دوزیمتری سیتوژنتیکی پرتوکاران و ارزیابی بروز واکنش عادتی نسبت به پرتوهای یونیزان: مقایسه دو روش

حمید گورابی Ph.D.☆، حسین مزدارانی Ph.D.★♦

☆ دانشگاه علوم پزشکی ایران، گروه فیزیک پزشکی

★ دانشگاه تربیت مدرس، گروه رادیولوژی

♦آدرس مکاتبه: صندوق پستی ۱۱۱-۱۴۱۱۵، دانشگاه تربیت مدرس، گروه رادیولوژی

چکیده

* **هدف:** مقایسه روشهای سیتوژنتیک در ارزیابی پرتوگیری شغلی پرتوکاران پزشکی و بررسی بروز واکنش عادتی در آنان نسبت به پرتوگیریهای بالاتر بعدی

* **مواد و روشها:** با بهره‌گیری از دو روش آنالیز بیراهی‌های کروموزومی و شمارش میکرونوکلئی در لنفوسیتهای متوقف شده در مرحله سیتوکینز (CBMN: Cytokinesis-Blocked Micronucleus Study) واکنش سیتوژنتیک لنفوسیتهای خون ۲۴ پرتوکار پزشکی قبل و بعد از یک و دوگری پرتودهی اشعه گاما با افراد شاهد مورد مقایسه قرار گرفت.

* **یافته‌ها:** میزان زمینه آسیبهای کروموزومی و میکرونوکلئی در پرتوکاران به‌صورت معنی‌دار بالاتر از گروه شاهد می‌باشد ($P<0.05$). پس از یک و دوگری پرتودهی در شرایط *in vitro* به نمونه‌ها، میزان آسیبهای کروموزومی و یا میکرونوکلئی در گروه پرتوکار کمتر از گروه شاهد است ($P<0.05$).

* **نتیجه‌گیری:** نتایج نشان‌دهنده بالاتر بودن میزان صدمات ژنتیکی زمینه، علیرغم رعایت محدوده‌های مجاز پرتوگیری شغلی توسط پرتوکاران است، ولی در عوض به سبب القای یک واکنش عادتی در سلولهایی که در معرض دوزهای کم و مزمن اشعه یونیزان بوده‌اند، میزان بیراهی‌های کروموزومی یا تعداد میکرونوکلئی در پرتوکاران پس از دریافت دوزهای بالای پرتو نسبت به گروه شاهد کمتر بوده است.

تشابه نتایج کیفی هر دو روش مورد استفاده، امکان جایگزینی روشهای ساده‌تر را به‌جای روشهای پیچیده‌تر و وقت‌گیر مطرح می‌سازد.

گل واژگان: دوزیمتری بیولوژیک، تابش‌گیری شغلی، واکنش عادتی، میکرونوکلئی، کروموزوم

مقدمه

روشهای فیزیکی سنجش میزان پرتو، تا حدودی ارزیابی دقیق و فوری میزان تابش دریافتی را در محدوده وسیعی از دوزهای مختلف میسر می‌سازند. دوز دریافتی توسط بافتهای حساس بدن، خطر اوّلیه برای سلامتی محسوب می‌شود ولی پرتوی اندازه‌گیری شده (یا دوز جذب شده) کمیّتی فیزیکی است و لزوماً دوز بیولوژیکی مؤثر[1] راکه در برنامه‌های حفاظت در برابر پرتو می‌بایست در درجه اوّل توجه قرار گیرد، منعکس نمی‌نماید.هدف دوزیمتری، پالایش و خالص‌سازی دوز بیولوژیک معادل[2] در یک عضو هدف یا حتی در یک هدف در داخل سلول است. تخمین بیولوژیک دوز پرتو از جنبه کلینیکی برای تعیین دوز دریافتی واقعی بیمار در پرتوگیریهای درمانی یا تشخیصی و از جنبه حفاظت شغلی برای تأیید یا ردّ مقادیر نشان داده شده به وسیله دوزیمتریهای شخصی حایز اهمیت است. در حوادث پرتویی نیز شاید دوزیمتری بیولوژیک تنها راه ممکن برای تخمین میزان پرتو دریافتی افراد حادثه دیده باشد.

