

مقایسه روش پرتو درمانی هدفمند با به کارگیری دی‌اکسی‌یوریدین نشان دار شده با

ید - ۱۲۵ با روش پرتو درمانی خارجی، در درمان گلیوما در شرایط In vitro

چکیده

بیش از ۵۰٪ تومورهای سیستم اعصاب مرکزی را گلیوما تشکیل می‌دهد، با وجود پیشرفت روشهای جراحی، پرتو درمانی و شیمی درمانی در افزایش بقای بیماران پیشرفتی حاصل نشده است. روش پرتو درمانی هدفمند (کیلو بکرل در میلی‌لیتر) با استفاده از دی‌اکسی‌یوریدین نشاندار شده با ^{125}I ($^{125}\text{IUdR}$) به عنوان یکی از روشهای جدید در پرتو درمانی جهت درمان گلیوما مطرح می‌باشد. ^{125}I یک آنالوگ تیمین است و در سلولهایی که در موقعیت سنتز DNA هستند بطور انتخابی جایگزین تیمین می‌شود در نتیجه DNA توسط الکترونهای اوژه تابش شده از ^{125}I تحت تابش قرار می‌گیرد. در این مطالعه از آزمون بررسی تشکیل کلونی جهت مقایسه ۲ روش پرتو درمانی هدفمند و پرتو درمانی با منبع خارجی (ERT) روی رده سلولی A₁₇₂ با منشأ گلیوما استفاده شد. آزمایشها در ۲ فاز متفاوت نمایی و ثابت از کشت سلولی به روش تک لایه‌ای انجام گردید. مقایسه منحنیهای بقا در ۲ روش نمایانگر شانه منحنی، مقاومت تشعشعی و قابلیت ترمیم بالای آسیبهای تشعشعی در پرتو درمانی با گامای کبالت ۶۰ و عدم وجود شانه ابتدایی منحنی بقا در روش TR می‌باشد. در فاز ثابت به دلیل وجود سلولهای خارج از چرخه سلولی و عدم سنتز DNA نوعی حالت اشباع نسبت به غلظتهای رادیو اکتیویته بیشتر از (کیلو بکرل در میلی‌لیتر) ۴۰ ایجاد شد که این روش به دلیل وجود سلولهای فاز G₀ محدودیت دارد. اگر بتوان با وارد کردن تدریجی $^{125}\text{IUdR}$ به محیط بر ناهمگونی سلولها در سیکل سلولی غلبه یافت، روش TR می‌تواند در درمان گلیوما موثر باشد.

*دکتر علی نشاسته‌ریز I

منیر شهیدی II

دکتر علی اکبر شرفی III

کلیدواژه‌ها: ۱- پرتو درمانی هدفمند ۲- یدودی‌اکسی‌یوریدین ۳- گلیوما

مقدمه

نیست (۲)، تومور گلیوما به داروهای سیتوتوکسیک مقاوم است (۳) و استفاده از پرتو درمانی با منبع خارجی هم به دلیل قابلیت محدود تحمل سلولهای سالم مغزی نسبت به تشعشع، محدودیت دارد (۴). روش TR به عنوان یکی از روشهای جدید در پرتو درمانی جهت درمان گلیوما مطرح است (۵).

بیش از ۵۰٪ از تومورهای بدخیم سیستم اعصاب مرکزی را گلیوما تشکیل می‌دهد (۱). اگر چه به نقاط دور متاستاز نمی‌دهد، اما تجمعهای کوچک از بافت نئوپلاسمی گلیال در بین پارانشیم طبیعی مغزی مشاهده شده است. همچنین به علت مرز نامشخص بافت تومورال با سلولهای سالم مغزی برداشتن کامل آنها با جراحی امکان‌پذیر

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان نامه خانم منیر شهیدی جهت دریافت مدرک کارشناسی ارشد فیزیک پزشکی به راهنمایی آقای دکتر علی نشاسته‌ریز و مشاوره دکتر علی اکبر شرفی، سال ۱۳۸۰. همچنین این مقاله در پنجمین کنگره فیزیک پزشکی در دانشگاه تربیت مدرس تهران در اردیبهشت سال ۱۳۸۱ ارائه شده است و در اجرای آن از حمایت مالی معاونت پشتیبانی دانشگاه علوم پزشکی ایران استفاده شده است (کد: ۲۹۳).

