مقایسه بروز پروتئین p53 در گروه پرتوکاران با گروه شاهد

*دکتر شهلا محمدی: استادیار و متخصص بیوفیزیک مولکولی، پژوهشکده علوم هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، تهران- ایران (*مولف مسئول). smohammadi@aeoi.org.ir
محمد رضا قرائتی: دانشجوی دوره دکتری تخصصی بیوشیمی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.gharaati@modares.ac.ir
کبری زکی خان-النگ: دانشجوی دوره دکتری تخصصی پزشکی مولکولی، دانشکده علوم پایه پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران. ezakikhan@yahoo.com
رسا رجایی: کارشناسی ارشد زیست سلولی- مولکولی، پژوهشکده کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، تهران، ایران. rrajaie@aeoi.org.ir

تاریخ دریافت: ۹۰/۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۰/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: تنش های گوناگون نظیر پرتوهای یونیزان می توانند موجب افزایش آسیب های سلولی به خصوص در بخش هسته آن یعنی DNA گردند. برای محافظت از این گونه آسیب ها، ژن‌های تنظیمی طبیعی مانند ژن سرکوب کننده تومور Tp53 وارد عمل می گردند. دراین ارتباط، در بین شاغلین پرتوکاری که همواره با دوزهای پایینی از پرتوهای یونیزان سروکار دارند ،این ژن بررسی و میزان بروز آن با گروه کنترل مقایسه شد.

روش کار: در این مطالعه تحلیلی، با استفاده از کیت الایزا، مقدار پروتئین p53 سرم خونی در ۴۲ فرد پرتوکار و ۱۶ فرد شاهد اندازه گیری شد. بررسی‌های آماری توسط روش student t-test انجام گرفت. به عنوان گروه پرتوکار از شاغلین سازمان انرژی اتمی ایران (با میانگین سنی ۱/۳± ۳۷/۸ سال) دعوت به همکاری شد. به عنوان گروه شاهد نیز داوطلبینی که از نظر سن، جنس و عادات سیگار کشیدن با گروه پرتوکار تطابق داشتند (با میانگین سنی ۲/± ۳۴/۵ سال)، انتخاب گردیدند. از ۲ سی سی خون هپارینه هر فرد، سرم آن توسط سانتریفوژ استخراج شد.

یافته‌ها: بیان ژن p53 در گروه پرتو کار به طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود(p=۰/۰۲۲۵). علاوه بر این، سابقه کار پرتوکار و یا مصرف سیگار تاثیری بر میزان بیان این ژن نداشته است.

نتیجه‌گیری: دوزهای پایین و مستمر پرتوهای یونیزان نقش به سزایی در افزایش بیان ژن p53 در بین شاغلین پرتوکار داشته است. و این در حالی است که بر اساس نتایج ثبت شده در دوزیمتری فردی این افراد، دوز دریافتی در محدوده دوز مجاز سالانه برای پرتوکاران بوده است. این مسئله موید این موضوع است که پایش پرتوکاران نباید تنها بر اساس دوزیمتری های فیزیکی بلکه لازم است تا از شاخص های بیولوژیکی که قادر به ارائه آسیب‌های پرتوی فردی بوده نیز استفاده شود.

کلیدواژه‌ها: بروز پروتئین p53، پرتو یونیزان، آسیب سلولی

مقدمه

در موجودات پر سلولی که سلول ها توانایی تقسیم دارند، جلوگیری از تکثیر بی رویه آن ها بسیار حائز اهمیت است. به هنگام بروز یک تنش نظیر حضور پرتوهای یونیزان که در آن DNA دچار صدمه می‌گردد، ژن های سرکوبگر تومور نظیر p53، فعال شده و میزان بیان آن افزایش می یابد.

پروتئین p53 که پروتئین توموری (Tp53) نیز نامیده می شود، تنظیم کننده چرخه سلولی بوده و می‌توان آن را متوقف کننده تومور هم نامید(۱و۲). میزان p53 در سلول های طبیعی کم و به طور پیوسته تولید و تخریب می شود. پروتئین p53 به ژن هایی که بازسازی DNA را تنظیم می کنند، متصل شده و مرگ برنامه ریزی شده سلول را کنترل می کند(۶-۳).

