

НАЦИОНАЛЕН ЦЕНТЪР ПО РАДИОБИОЛОГИЯ И
РАДИАЦИОННА ЗАЩИТА

Отдел „Радиобиология“

Любомира Стефанова Попова-Хаджийска

**Цитогенетични ефекти от йонизиращо лъчение
при диагностични и терапевтични медицински
процедури**

АВТОРЕФЕРАТ

НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА
ОБРАЗОВАТЕЛНА И НАУЧНА СТЕПЕН „ДОКТОР“

СОФИЯ 2019

НАЦИОНАЛЕН ЦЕНТЪР ПО РАДИОБИОЛОГИЯ И РАДИАЦИОННА ЗАЩИТА

Любомира Стефанова Попова-Хаджийска

**Цитогенетични ефекти от йонизиращо лъчение
при диагностични и терапевтични медицински
процедури**

АВТОРЕФЕРАТ

НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА
ОБРАЗОВАТЕЛНА И НАУЧНА СТЕПЕН „ДОКТОР“

Научна специалност: Радиобиология, шифър 01.06.09

Научен ръководител: проф. д-р Валерия Хаджидекова, дмн

Дисертационният труд съдържа 125 стандартни печатни страници, включва 23 таблици и 16 фигури. В библиографската справка са включени 212 литературни източника.

Дисертационният труд е обсъден и насрочен за защита на заседание на Научния колегиум при НЦРРЗ на 18.09.2019г.

Научното жури е утвърдено от Научния съвет на НЦРРЗ с протокол № 17/01.10.2019 г.

Научно жури:

- 1. Доц. д-р Жана Николаева Джунова-Великова, дм*
- 2. Доц. д-р Илона Михайлова Гюлева-Ангелова, дм*
- 3. Проф. Радостина Тенева Георгиева, дмн*
- 4. Проф. д-р Николай Василев Мънчев, дмн*
- 5. Доц. д-р Велко Рангелов Рангелов, дм*

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 10.12.2019 г. от 13.00 часа в зала 225 на НЦРРЗ, гр. София, ул. „Свети Г. Софийски“ №3, сграда 7, София

СЪДЪРЖАНИЕ

УВОД	5
ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	7
МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ	8
РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ	9
3.1. Микронуклеус тест в ексфолиантни клетки от букална лигавица при здрави лица, подложени на панорамна рентгенография на зъби	9
3.2. Цитогенетични ефекти в лимфоцити от периферна кръв на пациенти, подложени на контрастни рентгенови изследвания.....	12
3.3. Цитогенетично изследване на пациенти с диференциран тиреоиден карцином, подложени на РАЙ или РАТ след тотална тиреоидектомия ..	16
3.4. Сравнение на спонтанно индуцирани ХА и МН с началната им честота при пациенти, подложени на медицинско облъчване.	20
3.5. Микронуклеуси в ексфолиантни клетки от букална лигавица	26
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	29
ИЗВОДИ	31
ПРИНОСИ.....	32
ПУБЛИКАЦИИ СВЪРЗАНИ С ТЕМАТА:	33
Summary.....	34

УВОД

Откритието на Вилхелм Ръонтген през 1895г. и последвалите открития в областта на физиката и радиологията дават тласък в развитието на медицината, която използва свойствата на йонизиращото лъчение (ЙЛ) за целите на диагностиката и лечението. Днес медицинското облъчване съставлява основна част от надфоновото облъчване на населението - над 98% и около 20% от общото облъчване на населението, според обобщени оценки на UNSCEAR, (2010).

Ползите за здравето от медицинското приложение на ЙЛ при рентгеновата диагностика, интервенционалната радиология, нуклеарната медицина и лъчелечение са очевидни. Въпреки това, има добре установени рискове от високи дози, каквито се достигат при радиотерапия и интервенционална радиология, както и възможни вредни ефекти от малки дози, каквито се прилагат в диагностиката, ICRP (2002). Все повече нараства вниманието към защитата на пациента, както и на медицинския персонал, при медицинско облъчване, Clement (2011). Непрекъснато се търсят нови начини за намаляване дозовото натоварване на пациентите без това да повлиява диагностичната информативност или терапевтичния ефект.

При ниски дози, риска за здравето винаги е бил във фокуса на противоречия, като пресмятанията се извеждат основно чрез екстраполация на данните от кривата доза-ефект при високи дози, UNSCEAR (2006). До момента при ниски дози ЙЛ се използва линейна връзка между дозата и дългосрочния риск от индуциране на рак и наследствени ефекти, ICRP (2007). Евентуалното възникване на биологични ефекти в резултат от медицинско облъчване зависи не само от физичните характеристики на използваното ЙЛ, но и от индивидуалните особености на пациентите, като индивидуална лъчечувствителност, възраст по време на експозицията, пол, генетична предразположеност към канцерогенеза.

Ефектът от облъчването с ниските дози ЙЛ за здравето при човека не е категорично изяснен. Проучването на ДНК увреждането на ниво хромозома е съществено за определянето на генотоксичния ефект, защото хромозомната мутация е важно събитие в канцерогенезата, Fenech (2000). За определяне на ефекта от ниски дози ЙЛ върху генетичните структури на клетката се прилагат биомаркери, BEIR VII. Тестът за хромозомни аберации (ХА) и цитокинезис-блок микронуклеус (МН) тестът в лимфоцити от периферна кръв са биомаркер за хромозомно увреждане. Генетични

изменения като ХА и формации от микронуклеуси в клетъчната цитоплазма са ранен биологичен признак на канцерогенезата. Тестът за хромозомни аберации е един от най-използваните за доказване на мутагенност, а мутацията е ефект от генотоксичното въздействие на даден агент.

Поради огромните си размери, ДНК молекулите са постоянна цел на химично или физично увреждане с различен произход. ЙЛ е универсален мутаген, инициращ широк спектър от ДНК поражения, който включва едноверижни и двуверижни разкъсвания в гръбнака на веригата. Такива увреждания се детектират лесно в лимфоцити от периферна кръв. Тази клетъчна система е изключително чувствителен индикатор както за *in vivo* така и за *in vitro* индуцирани хромозомни структурни изменения, Evans and O'Riordan (1975). Лимфоцитите притежават някои предимства като модел за оценка на генотоксичен ефект. Те са синхронизирана клетъчна популация, рядко встъпват в митотична пролиферация и циркулират в цялото тяло. Това ги прави подходящи обекти за изследване ефекти от облъчване на по-обширни части от тялото.

Ексфолиантните клетки на букалната лигавица са алтернативен източник на материал за мониторинг на генотоксичните ефекти индуцирани от различни фактори, включително йонизиращи лъчения. При локално въздействие те са подходящ модел клетъчна система за цялостно обхващане на генотоксичния ефект. Голяма част от нововъзникналите неоплазии са с епителен произход, поради което тези клетки са особено подходящи за оценка ефекта от различни мутагени.

В настоящата работа, за определяне ефекта от медицинско облъчване са приложени цитогенетични биомаркери ХА и МН в периферни лимфоцити, както и МН в букални клетки. Проучването обхваща пациенти, подложени на медицински процедури с различен принос в лъчевото натоварване.

1. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Цел:

Цитогенетична оценка на ефекта от действието на различни диагностични или терапевтични дози йонизиращо лъчение върху клетъчния геном при здрави лица и пациенти, облъчени по медицински показания.

Задачи:

1. Оценка на генотоксични ефекти от панорамни рентгенографии на зъби в епителни клетки от букална лигавица при здрави лица.
2. Определяне честотата на хромозомни аберации и микронуклеуси в лимфоцити от периферна кръв при пациенти, подложени на контрастни артериографии.
3. Оценка на ефекта от терапевтични дози ЙЛ при пациенти с диференциран тиреоиден карцином, подложени на РАЙ или РАТ след тотална тиреоидектомия, чрез прилагане на цитокинезис блок микронуклеус тест и класически цитогенетичен метод на ХА.
4. Сравнение на честотата на ХА и МН в лимфоцити от периферна кръв, при пациенти преди диагностичното или терапевтичното облъчване, със спонтанната честота, анализирана при здрави лица от популацията.

2. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Изследвани групи лица:

- Здрави лица подложени на панорамна рентгенография на зъби.
- Пациенти подложени на контрастни рентгенови изследвания.
 - церебрални артериографии,
 - бъбречни ангиографски изследвания,
 - коронарни артериографии.
- Пациенти, подложени на лъчелечение с радиоiod аблация (РАЙ) или радиоiod терапия (РАТ), от диференциран карцином на щитовидната жлеза.
- Здрави лица, при които е анализирана спонтанната честота на цитогенетичните биомаркери.

Клетъчни култури

- Лимфоцити от периферна кръв
- Епителни клетки от лигавица на устната кухина

Цитогенетични методи за оценка на генотоксичен ефект

- Цитогенетичен анализ на ХА в лимфоцити от периферна кръв
- Цитокинезис-блок микронуклеус тест в лимфоцити от периферна кръв
- Микронуклеус тест в епителни клетки от лигавица на устната кухина

Статистически анализ

За обработка на данните от настоящото проучване, беше използвана версия IBM SPSS Statistics 19 for Windows. Приложени са методи за проверка на нормалност на разпределението на количествена променлива. Използвани са параметрични и непараметрични статистически методи. Приложени са методи за проверка на хипотези, корелационен анализ, честотен анализ на качествени променливи, вариационен анализ на количествени променливи—средна стойност, стандартно отклонение, стандартна грешка на средната и 95% доверителен интервал на средна стойност. Използвани са графични изображения.