(I) استادیار گروه رادیولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران (*مؤلف مسئول).

(II) کارشناس ارشد فیزیک پزشکی، بیمارستان امام خمینی، بلوار کشاورز، تهران.

(III) دانشیار گروه رادیولوژی، دانشکده پیراپزشکی و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران.

مراحل بعدی در استفاده از این روش به تنهایی و ترکیب دو روش باشد.

روش بررسی

این مطالعه روی خط سلولی A1۷۲ با منشا گلیوما انجام شد و از محیط کشت (MEN(GIBCO BRL) حاوی پنی‌سیلین/استرپتومایسین ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر، Fungizone ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر و ۱۰٪ سرم جنین گاوی و (FBS(GIBCO BRL) استفاده شد.

شرایط نگهداری سلولها در انکوباتور دمای ۳۷°C، ۵٪ CO₂ و رطوبت ۹۵٪ بود.

آزمایشها در ۲ فاز نمایی و ثابت از کشت سلولی به صورت تک لایه‌ای انجام گردید.

برای محاسبه زمان ۲ برابر شدن جمعیت سلولی در هر حفره از ظرفهای کشت ۲۴ حفره‌ای، ۱۰^۴ سلول در میلی‌لیتر کشت داده شد و در فاصله زمانی ۲۴ ساعت بعد از کشت اولیه، شمارش سلولی در ۳ حفره انجام گردید و میانگین شمارش در هر روز به دست آمد.

شمارش سلولی تا زمان رسیدن سلولها به مرحله ثابت ادامه یافت و زمان ۲ برابر شدن جمعیت سلولی با استفاده از فرمول
$$PDT = \frac{T_H - T_1}{2.303(\log N_H - \log N_1)}$$
 محاسبه گردید.

PDT - زمان ۲ برابر شدن، T_H - زمان شمارش نهایی، T₁ - زمان انتقال سلولها به ظرف کشت، N_H - تعداد نهایی سلول بعد از زمان T_H، N₁ - تعداد اولیه سلولها در T₁ بود. در این بررسی از منبع کبالت ۶۰ مدل Theratron برای تابش دهی سلولها با روش ERT استفاده شد.

فاز نمایی: در فاز نمایی افزایش تعداد سلولها به صورت نمایی است و نسبت رشد سلولی بین ۱۰۰-۹۰٪ می‌باشد.

تعداد ۲×۱۰^۴ سلول برای فاز نمایی در فلاسکهای (NUNC) ۲۵ سانتیمتر مکعب کشت شد و برای هر دوز تابشی یک فلاسک در نظر گرفته شد.

این روش درمانی بر پایه تفاوت‌های بیولوژیکی بین سلولهای تومورال و بافت سالم عمل می‌کند.

در این روش علاوه بر اینکه سلولهای سالم تحت تابش قرار نمی‌گیرند، با استفاده از مواد نشان‌دار شده رادیواکتیو حداکثر انرژی تابشی در هدف حساس سلولهای تومورال (DNA) متمرکز می‌شود(۶).

در این مطالعه از ^{۱۲۵}IUdR به عنوان عامل هدفمند کننده استفاده شده است.

IUdR یک آنالوگ تیمین است که وقتی در دسترس جمعیت سلولی قرار می‌گیرد در سلولهای با موقعیت سنتز DNA بطور انتخابی جایگزین تیمین شده و DNA سلولی توسط الکترونهای اوژه با خورد کمتر از ۱ میکرومتر منتشره از ^{۱۲۵}I تحت تابش قرار می‌گیرد.