اما مشکل اینجاست که در سلول های سرطانی، خود ژن p53 نیز ممکن است تغییر یافته و غیر فعال گردد(۷و۸). تحقیقات نشان می دهند که حدوداً در ۵۰٪ از تمامی سرطان ها p53 تغییر پیدا کرده است (۱۱-۹). متخصصان ژنتیک معتقدند اگر ژن p53 در سلول های سرطانی فعال شود، رشد این سلول ها متوقف می‌گردد. این تغییر، فرصت مناسبی برای سیستم ایمنی فراهم می آورد تا سلول های سرطانی را از بین ببرد(۱۲و۱۳).

پس از آنکه DNA سلول دچار آسیب گردید، سطح

بیان ژن p53 بالا رفته و سلول در این هنگام دو راه پیش روی دارد؛ راه اول این است که آسیب وارده به DNA تعمیر شده و راه دوم این که اگر آسیب وارده تعمیر نگردد، سلول مرگ برنامه ریزی شده (آپوپتوز) را در پیش گیرد. در واقع پاسخ p53 تعیین می‌کند که سلول راه تعمیر DNA را پیش گیرد یا مرگ میتوزی را فعال کند(۱۴و۱۵).

با توجه به مطالب ذکر شده میزان بیان ژن p53 برای ایمنی افراد پرتوکاری که به لحاظ شغلی در معرض پرتو قرار دارند از اهمیت بسزایی بر خوردار است.

لذا، در این تحقیق گروهی از پرتوکاران که در معرض دائم یا موقت دوزهای متغیر از پرتوهای یون ساز قرار گرفته اند به عنوان یک مدل جمعیتی به کار گرفته و میزان بیان ژن p53 در این گروه با یک گروه شاهد مقایسه گردید.

روش کار

اندازه گیری میزان بیان پروتئین p53 به کمک آزمایش الایزای p53 توسط کیت خریداری شده از شرکت Bender MedSystems (BMS256) انجام گرفته است. به طور کلی برای انجام این آزمون و با توجه به روش کار این کیت، طی چندین مرحله شستشو با محلول های مختلف، واکنش نهایی در غالب یک محلول رنگی حاصل به دست می آید که شدت رنگ آن متناسب با مقدار p53 در نمونه است. برای هر فرد دو نمونه تهیه و آزمایش الایزا بر روی آن انجام گرفته و میانگین دو آزمایش به عنوان نتایج مطالعه ارائه شد. به منظور تعیین مقدار p53، جذب محلول در ۴۵۰ نانومترتوسط دستگاه الایزاخوانAnthos (مدل Microplate 2020 Reader) اندازه گرفته شد.

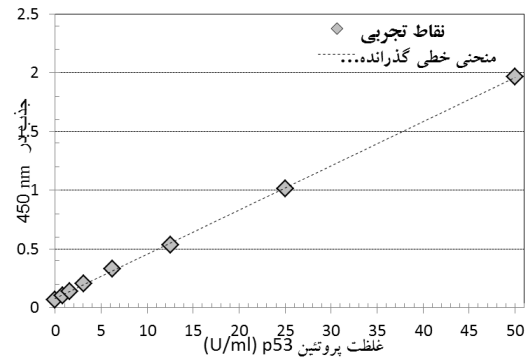
بررسی های آماری ومقایسه میزان بیان پروتئین p53 بین دو گروه شاهد و پرتوکار با استفاده از روش student t-test انجام گرفت. جهت بررسی تاثیر متغیرهای سابقه کار سن و مصرف دخانیات در بین گروه پرتوکار، از تست one way ANOVA استفاده به عمل آمد. به منظور تعیین همبستگی بین میزان بیان پروتئین و سابقه پرتوی پرتوکاران، آزمون همبستگی پیرسون به کار گرفته شد. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار Origin 6.1 و Excel انجام گرفته و ترسیم گردیدند.

پرسنل مورد مطالعه در این پروژه از بین داوطلبانی انتخاب شده اند که در سازمان انرژی اتمی ایران به فعالیت های گوناگون پرتوی اشتغال دارند. این افراد با توجه به محل کار، مدت زمان در معرض پرتو بودن، سابقه کار و وضعیت سلامتی انتخاب گردیده اند. در مجموع ۴۲ فرد پرتوکار در این کار تحقیقاتی شرکت کردند. با توجه به پرونده پزشکی این افراد و نتایج به دست آمده از دوزیمترهای فیزیکی آن ها، دوز دریافتی آن ها از دوز مجاز سالانه برای پرتوکاران تجاوز نکرده است. البته اطلاعات مربوط به دوزهای ثبت شده این افراد و تعداد ساعات کار افراد با پرتو نیز در دسترس این گروه تحقیقاتی نبوده است. از طرفی ۱۶ فرد داوطلب که از لحاظ سن و عاداتی نظیر استعمال دخانیات، الکل و غیره با گروه پرتوکار تطابق نزدیکی داشتند به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند.

