاه:

$$MI = \lambda\ T_M/T_C$$

- در این رابطه:
  - T_M = طول میتوز (مدت زمانی است که به طول می انجامد تا سلول ها تقسیم خود را کامل کنند)
  - T_C = طول کل چرخه سلول

سنجش کمی قسمت های تشکیل دهنده چرخة سلول



- λ = تصحیح در نظر گرفته شده برای عدم توزیع یکنواخت سلول ها در اطراف چرخه ، چون حین میتوز سلول ها دو برابر می شوند. در تمام وقایع λ نسبتاً کوچک و فاکتور تصحیح بی اهمیتي است.

سنجش کمی قسمت های تشکیل دهنده چرخة سلول

- دومین اندازه گیري نسبتاً ساده مستلزم آن است که جمعیت سلولی در زمان کوتاهی با مقداری از تیمیدین تریتیوم دار یا برمودئوکسی یوریدین تغذیه شوند.
- این عمل نشاندار شدن لحظه ای نامیده می شود.
- سپس جمعیت سلولی در ظرف پتری یا به صورت مقاطع نازک برش شده از بافت ، تثبیت ، رنگ آمیزي و با میکروسکوپ مشاهده می شود.

سنجش کمی قسمت های تشکیل دهنده چرخة سلول

- پس از این مرحله شمارش نسبت سلول های زنده صورت می گیرد این کمیت اندکس نشاندار شدن (LI) (Labeling Index) نامیده می شود.
- با فرض آنکه تمام سلول های در حال تقسیم از چرخة مشابهی برخوردار باشند ،

$$LI = \lambda\ Ts/Tc$$

- Ts = طول دورة سنتز DNA
- Tc = کل زمان چرخة سلول

سنجش کمی قسمت های تشکیل دهنده چرخة سلول

- در عمل دو کمیت اندکس میتوزی و اندکس نشاندار شدن را می توان از یک نمونه با شمارش نسبت سلول ها در میتوز و نسبت سلول های نشاندار شده تعیین کرد.

روش درصد میتوزهای نشاندار شده

- مبنای روش ، تغذیه جمعیتی از سلول ها با نشانه ای است که در مرحله S برداشت می شود ، به این ترتیب تظاهر نشانه در سلول های میتوزی قابل مشاهده و بررسی می باشد.
- سلول ها در مرحله S نشانه رادیواکتیو را برداشت می کنند و به پیشرفت خود در چرخه سلول ادامه می دهند.
- برای هر نمونه در صد سلول های میتوزي حامل نشانة رادیواکتیو شمارش می شود ؛ این کمیت در صد میتوزهای نشاندار شده است.