از بین نشانگرهای بیولوژیک فراوانی که تاکنون برای سنجش پرتو از آنها استفاده شده است، نشانگرهای سیتوژنتیکی از دقت و حساسیت بالاتری برخوردارند، اگرچه نوعاً مستلزم صرف وقت و هزینه‌های بالاتری هستند. تلاش محققین در راستای ابداع و بهره گیری از روشهای سیتوژنتیک با قابلیت اتوماسیون، حداقل در مرحله شمارش بیراهی‌های کروموزومی است. دو روش آنالیز متافاز و بررسی میکرونوکلئی پس از توقف سیتوکیناز (CBMN) اکنون از متداولترین روشها در این راستا هستند. در تحقیق حاضر از دو روش فوق به دو منظور استفاده شده است؛ نخست مقایسه دو روش برای نشان دادن قابلیت آنها در نمایش پرتوگیری قبلی افراد شاغل در بخشهای پرتوپزشکی و سپس بررسی امکان بروز مقاومت و عادت‌پذیری نسبت به اشعه در پرتوکاران پزشکی که در معرض دوزهای پایین پرتو هستند.

واکنش عادتی نسبت به پرتو یونیزان در سلولهای انسان برای اولین بار در سال ۱۹۸۴ گزارش شده است (۱). این موضوع که لنفوسیتهای انسانی پس از قرارگرفتن در شرایط *in vitro* در معرض تایمیدین نشاندار شده به‌وسیلهٔ تریتیم یا دوزهای پایین اشعه ایکس، نسبت به صدمات سیتوژنتیک در اثر دوزهای حاد و بالای پرتوهای ایکس یا گاما مقاومتر هستند، کمتر مورد تردید است (۲، ۳).

به‌هر حال چگونگی وقوع چنین پدیده‌ای هنوز مورد بحث محققین است. آزمایشات این امکان که واکنش مزبور می‌تواند به حساسیتهای متفاوت سلولها در مراحل مختلف تقسیم سلولی (۱) و یا مرگ زیر گروههای حساستر لنفوسیتها (۴) مربوط باشد را ردّ می‌کنند. از طرف دیگر جلوگیری از بروز واکنش به‌وسیلهٔ بازدارنده‌های سنتز پروتئین یا RNA حاکی از ارتباط این واکنش به مکانیزم ترمیم صدمات DNA از طریق فعال شدن ژنهای خاص و سنتز پروتئین *de novo* است (۵). اگرچه عقیده بر آن است که عادت‌پذیری در لنفوسیتها با آهنگ ترمیم DNA ارتباطی ندارد (۶) ولی احتمال دیگر، افزایش صحت ترمیم شکستهای DNA است (۷).

القای مقاومت پرتویی به‌وسیلهٔ دوزهای پایین پرتو، نقش مهمی در سلامت انسان داراست، لذا مطالعات *in vivo* نیز در حال اجرا است. کاهش قابل توجه در حساسیت لنفوسیتها به بلئومایسین در کودکان با آلودگی داخلی به ^{137}CS (۸)، القای واکنش عادتی نسبت به اشعه در سلولهای مغز استخوان در اثر دوزهای درمانی بلئومایسین S و اکتینومایسین D (۹) و چند گزارش دیگر (۱۰) از جمله معدود گزارشات در این مورد است. تحقیق حاضر نیز گامی در همین راستا است.

مواد و روشها

نمونه‌گیری

خون محیطی ۳۷ فرد سالم و غیر سیگاری، شامل ۲۴ تکنسین شاغل در بخشهای رادیولوژی و رادیوتراپی با پرتوگیری شغلی از منابع ایکس و گاما (۱۸ مرد و ۶ زن با میانگین سنی ۹/۶±۳۶/۵ سال و ۲ تا ۲۵ سال سابقه) و ۱۳ نفر به‌عنوان گروه شاهد با عدم پرتوگیری شغلی یا قرارگرفتن در معرض سایر عوامل ژنوتوکسیک دیگر (۹ مرد و ۴ زن با میانگین سنی ۱۰±۳۶/۷ سال) نمونه گیری شدند. اهداء کنندگان نمونه، یک‌ماه قبل از نمونه‌گیری از داروهای مختلف و به‌خصوص آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده نکرده و در یک سال اخیر تحت رادیوگرافی‌های تشخیصی قرار نگرفته بودند. فرائت فیلم بدجهای[3] افراد پرتوکار توسط سازمان انرژی اتمی حاکی از قرار داشتن دوز دریافتی آنان در حد مقادیر مجاز تعیین شده توسط ICRP است.

