بررسی تأثیر ناهمگونی تقسیم سلولی در میزان برداشت IudR توسط سلولهای گلیوما در کشت اسفروئید و تک لایه‌ای با استفاده از روش فلوسیتومتری

علی نشاسته ریز Ph.D.☆♦

☆ دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پیراپزشکی

♦آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی ۱۴۱۵۵-۶۱۸۳، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پیراپزشکی

چکیده

* **هدف:** بررسی اثر ناهمگونی در تقسیم سلولی (Proliferation heterogeneity) در برداشت IudR (Iodo-2'-deoxy uridine) توسط سلولهای گلیوما کشت شده به‌صورت تک لایه‌ای در فازهای نمایی (Exponential) و ثابت (Plateau) و اسفروئید در اندازه‌های مختلف با استفاده از روش فلوسیتومتری

* **مواد و روشها:** کشت سلولی با استفاده از خط سلولی UVW منشعب از گلیومای انسانی گرید IV به‌صورت تک‌لایه‌ای در فازهای نمایی و ثابت انجام گرفت. اسفروئیدها از خط سلولی یاد شده در دو اندازهٔ متفاوت کوچک، (۲۰۰-۱۰۰ میکرومتر) و بزرگ (۱۰۰۰-۷۰۰ میکرومتر) کشت شده و با غلظتهای متفاوت IudR از ۱۰۰ میکرومولار تا ۱۰ نانومولار برای یک تا چهار برابر زمان دو برابر شدن (DT: Doubling Time) نگهداری شدند. درصد سلولهای نشاندار شده با IudR با استفاده از فلوسیتومتری در غلظت و DT متفاوت، اندازه‌گیری و مقایسه شدند.

* **یافته ها:** نتایج حاصل نشان داد که رابطهٔ معکوسی بین قطر اسفروئید و نسبت سلولها در چرخهٔ سلولی وجود دارد. درکشت تک لایه‌ای بیشتر از ۹۵ درصد از سلولها در فاز نمایی و ۶۲ درصد در فاز ثابت توسط IudR بعد از یک DT نشاندار شدند. نسبت نشاندار شدن (LI: Labelling Index) در اسفروئیدهای کوچک حدود ۷۶ درصد و در اسفروئیدهای بزرگ بعد از یک DT برابر ۲۸ درصد بود. نسبت سلولهای نشاندار شده (LI) در اسفروئیدهای کوچک و بزرگ با افزایش زمان انکوباسیون از یک به چهار DT افزایش یافت.

* **نتیجه‌گیری:** این نتایج می‌تواند به عنوان الگویی برای درمان گلیوما با روش Targeted radiotherapy زمانی که از IudR نشاندار شده با مواد رادیواکتیو بهره گرفته می‌شود، به‌صورت روش درمانی مکمل برای منهدم کردن سلولهای توموری باقیمانده بعد از جراحی استفاده شود.

گل واژگان: IudR، گلیوما، پرولیفراسیون سلولی، فلوسیتومتری

مقدمه

دانش پرولیفراسیون سلولی در تومورهای انسانی می‌تواند به عنوان اطلاعات با ارزشی در برنامه تشخیص و درمان به کار گرفته شود. مطالعه سنتز سلولی می‌تواند کمک بسیاری در نمایان سازی عوامل رشد سلولهای توموری و بدخیمی بیولوژیکی آنها داشته باشد (۱). روشهای سنتی برای اندازه گیری میزان سنتز سلولی شامل استفاده از مواد رادیواکتیو و مشتقات DNA به‌ویژه تیمین نشاندار شده با تریتیوم و اتورادیوگرافی برای نمایان ساختن ورود رادیونوکلوئید در داخل سلول وجود دارد (۲، ۳). به هر حال ممکن است مطالعات اتورادیوگرافی برای تکمیل زمانی طولانی نیاز داشته باشد و نتایج آنها ارزش محدودی در تکمیل درمان در بیماران متفاوت دارد. به همین دلیل و نیز به خاطر صدمات ناشی از استفاده از مواد رادیواکتیو (H3-Thymidine) اندازه گیری سنتز سلولی هرگز مرسوم نشد (۴).