از این افراد، با رعایت مسائل اخلاقی و دادن آگاهی لازم از موضوع تحقیق، ۲ سی سی خون هپارینه گرفته شد. سپس با استفاده از سانتریفوژ (در دور ۲۵۰×g و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد)، سرم از بقیه اجزای خون جدا شده و برای آزمایش های بعدی در ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید. اطلاعات مربوط به سن، جنسیت و سابقه کار پرتوی این افراد در جدول ۱ آمده است.

یافته ها

برای تعیین غلظت پروتئین در پلاسمای داوطلبین، ابتدا هفت غلظت متفاوت از یک نمونه پروتئین p53



شکل ۱. منحنی استاندارد پروتئین p53

جدول ۱. مشخصات داوطلبان

شماره فرد	سن/جنسیت	سابقه کار پرتوی	غلظت پروتئین (U/ml)	شماره فرد	سن/جنسیت	سابقه کار پرتوی	غلظت پروتئین (U/ml)
۳۰R	۳۱/ زن	۲	۹/۸۸	۱R	۳۱/ مرد	۸	۰/۰۰
۳۱R	۳۵/ مرد	۷	۴/۸۲	۲R	۲۵/ مرد	۴	۱/۸۰
۳۲R	۲۴/ مرد	۱	۱/۵۰	۳R	۴۶/ مرد	۲۲	۹۶/۳۶
۳۳R	۳۵/ مرد	۹	۱۲/۸۵	۴R	۵۲/ مرد	۲۰	۰/۷۴
۳۴R	۳۵/ زن	۱۳	۱۳/۷۲	۵R	۳۷/ مرد	۱۰	۰/۲۹
۳۵R	۳۴/ مرد	۸	۷/۰۷	۶R	۴۷/ مرد	۲۳	۲/۲۵
۳۶R	۴۹/ مرد	۸	۱۱/۴۴	۷R	۴۱/ مرد	۲۰	۱/۸۲
۳۷R	۲۶/ مرد	۲	۰/۱۳	۸R	۴۹/ مرد	۲۳	۰/۲۱
۳۸R	۳۰/ مرد	۳	۱/۹۶	۹R	۵۱/ مرد	۱۷	۵/۱۶
۳۹R	۲۹/ مرد	۲	۱/۵۸	۱۰R	۴۶/ مرد	۲۰	۲/۷۵
۴۰R	۲۹/ مرد	۳	۱۱/۱۰	۱۱R	۳۴/ مرد	۱۰	۰/۰۱
۴۱R	۳۵/ مرد	۴	۱۴/۵۴	۱۲R	۳۵/ مرد	۱۲	۱۳/۸۰
۴۲R	۲۸/ مرد	۲	۱/۶۴	۱۳R	۳۵/ زن	۱۲	۵/۲۷
۱C	۳۱/زن	--	۹/۲۷	۱۴R	۵۱/ مرد	۲۴	۱/۱۳
۲C	۴۴/مرد	--	۰/۲۹	۱۵R	۳۴/ مرد	۱۰	۰/۴۲
۳C	۴۵/مرد	--	۱/۲۷	۱۶R	۳۲/ مرد	۷	۹/۵۴
۴C	۲۵/مرد	--	۴/۵۰	۱۷R	۳۵/ مرد	۱۱	۳/۰۷
۵C	۴۲/مرد	--	۰/۳۱	۱۸R	۴۵/ مرد	۲	۰/۵۸
۶C	۳۹/مرد	--	۱/۲۱	۱۹R	۳۳/زن	۸	۳۷/۲۶
۷C	۴۳/زن	--	۱۱/۷۶	۲۰R	۴۸/ مرد	۱۸	۱/۲۷
۸C	۲۷/مرد	--	۹/۲۲	۲۱R	۳۷/ مرد	۳	۰/۰۱
۹C	۲۷/مرد	--	۰/۰۵	۲۲R	۴۸/ مرد	۲۰	۳۸/۷۷
۱۰C	۳۵/مرد	--	۰/۴۴	۲۳R	۴۶/ مرد	۲۰	۱۷/۱۴
۱۱C	۳۰/مرد	--	۵/۹۰	۲۴R	۳۹/ مرد	۸	۱۴/۷۸
۱۲C	۲۸/مرد	--	۳/۶۵	۲۵R	۴۸/ زن	۱۶	۶/۳۸
۱۳C	۵۱/مرد	--	۴/۳۹	۲۶R	۵۲/ زن	۲۰	۴۲/۷۵
۱۴C	۲۹/مرد	--	۰/۷۹	۲۷R	۳۵/ مرد	۸	۴۵/۲۹
۱۵C	۳۶/مرد	--	۴/۹۰	۲۸R	۲۷/ مرد	۱	۴/۵۰
۱۶C	۳۶/مرد	--	۱/۱۶	۲۹R	۳۰/ مرد	۲	۱/۸۷

