



SY0100911

SYRIAN ARAB REPUBLIC
ATOMIC ENERGY COMMISSION (AECS)
DAMASCUS, P.O. BOX 6091



FINAL REPORT ON SCIENTIFIC RESEARCH
DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY

BIOLOGICAL RADIATION DOSE ESTIMATION BY
CHROMOSOMAL ABERRATIONS ANALYSIS IN HUMAN
PERIPHERAL BLOOD (DOSE-EFFECT CURVE)

DR. WALID AL ACHKAR

AECS - B\ FRSR 238

SEPTEMBER 2001

32 / 46

57/R



SY0100911



الجمهورية العربية السورية
مبنة الطاقة الذرية
دمشق - ص.ب. ٦٠٩١

تقرير نهائي عن بحث علمي
قسم البيولوجيا الجزيئية والتقانة الحيوية

قياس الجرعة الإشعاعية بيولوجياً بتقانة تحليل الصبغة الصبغية
في أمفاويات الدم المحيطي البشري (منحنى جرعة - أثر)

الدكتور وليد الأشقر

أيلول ٢٠٠١

هـ ط ذ س - ب / ت ن ب ع ٢٣٨

الجمهورية العربية السورية
هيئة الطاقة الذرية
قسم البيولوجيا الجزيئية والتقانة الحيوية

قياس الجرعة الإشعاعية بيولوجياً بتقانة تحليل الصيغة الصبغية
في لمفاويات الدم المحيطي البشري (منحني جرعة - أثر)

الدكتور وليد الأشقر

أيلول ٢٠٠١

هـ ط ذ س - ب / ت ن ب ع ٢٣٨

حقوق النشر:

يسمح بالنسخ والنقل عن هذه المادة العلمية للاستخدام الشخصي بشرط الإشارة إلى المرجع ،
أما النسخ والنقل لأهداف تجارية فغير مسموح بهما إلا بموافقة خطية مسبقة من إدارة الهيئة.

مساهمة الدكتور محمد عثمان:

لقد ساهم السيد الدكتور محمد عثمان في مراحل البحث الأولى وخاصة في مرحلة إعداد الإستمارة وبعض الأعمال التقنية اللازمة للمباشرة وللتقارير المرحلية الثلاثة الأولى. نشكر له مشاركته المميزة.

4	1. الخلاصة.....
6	2. المقدمة.....
11	3. المواد والطرائق.....
11	• عينات الدم.....
11	• التشيع.....
12	• زراعة اللماوويات.....
13	• الدراسة المجرية.....
15	4. النتائج.....
20	• تمثيل البيانات.....
30	5. المناقشة.....
33	6. التوصيات.....
34	7. كلمة الشكر.....
35	8. المراجع.....

1-الخلاصة:

درست التبدلات الصبغية المحرّضة بأشعة غاما تجريبياً على عينات من الدم المحيطي لعدة أشخاص أسوياء وبعمر العمل بهدف رسم مخطط لمنحني يسمح بتقييم الجرعة الإشعاعية المعرضين لها بدليل ما لدينا من تبدلات في الصبغة الصبغية. جمعت عينات الدم من ثمانية أشخاص (4 ذكور و4 إناث)، ووزعت في أنابيب، وشععت بالجرعات (0.15، 0.25، 0.5، 1، 1.5، 2 و 2.5) غراي من أشعة غاما بمعدل 0.3 غراي/دقيقة وهي مغطسة في حمام مائي بدرجة 37 مئوية. زرعت عينات الدم المشععة والشاهدة في وسط زرع سائل وتركت لفترة 48 ساعة في حاضنة بدرجة حرارة 37 مئوية. ثبتت الزراعات ونشرت الإنقسامات ولونت ودرست التبدلات الصبغية المحرّضة فيها. سجلت البيانات الناتجة عن دراسة (67888) سبع وستون ألف وثمانمائة وثمان وثمانون انقسام. ومثلت نسب الصبغيات ثنائيات القسم المركزي الملاحظة لوحدها، أو مع الصبغيات الحلقية، كما مثل مجموع الكسور الصبغية الكلية مقابل الجرعة المستعملة على شكل منحنيات لكل شخص على حدة أو لمجموع البيانات من الأشخاص كافة. أظهرت جميع المنحنيات ازدياداً في عدد التبدلات الصبغية المحرّضة مع ارتفاع الجرعة الإشعاعية التجريبية المستعملة. وتوافق معدل التبدلات الصبغية الملاحظ مع مربع الجرعة الإشعاعية المستعملة.

تقدم هذه المنحنيات فائدة عملية وسريعة لتقييم التعرض الإشعاعي الحفوي في حال حدوث تعرض إشعاعي غير مراقب.

2-المقدمة :

لا تزال الصناعة النووية والاستخدامات الطبية للإشعاعات تشكل رعباً لدى عامة الشعب من خطر الإصابة بحوادث تعرض اشعاعي عفوي رغم التزام اغلب المؤسسات العلمية المختصة بكافة اجراءات الأمان، من حيث تحديد مناطق العمل وضبط النفايات وتزويد العاملين بأجهزة قياس الاشعة فيزيائياً". ويشكل ضبط التعامل مع المواد المشعة هاجس مؤسسات الطاقة الذرية في العالم، ولا بد في حال حدوث تعرض اشعاعي، مهما كان نوعه، من توفر وسائل قياس مناسبة لكل حالة على حدة. ويكون الانسان والبيئة هما الهدفان الأساسيان من الوقاية. وتتوفر طرائق عديدة لقياس شدة التعرض الاشعاعي على مستوى الانسان.

يعتبر تحليل التبدلات الصبغية من أفضل أهم الطرائق البيولوجية لإعطاء تقدير كمي ممتاز لتعرض الأشخاص للإشعاعات المؤينة. فهي طريقة حساسة لتقدير جرعة التعرض في الحوادث الإشعاعية كما في حالات التعرض الحاد، والمتجانس، وتعرض كامل الجسم أو جزء منه. لكن في الواقع، لا يكون التعرض مطابقاً للحالات النموذجية المدروسة عادة. وتبرز هنا صعوبة تحديد مقدار الجرعة ونوعها وخاصة في التعرض المجزأ. وتعد البيانات عن الجرعة الممتصة وتوزعها في الجسم هامة جداً، وهذا في جميع حالات التعرض، وذلك لإعطاء تقدير باكر وسريع لأثر الجرعة ليتم أخذ القرارات المناسبة من أجل المتابعة الصحية، ولتقييم الإنذار لدى الأشخاص المتعرضين، ونظراً" لكون قياسات الجرعة الإشعاعية فيزيائياً" غير واضحة أو ناقصة. يمكن لقياس الجرعة بيولوجياً أن يكون الرديف

الأنسب. وقد استعملت هذه النقانة في أغلب الحوادث الإشعاعية كحادث تشارنوبيل وحادث غويانا وحوادث التعرض الفردي لتقييم الضرر وتحديد الإجراءات المناسبة لمتابعة المتعرضين، كما واستخدمت حديثاً طرائق جزيئية لإعادة تقييم جرع التعرض في الحوادث المشار إليها (نقانة التهجين المتألق في الموضوع) (Bauchinger 1995).

كانت الملاحظات الأولى عن تشكل التبدلات الصبغية والأثر المطفر بفعل الأشعة على الكائنات الحية لمولر عام 1927، وقد ميزت دراسات عدة نوعي التبدلات المحرصة؛ الصبغية (وهي التي تطال سلسلتي جزيء المادة الوراثية) والصبغية (وهي التي تطال إحدى سلسلتي جزيء المادة الوراثية فقط) (Evans, 1962). وتناولت دراسات أخرى تشكل التبدلات الصبغية المحرصة بالأشعة وترميمها (Natarayan and Fabry and Coton, 1985 ; Natarayan et al., 1986; Obe,1983) و (McWilliams et al., 1983).

تختلف الإشعاعات في قدرتها على إحداث التبدلات الصبغية وذلك بحسب كمية الضرر التي تحدثه خلال وحدة المسافة، ويعكس ذلك درجة تأيين الذرات و تخامد الطاقة عبر تنازل الأشعة عنها خلال مسارها ضمن الأجسام، و يسمى هذا مقدار نقل الطاقة الخطي (LET). وتظهر أهم نتائج توزيع التأيين لمختلف أنواع الأشعة على تشكل تبدلات في المادة الوراثية ضمن الخلايا المختلفة. ونلاحظ مع الأشعة ذات مقدار نقل الطاقة الخطي المنخفض تأيين عشوائي متوزع في الخلايا نظراً لوجود مسارات أشعة متعددة. ولهذا يكون ضرر الدنا متوزعاً عشوائياً بين

الخلايا. ويتوفر حظ متماثل لكل الأضرار لتتحول الى تبدلات صبغية. ويكون هذا التوزع أيضا " عشوائيا" في الخلايا وهذه هي حالة أشعة غاما و X. أما الإشعاعات ذات مقدار نقل الطاقة الخطي المرتفع أو ذات التأيين الكثيف فلا تنتزع طاقتها بشكل عشوائي في الخلايا، كما ويكون عدد مسارات التأيين فيها أقل من أشعة غاما. ولاتتوزع التبدلات الصبغية في هذه الحالة بشكل عشوائي في الخلايا. ويفيد استعمال هذه الظاهرة في تقييم نوع الجرعة الإشعاعية الممتصة ومعرفة نوع التعرض غير المتجانس لكامل الجسم، أو الجزئي. يرتبط مفهوم الخطر الإشعاعي بفكرة ظهور الأمراض الوراثية المترافقة مع تبدلات صبغية وانتقالها عبر الأجيال الخلوية (تثلث أو وحدانية كاملة أو جزئية لأحد الصبغيات، وانتقالات متبادلة) (Carrano,1973a ; Van Buul and Natarayan 1980; Al Achkar et al.,) (1988).

