

BİYOLOJİK DOZİMETRİ VE İLGİLİ GELİŞMELER *

Münevver COŞKUN, Mahmut COŞKUN

Background.- It is inevitable to use radiation in many fields of the life at present and in future. In this respect, monitoring of the radiation has a big importance to keep of the harmful effects of radiation for human being and his future.

For this purpose biological dosimeter has been used for nearly 30 years and shows improvements at the parallel of the increasing scientific developments.

In this work, past and present situation of using of biological materials and cytogenetic techniques for the determination of the absorbed radiation dose were discussed. Also, especially the reasons and results of using of chromosome aberrations in the biological dosimeter have been summarized with the investigation of published papers about this subject.

Coşkun M, Coşkun M. Biological dosimeter and related developments. Cerrahpaşa J Med 2003; 34: 207-218.

Değişen ve gelişen dünya şartlarında radyasyondan farklı amaçlarla yararlanılması kaçınılmazdır. Radyasyonu insan yararına kullanmayı amaçlarken şimdi ve gelecekteki toplumun sağlığını korumak ilk şarttır. Bu nedenle radyasyonun canlılar üzerinde oluşturduğu biyolojik etkilerin ve korunma yöntemlerinin iyi bilinmesi gerekmektedir.

Gerek bireysel (nükleer tesislerde, endüstrinin ilgili alanlarında ve tıpta radyasyonla çalışanlar) ve gerekse toplumsal radyasyon kazası durumlarında (Çernobil, Giona gibi nükleer reaktörlerin bulunduğu merkezlerdeki kazalar) Hiroşima ve Nagazaki'ye atılan atom bombaları gibi askeri amaçlarla kullanıldıkları durumlarda absorbe edilen radyasyon dozunun bilinmesi yani radyasyonun izlenmesi (monitoring) halk sağlığı açısından önemlidir. Ayrıca radyasyon kazası sonucunda fazla doza maruz kalan bireylerin tedavi planlarının yapılabilmesi için, kaza sürecinde absorbe edilen radyasyon dozunun bilinmesi gereklidir.^{1,2} Uluslararası Radyasyondan Koruma Komisyonu (ICRP), maksimum müsaade edilen doz seviyelerini radyasyon ile çalışan bireyler için 5 rem (mSv), radyasyonla çalışmayan bireyler için 0.5 rem (mSv) olarak belirlemiştir.^{1,3}

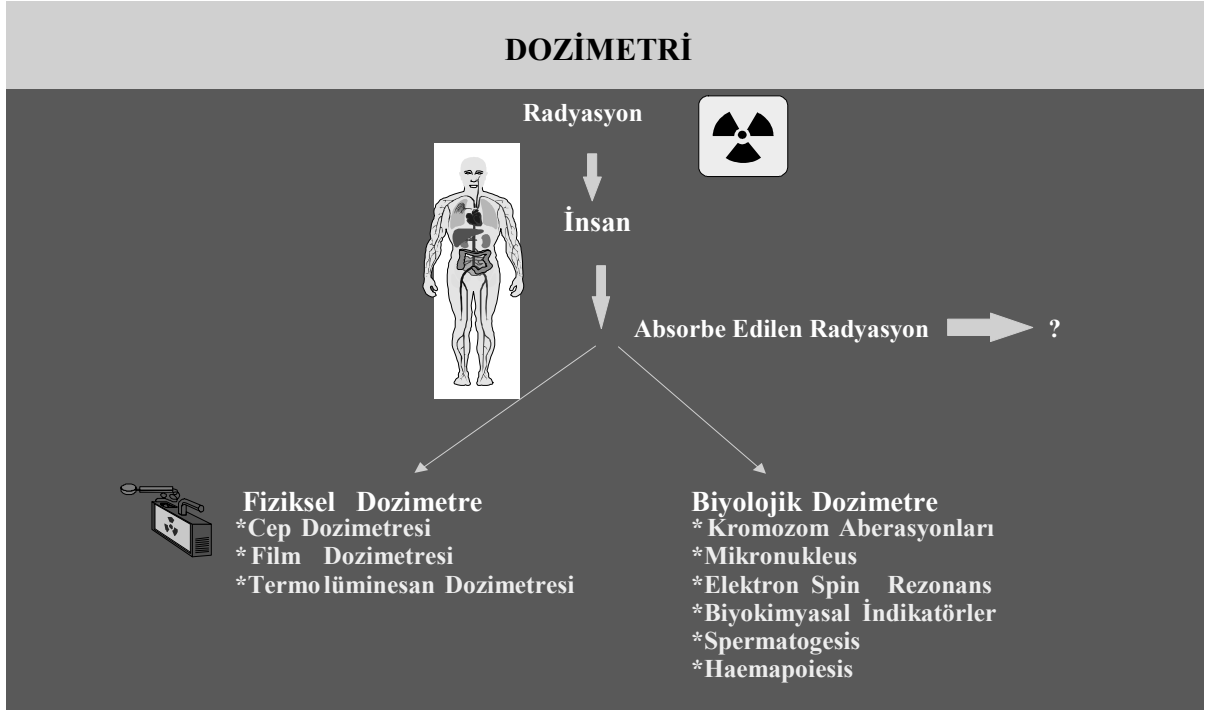
Radyasyonun Biyolojik Etkileri

Radyasyonun organizmaya olan etkileri akut ve kronik şekilde olmaktadır. Akut etkiler insanda radyasyona maruz kalındıktan kısa bir süre sonra klinik bulgular ile ortaya çıkmaktadırlar. Bunlar merkezi sinir sistemi (100 Sv ve üzeri), gastrointestinal (10-100 Sv) ve hematopoietik (2-10 Sv) sendromlardır. Sendromların ortaya çıkışı absorbe edilen dozla ilişkilidir.⁴ Bu sendromlar bir süre sonra bireyi ölüme götürür. Radyasyonun kronik etkileri ise hücrenin ölümüne yol açmayan ancak genetik materyallerinde onarılamayan bozukluklara neden olan olaylar sonucunda ortaya çıkarlar. Kanser yapıcı etkisi, genetik etkisi ve ömür kısaltıcı etkisi bunlara örnektir.^{3,4,5} Canlıların somatik ve genetik özellikleri kromozomlarda taşındığı için radyasyonun kromozomlarda meydana getirdiği zararlı etkiler günümüzde ve gelecekte toplum sağlığı açısından oldukça önemlidir.

Dozimetri Çeşitleri ve Biyolojik Dozimetri

Toplu halde veya bireysel olarak radyasyona maruz kalan bireylerin absorbe ettikleri radyasyon dozu; fiziksel veya biyolojik yöntemlerden biri ile yada her ikisiyle birlikte belirlenebilir. Bu işlem dozimetri olarak adlandırılır.⁶ Meslekleri gereği radyasyonla çalışanların fiziksel dozimetri çeşidi olan Film, Cep ve Termoluminesan dozimetriden birini taşımaları

* **Anahtar kelimeler:** Biyolojik dozimetri, Kromozom aberasyonu, Radyasyon; **Key words:** Biological dosimetry, Chromosome aberration, Radiation; **Alındığı Tarih:** 17 Nisan 2002; Uzm. Bio. Münevver Coşkun, Doç. Dr. Mahmut Coşkun: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Çanakkale; **Yazışma Adresi (Address):** Uzm. Bio. Münevver Coşkun, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, 17100, Çanakkale.