اثرات درمانی ^{۱۲۵}IUdR در تومورهای رکتوم(۷)، گلیوسارکوما(۸)، مننژیال کارسینوما(۹) و گلیوبلاستوما مولتی فورم(۱۰) در مطالعات گذشته مشاهده شده است.

با توجه به متمایز بودن سلولهای سالم مغزی و عدم قابلیت تکثیر در آنها، استفاده از ^{۱۲۵}IUdR در درمان تومورهای گلیوما با میزان تقسیم سلولی بالا می‌تواند موثر باشد.

مشکل اصلی در روش TR با استفاده از ^{۱۲۵}IUdR، سلولهای تومورال خارج از چرخه سلولی هستند که در فاز G₀ قرار دارند و مرحله سنتز DNA را طی نمی‌کنند.

هدف از انجام آزمایشها در ۲ فاز نمایی (Exponential) و ثابت (Plateau)، بررسی محدودیت این روش در درمان است، چون فاز ثابت نشان دهنده سلولهای خارج از چرخه سلولی و فاز نمایی نشان دهنده سلولهای در چرخه و نزدیک به عروق خونی می‌باشد.

در این مطالعه سعی بر این بوده است که روش TR و روش ERT با استفاده از منبع کبالت ۶۰ روی سلولهای گلیوما بررسی و مقایسه گردد. همچنین بیشترین میزان حساسیت این سلولها در غلظت اکتیویته‌های مختلف ^{۱۲۵}IUdR سنجیده شد تا نتایج حاصل از آن راهگشای

برای تابش‌دهی سلولها با ^{125}I UdR تعداد 10^4 سلول جهت فاز نمایی و 10^6 سلول جهت فاز ثابت در هر حفره از ظرف کشت ۲۴ حفره‌ای کشت داده شد.

سلولها در انکوباتور، با $5\% \text{CO}_2$ نگهداری شدند و در فاز ثابت زمان لازم جهت رسیدن به حالت اشباع ۴۸ ساعت در نظر گرفته شد.

در این مرحله غلظت اکتیویته‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ کیلو بکرل در یک میلی‌لیتر از ^{125}I UdR وارد محیط کشت شد و به مدت زمان ۳۶ ساعت (مدت زمانی که جمعیت سلولی به ۲ برابر میزان اولیه خود می‌رسد) سلولها در انکوباتور نگهداری شدند.

پس از طی این زمان محیط کشت حاوی ماده رادیواکتیو را از هر حفره خارج کرده و با محلول PBS (Phosphate-buffered saline)، ۳ بار عمل شستشوی محیط سلولی انجام شد تا هیچ رادیواکتیویته اضافی در محیط باقی نماند. سپس سلولها جهت آزمون تشکیل کلونی در فلاسکهای ۲۵ سانتیمتر مکعب کشت داده شدند، بعد از ۱۵ روز کلونی‌ها تشکیل شده و رنگ‌آمیزی و شمارش آنها انجام گردید.

در هر غلظت رادیواکتیویته، درصد راندمان کشت و نسبت بقا مطابق با رابطه ۲ و ۳ محاسبه شد. مراحل تابش‌دهی سلولها با ^{125}I UdR در هر دو فاز نمایی و ثابت ۳ بار تکرار و نتایج به صورت میانگین نسبت بقا بررسی گردید.

نتایج

نتایج بر پایه توانایی سلولها در تشکیل کلونی می‌باشد و اطلاعات از طریق شمارش کلونی‌ها به دست آمده است.

پرتو درمانی با روش ERT: منحنیهای بقا جهت هر دو فاز نمایی و ثابت با قرار دادن دوزهای تابش (Gy) روی محور افقی در مقابل نسبت بقا روی محور عمودی با مقیاس لگاریتمی رسم شد (شکل شماره ۱).

فاز ثابت: در فاز ثابت تمام سطح کشت از سلولها پر می‌شود و رشد سلولی کاهش یافته و نسبت رشد، بین ۱۰٪-۰ می‌باشد.