تابش‌دهی به نمونه‌ها

هر یک از نمونه‌های خون هپارینه به شش قسمت تقسیم شد. از دو قسمت در کشتهای کنترل به روشهای کشت کروموزومی و CBMN استفاده شد. چهار قسمت باقیمانده به صورت دو به دو در معرض یک و دو گری پرتوگاما قرار گرفت. پرتودهی به نمونه‌ها در درجه حرارت اتاق (۲±۲۳ سانتی‌گراد) به وسیله یک منبع کبالت ۶۰ با آهنگ تابش ۷۱/۴۹ تا ۷۳/۰۸ سانتی‌گری در دقیقه (برحسب فروپاشی منبع) انجام شد.

کشت سلولی

کشت خون کامل با اضافه نمودن ۰/۵ میلی لیتر خون به ۴/۵ میلی لیتر محیط کشت انجام شد. محیط کشت مورد استفاده شامل RPMI-1640 (Gibco BRL) همراه با ۰/۲ میلی‌مولار ال ـ گلوتامین، ۱۵ تا ۲۰ درصد سرم غیرفعال جنین گوساله[4] (Gibco BRL) و ۱۰۰μg/ml آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین و استرپتومایسین) بود. برای تحریک لنفوسیتها و انجام تقسیم میتوزی، ماده فیتوهماگلوتینین (PHA, M, Gibco BRL) با غلظت نهایی ۵μg/ml به محیط اضافه شد.

1. Biologically-effective dose
2. Biologically equivalent dose
3. Film badges
4. FBS

برای کشت کروموزومی، سه نمونه خونی (بدون پرتودهی و پرتودهی یک و دو سانتی‌گری) که با شرایط فوق آماده شده بودند به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور °۳۷ سانتی‌گراد قرار گرفت و سه ساعت قبل از برداشت، کلسمید (Gibco BRL) با غلظت نهایی ۰/۱μg/ml به آن اضافه شد. پس از انجام سانتریفوژ و خارج کردن محیط کشت، رسوبات سلولی حاصله در معرض شوک هیپوتونیک به مدت ده دقیقه با محلول KCl با غلظت ۰/۰۷۵ مولار قرار گرفته و در نهایت پس از خارج کردن محلول KCl با محلول ۳:۱ متانول ـ اسیداستیک در سه نوبت ثابت شدند. لنفوسیتها از یک فاصله مناسب با استفاده از پیپت پاستور بر روی لامهای سرد و تمیز پرتاپ و با دمیدن هوا، خشک شدند تا یک پخش کروموزومی مناسب حاصل شود.

برای کشت با روش CBMN، ۴۴ ساعت پس از شروع کشت به سه نمونه خونی باقیمانده، سیتوکلازین B[1] (Sigma) با غلظت نهایی ۳μg/ml اضافه شد تا تقسیم سلولهای لنفوسیت در مرحله سیتوکینز متوقف شود. پس از گذشت ۶۴ ساعت از شروع انکوباسیون، سلولها با بافر هیپوتونیک KCl با غلظت ۰/۰۷۵ مولار به مدت ۶-۴ دقیقه در محیط کشت جدا شده و برای ثابت نمودن سلولها در مرحله اول، ترکیب متانول اسیداستیک با نسبت ۳:۱ که با سرم رینگر به نسبت مساوی رقیق شده بود، به کار برده شد و در دو مرحله بعدی از محلول ۶:۱ متانول: اسید استیک استفاده شد. در نهایت لنفوسیتها در چند قطره محلول ثابت کننده معلق شده و به وسیله پیپت پاستور بر روی لامهای تمیز و خنک قرارداده شده و با دمیدن هوا خشک شدند.

رنگ‌آمیزی سلولها در هر دو روش با استفاده از محلول گیمسای (Merck) چهار درصد انجام شد.

* استخراج نتایج

تعداد سلولهای شمارش شده بر اساس روش به کار رفته متفاوت بود. در روش آنالیز متافاز برای هر نمونه یکصد سلول در مرحله متافاز از لحاظ بیراهی‌های مختلف کروموزومی بر اساس طبقه‌بندی سیستم بین‌المللی (ISCN ۱۹۹۵) بررسی شدند. در روش CBMN، میکرونوکلئی‌ها (هستکها) در سلولهای دو هسته‌ای متوقف شده در مرحله سیتوکینز با استفاده از بزرگنمایی ۴۰۰x شمارش شدند. خصوصیات توصیف شماره به‌وسیله Fenech (۱۱) برای شناسایی لنفوسیتهای دو هسته‌ای و میکرونوکلئی استفاده شد. در این روش بازای هر نمونه، یک هزار سلول دو هسته‌ای بررسی و میزان سلولهای با یک، دو و سه میکرونوکلئی شمارش شد. از آزمونهای آماری Student's *T* test-Kolmogorov Smirnov و آنالیز رگرسیون برای تجزیه و تحلیل آماری نتایج استفاده شد.