استاندارد (۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۳، ۳/۲، ۱/۶، ۰/۸، ۰/۰ واحد در هر سی سی) تهیه گردید. منحنی استاندار با رسم متوسط جذب غلظت استاندارد بر روی محور عمودی بر حسب غلظت p53 بر روی محور افقی به دست آمد. سپس بهترین خط از میان نقاط به دست آمده، گذرانده شد (r=۰/۹۹۹۸۹، شکل ۱).

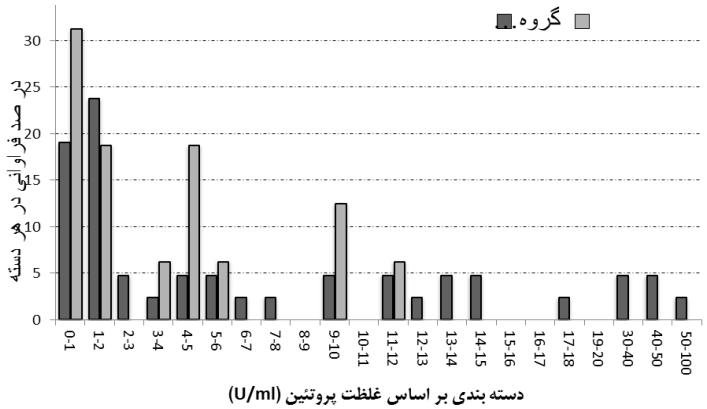
برای تعیین غلظت پروتئین p53 ابتدا میانگین جذب برای هر نمونه دوتایی به دست آمده و با استفاده از منحنی خط استاندارد (شکل ۱)، غلظت پروتئین در نمونه خون افراد تخمین زده شد.

در شکل ۲ میزان جذب نمونه های پرتو کار و شاهد در ۴۵۰ نانومتر ترسیم شده است. مقدار متوسط جذب در گروه پرتوکار ۰/۲۷۶۶۴±۰/۰۵۲۳۷ و در گروه شاهد برابر با ۰/۱۴۵۹۴±۰/۰۱۷۵۵ به دست آمده است (میانگین‌های به دست به همراه SE ارائه شده است).

بالا بودن میزان جذب این پروتئین برای گروه پرتوکار در مقایسه با شاهد کاملا مشهود است.

سپس جدول توزیع فراوانی پروتئین p53 تهیه گردیده و با استفاده از آن منحنی فراوانی پروتئین به دست آمد (شکل ۲). برای مقایسه دو گروه لازم بود تا تعداد افراد در هر گروه به ۱۰۰ نرمالایزه شوند. با توجه به شکل ۲، غلظت پروتئین در افراد پرتوکار در مقایسه با افراد کنترل بالاتر بوده و میزان پراکندگی آن در گروه پرتوکار بیشتر است(p=۰/۰۲۲۵). چنانچه در شکل ۲ دیده می شود، در گروه پرتوکار افرادی با میزان بالاتر از ۳۰ واخد در هر سی سی از پروتئین p53 نیز دیده می‌شوند.

علاوه بر این توزیع پروتئین بر حسب سابقه کار پرتوی افراد پرتوکار نیز مورد مطالعه قرار گرفت که در شکل ۳ نشان داده شده است. با استفاده از ضریب



