مقاله تحقیقی

تأثیر یکبار تابش طیف B پرتو فرابنفش بر فعالیت ژن فاکتور رشد کراتینوسیت در موش کوچک آزمایشگاهی

سیمین انصاری .M.Sc*، بهرام کاظمی .Ph.D***،**، مژگان بنده‌پور .Ph.D**، محمد بیات .Ph.D****،**

یوسف صادقی .Ph.D****،**، فاطمه‌السادات رضایی .B.Sc*****

* دانشگاه علوم پزشکی اراک

** مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و ملکولی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

*** گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

**** گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

***** کارشناس پژوهشی پژوهشکده رویان

تاریخ وصول: مهر ماه ۸۳، تاریخ پذیرش: آبان ماه ۸۳

چکیده

هدف: پوست به‌طور مداوم در معرض عوامل مضر نظیر پرتو فرابنفش است که تحقیقات نشانگر آثار زیانبار آن روی پوست است. در تحقیق حاضر اثر یکبار تابش طیف B پرتو فرابنفش روی بیان فاکتور رشد کراتینوسیتی در موش کوچک آزمایشگاهی بررسی شد.

مواد و روشها: طیف B پرتو فرابنفش یک بار و با دوزهای mJ/cm^2 ۳۰ و mJ/cm^2 ۵۰ به پوست پشت گردن ۴۵ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد Balb/C تابیده شد. بلافاصله، دو ساعت و شش ساعت بعد از تابش از پوست موشها نمونه‌برداری به‌عمل آمد. با گروه شاهد نیز نظیر گروه تجربی برخورد شد و فقط پرتو دریافت نکردند. RNA نمونه‌ها استخراج شد و cDNA با روش RT-PCR (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reactiun)، سنتز شد و سپس Nested PCR با پرایمرهای ژن فاکتور رشد کراتینوسیت انجام شد. محصول PCR روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شد و نوار DNA با استفاده از دستگاه UV Transillaminator مشاهده شد. داده‌ها با روش آماری تست دقیق فیشر آزمون شدند.

یافته‌ها: ژن فاکتور رشد کراتینوسیت در همه نمونه‌های گروه شاهد تکثیر شد ولی در هیچ‌یک از نمونه‌های گروه واکنش PCR انجام نشد یعنی بیان فاکتور رشد کراتینوسیت توسط نور UVB مهار شده است ($p<0.008$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد یکبار تابش طیف B پرتو فرابنفش با دوزهای mJ/cm^2 ۳۰ و mJ/cm^2 ۵۰ مانع بیان ژن فاکتور رشد کراتینوسیت در موش کوچک آزمایشگاهی تا شش ساعت بعد از تابش می‌شود.

کلید واژه‌ها: فاکتور رشد کراتینوسیتی ، نور UV ، موش سوری ، Nested PCR

مقدمه

پوست مرز اصلی بین بدن و محیط است و به‌طور مداوم در معرض بسیاری از عوامل مضر نظیر پرتو فرابنفش، نور مرئی، آلاینده‌های هوایی و پراکسیدانت‌ها نظیر اوزن و امواج یونیزان قرار دارد [۱ و ۲]. پرتو فرابنفش (UV)[1] بخشی از نور خورشید است که طیفهای A و B آن به زمین می‌رسد و طول موجی بین ۴۰۰-۲۹۰ نانومتر دارند. UVB از نظر بیولوژی فعال است [۲]. تابش UVB به اپیدرم پوست موجب نازک شدگی پوست، چین‌خوردگی، کراتوزیس و بدخیمی می‌شود [۳]. همچنین

آدرس مکاتبه : دانشگاه علوم‌پزشکی شهیدبهشتی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، صندوق‌پستی: ۴۷۱۹-۱۹۳۹۵ Email:m-bayat@yahoo.com

1. Ultra violet

گزارش شده است که حتی یکبار تابش پرتو فرابنفش به پوست می‌تواند موجب بروز التهاب، آسیب به DNA و آپوپتوزیس شود [۴]. محققان تأثیر تابش UV را روی برخی پروتئین‌های مهم، کراتینوسیتها و پوست بررسی کرده‌اند.