یافته‌ها

* قبل از پرتودهی به نمونه‌ها (دوزیمتری بیولوژیک)

میزان متوسط بیراهی‌های کروموزومی در لنفوسیتهای پرتوکاران و گروه شاهد در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱: فراوانی متوسط بیراهی‌های کروموزومی و کروماتیدی در لنفوسیتهای پرتوکاران و گروه شاهد

نوع بیراهی*	بدون پرتودهی			پرتودهی یک گری			پرتودهی دو گری		
	پرتوکار	شاهد	مقدار P	پرتوکار	شاهد	مقدار P	پرتوکار	شاهد	مقدار P
بیراهی کروموزومی:									
تبادل	۰/۰۲۱	۰/۰۰۵	>۰/۰۵	۰/۰۷۲	۰/۱۸۹	۰/۰۰۰	۰/۲۱۷	۰/۲۵۹	۰/۰۰۰
شکست ساده	۰/۰۲۷	۰/۰۱۲	۰/۰۰۱	۰/۰۵۰	۰/۰۵۴	۰/۰۵۰	۰/۰۹۲	۰/۰۹۸	۰/۰۵۰
کل (Cst)	۰/۰۵۸	۰/۰۲۵	۰/۰۰۲	۰/۱۲۸	۰/۲۶۷	۰/۰۰۰	۰/۳۱۸	۰/۳۷۰	۰/۰۰۰
بیراهی کروماتیدی:									
شکاف	۰/۰۳۳	۰/۰۲۲	۰/۰۰۲	۰/۰۲۶	۰/۰۴۵	۰/۰۵	۰/۰۱۶	۰/۰۵۲	۰/۰۰۰
شکست ساده	۰/۰۷۶	۰/۰۲۷	۰/۰۰۰	۰/۰۶۳	۰/۱۱۵	۰/۰۰	۰/۰۳۷	۰/۱۶۱	۰/۰۰۰
کل (Ctt)	۰/۱۲۳	۰/۰۶۱	۰/۰۰۰	۰/۰۹۲	۰/۱۶۲	۰/۰۰۰	۰/۶۲	۰/۲۱۲	۰/۰۰۰
کل بیراهی‌ها	۰/۱۸۲	۰/۰۸۵	۰/۰۰۰	۰/۱۱۲	۰/۱۶۹	۰/۰۱	۰/۱۳۹	۰/۲۵۹	۰/۰۰۰

* تمام مقادیر معرف بیراهی به ازای هر سلول است.

عمده بیراهی‌ها در هر دو گروه، شکست کروماتیدی (Ctd)[2] یا ضایعات آکروماتیک (شکاف)[3] است. میزان متوسط انواع بیراهی‌ها در پرتوکاران بالاتر از گروه کنترل است و این اختلافات به جز برای تبادلات کروموزومی (Cse)[4]، از نظر آماری معنی‌دار هستند.

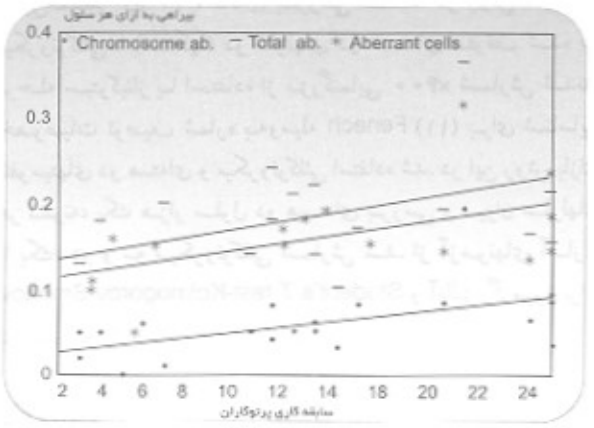
رابطه معنی‌داری بین مجموع بیراهی‌های کروموزومی و کروماتیدی و همچنین کل بیراهی‌های کروموزومی (Cst)[5] با میزان سالهای قرار گرفتن در معرض تابش پرتوهای یونیزان (سابقه کار) در گروه پرتوکاران وجود دارد (منحنی ۱). همچنین در گروه شاهد بین بعضی از انواع بیراهی‌ها و سن افراد (A) رابطه معنی‌داری وجود دارد.