تکنیک مترادف این اندازه گیری استفاده از بررسیهای فلوسیتومتری برای مطالعه وارد شدن برمودی‌اکسی‌یوریدین (BudR)[1] در داخل سلول با توجه به حجم محتویات DNA و اندازه گیری پروپیدیوم آیداید (PI)[2] است که همانند تیمین، BudR و ludr در مرحلهٔ S وارد DNA می‌شود. آنتی BudR آنتی‌بادی می‌تواند برای اندازه گیری نسبت سلولهای در حال تقسیم استفاده شود. امتیاز فلوسیتومتری بر تریتیوم اتورادیوگرافی شامل سرعت، قدرت کمی و قابلیت اندازه گیری همزمان است. مطالعات متعددی با استفاده از روش‌های فلوسیتومتری در تعیین فعالیتهای پرولیفراسیون سلولی در تومور مغزی با استفاده از ludR یا BudR صورت گرفته است (۵، ۶). ludR در دی‌اکسی‌ریبونوکلئیک سلولهایی وارد می‌شود که در فاز S قرار دارند. حضور سلولهایی که در فاز G_0 قرار دارند و تقسیم نمی‌شوند یکی ازمحدودیتهای عمده در استفاده از این رادیودارو در تومور هدف است. لذا باید اثر ناهمگونی در تقسیم سلولی بر پرتو درمانی ludR ارزیابی شود، زیرا محاسبات تئوری نشان داده است که این ناهمگونی می‌تواند به‌عنوان یک عامل محدود کننده در درمان تأثیر گذار باشد (۷).

این تأثیر در مطالعات دیگری نیز با به کارگیری ludR نشاندار شده با رادیواکتیو در مدلهای گلیوسارکومای رودنت، آسیت تخمدان (۸)، منژیال کارسینوما (۹، ۱۰)، گلیومای انسانی (۱۱) و رت (۱۲) نشان داده شده است.

روش فلوسیتومتری در مطالعهٔ حاضر به‌کار گرفته شد تا میزان برداشت ludR توسط سلولهای گلیومای کشت شده به‌صورت (تمایی، ثابت) تک لایه‌ای و اسفروئید در اندازه‌های مختلف اندازه گیری شود.

اساس این روش، اندازه گیری نسبت سلولهای نشاندار شده با ludR در شرایط *In vitro* در حالتهای مختلف کشت است. این نتایج می‌تواند به‌عنوان یک الگو در درمان با روش رادیودرمانی سلول هدف و تأثیر ناهمگونی تقسیم سلولی در برداشت ludR نشاندار شده با رادیواکتیو به کار گرفته شود.

مواد و روشها

خط سلولی UVW منشعب از گرید IV گلیوما به‌کار گرفته شد. کشت به صورت تک‌لایه‌ای با استفاده از محیط MEM[3] حاوی (V/V) ۱۰ درصد سرم جنین گاوی، پنی‌سیلین و استرپتومایسین (۱۰۰ I.U/ml)، ضد قارچ (۲ mg/ml) و گلوتامین (۲۰۰ میلی‌مولار) در فاز نمایی صورت گرفت. DT سلولی برابر ۴۴ ساعت بود.

* کشت درفاز ثابت

10^5 سلول در میلی‌لیتر در پلیت well-۲۴ روی Coverslip کاشته و در هر خانه یک میلی‌لیتر محیط کشت ریخته شد. پس از انکوباسیون در انکوباتور حاوی گازکربنیک برای ۳-۱ روز، Coverslip به پتری‌دیش ۹۰ سانتی‌متر حاوی ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت منتقل شده و سپس در انکوباتور حاوی گازکربنیک قرار داده شد. محیط کشت تا زمان انباشته شدن سلولها روی Coverslip، هر دو روز تعویض شد. بعد از ۱۲ روز رشد سلولهامتوقف شده و شمارش سلولی هیچ افزایشی را در تعداد سلولها نشان نداد.