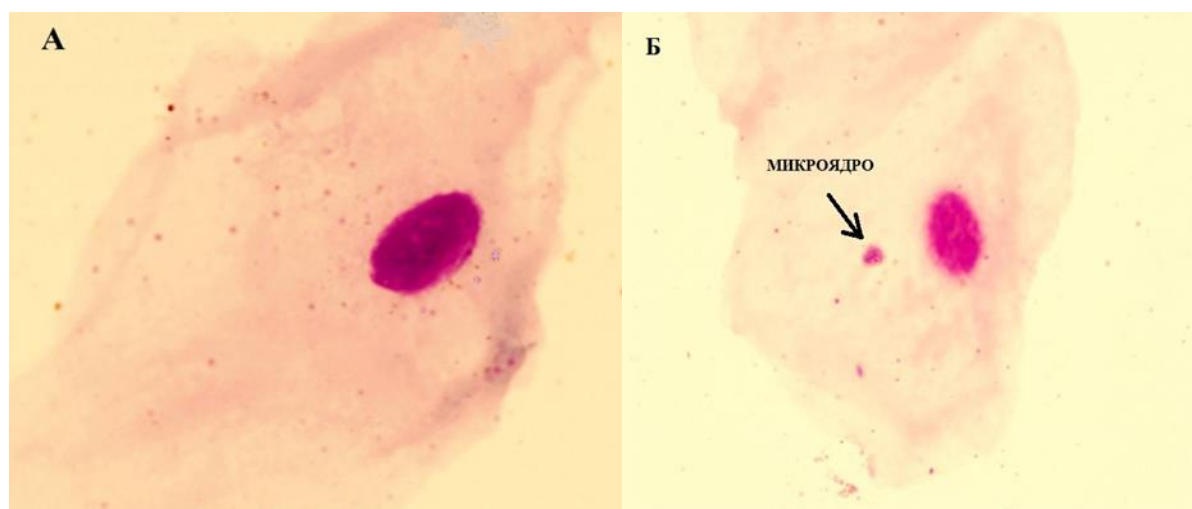
3. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

Настоящата работа изследва цитогенетичните ефекти от медицинско облъчване с различен принос в лъчевото натоварване на пациентите. Подбрани са диагностични процедури с ниско дозово натоварване, каквито са панорамните дентографии, и интервенционални процедури, които се отнасят към високо натоварващите диагностични изследвания. Проучен е цитогенетичния ефект от вътрешно облъчване при лъчетерапия на рак на щитовидната жлеза, където администрираните активности от ^{131}I формират по-щадяща целотелесна доза, в сравнение с лъчелечението на други солидни тумори. За целите на изследването са приложени биомаркери, чувствителни по отношение влиянието на генотоксични агенти като ЙЛ. Изследвани са две клетъчни системи - лимфоцити от човешка периферна кръв и ексфолиантни клетки от лигавицата на устната кухина. Лимфоцитите са доказан чувствителен индикатор за *in vivo* и *in vitro* индуцирани структурни хромозомни преобразувания. Букалните епителни клетки са алтернативен обект за мониторинг на лица, подложени на токсично въздействие на вдишани и погълнати генотоксини.

3.1. Микронуклеус тест в ексфолиантни клетки от букална лигавица при здрави лица, подложени на панорамна рентгенография на зъби

Букалната епителна тъкан е пряко подложена на експозицията на йонизиращото лъчение при панорамна рентгенография на зъби и по този начин се явява основната цел на увреждане, причинено от радиацията. Затова, за определяне евентуалните ефекти от подлагането на панорамна рентгенография е приложен цитогенетичен биомаркер МН в ексфолиантни клетки от лигавицата на устната кухина. Изследвани са 32 здрави лица, от които 12 мъже и 20 жени на възраст от 24 до 73 години (средна възраст 52). Избрани са само непущачи, за да се избегне евентуалното влияние на фактора тютюнопушене върху получените резултати. Пробите от устната кухина са събирани непосредствено преди и 10 ± 2 дена след изследването. Базалните клетки са пролиферативно активни и в тях, в резултат на действието на ЙЛ, могат да се индуцират генетични увреди, които се визуализират като МН по време на ядрено разделяне. Новите клетки произведени в основния слой чрез митоза, мигрират към повърхността, заменяйки онези, които се отделят. Процесът отнема от 1 до 3 седмици. Периодът на изчакване след изследването е съобразен с ритъма на обновяване на клетъчната популация, за да се установи максималния ефект на облъчването.

Увредените и фрагментирани хромозоми могат да изостават по време на митотично делене и се появяват в цитоплазмата на дъщерните клетки като микроядра. Дъщерните клетки, които могат да съдържат или не съдържат МН (фиг. 1), се диференцират и попаднали в кератинизирания повърхностен слой се екسفолират в устната кухина. Отчитани са по 2000 клетки на донор преди и след провеждане на диагностичната процедура.



Фигура 1. Мононуклеарни епителни клетки от лигавицата на устната кухина: А – без микроядра; Б – с едно микроядро

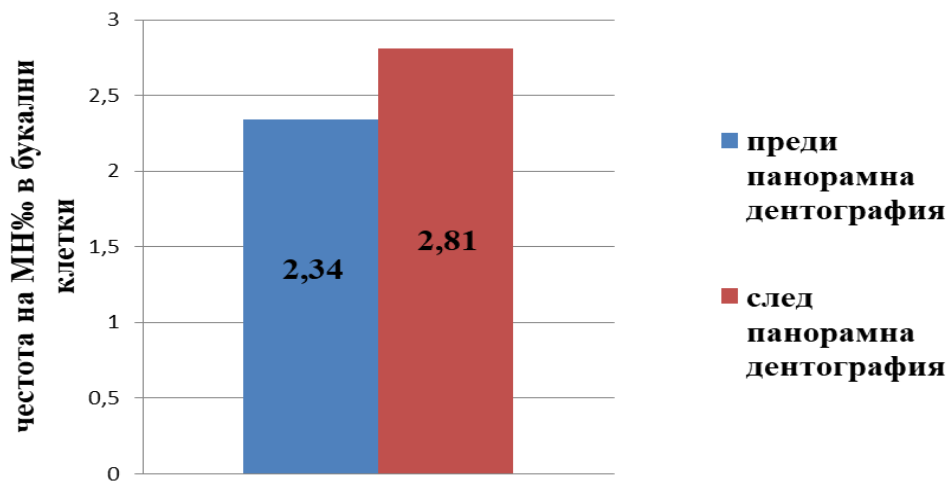
Средната честота на клетките с МН и на общия брой индуцирани МН е оценена и представена в таблица 1, заедно със стандартните отклонения и вариабилността на стойностите за отделните лица. Разпределението по показател клетки с МН в букална лигавица при лица подложени на панорамна рентгенография на зъби преди и след изследването е близко до нормалното ($p=0.826$, респективно $p=0.682$). Прилаганите статистически методи за анализ са параметрични.

Таблица 1. Нарастване честотата на МН след панорамното изследване

<i>вземане на проба</i>	<i>брой клетки</i>	<i>клетки с МН%±SD</i>	<i>общ брой МН%±SD*</i>
<i>1</i>	64000	2,34±1,49	2,4±1,55
<i>вариабилност</i>		0-6%	0-6,5%
<i>2</i>	64000	2,81±1,64	3,00±1,83
<i>вариабилност</i>		0-6%	0-7,5%

1 – преди изследването; 2 – след изследването; SD- стандартно отклонение

Разликата в съдържащите микроядра епителни клетки (фиг.2) преди и след панорамното рентгеново изследване няма статистическа достоверност ($t = 1,19$; $p > 0,05$).



Фигура 2. Нарастване честотата на МН в букални клетки след панорамна дентография.

Честотата на общия брой МН след панорамното рентгеново изследване също е съизмерима с тази преди диагностичното облъчване ($t = 1,40$; $p > 0,05$). Намерена е статистически достоверна положителна корелация на клетките с МН и общия брой МН с възрастта на лицата, преди панорамната дентография (корелационен коефициент на Pearson $r = 0,60$, $p < 0,01$ за клетки с МН $r = 0,63$, $p < 0,01$ за общ брой МН).

Средната честота на клетки с МН за мъже е оценена на $2,46 \pm 1,74\%$ преди и на $2,83 \pm 1,72\%$ след панорамната рентгенография, а за жени съответно на $2,28 \pm 1,36\%$ преди и $2,80 \pm 1,64\%$ след изследването. Не е намерена достоверна разлика по изследваните показатели между мъже и жени след проведен t-тест ($p > 0,05$).

Angelier et al, (2007) изследват генотоксичен и цитотоксичен ефект при деца, след панорамна рентгенография. Техните резултати също не показват статистически достоверно повишаване на букалните клетки съдържащи МН, но откриват значително повишение на клетките с дегенеративни изменения, асоциирани с клетъчна смърт. Други автори, например Ribeiro et al (2008), Agarwal et al (2015), също потвърждават тези резултати. Получените от нас, както и от други подобни проучвания данни предполагат, че панорамните рентгенографии, вероятно поради малката абсорбирана доза, не могат да индуцират мутагенни ефекти в клетките на лигавицата на устната кухина.

3.2. Цитогенетични ефекти в лимфоцити от периферна кръв на пациенти, подложени на контрастни рентгенови изследвания

В инвазивната образна диагностика, диагностичната информация се постига чрез въвеждане на йод съдържащо контрастно средство, под радиологичен контрол. Съществуват доказателства, че контрастното вещество би могло самостоятелно да индуцира генотоксичен ефект, а в комбинация с рентгенови лъчи може да повиши, радиационно индуцираният цитогенетичен ефект Norman et al (2001).

За определяне възможните ефекти от проведена контрастна ангиография е изследвана група от 51 лица преди и след диагностичната процедура. За някои от пациентите това е второ контрастно изследване в рамките на една година, а други за същия период време са били подложени на конвенционални рентгенови изследвания. От изследваните лица 21 са с бъбречна артериография (RAR), седем са с церебрална артериография (CAR) и останалите с коронарна артериография (CorAR). За 14 от пациентите с бъбречна артериография е оценена входяща кожна доза (мерна единица Gy), която варира от 0.03 до 0.30 Gy. Величината произведение керма-площ [ПКП] (мерна единица $Gyxcm^2$) е измервана за пациентите, подложени на сърдечни катетеризации. Стойността на ПКП е определяна индивидуално за всеки пациент и варира от 11 $Gyxcm^2$ до 60 $Gyxcm^2$. Всички пациенти с проведени сърдечни катетеризации са диагностицирани с исхемична болест на сърцето. За отчитане евентуалните ефекти от радиационното въздействие са използвани цитогенетични биомаркери ХА и МН в лимфоцити от периферна кръв.

Хромозомни аберации са анализирани при 46 пациенти, от които 20 с RAR, седем с CAR и останалите с CorAR.

