

بررسی اثربخشی رژیم‌های پرتودرمانی تقطیعی کوچک بر رده‌ی سلولی ACHN کارسینومای سلول کلیوی

مریم خرمی‌زاده^۱، دکتر سید علی حسین صابری^۲، دکتر پروانه شکرانی^۳،
دکتر محمد جواد طهماسبی بیرگانی^۴، دکتر سید حسین حجازی^۵، دکتر علی رضا عموحیدری^۶

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: گزینه‌های درمانی برای افراد مبتلا به کارسینومای سلول کلیوی پیشرفته محدود می‌باشد. سلول‌های توموری کارسینومای سلول کلیوی نسبت به پرتودرمانی سنتی با مقادیر ۲-۱/۸ Gray در هر تقطیع مقاوم است و از پرتودرمانی فقط جهت تسکین استفاده می‌شود. این پژوهش، با هدف بررسی اثربخشی پروتکل‌های تابشی با تقطیع‌های کوچک، بر روی سلول‌های سرطانی کارسینومای سلول کلیوی رده‌ی ACHN، جهت درمان، صورت گرفت.

روش‌ها: پس از کشت رده‌ی سلولی سرطان سلول کلیوی انسانی در محیط آزمایشگاهی، سلول‌ها به طور هم‌زمان با تک تقطیع‌های ۸، ۶ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو تایی ۳ × ۲، ۴ × ۲ و ۵ × ۲ Gray پرتوتابی شدند. سپس، درصد بقای سلول‌ها با استفاده از آزمون MTS [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium] به مدت ۱۲۰ ساعت مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: با افزایش دز در هر تقطیع، نسبت بقا کاهش یافت. همچنین، با گذشت ۱۲۰ ساعت از تابش‌دهی، کسر بقا حدود ۷۰ درصد نسبت به مدت زمان اولیه‌ی پس از تابش‌دهی کاهش نشان داد. نسبت بقا در رژیم پرتودرمانی تقطیع دو تایی ۵ × ۲ Gray نسبت به رژیم پرتودرمانی تک تقطیع ۱۰ Gray به طور معنی‌داری کمتر بود ($P = 0/02$)؛ اما تفاوت معنی‌داری در مقایسه‌ی دو رژیم دیگر مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه‌ی ما در شرایط برون‌تنی نشان داد که کارسینومای سلول کلیوی رده‌ی ACHN نسبت به تقطیع‌های کوچک با دزهای بیشتر از Gray ۲ حساس است و دزهای ۱۰ Gray و بالاتر رژیم پرتودرمانی با دو تقطیع، نسبت به رژیم پرتودرمانی تک تقطیع، نقش مؤثرتری در از بین بردن این بدخیمی دارد.

واژگان کلیدی: پرتودرمانی، رژیم پرتودرمانی تقطیعی کوچک، کارسینومای سلول کلیوی

ارجاع: خرمی‌زاده مریم، صابری سید علی حسین، شکرانی پروانه، طهماسبی بیرگانی محمد جواد، حجازی سید حسین، عموحیدری علی رضا. بررسی اثربخشی رژیم‌های پرتودرمانی تقطیعی کوچک بر رده‌ی سلولی ACHN کارسینومای سلول کلیوی. مجله دانشکده پزشکی

اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۸): ۴۰۰-۴۰۹

۱- گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

۲- دانشیار، گروه ژنتیک، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

۳- استاد، گروه فیزیک و مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- استاد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

۵- استاد، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک و گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۶- آنکولوژیست پرتویی، بیمارستان میلاد، اصفهان، اصفهان

مقدمه

شایع‌ترین نوع سرطان کلیه در بزرگسالان، کارسینومای سلول کلیوی می‌باشد که حدود ۹۵-۹۰ درصد بدخیمی‌های کلیه را شامل می‌شود (۱). بر اساس اطلاعات مؤسسه‌ی ملی سرطان آمریکا در سال ۲۰۱۴، ۶۳۹۲۰ نفر به کارسینومای سلول کلیوی مبتلا خواهند شد و ۱۳۸۶۰ نفر در اثر این بدخیمی خواهند مرد (۲). آمار دانشگاه شهید بهشتی تهران نشان می‌دهد که کارسینومای سلول کلیوی در ایران، سومین سرطان شایع دستگاه اداری است (۳).