* کشت اسفروئید

حدود یک میلیون سلول از خط سلولی در فاز نمایی در پتری‌دیشهای بیولوژیک که حاوی ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت بود، در شرایط گازکربنیک پنج درصد برای ۴۸ ساعت انکوباسیون شدند. سپس سلولها به فلاسکهای چرخنده حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت در شرایط گازکربنیک ۵ درصد و حرارت ۳۷° سانتی‌گراد منتقل شدند تا اسفروئیدهایی با اندازه‌های مختلف به‌دست آید.

* فلوسیتومتری

فلوسیتومتری برای سلولها در شرایط تک لایه‌ای برای فازهای نمایی و ثابت، همچنین برای تک سلولهای به‌دست آمده از اسفروئیدها انجام شد. در این روش اسفروئیدها در محلول (V/V) ۲۵ درصد PBS[4] و EDTA[5] یک میلی‌مولار برای مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷° سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس با افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر محیط کشت، اسفروئیدها به‌صورت مکانیکی تخریب شده و از یک سوزن با اندازه ۲۵ عبور داده شدند. آزمایشهای میکروسکوپی، تک سلولی بودن آنها را تأیید نمود. سلولها برای مدت ۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰g سانتریفوژ شده و پس از برداشتن مایع رویی، در اتانول ۷۰ درصد آبگیری و تثبیت شدند. تجزیه DNA با افزودن یک میلی‌لیتر اسیدکلریدریک دو مولار پس از سانتریفوژ در سرعت ۲۰۰۰g برای مدت ۵ دقیقه انجام شد.

محصول به‌دست آمده با افزودن ۱میلی‌لیتر از بافربوراکس خنثی

1. Bromodioxiuridine
2. Propidum Iodide
3. Minimal Essential Medium
4. Phosphate Buffered Saline
5. Ethylenediamine tetraacetic acid

شد. بعد از ۲/۵ دقیقه سلولها مجدداً سانتریفوژ شده و با ۱میلی‌لیتر از PBS و یک میلی‌لیتر PBT[1] (pH ۸/۵) برای مدت ۵ دقیقه شستشو شدند. ۱۰۰ میلی‌لیتر از آنتی BudR آنتی‌بادی رفیق شده به نسبت $\frac{1}{30}$ (Dako, Uk) در PBT به سلولها افزوده و برای مدت یک ساعت در حرارت اطاق نگهداری شد. سپس در PBS سه بار شستشو شده و پس از برداشتن مایع رویی، ۱۰۰ میلی‌لیتر از anti-mouse و FITC[2] (Dako ،UK) رقیق شده به نسبت $\frac{1}{40}$ در PBT به سلولها افزوده شده و برای مدت ۳۰ دقیقه در حرارت اطاق نگهداری شد. سپس سلولها سه بار با PBS شستشو شده و یک میلی‌لیتر PI به آنها اضافه شد و برای مدت ۳۰ دقیقه در حرارت اطاق نگهداری شدند. بعد از سانتریفوژ کردن سلولها و برداشت مایع رویی آن، سلولها مجدداً در یک میلی‌لیتر PBS قرار گرفتند. آنالیز فلوسیتومتری توسط دستگاه Epics coulter (Flirida ،USA) با لیزر ۱۵ میلی‌ولت آرگون در ۴۸۸ نانومتر انجام گرفت.

* اثر غلظت IudR در میزان برداشت آن در سلولهای تک لایه‌ای

۵-بدرو-۲-دی اکسی یوریدین (sigma ،poolDorsete) در محیط کشت حل شد تا غلظتهای متفاوتی از IudR از ۱۰۰ میکرومولار تا ۱۰ نانومولار ایجاد شود. محصول به‌دست آمده با استفاده از فیلترهای ۰/۲۲ (Millipore ،France) استریل شد. سلولهای تک‌لایه‌ای در فازهای نمایی و ثابت در شرایط ۳۷° سانتی‌گراد و گازکربنیک پنج درصد و برای یک DT برابر ۴۴ ساعت با غلظتهای متفاوت IudR انکوباسیون شده، سپس طبق روش ارایه شده توسط فلوسیتومتری آنالیز شدند.