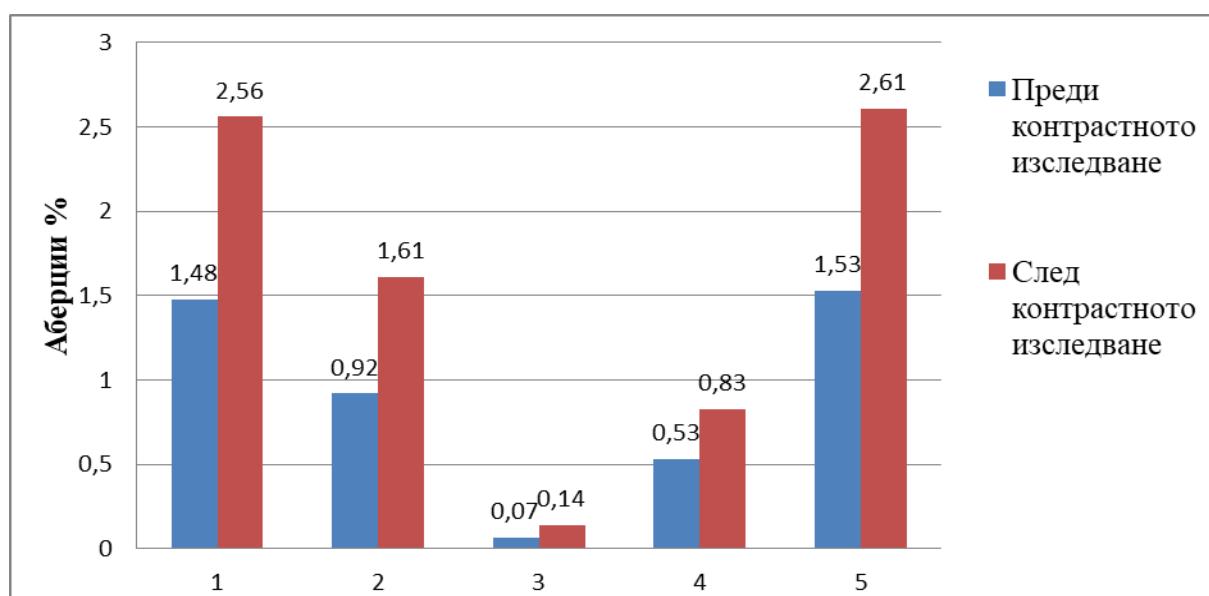
Таблица 2. Честота и разпределение на ХА% при пациенти с контрастни рентгенови изследвания

	<i>клетки с ХА</i> <i>%±SD</i>	<i>Хромозомни</i> <i>фрагменти</i> <i>%±SD</i>	<i>Дицентрици</i> <i>%±SD</i>	<i>Хроматидни</i> <i>фрагменти</i> <i>%±SD</i>	<i>общ брой</i> <i>ХА</i> <i>%±SD</i>
1	1.48±1.28	0,92±0,91	0,07±0,19	0,53±0,64	1.53±1.30
2	2.5±1.63	1,61±1,28	0,14±0,34	0,83±0,77	2,61±1,74

1 – преди изследването; 2 – след изследването

SD- стандартно отклонение

В таблица 2. е представена средната честота и разпределението на ХА% при изследваната група лица. Честотата на клетки с ХА% и на общия брой ХА със стандартно отклонение е определена на $1.48 \pm 1.28\%$, съответно $1.53 \pm 1.30\%$ в 7920 лимфоцити от периферна кръв на 46 пациенти преди медицинската процедура. Този показател нараства веднага след диагностичното облъчване (фиг. 3). Непосредствено след диагностичното облъчване честотата на клетки с ХА и на общия брой ХА е определена в 10600 лимфоцити на $2.56 \pm 1.63\%$ и $2.61 \pm 1.74\%$. Проведеният Манн-Whitney тест показва статистическа достоверност в нарастването на броя клетки с ХА, както и на общия брой ХА веднага след провеждане на медицинската процедура (и в двата случая $p=0.001$).



Фигура 3. Сравнително представяне на средната честота на изследваните показатели преди и след контрастна артериография: 1 - клетки с ХА; 2 - хромозомни фрагменти; 3 - дицентрици; 4 - хроматидни фрагменти; 5 - общ брой ХА

Наличие на дицентрични хромозоми след диагностичната процедура е установено при 9 от изследваните лица. За 5 от пациентите при които се откриват дицентрични хромозоми преди диагностичната процедура това е второ рентгеново изследване за година с изключение на един от тях, за когото липсват данни. Средната честота на дицентрици и стандартното отклонение е оценена на $0.07 \pm 0.19\%$ преди диагностичната процедура и нараства до $0.14 \pm 0.34\%$, това увеличение е статистически

значимо според проведения непараметричен Wilcoxon тест ($p < 0.05$) за две свързани извадки.

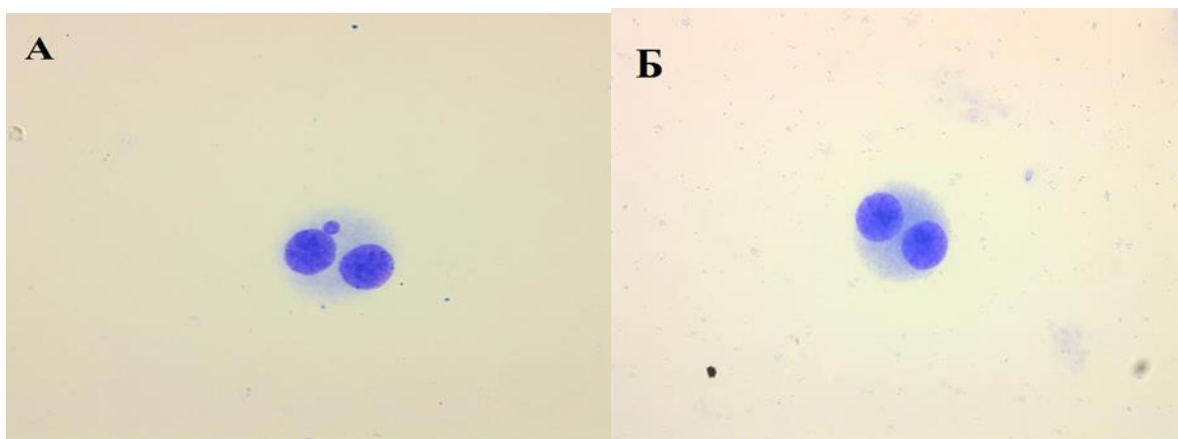
Изследваната група обхваща пациенти на възраст от 13 до 80 години (средно 51 г.). Коефициент на линейна корелация на Spearman не показва връзка между броя клетки с ХА и възрастта на изследваните лица ($r = 0.11$ и $p > 0.05$).

От изследваните по показател ХА пациенти, 33 лица имат данни за тютюнопушене, от тях 13 са пушачи. Не е установена връзка между фактора тютюнопушене и средната честота на клетки с аберации преди изследването, чрез прилагане на t-тест за независими извадки

В групата на пациентите подложени на бъбречна артериография средната честота на клетките с ХА непосредствено преди и веднага след контрастното рентгеново изследване е оценена съответно на 1.81% и 3.16%. Наблюдаваното повишение е статистически достоверно ($p = 0.01$). Не се наблюдава значимо нарастване в честотата на ХА при пациентите подложени на мозъчна артериография ($p > 0.05$). Честота на клетките с ХА при тези пациенти е оценена съответно на 1.14%, непосредствено преди и на 1.24%, веднага след контрастното рентгеново изследване.

Средната честота на клетките с ХА и на общия брой ХА със стандартното отклонение при пациентите подложени на коронарна артериография е определена на $1.27\% \pm 1.44\%$, съответно на $1.33\% \pm 1.47\%$. Тя нараства достоверно след провеждане на контрастното изследване до $2.16\% \pm 1.84\%$ ($p < 0.01$) и $2.24\% \pm 1.94\%$ ($p < 0.05$).

Формирането на микроядра (фиг.4) е оценено при 30 лица от изследваната група. Честотата и разпределението на МН, определени за всяко изследвано лице преди и след контрастното рентгеново изследване са представени на таблица 3.



Фигура 4. Бинуклеарен лимфоцит: А – с МН в цитоплазмата; Б – без отклонения

Таблица 3. Средна честота на МН

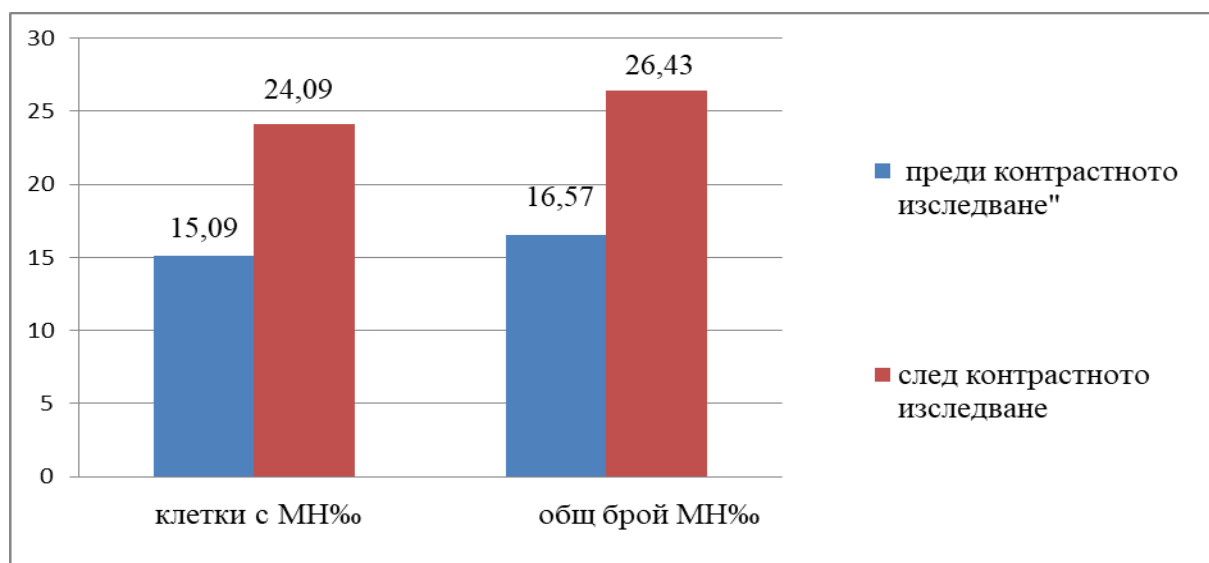
<i>1</i>	<i>Брой отчетени</i>	<i>клетки с</i>	<i>общ брой</i>
<i>2</i>	<i>клетки</i>	<i>МН%±SD</i>	<i>МН%±SD</i>
1	44000	15.09± 10.27	16.57± 10.99
2	44000	24.09±17.02	26.43±18.85

1 – преди изследването;

2 – след изследването

SD- стандартно отклонение

Приложеният непараметричен Mann-Whitney тест показва статистически достоверна разлика по показатели клетки с МН и общ брой МН, оценени преди и непосредствено след провеждане на диагностичната процедура ($p < 0.05$) за двата показателя. Нарастването на честотата на клетки с МН и общ брой МН при пациентите след провеждане на диагностичната процедура е представено на фигура 5.