کارتاسوا (Kartasova) و همکاران حساسیت کراتینوسیتهای اپیدرم انسانی کشت داده شده در شرایط مختلف رشد را تجزیه و تحلیل کردند و با حساسیت فیبروبلاستهای مشتق شده از لایه درم همان پوست مقایسه کردند [۵]. رسن (Rosen) و همکاران تنظیم بیان ژن Ornithine decarboxylase را در پی تابش UVB به‌وسیله اندازه‌گیری سطح mRNA ارزیابی کردند [۶]. سیو (Seo) و همکاران آثار تابش یکبار UVB را روی Glutathion S transferase در کراتینوسیتهای انسانی کشت داده شده و در موش به‌وسیله اندازه‌گیری سطح mRNA و پروتئین بررسی کردند [۲]. ری (Rhie) و همکاران اثر تابش پرتو UV را روی کاتالاز که یک آنزیم آنتی‌اکسیدانت است به‌وسیله اندازه‌گیری سطح mRNA بررسی کردند [۱]. سلولهای حاضر در پوست، تعدادی فاکتورهای محلول تولید می‌کنند که اصولاً به‌عنوان فاکتور محرک تکثیر سلولی شناخته می‌شوند. اینها ممکن است به شیوه اتوکرینی[1] یا پاراکرینی[2] عمل کنند. از انواع این فاکتورها، فاکتورهای آنژیوژنیک هستند که توانایی تکثیر هماهنگ شده سلولهای اندوتلیال و عروق میکرو برای تولید عروق جدید به‌دنبال برخی تحریکات را دارند. یکی از این فاکتورها، فاکتور رشد کراتینوسیت (KGF)[3] است که قابلیت اتصال به هپارین را دارد و فاکتور رشد فیبروبلاستی شماره هفت هم نامیده می‌شود. این فاکتور در پوست اغلب به‌وسیله فیبروبلاستها تولید می‌شود و میتوژن بالقوه کراتینوسیتها محسوب می‌شود و مشخص شده است که بعد از ایجاد زخم و در بیماریهای هیپرپرولیفراتیو نظیر پسوریازیس زیاد می‌شود. گیرنده فاکتور رشد کراتینوسیت که یک تیروزین کیناز غشاگذر است اغلب به‌وسیله سلولهای اپی‌تلیال بیان می‌شود [۷] و در محیط کشت معادل پوست موجب القای هیپرپرولیفراسیون و تأخیر در تمایز می‌شود [۸]. در مورد تأثیر پرتو فرابنفش روی فاکتورهای رشد در پوست تحقیقات اندکی انجام شده است.

برکلینگ (Berkling) و همکاران نقش UVB و فاکتو ر رشد فیبروبلاستی بازی را در سرطان ملانوم پوست بررسی کردند و پیشنهاد نمودند که فقدان تعادل در تولید، به میزان فیزیولوژیک این فاکتور - به همراه تابش UV در ایجاد ملانوم نقش دارند [۹]. مارکس (Marchese) و همکاران اثر دوزهای فیزیولوژیک UVB و عامل پیش اکسیدانت cumene hyderoperoxide را روی فعالیت گیرنده فاکتور رشد کراتینوسیت تجزیه و تحلیل کردند [۱۰].

هدف تحقیق حاضر بررسی اثر تابش UVB با دوزهای ۳۰ mJ/cm^2 و ۵۰ mJ/cm^2 که در دامنه دوز فیزیولوژیک UVB است روی فعالیت حیاتی فاکتور رشد کراتینوسیتی از طریق ردیابی mRNA آن در موش است. نتایج این تحقیق ممکن است اطلاعات دقیق‌تری از عملکرد پرتو UV روی یکی از فعالیتهای سلولهای پوست ارایه کند که با ملاحظه نقش مهم فاکتور رشد کراتینوسیت در پوست سالم و زخم با اهمیت و اساسی به نظر می‌رسد.