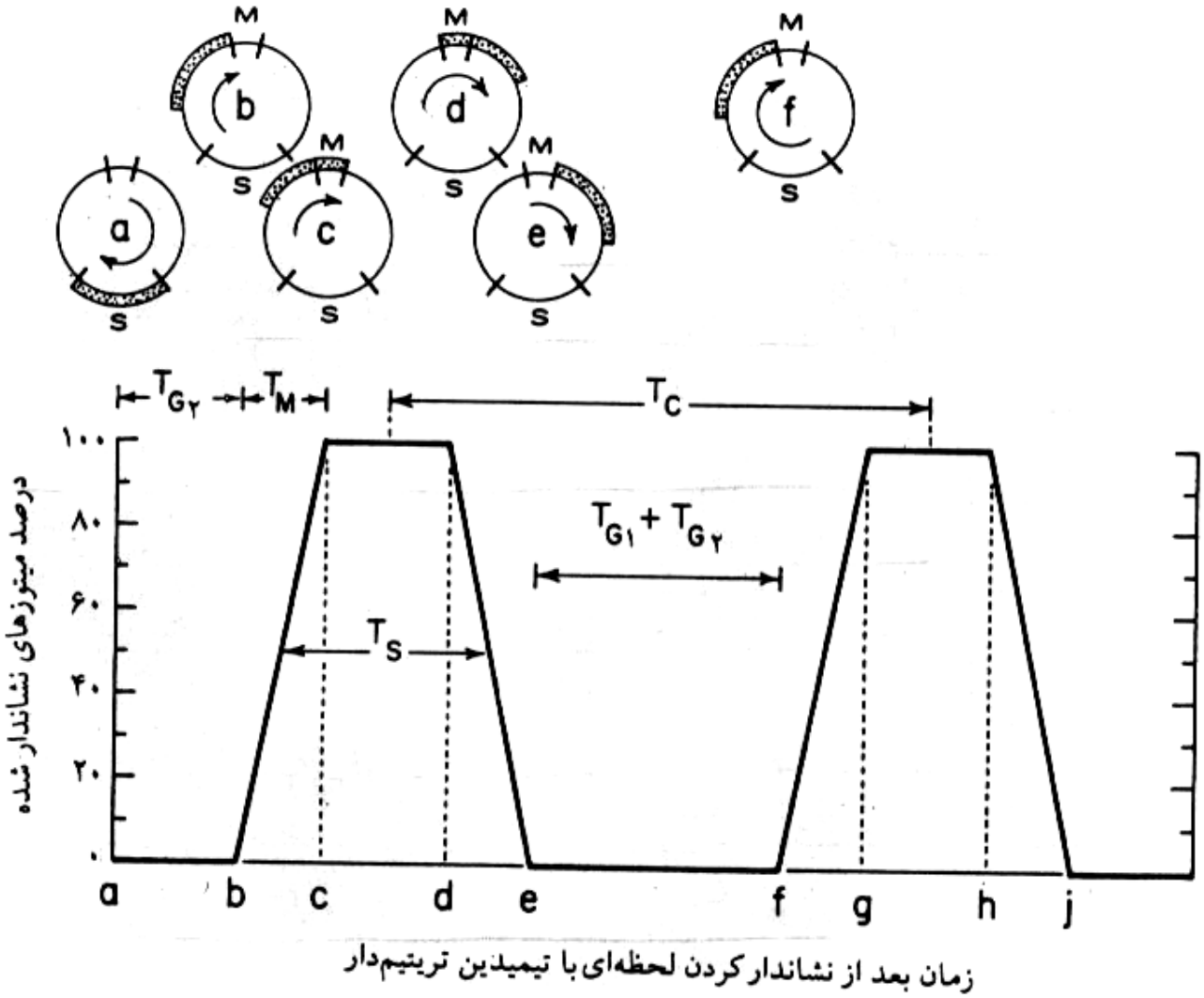
روش درصد میتوزهای نشاندار شده

- در صورت استفاده از جمعیت سلولي که همه از چرخه سلولی مشابهی برخوردار باشند ، طرح به صورت درصد میتوزهای نشاندار شده به عنوان تابعی از زمان می باشد.
- در زمانی که تیمیدین رادیواکتیو در دسترس است ، سلول های واقع در مرحلة S ، نشانه را جذب می کنند.
- این گروه نشاندار شده پس از جذب تیمیدین رادیواکتیو از محیط کشت ، در طول چرخه سلول پیشرفت می کنند.

روش درصد میتوزهای نشاندار شده

- نمونه های حاصل از اولین ساعات نمونه برداری ، حاوی میتوزهای نشاندار شده نمی باشند.
- اولین میتوزهای نشاندار شده زمانی ظاهر می شوند که لبه گروه حاوی سلول های نشاندار شده به M می رسند. این نقطه از زمان با حرف b در محور زمان مشخص شده است.
- درصد اشکال میتوزي نشان دار شده بسرعت با گذر سلول های نشاندار شده از مرحلة M افزایش می یابد ؛ با رسیدن به انتهای M ، تمام اشکال میتوزي نشاندار شده می باشند (c).

روش درصد میتوزهای نشاندار شده



روش درصد میتوزهای نشاندار شده

- تا چند ساعت ، تمام اشکال میتوزي به نشاندار شدن ادامه می دهند تا آنکه کل گروه سلول های نشاندار شده به میتوز برسند (d).

- پس از این مرحله با رسیدن سلول ها به انتهای میتوز ، درصد میتوزهای نشاندار شده بسرعت کاهش یافته و به صفر می رسد (e).