تشير المراجع العلمية ان 2/5 من الإنتقالات المتبادلة المحرصة بأشعة غاما في اللمفاويات البشرية يمكن أن تشكل خطر تشكل تثلث أو وحدانية جزئية في الخلايا الجنسية (Dutrillaux et al.,1981,1983). كما وتبين ان اغلب السرطانات تحتوي إما على تبدلات صبغية عديدة أو بنيوية (Mitelman,1988). وتختلف نسب الزيوغ الصبغية المحرصة بالأشعة حسب المتبرع ومدة انجاز دارته الخلوية (Paul 1980 et al.,). تسبب التبدلات الصبغية كثنائي القسيم المركزي (Dicentric) والصبغي الحلقي (Ring) والصبغي ثلاثي القسيم المركزي (Tricentric) موت الخلايا بفعل تشكل جسور صبغية، بينما تبقى الخلايا الحاملة للإنتقالات

(Translocations) والانعكاس (Inversions) حية نظراً لكون هذه التبدلات متوازنة (Carrano 1973). وتناولت دراسات عديدة تشكل التبدلات الصبغية اعتباراً من الكسور الصبغية الأحادية أو الثنائية عبر التحام مواقع الكسور التحاماً مباشراً أو عبر تبادل ترميمي بعد التضاعف (Graig, 1980). وتناولت دراسات توزع التبدلات الصبغية المحرصة بأشعة غاما مع الزمن (Dutrillaux et al., 1985). كما وأظهرت دراسات أخرى نسبة التبدلات الصبغية المتوازنة لكونها قابلة للحياة إذا وجدت في الخلية وتشكل خطراً وراثياً مرتبطاً مع التعرض الإشعاعي (Hansmann, 1983)

مما تقدم، تبرز أهمية إجراء دراسات محلية بهدف الحصول على منحنى أو منحنيات تجريبية (جرعة - أثر) بدليل الزيوغ الصبغية، وإحدى الإشعاعات المرجعية لتحديد الخطر والجرعة الإشعاعية في الحوادث العفوية وهي أشعة غاما.

تتصح الوكالة الدولية للطاقة الذرية الدول الأعضاء بتطوير مخبر مختص في الوقاية الإشعاعية يضم بيولوجيين وفيزيائيين وقادر على إجراء تحليل الصبغيات بهدف قياس الجرعات الإشعاعية بيولوجياً. ويجب على هذا المخبر أن يجري دراساته الخاصة لتحديد التبدلات الصبغية المحرصة بعد التعرض لمختلف أنواع الإشعاعات. ستستخدم هذه البيانات لتحديد جرعات التعرض في حالات الحوادث الإشعاعية.

تم في هذا العمل اختيار أشعة غاما من منبع كوبالت 60. وأجريت الدراسة بهدف الحصول على منحنى عياري للتبدلات الصبغية المحرصة تجريبيا" في الزجاج باستعمال جرعات إشعاعية من (0.15 إلى 2.5) غراي. ويسمح هذا المنحنى لهيئة الطاقة الذرية بالاعتماد عليه في حال، لا قدر الله، حدوث تعرض إشعاعي عفوي وخاصة من منابع تعقيم الأغذية والأجهزة الطبية ووحدات المعالجة الإشعاعية المنتشرة في سورية.

3- المواد والطرائق:

3-1- عينات الدم:

اختير ثمانية أشخاص من الجنسين (4 ذكور و 4 إناث) رقموا من 1 إلى 8 من غير المدخنين، وبصحة جيدة وخاليين من الأمراض السارية. وتراوح أعمارهم بين 20-30 عاماً. وسحب الدم الوريدي (40 مل) إلى أنابيب سحب دم معقمة ومخلاة من الهواء وتحتوي على هيبارين الليثيوم. ووزعت عينات الدم على ثمانية أنابيب (5 مل) تمهيداً لعملية التشعيع.

3-2- التشعيع:

شععت العينات بدرجة حرارة 37 مئوية بوضع الأنابيب في حمام مائي بشكل عامودي، وحسبت الجرعة ومعدلها في قسم الوقاية والأمان النووي. ووضعت بعيدة بشكل كافي عن المنبع ليكون التشعيع متجانساً ومتماثلاً بين السطح والعمق. كما أخذ بعين الاعتبار المواد المحيطة بالعينة وأقصيت المواد التي تسبب تغيراً في الجرعة وخاصة لعينة الدم القريبة من غلاف الأنبوب. واستخدمت أشعة غاما من منبع كوبالت 60. وكانت الجرعات المستعملة: (0.15-0.25-0.5-1-1.5-2-2.5) غراي بمعدل جرعة (0.03±0.30) غراي/دقيقة. وشععت عينات أحد الأشخاص (الشخص رقم 4) بنفس الجرعات إنما بمعدل جرعة أعلى 0.46 غراي/دقيقة نتيجة التباس في تقديم معدل الجرعة من قسم الوقاية مع تجارب أخرى معتمدة في القسم.

3-3- زراعة اللمفاويات:

قمنا بتطبيق طريقة (1981) Dútrillaux & Couturier من أجل الحصول على الطور التالي Metaphase لللمفاويات الدم المحيطي في عينات الدم وهي متوافقة مع ما جاء في توصيات الوكالة (التقرير الوكالة 260 / عام 1986). يزرع الدم الشاهد والمشع بالجرعات المعتمدة في أنابيب خاصة لزرع الدم طراز بروفيسور لوجون سعة 10 مل وذات قعر مخروطي، بمعدل 10 قطرات / أنبوب، وذلك في وسط زرع مكون من المزيج التالي :

- 6.5 مل من وسط باستور 199 - TC مع المضادات الحيوية :

(بنسيلين 100 وحدة / مل + ستربتومايسين 100 ميكروغرام/مل)

- 1.5 ميليلتر سيروم معزول من دم بشري زمرة AB+

- 100 وحدة هيبارين.

- 50 ميكروليتر فيتوهيماغلوتينين (محرض انقسامي)

ويجرى الزرع لمدة 48 ساعة في حاضنة بدرجة 37 مئوية. وقبل نهاية الزرع بساعتين يضاف 0.1 مل من محلول الكولشيسين (بتركيز 4 ميكروغرام/مل) لاييقاف الانقسامات في مرحلة الطور التالي من الدورة الانقسامية الأولى . ثم تنقل الأنابيب مدة 7 دقائق بسرعة 1300 دورة/دقيقة، ويلقى بالطافي، و يمدد الراسب الخلوي بمحلول منخفض التوتر hypotonic، مكون من بلاسما بشرية AB+ وماء مقطر (بنسبة 1 بلاسما : 6 ماء مقطر) ويتضمن 100 ميكروليتر من محلول

EDTA (بتركيز 40 مل غرام/مل) . ويحضن مدة 20 دقيقة بالدرجة 37 .
يضاف بعد ذلك لكل أنبوب 0.5 مل من مثبت كارنوا (مزيج من الايتانول
وحمض الخل الثلجي بنسبة 3 ايتانول: 1 حمض خل). ثم يجري التثقيل لمدة 7
دقائق بسرعة 1300 دورة/دقيقة. وبعد القاء الطافي، يضاف الى الراسب 2 مل
من مثبت كارنوا مع هز أنابيب الزرع بوضعها على جهاز هزاز للأنايب
المخبرية Votrex للحصول على معلق خلوي . تثقل الأنابيب ويلقى الطافي، ثم
يضاف كمية جديدة من المثبت وتترك الانقسامات الخلوية في المثبت مدة ليلة
واحدة على الأقل بالدرجة +4 . وفي المرحلة الأخيرة تثقل الانابيب ويلقى الطافي
مع الابقاء على بضع قطرات من المثبت مع الراسب، ثم يحول الراسب الخلوي
الى معلق خلوي، باستعمال قطارة باستور ويجري نشره على صفائح زجاجية
مبردة (تنظف بنقعها بمزيج محلول سلفوكروميك 10% وماء ثم تغسل بالماء
الجاري وتحفظ في ماء مقطر بارد) . تترك الصفائح لتجف ثم تلون بملون جيمسا
3% في الماء المقطر و3% محلول موقى فوسفاتي (KH_2PO_4 , $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
لمدة عشرة دقائق، تغسل بعدها بالماء الجاري ثم المقطر، وتترك لتجف وتصبح
جاهزة للدراسة المجهرية.

3-4- الدراسة المجهرية:

درست المحضرات مجهرياً بشكل عشوائي من قبل شخصين مختلفين باستعمال
مجاهر ضوئية وبتكبير 1000 مرة. وسجلت التبدلات الصبغية من الحالات

المعتمدة تباعاً" بناءً على ما ورد في تقرير الوكالة الدولية للطاقة الذرية رقم
260 عام 1986. وقد اعتمدت التبدلات الصبغية التالية : ثنائيات القسم
المركزي (Dicentrics)، الصبغيات الحلقية (Rings)، الدقائق الصبغية (Mins)،
الكسور الصبغية و الصبغية (Ctb,Csb)، والتبادلات الصبغية (Cte).