در ۲ درصد از بیمارانی که به کارسینوما در یک کلیه مبتلا می‌شوند، تومورهای اولیه و یا متاستازها پیشرفت نموده، کلیه‌ی دوم را نیز درگیر می‌کند (۴). برآورد بقای ۵ ساله برای بیماران مبتلا به کارسینومای سلول کلیوی متاستازیک حدود ۲۰ درصد (با متوسط بقای ۴۸-۱۲ ماه) است (۵). گزینه‌های درمانی برای افراد مبتلا به کارسینومای سلول کلیوی پیشرفته، محدود (۶) و درمان استاندارد به صورت جراحی می‌باشد. جراحی نقش زیادی در درمان کارسینومای سلول کلیوی متاستازیک به خصوص برای بیمارانی که یک کلیه‌ی آن‌ها فعال است، ندارد و انتخاب این گزینه مستلزم مصلحت‌اندیشی و دقت زیادی می‌باشد (۷-۸).

تا مدت‌ها فقط از ایتترلوکین-۲ و ایتترفرون آلفا به عنوان درمان‌های سیستمیک استفاده می‌شد، اما به تازگی موادی مانند Sunitinib و Sorafinib نیز معرفی شده‌اند که در افزایش مدت زمان بقای بیماران نقش دارند (۹). مطالعات نشان می‌دهد که پاسخ بیماران به درمان‌های سیستمیک، تضمین شده نیست و منجر به بهبودی کامل آنان نمی‌شود. برای بیمارانی

که متاستازهای موضعی تهدیدی برای عملکرد اندام‌های حیاتی‌شان می‌باشد، درمان‌های سیستمیک مناسب نیست (۱۰، ۷، ۶).

پرتودرمانی از دیگر گزینه‌های درمانی کارسینومای سلول کلیوی می‌باشد (۱۱). بر اساس مطالعات انجام شده، سلول‌های توموری کارسینومای سلول کلیوی میزان تکثیر پایینی دارند و به دلیل طولانی بودن زمان چرخه‌ی سلولی، فرصت کافی برای ترمیم بین سلولی در بین جلسات متوالی وجود دارد، بنابراین نسبت به پرتودرمانی سستی مقاوم هستند (۱۴-۱۲). با توجه به این خصوصیت بیولوژیک، به نظر می‌رسد که استفاده از دزهای بالاتر از ۲ Gray در هر جلسه و تعداد جلسات درمان کمتر از رژیم‌های سستی، برای افزایش بهره‌ی درمانی مؤثرتر باشد.

از آن‌جا که انجام جراحی و درمان‌های سیستمیک برای همه‌ی بیماران امکان‌پذیر نیست و همچنین، کارسینومای سلول کلیوی به پرتودرمانی مقاوم می‌باشد، پرتودرمانی سستی نقش کمی در درمان این نوع بدخیمی ایفا می‌کند و از این روش فقط جهت تسکین نوع متاستازیک آن استفاده می‌شود. بنابراین لازم است که از روش‌های کمتر تهاجمی یا غیر تهاجمی دیگر به عنوان گزینه‌ی درمانی جایگزین استفاده گردد.

در مطالعه‌ی Miwa و همکاران که بر روی گلیوبلاستومای مقاوم به پرتودرمانی صورت گرفت، از رژیم‌های تقطیعی کوچک با دزهای ۷-۵ Gray در هر تقطیع با دز کلی ۳۵-۲۵ Gray استفاده گردید و میزان بقای سلول‌های توموری به ترتیب ۷۱/۴ و ۳۱/۸ درصد کاهش یافت (۱۵). Dunavoelgyi و همکاران در تحقیق خود نشان دادند که استفاده از

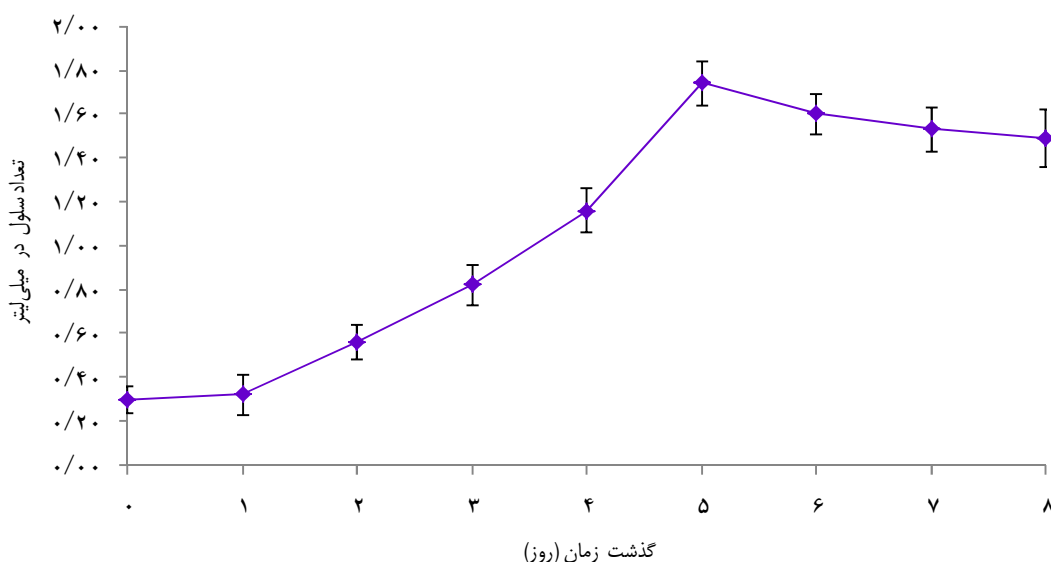
سلول‌ها در محیط کشت MEM- α (Minimum essential medium- α) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی، ۱ درصد اسیدهای آمینه‌ی غیر ضروری، ۱ میلی‌مولار سدیم پیروات، ۲ میلی‌مولار L-Glutamine و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آنتی‌بیوتیک در یک انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و حاوی ۵ درصد گاز دی‌اکسید کربن قرار داده شد.