تعداد 2×10^4 سلول جهت فاز ثابت در فلاسکهای ۲۵ سانتیمتر مکعب کشت داده شد و مدت زمان ۱ هفته جهت پر شدن کف فلاسک از سلولها و رسیدن به حالت اشباع در نظر گرفته شد.

تابش‌دهی سلولها و بررسی تشکیل کلونی‌ها: فلاسکهای حاوی سلول جهت تابش‌دهی با منبع کبالت - ۶۰ به بخش پرتو درمانی منتقل شدند.

تابش‌دهی در دوزهای مشخص ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ گری انجام شد.

با توجه به شدت خروجی چشمه کبالت برابر با ۶۶/۵ سانتی‌گری در دقیقه، زمان تابش‌دهی در دوزهای مشخص محاسبه گردید.

در هر دوز ۲ فلاسک یکی در فاز نمایی و دیگری در فاز ثابت تحت تابش قرار گرفتند.

بعد از تابش‌دهی، سلولها جهت آزمون تشکیل کلونی و سنجش توانایی آنها کشت داده شدند.

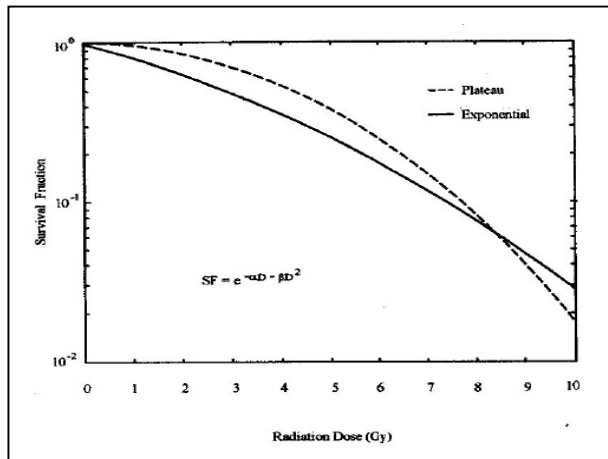
بطور میانگین بعد از ۱۲ تا ۱۵ روز کلونی‌ها تشکیل شده، رنگ‌آمیزی کلونی‌ها با محلول رنگ کربول فوشین ۱۰٪ (MERCK) انجام شد و شمارش آنها توسط میکروسکوپ معکوس (Olympus) صورت گرفت.

با به دست آوردن درصد راندمان کشت (Plating Efficiency=PE) در سلولهای تابش دیده و کنترل، نسبت بقا (Survival Fraction=SF) محاسبه شد (رابطه ۱ و ۲).

$$\text{رابطه (۱)} \quad \%PE = \frac{\text{تعداد کلونی‌های شمارش شده}}{\text{تعداد سلولهای اولیه}} \times 100$$

$$\text{رابطه (۲)} \quad SF = \frac{\text{PE (کنترل)}}{\text{PE (اشعه دیده)}}$$

مراحل تابش‌دهی سلولها در هر دو فاز نمایی و ثابت، ۳ بار تکرار و نتایج به صورت میانگین نسبت بقا بررسی شد.



شکل شماره ۲- منحنیهای بقا منطبق شده با مدل خطی - توانی در ۲ فاز ثابت و نمایی در تابشدهی خارجی

پرتودرمانی به روش TR: منحنیهای بقا جهت هر دو فاز با قرار دادن غلظت اکتیویته‌های ^{125}I UDR کیلو بکرل در میلی‌لیتر روی محور افقی و نسبت بقا روی محور لگاریتمی عمودی رسم شد (شکلهای شماره ۳ و ۴).

در فاز نمایی منحنی بقا منطبق بر یک تابع نمایی از غلظت می‌باشد فرمول $SF = \exp\left[-\frac{C}{C_{37}}\right]$ ، نشان دهنده غلظت رادیواکتیویته و C_{37} غلظت رادیواکتیویته جهت کاهش تعداد سلولهای کلونوژنیک به ۳۷٪ تعداد اولیه می‌باشد. $\frac{1}{C_{37}}$ مساوی شیب قسمت خطی می‌باشد (جدول شماره ۲).