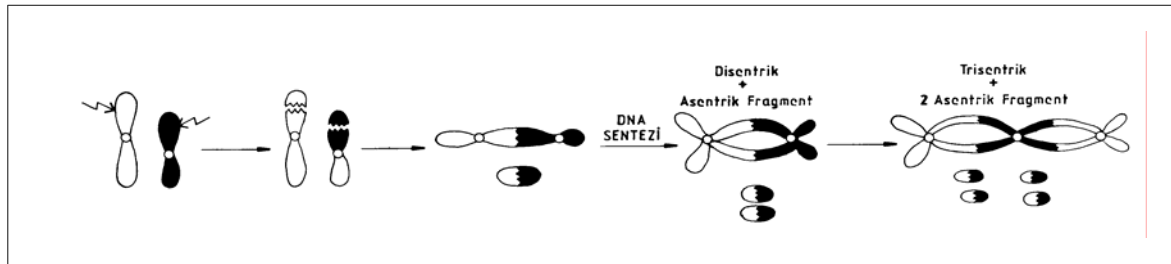


Şekil 1. Dozimetri çeşitleri

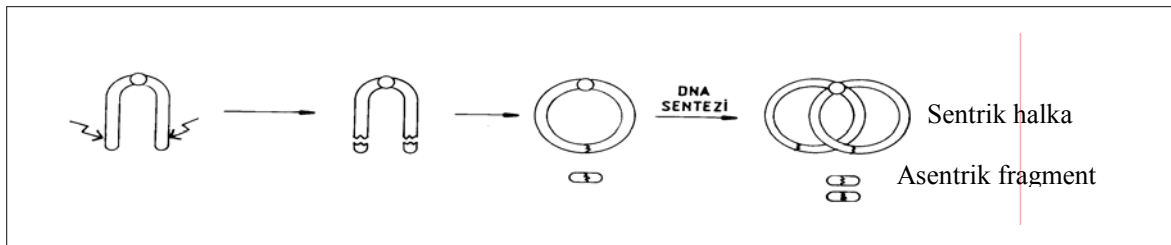
Asimetrik Kromozom Aberasyonları

Hedef Materyal: T-lenfositler

1. Disentrik ve Trisentrik Kromozom Aberasyonları



2. Sentrik Halka Kromozom Abrasyonları



Şekil 2. Disentrik, trisentrik ve sentrik halka kromozom aberasyonları

gerekir. Ancak fiziksel dozimetrenin vücut üzerindeki konumu nedeni ile yetersiz kalması, büyük kitlelerin zarar gördüğü toplumsal radyasyon kazalarında ise bireylerde fiziksel dozimetrenin bulunamaması⁷ ve biyolojik çeşitlilik nedeniyle kişilerin radyoduyarlılığının farklı olması⁸ biyolojik dozimetriye üstünlük sağlamakta bu nedenle de fiziksel ölçümlerin biyolojik metotlarla desteklenmesi gerekmektedir.^{1,2,9,10,11} Uluslararası Atom Enerjisi Ajansı (IAEA) radyasyon kazası durumlarında, fiziksel dozimetri ile birlikte biyolojik dozimetrenin de absorbe edilmiş dozun belirlenmesinde bağımsız olarak kullanılmasını önermiştir.¹ Şekil 1'de dozimetri çeşitleri özetlenmiştir.

Biyolojik dozimetri, genel anlamı ile kişilerin absorbe ettikleri radyasyon dozunun biyolojik indikatörler (belirleyiciler) kullanılarak ortaya çıkarılmasına denir.^{1,2,6}

Biyolojik Dozimetri için ideal koşullar;

- 1- Dozları tahmin etmek için seçilen etkiler iyonizan radyasyonlara özgü olmalı (disentrik aberasyonları gibi),
- 2- Radyasyona maruz kalma sonucu oluşan etki kalıcı olmalı, eğer kalıcı değilse zamana bağlı olarak oluşan değişiklikler bilinmeli,
- 3- Oluşturulan kontrol doz-cevap eğrilerinde dozların aralığı mesleki işlamlalarda olduğu gibi çok küçük dozları ve kaza durumlarında olduğu gibi birkaç Gy'e varan dozları da içermeli,
- 4- Farklı radyasyon kalitelerinde uygulanabilmeli (Co, X-ışını, nötron v.b),
- 5- Biyolojik materyal kolay elde edilebilmeli (kan gibi),
- 6- Ölçümler kolay ve hızlı olmalı kısa sürede sonuç elde edilmeli,
- 7- Kronik ve homojen olmayan işlamlara da uygun olmalı.⁷

Yukarıdaki özellikleri taşıyan ideal bir biyolojik dozimetri yöntemi bilinmemektedir. Fakat, insan periferik kanından lenfosit kültüründen kromozom analizinin yapılması bugün için bilinen en iyi biyolojik dozimetri yöntemi-

dir.^{1,2,12,13} Biyolojik dozimetri çeşitlerinden olan kromozom dozimetrisi (sitogenetik dozimetri), kişilerin absorbe ettikleri radyasyon dozu ile insan lenfositlerinde oluşan kromozom aberasyonları arasındaki kantitatif ilişki esasına dayanır.^{1,2,10,12,14}

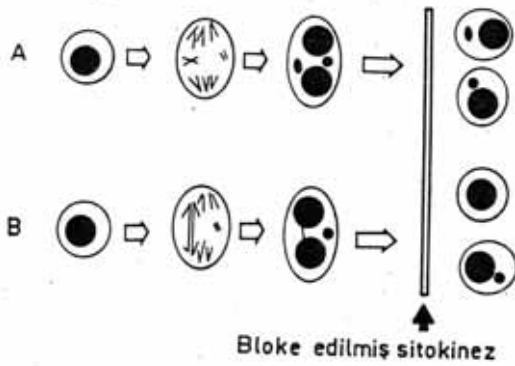
İyonizan radyasyonların kromozomlarda oluşturdukları hasar 20.yy başlarından beri bilinmektedir. İlk olarak X-ışınlarının Drosophila'da kromozom aberasyonu oluşturduğunun bulunması^{1,14} ve takip eden yıllarda araştırmacıların yaptıkları çalışmalar sonucunda ilk olarak 1962 yılında kromozom aberasyonları, radyasyona maruz kalan bireylerde absorbe edilen radyasyon miktarını tespit etmek için kullanılmıştır.² Kromozom aberasyonlarının absorbe radyasyon dozunun belirlenmesinde kantitatif biyolojik indikatör olarak kullanılmasından bu yana radyasyon kazaları sonunda absorbe edilmiş olan doz tayininde standartlaşmış bir yöntem olarak kullanılmaktadır.^{1,2,12,14}

Radyasyonun canlılarda oluşturduğu etkileri değerlendirmek için başka biyolojik indikatör sistemler de geliştirilmiştir.^{6,7,10,12,14} Elektron spin rezonans, Biyokimyasal indikatörler (kıl, tükürük, saç, sperm vs), Retikülosit sayımı, Mutasyon noktalarının analizi, Monoklonal antibodyler vs. Bu tür sistemlerin çoğu örnek almadaki güçlükler, hücrelerin asenkron popülasyon (hücre siklusunun farklı evrelerinde) şeklinde bulunması ve hücrelerin yaşam sürelerinin kısa olması, yöntemin belli dozlarda etkili olması ve bazen de ışınlanma süresinin önemi nedeniyle dozimetri amacıyla rutin olarak kullanılamazlar.⁷