Cse/cell= ۳/۸۳×۱۰$^{-۴}$A-۸/۷۱×۱۰$^{-۳}$ r^2= ۰/۳۳ P= ۰/۰۴ (۱)

Ctd/cell= ۱/۴۵×۱۰$^{-۳}$A-۰/۰۱۶ r^2= ۰/۵۶ P= ۰/۰۰۳ (۲)

Ctt/cell= ۱/۹۹×۱۰$^{-۳}$A-۰/۰۱۳ r^2=۰/۴۹ P= ۰/۰۰۸ (۳)

1. Cytochalasin B
2. chromatid breaks
3. Gap
4. Chromosomal exchanges
5. chromosomal aberrations-total



منحنی ۱: رابطه سابقه‌کاری پرتوکاران و انواع بیراهی‌ها

میزان متوسط بروز میکرونوکلئی خود به خود[1] به صورت معنی‌داری ($P<0.001$) در پرتوکاران (۰/۰۳۵) بالاتر از گروه شاهد (۰/۰۲۲) بوده است. (نتایج کامل در مرجع شماره ۱۲ آمده است). بین میزان بروز میکرونوکلئی خودبخود و سابقهٔ کار پرتوکاران (Y) رابطهٔ زیر وجود دارد:

$$MN/cell = ۰/۰۲۸ + ۵/۳\times۱۰^{-۴}Y \qquad r^۲ = ۰/۲۹ \qquad P = ۰/۰۰۶ \qquad (۴)$$

بین سن پرتوکاران (R.W.)[2] و افراد شاهد (C.G.)[3] با میزان میکرونوکلئی خود به خود روابط زیر صادق است:

$$MN/cell\ (R.W) = ۰/۰۲۳ + ۳/۲۵\times۱۰^{-۴}A \qquad r^۲ = ۰/۱۶ \qquad P = ۰/۰۵ \qquad (۵)$$

$$MN/cell\ (C.G.) = ۰/۰۱۳ + ۲/۶۱\times۱۰^{-۴}A \qquad r^۲ = ۰/۴۱ \qquad P = ۰/۰۲ \qquad (۶)$$

نسبت بین میکرونوکلئی خود به خود و انواع بیراهی‌های کروموزومی در جدول ۲ آمده است.

۰/۰۸۸ و در گروه شاهد به ترتیب ۰/۰۸۱ و ۰/۱۱۸ است. مقادیر میانگین مزبور برای پرتوکاران با P کمتر از ۵ درصد به صورت معنی‌داری کمتر از افراد شاهد است. در این مرحله هیچ گونه رابطه‌ای بین تعداد میکرونوکلئی شمارش شده با سن و سابقه افراد مورد نمونه‌گیری مشاهده نشد.

میزان متوسط بروز بیراهی‌های کروموزومی در لنفوسیتهای نمونه خونی پرتوکاران و گروه شاهد پس از پرتودهی در جدول ۱ نشان داده شده است. در هر دو گروه پس از پرتودهی، میزان بیراهی‌های کروموزومی نسبت به بیراهی کروماتیدی بیشتر شده است. با مطالعه جدول مزبور می‌توان چنین نتیجه گرفت که در تمام موارد میزان بیراهی‌های مختلف در گروه پرتوکار به‌صورت معنی‌داری کمتر از گروه شاهد است. در این مرحله بین میزان هیچ یک از بیراهی‌های مختلف با سن یا سابقه کاری اهداء کنندگان نمونه، رابطه معنی‌داری وجود ندارد.

نسبت بین میکرونوکلئی به ازای هر سلول و انواع بیراهی‌های مختلف در جدول ۲ آمده است. نزدیکترین نسبتها به یک برای تابش‌دهی یک گری در هر دو گروه، نسبت میکرونوکلئی به شکستهای ساده کروماتیدی و برای تابش‌دهی دو گری در هر دو گروه، نسبت میکرونوکلئی به شکستهای ساده کروموزومی است.

بحث

در سال ۱۹۶۹ برای اولین بار از نشانگرهای سیتوژنتیک برای تخمین دوز افرادی که در معرض یک سانحه هسته‌ای قرار گرفته بودند، استفاده شد (۱۳). از آن به بعد مقالات متعددی در خصوص مطالعه اثر دوزهای پایین پرتوهای یونیزان روی بیراهی‌های کروموزومی منتشر شده است (۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷). در تمام این مطالعات میزان بیراهی‌ها در افراد تابش دیده بالاتر از گروه شاهد گزارش شده است.