مواد و روشها

۴۵ سر موش آزمایشگاهی کوچک نر بالغ سه ماهه از نژاد Balb/C با وزن ۳۰ الی ۴۰ گرم از انستیتوپاستور ایران خریداری شد. موشها پیش از انجام آزمایشها درون قفسهای انفرادی تمیز و در یک حیوانخانه با سیکل نوری ۱۲ ساعت روشن و ۱۲ ساعت خاموش و درجه حرارت حدود ۲۲ درجه سانتیگراد نگهداری شدند و دسترسی آزادانه به آب و خوراک موش داشتند. برای انجام تحقیق، موشها با تزریق داخل عضلانی ۵۰ mg/kg کتامین هیدروکلراید و 5mg/kg دیازپام بیهوش شدند و موی پشت گردن آنها تراشیده شد. سپس به موشهای گروههای تجربی ۱ و ۲ (هر کدام ۱۵ سرموش) یکبار طیف B پرتو فرابنفش با دوزهای ۳۰ mJ/cm^2 و ۵۰ mJ/cm^2 تابیده شد. دستگاه مولد نور ساخت کشور روسیه بود و طیف B پرتو فرابنفش را با شدت ۵۰ میلی‌ولت تولید می‌کرد و از فاصله ۲۴ سانتی‌متر از سطح پوست به مدتهای ۰/۶ ثانیه و یک ثانیه به گروههای تجربی یک و دو تابیده شد و بلافاصله پس از تابش ۲ ساعت و ۶ ساعت بعد از تابش نمونه‌برداری انجام شد.

1. Autocrine
2. Paracrine
3. Keratinocyte growth factor

موشهای گروه شاهد (۱۵ سرموش) هم بیهوش شدند و موی پوست پشت آنها تراشیده شد و بلافاصله، دو ساعت و ۶ ساعت بعد از تراشیدن مو پوست آنها نمونه‌برداری شد. برای انجام نمونه‌برداری، ابتدا موشها با استنشاق کلروفورم در فضای بسته دچار بیهوشی عمیق شدند. پوست تحت تابش در گروههای تجربی و محل مشابه در گروه شاهد به‌وسیله الکل طبی تمیز شد و با تیغ جراحی و پنس از بقیه بدن جدا شد و درون پتری دیش محتوی محلول بافر فسفات با pH=۷/۴ قرار داده شد. تکه پوست به‌طور کامل از فاسیای سطحی و چربی تمیز شد و در لوله محتوی بافر فسفات قرار گرفت و درون یخچال نگهداری شد.

به‌منظور استخراج RNA، پوست به قطعات ریز بریده شد و یک سی‌سی بافر RNX به یک قطعه ۰/۵ × ۰/۵ سانتی‌متر پوست اضافه شد و لوله تکان داده شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴° سانتی‌گراد و با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. پس از آن فاز رویی به میکروتیوب دیگر منتقل و هم حجم آن الکل مطلق اضافه و مجدداً سانتریفوژ شده و مایع رویی آن خالی شد؛ به رسوب آن ۱۰۰ میکرولیتر الکل ۷۰ درجه اضافه شد و دو دقیقه سانتریفوژ شد. پس از صرف الکل و خشک شدن رسوب مقدار ۴۵ میکرولیتر DEPC treated water[1] اضافه شد و ده دقیقه در دمای ۳۷° سانتی‌گراد قرار داده شد. برای تهیه cDNA ، مقدار ۱۰ میکرون از RNA ، همراه ۴ میکرولیتر بافر RT[2] مدت ده دقیقه در دمای ۷۰° سانتی‌گراد نگهداری شد تا لوپهای احتمالی RNA باز شود. سپس به واکنش ۱ میکرولیتر آنزیم RT (MMLV) که معادل ۲۰۰ واحد آنزیم است و یک میکرولیتر RNasine برای مهار RNase احتمالی و یک میکرولیتر OligdT اضافه شد. سپس به مدت یک ساعت در دستگاه ترموسایکلر مارک اپندورف با درجه حرارت ۴۲° سانتی‌گراد گذاشته شد تا واکنش نسخه‌برداری معکوس (RT) انجام شود. بعد از اتمام واکنش و تولید cDNA ، با استفاده از پرایمر ژن فاکتور رشد کراتینوسیت I ، PCR[3] طبق پروفایل حرارتی زیر برای تکثیر DNA انجام شد. مرحله دناتوره شدن اولیه در دمای ۹۴° سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. سپس تعداد ۳۰ سیکل PCR با شرایط زیر انجام شد، مرحله دناتوره شدن در دمای ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله انیلینگ در درجه حرارت ۶۲° سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله اکستنشن در درجه حرارت ۷۲° سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و در انتها برای کامل شدن رشته‌ها یک مرحله اکستنشن نهایی به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت. محصول PCR برای انجام PCR دوم به‌عنوان الگو استفاده شد. شرایط PCR مانند قبل بود فقط دمای انیلینگ ۴۷° سانتی‌گراد در نظر گرفته شد.