Фигура 5. Сравнително представяне на средната честота на МН преди и след контрастна артериография

Честотата на клетките с МН при различните пациенти варира от 5% до 41% преди и от 5.5% до 55% след ангиографското изследване, Възрастта при изследваните пациенти варира от 28 до 74 години със средна възраст от 55 години. Връзката между честотата на клетките с микроядра и общия брой МН с възрастта на изследваната група бе тествана с непараметричен корелационен анализ на Spearman. Не бе открита статистически достоверна корелация преди контрастното изследване (корелационен

коэффициент на Spearman $r=0.153$, $p>0.05$ за клетки с МН; $r=0.189$, $p>0.05$ за общ брой МН).

При четири пациента с бъбречна артериография базовата честота на клетки с МН в бинуклеарни лимфоцити е оценена на $9.38\pm 3.30\%$ и нараства до $11.13\pm 4.23\%$ след процедурата. За шестима пациенти с мозъчна артериография базовата честота на клетки с МН е оценена на $9.58\pm 4.52\%$ и нараства до $13.42\pm 5.61\%$. Двадесет от пациентите са претърпели сърдечна катетеризация. Честотата на клетки с МН в бинуклеарни лимфоцити за тези пациенти е оценена на $19.75\pm 10.57\%$ преди процедурата. За общия брой МН е оценена на $21.54\pm 11.94\%$. След медицинската процедура показателите нарастват достоверно до $33.67\pm 15.31\%$ за честотата на клетки с МН и до $36.62\pm 17.03\%$ респективно за общ брой МН.

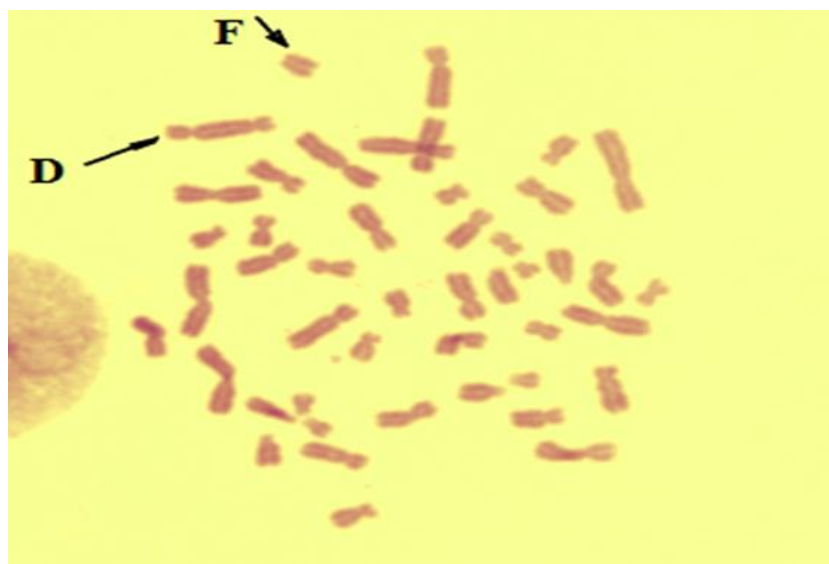
От 30 анализирани по честота на микроядра пациенти, 22 са попълнили графа тютюнопушене в анкетната карта, като 11 от тях са пушачи. Непараметричният Mann-Whitney тест не показва статистически достоверна разлика между пушачи и непушачи за клетки с МН, оценени преди провеждане на диагностичната процедура ($p>0.05$).

3.3. Цитогенетично изследване на пациенти с диференциран тиреоиден карцином, подложени на РАЙ или РАТ след тотална тиреоидектомия

При лъчелечение на карцином на щитовидната жлеза се прилага ^{131}I , радионуклид, който е β/γ емитер с период на полуразпад 8 дни. Попаднал в човешкия организъм, има свойството да се натрупва в щитовидната жлеза. Цитогенетични алтерации след терапия с радиоактивен йод са описани след прилагането на тест за ХА, микронуклеарен тест, Gutierrez et al (1999), Gil, et al.(2000) (фиг.6.). Литературни данни показват, че съществува риск, макар и оценен като нисък, за развитие на втори първичен рак при пациенти с тиреоиден карцином, лекувани с радиоактивен йод, Sawka et al (2009).

Честотата и разпределението на ХА и МН са изследвани в бинуклеарни лимфоцити от периферна кръв на 26 пациенти с диференциран карцином на щитовидната жлеза (DTC) след радикална тиреоидектомия. Всички пациенти са подложени на терапия с ^{131}I , като количеството администрирана активност варира от 3 330 до 4 030 MBq в зависимост от вида на терапията. Девет от пациентите са подложени на радиоiod аблация (РАЙ), а останалите на радиоiod терапия (РАТ)

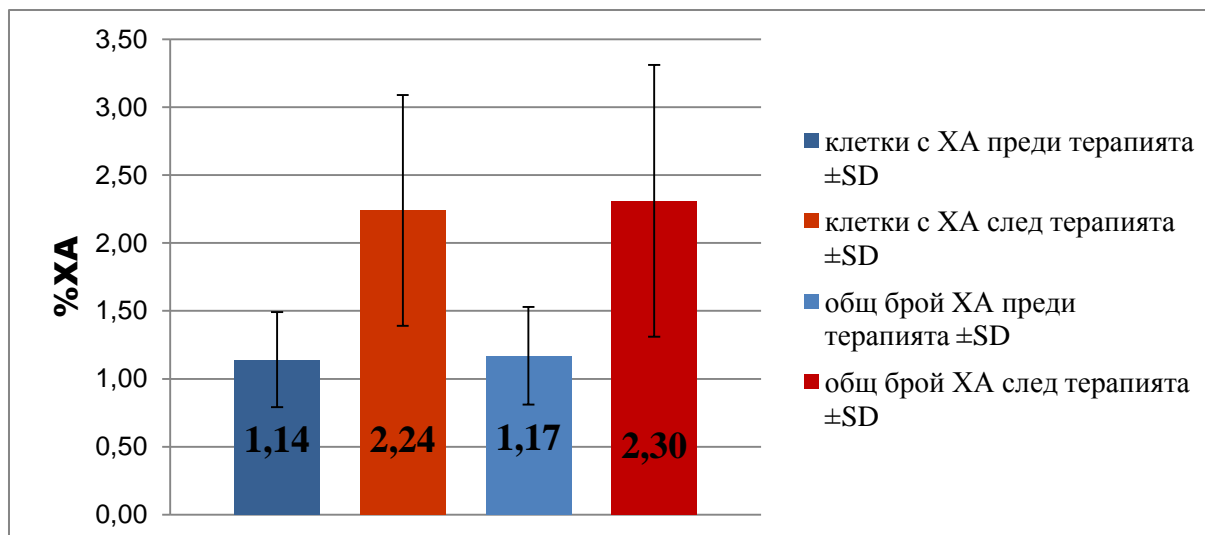
Радиоiod аблацията (РАЙ) и радиоiod терапията (РАТ), след радикална тиреоидектомия, осезаемо повишават дългосрочната преживяемост както за пациенти с ниско рисков, така и за пациенти с високо рисков диференциран тиреоиден карцином (DTC), Hadjieva (2001). Изследванията са проведени непосредствено преди и един месец след терапията при рутинните клинични изследвания.



Фигура 6. Метафазна пластинка на лимфоцит: с дицентрик (D) и ацентричен фрагмент (F)

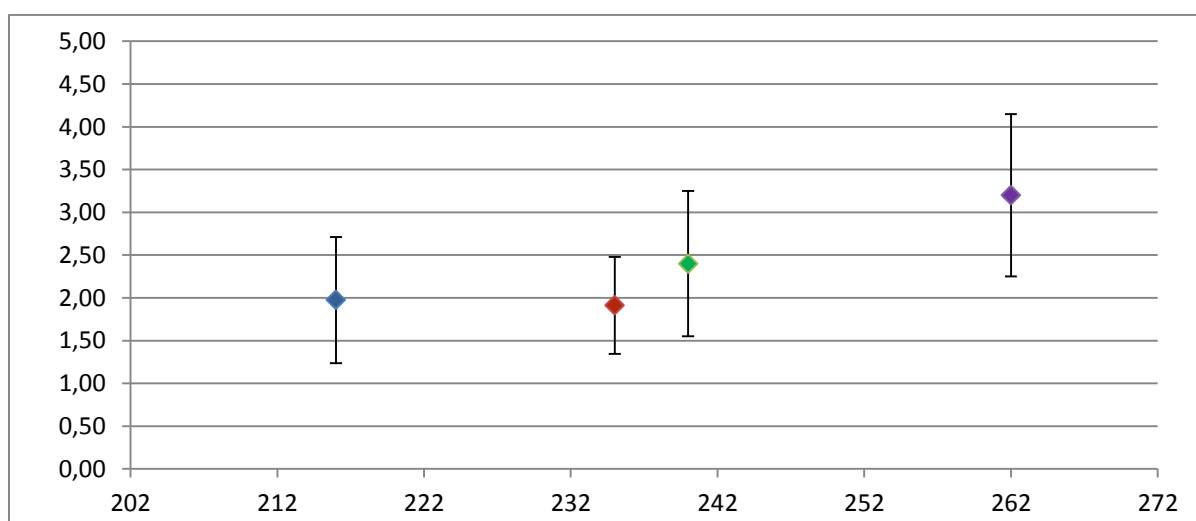
Средната честота на клетките с ХА и общия брой ХА преди терапията с ^{131}I \pm стандартното отклонение е $1,14 \pm 0,35\%$, респективно $1,17 \pm 0,36\%$ (фигура 7.), като индивидуалната честота на клетките с ХА и общо ХА при отделните пациенти варира между $0,6\%$ и $2,0\%$. Честотата на клетките с ХА и общия брой ХА в лимфоцити след лъчелечението нараства до $2,24 \pm 0,85\%$ и $2,30 \pm 0,87\%$ съответно. Тези стойности, сравнени с измерените преди терапията показват статистически достоверно повишение ($t=-8,833$; $p < 0,001$), като вътреиндивидуална вариабилност откриваме и след терапията с ^{131}I в граници от $1,0\%$ до $4,4\%$. Не се доказва статистически значимо влияние на възрастта, пола и тютюнопушенето, върху първоначалната честотата на изследваните цитогенетични биомаркери при пациенти с DTC.