در فاز ثابت منحنی بقا شامل ۲ بخش شامل بخش شیب‌دار خطی اولیه که تابع غلظت است و یک بخش ثابت خطی می‌باشد که با افزایش غلظت رادیواکتیویته نسبت بقا تغییر معنا داری پیدا نکرده و ثابت است.

C_{37} از قسمت شیب‌دار اولیه منحنی محاسبه شد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲- C_{37} در دو فاز نمایی و ثابت

مرحله کشت سلولی	C_{37} (کیلو بکرل در میلی‌لیتر)
نمائی	۲/۶۱
ثابت	۲/۹۱

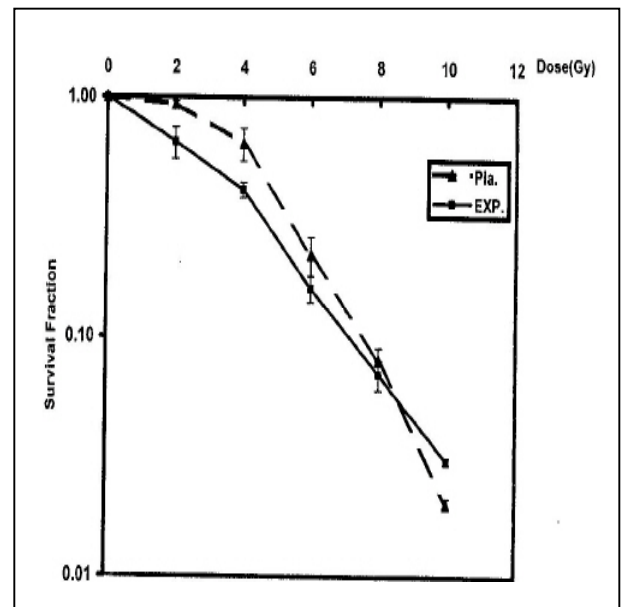
پارامتر D_{37} یا D_0 (مقدار دوزی که جمعیت سلولی را به ۳۷٪ مقدار اولیه می‌رساند) از شیب قسمت خطی منحنی محاسبه شد (جدول شماره ۱).

از رابطه $D_0 = \frac{\text{Loge}}{\text{Slope}}$ شیب خط منحنی، Slope، معادله خطی - توانی (LQ (linear quadratic) روی منحنیهای بقا در هر دو فاز منطبق شد (شکل شماره ۲) و پارامترهای الف و بتا محاسبه گردید (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱- پارامترهای D_0 ، α و β در ۲ فاز ثابت و نمایی

β (Gy^{-2})	α (Gy^{-1})	D_0 (Gy)	Cell culture phase
۰/۰۱۷	۰/۱۸۹	۱/۶۵	Exponential
۰/۰۴۲	۰/۰۲۳	۲/۳۱	Plateau

D_0 در فاز ثابت بزرگتر از فاز نمایی می‌باشد. در منحنیهای منطبق شده با معادله LQ، انحنای منحنی در فاز ثابت بیشتر و پارامتر β بزرگتر از فاز نمایی است.



شکل شماره ۱- منحنیهای بقا در ۲ فاز ثابت و نمایی در تابشدهی خارجی (میانگین \pm انحراف معیار)

فاز نمایی نشان داد بدین معنی که در فاز ثابت مقاومت سلولها نسبت به تشعشع بیشتر و حساسیت رادیویی آنها کمتر می‌باشد.

سلولهای خارج از چرخه که در فاز G_0 هستند باعث مقاومت بیشتر سلولها در فاز ثابت می‌گردند.

پاسخ تشعشعی بیشتر یا کمتر وابسته به تأثیر ترمیم بعد از تابش‌دهی است و در واقع مقاومت تشعشعی نمایانگر قابلیت ترمیم بالا در سلولها می‌باشد که با شانه اولیه منحنی بقا در ارتباط است.

