



DOZA – EFEKAT KRIVA ZA X-ZRAČENJE U LIMFOCITIMA KOZA

Danica HASANBAŠIĆ, Lejla SARAČEVIĆ, Almasa ŠAĆIRBEGOVIĆ

Veterinarski fakultet Sarajevo,
Zmaja od Bosne 90, 71000 Sarajevo, Bosna i Hercegovina

UVOD

Tridesetih godina ovog vijeka, već poslije početnih radijaciono-citogenetskih istraživanja, primijećeno je da postoji zavisnost hromozomskih aberacija od doze zračenja. Ova činjenica je iskorištena početkom šezdesetih godina za uvođenje nove discipline u radiobiologiji, a to je citogenetska dozimetrija jonizirajućeg zračenja. Od tada pa do danas mogućnosti citogenetske dozimetrije su široko korištene u determinaciji apsorbiranih doza zračenja ozračenih ljudi kao i eksperimentalno ozračenih životinja.(1)

Klasična analiza hromozomskih aberacija u limfocitima periferne krvi je najviše korištena metoda citogenetske dozimetrije. Internacional Atomic Energy Agencije preporučila ovu metodu kao najpogodniju i standardizirala protokol, kao i tehničke uslove kojih se potrebno pridržavati tokom izrade doza-efekat kriva (2).

MATERIJAL I METODE

Istraživanje je provedeno na sedam zdravih netretiranih koza autohtone pasmine iz Hercegovine, oba pola, starosti 2-3 godine, težine 25-28 kg. Nakon adaptacionog perioda (20 dana), kliničnog i hematološkog pregleda kože su markirane. Vađena im je krv iz vene jugularis pod sterilnim uslovima. Uzroci krvi ozračivani su dozama 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; Gy. Za vrijeme ozračivanja uzorci krvi su bili u sterilnim flakovima za jednokratnu upotrebu, omotanim vlažnom gazom. Udaljenost fokusa od uzorka iznosila je 1m, a brzina doze 0,2 Gy/min . Vrijeme ozračivanja iznosilo je 30 sec, 1 min, 2 min, 5 min, 10 min, 15 min. Preračunavanje ekspozicione doze u apsorbiranju vršena je korekcionim faktorom 0,9654.

Kultivacija limfocita je rađena po metodi koju je opisao Moorhead, nešto modifikovanoj i prilagođenoj za naše laboratorijske uslove. Kultivacija limfocita koza obavljena je na 39°C u mraku. 45 sati kultivacije uzorcima je dodat kolhicin. Hipotonični šok je izazvan 0,075 M KCL, nakon čega su stanice fiksirane mješavinom metilnog alkohola i ledene ocatne kiseline. Napravljeni preparati su

mikroskopski pregledani i analizirani. Dobijeni eksperimentalni rezultati (dicentrici i acentrični fragmenti) obrađivani su regrecionom analizom metodom najmanjih kvadrata.

RASPRAVA

U tabeli 1. date su zbirne vrijednosti hromozomskih aberacija kod koza. Da bismo mogli izraditi doza - efekat krivu za X – zračenje, klasičnom analizom hromozomskih aberacija u limfocitima koza, za svaku dozu (6 doza u rangu od 0,1 – 3,0 Gy) je analiziran maksimalno moguć broj dobro vidljivih metafaza. Tako se statistička neizvjesnost vezana za validnost doza - efekat krive redukovala analizom velikog broja metafaznih figura.

Tabela 1. Zbirna vrijednost hromozomskih aberacija nakon ozračivanja

doza Gy	broj an. stanica	hromatidne abercije		hromozomske abercije		numeričke abercije	%
		gap	lom	ac. frag	dicent.		
0.00	7619	48	23	13	11	12	1.40
0.10	7261	51	19	20	26	22	1.90
0.20	6931	52	26	48	45	40	3.00
0.50	7144	48	37	136	128	27	5.26
1.00	6474	39	16	248	269	13	9.03
2.00	6636	53	33	900	918	44	29.35
3.00	6421	57	36	1896	1908	57	61.58

Distribucija dicentričnih hromozoma nakon ozračivanja prikazana je u tabeli 2. U slučaju citogenske dozimetrije odnos doze zračenja i dicentrika, daje najbolji osnov za procjenu apsorbovane doze zračenja (3). Testiranje distribucije dicentrika, vršeno je Popworth testom (4). Distribucija na nižim dozama zračenja je Poasonova, ali na tri više doze uočena je prekomjerna disperzija (raspršenost). Zbog toga je za “fitovanje” krive bilo potrebno kalkulirati težinske faktore množenjem Poasonovih standardnih grešaka za svaku tačku kvadratnim korijenom vrijednosti σ^2/y .