Честотата на нестабилни хромозомни аберации, дицентрици, е оценена на $0,03\%$, а на хромозомни фрагменти на $0,58\%$ преди терапията и показват статистически достоверно повишение ($p < 0,01$; $p < 0,001$, респективно), един месец след третиране на пациентите с ^{131}I . Честотата на дицентрици е оценена на $0,11\%$, а на хромозомни фрагменти на $1,18\%$ след терапията.



Фигура 7. Средна стойност на хромозомни аберации в периферни лимфоцити при пациенти преди и след терапия с I^{131}

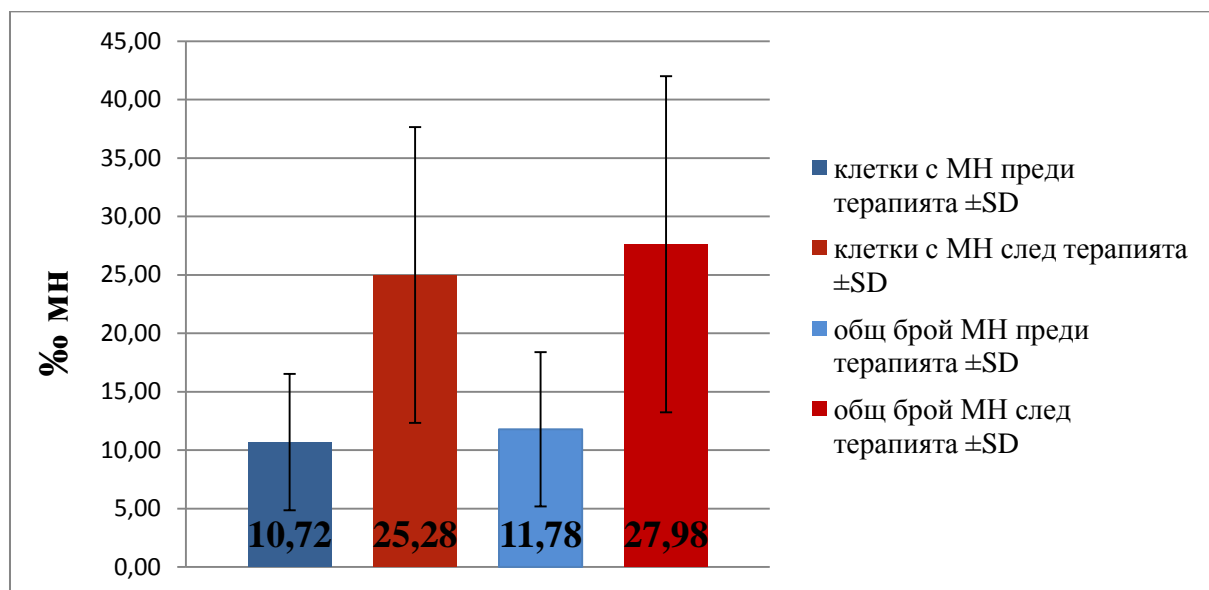
Метаболитният модел на Смит и Едмондс (1984) е приложен за оценка на получената доза от терапията с I^{131} . Този подход дава възможност за калкулиране на дозата за различни таргетни органи - червен костен мозък, пикочен мехур, гърди, гонади, черен дроб, бял дроб, слюнчени жлези, цяло тяло. За оценка на връзката доза-ефект при нашето изследване е взета под внимание целотелесната доза (фиг.8). Открива се умерена зависимост между получената целотелесна доза, която варира от 216 mGy до 262 mGy и нарастването на честотата на клетките с ХА в лимфоцити от периферна кръв за изследваната група лица (фиг 8.). Приложеният параметричен корелационен коефициент на Pearson $r=0.51$, показва статистическа достоверност $p=0,01$.



Фигура 8. Средна честота на клетки с ХА според получената целотелесна доза

Открита е статистически достоверна разлика ($p < 0.01$) в честотата на клетки с ХА и общия брой ХА, оценени след лъчелечението, между пациентите за които терапията е втора в рамките на 1 година и тези за които това е първа лъчетерапия. При пациенти за които терапията е втора в рамките на една година, честотата на клетки с ХА е определена на 3.2%, а честотата на общия брой ХА, съответно на 3.24% след лечението. За останалите пациенти тези показатели са оценени съответно на 1.99% и на 2.06%.

За 26 от пациентите подложени на лечение с радиоактивен йод, е определена честотата и разпределението на МН преди и след терапията. Средната честота на бинуклеарни лимфоцити с МН и общия брой МН преди терапията с $^{131}\text{I} \pm$ стандартното отклонение е $10.72 \pm 5.84\%$, респективно $11.78 \pm 6.41\%$ (фигура 9.). Индивидуалната честота на общият брой МН при отделните пациенти варира между 2% и 30.5%.

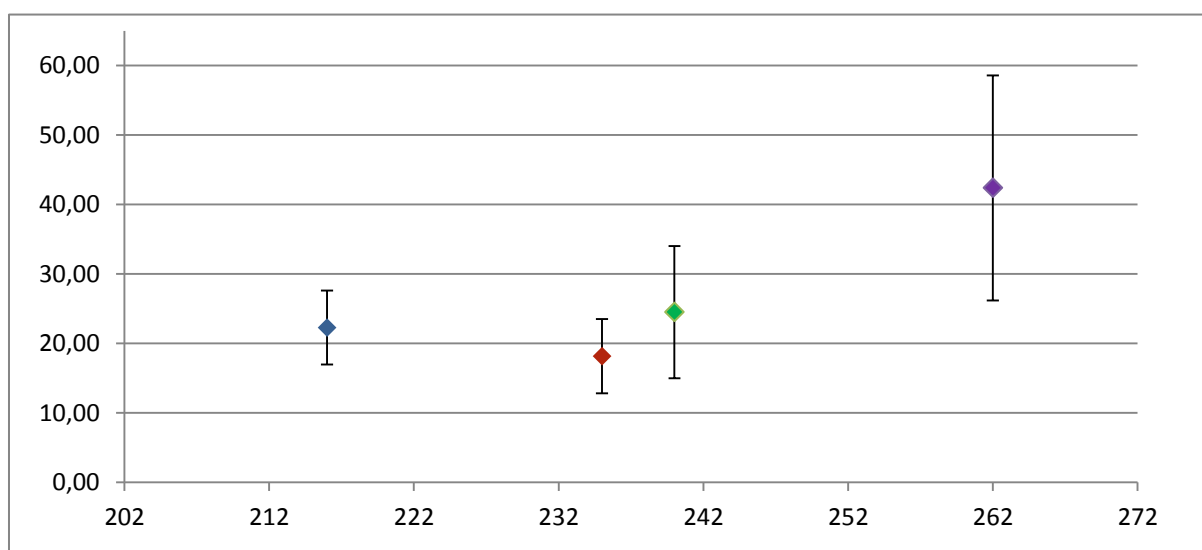


Фигура 9. Средни стойности на микронуклеуси % преди и след терапия с ^{131}I

Spearman's корелационен коефициент показва умерена корелация на двата оценени показателя с възрастта на пациентите ($r=0.39$ и $r=0.44$, $p < 0.05$). Не откриваме такава зависимост по отношение на тютюнопушене. Честотата на клетките с МН и общия брой МН след лъчелечението нараства до $25.28 \pm 12.66\%$ и $27.98 \pm 14.39\%$ съответно. Непараметричният тест на Mann-Whitney показва, че тези стойности, сравнени с измерените преди терапията имат статистически достоверно повишение ($p < 0,001$), като вътреиндивидуална вариабилност откриваме и след терапията с ^{131}I в

граница от 8,5‰ до 61‰. След приложеното лечение възрастовата зависимост се запазва за клетки с МН $r=0.48$, $p<0.05$ и за общия брой МН $r=0.53$ и $p<0.01$.

Непараметричният Spearman's корелационен коефициент показва умерена зависимост между оценената целотелесна доза и нарастването на честотата на клетките с МН в бинуклеарни лимфоцити от периферна кръв за изследваната група лица (фиг. 10). Spearman's корелационен коефициент е оценен на $r=0.4$ като повишението е статистически достоверно ($p=0.05$).



Фигура 10. Средна честота на клетки с МН‰ според получената целотелесна доза

Открита е статистически достоверна разлика ($p<0.05$) в честотата на клетки с МН и общия брой МН, оценени след лъчелечението, между пациентите за които терапията е втора в рамките на 1 година и тези за които това е първа лъчетерапия. При пациенти, за които терапията е втора в рамките на една година, честотата на клетки с МН е определена на 42.4‰, а честотата на общия брой МН, съответно на 47.2‰ след лечението. За останалите пациенти тези показатели са оценени съответно на 20.83‰ и на 22.97‰.

3.4. Сравнение на спонтанно индуцирани ХА и МН с началната им честота при пациенти, подложени на медицинско облъчване.

За оценка на възможните генотоксични ефекти от въздействието на различни вредни фактори от околната среда върху човека са необходими данни за изходната,

спонтанна честота на наблюдаваните увреждания. За изследване честотата на спонтанно индуцирани ХА и МН в периферни лимфоцити и МН в букална лигавица са изследвани 209 здрави донори, които до момента на изследването не са били професионално изложени на действието на ЙЛ и други вредни фактори. В групата няма лица, подлагани на химио- и лъчетерапия, или провеждали рентгенова диагностика в рамките на 3 месеца преди вземане на кръв за изследването.