در فاز نمایی زمانی که سلولها بسرعت تقسیم می‌شوند، ترمیم آسیبه‌های کشنده PLD=Potentially lethal Dose و آسیبه‌های تحت کشنده SLD=Sub lethal Dose به نسبت کمتری صورت می‌گیرد و شانه اولیه منحنی کوچک است.

عدم تقسیم سلولی در سلولهای خارج از چرخه در فاز ثابت باعث ترمیم آسیبه‌های PLD و وسعت شانه منحنی بقا می‌شود (۱۱).

در منحنیهای بقای رسم شده در روش TR شانه اولیه منحنی بقا مشاهده نشد.

عدم وجود شانه در هر دو فاز ثابت و نمایی نشان دهنده عدم مقاومت سلولهای تومورال گلیوما نسبت به غلظت اکتیویته‌های مختلف ^{125}I می‌باشد.

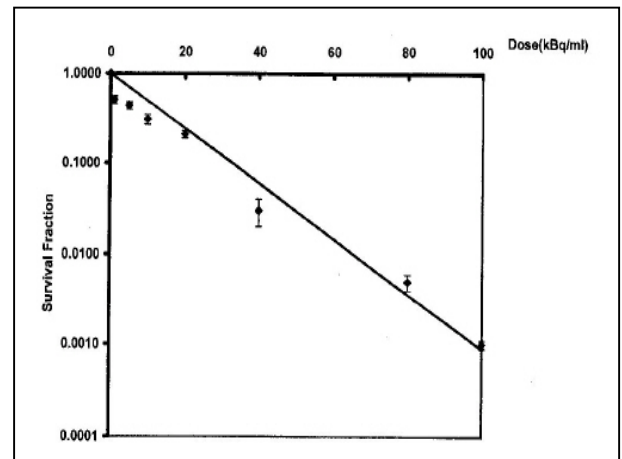
در مقایسه منحنیهای بقا در روش TR و ERT، قسمت ابتدای منحنی که تعیین کننده مقاومت سلولها نسبت به تشعشع می‌باشد حائز اهمیت است.

در روش تشعشع خارجی شانه منحنی بقا در فاز ۲ به وضوح مشاهده می‌شود، در صورتی که در روش TR شانه اولیه منحنی حتی در فاز ثابت که مقاومت تشعشعی سلولها بیشتر است، مشاهده نمی‌شود.

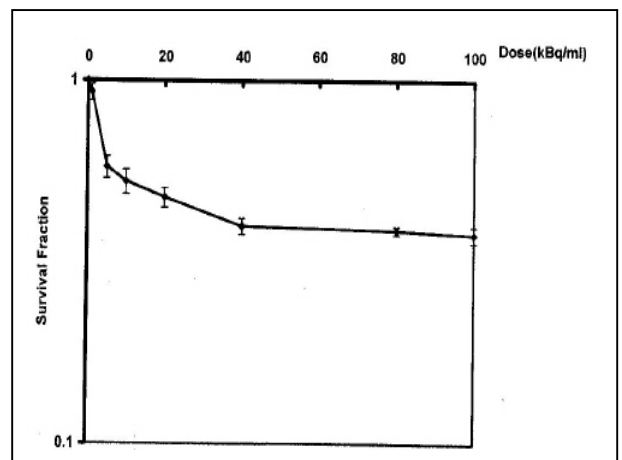
با توجه به اینکه مدل خطی - توانی LQ شامل ۲ قسمت خطی $[exp(-\alpha D)]$ و توانی $[exp(-\beta D)]$ می‌باشد، پارامتر آلفا ضریب دوزی است که باعث ایجاد شکست دو رشته‌ای DNA توسط یک برخورد مستقل می‌شود و آسیب غیرقابل ترمیم ایجاد می‌کند، در صورتی که پارامتر β

بیشترین کاهش در نسبت بقا در فاز ثابت و در غلظت رادیواکتیویته ۴۰ کیلو بکرل در میلی لیتر مشاهده شد. پارامترهای آلفا و بتا از معادله خطی - توانی LQ محاسبه گردید.