برای اطمینان از تکثیر قطعه هدف محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد. پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید نوار DNA با دستگاه UV Transillumintion مشاهده و از آن عکس تهیه شد.

داده‌ها از نظر وجود یا فقدان تشکیل نوار DNA در جدول درج شد و داده‌های گروهها به‌وسیله تست دقیق فیشر (Fischer exact test) آزمون شد.

یافته‌ها

همانطور که در شکل ۱ و جدول ۱ مشاهده می‌شود، نتایج نشانگر آن است که نوار DNA در ۱۵ نمونه گروه شاهد تشکیل شده ولی در هیچ یک از ۳۰ نمونه دو گروه تجربی یک و دو تشکیل نشده است. آزمون گروهها نشان داد اختلاف بین گروههای شاهد و تجربی در حد p=0.008 است. بنابراین اختلاف نتایج گروههای شاهد و تجربی از نظر آماری معنی‌دار است.

جدول ۱. وضعیت میان ژن فاکتور رشد کراتینوسیت در گروههای شاهد و تجربی

گروهها / وضعیت بیان ژن	گروه شاهد	گروه تجربی یک	گروه تجربی دو
موارد بیان ژن (وجود نوار DNA)	۱۵	صفر	صفر
موارد عدم بیان ژن (تشکیل شدن نوار DNA)	صفر	۱۵	۱۵

p<0.008

1. Diethyl pyrocarbonate
2. Reverse Transcription
3. Polymerase chain reaction

بحث

در تحقیق حاضر یک بار تابش طیف B پرتو فرابنفش با دوزهای ۳۰ mJ/cm^2 و ۵۰ mJ/cm^2 بلافاصله پس از تابش الی شش ساعت بعد از آن مانع بیان ژن فاکتور رشد کراتینوسیتی در موش کوچک آزمایشگاه Balb/C شد.

در سالهای اخیر پرتو فرابنفش به‌دلیل نازک شدگی لایه اوزون [۱۱] و افزایش سرطانهای پوست [۱۲] اهمیت پیدا کرده است. طیف B پرتو فرابنفش مهمترین قسمت، پرتو فرابنفش است و عامل بسیاری از آثاری است که به پرتو فرابنفش نسبت می‌دهند [۱۲]. در این خصوص واکنشهای شناخته شده پرتو فرابنفش شامل فعال شدن سریع ژنهای با عملکردهای جبرانی، حفاظتی و آپوپتوتیک و همچنین ارتباط استرس با دیگر سلولها از طریق مولکولهای پیام‌دهنده مترشحه است [۱۴].

سستو (Sestu) و همکاران آثار دوزهای مختلف UVB را در مدت زمانهای مختلف بررسی کرده و تصویر کلی از واکنش کراتینوسیتها را به UVB نشان دادند [۱۵]. آنها تعداد ۵۳۹ تنظیم‌کننده نسخه‌برداری را مشاهده کردند که براساس الگوی رفتاریشان به ۹ خوشه تقسیم شدند. تقسیم‌بندی این ژنها به ۲۳ دسته عملکردی نشان داد که فرآیندهای بیولوژیک متعددی تحت تأثیر UVB قرار می‌گیرند. همچنین وجود تعداد زیادی از فرآیندهای UP-regulation مربوط به نسخه‌برداریهای مرتبط با واکنش استرس و التهابی را تأیید کردند و افزایش معنی‌دار مرتبط با بیان ژنهای درگیر در نسخه‌برداری قاعده‌ای، قیچی کردن (Splicing) و ترجمه را مشاهده کردند و تجزیه تسهیل شده به‌وسیله پروتئوزوم (Proteasome) هم شامل موارد فوق است. آنها اعلام کردند که نتایج فوق پیچیدگی پروفایل نسخه‌برداری در واکنش به UVB را نشان می‌دهد که واکنشهای سلولی را توصیف می‌کند که متأثر از UVB هستند و قبلاً ناشناخته بود و به‌عنوان زمینه‌ای برای متمایز کردن ژنهای تنظیم شده به‌وسیله UV به‌کار می‌روند [۱۵].

