استخدام أربعة مؤشرات وراثية لدراسة التلف الجيني في الخلايا اللمفاوية لدم العاملين في حقول الاشعاع في موقع التويثة في العراق

Investigating Genetic Damage in Peripheral Lymphocytes of Radiation Workers at Al-Tuwaitha Site in Iraq Using Four Genetic End-Points

أمل جبار مطر عبد الصاحب كاظم علي عبد الله عبد الرحمن حيدر ببر علي حسن فرج
وزارة العلوم والتكنولوجيا/ مديرية المختبرات المركزية

Amel J. Mutter Abdulsahib K. Ali Abdullah A. K. Haider Y. L. Ali H. F
Ministry of Science and Technology/ Central Laboratories Directorate

المستخلص

هدفت الدراسة الحالية إلى استخدام تقانات احيائية في تخمين السمية الوراثية لجزيئة الدنا المتضررة في الخلايا اللمفاوية للعاملين في موقع تصفية المنشات النووية المدمرة في التويثة للفترة من كانون الثاني 2010 الى كانون الاول 2011 ، تضمنت الدراسة مجموعتين ، الاولى شملت 85 نموذجا للأشخاص اللذين يتعاملون بصورة مباشرة مع الإشعاع ، إضافة إلى 50 نموذجا دم من أشخاص غير مدخنين ولا يتعاطون الكحول كمجموعة سيطرة . سحبت نماذج الدم من مجموعتي العاملين والضابطة و استعملت اربعة معايير وراثية جزيئية في هذه الدراسة هي تردد النوى الصغيرة MN ، معامل الانقسام النووي NDI ، تقنية Comet assay في الخلايا اللمفاوية وتقنية التردد الطفوري لجين الهايبوزانثين فوسفورايبوسيل ترانسفيريتيز HPRT gene . أظهرت النتائج وجود زيادة معنوية p<0.01 في معدل تردد النوى الصغيرة MN في الخلايا اللمفاوية لدم مجموعة العاملين في حقل الاشعاعى والتي تراوحت المعدل ± الخطا القياسي 0.025 ± 0.0016 نوى صغيرة / خلية مقارنة مع مجموعة الضابطة والتي تراوحت 0.010± 0.0006 نوى صغيرة / خلية ، بينما لوحظ انخفاض معنوي P > 0.01 في معامل الانقسام النووي NDI الخلايا اللمفاوية في مجموعة العاملين في حقل الاشعاعى والتي تراوحت (المعدل ± الخطا القياسي) 1.154± 0.0089 مقارنة مع مجموعة الضابطة والتي تراوحت 1.322 ± 0.0117 . اما بخصوص نتائج تقنية comet assay أظهرت النتائج وجود زيادة معنوية p<0.01 في معدل طول الذيل mean tail length في الخلايا اللمفاوية لمجموعة العاملين في حقل الاشعاع والتي كانت (المعدل ± الخطا القياسي) 17.69 ±0.23 مايكروميتر مقارنة مع مجموعة الضابطة والتي كانت 14.05± 13 .0 مايكرومتر . بينما لم تلاحظ فروقات معنوية p>0.01 في معدل حركة الذيل mean tail moment في مجموعة العاملين في حقل الاشعاعى والتي كانت (المعدل ± الخطا القياسي) 14.22± 0.21 مقارنة مع مجموعة الضابطة والتي كانت 12.96 ± 0.15، اما بخصوص معدل التردد الطفوري لجين الهايبوزانثين فوسفو رايبوسيل ترانسفيريز *Mf-HPRT* فلم تسجل أي فروقات معنوية p>0.01 في معدل التردد الطفوري لهذا الجين لدم العاملين في حقل الاشعاع مقارنة مع مجموعة الضابطة . نستدل من نتائج الدراسة ان هناك اضرار جينية متراكمة في الخلايا اللمفاوية لدم العاملين في حقول الاشعاع في موقع التويثة. علما أن النتائج الحالية بالنسبة إلى تردد النوى الصغيرة ومعامل الانقسام النووي في الخلايا اللمفاوية ضمن المعدلات الطبيعية حسب التقرير الفني للوكالة الدولية للطاقة الذرية المرقم 405 لسنة 2001 .