* اثر غلظت IudR در میزان برداشت آن در اسفروئیدها

تأثیر غلظت IudR در دو محدوده اسفروئید ۴۰۰-۳۰۰ و ۱۰۰۰-۷۰۰ میکرومتر اندازه‌گیری شد. اسفروئیدها پس از انتقال از فلاسک چرخنده به فلاسکهای ۲۵ سانتی‌متر مربع که سطح آنها توسط آگار یک درصد (W/V) پوشیده شده بود در شرایط گازکربنیک پنج درصد با غلظتهای متفاوت IudR برای مدت ۵۲ ساعت انکوباسیون شدند. پس از شستن اسفروئیدها درمحلول PBS و تخریب آنها توسط تریپسین تجزیه فلوسیتومتری صورت گرفت.

* اثر اندازه اسفروئید و زمان انکوباسیون در برداشت IudR

اسفروئیدهای مختلف در اندازه های ۲۰۰-۱۰۰ و ۱۰۰۰-۷۰۰ میکرومتر پس از انتقال از فلاسک چرخنده به فلاسکهای ۲۵ سانتی‌مترمربع که با آگار پوشیده شده بود با ۱۰۰ میکرومولار IudR از یک تا چهار DT (۵۲ تا ۲۰۸ ساعت) در انکوباتور نگهداری شدند. تجزیه فلوسیتومتری برابر روش گذشته صورت گرفت.

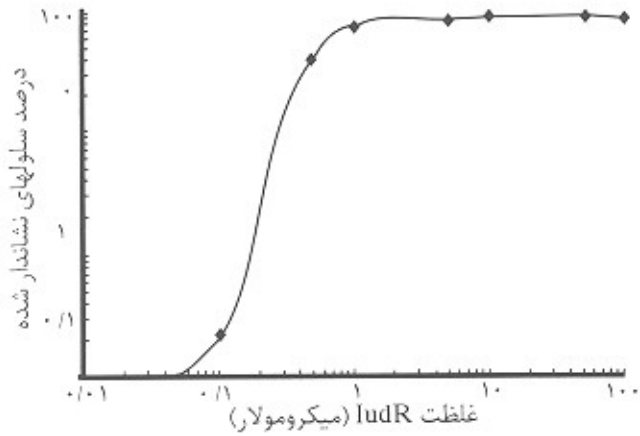
* آنالیز آماری

ارتباط بین IudR LI و زمان انکوباسیون به وسیله آنالیز رگراسیون برای هر یک از حالات کشت سلولی خطی بررسی شد. نسبت نشاندار شدن پس از انکوباسیون برای دو DT یا بیشتر با Pairwise basis انجام شد. برای مقایسه نسبت نشاندار شدن کشتهای متفاوت (فاز نمایی با ثابت و اسفروئیدهای کوچک با اسفروئیدهای بزرگ) student *t* test انجام شد و در تمام حالات $P<0.05$ بود.

یافته‌ها

* غلظت IudR برای مطالعات کشت تک لایه‌ای

نمودار شماره ۱ درصد سلولهای نشاندار شده توسط IudR را در محدودهٔ غلظتهای متفاوت از ۱۰۰ میکرومولار تا ۱۰ نانومولار نشان می‌دهد. حداکثر درصد ثابت از سلولهای نشاندار شده در غلظت یک میکرومولار و بالاتر به‌دست آمد. غلظتهای کمتر از ۰/۱ میکرومولار هیچ سلول لکه‌دار شده با آنتی BudR را نشان نداد.

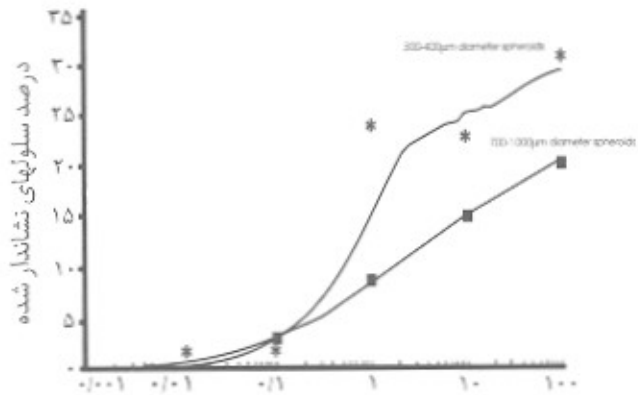


نمودار ۱: درصد LI در کشت تک لایه‌ای پس از انکوباسیون در غلظتهای متفاوت IudR از (۱۰۰nM-۱۰۰μM)