روش درصد میتوزهای نشاندار شده

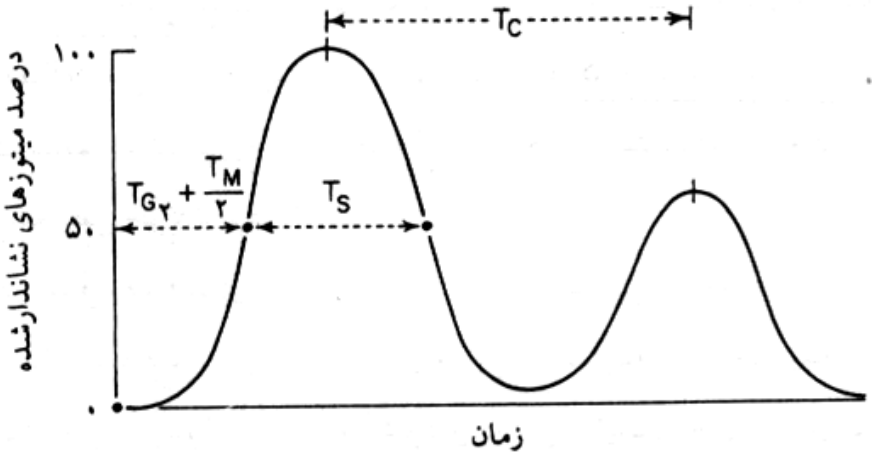
- پس از آن ، یک فاصله زمانی طولانی وجود دارد که هیچ شکل میتوز نشاندار شده ای مشاهده نمی شود ، این تا زمانی است که گروه سلول های نشاندار شده کل چرخه را دور بزند و مجدداً به میتوز برسند.
- پس از این مرحله کل روند وقایع تکرار می شود.
- فاصله زمانی قبل از ظهور اولین میتوز نشاندار شده ، طول ab ، در واقع نشان دهندة طول G_2 یا T_{G2} است.

روش درصد میتوزهای نشاندار شده

- بازة زمانی مورد نیاز برای رسیدن منحنی درصد میتوزهای نشاندار شده از صفر به ۱۰۰ درصد (bc) یا زمان لازم برای رسیدن گروه سلول های نشاندار شده به میتوز- که معادل طول میتوز ، T_M می باشد- مطابقت دارد.
- طول سنتز DNA (T_S) زمانی است که طول می کشد تا سلول های نشاندار شده از میتوز بگذرند (bd).
- بر همین اساس ، زمان مورد نیاز برای رسیدن گروه نشاندار شده به انتهای میتوز ، ce ، می باشد.

روش درصد میتوزهای نشاندار شده

- در عمل ، معمولاً T_S ، عرض منحنی در حد ۵۰ در صد در نظر گرفته می شود.
- طول کل چرخه (T_C) ، فاصله بین نقاط بر روی اولین و دومین موج منحنی (bf ، cg ، dh یا ej) یا فاصله بین مراکز دو قلة مشخص شده در شکل می باشد.



روش درصد میتوزهای نشاندار شده

- کمیت باقیمانده ، T_{G1} ، معمولاً با کم کردن مجموع تمام مراحل دیگر چرخه از کل چرخه سلول حاصل می شود ، یعنی:

$$T_{G1} = T_C - (T_S + T_{G2} + T_M)$$

- در عمل تنها نقاطی که می توان روی این منحنی با قطعیت تعریف کرد ، قله های منحنی ها و حدود ۵۰ درصد می باشند.

روش درصد میتوزهای نشاندار شده

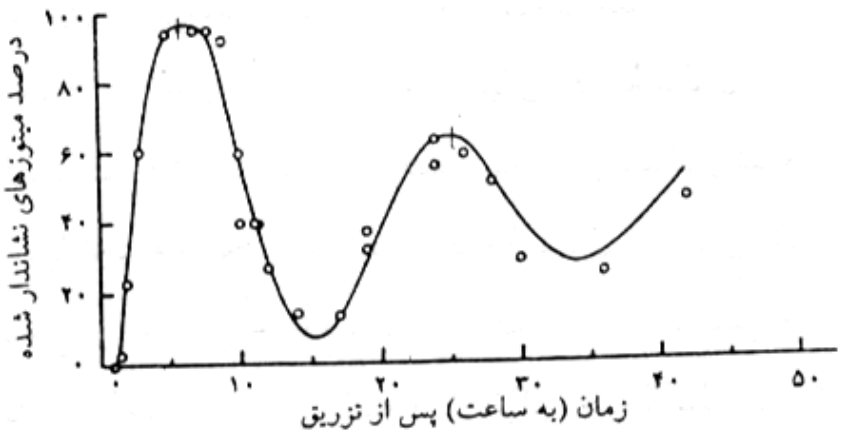
- مرحله S با اولین قله از سطح ۵۰ درصد روی قسمت بالا روی موج و نقطه مقابل پایین تر تعیین می شود.
- کل چرخه سلول ، T_C ، بسادگی با طول زمان بین دو قله متوالی تعیین می شود.
- در آزمایش جداگانه ای اندکس میتوز- که معادل T_M/T_C است- شمارش می شود.
- از آنجا که T_C مشخص است ، بنابراین T_M را می توان محاسبه نمود.