شکل ۲. هیستوگرام مقادیر پروتئین P53 در دو گروه پرتوکار و شاهد

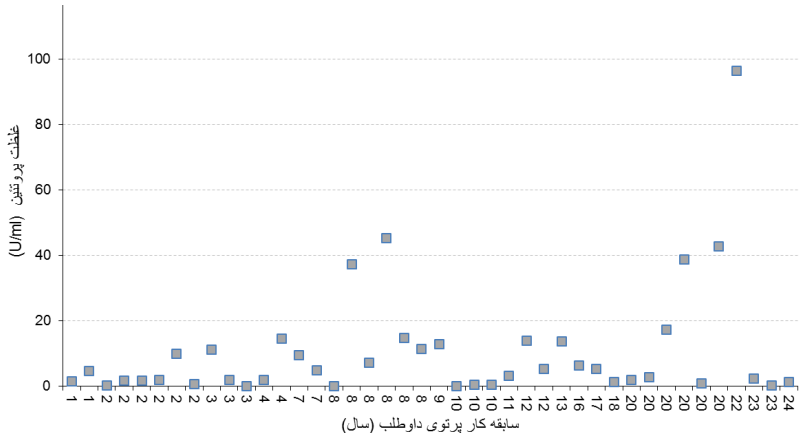
همبستگی پیرسون ارتباط بین آن ها مورد بررسی قرار گرفت که نتایج این آنالیز آماری (r=۰/۲۷) حاکی از عدم همبستگی معنی دار بین بیان پروتئین و سابقه کار پرتوی داوطلبان است. بررسی مشابهی در مورد بیان پروتئین و سن داوطلبان انجام گرفت که این بررسی نیز ارتباطی بین سن داوطلب و میزان بیان پروتئین را نشان نداد (نتایج نشان داده نشده است).

با مراجعه به فرم های پر شده، تنها ۷٪ از پرتوکاران و ۶/۵٪ از افراد شاهد سیگاری بودند (داده ها نمایش دادهنشده‌اند). ارتباط معنی‌داری ما بین افراد سیگاری و غیر سیگاری به لحاظ بیان پروتئین P53 دیده نشد (p=۰/۱۲۶۵).

بحث و نتیجه گیری

ضایعات ناشی از پرتوهای یونیزان در DNA سلول باعث بروز گستره ای از پاسخ ها مثل توقف سیکل سلولی، آپوپتوز، مرگ میتوزی و پیرشدگی می شود. یک گری پرتو می تواند حدود ۴۰ شکست دو رشته ای در DNA بوجود آورده و فقط یک شکست دو رشته ای ترمیم نشده، کافی است تا مرگ سلولی را رقم زند(۱۶و۱۷). در واقع کمی پس از تابش پرتوهای یونیزان، پروتئین p53 به عنوان یک (محافظ ژنوم) به توالی های خاصی از DNA (در نواحی تنظیم کننده ژن‌ها) متصل می شود. این نقاط شامل مکان های کنترل کننده سیکل سلولی، تنظیم کننده آپوپتوز و نیز مکان هایی است که به طور منفی خود p53 را تنظیم می کنند. پاسخ p53 تعیین کننده سرنوشت سلول آسیب دیده است که یا ترمیم DNA و یا مرگ میتوزی را طی کند. بنابراین پروتئین p53 یک ژن باز دارنده‌ی توموری است و تا زمانی که سلول می‌تواند p53 تولید کند، مانع توسعه ی سرطان می گردد.

مقدار p53 در سلول های طبیعی کم است و به طور



شکل ۳. غلظت پروتئین بر حسب سابق کار پرتوی افراد

پیوسته تولید و تخریب می‌شود. در صورت آسیب DNA، تخریب پروتئین p53 متوقف شده و مقدار p53 در سلول به شدت افزایش پیدا می کند. پروتئین p53 به ژن هایی که باز سازی DNA را تنظیم می‌کنند، متصل شده و مرگ برنامه ریزی شده ی سلول را کنترل می کند. سطح زیاد پروتئین p53 در مرحله‌ی اول، چرخه ی سلولی را متوقف می‌کند تا فرصت برای بازسازی DNA تخریب شده به وجود آید. اگر تخریب بسیار شدید باشد، سلول مرگ برنامه ریزی شده و«خودکشی سلول» را آغاز می کند. ولی از طرفی مطالعات نشان داده اند که در حداقل ۵۰ درصد از تمام سرطان ها، p53 خود دچار تغییر گردیده است(۱۱-۹). تحقیقات حاصله بر روی این ژن وحشی p53 و یا حالت جهش یافته این ژن، حاکی از این است که حساسیت پرتوی به طور متوسط با کمبود پروتئین p53 کاهش می‌یابد(۱۸).

در پژوهش حاضر بر روی افراد مرتبط با پرتو، میزان p53 در سرم خون محیطی با یک گروه شاهد مقایسه شده است. نتایج این اندازه گیری حاکی از بالاتر بودن این پروتئین در پلاسمای گروه پرتوکار است. ممکن است بیان بالای پروتئین انعکاس حضور مداوم پرتو در محیط کار و استرس ناشی از آن به سلول باشد که به افزایش p53 به منظور نظارت به آسیب های DNA منجر شده است. در واقع این سطح بالای بیان ژن های تعمیری DNA در پرتوکار می تواند ناشی از فعال شدن مسیر های تعمیر DNA و در پاسخ به اثرات کوتاه مدت و نیز بلند مدت دوزهای پایین پرتو باشد؛ هرچند که میزان بیان این ژن در برخی از افراد پرتوکار (افراد شماره ۳، ۱۹، ۲۲، ۲۶ و ۲۷) بسیار بالا بوده و مستلزم بررسی های بیشتر می باشد.