منحنی رشد سلول: در روز صفر، ۸ پلیت کشت سلولی انتخاب گردید. پس از تریپسینه کردن سلول‌ها، تعداد $10^5 \times 3$ سلول در سه چاهک از هر پلیت کشت شد. سپس در هر روز تعداد سلول‌ها در سه چاهک به طور جداگانه با استفاده از لام نتوبار به مدت ۸ روز شمارش و منحنی رشد رسم گردید (شکل ۱). با رسم منحنی رشد سلول‌ها، زمان لازم برای رسیدن سلول‌ها به فازهای تأخیری، لگاریتمی و ثابت به دست آمد.

۴-۸ تقطیع کوچک با دز کلی ۵۰-۷۰ Gray، نقش مؤثری در کنترل ملانومای مقاوم به پرتو دارد (۱۶). از آن‌جا که میزان تکثیر سرطان کارسینومای سلول کلیوی (مانند گلیوبلاستوما و ملانوما) پایین می‌باشد و همچنین، این سلول‌ها مقاوم به رژیم‌های پرتودرمانی سنتی هستند، بنابراین مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثربخشی پروتکل‌های تابشی با تقطیع‌های کوچک و استفاده از دزهای بالا در هر تقطیع بر روی سلول‌های سرطانی کارسینومای سلول کلیوی (رده‌ی ACHN) جهت درمان (نه تسکین) انجام شد.

روش‌ها

کشت سلول: در تحقیق حاضر برای کشت آزمایشگاهی از رده‌ی سلولی انسانی ACHN کارسینومای سلول کلیوی که از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شده بود، استفاده گردید.



شکل ۱. منحنی رشد سلول‌ها در بازه‌ی زمان

فورمازون تولید گردید. برای انجام آزمون، چهار نمونه‌ی یکسان تهیه شد و جذب حاصل از هر یک از نمونه‌ها توسط دستگاه Elisa reader در طول موج ۴۹۰ نانومتر به مدت ۱۲۰ ساعت پس از تابش‌دهی قرائت گردید. در نهایت نتایج به صورت درصد جذب نوری سلول‌های زنده نسبت به سلول‌های شاهد (بدون تابش‌دهی) ثبت شد و درصد بقا با استفاده از رابطه‌ی زیر به دست آمد:

$$\text{Percentage survival} = \frac{\text{OD}_{\text{test}}}{\text{OD}_{\text{cont}}} \times 100 = \text{درصد بقا}$$

که OD_{test} و OD_{cont} به ترتیب نشان دهنده‌ی جذب نوری میانگین سلول و جذب نوری میانگین گروه شاهد می‌باشد.

در ادامه با توجه به چهار بار انجام هر آزمایش، میانگین و انحراف معیار بقا حاصل شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون آماری t در سطح معنی داری $P < 0/05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

درصد بقای رده‌ی سلولی ACHN در مدت زمان ۱۲۰-۲۰ ساعت پس از تابش‌دهی با تک تقطیع‌های ۶، ۸ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو تایی ۲ × ۳، ۲ × ۴ و ۲ × ۵ در جداول ۱ تا ۶ ارائه شده است. جدول ۱ نشان داد که اگر درصد بقا خیلی زود در ابتدای فاز لگاریتمی اندازه‌گیری شود، نتایج حاصل از آن با خطا همراه خواهد بود. بنابراین یک روز برای به دست آوردن نسبت بقا کافی نیست و لازم است که درصد بقا چند روز متوالی بعد از تابش بررسی گردد. نتایج حاصل از مقایسه‌ی جداول ۲ تا ۶ حاکی