Biyolojik Dozimetri Amacıyla Kullanılan Kromozom Aberasyonları

Unstabil (kalıcı olmayan) asimetric kromozom aberasyonlarından olan disentrik aberasyonlar ve eşdeğerleri (trisentrik ve sentrik halka) absorbe radyasyon dozunun indikatörü olarak diğer aberasyonlara göre daha çok güvenilirler.^{1,2,15,16,17,18,19,20} Çünkü disentrik kromozom aberasyonları radyasyona özgüdürler yalnızca özel birkaç radiomimetik kimyasal (bleomisin, endoksan vs) tarafından oluşturulabilir.^{1,13} Doğal görülme sıklıkları (back-gro-

und) düşüktür (1/2000) ve kolay belirlenirler.^{1,2,12,15} Bazı araştırmacılar doz tahminlerinde disentrik eşdeğeri kabul edilen sentrik halka (ring) kromozomları da disentriklerle birlikte kullanmaktadırlar. Sentrik halka oluşumu instabil kromozomlarının oluşum yüzdesi içinde %5-10 civarında olduğundan doz hesaplamalarında kullanılmamaları önemli bir kayıp değildir.^{2,20} Serbest asentrikler, disentrik, trisentrik ve sentrik halka gibi kromozom aberasyonlarına eşlik etmez ve onlardan bağımsız olarak bulunurlar.²⁰ Bu aberasyonlar radyasyon dışı etkenlerle de oluşturulabildikleri için tek başına doz tahmininde kullanılmamaktadırlar.^{1,2,20} Disentrik, trisentrik ve sentrik halka kromozom aberasyonlarının oluşumu Şekil 2'de şematize edilmiştir.¹



Şekil 3. Mikronukleus oluşumu

Translokasyon olarak adlandırılan iki kromozom arasındaki simetrik değişimler de son yıllarda geliştirilen floresan boyama teknikleri (fluorescens in situ hybridisation; FISH) sayesinde biyolojik dozimetri amacıyla kullanılmaktadır.^{2,20,21,22,23} Kromatid tipi kırıklar büyük oranda kimyasal ajanlar tarafından oluşturulduğundan biyolojik dozimetri amacıyla kullanılmamaktadır.² Son yıllarda yine insan periferik lenfositleri kullanılarak absorbe edilen radyasyon dozunun belirlenmesi amacıyla Mikronukleus testi çalışmaları yapılmaktadır. Mikronukleuslar sitoplazma içinde ana nukleusun dışında fakat nukleus ile şekil, yapı ve boyanma özellikleri bakımından aynı olan küçük küresel yapılardır.²⁴ Radyasyona maruz kalmış lenfositlerde hasar gören kromozomlar ve onların asentrik parçaları veya mitotik iğdeki hatalar

sonucu kromozomun tamamının kutuplara çekilememesi sonucu oluşurlar.^{24,25} Şekil 3 A'da bölünmekte olan binukleat bir hücrede kutuplara çekilemeyen bütün bir kromozom ve asentrik fragmentten mikronukleus, B'de ise yine binukleat bir hücrede disentrik köprüden nukleoplazmik köprü ve mikronukleus oluşumu şematize edilmiştir. Binukleat hücrelerdeki hücre başına düşen mikronukleus sıklığının mononukleat hücrelerdekinin iki kat olması önemlidir.²⁴

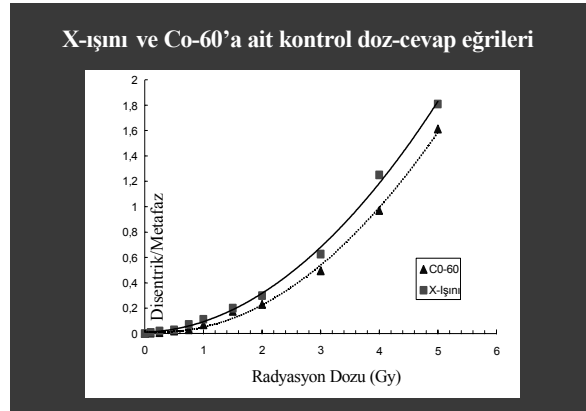
Kontrol Doz-Cevap Eğrileri

Tedavi gören kanser hastalarında, sıçanlarda, Çin hamsterlerinde, 250 keV X-ışınları ile *in vivo* ve *in vitro* ışınlamalar sonucu yapılan kromozom analizlerinde, belirtilen grupların aberasyon verimlilikleri arasında anlamlı bir farkın olmadığı rapor edilmiştir.^{26,27,28,29,30} Bu çalışmalar sonucunda *in vitro* şartlarda çeşitli radyasyon kalitelerinde ve dozlarda ışınlamalar sonucunda oluşan kromozom aberasyon verileri ile oluşturulan bir standart eğri yardımı ile *in vivo* olarak ışınlanan bir bireyden elde edilen aberasyon verilerinin karşılaştırılabileceği ve kişinin aldığı radyasyon dozunun bu standart eğri aracılığı ile tahmin edilebileceği kaydedilmiştir.^{1,2,7,14,16,18}

Kromozom aberasyonlarının doğal oluşum sıklığı konusunda, farklı populasyonlar ile yapılan araştırmalarda özellikle disentrik sıklığında farklılıklar gözlenmiştir.^{1,2} Doğal disentrik oluşum sıklığının farklı bulunması, laboratuvar koşulları, sayıcı ve değerlendiriciler arasındaki farklılıklar nedeniyle her biyolojik dozimetri laboratuvarının kendi koşullarında, çeşitli radyasyon kalitelerinde ve farklı radyasyon dozlarında oluşturacakları kontrol doz-cevap eğrilerine sahip olmasını gerekli kılmıştır. Olası bir radyasyon kazasında alınacak radyasyonun tipine göre, absorbe radyasyon dozunun miktarı o tipteki kontrol doz-cevap eğrilerinden faydalanılarak bulunmaktadır.^{1,2,18,20,27,28,30}

Kontrol doz-cevap eğrileri daha önce radyasyonla çalışmamış yada herhangi bir şekilde radyasyona maruz kalmamış sağlıklı bireylerden alınan kanların akut ve homojen ışınlanmaları sonucunda oluşturulur.² Biyolojik dozi-

metri amacıyla yapılan kontrol doz-cevap eğrileri genellikle 50 mGy ile 4 Gy arasında yapılır. Eğriler oluşturulurken 0 ve 1 Gy arasında en az 5 doz noktasının olmasına özen gösterilir.^{1,2} Çünkü radyasyon kazaları genelde bu dozlar arasında meydana gelir.¹⁰ Standart eğri oluşturulurken çok küçük doz (<0.5 Gy) noktalarında doz-cevap ilişkisini ortaya koymak için çok fazla hücre saymak gereklidir. Kalibrasyon eğrisini oluşturmak için toplam 10.000-15.000 hücre, bireysel doz tahmini yapmak için ise 500-1000 hücre saymak yeterlidir.^{1,2,10,12} Elde edilen aberasyon verimi dikkate alınarak %95 güvenilirlik sınırları içinde kontrol doz-cevap eğrisi çizilir.^{1,2,7,10,16,31} Aynı laboratuvar koşullarında 200 kV X-ışını ve Co-60 gamma radyasyonu ile ışınlanma sonucu oluşturulan kontrol doz-cevap eğrileri birlikte Şekil 4'de görülmektedir.³²



Şekil 4. X-ışınları ve Co-60 gamma radyasyonu ile oluşturulan kontrol doz-cevap eğrileri