* غلظت IudR برای مطالعات کشت اسفروئید

نشاندار شدن سلولها توسط IudR در اسفروئیدها با مطالعاتی که غلظت IudR از ۱۰۰ میکرو مولار تا ۱۰ نانو مولار بود پس از زمان انکوباسیون برای یک DT انجام شد. دو اندازهٔ متفاوت از اسفروئید ۴۰۰-۳۰۰ و ۱۰۰۰-۷۰۰ میکرومتر انتخاب شد تا اثر اندازه میکرواسفروئیدها و ناهمگونی تقسیم سلولی در برداشت IudR مطالعه شود. ارتباط بین غلظت IudR و سلولهای نشاندار شده در نمودار ۲ نشان داده شده است. نتایج به دست آمده برخلاف کشت تک‌لایه‌ای نشاندار نشدن تمام سلولها را در همه اندازه‌های اسفروئیدها نشان می‌دهد. بر اساس این نتایج غلظت ۱۰۰ میکرومولار از IudR به‌اندازهٔ کافی قابلیت اندازه‌گیری دقیق سلولهای نشاندار شده را در کشت اسفروئیدها دارد.

1. Profile Based Therapy
2. Fluorescein isothiocyanate



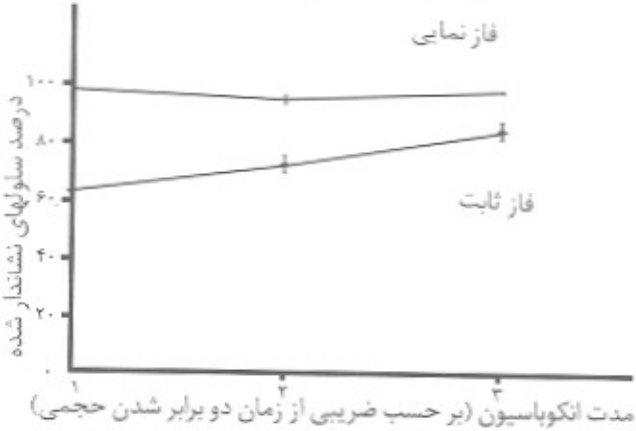
نمودار ۲: درصد LI در کشت اسفروئید پس از انکوباسیون در غلظتهای متفاوت IudR

این غلظت همچنین با غلظت قابل استفاده از IudR در مطالعات کلینیکی نیز مطابقت دارد؛ به همین دلیل برای اندازه‌گیری تأثیر زمان انکوباسیون در میزان سلولهای نشاندار شده به کار گرفته شد.

به‌طور اساسی در غلظتهای کمتر از ۰/۱ میکرومولار هیچ‌گونه سلولی که با آنتی BudR نشان‌دار شده باشد مشاهده نشد.

* برداشت IudR درکشتهای تک لایه‌ای

اثر ناهمگونی تقسیم سلولی در برداشت IudR در سلولهای فاز نمایی که دارای کمترین میزان ناهمگونی تقسیم هستند و سلولهای در فاز ثابت با سطح بالاتری از ناهمگونی تقسیم سلولی مطالعه شد. سلولها برای یک تا سه DT با غلظت ۱۰ میکرومولار IudR انکوباسیون شدند. نمودار شماره ۳ میزان نشان‌دار شدن سلولها درکشت تک لایه‌ای در فازهای نمایی و ثابت را نشان می‌دهد.