Анализ на спонтанно индуцираните ХА е проведен на 140 лица от българската популация на възраст от 19 до 66 години (средна стойност 41 г.). Честотата и варирането на ХА са представени в таблица 4., заедно с данни за пол, възраст и тютюнопушене. Тъй като тестът Kolmogorov-Smirnov показва, че честотата на клетките с аберации и общия брой аберации нямат нормално разпределение, са използвани непараметрични статистически методи ($p < 0,001$ и за двата показателя).

Таблица 4. Спонтанна честота на хромозомни аберации при здрави лица от Българската популация

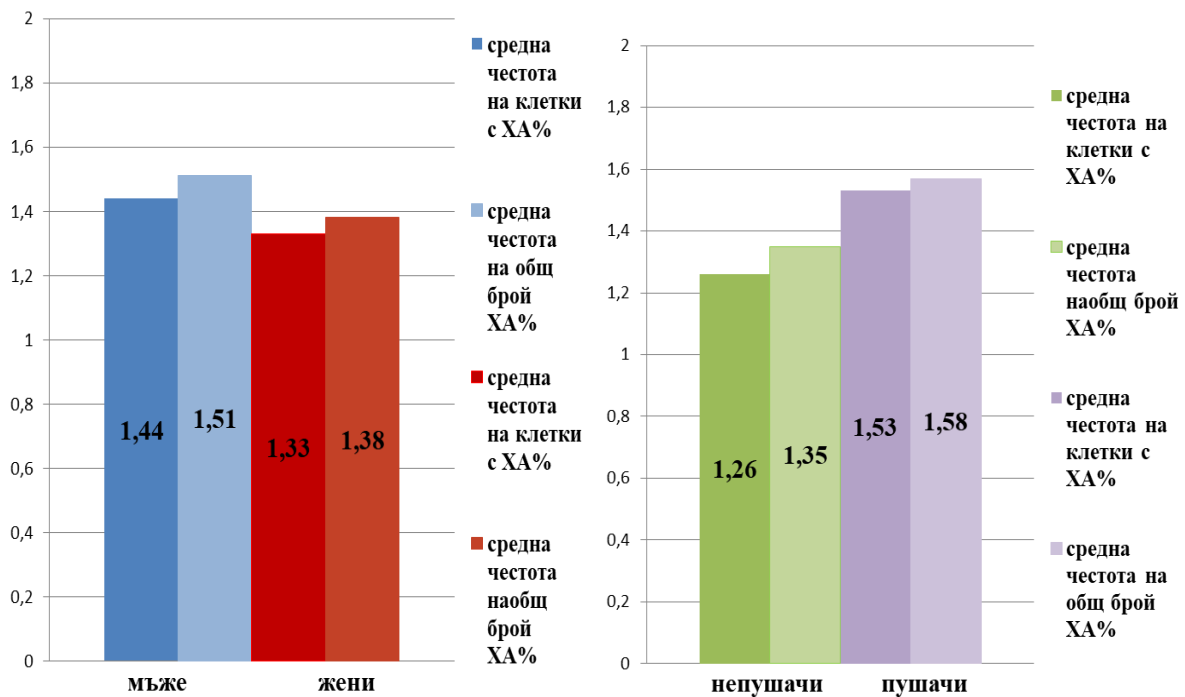
<i>брой клетки</i>	<i>клетки с ХА%±*</i>	<i>хромозомни фрагменти %±*</i>	<i>дицентрици и пръстени %±*</i>	<i>хроматидни фрагменти %±*</i>	<i>общ брой ХА%±*</i>
51062	1,41±0,95	0,93±0,76	0,03±0,09	0,46±0,49	1,48±1,03
<i>вариабилност</i>	0-5%	0-4%	0-0.5%	0-2.2%	0-5.8%

±* стандартно отклонение

В групата 105 от изследваните лица са мъже, а 35 са жени. Не е установена статистически значима разлика (фиг.11) след прилагане на Mann-Withney теста по показател честота на клетки с хромозомни аберации между мъже и жени ($p > 0.05$). Същата не се открива между половете и по другите изследвани показатели ($p > 0.05$) за дицентрици, хромозомни и хроматидни фрагменти и общ брой ХА.

В попълвания за всяко от изследваните лица въпросник, 80 човека са отговорили положително по отношение на тютюнопушенето. Двама от интервюираните мъже не са предоставили данни. Няма достоверна разлика в броя на клетките с ХА в двете дефинирани подгрупи – непушачи и пушачи (фиг 11) след прилагане на Mann-Withney

непараметричен тест ($p > 0.05$). Kruskal-Wallis тестът приложен за влиянието на броя изпушени дневно цигари не показва значимост ($p > 0.05$).



Фигура 11. Сравнително представяне на спонтанно индуцираните ХА в зависимост от пола и в зависимост от тютюнопушенето

Непараметричният коефициент на линейна корелация на Spearman не показва корелация между честотата на аберантните клетки и възрастта в изследваната група лица. ($r = -0.093$, $p > 0.05$).

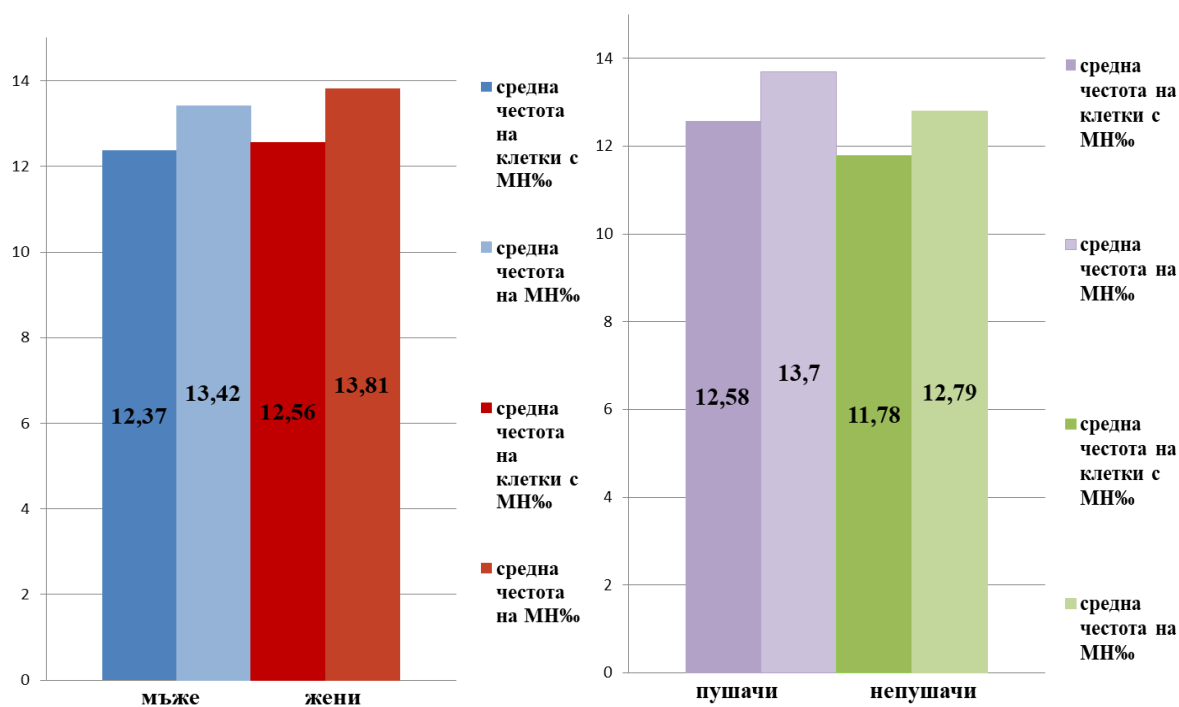
Формациите от МН в бинуклеарни лимфоцити са оценени при 124 възрастни лица между 19 и 66 години (средна стойност 40,5 г.). Средната честота на клетките с МН и техният общ брой, както и стандартните отклонения и вариабилност са отчетени в 234000 бинуклеарни лимфоцити (табл.5.). Честотата на отчетените микроядра отнесени към броя анализирани клетки е определена на 0.0135 МН/клетка. Тестът Kolmogorov-Smirnov показва, че изследваните цитогенетични показатели клетки с МН и общ брой МН в бинуклеарни лимфоцити имат разпределение близко до нормалното ($p = 0.323$, респективно $p = 0.195$), което позволява прилагането на параметрични методи за статистическа обработка. При корелационен анализ е прилаган коефициента на корелация на Pearson.

Таблица 5. Средна честота на МН при 124 здрави лица от българската популация

<i>Брой отчетени клетки</i>	<i>клетки с МН‰±*</i>	<i>общ брой МН‰±*</i>
234000	12.43 ± 6.49	13.53± 7.22
<i>вариабилност</i>	1-31‰	1-35‰

*± стандартно отклонение

Средните стойности за показателя клетки с МН са оценени при 86 мъже и за 38 жени (фиг.12), като не е намерена статистически достоверна разлика по този показател между двете изследвани групи ($p>0.05$).



Фигура 12. Сравнително представяне на спонтанно индуцираните МН в зависимост от пола и в зависимост от тютюнопушенето

Също така не беше открита корелация между броя клетки с МН и възрастта на изследваните лица (коефициент на линейна корелация на Pearson показва стойност $r=0,14$ и $p>0.05$).

В групата от 124 здрави донори 16 жени и 60 мъже са отговорили положително на фактор тютюнопушене. Двама мъже не са дали информация по отношение на този фактор. За 76 пушачи е определена средна стойност на общия брой МН 13.70‰, а за

клетки с МН 12.58‰. За 46 непущачи тези стойности са съответно 11.78‰ и 12.79‰. Няма достоверна разлика между пушачи и непущачи по тези показатели ($p>0.05$).