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Materyalin Elde Edilmesi, Işınlanması

Kontrol doz-cevap eğrilerini oluşturmak amacıyla elde edilen kan örnekleri genç, sağlıklı, sigara içmeyen, radyasyonla çalışmamış yada herhangi bir şekilde radyasyona maruz kalmamış bireylerden alınır.¹ Kontrol grubu ve birinci mitozun (M₁) ikinci mitozu (M₂) oranını belirlemek için alınan kanlar ayrılır. Kan örnekleri steril, içleri heparin kaplı tüpler içine alınır. Eğriyi oluştururken, kullanılan doz noktalarına ait kan örnekleri radyasyon kalitesine uygun şekilde, doz hızı, dozun homojenitesi gibi kriterlere özen gösterilerek 37°C'da ışınlanır.^{1,2,12,16,18,33}

Kültür ve Tespit İşlemleri

Kontrol doz-cevap eğrileri oluşturmak için ışınlanmış kan örnekleri ve radyasyona maruz kalmış bireylerde absorbe dozun tayini için alınan (~5 ml) kan örnekleri steril şartlarda, Moorhead ve arkadaşlarının³⁴ mikrokültür tekniğine uygun olarak kültüre alınır. Bu yöntemde genellikle kültür stok medyumu olarak RPMI-1640+L-Glutamin, Penicilin ve Streptomisin kullanılır. Kültür ortamına mitojen olarak PHA (phytohemaglutinin) ve hücrelerin metafazda durmaları için Kolsemid kullanılır. Kültür süresi sonunda (toplam 48 saat) 0,075M KCL ile hipotonik şok uygulanır. Bu işlem sonunda 1:3 oranında asetik asit/metanol karışımı ile tespit işlemleri tamamlanır ve metafaz kromozomlarının lamalar üzerinde iyi bir şekilde dağılımları sağlanır. % 5 Giemsa boyası ile boyanarak incelenecek duruma getirilir.^{1,2,12,32,35} Uygulanan kültür metodu Şekil 5'de kısaca özetlenmiştir.

M2/M1 Oranı ve Biyolojik Dozimetricde Önemi

İnsan vücudunda yaklaşık 5.2×10^{12} lenfosit dolayısıyla. Lenfositlerin % 70'i T- lenfositlerdir ve bunların yaklaşık %98'i ufak, hücre siklusunun bölünmeyen bir fazında (G₀) bulunur. G₀ fazında olmaları dolayısıyla ile biyolojik ömürleri uzundur. Metabolik olarak inaktiflerdir.^{1,7,36,37} T-lenfositlerin kolay elde edilebilmeleri, radyasyona duyarlı olmaları, biyolojik ömürlerinin uzun olması (%90'nın yaşam süresi ortalama 3 yıl) (38) ve akut vücut ışınlamalarından 3 yıl sonra dahi lenfositlerdeki kromozom aberasyonlarının %50 sinin hala korunuyor olması, kaza üzerinden uzun yıllar geçse bile absorblanan dozun belirlenmesine olanak tanır.^{1,2,37}

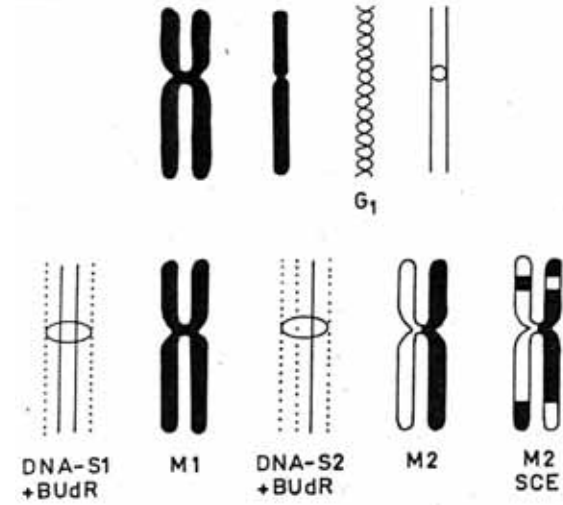
İnsan periferel kanında bulunan lenfositler stimüle edilerek G₀ fazından çıkıp hücre siklusunda ilerlemeye başlarlar. Siklusta ilerleme hızı hücreler arasında farklılık gösterdiğinden periferel kanda senkronize olan lenfositler bölünmeye teşvik edildikleri *in-vitro* ortamda asenkron hücre popülasyonuna haline gelirler.^{1,20} Bu yüzden bazı lenfositler M₁ bölünmede iken siklusta hızlı ilerleyen bazı lenfositler M₂ da olurlar. Radyasyona maruz kalımdan sonraki ilk bölünme (M₁) de lenfositlerde oluşan disentrik kromozom aberasyonlarının %50'si kaybolur.^{1,2,16,36,39} Bu yüzden doz tahmini yapılırken, M₁ lenfositlerde bulunan disentrik kromozom aberasyonlarının sayımı esas alınır. M₂/M₁ belirlenmesi için kültür ortamına BrdU (bromodeoksiüridin) ilave edilir.^{1,2,12,23,39,40} Timidin analogu olan BrdU, DNA replikasyonu esnasında timidinin yerini alır. DNA'nın yapısına girer. Floresan Plus Giemsa (FPG) boyama tekniği³² ile boyanan metafaz kromozomları Floresan mikroskopta incelenerek M₂ ve

M_1 'de olan hücreler ayırt edilir. Metodun iyi çalıştığının göstergesi olarak, M_2 de olan hücreler M_1 'den %10 daha az olmalıdır.^{1,2,41} Bu değerlerin üzerinde bulunduğu absorbe radyasyon dozunun hesaplanmasında bazı düzeltme faktörleri kullanılır.^{1,20,39,40} Kültür ortamına BrdU ilave edildikten sonra DNA replikasyonu sırasında BrdU'nun DNA'nın yapısına girişi, M_1 ve M_2 'deki hücrelerde BrdU almış kromozomların görünüşü Şekil 6'da gösterilmiştir.²

Kromozomların değerlendirilmesi

Hazırlanan preparatlar değerlendirilirken kromozomları birbirinden belirgin olarak ayrılmış, görünüşleri düzgün ve iyi boyanmış diploid metafazlar dikkate alınır. Kromozomlar sayılırken sayıları $2n=46$ ve üzeri olanlar değerlendirmeye alınır.^{1,12,40} Hücrede kararsız aberasyonlar (disentrik, sentrik halka ve serbest asentrik) bulunduğu kromozom sayıları ile belirlenen aberasyonların birbirini dengelemesine özen gösterilir. Örneğin, hücrede bir disentrik aberasyonun varlığında ona eşlik eden bir asentrik ile sayının 46 da tutulması; bir sentrik halka bulunduğu yine eşlik eden bir asentrik ile sayının 47 olması, bir trisentrik bulunduğu ona eşlik eden 2 adet asentrik ile sayının 46 olması gibi durumlara dikkat edilir. Değerlendirmelerde bir tri-