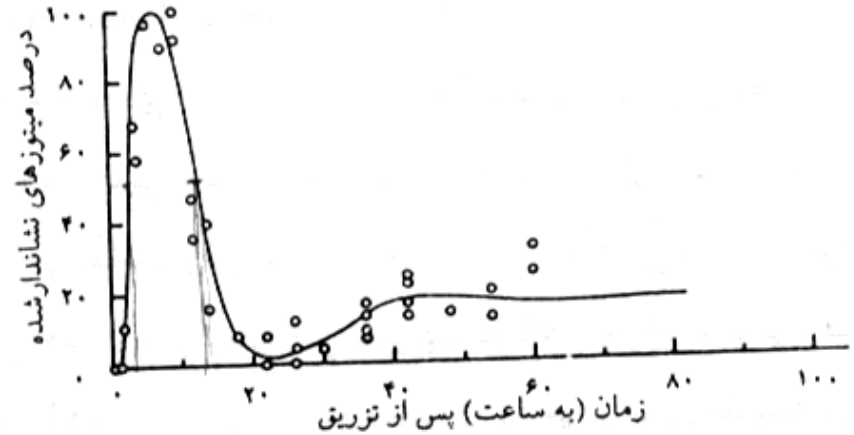
روش درصد میتوزهای نشاندار شده

- زمان نشاندار کردن لحظه ای تا نقطة گذر منحنی از حد ۵۰ درصد ، با $T_{G2} + ½ T_M$ معادل می باشد ، به علت مشخص بودن T_M ، T_{G2} قابل محاسبه می باشد.
- بنابراین کمیت باقیمانده T_{G1} است که به دلیل مشخص شدن کل زمان چرخه و مراحل دیگر تفریق به دست می آید.
- در عمل قله دوم بسیار کوچکتر از اولی است ؛ بویژه اگر جمعیت سلولی از نمونه in vivo تومور یا بافت سالم باشد ، توزیع زمان چرخة سلول چنان گسترده است که قله دوم منحنی به زحمت قابل تشخیص است.

اندازه گيري تجربی زمان های چرخه سلول

- نمایش در صد میتوزهای نشاندار شده برای دو تومور قابل پیوند موش صحرايي با دو آهنگ رشد متفاوت.
- در منحنی بالا زمان متوسط چرخه سلول حدود ۲۲ ساعت است که فاصله اولین و دومین موج سلول های میتوزي نشاندار شده می باشد.





اندازه گیري تجربی زمان های چرخه سلول

- در منحنی درصد میتوزهای نشاندار شده پایین برای تومور ، قله دوم قابل تشخیص نیست.
- علت این ویژگی دامنة وسیع زمان های چرخة سلولی در این جمعیت سلولی می باشد.
- عرض اولین موج منحنی درصد میتوزهای نشاندار شده مبین آن است که مرحلة سنتز DNA (T_S) حدود ۱۰ ساعت است.
- برای تعیین زمان متوسط چرخه سلول (T_C) ، ضروری است اندکس نشاندار شدن را بدانیم.

اندازه گيري تجربی زمان های چرخه سلول

- اندکس نشاندار شدن این تومور 3.6% است.
- بنابراین زمان متوسط چرخه سلول (T_C) عبارت است از:

$$LI = \lambda\ T_S/T_C$$

$$T_C = 0.693 \times 10/3.6/100 = 190$$

- زمان چرخه های سلولی این دو ردة سلول با فاکتور بیش از ۲ متفاوت است که این ناشی از تفاوت در طول G_1 است.

اندازه گيري زمان مستعد دو برابر شدن تومور

- T_{pot} ، اندازة آهنگ افزایش سلول های قادر به تداوم تکثیر می باشد ؛ بنابراین ممکن است طی یک دورة زمانی طولانی بر روی نتیجة پروتکل پرتودرمانی در جلسات تابش مؤثر باشد.

- اگر تقطیع دز طی دورة زمانی بسیار طولانی توزیع شود ، ممکن است تومورهای با T_{pot} کوتاه تجدید جامعه مجدد داشته باشند.

اندازه گيري زمان مستعد دو برابر شدن تومور

- بنابراين:

$$T_{pot} = \lambda\ T_S/LI$$

- T_S ، طول دوره سنتز DNA و LI ، اندکس نشاندار شدن (کسری از سلول های در حال سنتز DNA در هر زمان) و λ فاکتور تصحیح برای توزیع غیر خطی سلول ها در زمان گذر از چرخه می باشد.
- مقدار این فاکتور بین 0.67 و 1 می باشد.