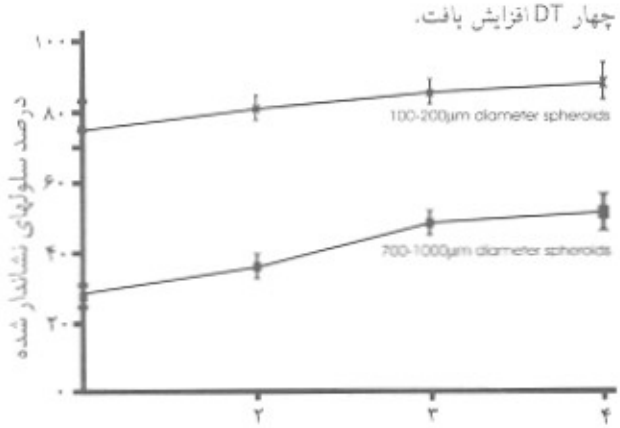
نمودار ۳: مقایسه نسبت نشان‌دار شدن (LI) در سلولهای کشت شده به‌صورت تک لایه‌ای در فازهای نمایی و ثابت بعد از انکوباسیون به‌مدت یک تا سه DT

میزان LI برای سلولها در فاز نمایی با نسبت ۹۷ درصد و r=۰/۰۰۰۱ برای زمانهای انکوباسیون متفاوت ثابت باقی ماند.

درکشت تک‌لایه ای به صورت ثابت ،LI با افزایش زمان انکوباسیون افزایش یافت (P<0.001 و r=۹۴٪) و این افزایش از میانگین ۶۱/۵ درصد (SE±۱/۷٪) بعد از یک DT به ۸۴/۸ درصد (SE±۱/۹٪) بعد از سه DT رسید. معادله رگراسیون خطی در ارتباط با LI و زمان انکوباسیون در واحدهای DT (T) به صورت LI= ۵۰/۱+۱۱/۵ T بود. مقایسه جفت گروهها نشان داد که LIبعد از ۲ و ۳ DT به صورت معنی‌داری بالاتر از یک DT است (P<0.05).

* اثر اندازه اسفروئید و زمان انکوباسیون در برداشت IudR

ارتباط بین LI IudR و زمان انکوباسیون در شکل ۴ نشان داده شده است. نشان‌دار شدن سلولها توسط IudR در اسفروئیدهای چک (۲۰۰-۱۰۰ میکرومولار) با افزایش زمان انکوباسیون افزایش یافت (P<0.001، r=۰/۷۷). LI با میانگین ۷۶/۵ درصد (SE± ۱/۹٪) بعد از یک DT به ۸۸/۵ درصد (SE± ۱۰٪) بعد از چهار DT افزایش یافت.



نمودار ۴: نسبت نشان‌دار شدن برای اسفروئید کوچک و بزرگ بعد از انکوباسیون به‌مدت یک تا چهار زمان دو برابر شدن حجمی در غلظتهای متفاوت IudR

معادله رگراسیون خطی LI و T در واحدهای DT با LI= ۷۲/۸+۴T برابر بود. مقایسه جفت گروهها نشان داد که LI پس از ۳ و ۴ DT به‌صورت معنی‌داری پس از یک DT بالاتر است (P<0.05). LI در اسفروئیدهای بزرگ (۱۰۰۰-۷۰۰ میکرومتر) نیز پس ازافزایش زمان انکوباسیون افزایش یافت (P<0.001، r=۰/۸۲) ولی این میزان افزایش LI از LI اسفروئیدهای کوچک در تمام زمانهای انکوباسیون پایین‌تر بود. میانگین LI در اسفروئیدهای بزرگ از میانگین ۲۹ درصد، (SE± ۲/۳٪) برای یک DT به ۵۱ درصد (SE± ۴/۳٪) بعد از چهار DT افزایش یافت. معادله رگراسیون خطی LI و T برای اسفروئیدهای بزرگ به صورت LI= ۲۱/۵+۷/۸T بود. مقایسهٔ جفت گروهها نشان داد که LI بعد از ۳ و ۴ DT به‌صورت معنی‌داری بالاتر است (P<0.005).

بحث

هدف اصلی این مطالعات، بررسی اختلاف در برداشت IudR برای اشکال مختلف کشت سلولی جهت تعیین تأثیر افزایش زمان انکوباسیون و غلبه کردن بر محدودیت برداشت IudR اعمال شده توسط ناهمگونی

در تقسیم سلولی بود. نتایج به‌دست آمده تأیید کننده این نکته بود که غلظت مؤثر IudR برای تعیین نسبت LI در حالات متفاوت کشت سلولی (تک لایه‌ای و اسفروئید) ضروری است.