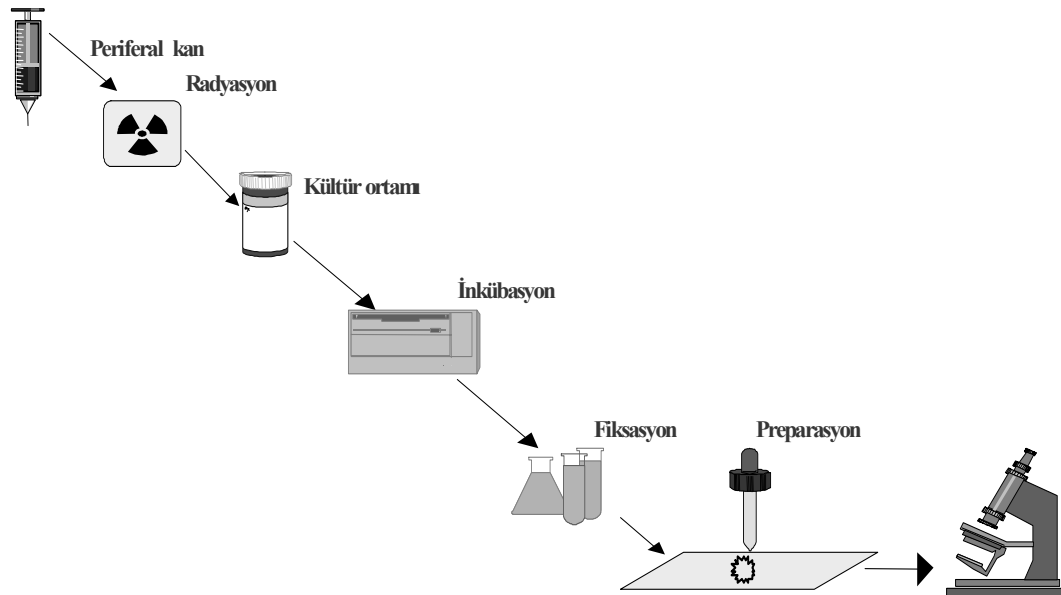
sentrik 2 disentriğe, bir sentrik halka bir disentriğe eşdeğer olarak kabul edilmektedir.^{1,12,17,31} 4 Gy 200 kv X- ışını uygulanan ve yukarıda anlatılan metoda uygun olarak hazırlanan ve değerlendirilen bir metafaz plağında disentrik ve asentrik kromozom aberasyonları Şekil 7'de görülmektedir.³²



Şekil 6. M_1 ve M_2 'deki hücrelerde kromozomlar

MATERYAL VE METOD

Lenfosit kültürü



Şekil 5. Uygulanan metodun aşamaları



Şekil 7. 4 Gy 200 kv X- ışını uygulaması sonucu oluşan disentrik (dis) ve asentrik (ase) kromozom aberasyonları görülmektedir (Giemsa x 1000).

İstatistiksel ve Matematiksel Yöntemler

Farklı iyonlaştırıcı radyasyonların eşit dozlarının birim uzaklıkta bıraktıkları enerjilerinin ve dolayısıyla oluşturdukları iyonlaşma yoğunluklarının farklı olması nedeniyle oluşturdukları kromozom aberasyonları verimleri de farklıdır.^{1,3,37, 42,43.}

Düşük Lineer Enerji Transfer (LET)'li radyasyonların herhangi bir dozunda iyonizasyon rastgele dağılır. Kromozom hasarının da aynı olasılıkla gerçekleştiği düşünülürse aberasyon dağılımı da rast gele olacaktır. Bu rast gele dağılımın düşük fre-

kanslarda meydana gelmesi Poisson dağılımı ile uygunluk gösterir.⁴⁵ Bu bilgilere dayanarak X-ışınları ve γ gibi düşük LET'li radyasyon ile akut ve homojen ışınlanma sonucunda oluşan kromozom aberasyonlarının Poisson dağılımına uygunluk gösterdiği belirlenmiştir.^{4,14,20,44,45} Yüksek LET'li radyasyonlarda ise iyonizasyon yoğunluğu fazla olduğundan iyonizasyon hücreler arasında rast gele dağılmayacaktır. Yüksek LET'li radyasyonların absorblanması sonucu birbirine yakın hücrelerde birden fazla aberasyonlu hücre oluşacak ve bu oluşum Poisson dağılımından uzaklaşacaktır.^{1,44,45} Homojen olmayan ışınlamalarda ve kronik ışınlamalarda disentriklerin hücrelere dağılımlarının Poisson dağılımından sapmaları büyük olacağından Poisson'a uygunluk göstermez.⁴⁴ Bu yüzden kontrol doz-cevap eğrileri oluşturulurken ışınlama homojenitesini kontrol etmek için disentriklerin Poisson dağılımına uygunluklarının belirlenmesi gerekir. Elde edilen aberasyon dağılımının (disentrik) Poisson'a uygunluğunu araştırmak için ilk önce her doz noktasına ait varyanslar (σ^2) hesaplanır. Daha sonra varyansların aberasyon (disentrik) frekanslarına (Y) oranından elde edilen dağılım oranı (σ^2/Y) bulunur. Bu dağılım oranları U testi formülünde yerine konularak her doz noktasına ait U değerleri hesaplanır. U testi sonuçlarının $-1,96$ ve $+1,96$ arasında olması dağılımların Poisson'a uygunluğunu ispatlar.^{1,2,20,28,32,35, 46}

Tablo I. X-ışınlarının farklı dozlarında görülen disentrik kromozom aberasyonlarının hücrelere dağılımı ve U değerleri.

Doz (Gy)	Metafaz Sayısı	Disentrik Sayısı	Dağılım						σ^2/Y	U	
			0	1	2	3	4	5			6
0.00	2260	1	2259	1						1.00	0.00
0.10	1408	14	1394	14						0.99	-0.25
0.25	1361	28	1333	28						0.98	-0.53
0.50	1548	45	1503	45						0.97	-0.80
0.75	888	64	824	62	1					0.96	-0.84
1.00	449	51	398	47	2					0.97	-0.50
1.50	979	196	783	155	19	1				1.03	0.56
2.00	1074	321	753	231	39	4				1.02	0.46
3.00	591	370	221	198	65	14				0.95	-0.79
4.00	168	200		70	42	12	1		1	0.77	-2.14
5.00	114	206		33	39	20	5	3		0.74	-1.94

Tablo II. Farklı çalışmalarda elde edilen α ve β değerleri.

Yazar	Radyasyon	($\alpha \pm S.E$) $\times 10^{-4}$	($\beta \pm S.E$) $\times 10^{-6}$
Lucnick ⁴⁷	⁶⁰ Co	4.9 \pm 1.4	5.3 \pm 0.64
Barquintero ⁴⁸	200kV X-ışını	343 \pm 0.46	5700 \pm 2200
Brewen ⁴⁹	⁶⁰ Co	3.93 \pm 1.06	8.16 \pm 0.42
Lloyd ⁵⁰	15-MeV nötron	2.6 \pm 0.3	8.84 \pm 2.78
Todorov ⁴³	180kV X-ışını	5.4 \pm 0.5	2.02 \pm 0.40
Bauchinger ²	220kV X-ışını	404 \pm 30	59800 \pm 1700
Edward ⁴⁴	250kV X-ışını	4.7 \pm 0.54	6.19 \pm 0.31
Coşkun ³²	200kV X-ışını	375 \pm 0.96	64100 \pm 3600
Top ⁵¹	⁶⁰ Co	34 \pm 72,9	60500 \pm 2820

U tesit için uygulanan formül (28);

$$U = (\sigma^2/Y-1) \times \sqrt{N-1/2(1-1/n)}$$

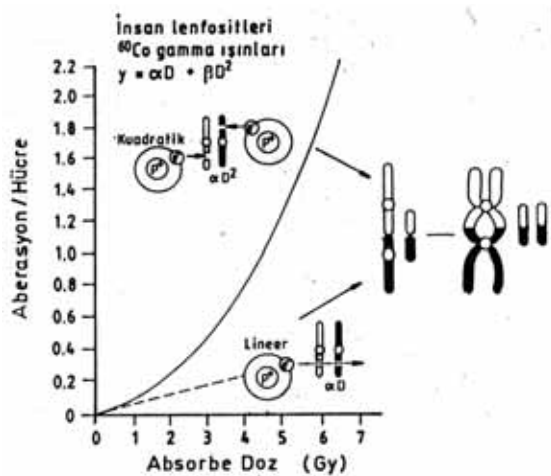
σ^2 = varyansı,

Y= disentriklerin ortalaması,

N= sayılan toplam metafaz sayısı,

n ise disentriklerin sayısını gösterir.