الكلمات المفتاحية : التلف الجيني ، الخلايا اللمفاوية ، مؤشرات وراثية

Abstract

The present study aims to use the biological techniques in a genotoxicity assessment of DNA damage in peripheral lymphocytes of radiation workers at Al-Tuwaitha site due to decommissioning to radioactive contamination as a result of work during January 2010 to December 2011. The subjects were divided into two groups: (i) 85 workers from radiation workers at Al-Tuwaitha site; (ii) 50 controls were matched non-smoking and no alcohol drink. Fresh blood samples were collected from the workers and controls. Four genetic parameter were studied using the micronucleus (MN) test, nuclear division index (NDI) test, the comet assay and hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase (HPRT) mutation assay. The results of the MN test showed that the average of MN per cell (Mean ± SE) in workers were 0.025 ± 0.0016 MN / cells, which were significantly higher than those 0.010 ± 0.0006 MN /cells in controls P< 0.01. While, the results of NDI test the average of NDI (Mean ± SE) in workers were 1.154 ± 0.0089 when compared with the control 1.322 ± 0.0117, which were significant increase p<0.01. It was found in the comet assay that the mean tail length (Mean ± SE) of radiation workers and controls were 17.69 ± 0.23 µm and 14.05 ± 0.13 µm, respectively. There was a significant difference between radiation workers and controls for mean tail length P < 0.01, but the difference between the mean tail moment (Mean ± SE) 14.22 ±0.21 of workers and mean tail moment 12.96 ±0.15 of controls was not significant P> 0.01. Mean while, the results of the average of mutation frequency for HPRT were no significant differences rate for radiation workers compared with the control group P> 0.01. In conclusion, the results of our experiment suggest that the accumulation of

genetic damage is detectable in peripheral lymphocytes of radiation workers at Al-Tuwaitha site. Also, the current results of frequency MN and NDI within of normal values according of the technical report of International Atomic Energy Agency (IAEA) No. 405, 2001.

Key words: Genetic Damage, Peripheral Lymphocytes, Genetic End-Points

المقدمة

تؤكد الوكالة الدولية للطاقة الذرية IAEA بضرورة استخدام التحاليل الوراثية الخلوية والتي تعد من أفضل المقاييس الحديثة التي تستخدم في التقييس الاحيائي لتخمين وتقدير الجرع الإشعاعية ،إذ تستخدم هذه التقنية بحيث تكون مكملة للمقاييس الفيزياوية الروتينية المستخدمة في قياس الجرع الإشعاعية [2،1]. تستخدم المؤشرات الوراثية الخلوية كمؤشر في التقييس الاحيائي للعاملين في حقول الاشعاع مثل التغيرات الكروموسومية ، تردد النوى الصغيرة في الخلايا اللمفاوية ثنائية النواة وتقنية التهجين الموضعي المتفلور FISH والتبادل الكروماتيدي الشقيقي [5،4،3]، فضلا عن تقنيات التعبير الجيني التي تستخدم كمؤشر في تطبيقات التعرض والتلوث بالمواد المشعة [6] وعلى الرغم من اختلاف حساسية هذه المؤشرات،تبقى طريقة ملائمة لتحديد و تقدير الاضرار الوراثية للمواد المسرطنة والمطفرة [8،7]. يُعد فحص النوى الصغيرة في الخلايا اللمفاوية المزروعة باستخدام تقنية Cytokinesis Blocked Lymphocyte (CBL) Method مكملاً لفحص الانحرافات الكروموسومية أو بديلاً عنه، اذ انها طريقة سهلة وسريعة لمعرفة التأثيرات الوراثية للمطفرات، وتُعد الأكثر حساسية في كشف الضرر الاشعاعي لدى الاشخاص المتعرضين للاشعاع [10،9] تتكون النوى الصغيرة عند تعرض الخلية لمادة محدثة للكسور الكروموسومية بحيث ينتج من التكسر قطع كروسومية صغيرة أو كروموسوم كامل متغير غير مرتبط بالمغزل بحيث لا تندمج مع احدى النواتين أثناء انقسام الخلية الى خليتين بل تبقى هذه الاجزاء الكروموسومية سائبة في السايتوبلازم خارج النواة، ثم تتكور بشكل نواة صغيرة أصغر من النواة الأساسية بكثير وتصطبغ بصبغتها [12،10]. تستخدم تقنات عديدة في التحري عن الطفرات الجسمية في الخلايا اللمفاوية لدم الانسان عند التعرض لمختلف المطفرات والملوثات البيئية] [14،13]. اجريت دراسات عديدة لمعرفة التردد الطفوري لجين الهايبوزانثين فوسفورايبوسيل ترانسفيريتيز HPRT gene والتي بينت ان الزيادة في التردد الطفوري لهذا الجين الهايبوزانثين فوسفورايبوسيل ترانسفيريتيز تعتمدعلى العمر والتعرض للمطفرات اضافة الى العامل الوراثي [15، 16] تستخدم تقنية Comet assay لتحديد الضرر في جزيئة الدنا DNA اذ انها طريقة حساسة ومعتمدة.