Tabela 2. Distribucija dicentričnih hromozoma

doza (Gy)	br. analiz. stan.	0	1	2	3	4
0.00	7619	7607	11	0	0	0
0.10	7261	7235	26	0	0	0
0.20	6931	6886	45	0	0	0
0.50	7144	7006	128	0	0	0
1.00	6471	6226	229	15	0	0
2.00	6636	5841	691	85	19	0
3.00	6421	4863	1277	225	43	13

Doza-efekat kriva je zatim fitovana metodom maksimalne vjerovatnoće (metoda repondeniranih najmanjih kvadrata) i prikazana je na grafikonu 1, a predstavljena sa slijedećim izrazom:

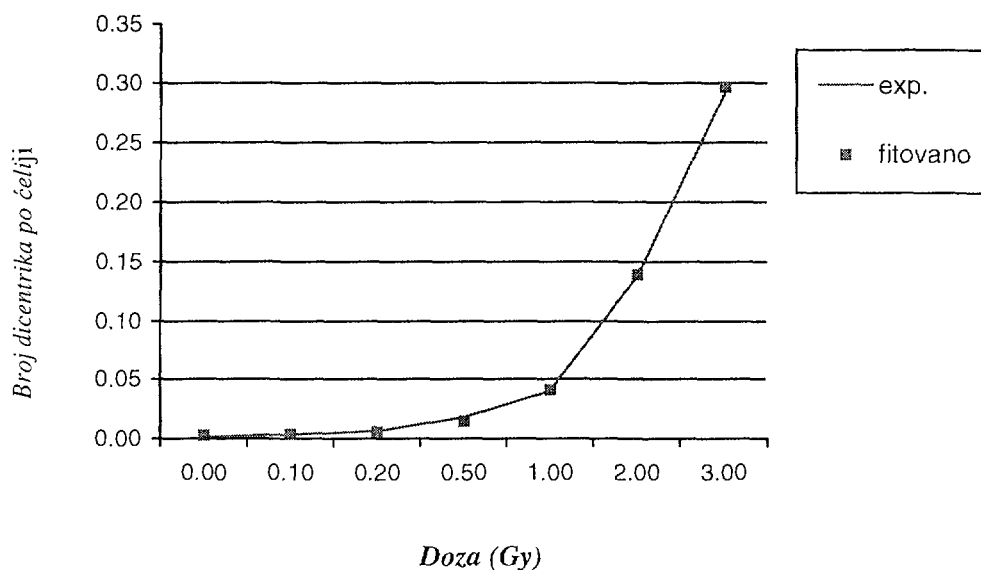
$$y(D) = 8,6639 \cdot 10^{-3} D + 2,9748 \cdot 10^{-2} D^2 + 2,9475 \cdot 10^{-3}$$

Uspješna primjena citogenske dozimetrije zahtijevala je dovoljno dobar matematički model koji je mogao zadovoljiti i biološke i matematičke preduslove neophodne za funkcionisanje cijelog sistema. Linearno-kvadratni model se pokazao potpuno zadovoljavajućim: $y(D^2) = \alpha D + \beta D^2 + \Delta$

Gdje y predstavlja prinos dicentrika, α linearni parametar doze, β kvadratni parametar, a Δ reprezentuje nivo spontano nastalih hromozomskih aberacija.

Razumijevanje matematičke postavke problema zahtijevalo je poznavanje fundamentalnih radiobioloških fenomena. Naime, prolaskom čestice ili kvanta zračenja kroz stanice, stvara se takozvani jonizacioni trag. Najgušću jonizaciju po jedinici dužine puta, izazivaju zračenja visokog LET-a (α čestice i neutroni) a znatno manji broj jonizacija zračenja niskog LET-a (x i γ zračenja). Da bi se ostvario klostogeni efekat prolazak čestice ili kvanta zračenja kroz stanično jedro, mora izazvati dvolančani lom DNK molekule. Dvolančani lom može nastati na dva načina. Prvo da jedna čestica ili kvant zračenja izazove dvolančani lom (što je proporcionalno kvadratu doze zračenja).