آماده‌سازی سلول‌ها برای تابش: سلول‌ها در فلاسک T75 کشت شدند و هنگامی که بیش از ۷۰ درصد از سطح کف فلاسک را پر کردند، به وسیله‌ی Trypsin-EDTA از کف ظرف جدا و توسط لام نئوبار شمارش شدند. تعداد ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ سلول به هر یک از خانه‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای انتقال داده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت و قبل از این‌که تعداد سلول‌ها تغییر کند، سلول‌ها تحت تابش قرار گرفتند. تابش‌دهی: برای تابش‌دهی از دستگاه شتاب دهنده‌ی خطی ONCOR (ساخت شرکت زیمنس آلمان) در بیمارستان میلاد اصفهان استفاده گردید. جهت جلوگیری از پراکندگی پرتو، صفحه‌ی معادل آب به ضخامت ۵ سانتی‌متر در زیر پلیت کشت سلولی و صفحه‌ی معادل آب ۱/۵ سانتی‌متری به عنوان Build up بر روی آن قرار داده شد. سلول‌های کشت شده در پلیت‌های کشت سلولی با تک تقطیع‌های (Single fraction) ۶، ۸ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو تایی ۲ × ۳، ۲ × ۴ و ۲ × ۵ Gray پرتوتابی شدند و هر آزمون سه بار تکرار گردید.

بررسی سیتوتوکسیسیته‌ی پرتویی با استفاده از روش MTS [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium]: به منظور بررسی درصد سلول‌های زنده‌ی باقی‌مانده، آزمون کالیمتری با استفاده از کیت MTS (ساخت شرکت پرومگا ایالات متحده‌ی آمریکا) صورت گرفت. برای انجام این آزمون، پس از گذشت ۲۰ ساعت از تابش‌دهی سلول‌ها، به هر یک از چاهک‌ها ۲۰ میکرولیتر محلول MTS به همراه ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت افزوده شد و بعد از ۲ ساعت انکوباسیون سلول‌ها با محلول مذکور،

پرتودرمانی تک تقطیع ۱۰ Gray کاهش معنی‌داری داشت ($P = 0/02$). نسبت بقا در رژیم تقطیع دو تایی 2×4 Gray نسبت به پرتودرمانی تک تقطیع ۸ Gray 2×3 و رژیم تقطیع دو تایی 2×3 Gray نسبت به پرتودرمانی تک تقطیع ۶ Gray ($P = 0/07$) تفاوت معنی‌داری را نشان نداد.

از آن بود که با افزایش دز در هر تقطیع، نسبت بقا کاهش می‌یابد. همچنین، کسر بقا با گذشت ۱۲۰ ساعت پس از تابش‌دهی، کاهش در حدود ۷۰ درصد نسبت به مدت زمان اولیه‌ی پس از تابش‌دهی نشان داد. نسبت بقا در رژیم‌های پرتودرمانی تقطیع دو تایی 2×5 Gray نسبت به

جدول ۱. درصد بقای رده‌ی سلولی ACHN در مدت زمان ۲۰ ساعت پس از تابش‌دهی با تک تقطیع‌های ۶، ۸ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو تایی 2×3 ، 2×4 و 2×5 Gray

دز اعمالی (Gray)	بقای ۲۵۰۰ سلول (درصد)	بقای ۵۰۰۰ سلول (درصد)	میانگین \pm انحراف معیار
۰	۱۰۰	۱۰۰	$100 \pm 0/00$
۶	۱۰۹/۵۰	۹۷/۶۳	$103/58 \pm 5/90$
۸	۱۰۸/۹۹	۹۵/۵۱	$102/25 \pm 6/70$
۱۰	۱۰۱/۲۱	۱۰۲/۰۰	$101/60 \pm 0/39$
2×3	۱۰۳/۷۸	۹۱/۱۸	$97/48 \pm 6/30$
2×4	۱۰۱/۸۸	۹۳/۵۴	$97/71 \pm 4/10$
2×5	۱۰۴/۳۳	۸۸/۵۳	$69/43 \pm 7/80$

جدول ۲. درصد بقای رده‌ی سلولی ACHN در مدت زمان ۴۰ ساعت پس از تابش‌دهی با تک تقطیع‌های ۶، ۸ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو تایی 2×3 ، 2×4 و 2×5 Gray

دز اعمالی (Gray)	بقای ۲۵۰۰ سلول (درصد)	بقای ۵۰۰۰ سلول (درصد)	میانگین \pm انحراف معیار
۰	۱۰۰	۱۰۰	$100 \pm 0/00$
۶	۸۲/۴۶	۸۵/۱۱	$83/78 \pm 1/30$
۸	۸۰/۳۸	۸۶/۹۶	$83/68 \pm 3/20$
۱۰	۷۱/۹۵	۷۹/۰۳	$75/49 \pm 3/50$
2×3	۸۰/۴۶	۷۹/۸۶	$80/16 \pm 0/29$
2×4	۷۳/۹۶	۸۳/۹۸	$78/97 \pm 5/00$
2×5	۷۴/۳۹	۷۵/۹۵	$75/17 \pm 0/78$