4-النتائج:

بلغ عدد الانقسامات المدروسة / 67888/ سبع وستون ألف وثمانمائة وثمان
وثمانون انقساماً تم تسجيلها من قبل مجموعة عناصر المخبر (مجموعتين تتألف كل
منهما من شخصين). ودرست التبدلات المسجلة في الانقسامات وسجلت من قبل
شخصين على الأقل. تمت دراسة كافة الانقسامات المتوفرة على صفائح الحالات
للأشخاص المعتمدين. ونقدم في الجدول (1) البيانات المسجلة لكل حالة. كان
يجب في الجرعات العالية (المرتفعة) أن يسجل 100 ثنائي قسيم مركزي لكل
جرعة. وهذا غير ممكن في الجرعات المنخفضة لذا يجب تسجيل عدة آلاف من
الانقسامات في هذه الجرعات.

الجدول 1: البيانات الأساسية المسجلة عن الحالات المعتمدة في البحث (الأشخاص 1-4 ذكور، 5-8 إناث) والجرعات المستعملة وعدد الانقسامات المسجلة والزيوغ الصبغية الملاحظة فيها.

تبادل صبغى	كسر صبغى	كسر صبغى	كسر صبغى	صبغى حلقي	نقل	تلقى القسم	عدد الانقسامات	الجرعة Gy/	العمر/س	الاسم
1	1	40	0	0	1	0	1117	0	23	الشخص 1
0	2	113	0	0	3	0	1810	0.15	23	الشخص 1
1	3	116	3	3	26	9	1671	0.25	23	الشخص 1
0	0	29	0	0	19	11	403	0.5	23	الشخص 1
1	0	5	1	1	12	8	189	1	23	الشخص 1
1	4	22	40	40	140	69	576	1.5	23	الشخص 1
0	2	7	4	4	50	25	190	2	23	الشخص 1
0	1	5	12	12	36	19	91	2.5	23	الشخص 1
0	1	30	0	0	0	0	2163	0	18	الشخص 2
0	0	75	0	0	6	7	1593	0.15	18	الشخص 2
3	13	116	4	4	43	20	2230	0.25	18	الشخص 2
2	3	71	8	8	32	17	922	0.5	18	الشخص 2
0	3	32	44	44	166	35	1440	1	18	الشخص 2
2	5	123	242	242	865	524	3179	1.5	18	الشخص 2
3	3	75	274	274	808	370	1901	2	18	الشخص 2
1	11	137	547	547	2042	909	3131	2.5	18	الشخص 2
0	0	18	0	0	0	2	489	0	25	الشخص 3
0	20	30	7	7	8	3	904	0.15	25	الشخص 3
0	2	25	3	3	7	3	904	0.25	25	الشخص 3
0	2	14	1	1	7	2	247	0.5	25	الشخص 3
0	4	18	32	32	113	52	433	1	25	الشخص 3
1	3	18	43	43	158	82	584	1.5	25	الشخص 3

تبادل صديقي	كسر صديقي	كسر صديقي	صديقي حلقى	بقاتل	تتالي القسم	عدد الاقدمات	جرعة Gy	العصر/س	الاسم
0	0	4	22	82	30	223	2	25	الشخص 3
0	0	2	17	54	18	92	2.5	25	الشخص 3
1	7	22	0	9	2	1918	0	23	الشخص 4
0	6	18	0	13	1	691	0.15	23	الشخص 4
0	12	149	17	60	26	3210	0.25	23	الشخص 4
1	12	42	8	49	23	1314	0.5	23	الشخص 4
0	2	15	7	32	6	576	1	23	الشخص 4
0	13	32	74	293	88	1164	1.5	23	الشخص 4
2	2	83	469	1457	630	2985	2	23	الشخص 4
3	8	11	288	446	271	1248	2.5	23	الشخص 4
0	6	40	0	2	0	1887	0	27	الشخص 5
1	5	44	0	15	1	2448	0.15	27	الشخص 5
0	2	76	9	14	5	3281	0.25	27	الشخص 5
0	10	48	8	51	23	1520	0.5	27	الشخص 5
0	2	53	75	452	191	2257	1	27	الشخص 5
0	5	19	90	213	115	1994	1.5	27	الشخص 5
0	10	16	117	428	172	1696	2	27	الشخص 5
0	0	3	33	60	33	115	2.5	27	الشخص 5
0	1	11	0	2	0	814	0	23	الشخص 6
0	2	16	2	16	9	759	0.15	23	الشخص 6
0	0	14	0	0	0	83	0.25	23	الشخص 6
2	1	8	3	11	5	229	0.5	23	الشخص 6
0	1	7	7	40	19	409	1	23	الشخص 6
0	12	24	34	106	60	656	1.5	23	الشخص 6
0	2	30	89	347	185	921	2	23	الشخص 6
2	14	15	180	344	223	940	2.5	23	الشخص 6

تبادل صيني	كسر صيني	كسر صيني	كسر صيني	صيني حقيقي	بفق	ثقي القسم	عدد الانقسامات	Gy/ الجرعة	العمر/س	الاسم
0	3	10	0	2	0	680	0	29	الشخص 7	
0	2	10	3	5	0	763	0.15	29	الشخص 7	
2	4	65	7	9	5	819	0.25	29	الشخص 7	
0	9	28	17	39	9	1161	0.5	29	الشخص 7	
0	2	22	0	1	0	802	0	23	الشخص 8	
0	6	20	3	14	0	907	0.15	23	الشخص 8	
0	15	83	2	27	15	1603	0.25	23	الشخص 8	
0	2	12	2	21	4	524	0.5	23	الشخص 8	
0	1	9	26	78	56	592	1	23	الشخص 8	
0	3	9	26	102	49	361	1.5	23	الشخص 8	
0	1	3	9	22	10	52	2	23	الشخص 8	
0	0	1	2	8	2	27	2.5	23	الشخص 8	

وقد لاحظنا تفاوتاً في عدد الانقسامات المدروسة في الجرعات المختلفة بين الأشخاص المعتمدين الأمر الذي يعكس الإستجابة المختلفة للمعرض الإنقسامي ومبدأ التبدلات في الحساسية الإشعاعية الفردية. ونشير الى انخفاض عدد الانقسامات مع ارتفاع الجرعة الإشعاعية المستعملة في بعض الحالات.

و لم تطال البيانات المسجلة للشخص السابع (الأنثى 3) الجرعات العالية نظراً لتعذر أخذ عينات دم من هذا الشخص لوجوده خارج القطر. كما وأن البيانات المأخوذة من الشخص (الذكر 4) كانت من تجارب تبين أن الجرعات المقدمة فيها كانت بمعدل جرعة أعلى 0.48 غراي/دقيقة، وهذا بسبب التباس حصل مع تجارب تشيع أخرى يجريها القسم في قسم الوقاية. وعمدنا إلى دمجها مع البيانات الأخرى إذا تبين أن الفرق في التبدلات الملاحظة والمعدل بينهما لم يكن ذي دلالة إحصائية (الأشكال 4-6) واقتصرنا للمقارنة على إظهارها في بعض المنحنيات (الأشكال 7-8).

لقد اعتمدت الوكالة الدولية للطاقة الذرية عدد ثنائيات القسيم المسجلة لكل شخص وكل جرعة. ويمكن دمج هذا العدد مع عدد الصبغيات الحلقية الملاحظة نظراً لتطابق شكل التبدل والكسور التي تسهم في تشكل كلا الزيغين.

كما ويمكن إرجاع عدد التبدلات أو الزيوغ المسجلة إلى عدد الكسور الصبغية المكافئة، وهكذا يمكن إجمال كافة التبدلات الصبغية الملاحظة في الدراسة كاملة. ونحتاج لأربعة كسور صبغية لإحداث ثنائي قسيم مركزي أو صبغي حلقي وتبادل

صبغي، وكسرين صبيغيين لإحداث كسر صبغي ودقائق صبغية إذا لم تكن ناتجة عن صبغي حلقي أو صبغي ثنائي القسم المركزي.

ونلاحظ من البيانات المسجلة أن نسبة الزيوغ تتبدل بين الأشخاص إلا أن اعتماد معدل الكسور الصبغية المحرصة المكافئة الناتج عن إجمالي التبدلات الصبغية المسجلة لكل شخص يعطي فكرة أشمل عن الأذى الإشعاعي المحرض، بالرغم من إهمال مجموعة زيوغ صبغية هي الإنتقالات والانعكاسات من التسجيل نظراً لعدم إجراء الدراسة الصبغية باستعمال طرائق وسم الصبغيات.