در گزارشی که Rössner و همکارانش(۱۹) ارائه کرده‌اند، میزان بیان این پروتئین را در پلاسمای گروه پرتوکار قابل مقایسه با گروه شاهد یافته بودند که با نتایج ارائه شده در این تحقیق مطابقت ندارد؛ هرچند که آن‌ها میزان آن را در لنفوسیت پرتوکاران بیشتر گزارش کردند. تحقیقات متعددی نشان می دهند که پروتئین p53 طبیعی، بدون جهشی در DNA ممکن است در تومورها انباشته شوند.

علاوه بر این، با دانش ما، در خانواده های مستعد به سرطان، پروتئین p53 ممکن است در بافت های غیر نئوپلاستیک یا در بافت های با سلول های طبیعی نیز تجمع یابند(۲۰و۲۱).

هر دو عوامل ژنتیکی و محیطیمی توانند عملکرد p53 را تعدیل نمایند. واضح است که تغییرات در بیان پروتئین p53 منجر به اختلالات در تنظیم چرخه سلولی می گردد(۲۲). پروتئین p53 نرمال می تواند سلول ها را در انتهای فاز G1 چرخه سلولی یعنی درست قبل از سنتز DNA متوقف سازد، در حالی که اشکال جهش یافته این پروتئین موفق به توقف چرخه سلولی نشده و تکثیر سلولی ادامه می یابد. بسیاری از مطالعات در مورد بیان p53 بر اهمیت نیمه عمر طولانی p53 جهش یافته تاکید می کنند که منجر به تجمع پروتئین در بافت های نئوپلاستیک (۲۳) می‌شود. ولی بیان بسیار بالای پروتئین p53 وحشی درنمونه های توموری انسان، و نیز در ضایعات خوش خیم بدون جهش p53 نیز مشاهده شده است(۲۰).

بنابراین بیان بالای پروتئین p53، ممکن است لزوماً به علت جهش در نواحی کد کننده اگزون ژن نباشد(۲۴). از آنجایی که جهش در ژن p53 یک عامل پیش آگهی دهنده مهم بوده که می تواند منجر به تجمع این پروتئین در هسته های سلول های سرطانی گردد(۲۷-۲۵)، بررسی PCR این ژن و اندازه گیری آپوپتوز، اطلاعات جامع تری در مورد مکانیسم عملکرد این پروتئین در مورد این گروه کاری در اختیار خواهد گذاشت(۲۸).

نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داده که میزان بیان این پروتئین به سابقه کار افراد و نیز به مصرف دخانیات بستگی ندارد ($p>0.05$). این نتایج در تطابق با مشاهدات Rössner و همکارانش(۲۹) و نیز Garaj-Vrhovac و همکارش(۳۰) می باشد.

امروزه برآورد خطرات ناشی از دوز های پایین در محیط، چالشی عمومی محسوب می شود. در دو دهه اخیر علی رغم افزایش استفاده از پرتو در پزشکی، پرتو گیری های شغلی کاهش یافته است. یکی از دلایل این امر پیروی بیشتر پرتوکاران از مقررات و روش‌های ایمنی مدون است به نحوی که پرتوگیری کارکنان در محدوده دوز مجاز قرار گرفته است؛ محدوده ای که به آن محدوده بی خطر اطلاق می‌گردد. ولی در تحقیق حاضر میزان بیان پروتئین p53 در بین پرتوکاران بالاتر از افراد شاهد مشاهده شده است. در حالی که نتایج

پایش این پرتوکاران حاکی از دریافت دوزی در محدوده دوز مجاز سالانه برای پرتوکاران بوده است.

این نتایج نشان می‌دهد که دوزیمتری هـای فیزیکـی شـاید اطلاعـات کـاملی را در مـورد توزیـع و میـزان پرتوگیری افراد نشان نمی‌دهد. در حالی که با توجـه بـه تجربیـات حاصـل از حـوادث پرتـوی، شـاخص هـای بیولوژیکی به منظور به دست آوردن اطلاعات مربوط به توزیع ومیزان پرتوگیری بسیار حیاتی است.