تهدف الدراسة الحالية إلى استخدام اربع مؤشرات وراثية جزيئية والتي تشمل تردد النوى الصغيرة MN في الخلايا اللمفاوية ثنائية النواة، معامل الانقسام النووي NDI، تقنية Comet assay في الخلايا اللمفاوية و تقنية التردد الطفوري لجين الهايبوزانثين فوسفورايبوسيل ترانسفيريتيز كمؤشر احيائي في الكشف عن مدى تاثير الجرع الاشعاعية على المادة الوراثية في خلايا الدم لعينة من العاملين في موقع تصفية المنشات النووية المدمرة في موقع التويثة، نتيجة للتلوث اوالتعرض لجرع واطئة من الاشعة المؤينة من جراء العمل.

المواد وطرائق العمل

عينات الدم Blood samples

خلال الفترة كانون الثاني 2010 الى كانون الاول 2011 الخلوية 85 نموذجا ذكرا للاشخاص اللذين يتعاملون بصورة مباشرة مع الاشعاع تراوحت اعمارهم بين 35- 63 سنة، إضافة إلى 50 نموذج دم من الذكور غير مدخنين ولا يتعاطون الكحول كمجموعة سيطرة، تراوحت أعمارهم بين 30– 55 سنة. وضع الدم المسحوب في انابيب معقمة تحوي على مانع التخثر الهيبارين Heparin بعد عملية السحب مباشرة. اخذت معلومات من العاملين ومجموعة الضابطة وفق استمارة استبيانية خاصة.

تقنية الترحل الكهربائي الهلامي (فحص كومت) Comet Assay

اجري فحص الترحل الكهربائي الهلامي (فحص كومت) DNA gel electrophoresis(comet) assay للعينات المدروسة حسب طريقة [19]. تم حساب 1000 خلية لمفاوية بوساطة المجهر المتفلور fluorescence microscope. لتحديد معدل طول الذيل mean tail length ومعدل حركة الذيل mean tail moment في الخلايا اللمفاوية لمجموعة العاملين في حقل الاشعاع و مجموعة الضابطة.

الفحوصات الوراثية الخلوية Cytogenetic analysis

الزرع النسيجي للخلايا

زرع 0.5 سم3 من الدم المسحوب في انابيب زرع معقمة تحوي على 4 مل من الوسط الزرعي Minimum Essential Medium مضافا له 0.15 مل من محفز الانقسام Phytohemagglutinine (PHA) و 1 مل من مصل جنين العجل Fetal Calf Serum(FCS) وتمت عملية الزرع في ظروف معقمة داخل كابينة الهواء المعقمة.وبعد انتهاء عملية الزرع وضعت العينات المزروعة في الحاضنة بدرجة حرارة 37م لمدة 72 ساعة. لغرض دراسة تردد النوى الصغيرة اضيف 40 مايكروميتر من مادة ال Cyto-B عند الساعة 44 من الحضانة ثم اكملت فترة الحضانة الى 72 ساعة بدرجة 37م ورجت الأنابيب برفق مرتين يوميا،حسب طريقة [9] .اما بخصوص تقنية التردد الطفوري لجين الهايبوزانثين فوسفورايبوسيل ترانسفيريتيز HPRT gene اجري الزرع النسيجي في نوعين من الانابيب تحوي احدهما على مادة 0.2 mM 6-thioguanine (Sigma) والاخرى بدونة وحسب طريقة [20].

تهيئة الشرائح المجهرية

بعد انتهاء فترة الحضانة للخلايا المزروعة في أنابيب الزرع، تم نقلها إلى أنابيب الطرد المركزي وجمعت بطريقة النبذ بوساطة جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 2000 دورة/دقيقة ولمدة 10 دقائق وسكب الرائق وأضيف إلى الراسب محلول كلوريد البوتاسيوم KCl ذي عيارية 0.01 M لدراسة النوى الصغيرة، بعدها رسبت الخلايا بطريقة النبذ وسكب الرائق ثم عوملت الخلايا

(الراسب) مع محلول مثبت مكون من الميثانول وحامض الخليك الثلجي بنسبة 1:3 وغسلت الخلايا بهذا المحلول لأربع مرات وفي المرة الأخيرة سكب الرائق كاملا وعلقت الخلايا بقطرات قليلة من المحلول المثبت وفرش العالق الخلوي على الشرائح وصبغت الشرائح بصبغة كمزا Giemsa stain .