В групата на пушачите се наблюдава по-висока честотата на МН и на клетки с МН при жени -14.47‰, респективно 13.27‰ в сравнение с мъже - 13.50‰ и 12.40‰, като разликата не е достоверна ($p>0.05$). Същата тенденция без статистическа значимост ($p>0.05$) се наблюдава и в групата на непущачите, като честотата на МН и клетки с МН при 22 жени е оценена на 13.29‰ и 12.00‰, а при 24 мъже на 12.43‰ и 11.61‰

Изследвано бе влиянието на изпушените дневно цигари върху броя клетки с формирани микроядра и общия брой МН. Проведеният анализ не показва достоверност в разликите при групите пушачи (до 10, до 20 и над 20 цигари дневно) и непущачи ($p>0.05$ и за двата показателя).

Сравнителното разглеждане по показател хромозомни аберации (табл.6) обединява данните от честотата на ХА на 140 здрави лица, 24 пациенти с диференциран тиреоиден карцином (DTC) преди лъчетерапията и на 46 пациенти, с проведени контрастни изследвания по медицински показания, преди диагностичната процедура.

Таблица 6. Честота на ХА и тяхната вариабилност при здрави лица и пациенти, облъчени по медицински показания.

	<i>брой клетки</i>	<i>клетки с ХА%±SD</i>	<i>дицентрици и пръстени%±SD</i>	<i>общ брой ХА%±SD</i>
зdravi лица	51062	1.41±0.95	0.03±0.09	1.48±1.03
	<i>Вариабилност %</i>	0-5	0-0.5	0-5.8
пациенти с	7920	1.48±1.28	0,07±0,19	1.53±1.30
контрастни изследвания	<i>Вариабилност %</i>	0-5	0-1	0-5
пациенти с	12000	1.14±0.35	0.03±0.08	1.17±0.36
DTC	<i>Вариабилност %</i>	0.6-2	0-0.2	0.6-2

±SD стандартно отклонение

Получените данни нямат нормално разпределение. При сравнението са използвани непараметрични статистически методи, като клетките с ХА и общия брой

ХА, анализирани при здрави лица и при пациенти преди контрастната процедура, не показват статистически достоверни разлики. За здрави лица честотата на клетки с ХА е оценена на 1.41%, а изходното ниво за пациенти е оценено на 1.48%. Дицентриците при пациенти са оценени на 0.07% и също не показват статистически достоверна разлика със спонтанното ниво. За 5 от пациентите при които се откриват дицентрични хромозоми преди диагностичната процедура това е второ рентгеново изследване за година с изключение на един от тях, за когото липсват данни.

Резултатите се потвърждават и при сравняването на показателите за всяка отделна контрастна процедура по отделно. Нивото на значимост е $p > 0.05$, след прилагане на непараметричния Mann-Whitney тест. Клетките с $ХА \pm SD\%$ при 20 пациентите с бъбречна артериография са оценени на $1.81 \pm 1.28\%$, за 7 пациенти с мозъчна артериография на $1.14 \pm 0.48\%$ и за 19 с коронарографии на $1.27 \pm 1.44\%$.

При сравняване изходното ниво на ХА, анализирани при здрави лица и при пациенти преди терапията с ^{131}I , не се откриват статистически достоверни разлики. За всички показатели нивото на значимост $p > 0.05$, след прилагане на непараметричния Mann-Whitney тест. За пациентите при които има проведена предишна терапия с радиоактивен йод са оценени съответно клетки с ХА 1.32%, хромозомни фрагменти 0.72%, дицентрици 0.04% и общ брой аберации 1,36%. Няма значими разлики когато сравняваме със същите показатели при здрави лица ($p > 0.05$).

За МН резултатите от изследването на 124 здрави лица и пациентите по групи, според изследването са представени в таблица 7. При сравняване на стойностите за клетки с МН и общ брой микронуклеуси между здрави лица и пациенти преди диагностичната контрастна процедура се наблюдава статистически значима разлика ($p < 0.05$) след прилагане на непараметричния Mann-Whitney тест. При разделяне на пациентите по процедури достоверна разлика със спонтанното ниво показват само пациентите с проведена сърдечна коронарография. Подобни резултати са докладвани при изследване на пациенти със заболяване на коронарните артерии от Botto et al (2001). Те откриват и достоверна положителна зависимост между тежестта на заболяването и честотата на МН.

Таблица 7. Честота на МН и тяхната вариабилност при здрави лица и пациенти, облъчени по медицински показания.

	Брой отчетени клетки	клетки с МН%\pm*	общ брой МН%\pm*
зdravi лица	234000	12.43 \pm 6.49	13.53 \pm 7.22
	вариабилност%	1-31	1-35
пациенти с контрастни изследвания	44000	15.09 \pm 10.27	16.57 \pm 10.99
	вариабилност%	5-41	5-43
пациенти с DTC	50000	10.72 \pm 5.84	11.78 \pm 6.41
	вариабилност%	2-30.5	2-32

\pm * стандартно отклонение

При сравняване на стойностите за клетки с МН и общ брой микронуклеуси между здрави лица и пациенти с ДТС преди лъчелечението не е доказана статистически значима разлика ($p > 0.05$) след прилагане на непараметричния Mann-Whitney тест. За пациентите при които има проведена предишна терапия с радиоактивен йод, клетките с МН са оценени на 13,4%, а общия брой МН на 14,9%. За тези резултати също не е доказана достоверна разлика със същите при здрави лица.

3.5. Микронуклеуси в ексфолиантни клетки от букална лигавица

Клетките на букалната мукоза са различен от периферните лимфоцити модел за цитогенетични изследвания, тъй като са силно пролиферативни и са част от групата на епителните клетки, която е източник на повече от 90% от всички ракови заболявания при човека, Rosin (1992). МН тестът в ексфолиантни букални клетки е минимално инвазивен метод, приложим за мониторинг на генетични увреждания, като механизмът на формиране на микроядрата е идентичен с този при периферните лимфоцити. Може да се приеме, че оралната мукоза е вероятната целева тъкан за определяне на ранни генотоксични събития, индуцирани от карциногени, постъпили чрез инхалиране или поглъщане, Holland et al (2008). За да се осъществи коректна оценка на изследваните

ефекти е необходимо наличието на достоверна информация за спонтанната честота, както и за действието на различни фактори, които им оказват влияние. Ревю на Serri et al (2010), обобавящо резултати от 63 проучвания върху честотата на МН в букална лигавица показва, че средните стойности на оценената спонтанна честота в тях варира от 0.10 до 11.5 на 1000 отчетени клетки. За оценка на спонтанното ниво на микроядра в здрави донори, микронуклеарен тест е приложен в епителни клетки от устната кухина на 50 здрави лица, от които 21 мъже и 29 жени. Възрастта в изследваната група варира между 24 и 73 години, средно 48.8 години. Резултатите за букална лигавица са отчетени в 86254 епителни клетки. Средната честота на клетките с МН и на общия брой индуцирани МН е оценена и представена в таблица 8., заедно със стандартните отклонения и вариабилността на стойностите за отделните лица. Честотата на клетки от букална лигавица с МН при изследваните лица варира от 0 до 13.5% на 1000 изследвани клетки. Повечето клетки съдържат само по 1 МН. Само в 5 от случаите се установява наличие на клетки с 2 микроядра, което е в съответствие с докладваното от други автори разпределение, Nefic and Handzic (2013).

Таблица 8. Средна честота на МН в букални клетки

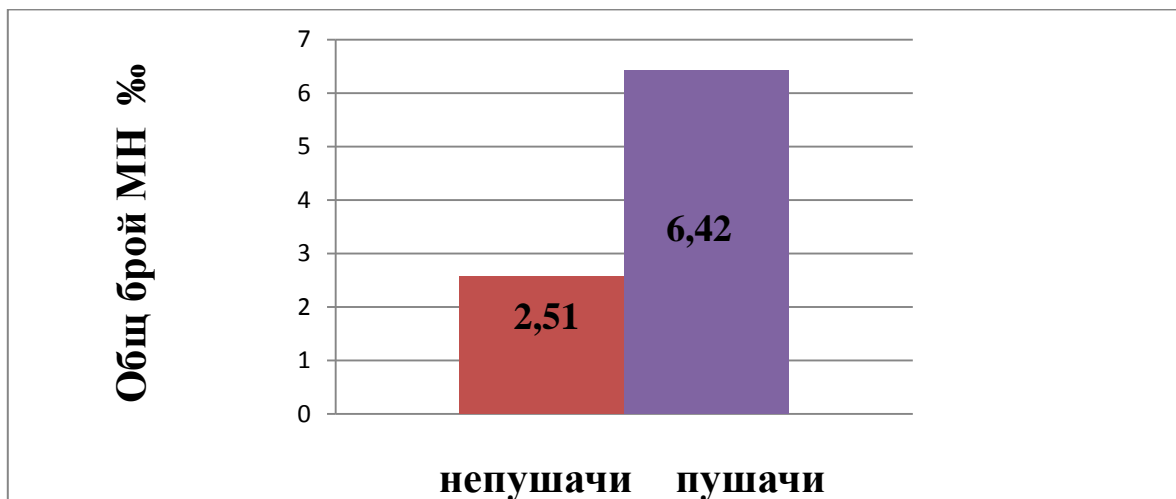
<i>Брой отчетени клетки</i>	<i>клетки с МН‰±*</i>	<i>общ брой МН‰±*</i>
86254	3.34± 2.85	3.39± 2.87
<i>вариабилност</i>	0-13.5‰	0-13.5‰

± SD стандартно отклонение

Тестът Kolmogorov-Smirnov с корекция за значимост Liliefors показва, че показателите клетки с МН и общ брой МН в букална лигавица нямат нормално разпределение ($p < 0.001$). Приложените методи за статистическа обработка на данните са непараметрични.

Оралният рак засяга 274 000 души в световен мащаб годишно, а честотата на рак на устната кухина в света често е показателна за употреба на тютюневи изделия, DeMarini (2004), IARC (2003). Установено е, че съществува зависимост доза-ефект между количеството на използваните тютюневи продукти и развитието на рак на устната кухина, Taubos (2003). Всички части на устната кухина са податливи на канцерогенния ефект от употребата на тютюневи изделия, Silverman (2003). Епителните букални клетки са алтернатива за пряко наблюдение на ефекта от токсични експозиции,

като тютюнопушенето, защото лигавицата на устната кухина е в пряк контакт с компонентите на цигарения дим. Проведеният статистически анализ за установяване на зависимост между изследваните показатели и тютюнопушене показва достоверно влияние на този фактор върху броя отчетени клетки с МН и общия брой МН $p < 0.01$.