جدول ۳. درصد بقای رده‌ی سلولی ACHN در مدت زمان ۶۰ ساعت پس از تابش‌دهی با تک تقطیع‌های ۶، ۸ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو تایی 2×3 ، 2×4 و 2×5 Gray

دز اعمالی (Gray)	بقای ۲۵۰۰ سلول (درصد)	بقای ۵۰۰۰ سلول (درصد)	میانگین \pm انحراف معیار
۰	۱۰۰	۱۰۰	$100 \pm 0/00$
۶	۶۵/۳۱	۶۸/۲۱	$66/76 \pm 1/40$
۸	۵۸/۷۹	۶۱/۴۲	$60/11 \pm 1/30$
۱۰	۴۵/۰۵	۵۲/۱۱	$48/58 \pm 3/50$
2×3	۶۳/۱۶	۶۵/۲۸	$69/22 \pm 1/06$
2×4	۵۷/۵۱	۵۸/۹۰	$58/20 \pm 0/96$
2×5	۴۴/۷۵	۴۸/۰۰	$46/37 \pm 1/60$

جدول ۴. درصد بقای رده‌ی سلولی ACHN در مدت زمان ۸۰ ساعت پس از تابش‌دهی با تک تقطیع‌های ۶، ۸ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو

تایی ۳×۲، ۴×۲ و ۵×۲ Gray

میانگین ± انحراف معیار	بقای ۵۰۰۰ سلول (درصد)	بقای ۲۵۰۰ سلول (درصد)	دوز اعمالی (Gray)
۱۰۰ ± ۰/۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۰
۵۳/۰۶ ± ۶/۰۶	۵۹/۱۲	۴۹/۹۹	۶
۴۱/۰۵ ± ۳/۷۰	۴۴/۸۰	۳۷/۲۹	۸
۳۵/۹۰ ± ۳/۹۰	۳۹/۸۷	۳۱/۹۲	۱۰
۴۹/۲۶ ± ۵/۷۰	۵۴/۹۹	۴۳/۵۳	۲×۳
۴۱/۸۲ ± ۶/۴۰	۴۸/۳۲	۳۵/۳۳	۲×۴
۲۹/۲۱ ± ۲/۵۰	۳۱/۷۴	۲۶/۶۹	۲×۵

جدول ۵. درصد بقای رده‌ی سلولی ACHN در مدت زمان ۱۰۰ ساعت پس از تابش‌دهی با تک تقطیع‌های ۶، ۸ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو

تایی ۳×۲، ۴×۲ و ۵×۲ Gray

میانگین ± انحراف معیار	بقای ۵۰۰۰ سلول (درصد)	بقای ۲۵۰۰ سلول (درصد)	دوز اعمالی (Gray)
۱۰۰ ± ۰/۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۰
۴۶/۸۵ ± ۴/۵۰	۵۱/۳۸	۴۲/۳۲	۶
۳۵/۹۸ ± ۳/۳۰	۳۹/۳۶	۳۲/۵۹	۸
۳۰/۴۱ ± ۴/۰۹	۳۴/۵۰	۲۶/۳۲	۱۰
۴۳/۶۱ ± ۵/۴۰	۴۹/۰۲	۳۸/۱۹	۲×۳
۲۶/۱۲ ± ۶/۴۰	۴۲/۵۵	۲۹/۶۹	۲×۴
۲۶/۵۸ ± ۲/۸۰	۲۹/۴۶	۲۳/۷۱	۲×۵

جدول ۶. درصد بقای رده‌ی سلولی ACHN در مدت زمان ۱۲۰ ساعت پس از تابش‌دهی با تک تقطیع‌های ۶، ۸ و ۱۰ Gray و تقطیع‌های دو

تایی ۳×۲، ۴×۲ و ۵×۲ Gray

میانگین ± انحراف معیار	بقای ۵۰۰۰ سلول (درصد)	بقای ۲۵۰۰ سلول (درصد)	دوز اعمالی (Gray)
۱۰۰ ± ۰/۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۰
۴۳/۲۴ ± ۷/۷۰	۵۱/۰۲	۳۵/۴۵	۶
۳۴/۴۱ ± ۶/۲۰	۴۰/۶۴	۲۸/۱۸	۸
۲۸/۷۶ ± ۴/۸۰	۳۳/۶۲	۲۳/۸۹	۱۰
۴۱/۰۷ ± ۳/۳۰	۴۴/۸۸	۳۸/۲۴	۲×۳
۳۲/۹۰ ± ۱/۰۰	۳۳/۹۱	۳۱/۸۸	۲×۴
۲۶/۰۹ ± ۴/۷۰	۳۰/۷۹	۲۱/۳۸	۲×۵