مقادیر $\beta > 0.05$ P معنی دار نبود و تنها مقادیر پارامتر آلفا نسبت معنی داری را نشان داد.



شکل شماره ۳- منحنی بقا در فاز نمایی در روش Targeted Radiotherapy (میانگین \pm انحراف معیار)



شکل شماره ۴- منحنی بقا در فاز ثابت در روش Targeted Radiotherapy (میانگین \pm انحراف معیار)

بحث

جهت بررسی پاسخ سلولهای تومورال به تشعشع، پارامترهای منحنیهای بقا مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج به دست آمده در روش پرتو درمانی با منبع خارجی بزرگتر بودن پارامتر D_0 در فاز ثابت را نسبت به

همچنین افزایش زمان تشعشع سلولها با ^{125}I می‌تواند سبب افزایش تعداد سلولهای نشان‌دار شده با عامل هدفمند کننده گردد.

در درمان گلیوما، بهترین روش برای استفاده مؤثر از ^{125}I ، کاربرد پمپهای اسمزی و کاشت پلیمرهای مناسب بعد از عمل جراحی و برداشتن تومور می‌باشد. این روش موجب رها سازی تدریجی ^{125}I (به صورت لوکالیزه در محل تومور) در جهت از بین بردن باقیمانده سلولهای تومورال که مرز مشخصی با سلولهای سالم مغزی ندارند، می‌شود (۱۵).

در درمان لوکالیزه گلیوما، به علت آنکه سلولهای سالم مغزی متمایز هستند و تقسیم سلولی در آنها صورت نمی‌گیرد، ^{125}I فقط توسط سلولهای تومورال برداشته می‌شود و نسبتی از ^{125}I که از سیستم اعصاب مرکزی خارج و وارد سیستم گردش خون عمومی می‌شود به سرعت تجزیه شده و در دسترس جمعیت سلولی سالم در خارج از سیستم عصبی قرار نمی‌گیرد.

در واقع اگر بتوان بر محدودیت استفاده از ^{125}I که به دلیل ناهمگونی در سیکل سلولی ایجاد می‌شود غلبه کرد، می‌توان به کاربرد مؤثر این روش در درمان گلیوما امیدوار بود.

تقدیر و تشکر

از مساعدتهای همه جانبه جناب آقای دکتر عیسی نورمحمدی سرپرست محترم مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی و کارشناسان محترم این مرکز صمیمانه تشکر می‌شود.

منابع

- 1- Wrensch R., Bondy L., Central Nervous system Tumors, 2 nd ed., USA, Churchill Livingstone, 2000, PP: 309-318.
- 2- Kreth FW., Warnke PC., Surgical resection and radiation therapy in the treatment of glioma, J Neurosurg, 1993, 78: 762-766.

ضریب مجذور دوزی است که باعث ایجاد شکستهای دو رشته‌ای در DNA توسط ۲ برخورد مستقل می‌گردد. زمانی که قدرت ترمیم پایین است مقدار پارامتر آلفا افزایش و پارامتر بتا کاهش می‌یابد (۱۲).

در روش TR معنادار نبودن پارامتر β موجب حذف قسمت توانی و درجه دوم منحنی شده و بزرگ بودن پارامتر آلفا نمایانگر عدم ترمیم آسیبهای ایجاد شده می‌باشد که طی آن مرگ سلول در اثر یک برخورد مستقل صورت می‌گیرد.

روش TR با استفاده از ^{125}I انجام می‌شود و وابسته به سیکل سلولهای تومورال می‌باشد و اتصال این عامل به DNA به فاز S و سنتز DNA بستگی دارد. وقتی ^{125}I در DNA سلولی جایگزین می‌شود بیشترین آسیب را وارد کرده و مکانیسم کشتار سلولی با صدمات تشعشعی DNA ارتباط پیدا خواهد کرد (۱۳).