اهمیت فاکتور رشد کراتینوسیتی در مقدمه ذکر شد [۱۸-۱۶ و ۹-۷]. همچنین نتایج یک تحقیق دیگر نشان داده است که فاکتور رشد کراتینوسیت تغییرات شدیدی را روی ارگانیزاسیون سه بعدی اپیدرم در محیط کشت شامل ضخیم شدگی آن، Crowding و دراز شدگی سلولهای قاعده‌ای، صاف شدگی reteridges و الگوی شبیه ripple را در محل تلاقی لایه‌های شاخی و دانه‌دار ایجاد می‌کند. این فاکتور همچنین بیان اینتگرین $\alpha 5\beta 1$ را القا می‌کند و بیان کراتین ده و ترانس گلوتامین را با تأخیر مواجه می‌کند [۲۴]. نتایج محققین دیگری نشان دادند که تابش UVB موجب القای سریع تشکیل گونه‌های اکسیژن واکنش ROS[1] می‌شود [۱۰]. نویسندگان تحقیق حاضر به‌دلیل اهمیت فاکتور رشد کراتینوسیت اثر دو دوز از UVB را که در دامنه دوزهای فیزیولوژیک UVB هستند [۱۰]. بر بدن موش زنده بررسی کردند. این دوزها در بررسی سیو (Seo) و همکاران که اثر UVB روی یکی از پروتئین‌ها بررسی شده بود به‌کار رفته است [۲]. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که یکبار تابش UVB بر پوست موشهای کوچک آزمایشگاهی با دوزهای ۳۰ mJ/cm^2 و ۵۰ mJ/cm^2 موجب فقدان بیان mRNA مربوط می‌شود، در حالی که در نمونه‌های شاهد mRNA بیان شد و این نشان‌دهنده تأثیر منفی تابش UVB روی فاکتور رشد کراتینوسیتی در درون بدن موجود زنده از زمان تابش تا ۶ ساعت بعد از تابش آن است.

مرور منابع در دسترس نمایانگر آن است که تحقیق مشابه دیگری در دسترس نیست تا نتایج تحقیق حاضر با آن مقایسه شود. اما محققین واکنش کراتینوسیتها به UVB را در محیط کشت و درون بدن موجود زنده از جنبه‌های دیگر بررسی کرده‌اند. لی (Li) و همکاران اعلام کردند که به‌دنبال تابش UV تغییرات بیان ژن را می‌توان تشخیص داد [۳۰]. گروه اول شامل فاکتورهای نسخه‌برداری، انتقال‌دهنده‌های پیام و پروتئین‌های اسکلت سلولی است.

گروه دوم شامل فاکتورهای رشد، سایتوکاینها و کموکاینها است و تغییراتی در فیزیولوژی کراتینوسیتها رخ می‌دهد. گروه سوم شامل اجزای پوشش شاخی (ornfied envelop) است. به نظر می‌رسد که نتیجه‌گیریهای کلی تحقیق فوق با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

ابس (Abts) و همکاران نشان دادند که اثر تابش دوز پایینی (۱۰۰ J/m^2) نور UBV روی پوست در ۲۴ ساعت اول وابسته

1. Reactive oxygen species

به زمان است و هم موجب القای بعضی از زخمها می‌شود و هم از این کار ممانعت به‌عمل می‌آورد. انجام چنین توالی ژن به نام HUR7 را مشخص نمودند که صرفا نور UVB موجب توقف بیان آن می‌شود.

در تحقیق حاضر هم برای بررسی دقیق‌تر UV روی فاکتور رشد کراتینوسیتی، mRNA فاکتور KGF ارزیابی شد و نتایج هر دو تحقیق با یکدیگر همخوانی دارند. سیو (Seo) و همکاران کاهش معنی‌داری در فعالیتهای GST در محیط کشت و درون بدن موجود زنده، ۲۴ ساعت بعد از تابش UVB با شدتهای mJ/cm^2 ۳۰ و mJ/cm^2 ۵۰ مشاهده کردند. تابش چند باره UVB باعث کاهش فعالیتهای GST در پوست شد، اما هیچگونه تغییری در بیان mRNA یا مقدار پروتئین GST که با آزمایشهای نورتون بلات و وسترن بلات کراتینوسیتهای انسانی که به آنها UVB با دوز mJ/cm^2 ۳۰ تابیده شده بود، مشاهده نکردند و از این‌رو محققان پیشنهاد کردند که نور UVB روی بیان mRNA و مقدار پروتئین GST پوست اثر مهاری ندارد. به هرحال در تحقیق سیو (Seo) و همکاران برخلاف سایر تحقیقات گزارش شده تابش UVB مانع بیان mRNA و مقدار پروتئین GST نشد و این نشان می‌دهد که اثر تابش UV روی همه ژنها یکسان نیست.