الفحص المجهري

فحصت الشرائح الزجاجية مجهريا بدقة لحساب 1000 خلية لمفاوية ثنائية النواة لكل نموذج دم من العاملين ومجموعة الضابطة. اما بخصوص معامل الانقسام النووي NDI تم حساب 1000 خلية لمفاوية احادية النواة M1 و ثنائية النواة M2 وثلاثية النواة M3 ورباعية النواة M4 وحسب طريقة [21] وكما في المعادلة :

$$NDI = (M1 + 2 XM2 + 3 x M3 + 4 X M4)/N$$

اما بخصوص فحص التردد الطفوري لجين الهايبوزانثين فوسفو رايبوسيل ترانسفيريز *Mf-HPRT* تم حساب 1000 خلية لمفاوية ثنائية النواة Binucleated cells ومتعددة النواة Multinucleated cells وحسب المعادلة [20] :

$$\text{Mf-HPRT} = \frac{\text{binucleated and multinucleated cells in culture with 6 - TG per 1000}}{\text{binucleated and multinucleated cells in culture without 6 - TG per 1000}} \times 1000\%$$

التحليل الاحصائي استخدم اختبار دنكن في تحليل البيانات الخاصة بالتحاليل الوراثية الخلوية للتعرف على الفروقات المعنوية بين العاملين [19].

النتائج والمناقشة

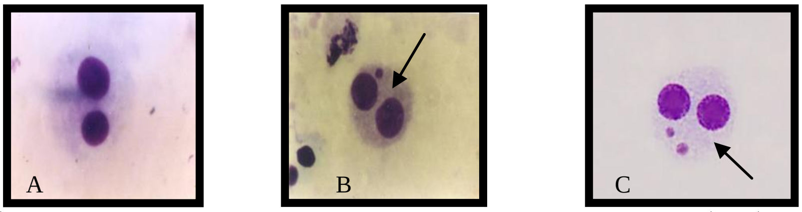
يبين جدول (1) معدل النوى الصغيرة في الخلايا اللمفاوية ثنائية النواة بعد فحص 1000 خلية لمفاوية لعينة من العاملين ومجموعة الضابطة اذ لوحظ وجود فروقات معنوية طفيفة في معدل النوى الصغيرة (المعدل ± الانحراف القياسي) عند مستوى $p<0.01$ لمجموعة العاملين في حقل الاشعاع إذ كان معدلها 0.025 ±0.0016 نوية صغيرة/ خلية ثنائية النواة مقارنة مع مجموعة الضابطة إذ كان معدلها 0.010± 0.0006 نوية صغيرة/ خلية ثنائية النواة . ان ظهور النوى الصغيرة في الخلايا اللمفاوية غير المعرضة للاشعاع قد لوحظ في دراسات عدة أوضحت امكانية وجود النوى الصغيرة في الاشخاص الطبيعين ربما بسبب تعرضهم الى مطفرات بيئية تؤدي الى حدوث مثل هذه التغيرات كالتشخيص بالاشعة السينية، أو من الاشعة الكونية إذ كان ترددها (0.032-0.002) نوية صغيرة / خلية ثنائية النواة [9] و (0.01 – 0.016) نوية صغيرة / خلية ثنائية النواة [10] . يعد فحص النوى الصغيرة من المؤشرات المهمة لمعرفة تأثير الجرع الإشعاعية على المادة الوراثية فهو فحص مكمل للانحرافات الكروموسومية ،اذ يعد طريقة سهلة وحساسة للكشف عن الأضرار التي تسببها الجرع الإشعاعية. وتتكون النوى الصغيرة عند تعرض الخلية إلى مادة محدثة للكسور الكروموسومية بحيث ينتج عن التكسر قطع كروموسومية صغيرة او كروموسوم كامل متغير غير مرتبط بالمغزل بحيث لا تندمج مع إحدى النواتين أثناء انقسام الخلية الى خليتين بل تبقى هذه الأجزاء الكروموسومية سائبة في السايتوبلازم خارج النواة [2,9] ،ثم تتكور بشكل نواة صغيرة اصغر من النواة الأساسية بكثير وتصطبغ بصبغتها شكل (1). إن هذه النتائج تتفق مع ما توصل إلية [22] بوجود زيادة في معدل النوى الصغيرة في الخلايا اللمفاوية في دم العاملين في موقع لاما في التويثة بعد مرور 6 أشهر من العمل في الموقع وان هذه الزيادة ضمن الحدود المسموح بها دوليا حسب تقرير الوكالة الدولية للطاقة الذرية المرقم 405 لسنة 2001 [2].