در فاز نمایی شکل منحنی بقا به صورت نمایی بوده و اتصال ^{125}I به DNA بطور مستقیم با غلظت اکتیویته در سلول متناسب می‌باشد.

در فاز نمایی تعداد سلولهای کمتری خارج از چرخه سلولی هستند، بنابراین با سپری شدن یک زمان دو برابر شدن، اغلب سلولها ^{125}I را از محیط برداشته می‌کنند (۱۴).

در فاز ثابت در سلولهایی که در چرخه سلولی شرکت داشته و ^{125}I را از محیط برداشت می‌کنند، کاهش بقا متناسب با غلظت اکتیویته صورت می‌گیرد، اما وجود سلولهای خارج از چرخه سلولی و عدم سنتز DNA در طول مدت تشعشع سلولها با ^{125}I باعث کاهش تأثیر عامل هدفمند کننده و کاهش کشتار سلولی می‌شود.

محدودیت روش TR با استفاده از ^{125}I با توجه به نتایج آزمایشها در فاز ثابت روشن می‌شود زیرا این فاز با توجه به سلولهایی که در فاز G_0 هستند به مدل تومورال نزدیکتر می‌باشد.

وارد کردن تدریجی ^{125}I در محیط می‌تواند باعث افزایش اتصال این عامل هدفمند کننده به DNA شود،

- 3- Feun LG., Savaraj N., Drug resistance in brain tumors, *J Neuro oncol*, 1994, 20: 165-176.
- 4- Barker FG., Prados, Chang SM., Radiation response and survival time in patients with glioma, *J Neurosurg*, 1996, 84(3): 442-448.
- 5- Kassis AI., Wen patricky 5-[125I] Iodo-2'-Deoxyuridine in the radiotherapy of brain tumors in rats, *J Nucl*, 1998, 39: 1148-54.
- 6- Xue LY., Butler NJ., Bystander effect produced by radiolabeled tumors cells in vivo, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002 oct, PP: 4.
- 7- Daghighian F., Humm JL., Pharmacokinetics and dosimetry of iodine – 125 – IUdR in the treatment of colorectal cancer metastatic to liver, *J Nucl Med*, 1996, 37: 29-32.
- 8- Kassis AI., Toxicity and therapeutic effects of low – energy electron, *Nucl Instrum meth phys res*, 1994, 87: 279-284.
- 9- Kassis AI., Adelstein SI., Preclinical animal studies with radiolabelled IUdR, *J Nucl Med*, 1996, 37: 343-352.
- 10- Neshasteh-Riz A., Mairs RJ., Differential cytotoxicity of ¹²³IUdR, ¹²⁵IUdR and ¹³¹IUdR to human glioma cells in monolayer or spheroid culture: effect of proliferative heterogeneity and radiation cross fire, *Br J Cancer*, 1998, 77(3): 385-390.
- 11- Ward JF., The yield of DNA double – strand breaks produced intracellularly by ionizing radiation, *Int J radiat Biol*, 1990, 57: 1441-50.
- 12- Fertil B., Malaise EP., Inherent radiosensitivity as a basic concept for human tumor radiotherapy, *Int J Radiat oncol Biol phys*, 1981, 7: 621-629.
- 13- Kassis AI., Fayad F., Radiotoxicity of ¹²⁵I in mammalian cells, *Radiat Res*, 1987, 111: 305-318.
- 14- Neshasteh-Riz A., Angerson WJ., Incorporation of iododeoxyuridine in multicellular spheroids: implications for DNA-targeted radiotherapy using Auger electron emitter, *Br J Cancer*, 1997, 75: 493-499.
- 15- Mairs RJ., Neshasteh-Riz A., Comparison of different methods of intracerebral administration of radiodo-dexyuridine for gliom therapy using a rat model, *Br J Cancer*, 2000, 82: 74-80.