به علاوه از آنجایی که افراد دارای حساسیت پرتـوی متفاوتی هستند، شاخص های بیولـوژیکی دارای مزیـت بیشتری هستند. بنابراین، برای اطمینان از وجود حداکثر ایمنی شغلی، پایش بیولـوژیکی پرتوکـاران دارای ارزش بسیاری است. چنین روش‌هـایی مـی توانـد بـه عنـوان دوزیمتر داخلی بـرای پـایش فـرد و اطـلاع از افـزایش احتمالی عوامل ژنوکسیک و احتمالاً خطر سرطان زایـی در نظر گرفته شود.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از صـندوق حمایـت از پژوهشـگران کـه بخشی از بودجه این کار تحقیقاتی را تامین نموده اسـت تشکر می‌شود. همچنین از آقای دکتر میرشاهی و واحـد حفاظت در برابر اشعه کـه آزمایشـگاه هـای خـود را در اختیار این گروه پژوهشـی قـرار داده انـد، سپاسـگزاری می‌گردد.

منابع

1. Kim E, Giese A, Deppert W. Wild-type p53 in cancer cells: when a guardian turns into a blackguard. Biochem Pharmacol. 2009;77:1-20.
2. Hallstrom TC, Nevins JR. Balancing the decision of cell proliferation and cell fate. Cell Cycle. 2009;8:532-5.
3. Chen YG, Lui HM, Lin SL, Lee JM, Ying SY. Regulation of cell proliferation, apoptosis, and carcinogenesis by activin. Exp Biol Med. 2002;227:75-87.
4. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. Toxicol Pathol. 2007; 35:495-516.
5. Cuddihy AR, Bristow RG. The p53 protein family and radiation sensitivity: Yes or no? Cancer Metastasis Rev. 2004;23:237-57.
6. Vahakangas K. TP53 mutations in workers exposed to occupational carcinogens. Hum Mutat. 2003;21:240-51.
7. Bykov VJ, Lambert JM, Hainaut P, Wiman KG. Mutant p53 rescue and modulation of p53 redox state. Cell Cycle. 2009;8(16):2509-17.
8. Tsuda H. Gene and chromosomal alterations in sporadic breast cancer: correlation with histopathological features and implications for genesis and progression. Breast Cancer. 2009; 16(3):186-201.
9. Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. Nature. 2000;408:307-10.
10. Petitjean A, Mathe E, Kato S, Ishioka C, Tavtigian SV, Hainaut P, et al. Impact of mutant p53 functional properties on TP53 mutation patterns and tumor phenotype: lessons from recent developments in the IARC TP53 database. Hum Mutat. 2007;28:622-9.
11. Tang X, Zhu Y, Han L, Kim AL, Kopelovich L, Bickers DR, et al. CP-31398 restores mutant p53 tumor suppressor function and inhibits UVB-induced skin carcinogenesis in mice. The Journal of Clinical Investigation. 2007;117:3753-64.
12. Soussi T. REVIEW: p53 alterations in human cancer: more questions than answers. Oncogene. 2007;26:2145-56.
13. Soussi T, Wiman KG. Review :Shaping genetic alterations in human cancer: The p53 mutation paradigm. Cancer Cell. 2007; 12:303-12.
14. Takagi M, Absalon MJ, McLure KG, Kastan MB. Regulation of p53 translation and induction after DNA damage by ribosomal protein L26 and nucleolin. Cell. 2005;123:49-63.
15. Adimoolam S, Ford JM. Mini review: p53 and regulation of DNA damage recognition during nucleotide excision repair. DNA Repair. 2003;2:947-54.
16. Emenenko VA, Stewart RD. A fast Monte carlo algorithm to simulate the spectrum of DNA damages formed by ionizing radiation. Radiat Res. 2004;161:451-7..
17. Collis SJ, Sangar VK, Tighe A, Roberts SA, Clarke NW, Hendry JH, et al. Development of a novel rapid assay to assess the fidelity of DNA double-strand-break repair in human tumour cells. Nucl Acids Res. 2002;30:E1.
18. Tutt A, Yarnold J. Radiobiology of breast cancer. Clin Oncol. 2006;18:166-78.
19. Rössner JrP, Chvatalova I, Schmuczerova J, Milcova A, Rössner P, Sram RJ. Comparison of p53 levels in lymphocytes and in blood plasma of nuclear power plant workers. Mutat Res. 2004;556:55-63.
20. Kurtkaya-Yapicier O, Scheithauer BW, Hebrink D, James CD. p53 in nonneoplastic central nervous system lesions: an immunohistochemical and genetic sequencing study. Neurosurgery. 2002;51:1246-54.
21. Mawrin C, Kirches E, Schneider-Stock R, Scherlach C, Vorwerk C, Von Deimling A, et al. Analysis of TP53 and PTEN in gliomatosis cerebri. Acta Neuropathol. 2003;105:529-36.