Grafikon 1. Doza-efekat kriva kod koza



Kada je u pitanju X-zračenje, njegove niže doze (do 0,5 Gy) izazivaju vrlo mali broj dvolančanih lomova. Dvolančani lomovi (dicentriki) izazvani nižim dozama ovog zračenja su reprezentovani uglavnom koeficijentom α . Dok porastom doze zračenja raste nivo hromozomskih aberacija (dicentrika) indukovanih sa dvije nezavisne putanje kvanta zračenja, koje reprezentuju parametar β . Prema tome kod linearno kvadratnog modela u produkciji aberacija uključeni su slučajevi reprezentovani sa oba koeficijenta, od kojih je linearni dominantniji na nižim (0,1 ; 0,2; 0,5) a kvadratni na višim dozama (1, 2 , 3 Gy).

Od izuzetne je važnosti tačnost određivanja koeficijenta α , β i Δ u određivanju determinacionih tačaka doza efekat krive. Ovo se postiže regresionom i kalibracionom analizom.

Komparacija dobivenih rezultata sa nekim domaćim životinjama kako što je ovca i svinja pokazuje razliku u odnosu na kozu. Tadađer poređenje ovih podataka sa literaturnim humanim podacima, sugerišu da razlike između kože na jednoj i čovjeka na drugoj strani, postoje ne samo u slučaju kada se za interpretaciju rezultata koristi linearno-kvadratni model, nego i u slučaju drugačijih matematičkih prezentacija.

Razlike u biološkom odgovoru na zračenje za razloge interspecijske razlike, treba tražiti unutar specifičnosti karakterističnih za vrstu (5).

ZAKLJUČAK

Prilikom postavljanja odnosa doze zračenja i hromozomskih aberacija u limfocitima kože, na osnovu linearnog kvadratnog modela, najispravniji je pristup korištenje dicentrika. Takva doza efekat-kriva je:

$$y(D) = 8,663910^{-3} D + 2,9748 \cdot 10^{-2} D^2 + 2,9475 \cdot 10^{-3}$$

POPIS LITERATURE

1. Lloyd D.C. , Edwards A. A. , Prosser J. S. , Barjaktarević N. , Brown J. K. , Horvat D. , Smail S. R. ,Koteles G. J. ,Almassy Z. ,Krepinsky A. D. ,Sasaki M. S.: A colaborative exercise on cytogenic dosimetry for simulated whole and partial body accidental irradiation. Mutat. Res., 179, 197-208,1987.
2. IAEA: Biological dosimetry: Chromosomal aberrations analysis for dose assessment. Technical reports series, No. 260, Vienna 1986.
3. Lloyd D. C. , Purrott R. J. : Chromosome aberration analysis in radiological protection dosimetry. Radiation Protection Dosimetry, vol. 1, No. 1, 19-28, 1981.
4. Merkle W. : Statistical methods in regression and calibration analysis of chromosome aberrations data. Radiat Environ Biophys 21: 217-333, 1983.
5. Hasanbašić D. : Citogenska dozimetrija na modelu domaće kože nakon *in vitro* i *in vivo* ozračivanja visoko energetske X-zračenjem. Doktorska dizertacija, Veterinarski fakultet, Sarajevo 1991 g.

DOSE-EFFECT CURVE FOR X-RADIATION IN LYMPHOCYTES IN GOATS

Danica HASANBAŠIĆ, Lejla SARAČEVIĆ, Almasa ŠAĆIRBEGOVIĆ

Faculty of Veterinary Medicine, Sarajevo,
Zmaja od Bosne 90, 71000 Sarajevo, Bosnia and Herzegovina

Dose-effect curve for X-radiation was made based on the analysis of chromosome aberrations in lymphocytes of goats. Blood samples from seven goats were irradiated using MOORHEAD method, slightly modified and adapted to our conditions. Linear-square model was used, and the dose-effect curves were fitted by the smallest squares method. Dose-effect curve (collective) for goats is displayed as the following expression:

$$y(D) = 8,6639 \cdot 10^{-3} D + 2,9748 \cdot 10^{-2} D^2 + 2,9475 \cdot 10^{-3}$$

Comparison with some domestic animals such as sheep and pigs showed differences not only with respect to linear-square model, but to other mathematical presentations as well.