از دلایل احتمالی تأثیر منفی احتمالی تابش UVB روی فاکتور رشد کراتینوسیتی، نسخه‌برداری نشدن ژن فوق است یا ممکن است ژن فوق نسخه‌برداری شده باشد ولی به‌دلیل تغییراتی که در آن رخ داده است؛ پرایمر نتوانسته است به آن متصل شود. به نظر می‌رسد تابش طیف B پرتو فرابنفش با دوزهای mJ/cm^2 ۳۰ و mJ/cm^2 ۵۰ بر پوست موشهای کوچک آزمایشگاهی نژاد Balb/C موجب فقدان بیان mRNA فاکتور رشد کراتینوسیتی شود و انجام پیگیریهای با مدت طولانی‌تر و بررسی اثر سایر مدالیتی طب فیزیکی نظیر لیزرهای کم توان و اولتراسوند درمانی که آثار ترمیمی تأیید شده روی ترمیم زخم در پوست دارند؛ روی بیان ژن فاکتور رشد کراتینوسیت پیشنهاد می‌شود.

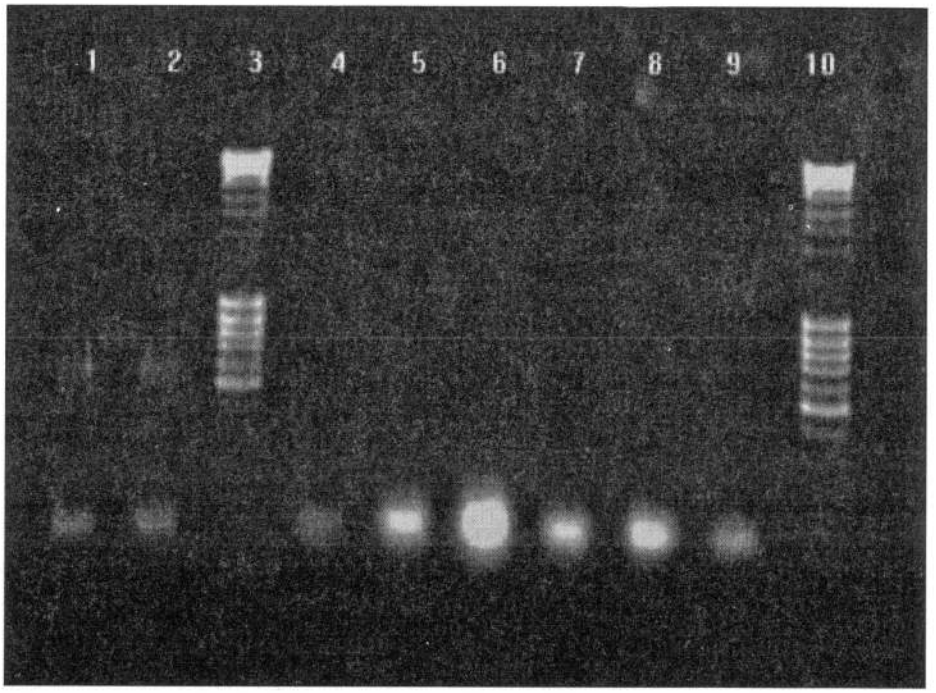
تقدیر و تشکر

این مقاله نتایج طرح تحقیقاتی شماره ۱۱۰۸ معاونت محترم پژوهش دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی است. نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسؤولین مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی دانشگاه متبوع که محل اجرای طرح بود و از معاونت پژوهشی دانشگاه به‌دلیل تأمین بودجه طرح ابراز می‌دارند.