جدول ۲: نسبت میکرونوکلئی به بیراهی‌های کروموزومی

نسبت MN به:	بدون پرتودهی		پرتودهی یک گری		پرتودهی دو گری	
	پرتوکار	شاهد	پرتوکار	شاهد	پرتوکار	شاهد
تبادلات کروموزومی	۱/۶۷	۴/۴	۰/۸۵	۰/۴۳	۰/۴۱	۰/۳۳
شکست ساده کروموزومی	۱/۲۹	۱/۸۳	۱/۲۴	۱/۵	۰/۹۶	۱/۲۰
تبادلات و شکست کروموزومی	۰/۷۳	۱/۲۹	۰/۵۰	۰/۴۳	۰/۲۹	۰/۲۶
شکست ساده کروماتیدی	۰/۴۴	۰/۶۰	۰/۹۸	۰/۷۰	۱/۸۸	۰/۷۳
شکست ساده کروماتیدی و کروموزومی	۰/۳۳	۰/۴۵	۰/۵۵	۰/۴۸	۰/۶۲	۰/۴۶
شکست ساده کروماتیدی و کروموزومی و تبادلات	۰/۲۸	۰/۴۱	۰/۳۳	۰/۲۳	۰/۲۵	۰/۱۹

این نسبتها برای پرتوکاران معمولاً پایین‌تر از گروه کنترل است. نزدیکترین نسبت به یک برای پرتوکاران و گروه شاهد، نسبت میکرونوکلئی به مجموع تبادلات و شکست کروموزومی است.

❋ بعد از پرتودهی به نمونه‌ها (مقاومت پرتویی)

میانگین تعداد میکرونوکلئی‌ها به ازای هر سلول پس از پرتودهی یک و دو گری اشعه به نمونه‌ها در گروه پرتوکار به ترتیب ۰/۶۲ و

در این مطالعه نیز دو روش سیتوژنتیکی برای بررسی این موضوع به کار گرفته شده است و نتایج نشان دهنده بالاتر بودن صدمات ژنتیکی در افراد در معرض با پرتوگیری شغلی است. در روش آنالیز متفاوت اختلاف معنی‌داری بین میزان بیراهی تبادلات کروموزومی مشاهده نشده است که

1. Spontaneous micronuclei
2. Radiation Workers
3. Control Groups

این به‌دلیل عدم توانایی دوزهای کم پرتو در ایجاد شکستهای رشته‌ای DNA است. اما از آنجا که این سطح از پرتوگیری ایجاد صدمه در بازهای DNA می‌نماید، لذا افزایش در بیراهی‌های کروماتیدی به‌صورت معنی‌داری مشهود است (جدول ۱ و منابع ۱۶، ۱۷).

در روش CBMN میزان بروز MN در سلولهای دو هسته‌ای به‌صورت معنی‌دار در پرتوکاران بالاتر از گروه شاهد است. این نتایج مشابه، حاکی از آن است که قرارگرفتن در معرض پرتوگیری شغلی حتی در حد مقادیر مجاز فعلی (۲۰ mSv) می‌تواند منجر به افزایش میزان صدمه ژنتیکی شود.

افزایش مشاهده شده در میزان کل بیراهی‌های کروموزومی و همچنین در MN/cell پرتوکاران به همراه افزایش سابقه قرارگرفتن در معرض پرتوگیری شغلی، نشان‌دهنده وابستگی نسبی این گونه صدمات به دوز تجمعی است (۱۵، ۱۷). همچنین افزایش بیراهی‌های کروموزومی یا تشکیل میکرونوکلئی به همراه افزایش سن که در این تحقیق مشاهده شده است، می‌تواند به سبب قرارگرفتن در معرض عوامل کلاستوژن محیطی یا ایجاد پاره‌ای از تقابض کروموزومی خود به خودی یا منشاء داخلی (۱۸، ۱۹) و کاهش قدرت ترمیم DNA با افزایش سن باشد (۲۰).