22. Agami R, Bernards R. Distinct initiation and maintenance mechanisms cooperate to induce G1 cell cycle arrest in response to DNA damage. Cell. 2000;102:55-66.
23. Rehemtulla A, Taneja N, Ross BD. Bioluminescence detection of cells having stabilized p53 in response to a genotoxic event. Mol Imaging. 2004;3:63-8.
24. Pardo FS, Hsu DW, Zeheb R, Efird JT, Okunieff PG, Malkin DM. Mutant, wild type, or overall p53 expression: reedom from clinical progression in tumours of astrocytic lineage. Br J Cancer. 2004;91:1678-86.
25. Etebary M, Jahanzadeh I, Mohagheghi MA, Azizi E. Immunohistochemical analysis of P53 and its correlation to the other Prognostic factors in breast cancer. Acta Medica Iranica. 2002; 40:94-88.
26. Ryan KM, Phillips AC, Vousden K. Regulation and function of the p53 tumor suppressor protein. Curr Opin Cell Biol. 2001;13:332-7.
27. Manne U, Myers RB, Moron C, Poczatek RB, Dillard S, Weiss H. Prognostic significance of Bcl-2 expression and p53 nuclear accumulation in colorectal adenocarcinoma. Int J Cancer. 1997;74:346-58.
28. Fachin AL, Mello SS, Sandrin-Garcia P, Junta CM, Ghilardi-Netto T, Donadi EA, et al. Gene expression profiles in radiation workers occupationally exposed to ionizing radiation. J Radiat Res. 2009;50: 61-71.
29. Rössner Jr.P, Binková B, Srám RJ. The influence of occupational exposure to PAHs on the blood plasma levels of p53 and p21WAF1 proteins. Mutagenesis. 2003;535:87-94.
30. Garaj-Vrhovac V, Kopjar N. The alkaline Comet assay as biomarker in assessment of DNA damage in medical personnel occupationally exposed to ionizing radiation. Mutagenesis. 2003;18:265-71.

Original Article

Comparison of p53 expression between occupationally exposed to ionizing radiation and control group

***Shahla Mohammadi, Ph.D.** Assistant Professor of Molecular Biophysics, Nuclear Science Research School, Nuclear Science & Technology Research Institute, Tehran, Iran (*Corresponding author). smohammadi@aeoi.org.ir
Mohammad Reza Gharaati, MSc. PhD candidate of Biochemistry, Faculty of Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. gharaati@modares.ac.ir
Kobra Ezaki Khan Alang, MSc. PhD candidate of Molecular Medicine, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran. ezakikhan@yahoo.com
Rasa Rajaie, MSc. Radiation Applications Research School, Nuclear Science & Technology Research Institute, Tehran, Iran. rrajaie@aeoi.org.ir

Abstract

Background: Various stresses such as ionizing radiation can increase cellular damage, especially to nuclear DNA. To protect cellular damages, normal regulatory genes (such as Tp53 tumor suppressor) become activated. Accordingly, in this study, the p53 gene and its expression among employees occupationally exposed to low doses of ionizing radiation were compared with a selected control group.

Methods: Using an ELISA kit, the amount of p53 protein in the blood serum of case and control groups was measured. Statistical analysis was performed using student t-test procedure. As a case group, 42 healthy individuals (with a mean age of 37.8 ± 1.3 years) occupationally dealing with different kind of radiation sources in Atomic Energy Organization of Iran were chosen. As a control group, 16 healthy unexposed volunteers (with a mean age of 34.5 ± 2.0 years) who were matched for age, sex and smoking habits were selected. A 2 ml aliquot of heparinized peripheral blood was collected from each case.

Results: The results of this research indicate the higher levels of p53 expression in occupationally radiation group. Moreover, the work history or smoking had no effects on p53 expression.

Conclusion: Although the absorbed doses were below the permissible limits, this study confirms the role of low-level chronic exposure in increasing p53 expression among occupationally radiation workers. These results confirm that monitoring of radiation workers should not only be solely based on physical dosimetry, but also on the biological indicators, which have the advantage of measuring the individual radiation damage.

Keywords: Protein P53 expression, Ionizing radiation, Cell damage.