X-ışınlarının farklı dozlarında görülen disentrik kromozom aberasyonlarının hücrelere dağılımı ve U değerleri tablo I'de verilmiştir.³⁵



Şekil 8. Lineer kuadratik model

Disentrik kromozom aberasyonları kromozomun her iki kromatitinde meydana gelen kırılma sonucunda meydana gelir. Düşük LET'li radyasyonların düşük dozlarında bu iki kırığın birbirleri ile etkileşebilecek kadar yakın oluşturulması birbirinden bağımsız olan iki farklı elektron tarafından gerçekleştirilmesi düşük bir olasılıktır. Bu nedenle düşük

LET'li radyasyonların düşük dozlarında disentrik aberasyonlar tek elektron tarafından oluşturulur. Böylece düşük dozlarda oluşan aberasyonlar dozun kendisi ile orantılıdır ve bu dozlarda doz cevap eğrisi doğrusal (lineer)'dir. Yüksek dozlarda ise disentrik aberasyonlar iki farklı elektronun farklı iki kromatidi kırması sonucu oluşur. Bu şekilde oluşan aberasyonlar dozun karesi ile orantılıdır. Eğri bu kısımlarda kuadrattır.^{1,2,4,15,20} Kromozom aberasyonlarının doza bağlı olarak meydana gelişi ve Lineer kuadratik model Şekil 8'de özetlenmiştir.⁴

Düşük LET'li (x ve γ gibi) radyasyonlara akut olarak maruz kalan kişilerde aberasyon verimini en iyi ifade eden formül Lineer kuadratik formüldür.

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

Y= Aberasyon verimi,

A= Doğal oluşum sıklığı,

D= Radyasyon dozu,

α = Lineer katsayı,

β = doz-kare katsayı.

Yüksek LET'li radyasyonların ise hem düşük hem de yüksek dozlarında disentrik aberasyonları tek elektron tarafından oluşturulur. Buradaki aberasyon verimi

$$Y = A + \alpha D \text{ şeklindedir.}^{1,4,33,37,45,47}$$

Kontrol doz-cevap eğrileri oluşturulurken disentrik sonuçları lineer kuadratik modele uydurmak için ağırlıklı en küçük kareler regresyon analizi kullanılır.^{20,32,33,37,40,41,45,48} Eğriler %95 güvenlilik sınırları içinde çizilerek, α ve β değerleri standart hataları ile birlikte bulunur. Tablo II'de çeşitli radyasyon kalitelerinde oluşturulan kontrol doz-cevap eğrilerinin α ve β değerleri görülmektedir.

Biyolojik dozimetri amacıyla yapılan kromozom aberasyonlarının analizi, özellikle akut ve homojen ışınlanmalarda absorbe radyasyon dozunun belirlenmesi için duyarlı bir metottur.^{1,2,7,12} Düşük LET'li radyasyonların düşük dozlarında meydana gelen parsiyel ve homojen olmayan ışınlanmalarda dozun belirlenmesi daha zordur.^{9,12,52} Çünkü ışınlanmış bölgelerdeki hasarlı lenfositler diğerleri tarafından seyreltilir ve böylece kromozom aberasyon verimi düşer.³⁶ Ayrıca kronik ışınlanmalarda ışınlanmanın başlangıcı ile kan alımı arasında geçen sürede disentrik aberasyonu içeren lenfositlerin ölmesi sonucu aberasyon verimi düşer, bu durum dozun olduğundan düşük hesaplanmasına neden olabilir.^{17,20,36,49} Bu tür hataları minimuma indirmek için Dolphin tarafından geliştirilen Contaminated Poisson ve Sasaki tarafından geliştirilen Qdr metotlarından yararlanılarak yapılan düzeltmelerle absorbe doz tahmininde gerçeğe yaklaşılr.^{1,18,20,31,43,53} Qdr metodunda hasar almış hücreler içinde disentrik ve sentrik halkalar dikkate alınır. Bu metot doza bağımlı fakat doz homojenitesinden ve hasarlanmış hücrelerin hasarlanmamış olanlarla dilüsyonundan bağımsızdır.^{1,18,20,31,43,53}

$$Qdr = \frac{X}{Nu} = \frac{Y_1}{1 - \exp(-Y_1 - Y_2)}$$

Y1=disentrik ve halka toplamı,
Y2= serbest asentrik,
X=disentrik+sentrik halka,
Nu=hasarlanmış hücre sayısı.

Bu formül matematikte iterasyon yönteminden faydalanılarak absorbe dozların tahmininde kullanılır.¹⁸

Aynı radyasyon kalitesinde, farklı radyasyon doz hızlarında yapılan çalışmalarda doz hızının azalmasının disentrik miktarını anlamlı şekilde azalttığı gösterilmiştir. Biyolojik dozimetri amacıyla yapılan ışınlanmalarda doz hızının genellikle 50-100 rad/dak aralığında olmasına dikkat çekilmektedir.^{1,54}

TARTIŞMA

Bauchinger ve arkadaşlarının Almanya'da nükleer güç santrallerinde çalışan bireylerde⁵⁵, Lloyd ve arkadaşlarının¹² İngiltere'de nükleer tesislerde radyasyonla çalışan bireylerde, Awa ve arkadaşlarının⁵⁶ Nagasaki ve Hiroşima'da atom bombası kazazedelerinde ve Sceid'in pi-

lot ve hosteslerde⁵⁷ yaptıkları kromozom analizlerinde kromozom aberasyonlarındaki artışın kontrole göre anlamlı bir farklılık taşıdığını göstermişlerdir. Kromozom aberasyonlarının doğal görülme sıklığı araştırılırken sigara içenler/içmeyenler ve yaşın etkisi karşılaştırılmış; bazı araştırmalar içenlerde içmeyenlere göre artışın anlamlı olduğu⁵⁸, bazı araştırmalarda ise artışın çok anlamlı olmadığını belirlemişler.⁵⁹ Yaşlanmanın ise kromozom aberasyonlarının artışına etkisinin çok önemli oranda olduğu belirlenmiştir.⁵⁹