كما يبين جدول (1) معدل معامل الانقسام النووي NDI لمجموعة العاملين بالاشعاع مقارنة مع مجموعة الضابطة ، اذ أظهرت النتائج وجود انخفاض معنوي $p>0.01$ في معدل معامل الانقسام النووي (المعدل ± الانحراف القياسي) لمجموعة العاملين في موقع الويثة مقارنة مع مجموعة الضابطة. اذ ان هذا الاختبار يبين ان كانت الملوثات التي نتعامل معها مطفرة او مسرطنة ،اذ بينت دراسات سابقة وجود انخفاض في معامل الانقسام في الخلايا اللمفاوية للمصورين الشعاعيين المتعرضين للاشعة السينية [24] والعاملين في موقع التويثة [5،23]

جدول (1): معدل النوى الصغيرة في الخلايا اللمفاوية ثنائية النواة (نوى صغيرة / خلية لمفاوية ثنائية النواة) ومعامل الانقسام النووي (المعدل ± الانحراف القياسي) لعينة من العاملين ومجموعة السيطرة

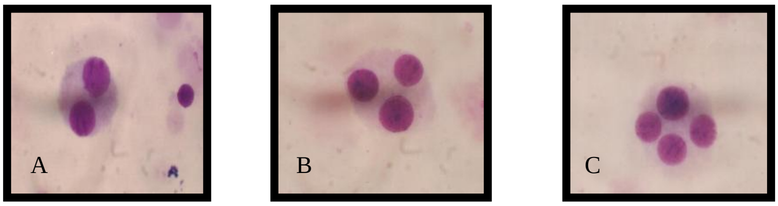
Nuclear Division Index (المعدل ± الانحراف القياسي)	Binucleoted cell (المعدل ± الانحراف القياسي)	عدد النماذج	مجاميع الدراسة
0.0117± 1.322 A	0.0006 ±0.010 A	85	مجموعة الضابطة (المعدل±الانحراف المعياري)
0.0089 ±1.154 B	0.0016± 0.025 B	35	مجموعة العاملين في حقل الاشعاعى (المعدل±الانحراف المعياري)

*الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فرق معنوي بين المجاميع الثلاثة المدروسة عند مستوى معنوية (p<0.01) حسب ختبار دنكن



شكل (1): خلية لمفاوية ثنائية النواة ، A- سايتوبلازمها خالي من النوى الصغيرة B– يحتوي سايتوبلازمها على نوية صغيرة - C يحتوي سايتوبلازمها على نويتين صغيرتين

اما بخصوص فحص التردد الطفوري لجين الهايبوزانثين فوسفو رايبوسيل ترانسفيريز *Mf-HPRT* تم حساب 1000 خلية لمفاوية ثنائية النواة Binucleated cells ومتعددة النواة Multinucleated cells لمجموعة العاملين في حقل الاشعاع و مجموعة الضابطة شكل (2). يبين جدول (2) معدل التردد الطفوري (المعدل ± الانحراف القياسي) لجين الهايبوزانثين فوسفو رايبوسيل ترانسفيريز *Mf-HPRT* في الخلايا اللمفاوية لمجموعة العاملين في حقل الاشعاع و مجموعة الضابطة . تبين عدم وجود فروقات معنوية في معدل التردد الطفوري لجين الهايبوزانثين فوسفو رايبوسيل ترانسفيريز *Mf-HPRT*(المعدل ± الانحراف القياسي) عند مستوى ($p>0.01$) لمجموعة العاملين في حقل الاشعاع إذ كان معدلها 0.897 ± 0.0090 % مقارنة مع مجموعة الضابطة إذ كان معدلاها 0.942 ± 0.0083 %. ان عدم وجود زيادة في معدل التردد الطفوري لجين الهايبوزانثين فوسفو رايبوسيل ترانسفيريز *Mf-HPRT* لدم العاملين في حقل الاشعاع مقارنة مع مجموعة الضابطةتدل على عدم التعرض الى مواد مطفرة اثرت على تردد هذا الجين [13، 6].1 اجريت دراسات عديدة لمعرفة التردد الطفوري لجين الهايبوزانثين فوسفورايبوسيل ترانسفيريتز *HPRT gene* والتي بينت ان الزيادة في التردد الطفوري لجين الهايبوزانثين فوسفورايبوسيل ترانسفيريتز تعتمدعلى العمر والتعرض للمطفرات اضافة الى العامل الوراثي وان هذه النتائج لاتتفق مع ماتوصل الية [25,16,15] بوجود زيادة في التردد الطفوري لجين الهايبوزانثين فوسفورايبوسيل ترانسفيريتز وانها تعتمدعلى العمر والتعرض للمطفرات اضافة الى العامل الوراثي .