همان‌گونه که در نمودار ۱ نشان داده شده است، LI در کشت تک لایه‌ای در فاز نمایی به حداکثر میزان خود یعنی ۹۷ درصد در غلظت یک میکرومولار رسید، در حالی که LI در اسفروئیدها با افزایش غلظت IudR تا ۱۰۰ میکرومولار افزایش یافت (نمودار ۲). شاید علت این اختلاف غلظت بسیار پایین IudR باشد که در اندازه‌گیری فلوسیتومتری پایین‌تر از آستانه حساسیت دستگاه است؛ در حالی که در غلظتهای بالاتر این اندازه‌گیری عملی‌تر انجام می‌شود و حتی احتمال افزایش بیشتر LI با افزایش غلظت IudR وجود دارد. به هر حال یکی از اهداف این مطالعه مشخص نمودن غلظت مناسب برای انجام مطالعاتی بود که بتواند تأثیر زمان انکوباسیون بر LI را نشان دهد و به نظر می‌رسد که غلظت ۱۰۰ میکرومولار که حدوداً همان غلظت مورد استفاده در پزشکی است می‌تواند این نکته را ارائه دهد.

IudR زمانی وارد DNA می‌شود که سلول در فاز S قرار دارد. بنابراین نسبتی از سلولها که سیکل سلولی آنها طولانی‌تر از زمان انکوباسیون با IudR است ممکن است نشاندار نشده باقی بمانند. در کشت تک‌لایه‌ای در فاز نمایی میزان LI با افزایش زمان انکوباسیون تغییری نکرد (نمودار ۳). این نتیجه نشان می‌دهد که تنها تعداد کمی از سلولها دارای سیکل سلولی بالاتر از میانگین بوده‌اند که این خود بیانگر ناهمگونی تقسیم سلولی کمتری در سیکل سلولی سلولهای فاز نمایی است.

در حالی که در کشت تک‌لایه‌ای در فاز نمایی حدود ۹۵ درصد سلولها و در فاز ثابت حدود ۶۲ درصد سلولها پس از یک DT (نمودار ۳) نشاندار شده بودند نسبت نشاندار شدن در اسفروئیدهای کوچک (۲۰۰-۱۰۰ میکرومتر) حدود ۷۶ درصد و برای اسفروئیدهای بزرگ (۱۰۰۰-۷۰۰ میکرومتر) حدود ۲۸ درصد پس از یک واحد دو برابر شدن حجمی بود (نمودار ۴). نتایج به‌دست آمده با غلظتهای متفاوت IudR نشان دهنده یک نسبت معکوس بین سلولها در چرخه سلولی و قطر اسفروئید است. درصد سلولهای نشاندار شده با IudR بعد از ۵۲ ساعت انکوباسیون برای اسفروئیدهای کوچک در غلظتهای ۱۰۰ میکرومولار و ۱۰ نانومولار بالاتر از اسفروئیدهای بزرگ بود (نمودار ۲). همچنانکه اندازهٔ اسفروئید افزایش می‌یابد، سلولهای پریفرال که دارای شرایط تغذیه‌ای مناسب هستند شروع به تقسیم می‌کنند ولی سلولهای داخلی به‌دنبال کاهش شرایط تغذیه‌ای و اکسیژن از چرخه سلولی خارج و وارد فاز G_0 یا استراحت می‌شوند (۱۳). بنابراین این احتمال می‌رود که در اسفروئیدهای بزرگ میزان برداشت IudR به دلیل پایین بودن درصد سلولها در فاز S کاهش یابد.

افزایش زمان انکوباسیون از یک به چهار واحد دو برابر شدن حجمی نسبت سلولهای نشاندار شده با IudR را در اسفروئیدهای کوچک و بزرگ افزایش داد که احتمالاً به‌دلیل ورود IudR به سلولهای دارای قابلیت تقسیم کمتر است؛ مانند سلولهایی که در شرایط هیپوکسیک یا در ناحیه با مواد غذایی کمتر قرار دارند.