4-1- تمثيل البيانات:

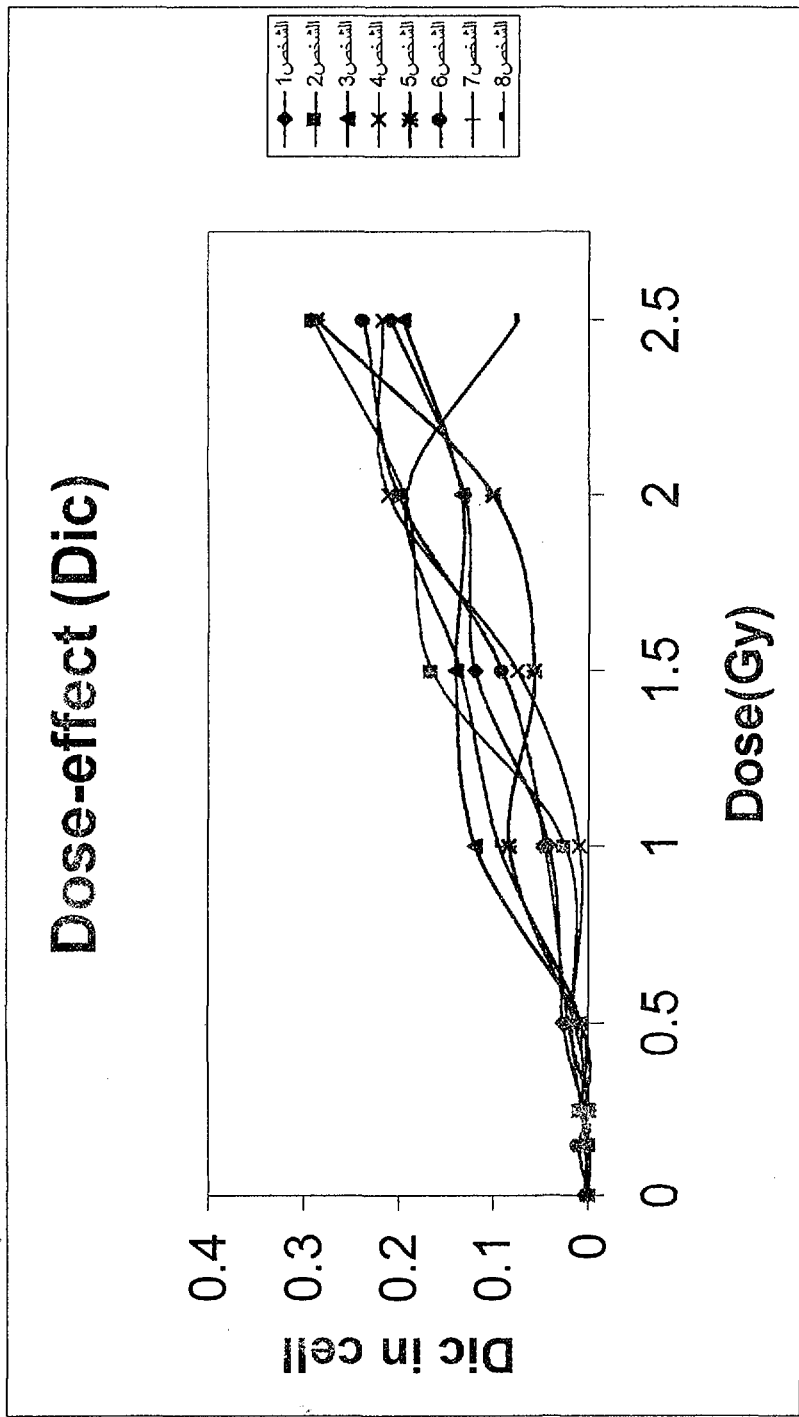
قمنا بتمثيل عدد ثنائيات القسم المحرصة بجرعات الأشعة المعتمدة بالخلية لكل شخص على حدة مقابل الجرعة الإشعاعية المستعملة ، ونشير لها في الشكل (1). كما ومثلنا عدد ثنائيات القسم والصبغيات الحلقية بالخلية مقابل الجرعة الإشعاعية المستعملة في الشكل (2)، ومثلنا الكسور الصبغية الكلية بالخلية مقابل الجرعة الإشعاعية المستعملة لكل شخص على حدة في الشكل (3). وجمعت البيانات للأشخاص كافة لثنائيات القسم المركزي المحرصة بالخلية مقابل الجرعة الإشعاعية المستعملة في الشكل (4)، وعزل الشخص الرابع لإختلاف معدل جرعاته وتم جمع بيانات ثنائيات القسم المركزي للأشخاص السبعة والثمانية على الشكل (7) لملاحظة الفرق. وانفرد الشكل (8) بإظهار بيانات الأشخاص السبعة. وجمعت ثنائيات القسم المركزي مع الصبغيات الحلقية بالخلية مقابل الجرعة

الإشعاعية المستعملة في الشكل (5)، ومثلت الكسور الصبغية المكافئة للأشخاص كافة بالخلية مقابل الجرعة الإشعاعية المستعملة في الشكل (6). وقد أظهرنا على الأشكال 4،5،6 أفضل ميل منحنى لكل دراسة. يشير تحليل ميل هذه المنحنيات حاسوبياً إلى توافق دراسة تحريض التبدلات الصبغية مع مربع الجرعة وفق معادلة من الدرجة الثانية. إذ يعتمد معدل تحريض التبدلات الصبغية (Y) على مربع الجرعة الإشعاعية (D) وفق المعادلة التالية :

$$Y = A + \alpha D + \beta D^2$$

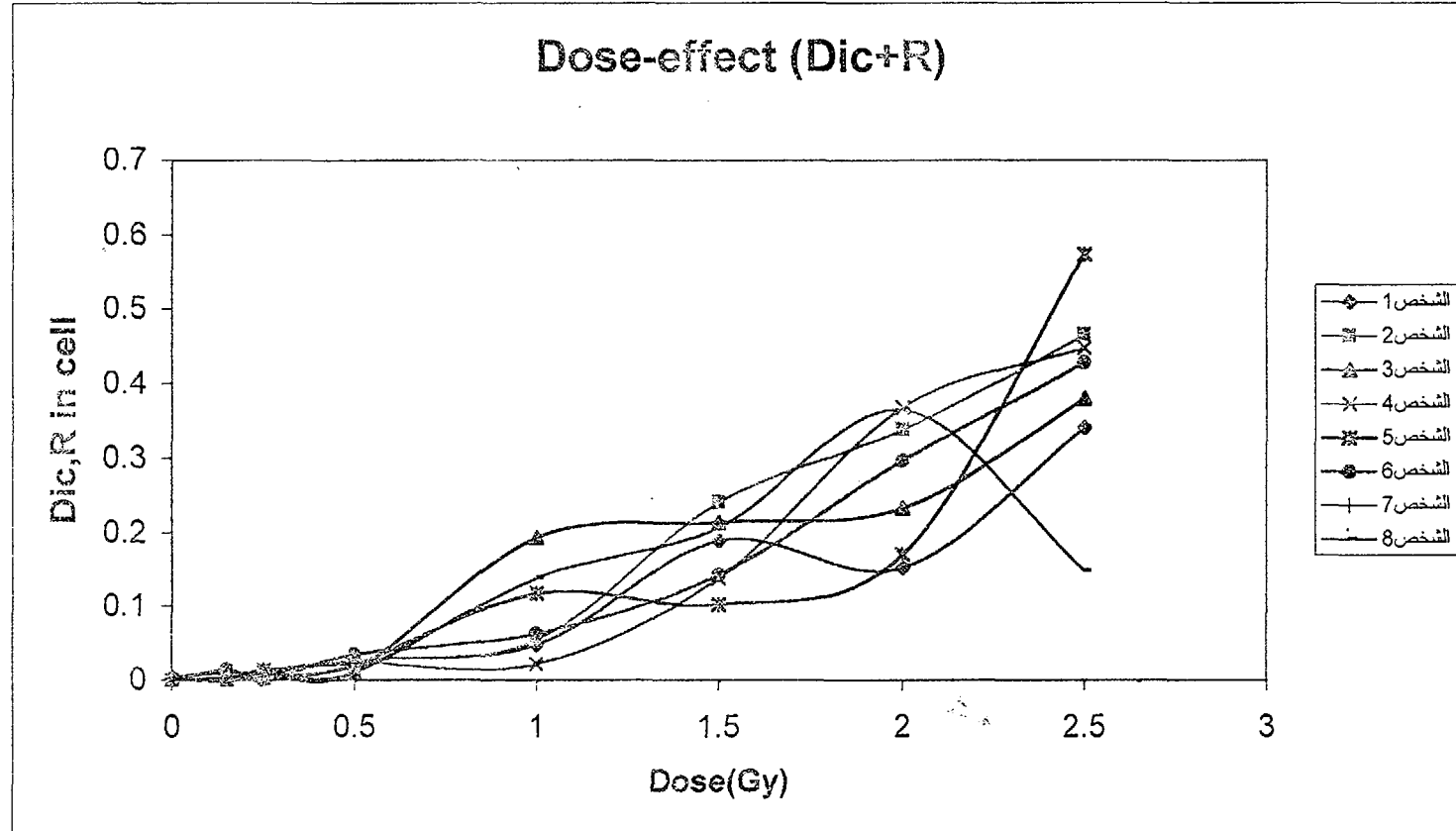
حيث (A, α , β) ثوابت تجريبية تم تحديدها في معادلات المنحنيات على الأشكال

(4،5،6،8)