شكل (2): خلية لمفاوية ثنائية النواة (A) ، خلية لمفاوية ثلاثية لنواة (B) ، خلية لمفاوية رباعية النواة (C)

درست الأضرار في جزيئة الدنا في الخلايا اللمفاوية لدم الانسان ،باستخدام تقنية comet كمؤشر بايولوجي لتقييم التعرض المستمر للإشعاع المؤين لـ 50 نموذجا من العاملين في مشروع تصفية المنشات النووية المدمرة في موقع التويثة فضلا عن مجموعة الضابطة والتي شملت 35 نموذجا. اظهرت النتائج وجود زيادة معنوية $p<0.01$ في طول الذيل Tail length (المعدل ± الانحراف القياسي) لمجموعة العاملين بالاشعاع اذ كانت 14.05 ±0.13 ميكرومتر مقارنة مع 17.69 ±0.23 ميكرومتر لمجموعة الضابطة جدول (2). كما بينت النتائج عدم وجود زيادة $p>0.01$ في معدل حركة الذيل Tail moment (المعدل ± الانحراف القياسي) لمجموعة العاملين بالاشعاع حيث كانت 12.96 ±0.15 مقارنة مع 14.22 ±0.22 لمجموعة الضابطة جدول (2). ان الاضرار في جزيئة الدنا DNA التي تسببها الاشعة المؤينة يمكن الكشف عنها بوساطة تقنية Comet assay اذ تستخدم هذة التقنية كمؤشر بيولوجي في تقدير القطع المفرد والمزدوج في جزيئة الدنا DNA لدى العاملين في الحقول الطبية نيجة ال تعرض المهني للاشعاع[26،27]. تعتبر تقنية Comet assay في الوقت الحاضر وسيلة سهلة وسريعة يمكن تطبيقها على نطاق واسع في قياس الضرر في الحامض النووي وعملية اصلاحه نتجة تعرض الانسان الى مختلف السموم الجينية [28،29]. اظهرت الدراسة الحالية ان هذه التقنية مفيدة في معرفة مستوى الضرر في جزيئة الدنا في الخلايا البيضاء لدم العاملين في حقول الاشعاع المؤين وهذا يتفق مع ما توصلت اليه دراسات سابقة [18،27،30]. ان الزيادة في معدل طول الذيل لمجموعة العاملين في الاشعاع تشير الى ان الاشعة المؤينة سببت الضرر في جزيئة الدنا مقارنة مع المجموعة الضابطة مما يدل على امكانية استخدام هذة التقنية كمؤشر بايولوجي في الكشف عن مدى تاثير الجرع الاشعاعية على المادة الوراثية في خلايا الدم لعينة من العاملين في موقع تصفية المنشات النووية المدمرة في التويثة ،نتيجة للتلوث اوالتعرض لجرع واطئة من الاشعة المؤينة من جراء العمل.

جدول (2): معدل الطفوري لجين الهايبوزانثين فوسفو رايبوسيل ترانسفيريز Mf-HPRT الخلايا اللمفاوية (المعدل ± الانحراف القياسي)، ومؤشر فحص Comet الذي يشمل معدل طول وحركة الذيل لعينة من العاملين ومجموعة الضابطة

مجاميع الدراسة	عدد النماذج	التردد الطفوري لجين HPRT % (المعدل ± الانحراف القياسي)	Comet parameters evaluated	
			Average Tail length (µm) (المعدل ± الانحراف القياسي)	Average Tail movement (المعدل ± الانحراف القياسي)
مجموعة السيطرة (المعدل±الانحراف المعياري)	85	0.897 ± 0.0090 A	14.05 ± 0.13 A	12.96 ±0.15 A
مجموعة العاملين في حقل الاشعاعى (المعدل±الانحراف المعياري)	35	0.942 ± 0.0083 A	17.69 ±0.23 B	14.22 ±0.21 A

الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فرق معنوي بين المجاميع الثلاثة المدروسة عند مستوى معنوية ($p<0.01$) حسب اختبار دنكن

الاستنتاجات

نستدل من نتائج الدراسة الحالية

1- وجود زيادة معنوية طفيفة عند مستوى $p<0.01$ في معدل النوى الصغيرة في الخلايا اللمفاوية ثنائية النواة ومعدل طول الذيل Tail Length وانخفاض معنوي في معامل الانقسام النووي للعاملين مقارنة مع مجموعة الضابطة، ويعزى السبب في ذلك إلى إن أكثرهم من المدخنين إضافة إلى تقدمهم في العمر.

2- بالرغم من وجود زيادة معنوية في معدل النوى الصغيرة في الخلايا اللمفاوية ثنائية النواة وانخفاض معنوي في معامل الانقسام النووي لكن معدلاتها ضمن الحدود الطبيعية المسموح بها حسب تقرير الوكالة الدولية للطاقة الذرية المرقم 405 لسنة 2001.

3- امكانية استخدام التغيرات في معدل الردد الطفوري لجين الهايبوزانثين فوسفو رايبوسيل ترانسفيريز *HPRT* كمؤشراً بايولوجياً مفيداً يمكن استعمالة في الكشف عن تعرض الكائنات الحية الى الاشعة المؤينة.

المصادر

1. International Atomic Energy Agency IAEA. (1986). Biological dosimetry Chromosome aberration analysis for dose. Assessment, technical reports series No.260, IAEA, Vienna.
2. International Atomic Energy Agency IAEA. (2001).Cytogenetic analysis for radiation dose assessment.Technical Reports Series No.405, Vienna.
3. Cruz, A.D., Mcarthur, A.G., Silva, C.C., Curado, M.P and Glickman, B.W. (1994). Human micronucleus counts are correlated with age, smoking and Cesium-137 dose in the Goiana (Brazil) radiological accident. Mut. Res. 313: 57-68.
4. Balasem, A.N. and Ali, A.K., Mosa, H.S. and Hussain, K.O. (1992). Chromosome aberration analysis in peripheral lymphocytes of radiation workers. Mut. Res. 271 : 209-211
5. Kukura, F. and Kornikova, L. (1994). Monitoring genotoxicity in the environment using cytogenetic methods such as chromosome analysis of peripheral lymphocytes, sister chromatid exchange and the micronucleus test. Bratisl. lek. Listy. 95(4) :163-167.
6. Al-zayadi, A.S.K. A. (2009). Gene expression using as biomarkers for detection of ionizing radiation exposure. A thesis submitted to the College of Science, University of Baghdad.
7. Joksic, G., Nikolic, M., Spasojevic, A. and Isma,V. (1997). Radiosensetivity of different aged human lyphocytes following electron irradiation *in vitro*. Neoplasma, 44(2):117-121.
8. Abdulsahib, K.A., Amel, J. M., Abdullah, A.K., Haider, Y.L., Ali, H.F. and Khawla, A. B. (2012). Evaluation of Sister Chromatid Exchanges, HPRT Gene Mutation Assay in Peripheral Lymphocytes of Radiation Workers at Al-Tuwaitha Site 1st. Sci. Conf. of the Coll. of Science. Baghdad: 2012.
9. Fenech, M. and Morley, A.A. (1986). Cytogenesis-block micronucleus method in human lymphocytes: effect of *in vivo* aging and low dose X-irradiation. Mutat. Res. 161:193-198.
10. Balasem, A.N., Ali, A.K. and Abdul-Khaliq, J.J. (1993). The yield of micronuclei in human blood lymphocyte treated with radioactive Caesium. Radiat. Prot. Dosim. 46 (4). 295-297.
11. Krepinsky, A.B. and Heddle, J.A. (1983). Micronuclei as a rapid and inexpensive measure of radiation induced chromosomal aberration in: Radiation induced chromosome damage in man (T.Ishihara ; Sasakieds). New York, Alan R. Liss. Inc. pp. 93-109.
12. Fenech, M. and Morley, A.A. (1985). Measurement of micronuclei in lymphocytes. Mutat. Res.147:29-36.
13. Finette, B.A., Sullivan, L.M., Vacek, P.M. and Albertini, R.J. (1994). Determination of HPRT mutant frequencies in T-lymphocyte from a healthy pediatric population: statistical comparison between newborn, children and adult mutant frequencies, cloning efficiency and age. Mutat. Res. 308:223-231.
14. Jones, I.M., Thomas, C.B. and Tucker, B. (1995). Impact of age and environment on somatic mutation at the HPRT gene of T-lymphocte in human. Mutat. Res. 338:129-139.
15. Hou, A.W., Yang, K., Nyberg, F, Hemminik, K. and Lambert, B. (1999). HPRT mutant frequency and aromatic DNA adduct level in non-smoking and smoking lung cancer patient and population control. Carcinogenesis. 20:437-444.
16. Curry, J., Larissa K.G. and Glickman, B.W. (1999). Influence of sex, smoking and age on human hprt mutation frequenciesand spectra. Genetics. 152: 1065-1077.
17. Anderson, D., Yu, T.W. and McGregor, D.B. (1998).Comet assay responses as indicators of carcinogen exposure. Mutagenesis. 13:539-555.
18. Georgakilas, A .G, Holt, S.M., Hair, J.M and Loftin ,C.W. (2010). Measurement of oxidatively-induced clustered DNA lesions using a novel adaptation of single cell gel electrophoresis (comet assay).Cell Biol. 6 :(6-11)
19. Kassie, F., Parzefall, W. and Knasmuller, S. (2000). Single cell gel electrophoresis assay: A new technique for human biomonitoring studies. Mutat. Res. 463:13-31.
20. Cao, J., Liu, Y., Sun, H., Cheng, G., Pang, X. and Zhou, Z. (2002). Chromosomal aberrations, DNA strand breaks and gene mutations in nasopharyngeal cancer patients undergoing radiation therapy. Mutat. Res., 504: 85–90.
21. Eastmond. D.A., Tucker, J.D. (1989). Identification of aneuploidy-inducing agents using cytokinesis-blocked human lymphocytes and an antikinetochore antibody, Environ. Mol. Mutagen. 13**:** 34–43.
22. Schmid,W. (1975). The Micronucleus test. Mutat. Res., 31:9-15.11.