Фигура 13. Сравняване на средната честота на общия брой МН% в букални клетки при пушачи и непушачи.

Приложен е регресионен анализ за определяне зависимостта на броя клетки с МН и общия брой МН от възрастта, като донорите са обособени в две групи, пушачи (9 мъже и 4 жени) и непушачи (12 мъже и 25 жени), за да се избегне значителното влияние на фактора тютюнопушене. Корелационният коефициент на Spearman е оценен на $r = 0.51$, с $p = 0.001$ за групата на непушачите. Mann-Withney теста за сравняване на две независими извадки не показва достоверна разлика в броя на букалните клетки с микроядра между половете ($p > 0.05$). В групата на пушачите не се установява статистически достоверна зависимост от възрастта ($r = 0.23$, а $p > 0.05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящата работа е проведено изследване върху ефектите от медицинско облъчване с различен принос в лъчевото натоварване на пациентите. За определяне ефекта от панорамни зъбни снимки бе приложен микронуклеус тест в ексфолиантни клетки от лигавицата на устната кухина. От проведеното изследване би могло да се заключи, че йонизиращото лъчение при панорамна радиография не предизвиква статистически значимо увеличаване на броя микроядра в анализирани букални клетки на целевата тъкан. Не е установено повишение в честотата на МН в букалните клетки след рентгеновото изследване, в сравнение с честотата преди диагностичното облъчване. Малката доза погълната радиация може да бъде причина за отрицателните резултати. Независимо от незначителното повишение в честотата на МН в букалните клетки след рентгеновото изследване, не трябва да се изключва възможен цитотоксичен ефект на ЙЛ, въпреки ниското дозово натоварване при зъбните панорамни рентгенографии. Следователно стоматологичните процедури, включващи рентгеново лъчение, трябва да се предписват само когато се считат за необходими.

За определяне ефекта от диагностичното облъчване при контрастни рентгенови изследвания са приложени цитогенетични методи – анализ на ХА и МН тест в периферни лимфоцити. Резултатите от настоящото проучване показват повишена честота на хромозомни аберации и МН в лимфоцити на пациенти, при които е проведено контрастно ангиографско изследване. Установеното достоверно повишение в честотата на ХА в лимфоцити от периферна кръв се отнася за пациенти с проведена бъбречна и коронарна ангиография. За пациентите с мозъчна ангиография повишението няма статистическа значимост.

Резултатите от нашето проучване върху генотоксичния ефект от радиойодаблацията и радиойодтерапията на тиреоиден карцином показват, че хромозомното увреждане, установено след прилагане на тест за хромозомни аберации и микроядра в периферни лимфоцити, при пациенти с DTC, е достоверно повишено един месец след лечението с ^{131}I , в сравнение с това преди лъчетерапията. Хромозомното увреждане може да бъде инициращо събитие, водещо до вторична канцерогенеза. Откриваме статистически достоверна разлика в честотата ХА и МН, оценени след лъчелечението, между пациентите за които терапията е втора в рамките на 1 година и тези за които това е първа лъчетерапия. Дългосрочно изследване по цитогенетични показатели на голям брой пациенти с DTC, лекувани един или повече пъти с ^{131}I , може

допълнително да покаже значението на хромозомното увреждане като предиктивно за вторична карциногенеза.

При сравняване честотата на изследваните цитогенетични показатели, при пациенти преди провеждане на медицинското облъчване, със спонтанната, нашето изследване показва, че честотата на ХА в периферни лимфоцити на пациенти преди рентгеновата диагностика или лъчетерапията е съизмерима със същите показатели, оценени в здрави лица. Значителна разлика в началната честота на микроядра беше установена при пациенти с исхемична болест на сърцето, на които е проведена сърдечна катетеризация, в сравнение с определеното спонтанно ниво. Някои автори намират връзка между хипертензията и повишения риск от ракови заболявания. За останалите изследвани пациенти преди медицинската процедура не се доказва разлика с определената в здрави лица спонтанната честота на микроядра.

Анализът на МН в букални клетки при здрави лица показва, че те са подходящ биомаркер за определяне на генотоксичен ефект, тъй като букалната лигавица е целева тъкан за въздействието на карциногени, постъпили чрез инхалиране или поглъщане. Тютюнопушенето е мощен фактор, влияещ върху честотата на МН в букални клетки, която е достоверно по-висока при пушачи, в сравнение с непушачи. При елиминиране на фактора тютюнопушене, честотата на МН в тази клетъчна система е в право пропорционална, статистически достоверна зависимост от възрастта на изследваните лица.

ИЗВОДИ

1. При панорамна рентгенография на зъби не се установява генотоксичен ефект в епителни клетки от букална лигавица при здрави лица. Не се наблюдава повишение в честотата на микроядра в букалните клетки при изследваната група, след диагностичното облъчване .
2. Установено е повишение в честотата на ХА и МН в лимфоцити от периферна кръв на пациенти, след контрастно рентгеново изследване. Разликата е статистически значима при пациенти с проведена бъбречна и коронарна артериография, по показател ХА.
3. Установено е, че след лъчелечение с радиоактивен йод, при което калкулираната целотелесна доза е в диапазона от 216 mGy до 262 mGy, се наблюдава достоверно повишение в честотата на ХА и МН в лимфоцити от периферна кръв на пациенти с ДТС, което корелира с дозата. По литературни данни, хромозомното увреждане може да бъде инициращо събитие, водещо до вторична канцерогенеза.
4. Установена е значителна разлика в честотата на микроядра при пациенти преди провеждане на сърдечна катетеризация, в сравнение с определеното спонтанно ниво. За всички останали пациенти не се доказва разлика в честотата на изследваните биомаркери, сравнени със спонтанната честота.

ПРИНОСИ

НАУЧНИ

1. За първи път е проучено влиянието на йонизиращото лъчение при панорамни рентгенографии на зъби.
2. Въведен е метод за изследване на генотоксичност в нова клетъчна система – букални епителни клетки.
3. За първи път е установена повишена честота на цитогенетични биомаркери при сърдечни катетеризации.
4. За първи път е оценен генотоксичен ефект от вътрешно облъчване при радиойод аблация и радиойод терапия.

ПУБЛИКАЦИИ СВЪРЗАНИ С ТЕМАТА:

L Popova, D Kishkilova, VB Hadjidekova, R Hristova, P Atanasova, VV Hadjidekova, D.Ziya, VG Hadjidekov: Micronucleus test in buccal epithelium cells from patients subjected to panoramic tomography. – Dentomaxillofacial Radiology, 36, 2007, 168-171.

Popova L., V.Hadjidekova, T.Hadjieva, S.Agova, I.Vasilev: Cytokinesis-block micronucleus test in patients undergoing radioiodine therapy for differentiated thyroid carcinoma. - Hellenic Journal of Nuclear Medicine, 8, 2005, 54-57.

L. Popova, V. Hadjidekova, R. Hristova, D. Georgieva, S. Deleva: Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes of patients undergoing coronary angiography. – Radiation Protection Journal, 6, 2016, 21-25

Доклади

L. Popova, V. Hadjidekova, A. Karadjov, B. S. Rao, V. G. Hadjidekov: Cytogenetic effects of diagnostic X-ray and contrast media in human peripheral blood lymphocytes C-0398, ECR 2005, Supplement 1 to Volume 15, February 2005

Cytogenetic effects of ionising radiation in diagnostic and therapeutic medical procedures.

PhD Thesis, Sofia, 2019

Summary

The medical use of radiation accounts over 90% of the human-made radiation dose. The aim of the present study is to evaluate the genotoxic effect of ionising radiation from medical procedures with different diagnostic and therapeutic dose.

Micronucleus test was applied in buccal epithelium cells, which are target cells for dental radiography. Specimens of exfoliated buccal cells were collected from patients subjected to panoramic radiography. No significant increase in the frequency of cells with micronuclei and total number of micronuclei after panoramic tomography was detected. Low radiation absorbed doses could be a reason for the negative results. A significant correlation between age of the investigated subjects and the initial frequency of micronuclei in buccal cells was observed.

Chromosomal aberrations and micronuclei frequency were used as biomarkers of genotoxicity in patients who had undergone diagnostic radiography with contrast media. The estimated frequency of chromosomal aberrations and micronuclei in the peripheral blood lymphocytes of patients after arteriography examination was significantly higher than the level before the diagnostic exposure. In conclusion radiological diagnostic procedures involving iodinated contrast media as arteriography may cause a significant increase in cytogenetic damage in peripheral blood lymphocytes.

Chromosomal aberrations and micronuclei formation are evaluate in the peripheral blood lymphocytes of patients undergoing radioiodine-131 therapy for differentiated thyroid carcinoma (DTC) after thyroidectomy to assess the genotoxic risk of this therapy. Results show, that after radioiodine therapy there is a significant increase in the frequency of chromosomal aberrations and micronuclei formation. These findings indicate a genotoxic activity of ^{131}I therapy estimated after a period of one month.

We compare initial level of investigated cytogenetic biomarkers in patients before medical procedure with obtained spontaneous level. The only significant difference we found is between initial frequency of cells with MN in patients who had undergo coronary arteriography.

Благодарност

Изказвам моите специални благодарности на моя научен ръководител проф. д-р В. Хаджидекова за помощта и насоките по време на разработването на дисертационния труд.

Изказвам големи благодарности на доц. д-р Ж. Джунова, директор на НЦРРЗ, както и на цялото ръководство, за дадената ми възможност и оказаното съдействие за осъществяването на този дисертационен труд.

Изказвам моите най-сърдечни благодарности на доц. Р. Христова за ценните знания, съвети и помощ, както по време на разработване и завършване на този труд, така и през годините в които работим заедно.

На прекрасния колектив в отдел “Радиобиология” най-сърдечни благодарности за подкрепата и оказаното съдействие, не само при изработването на този труд, но през цялата ни съвместа работа.

Благодарности на лекарите и сестрите от Университетска болница „Александровска“ и УМБАЛ „Царица Йоанна – ИСУЛ“, както и на лекарите от факултета по дентална медицина, сектор по “Дентална образна диагностика”, за съдействието при набирането на пациенти.

И не на последно място изключително много благодаря на моето семейство за търпението и подкрепата, които винаги са ми оказвали.