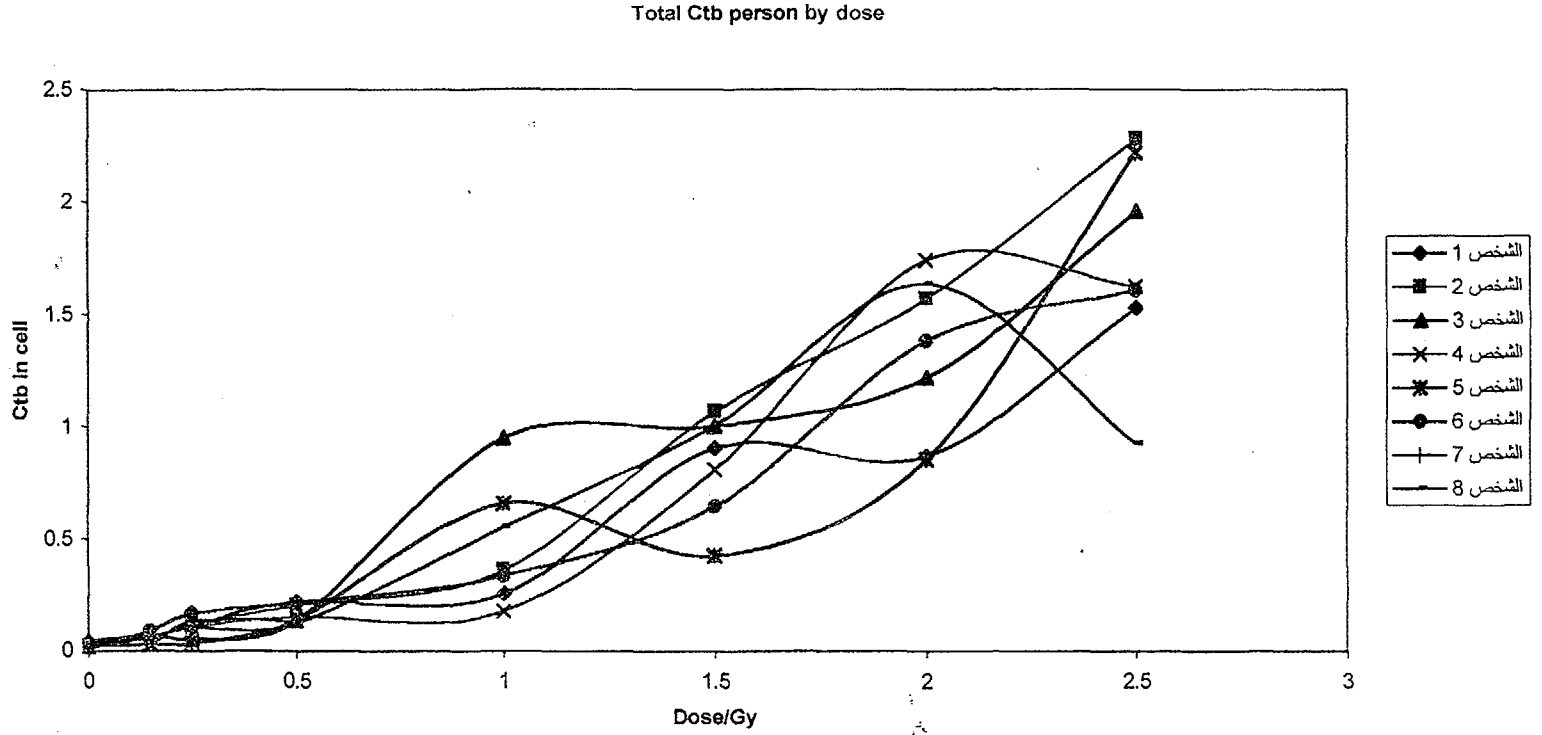
الشكل 1:

منحنيات ثنائيات القسم المركزي (Dic) المحرصة لدى الأشخاص المعتمدين في الدراسة 1 8 كل على حدة بالعلاقة مع الجرعة الإشعاعية المستعملة في الزجاج (0 0.15 0.25 0.5 1.5 2 2.5 غراي).



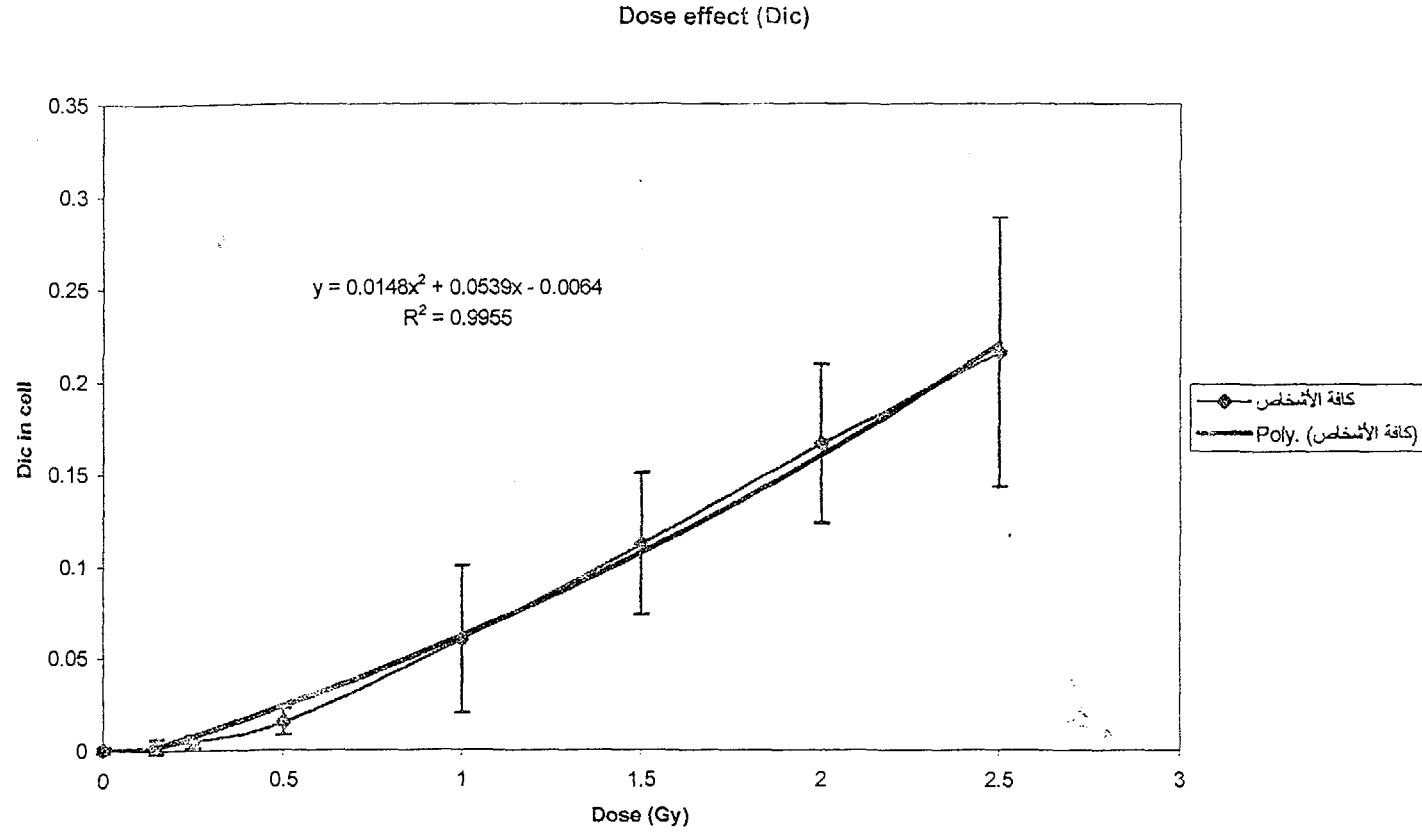
الشكل 2:

منحنيات مجموع نتائج القسيم المركزي والصبغيات الحلقية (Dic+R) المحرصة لدى الأشخاص المعتمدين في الدراسة 1 8 كل على حدة بالعلاقة مع الجرعة الإشعاعية المستعملة في الزجاج (0 0.15 0.25 0.5 1 1.5 2 2.5 غراي).