اندازه گيري زمان مستعد دو برابر شدن تومور

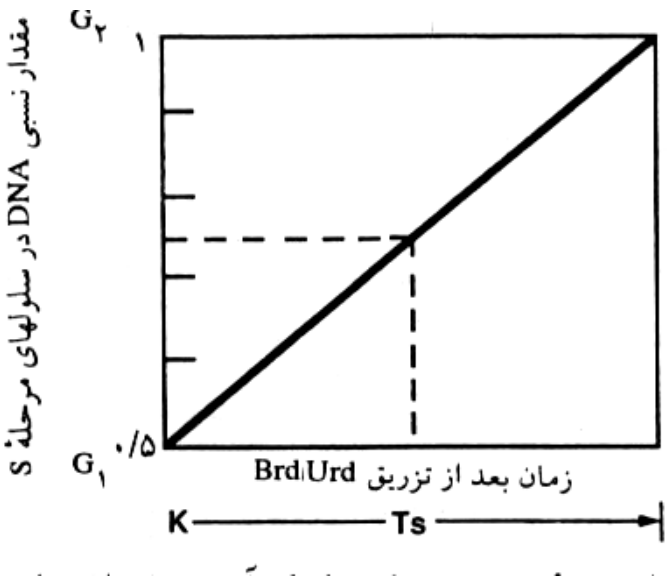
- در شرایط in vitro با نشاندار کردن جمعیت سلولی با تیمیدین تریتیم دار یا برومودئوکسی یوریدین و هر یک ساعت نمونه گیری و در وضعیت بالیني با استفاده از فلوسیتومتری می توان T_{pot} را تخمین زد.
- این عمل با تهیه یک نمونه بیوپسی ، ۴ تا ۸ ساعت پس از تزریق ردیاب آنالوگ تیمین (برومودئوکسی یوریدین یا ایدودئوکسی یوریدین) صورت می پذیرد.
- نمونه بیوپسی با آنتی بادی منوکلونال نشاندار شده فلوئورسانت که مشارکت آنالوگ تیمیدین در DNA را شنناسایی می نماید ، تیمار می شود.
- همچنین برای تعیین حجم DNA ، نمونه با یدید پروپیدیم رنگ آمیزي می شود.

اندازه گيري زمان مستعد دو برابر شدن تومور

- یک سوسپانسیون سلولی منفرد از نمونه بیوپسی شده برای اندازه گيري مقدار DNA (قرمز) و مقدار بروموديئوکسی یوریدین (سبز) از فلوسیتومتر استفاده می شود.
- اندکس نشاندار شدن نسبت سلول هايي است که رنگ فلورسانس سبز را نشان می دهند.
- T_S را می توان از میانگین فلوئورسانس قرمز سلول های S نسبت به سلول های G_1 و G_2 محاسبه کرد.
- لازم به ذکر است که حجم DNA سلول ها در G_2 دو برابر G_1 است.

اندازه گيري زمان مستعد دو برابر شدن تومور

- در این روش ، فلوئورسانس قرمز سلول های نشاندار شده با برومودئوکسی یوریدین (یعنی حجم سلول ها در مرحله S) به طور خطی با زمان افزایش می یابد.
- پس اگر نمونه بیوپسی ، ۶ ساعت پس از تجویز BrdUrd برداشته شده باشد وحجم نسبی DNA سلول های نشاندار شده 0.75 باشد ، T_S معادل ۱۲ ساعت خواهد بود.



اندازه گيري زمان مستعد دو برابر شدن تومور

- در این روش مقدار متوسط T_{pot} سلول های نمونه بیوپسی شده تعیین می شود زیرا سلول ها از یکدیگر جدا شده و به سوسپانسیون سلول های منفرد تبدیل می شوند.

- بنابر شواهد به دست آمده سلول ها به صورت تنها دارای T_{pot} بسیار کوتاهی هستند.

نسبت رشد

- با توجه به الگوی رشد تومورهای توپر ، در هر لحظة مشخص تمام سلول های تومور- که زنده و قابلیت رشد مداوم دارند- بواقع چرخة سلول را پشت سر نمی گذارند.
- جمعیت ، متشکل از سلول های تکثیر شونده (P) و سلول های ثابت (Q) است.
- نسبت رشد (Growth Fraction = GF) نسبت تعداد سلول های در حال تکثیر به کل تعداد سلول (P + Q) است.

نسبت رشد

$$GF = P/ (P + Q)$$

- در این روش دو زیر جمعیت سلولی مشخص وجود دارد ؛ یکی در حال رشد با چرخة سلولی یکنواخت و دیگری که اصلاً در حال رشد نمی باشد.
- نسبت سلول های نشاندار شده تقریباً نسبت رشد را نشان می دهد.