23. مطر، أمل جبار، عبد الصاحب كاظم علي، زينة فائق احمد، عبد الله عبد الرحمن غضبان، إيمان حسين عبد، حيدر يبر لفتة (2010). استخدام التحليلات الوراثية الخلوية كموشر حيوي لتقدير الجرع الاشعاعية للعاملين في مشروع تصفية المنشات المدمرة في منطقة التويثة-العراق. المؤتمر العلمي السادس للطاقة الذرية العربية، اربيل –العراق.

24. Shubber, E.K. and Al-Shaikly, A.W. (1989). Cytogenetic analysis of blood lymphocyte from X-ray radiographers. Int. Arch. Environ. Health. 61:385-389.

25. Abdul-sahib, K.A., Muttar, A. J. (2010). HPRT Gene Mutation Study for Detection the Effect of Radiological and Chemical Hazard in Local Human Blood Samples of Al-Twaitha Region. Tenth Arab Conference on the peaceful uses of Atomic Energy, Republic of Iraq**.**

26. Moller, P., Knudsen, L.E., Loft, S. and Wallin, H. (2000).The comet assay as rapid test in\ biomonitoring occupational exposure to DNA-damaging agents and effect of confounding factors. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 9:1005–1015.

27. Maluf, S.W., Passos, D.F., Bacelar, A., Speit, G. and Erdtmann, B. (2001). Assessment of DNA damage in lymphocytes of workers exposed to X- radiation using the micronucleus test and the comet assay. Environ. Mol. Mutagen. 38: 311–315.

28. Collins, A., Dusinska, M., Franklin, M., Somorovska, M., Petrovska, H., Duthie, S., Fillion, L., Panayiotidis, M, Raslova, K. and Vaughan, N. (1997). Comet assay in human biomonitoring studies – reliability, validation and applications. Environ. Mol. Mutagen. 30: 139–146.

29. Garaj-Vrhovac, V., Kopjar, N., Razem, D., Vekic, B., Miljaniτ, S. and Ranogajec- Komor, M. (2002). Application of the alkaline comet assay in biodosimetry:-assessment of *in vivo* DNA damage in human peripheral leukocytes after gamma radiation incident. Radiat. Prot. Dosim. 98: 407–416.

30. Archana, P.R., Nageshwar, R.B. and Satish Rao, B.S. (2011). Modulation of gamma ray-induced genotoxic effect by thymol, a monoterpene phenol derivative of cymene. Integr Cancer There. 10(4):374-83.