Yapılan araştırmalar, diğer biyolojik dozimetri yöntemi olan mikronukleus tekniğinin background frekansının yüksek olması nedeniyle, özellikle düşük dozların (0,3 Gy'den az) belirlenmesinde kullanmanın çok anlamlı olmadığını göstermiştir.^{60,61} Bu teknikte özellikle düşük doz noktalarında çok fazla hücre saymak gerekmektedir.²⁴ Bu nedenle mikronukleus tekniği kromozom aberasyonlarının değerlendirilmesine göre güvenilirliği az olan bir yöntemdir. Fakat kolay değerlendirilmesi ve daha kısa sürede sonuç alınması, gibi avantajları dolayısıyla büyük kitlelerin hasar gördüğü radyasyon kazalarında (Çernobil gibi) tedavinin biran önce planlanması amacıyla uygulanabilmektedir.^{2,12,14,25,60,62} Daha önce de belirtildiği gibi disentrik kromozom aberasyonlarını kullanarak absorbe radyasyon dozunun belirlenmesi özellikle akut ve homojen ışınlamalar için çok duyarlı bir metottur.^{1,2,7,12} Düşük LET'li radyasyonların düşük dozlarında meydana gelen parsiyel ve homojen olmayan ışınlanmalarda dozun belirlenmesi daha zordur.^{9,12,52} Çünkü ışınlanmış bölgelerdeki hasarlı lenfositler diğerleri tarafından seyreltilir ve böylece kromozom aberasyon verimi düşer.³⁶ Ayrıca kronik ışınlanmalarda uzun ışınlama süresi içinde disentrik kromozom aberasyonu içeren lenfositlerin ölmesi sonucu aberasyon verimi düşer ve bu durum dozun düşük hesaplanmasına neden olabilir. Radyasyona maruz kalmadan sonraki ilk bölünme (M₁)'de disentrik kromozom aberasyonlarının 1/2'si kaybolur.^{1,2,16,36,39} Son yıllarda geçmişte absorbe edilen dozların ve kronik ışınlanmaların tahmininde yeni kromozom boyama tekniklerinden FISH yararlanılarak kalıcı

(stable) kromozom aberasyonları olarak adlandırılan hücre bölünmesi esnasında elimine olmayan translokasyonlar değerlendirilmektedir.^{2,12,21,22,23,60,62,63,64} Translokasyonlar içerisinde de M₁'den M₂'ye geçişte iki yönlü translokasyonların tek yönlü olanlara oranla daha stabil olduğu biyolojik dozimetri amacıyla kullanımının daha uygun olduğu belirtilmiştir.²³ Bu teknikler bir çok biyolojik dozimetri laboratuvarında rutin olarak kullanılmaktadır. Biyolojik dozimetride düşük dozlarda problemler hala vardır. Radyobiyolojideki gelişmeler bu problemlerin çözümünde ışık olacaktır.

ÖZET

Günümüzde ve gelecekte hayatın birçok alanında radyasyonun kullanımı kaçınılmazdır. İnsanın radyasyonun zararlı etkilerinden korunmasında radyasyonun izlenmesi (monitoring) önemlidir. Bu amaçla biyolojik dozimetri yaklaşık 30 yıldır kullanılmakta ve bilimsel ilerlemelere paralel gelişmeler göstermektedir. Bu çalışmada; absorbe edilen radyasyon dozunun belirlenmesi amacıyla kullanılan biyolojik materyallerin ve sitogenetik tekniklerin bugünkü durumu ve geçmişi tartışılmış, ayrıca biyolojik dozimetride özellikle kromozom aberasyonlarının kullanımının neden ve sonuçları, konu ile ilgili yayınlanmış çalışmalar incelenerek özetlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. IAEA-VIENNA, Biological Dosimetry: Chromosomal Aberration for Dose Assessment. Technical Report. No.260. International Atomic Energy, Vienna, 1986.
2. Bauchinger M. Quantification of Low-Level Radiation Exposure by Conventional Chromosome Aberration Analysis. *Mutat. Res.* 1995; 339:177-89.
3. AAPM Report No.18, A primer on low-level ionizing radiation and its biological effects. 1986; 43-44.
4. Hall, E J., Radiobiology for the Radiobiologist. 3rd. edition, J.B. Lippin Cott Company, Philadelphia, 1998.
5. Coggle J.E. Biological Effects Of Radiation, London, Wykeham Publications (London) Ltd; 1971; 81-86.
6. Horne, G. Biological Monitoring of Radiation Exposure. *Adv. Space Res.* 1998; 22: 1631-1641.
7. Müller W.U. and Streffer C., Biological indicators for radiation damage. *Int. J. Radiat. Biol.* 1991; 59: 863-873.
8. Candervall B, Persson L; Polischouk A. Perspective an biological dosimetry from the aspect of individual radiosensitivity: the context of DNA double-strond breaks and chromosomal aberrations. *Applied Radiation and Isotopes.* 2000; 52 :1117-1120.
9. Ronald A.H, Solly E.S, Eric R.R. Medical Management of Three Warkers Following a Radiaiton Exposure Incident. *American Journal of Industrial Meidicine.* 1992; 22: 249-257.
10. Wald N. Biomedical Radionale for Cytogenetic Dosimetry. *J. Radiat. Res.* 1992; 33: 31-43.
11. Scheid. W, Weber J, Traut H. Biological an physical dosimetry after chronic accupational exposure to ionizing radiation: A Comparative Study. *Studia biophysica.* 1990; 38: 205-212.
12. Lloyd D.C. Biological Dosimetry in Radiological Protection: Recent Developments *J. Soc. Prot.* 1984; 4: 216-230.
13. Wolf, S Biological dosimetry with cytogenetic endpoints. *Progress in clinical and Biological Research.* 1991; 372: 351-362.
14. Zoetelief J. and Broerse J J. Dosimetry for Radiation Accidents: Present Status and Prospects for Biological Dosimeters. *Int. J. Radiat. Biol.* 1990; 57: 737-750.
15. Müller, H.J. Artificial Transmutation of the Gene, *Science* : 84-87,1927.
16. Bauchinger M. Cytogenetic Research after Accidental Radiation Exposure. *Stem Cells.* 1995; 13:182-90.
17. Ramalho A T. Costa M L. and Oliveira M S. Convectional Radiation-Biological Dosimetry Using Frequencies of Unstable Chromosome Aberrations. *Mutat. Res.* 1998; 404: 97-100.
18. Sasaki M S. Use of Lymphocyte Chromosome Aberrations in Biological Dosimetry: Possibilities and Limitations. In: Ishihara, T. and Sasaki, M.S., eds. *Radiation-Induced Chromosome Damage in Man.* New York: Alan R. Liss. 1983; 585-604.
19. Hoffmann W., Schmitz-Feuerhake I., How radiation-specific is the dicentric assay? *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology.* 1999; 9: 113-133.
20. Lloyd D.C, Edwards A A, Chromosome Aberrations in Human Lymphocytes: Effect of Radiation Quality, Dose and Dose Rate. *Radiation-Induced Chromosome Damage in man.* 1983; 23: 23-49
21. Rao B.S; Natarajan A.T.; Retrospective biological dosimetry of absorbed radiation *Radiation Protection Dosimetry.* 2001; 95: 17-23.