پس از پرتودهی به نمونه‌ها، اختلاف معنی‌داری بین شاخصهای پرولیفراسیون سلولی[1] در کشتهای بدون پرتودهی و کشتهای پس از پرتودهی‌های یک و دوگری وجود نداشت. لذا به‌نظر می‌رسد که تابش‌دهی با کبالت ۶۰ حداقل تا دوگری، بر ظرفیت پرولیفراسیون لنفوسیتهای تحریک شده اثری نگذارد. سایر محققین (۲۱، ۲۲) نیز براساس شاخص سلولهای دو هسته‌ای[2]، نتایج مشابه‌ای را اعلام کرده‌اند. بدین ترتیب پایین‌تر بودن فراوانی MN/cell یا انواع بیراهی‌های کروموزومی در لنفوسیتهای پرتوکاران پس از یک و دوگری پرتودهی، حاکی از آن است که آنها نسبت به آثار پرتوگیری حاد *in vitro* کمتر مستعد هستند و تابش‌گیریهای قبلی از طریق پرتوگیری‌های شغلی با دوز پایین می‌توانند یک واکنش عادتی یا مقاومت پرتویی در سلول ایجاد نمایند. البته در طول تحقیق تنها در نمونه خونی تعداد کمی از پرتوکاران، واکنش عادتی در هر دو روش مشاهده نشد که می‌تواند بر اساس تفاوتهای بین فردی در ارتباط با واکنش عادتی توضیح داده شود (۲۳، ۲۴). بروز واکنش عادتی در پرتوکاران از طریق بررسی دی‌سنتریکها توسط بارکینرو و همکارانش نیز عنوان شده است (۲۵).

فراوانی نسبتاً بالای تشکیل میکرونوکلئی یا بیراهی‌های کروموزومی در لنفوسیتهای پرتوکاران قبل از تابش‌دهی به نمونه‌ها در مقایسه با افراد شاهد، ممکن است در نتیجه صدمات وارده اولیه به DNA در افراد در معرض پرتوهای مزمن و پایین باشد. پیش از این، تغییرات DNA در پرتوکاران به صورت بیراهی‌های کروموزومی گزارش شده بودند (۱۳، ۱۶، ۱۷) و در تحقیق حاضر به صورت میکرونوکلئی نیز مشخص شده‌اند. بنابراین مقاومت پرتویی مشاهده شده در لنفوسیتهای پرتوکاران ممکن است در نتیجه صدمه اولیه و القای مکانیزم فعال ترمیم DNA نیز به همین دلیل باشد.

علیرغم شباهت نتایج کیفی حاصل از دو روش CBMN و آنالیز متافاز، شاید نتوان به‌سادگی از لحاظ کمّی آنها را مقایسه کرد، چرا که نسبتهای نزدیک به یک قبل از پرتودهی و پس از پرتودهی‌های یک و دوگری مستعلق به نسبت میکرونوکلئی در نوع خاصی بیراهی کروموزومی نیست. پیش از این در بعضی مقالات منتشر شده کاهش نسبت میکرونوکلئی به بیراهی‌های مختلف کروموزومی با افزایش دوز عنوان شده است که نتایج تحقیق حاضر نیز به همین گونه است (۲۶، ۲۷، ۲۸). چنین پیشنهاد شده است که افزایش پرتودهی و در نتیجه افزایش بیراهی‌ها، احتمال قرارگرفتن دو یا چند بیراهی در یک غشای میکرونوکلئی را افزایش می‌دهد. به‌هر حال سادگی روش CBMN و در عین حال حساسیت آن به‌عنوان نشانگر فراوانی بیراهی‌های کروموزومی ناشی از پرتوهای یونیزان و قابلیت خودکار نمودن شمارش آنها باکمک رایانه، احتمال استفاده فراگیر از آن را به خصوص برای کنترل پرتوگیری جمعیتهای بزرگ افزایش داده است.

تقدیر و تشکر

پژوهش فوق در پژوهشکده رویان و با بودجه پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس صورت گرفته است. از آقای دکتر علی‌اکبر شرفی و جناب آقای باغستانی به سبب مشاوره‌های مفیدشان و از پرسنل بخش رادیوتراپی بیمارستان امام خمینی برای پرتودهی به نمونه‌ها سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Olivieri G, Bodycote J, Wolff S: Adaptive response of human lymphocytes to low concentrations of radioactive thymidine. Science 1984; 223: 594-597
2. Shadley JD, Wolff S: Very low doses of X-rays can cause human lymphocytes to become less susceptible to ionizing radation. Mutagenesis 1987; 2: 95-96
3. Wang Z, Saigusa S, Sasaki MS: Adaptive response to chromosome damage in cultured human lymphocytes primed with low doses of X-rays. Mutat Res 1991; 246: 179-186
4. Wiencke JK, Afzal V, Olivieri G, Wolff S: Evidence that the thymidine-induced adaptive response human lymphocytes to subsequent doses of X-rays involves the induction of a chromosomal repair mechanism. Mutagenesis 1986; 1: 375-380
5. Fornance AJ, Alam I, Hollander CM: DNA damage inducible transcripts in mammalian cells. Proc Natl Acad Sci 1988; 85: 8800-8804
6. Wojewodzka M, Kruszewski M, Szumiel: Effect of signal transduction inhibition in adapted lymphocytes:

1. Cell proliferation index
2. Binucleated cell index

micronuclei frequency and DNA repair. Int J Radiat Biol 1997; 71: 245-252
7. Rigaud O, Moustacchi E: Radioadaption for gene mutation and the possible molecular mechanisms of the adaptive response. Mutat Res 1994; 358: 127-134
8. Tedeschi B, Caporossi D, Vernole P: Do human lymphocytes exposed to fallout of the chernobyl accident exhibit an adaptive respone? II. Challenge with bleomycin. Mutat Res 1995; 332: 39-44
9. Mozdarani H, Saberi A: Induction of cytogenetic adaptive response of mouse bone marrow cells to radiation by therapeutic doses of bleomycin sulphate and actinomycin D as assayed by the micronucleus test. Cancer lett. 1994; 78: 141-150
10. Tedeschi B: Do human lymphocytes exposed to fall-out of chernobyl accident exhibit an adaptive response. Mutat Res 1996; 354: 77-80
11. Fenech M, Morley AA: Measurment of micronuclei in lymphocytes. Mutat Res 1985; 147: 29-36
12. Gourabi H, Mozdarani H: A cytokinesis-blocked micronucleus study of radioadaptive response of lymphocytes of individuals occupationally exposed to chronic doses of radiation. Mutagenesis 1998; 13: 475-480
13. Bender MA, Gooch PS: Somatic chromosome aberrations induced by human whole body irradiation: The Recuplex critical accident. Radiat Res 1969; 40: 534-543
14. Jha AN, Sharma T: Enhanced frequency of chromosome aberrations in workers occuptionally exposed to diagnostic X-ray. Mutat Res 1991; 260: 343-348
15. Balasem AN, Ali Ask, Mosa HS, Hussain KO: Chromosomal aberration analysis in peripheral lymphocytes of radiation workers. Mutat Res 1992; 271: 209-211
16. Kubelka D, Garaj-Vrhovac V, Horvat D: Chromosomal aberration in persons occupationally exposed to annual X-irradiation doses lower than 25 mSv. J Radiat 1992; 12: 33-36
17. Mozdarani H, Samavat H: Cytogenetic biomonitoring of 65 radiology technologists occuptionally exposed of x-irradiation. Iran Med J 1996; 10: 43-46
18. Anderson RE, Standefer JC: Radiation injury of the immune system. In: Cytotoxic insult to tissues: Effect on cell lineage. 1983; pp 64-104
19. Thierens H, Vral A, De Ridder L: A cytogenetic study of radiological workers: Effect of age, smoking and radiation burden on the micronucleus frequancy. Mutat Res 1996; 360: 75-82
20. Maillie HD, Baker JV, Simon W, Watts RJ, Quinn BR: Age related rejoining of broken chromosome in human leukocytes following X-irradiation. Mech Ageing Dev 1992; 65: 229-238
21. Vral A, Verhaegen F, Thierens H, De Ridder L: Micronuclei induced by fast neutrons versus Co-60 gamma-rays in human peripheral blood lymphocytes. Int J Radiat Biol 1994; 65: 321-328
22. Verhaegene F, Vral A: Sensitivity of micronucleus induction in human lymphocytes to low-LET radiation qualities: RBE and correlation of RBE and LET. Radiat Res 1994; 139: 208-213
23. Bosi A, olivieri G: Variability of the adaptive response to ionizing radiations in human. Mutat Res 1989; 211: 13-17
24. Oliviri G, Bosi A: Possible causes of the adaptive response in human lymphocytes. In: Chromosome aberrations, pp 130-139
25. Barquinero JF, Barrios L, Caballin MR, Miro R: Occupational exposure to radiation induces an adaptive response in human lymphocytes. Int J Radiat Biol 1995; 354: 81-86
26. Ramalho AT: Use of the frequencies of micronuclei as quantitative indicators of X-ray induced chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes: Comparison of two methods. Mutat Res 1988; 207: 141-146
27. Koksal G, Dalci DO, Pala FS: Micronuclei in human lymphocytes: The Co-60 gamma ray dose-response. Mutat Res 1996; 359: 151-157
28. Balakrishnan S, Bhatt B: Studies of radiation induced micronuclei- A rapid method for screening suspected overexposed individuals. Bull Radiat Protect, 1989; 12: 187-191