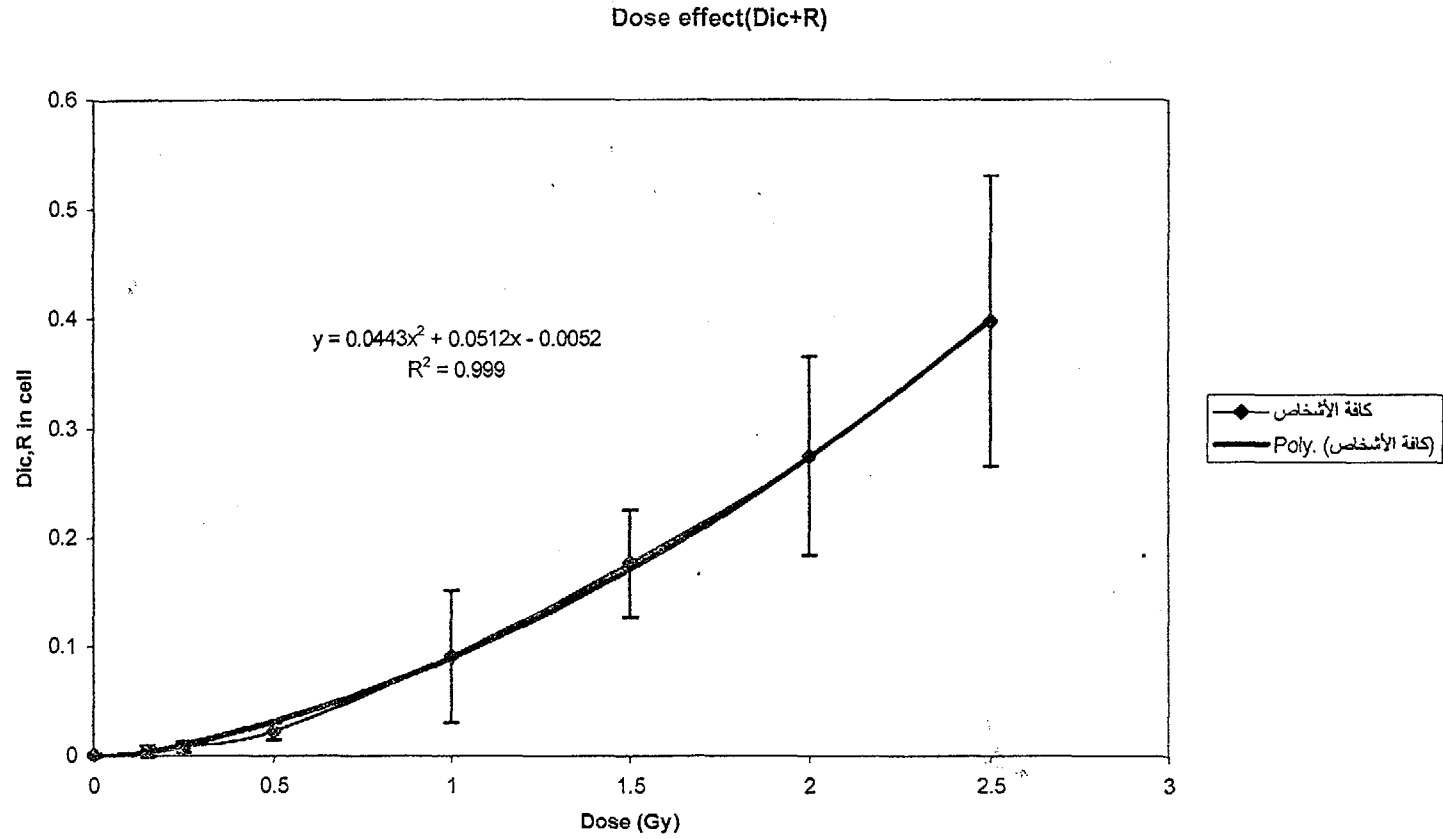
الشكل 3:

منحنيات مجموع الكسور الصبغية المكافئة المحسوبة من الزيوغ الصبغية كافة المخرضة لدى الأشخاص المعتمدين في الدراسة 1 8 كل على حدة بالعلاقة مع الجرعة الإشعاعية المستعملة في التشعيع في الزجاج (0 0.15 0.25 0.5 1 1.5 2 2.5 غراي).



الشكل 4:

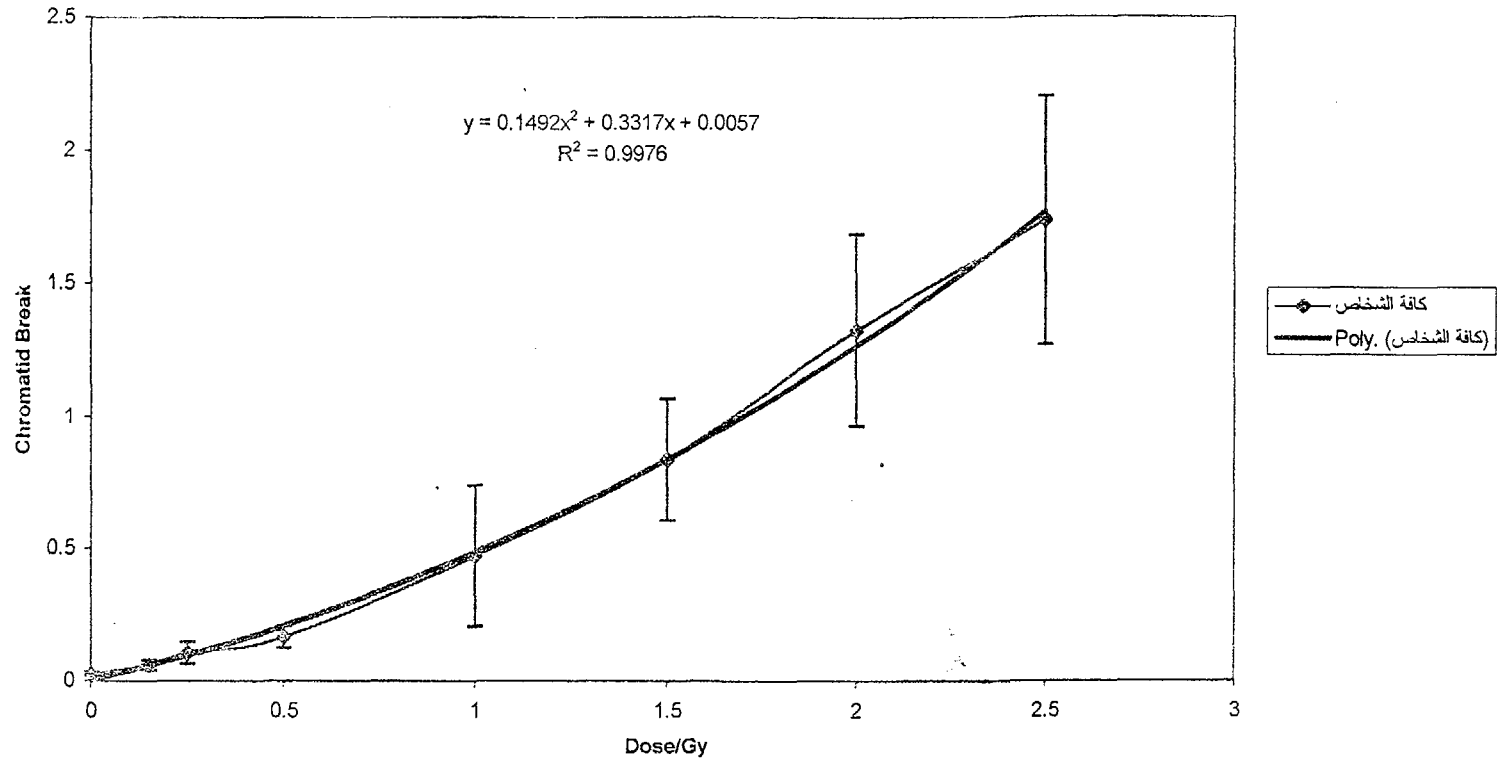
منحني جرعة أثر بدليل ثنائيات القسيم محسوبة من الأشخاص المعتمدين في الدراسة كافة 1 8 والمحرضة بفعل التشعيع في الزجاج بالجرعات (0 0.15 0.25 0.5 1 1.5 2 2.5 غراي)، وقد اشير إلى أفضل ميل للمنحني ومعادلة المنحني على الشكل حاسوبياً.



الشكل 5:

منحني جرعة أثر بدليل مجموع ثنائيات القسيم والصبغيات الحلقية (Dic+R) محسوبة من الأشخاص المعتمدين في الدراسة كافة 1 8 والمحرّضة بفعل التشعيع في الزجاج بالجرعات (0 0.15 0.25 0.5 1 1.5 2 2.5 غراي)، وقد أُشير إلى أفضل ميل للمنحني ومعادلة المنحني على الشكل حاسوبياً.

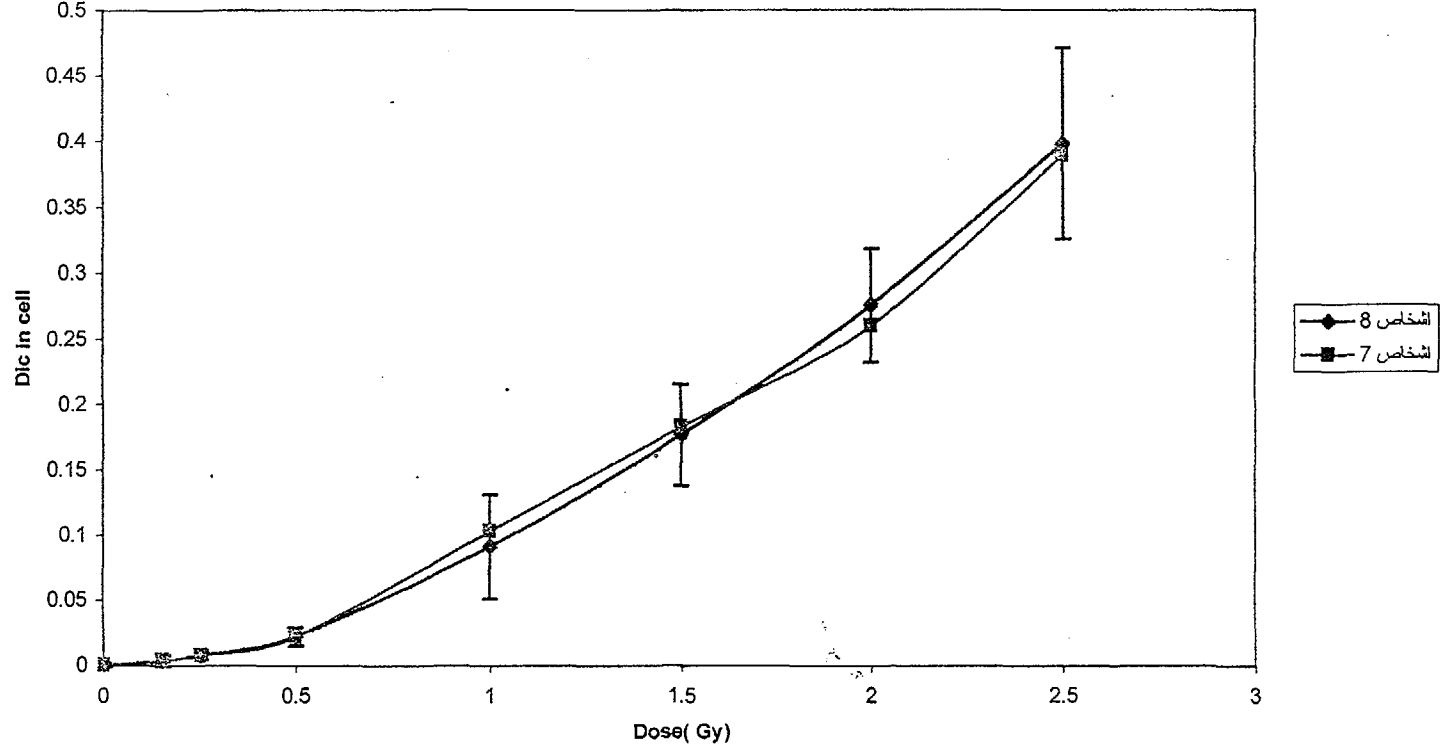
Total Chromatid Breaks (all persons) by dose