References

1. **Rhie G, Seo JY, Chung JH.** Modulation of catalase in human skin in-vivo by acute and chronic UV radiation. Moleral Cell 2001; 11: 399-404.
2. **Seo KI, Cho KH, Park KC, Youn JI, Eun HC, Kim Kt, Pa KSC.** Change of glutathion S transferase in the skin by ultraviolet B irradiation. J Dermatol Sci 1996; 13: 153-60.
3. **Li D, Turi TG, Schuck A, Freedberg IM, Khitrov G, Blumenberg M.** Rays adn arrays, the transcriptional program in the response of human keratonocytes to UVB illumintion. FASEB J 2001; 15: 2533-5.
4. **Abts HF, Breahahn K, Michel G, Kohrer K, Esser P, Rusicka T.** Analysis of UVB modulated gene expression in human kerat inocytes by mRNA differential display polymerase chain reaction. Photochom Photobiol 1997; 66: 363-7.
5. **Kartasova T, Ponec M, Putte P.** Induction of proteins and mRNAs after UV irradiation of human epidermal keratinocytes. Experimental Cell Res 1988; 174: 421-32.
6. **Rosen CF, Gajic D, Drucker DJ.** Ultraviolet radiation induction of ornithine decarboxylse in rat keratinocytos. Cancer Res 1990; 50: 2631-5.
7. **Burbach GJ, Ancel JC, Armstrong CA.** Cytokines in the skin in Freinkel RK, Woodley DT (Eds) The biology of the skin, the parthenon publishing group. New York 2001, pp 302-10, 212-7, 259.
8. **Jimenez PA, Rampy MA.** Keratinocyte growth factor-2 accelerate wound healing in incisional wounds. J Surg Res 1999; 81: 238-42.
9. **Bercking C, Takemoto R, Satyamoorthy K, Elenitsas R, Herlyn I.** Basic fibroblast growth factor and UVB transform melanocyte in human skin. Am J Pathol 2001; 158: 943-53.

10. **Marchese C, Maresca V, Cardinali G, Belleudi F, Ceccarelli S, Bellocci M, Farti L, Torrisi MR, Plcardo M.** UVB-induced activation and internalization of keratinocyte growth factor receptor. Oncogene 2003; 24: 2422-31.
11. **Young AR.** The biological effect of ozone depletion. Br J Clin Pract (Suppl) 1997; 89: 10-5.
12. **Green A, Whiteman D, Frost C, Battistatta.** Sun exposure, skin cancers and related skin ronditions. Epidemiol 1999; 9 (6 suppl): S7-S13.
13. Internationla Agency for Research on cnacer. Solar and ultraviolet Radiation (IARC monograph on evaluation carcinogenic risks to human. IARC Lyon, France Vol. 55.
14. **Bender K, Blattner C, Knebel A, Bradanor M, Herrlich P, Rahmsdoff HJ.** UV induced signal transduction. J Photochem Photobiol B. Biology 1997; 37: 1-17.
15. **Sesto A, Navarro M, Burslem F, Jurceno JL.** Analysis of ultraviolet B response in primary human keratinocy te using oligonucleotide microarrays. Proc Natl Acad Sci USA 2002; 95: 2965-70.
16. **Guo L, Yu QC, Fuchs E.** Targeting expression of keratinocyte growth factor to keratinocytes elicits striking change's in epithelial differentiation in trangenic mice. EMBO 1993; 12: 973-86.
17. **Werner S, Peters KG, Longaker MT, Fuller-Pace F, Banda MJ.** Large induction of keratinocyte growth factor expression in the dermis during wound healing. Proc-Natl Acad Sci USA 1982; 89: 6896-900.
18. **Werner S, Smola H, Liao X, Longaker MT, Krieg T, Hofschneider PH, Williams LT.** The function of KGF in morphogenesis of epithelium and reepithelialization of wounds. Science 1994; 266: 819-22.
19. **Guo L, Degenstein L, Fuchs E.** Keratinocyte growth factor is required for hair development but not for wound healing. Gene Dev 1996; 10: 165-75.
20. **Andreadis ST, Hamoen KE, Yarmush ML, Morgan JR.** Keratinocyte growth factor induces hyperproliferation and delays differentiation in a skin equvalent model system. FASEB J 2001; 15: 898-906.



شکل ۱. الکتروفورز محصول PCR ژن فاکتور رشد کراتینوسیت در ژل آگارز ۱/۵ درصد

ستونهای ۱ و ۲ : نمونه‌های شاهد؛ ستونهای ۳ و ۱۰ : مارکر؛ ستونهای ۹-۴ : نمونه‌های مربوط به گروههای تجربی. نمونه ۴ : بلافاصله بعد از تابش در گروه تجربی یک، نمونه ۵ : دو ساعت بعد از تابش در گروه تجربی یک، نمونه ۶: شش ساعت بعد از تابش در گروه تجربی یک، نمونه ۷ : بلافاصله بعد از تابش در گروه تجربی دو، نمونه ۸ : دو ساعت بعد از تابش در گروه تجربی دو و نمونه ۹ : ۶ ساعت بعد از تابش اشعه در گروه تجربی دو