22. Stronati.; Durante M.; calibration curves for biological dosimetry by fluorescence in situ hybridisation. 2001; 94: 335-345.
23. Pala, F.S., Moquett J. E, Edwards A. A, Lloyd D.C. In vitro transmission of chromosomal aberrations through mitosis in human lymphocytes. Mutation Research. 2001; 474: 139-146.
24. Fenech, M. The Cytokinesis-Block Micronucleus Technique and Its application to Genotoxicity Studies in Human Populations. Environmental Health Perspectives. 1993; 101: 101-107.
25. Köksal, G., Dalci, D.Ö. and Pala, F.S. Mikronuclei in Human Lymphocytes: the Co-60 Gamma-ray dose-response. Mutation research. 1996; 359: 151-157.
26. Leonard A., Baltu I., Dose-effect relationship for in vivo and in vitro induction of dicentric aberrations in blood lymphocytes of children. Radiation Research. 1995; 141: 95-98.
27. Weber, J. Scheid W, Traut H. Biological Dosimetry After Extensive Diagnostic X-ray Exposure Health Physics. 1995; 68: 266-269.
28. Schmid E. and Bauchinger M. Comparison of the chromosome damage and its dose response after medical Whole-body exposure to ⁶⁰Co γ -rays and irradiation of blood in vitro. Int. J. Radiat. Biol. 1974; 26: 31-37.
29. Padovani L, Caporossi D, Cytogenetic Study of Lymphocytes from children exposed to ionizing radiation after the Chernobyl accident. Mutation Research.1993; 319: 55-60.
30. Clemenger J. F. P and Scott D. A Comparison of chromosome aberration yields in rabbit blood lymphocytes irradiated in vitro and in vivo. Int J. Radiat. Biol..1973; 24: 487-496.
31. Dolphin G. W. Biological Dosimetry with Particular Reference to Chromosome Aberration Analysis. A review of Methods. In: Handling of Radiation Accidents. STI/PUB/229 IAEA SM 119/4. Vienna. 1969; 215-24.
32. Coşkun, M. X-Işını ile Çalışan Bireylerin Biyolojik Dozimetrisi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 1998.
33. Merkle W. Statistical Methods in Regression and Calibration Analysis of Chromosome aberration Data. Radiat. Environm. Biophysy . 1983; 21: 217-233.
34. Moorhead, P.S; Nowell, P.C; Mellnan, W.J. Chromosome Preparation of Leukocytes Cultured from Human Peripheral Blood. Experimental Cell Res.m. 1960; 20: 613-618.
35. Coşkun M., Top A., Orta T., Biological Dosimetry Following X-ray Irradiation. Turk J Med Sci. 2000; 30: 563-569.
36. Braselmann H., Schmid E., Bauchinger M. Chromosome aberrations in nuclear power plant workers: the influence of dose accumulation and lymphocyte life-time Mutation Research. 1994; 306: 197-202.
37. Virsik, P. R., Dietrich, H. Recovery Kinetics of Radiation-Induced Chromosome Aberrations in Human G0 Lymphocytes. Radiat. Environ.Biophys. 1980; 18: 221-238.
38. Natarajan, A.T., Obe, G. Mutagenicity testing with cultured mammalian cells: cytogenetic assays. In: Mutagenicity (J.A.Heddle, Ed.), Academic Press, New York. 1982; 172-204.
39. Purrott, R J; Vulpis, N; Lloyd, D C The use of halequin staining to measure delay in the human lymphocyte cell cycle induced by in vitro X-irradiation, Mutation Research. 1980; 69: 275-282.
40. Doloy, M T; Malabet, J. L., Use of Unstable chromosome aberrations for after the postirradiation mitosis. Radiation Research. 1991; 125: 141-151.
41. Wagner R., Schmid E, and Bauchinger M. Application of Conventional and FPG Staining for the analysis of chromosome aberration induced by low levels of dose in human lymphocytes. Mutation Research .1983; 109: 65-71.
42. Edwards A.A.; The Evidence for One-Hit Chromosome Exchanges, Rad. and Environm. Biophys. 1997; 14:161-165.
43. Todorow SL: Radiat-Induced chromosome aberrations in human peripheral lymphocytes. Exposure to X-rays or protons. Strahlentheropie. 1975; 149: 197-203.
44. Edwards A.A. Lloyd D.C. and Purrott R.J. Radiation Induced Chromosome Aberration and the Poisson Distribution. Radiat. Environ. Biophys. 1979 ; 16: 89-95.
45. Kellerer A.M.; and Brenot J.; On the Statistical Evaluation of Dose Response Functions.rad.and Environm.Biophys. 1974; 11: 1-13.
46. Garcia O. F. Ramalho A. T. Giorgio M. D et al. Intercomparison in Cytogenetic Dosimetry among Five Laboratories from Latin America. Mutat.Res. 1995; 327:33-39.
47. Luchnik NV: Do one-hit chromosome exchanges exist? Radiat. Environ. Biophys. 1975; 12: 197-204.
48. Barquinero J. F. Barrios L. Caballin M. R et al. Biological Dosimetry in Simulated in Vitro Partial Irradiation. Int. J. Radiat. Biol. 1997; 71: 435-40.
49. Brewen JG, Preston RJ, Lifflefield LG, Radiation-induced human chromosome aberration yields following an accidental whole-body exposure to ⁶⁰Co γ -rays. Radiat. Res. 1972; 49: 647-652.
50. Lloyd DC, Purrott RJ, Dolphin GW, Edwards AA: Chromosome aberrations induced in human lymphocytes by neutron irradiation. Int J Radiat Biol. 1976; 29: 169-176.

51. Top, A., Coşkun, M., Orta, T. Biological Dosimetry of Co-60 Gamma Irradiation. *Turk. J. Haematol.* 2000; 17: 189-196.
52. Traut H. Procedure for Calculating the radiation dose from the field of radiation induced chromosome aberrations after exposure during several years. *Studia biophysica.* 1990; 138: 201-203.
53. Catena, C. Conti D. Cytogenetic dosimetry: dose-effect curves and methodological comparison *La Medicina Del Lavoro.* 1993; 84: 133-148.
54. Edwards AA, Lloyd DC. On the prediction of dose-rate effect for dicentric production in human lymphocytes by X and γ rays. *Int. J. Radiat. Biol.* 1980; 37: 89-98.
55. Bauchinger, M., Kolin, G.J., Schmid E., Chromosome analysis of nuclear-power plant workers. *Int. J. Radiat. Biol.* 1980; 38: 577-581.
56. Awa, A.A., Persistent Chromosome Aberrations in the somatic Cells of A- bomb Survivors, Hiroshima and Nagasaki. *J. Radiat. Res.* 1991; 34: 265-274.
57. Scheid, W., Weber, J., Traut H., Chromosome Aberrations Induced in the Lymphocytes of Pilots and Stewardesses. *Naturwissenschaften.* 1993; 80: 528-530.
58. Sinues, M. I., Viguera, J.P. Chromosome aberrations and urinary thioethers in smokers. *Mutation Research.* 1990; 240: 289-293.
59. Pressl, S., Edwards, A., Stephan, G., the influence of age, sex and smoking habits on the background level of fish-detected translocation. *Mutation Research.* 1999; 442: 89-95.
60. Huber, R., Strong, S., Bauchinger, M., Suitability of the human lymphocyte micronucleus assay system for biological dosimetry. *Mutation Research.* 1983; 111: 185-193.
61. Müller, W.U., Rode, A., The micronucleus assay in human lymphocytes after high radiation doses (5-15 Gy) *Mutation Research.* 2002; 93: 1-5. (in press).
62. Paillole, N., Voisin, P., Is micronuclei yield variability a problem for overexposure dose assessment to ionizing radiation? *Mutation Research.* 1998; 413: 47-56.
63. Cologne, JB; Pawel, DJ, Presyon, DL Statitctical issues in biological radiation dosimetry for risk assesment using stable chromosome aberrations. *Health Physics.* 1998; 75: 518-529.
64. Gollnick A.D.; *Basic Radiation Protection Technology*, 2nd edition, California, Pasific Radiation Corporation. 1988; 65-69.