الشكل 6:

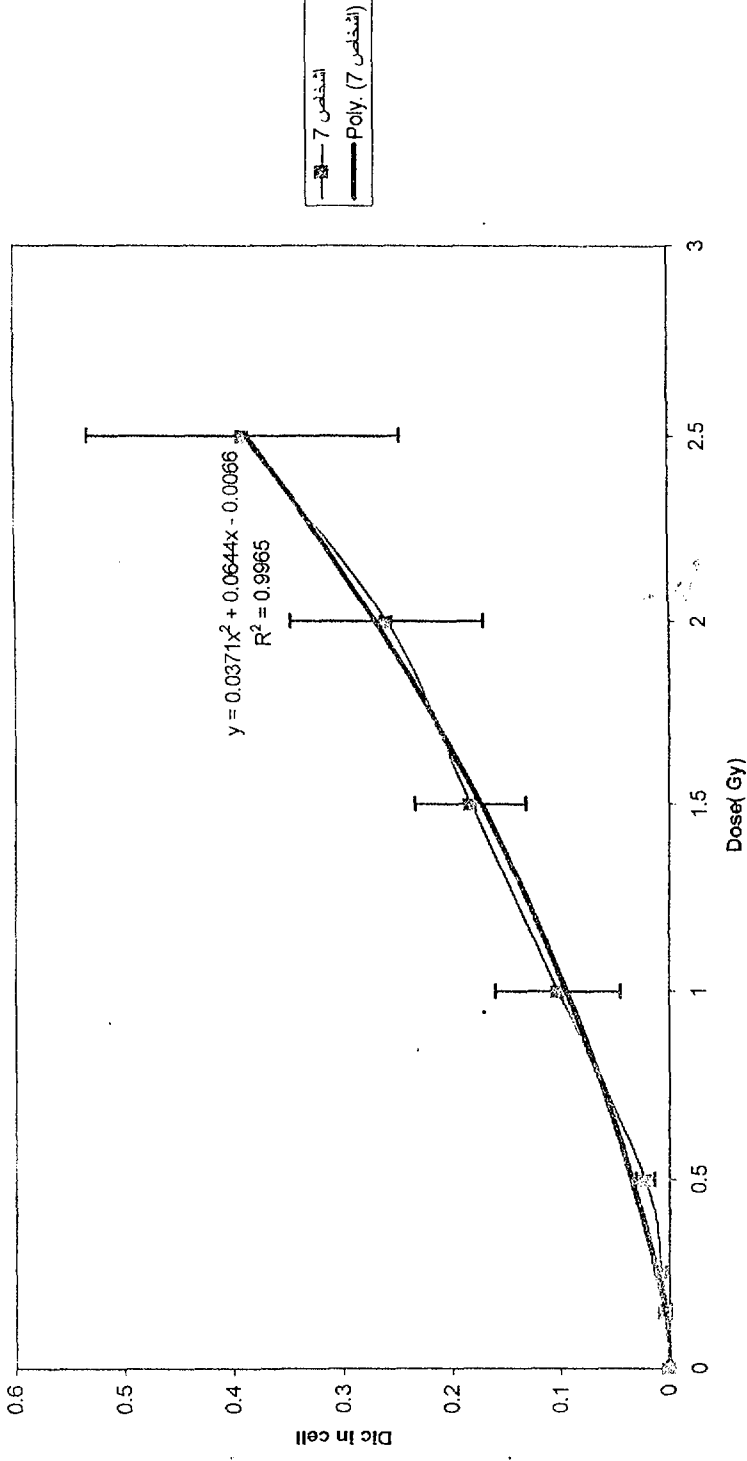
منحني جرعة أثر بدليل مجموع الكسور الصبغية المكافئة المحسوبة من الزيوغ الصبغية كافة من الأشخاص المعتمدين 1 8 والمحرضة بفعل التشعيع في الزجاج بالجرعات (0 0.15 0.25 0.5 1 1.5 2 2.5 غراي)، وقد أشير الى أفضل ميل للمنحني ومعادلة المنحني على الشكل حاسوبياً .

Dose effect (dic) 7-8 persons



الشكل 7: منحنى جرعة اثر بدليل الصبغيات ثنائيات القسم المركزي لكافة الأشخاص 8 والمنحنى الآخر ل7 أشخاص بعد عزل الشخص 4 الذي اعطي نفس الجرعات (2.5-2-1.5-1-0.5-0.25-0.15-0 غراي) إنما بمعدل جرعة 0.48 غراي/دقيقة.

Dose effect (dic) 7 persons



الشكل 8: منحنى جرعة أثر بدليل الصبغيات ثنائيات القسم المركزي من الأشخاص السبعة المعرضة عيناتهم لجرعات إشعاعية من أشعة غاما كوبالت 60 قدرها (0-0.15-0.25-1-1.5-2-2.5) غراي ومعدل جرعة 0.3 غراي/دقيقة) وقد أُشير إلى أفضل ميل للمنحنى ومعادلة المنحنى على الشكل حاسوبياً.

5- المناقشة:

بالرغم من التحسينات التي أجريت على التقنيات والإجراءات المعتمدة من قبل مختلف العاملين حتى في البرامج الإحصائية لا يزال هناك فروق معنوي في تسجيل البيانات بين المخابر. ويضيف تقدير الجرعة باستعمال منحنى جرعة أثر محض من قبل أشخاص آخرين درجة أخرى من عدم الثقة في النتيجة، لذلك نصحت الوكالة الدولية للطاقة الذرية أن يقوم المخبر العامل في هذا المجال بتحضير ورسم منحنى لكل نوع من الإشعاعات بدراسة بيولوجية خاصة به. لقد عوملت عينة الدم وكأنها في الحي أي حفظت بدرجة 37° من سحب العينة وحتى بعد ساعة من التشعيع.

للحصول على ميل منحنى مناسب يجب أن يكون هناك درجة حرية كافية لذلك يكون من الأفضل أن يتم اختبار 10 جرعات بين المجالين 0.25 و 5 غراي ولأغلب أنماط الأشعة كما يجب أن تتوفر بيانات على جرعات أعلى من 5 غراي لكن المظاهر السريرية تكون جلية في مجال الجرعات هذه. وبما أن أغلب الحوادث الإشعاعية تتضمن جرعات أقل من 1 غراي لذا تبرز أهمية النهاية الصغرى للمنحنى في تقدير الجرعات. وكان يجب أن تتركز الجهود على خفض عدم الثقة الإحصائية المترافقة مع العامل الفا وهذا يتطلب إجراء عدة جرعات. ولنقل 4 جرعات بين المجال 0.25 - 1 غراي. وقد راعينا هذه النقطة في هذا العمل وتمت دراسة الأثر عند الجرعات (0-0.15-0.25-0.5-1 غراي).

ونلاحظ في هذا الشكل ميل كافة الأشخاص لإعطاء نفس الاستجابة من حيث ازدياد عدد التبدلات الصبغية الملاحظة مع ارتفاع الجرعة الإشعاعية، كما ونستدل على مدى تفاوت الاستجابة بين الأشخاص مما يعكس اختلاف الاستجابة لفعل المحرض الإنقسامي والتبدلات الفردية في الحساسية الإشعاعية. في الحقيقة إن ما يجب أن نستنتجه من خلال هذا العمل هو ضرورة استعمال عدد الكسور الكلي لحساب الضرر الناتج عن التشعيع نظراً لتفاوت عدد التبدلات الصبغية الملاحظ إذ يمكن أن يتبدل ما كالصبغيات الحلقية أو الصبغيات ثنائيات القسم المركزي أن تختلف من شخص لآخر غير أن المجموع الكلي للكسور المحرصة بعد التشعيع بجرعة ما يكون متقارباً.

لقد استطاع المخبر أن يحصل على بيانات بجرعات أقل من 0.25 وهذا مفيد جداً وقد نصح به تقرير الوكالة.