در مقایسه با کشت تک‌لایه‌ای سلولهای UVW در هنگام رشد در قالب اسفروئید دچار کاهش در ریت تقسیم سلولی می‌شود که کاهش نسبت سلولها در سیکل سلولی را به‌دنبال دارد. کاهش فعالیت تقسیم سلولی ممکن است به دلایل مختلفی مانند تجمع ضایعات متابولیکی، کاهش اکسیژن و موادغذایی در سلولهای داخلی اسفروئید صورت گیرد (۱۳).

IudR پرتو درمانی سلول هدف زمانی کاملاً موفق خواهد شد که تمام سلولهای تومورال پاک شوند. بنابراین باید روش درمانی دقیقی طراحی شود تا بر محدودیتهای ناهمگونی تقسیم سلولی، حضور سلولها در فاز G_0 و سلولهای دارای چرخه سلولی طولانی غلبه نماید. این آزمایشات به روشنی نشان داد که افزایش زمان انکوباسیون اجازه خواهد داد تا اکثر سلولهایی که در چرخهٔ سلولی قرار دارند با IudR نشاندار شوند. این مسئله در درمان با قراردادن سلولهای باقیمانده توموری در معرض تشعشع حاصل از پرتو درمانی برای زمانهای متفاوت حاصل خواهد شد.

در میان روشهای مختلفی که برای تامین زمان لازم وجود دارد، می‌توان به کپسولهای پولیمر انباشته شده از رادیو دارو با قابلیت رهاسازی متفاوت و پمپ میکرواسموتیک اشاره کرد.

References

1. Hoshino T, Wilson CB: Cell kinetic analyses of human maliganant brain tumors (gliomas). Cancer 1979; 44: 956-962

2. Mayer JS, Connor RE: In vitro labelling of solid tissues with tritiated thymidine for autoradiographic detection of S-phase nuclei. Stain Technol 1977; 52: 185-191

3. Kury G, Catret HW: Autoradiographic study of human nervous system tumours. Arch Pathol 1965; 80: 38-42

4. Tannock IF: Cell kinetics and chemotherpy: A critical review. Cancer Treat Rep 1978; 62: 1117-1133

5. Assetti R, Butti G, Magrassi L, Donov M, Riccardi A, Gaetani P: Cell-kinetic characteristics of human brain tumours. Oncology 1990; 47: 344-351

6. Perez L A, Dombkowski D, Efird J, Preffer F, Suit HD: Cell proliferation kinetics in human tumour xenografts measured with iododeoxyuridine labelling index and flow cytometry: A study of heterogeneity and comparison between different methods of claculation and other proliferation measurments. Cancer Res 1995; 55: 392-398

7. O´Donoghue JA, Bardis M, Wheldon TE: Relationships between tumour size and curability for

uniformly targeted thrapy with beta-emitting radionuclides. J Nucl Med 1995; 36: 1903-1909
8. Kassis AI, Abbelestein SJ: Preclinical animal studies with radiolabeled IudR. J Nucl Med 1996; 37: 343-352
9. Kassis AI: Toxicity and thraputic affects of low-energy electrons. Nucl Instrum Meth Phys Res [B], 1994; 87, 279-284
10. Baranowska-Kortylewicz J, Makrigiorgos GM, Van den Abbeele AD, Berman RM, Adelstein SJ, Kassis AI: 5[123I] iodo-2'- doxyuridine in the radiotherapy of an early ascites tumour model. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1991; 21: 1541-1551
11. Neshasteh-Riz A, Mairs RJ, Angerson WJ, Stanton PD, Reeves JR, Rampling R, Owens J, Wheldon TE: Differential cytotoxicity of [123I] IUdR, [123I] IUDR, and [131I] IUDR to human glioma cells in monolayer or spheroid culture: effect of proliterative heterogeneity and radiation cross-fire. Br J Cancer 1998; 77(3):385-390
12. Mairs RJ, Wideman CL, Angerson WJ, Whateley TL, Reza MS, Reeves JR, Robertson Lm, Neshasteh-Riz A, Rampling R, Owens J, Allan D Graham DI: Comparison of different methods of intracerebral administration of radioiododexyuridine for glioma therapy using a rat model. Br J Cancer 2000; 82(1): 74-80
13. Olive PL, Durand RE: Drug and radiation resistance in spheroid: cell contact and kinetics. Cancer Metast. Rev 1994: 13: 121-138