۱/۸-۲ Gray در هر تقطیع، نقش کمی در درمان این بدخیمی دارد (۱۱). پیشرفت‌هایی که در فیزیک و تکنیک‌های پرتودرمانی مانند پرتودرمانی با هدایت

بحث

کارسینومای سلول کلیوی جزء سلول‌های مقاوم به پرتودرمانی محسوب می‌شود و پرتودرمانی سنتی با

تصویر (Image guided radiotherapy یا IGRT) صورت گرفته است، امکان استفاده از دزهای بالا را فراهم می‌سازد (۱۷). مطالعه‌ی حاضر به منظور بررسی درصد بقای رده‌ی سلولی ACHN در دو رژیم پرتودرمانی تک تقطیع و دو تقطیع و یافتن یک گزینه‌ی درمانی کمتر تهاجمی یا غیر تهاجمی انجام گرفت.

درصد بقا با افزایش دز در هر تقطیع کاهش می‌یابد و با افزایش مدت زمان پس از تابش دهی، مرگ سلول‌ها افزایش پیدا می‌کند (از ۵۰ درصد برای ۷۲ ساعت پس از تابش به میزان ۷۰ درصد برای ۱۲۰ ساعت تغییر یافت). Marekova و همکاران به این نتیجه رسیدند که سلول‌های لنفوسیت، ۷۲ ساعت پس از تابش با دز ۱۰ Gray از بین می‌روند. آنان علت مرگ سلول‌ها را آپوپتوز بیان کردند که به مقدار دز بستگی دارد. همچنین سلول‌ها پس از تابش در فاز G2 متوقف شده، آپوپتوز دیرتر و حدود ۲۴-۷۲ ساعت پس از تابش اتفاق می‌افتد (۱۸) که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر همسو می‌باشد.

بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، اثرات بیولوژیک هنگامی که دز تابشی پرتو به یک تقطیع ۱۰ Gray منتقل گردید، نسبت به زمانی که پرتو در دو تقطیع ۲ × ۵ Gray اعمال شد، کاهش یافت. این در حالی است که درصد بقای سلول تک تقطیع ۶ و ۸ Gray به ترتیب نسبت به دو تقطیع ۲ × ۳ و ۲ × ۴ Gray تفاوت معنی‌داری نداشت. Wang و همکاران در تحقیق خود نشان دادند کل مدت زمانی که طول می‌کشد تا یک تک تقطیع منتقل شود، بر روی نتایج درمان به خصوص درمان تومورهایی که میزان تکثیر پایینی دارند (مانند سرطان پروستات) تأثیر

چشمگیری دارد (۱۹).

دلیل اصلی افزایش بقای سلول با افزایش مدت زمان واگذاری دز، ترمیم آسیب‌های زیر کشنده در هنگام واگذاری می‌باشد. تابش پرتو ممکن است منجر به آسیب‌های کشنده و یا آسیب‌های غیر کشنده در سلول‌های توموری گردد. سلول‌هایی که دچار آسیب‌های کشنده نشده‌اند، ممکن است ترمیم شوند که در نتیجه‌ی این ترمیم، بقای سلول‌های توموری افزایش می‌یابد (۲۱-۲۰). در پژوهش Sugie و همکاران مشخص گردید که در یک رژیم پرتودرمانی، دو پدیده‌ی ترمیم آسیب زیر کشنده و اکسیژن دار شدن مجدد در حالت موازنه با یکدیگر قرار دارند. کاهش اثر اکسیژن دار شدن مجدد، منجر به افزایش اثر ترمیم آسیب‌های زیر کشنده و در نتیجه کاهش مرگ سلول‌ها می‌شود (۲۲).

مطالعات نشان داده‌اند، اگرچه اعمال فاصله در بین جلسات انتقال دز باعث ترمیم آسیب‌های زیر کشنده و افزایش بقای سلول می‌گردد، اما ترمیم آسیب‌های زیر کشنده توسط پدیده‌ی دیگری به نام اکسیژن دار شدن مجدد که منجر به حساس شدن سلول‌ها نسبت به تابش بعدی می‌شود، تعدیل می‌گردد (۲۳-۲۴).