لقد اختلفت الآراء حول كيفية معاملة مستوى الخلفية الطبيعية من التبدلات في بيانات ميل منحنى جرعة أثر. يضيف بعض المؤلفين البيانات التي حصلوا عليها عند الجرعة صفر وتستخدم كنقطة في ميل المنحني لذا تكون الخلفية الطبيعية للتبدلات عامل متبدل. لذا يكون من الأفضل أن يتبنى كل مخبر إجراء دراسة في مجال الصفر وما فوق. ويلزم لذلك دراسة عدة آلاف من الخلايا. وقد تم تبني حل معقول مبني على العديد من التجارب ويعطي مستوى التبدلات الطبيعية في مجال الجرعة صفر مساوي لصبغي ثنائي قسم مركزي واحد لكل ألف خلية ودقيقة

صبغية واحدة لكل 300 خلية. تشير هذه الدراسة إلى أن معدل التبدلات الصبغية (γ) يعتمد على مربع الجرعة الإشعاعية (D).

لقد وفر تقدم البرامج الحاسوبية كشف ميل المنحني المعياري ومعادلته وثوابته (A, α, β). توافق بياناتنا مع ما جاء في أغلب البيانات العالمية بالنسبة لإعداد المنحنيات المماثلة باستعمال أشعة غاما (Papworth, 1975). وقد أشرنا

إلى معادلة الخطوط على الأشكال (4-6, 8). تشكل هذه الدراسة نقطة ارتكاز أساسية من أجل تقدير التعرض العفوي لكامل الجسم والناجم عن أشعة غاما. ويجب من أجل أنماط أشعة ومعدلات جرعة أخرى إجراء دراسات مستقلة، إذ تتبدل معدلات الزيوغ الصبغية الملاحظة تبعاً لهذان العاملان. ففي هذه الدراسة تم التطرق لتغير في عامل معدل الجرعة غير أنه يصعب، ومن شخص واحد (رقم 4)، أن نحدد أهمية هذا العامل.

لقد تم تمثيل الأثر الناجم عن التعريض التجريبي لأشعة غاما باستعمال تبدلات صبغية ملاحظة مختلفة مثل الصبغيات ثنائيات القسيم المركزي أو الصبغيات الحلقية أو الإثنين معاً، أو بحساب مجمل الكسور الصبغية المكافئة. وبالرغم من كون حساب عدد الكسور الكلي أشمل، إلا أنه يتطلب أن يكون قارئ الصفائح عالي الخبرة في مجال الوراثة الخلوية. أرى أن يتم اعتماد أبسطها للملاحظة (الشكل 4 الذي يشير لتسجيل ثنائيات القسيم المركزي dicentrics لكافة الأشخاص)، أو يمكن عزل الشخص الرابع لإختلاف معدل جرعاته ونعتمد الشكل 8، ولا

نرى أي ضرر من إبقاء بيانات الشخص السابع ضمن الدراسة إذ تعزز بياناته في مجال الجرعات المنخفضة ما حصلنا عليه من الأشخاص الآخرين.

6-التوصيات:

لابد بعد توفر هذا المنحنيات من أمثلتها بالتعاون مع دائرة الوقاية البشرية ودائرة الرياضيات والحاسبات واختبارها بفعل سلسلة من تجارب التشيع العمياء على عينات دم، وتهيئة أفضلها لإعتماده لحين الحاجة. كما ولا بد من التوجه لوضع الطاقم المناسب من الأشخاص القادرين على العمل بهذه المنحنيات ضمن خطة طوارئ متكاملة تضمن الفرز السريع للأشخاص المتعرضين لأخذ الإجراءات الطبية المناسبة لمتابعة حالاتهم. كما وتبقى البيانات عن التبدلات الصبغية المحرصة في مجال الجرعات العالية (3-6) غراي أساسية لعمليات الفرز ولأهميتها في تحديد شكل المنحني جرعة-أثر.

7-كلمة شكر:

أشكر السيد الدكتور المدير العام، والسيد الدكتور رئيس قسم الوقاية على دعمهما لإنجاز هذا العمل. كل الشكر أيضا لرئيس قسم الطب الإشعاعي الدكتور محمد النعمة ولرئيس قسم البيولوجيا الجزيئية والتقانة الحيوية الدكتور نجم الدين شرابي لمتابعتهما مراحل إنجاز هذا العمل. أتقدم بالشكر للسيد تقي الدين وسمير المتني لقيامهما بعمليات تشيع العينات. أنجز هذا العمل تقنياً بفضل الجهود الفنية للسادة عناصر مخبر الصبغيات التالية أسمائهم: 1-السيدة سهير الميداني بنسبة 30%، 2- السيدة غادة كوزاك بنسبة 25%، 3- السيدة منار أسعد بنسبة 20% و4- السيد ايمن الأبلوج بنسبة 10%، لهم جزيل الشكر.

- Al Achkar W., L.Sabatier and B. Dutrillaux; Transmission of radiation-induced rearrangements through cell divisions. Mutation Research 1988; 198:191-198.*
- Bauchinger M., Cytogenetic research after accidental radiation exposure. Stem cell 1995;13(1):182-190.*
- Carrano A.V., Chromosome aberration and radiation-induced cell death. Mutation Research 1973;17:341-353.*
- Carrano A.V.. Chromosome aberration and radiation-induced cell death. Mutation Research 1973 a; 17: 355-366.*
- Dutrillaux B. and J.Couturier; La pratique de l'analyse chromosomique.Ed Masson Paris 1981.*
- Dutrillaux B., E. V. Pequignot, M. prod'homme and M. Sportes; Distribution of the various radiation-induced chromosomal rearrangements in relation to the dose and sampling time. Mutation Research, 152 (1985) 197-203.*
- Dutrillaux B., E. Viegas-Pequignot, A. Aurias, M. Prod'homme, M. Sportes, M. Prieur; Tentative estimate of the risk of chromosomal disease due to radiation-

induced translocations in man. *Mutation Research* 1981;82:191-200.*

- Dutrillaux B., E. Viegas-Pequignot, M. Mouthuy, J. Antoine, M. Prod'homme, M. Sportes; Risk of chromosomal disease due to radiation. *Mutation Research* 1983;119:343-350.*
- Evans H.J., Chromosome aberration induced by ionizing radiation. *International Review of cytology* 1962; 13:221-321.*
- Fabry L., C.Coton, Study on the repair of the radioinduced lesions involved in the formation of chromosomal aberration in G₀ human lymphocytes after exposure to γ-rays and fast neutrons. *Mutation Research* 1985;149:475-483.*
- Graig A.G., The formation of chromosome aberration from single-strand damage in irradiated DNA. *J. Theor. Biol.* 1980; 82:633-642.*
- Hansmann, U. Meyding, R.P. Virsik; X-ray induced reciprocal translocations and dicentrics in human G₀ lymphocytes. *International Journal of Radiation Biology* 1983; 43(1): 91-93.*
- IAEA Biological dosimetry: chromosomal aberration analysis for dose assessment. Technical reports s.260-1986.*

- McWilliams R.S.,W.G. Cross, J.G. Kaplan and H.C.Birnboim. Rapid rejoining of DNA strand breaks in resting human lymphocytes after irradiation by low doses of ⁶⁰Co gamma rays or 14.6 MeV neutrons; Radiation Research 1983, 94, 499-507.*
- Mitelman, F., Catalog of chromosome aberrations in cancer, Third edition, Alan R. Liss inc.,New York.*
- Muller, H.J., Artificial transmutation of gene, Science 66 (1927) 84-87.
- Natarajan A.T., F.Darroudi, L.F.Mullenders, M.Meijers. The nature and repair of DNA lesions that lead to chromosomal aberrations induced by ionizing radiations. Mutation Research 1986;160:231-236.*
- Natarajan A.T., G.Obe, Influence of DNA repair on radiation-induced chromosomal aberrations in human peripheral lymphocytes. DNA repair and chromosomal aberration 1983;127-140.*
- Papworth D.G., Curve fitting by maximum likelihood, Radiat. Bot. 15 (1975) 127-140.*
- Paul P.W. van Buul and A.T. Natarajan; Chromosomal radiosensitivity of human leucocytes in relation to sampling time. Mutation Research 1980, 70, 61-69.*

- Van Buul P., A.T. Natarajan; Chromosomal Radiosensitivity of human leucocytes in relation to sampling time. Mutation Research 1980;70: 61-69.*

Biological radiation dose estimation by chromosomal aberrations analysis in human peripheral blood (Dose-effect curve).

Walid Al Achkar.

Summary:

In order to draw a dose-effect curve, experimentally gamma ray - induced chromosomal aberrations in human peripheral lymphocytes from eight healthy people were studied. Samples from 4 males and 4 females were irradiated in tubes with 0.15,0.25,0.5,1,1.5,2,2.5 gray of gamma ray (Co ⁶⁰ at dose rate 0.3 Gy/min). Irradiated and control samples were incubated in 37° for 48 hours cell cultures. Cell cultures then were stopped and metaphases spread, Giemsa stained to score the induced chromosomal aberrations. Chromosomal aberrations from 67888 metaphases were scored. Curves from the total number of dicentrics, dicentrics+ rings and total numbers of breaks in cell for each individual or for all people were drawn. An increase of all chromosomal aberrations types with the elevation of the doses was observed. The yield of chromosome aberrations is related to the dose used. These curves give a quick useful estimation of the accidentally radiation exposure.

Key words:

Dose-effect curves- Human lymphocytes- Gamma ray- chromosomal aberrations.