در مطالعه‌ی حاضر مدت زمان اعمال دز ۱۰ Gray بیشتر از مدت زمان لازم برای اعمال دزهای ۶ و ۸ Gray بود. با توجه به خصوصیت بیولوژیکی کارسینومای سلول کلیوی که میزان تکثیر پایینی دارد، به نظر می‌رسد که در هنگام اعمال دز در یک تقطیع ۱۰ Gray، درصدی از آسیب‌های زیر کشنده ترمیم شده، کسر بقا افزایش می‌یابد. از سوی دیگر، پدیده‌ی اکسیژن دار شدن مجدد در حد فاصل

تقطیع نقش مؤثرتری در از بین بردن کارسینومای سلول کلیوی دارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز به جهت تأمین هزینه‌ی طرح پژوهشی و همچنین از بخش رادیوتراپی و آنکولوژی بیمارستان میلاد اصفهان که همکاری صمیمانه‌ای در اجرای این پژوهش داشتند، تقدیر و تشکر نمایند.

بین تقطیع دو تایی 2×5 Gray، یک پدیده‌ی غالب بر ترمیم آسیب‌های زیر کشنده است و منجر به افزایش مرگ سلول‌ها نسبت به رژیم تک تقطیع می‌گردد.

در مجموع نتایج تحقیق حاضر در شرایط برون‌تنی (آزمایشگاهی) حاکی از آن بود که بر خلاف تصور مقاوم بودن کارسینومای سلول کلیوی به پرتودرمانی، این بدخیمی نسبت به تقطیع‌های کوچک با دزهای بیشتر از 2 Gray حساس است. به نظر می‌رسد رژیم پرتودرمانی با دو تقطیع در دزهای 10 Gray و بالاتر، نسبت به رژیم پرتودرمانی تک

References

- Rathmell WK, Godley PA. Recent updates in renal cell carcinoma. *Curr Opin Oncol* 2010; 22(3): 250-6.
- United State Department of Health and Human Services, National Cancer Institute (NCI). Cancer incidence-Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Registries Research Data [Online]. [cited 2014]; Available from: URL: <http://seer.cancer.gov/data/metadata.html>
- Akbari ME, Hosseini SJ, Rezaee A, Hosseini MM, Rezaee I, Sheikhvatan M. Incidence of genitourinary cancers in the Islamic Republic of Iran: a survey in 2005. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008; 9(4): 549-52.
- Bani-Hani AH, Leibovich BC, Lohse CM, Cheville JC, Zincke H, Blute ML. Associations with contralateral recurrence following nephrectomy for renal cell carcinoma using a cohort of 2,352 patients. *J Urol* 2005; 173(2): 391-4.
- Beitler JJ, Makara D, Silverman P, Lederman G. Definitive, high-dose-per-fraction, conformal, stereotactic external radiation for renal cell carcinoma. *Am J Clin Oncol* 2004; 27(6): 646-8.
- Graves A, Hessamodini H, Wong G, Lim WH. Metastatic renal cell carcinoma: update on epidemiology, genetics, and therapeutic modalities. *Immunotargets Ther* 2013; 2: 73-90.
- Miyao N, Naito S, Ozono S, Shinohara N, Masumori N, Igarashi T, et al. Late recurrence of renal cell carcinoma: retrospective and collaborative study of the Japanese Society of Renal Cancer. *Urology* 2011; 77(2): 379-84.
- Svedman C, Karlsson K, Rutkowska E, Sandstrom P, Blomgren H, Lax I, et al. Stereotactic body radiotherapy of primary and metastatic renal lesions for patients with only one functioning kidney. *Acta Oncol* 2008; 47(8): 1578-83.
- Bamias A, Tzannis K, Papatsoris A, Oudard S, Beuselink B, Escudier B, et al. Prognostic significance of cytoreductive nephrectomy in patients with synchronous metastases from renal cell carcinoma treated with first-line sunitinib: a European multiinstitutional study. *Clin Genitourin Cancer* 2014; 12(5): 373-83.
- Abara E, Chivulescu I, Clerk N, Cano P, Goth A. Recurrent renal cell cancer: 10 years or more after nephrectomy. *Can Urol Assoc J* 2010; 4(2): E45-E49.
- De MG, Khoo V, Escudier B, Joniau S, Bossi A, Ost P, et al. Radiotherapy for renal-cell carcinoma. *Lancet Oncol* 2014; 15(4): e170-e177.
- Fowler JF. Biological factors influencing optimum fractionation in radiation therapy. *Acta Oncol* 2001; 40(6): 712-7.
- Yang Y, Xing L. Optimization of radiotherapy dose-time fractionation with consideration of tumor specific biology. *Med Phys* 2005; 32(12): 3666-77.
- Wilson D, Hiller L, Gray L, Grainger M, Stirling A, James N. The effect of biological effective dose on time to symptom progression

- in metastatic renal cell carcinoma. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2003; 15(7): 400-7.
15. Miwa K, Matsuo M, Ogawa S, Shinoda J, Yokoyama K, Yamada J, et al. Re-irradiation of recurrent glioblastoma multiforme using 11C-methionine PET/CT/MRI image fusion for hypofractionated stereotactic radiotherapy by intensity modulated radiation therapy. *Radiat Oncol* 2014; 9: 181.
 16. Dunavoelgyi R, Dieckmann K, Gleiss A, Sacu S, Kircher K, Georgopoulos M, et al. Local tumor control, visual acuity, and survival after hypofractionated stereotactic photon radiotherapy of choroidal melanoma in 212 patients treated between 1997 and 2007. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2011; 81(1): 199-205.
 17. Otsuka S, Shibamoto Y, Iwata H, Murata R, Sugie C, Ito M, et al. Compatibility of the linear-quadratic formalism and biologically effective dose concept to high-dose-per-fraction irradiation in a murine tumor. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2011; 81(5): 1538-43.
 18. Marekova M, Vavrova J, Vokurkova D, Psutka J. Modulation of ionizing radiation-induced apoptosis and cell cycle arrest by all-trans retinoic acid in promyelocytic leukemia cells (HL-60). *Physiol Res* 2003; 52(5): 599-606.
 19. Wang JZ, Li XA, D'Souza WD, Stewart RD. Impact of prolonged fraction delivery times on tumor control: a note of caution for intensity-modulated radiation therapy (IMRT). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 57(2): 543-52.
 20. Elkind MM, Sutton H. X-ray damage and recovery in mammalian cells in culture. *Nature* 1959; 184: 1293-5.
 21. ELKIND MM. The initial part of the survival curve: does it predict the outcome of fractionated radiotherapy? *Radiat Res* 1988; 114(3): 425-36.
 22. Sugie C, Shibamoto Y, Ito M, Ogino H, Miyamoto A, Fukaya N, et al. Radiobiologic effect of intermittent radiation exposure in murine tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 64(2): 619-24.
 23. Jiang L, Xiong XP, Hu CS, Ou ZL, Zhu GP, Ying HM. In vitro and in vivo studies on radiobiological effects of prolonged fraction delivery time in A549 cells. *J Radiat Res* 2013; 54(2): 230-4.
 24. Shibamoto Y, Ito M, Sugie C, Ogino H, Hara M. Recovery from sublethal damage during intermittent exposures in cultured tumor cells: implications for dose modification in radiosurgery and IMRT. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 59(5): 1484-90.

Evaluating the Effectiveness of Small Fractionation Radiotherapy Regimens on the ACHN Renal Cell Carcinoma Cell Line

Maryam Khorrami-Zadeh PhD¹, Seyed Ali Hosein Saberi PhD², Parvaneh Shokrani PhD³,
Mohammad Javad Tahmasebi-Birgani PhD⁴, Seyed Hosein Hejazi PhD⁵,
Ali Reza Amouhedari MD⁶

Original Article

Abstract

Background: Renal cell carcinoma is considered to be a radioresistant tumor. Consequently, radiotherapy is used mainly for palliation of metastases or local tumor growth. The aim of this study was to evaluate the efficacy of the radiation protocols with small fractions on cell killing of ACHN human renal cell carcinoma cell line.

Methods: After cell culture, the ACHN cells were exposed to 6, 8 and 10 Gy of single fraction and 3 × 2, 4 × 2 and 5 × 2 Gy of two fractions. Viability was calculated using MTS assay [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium].

Findings: Exposing cultured cells to small fractions of radiation resulted to a mean decrease of 70% in cell survival over 120 hours after radiation. Survival fraction reduced with increasing the dose per fraction. Two fractions 5 × 2 Gy showed significant effect on cell survival compared to single fraction 10 Gy (P = 0.02).

Conclusion: Our results indicate that the small fraction is a valuable alternative to provide local tumor control.

Keywords: Radiotherapy, Small radiation fractionation, Renal cell carcinoma

Citation: Khorrami-Zadeh M, Saberi SAH, Shokrani P, Tahmasebi-Birgani MJ, Hejazi SH, Amouhedari AR. **Evaluating the Effectiveness of Small Fractionation Radiotherapy Regimens on the ACHN Renal Cell Carcinoma Cell Line.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(328): 400-9

1- Department of Medical Physics, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

2- Associate Professor, Department of Medical Genetics, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

3- Professor, Department of Medical Physics and Medical Engineering, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Professor, Department of Medical Physics, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

5- Professor, Skin Disease and Leishmaniasis Research Center AND Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

6- Radiation Oncologist, Milad Hospital, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Seyed Ali Hosein Saberi PhD, Email: ahsaberi70@hotmail.com