



T.C.

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

NÜKLEER TIP ANABİLİM DALI

**İTERNAL VE EKSTERNAL İYONİZAN RADYASYONUN SİTOGENETİK
ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Ayşegül ÖZDAL

UZMANLIK TEZİ

SİVAS

2009

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÜKLEER TIP ANABİLİM DALI

**İTERNAL VE EKSTERNAL İYONİZAN RADYASYONUN SİTOGENETİK
ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Ayşegül ÖZDAL
UZMANLIK TEZİ

Doç. Dr. Taner ERSELCAN
TEZ DANIŞMANI

SİVAS

2009

C.Ü. TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

İşbu çalışma, jürimiz tarafından Nükleer Tıp Anabilim Dalı'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ OLARAK kabul edilmiştir.

BAŞKAN: Doç. Dr. Taner ERSELCAN

ÜYE : Prof. Dr. Mübeccel ARSLAN

ÜYE : Doç. Dr. Bülent TURGUT

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../ ./2009

DEKAN

Prof. Dr. Mehmet ŞENCAN

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fakülte Kurulu'nun 12.03.2002 tarih ve 2002/1 sayılı kararı ve Cumhuriyet Üniversitesi Rektörlüğü'nün 28.03.2002 tarih ve 463 sayılı yazısı ile uygun görülen 'Tez Yazım Klavuzu'na göre hazırlanmıştır.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
SUMMARY	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
TABLolar.....	vii
ŞEKİL ve RESİMLER.....	viii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Radyoaktifliğin Tanımı	4
2.2. İyonizan Radyasyonun Madde ile Etkileşimi.....	6
2.3. Radyasyon Enerjisinin Transferi.....	7
2.4. Biyolojik Dozimetri	11
2.5. Mikronükleus Testi	14
2.6. Fiziksel Dozimetri (MIRD).....	23
2.7. Tedavi Amaçlı Radyasyon Kullanımı	27
2.7.1 Radyoterapi	27
2.7.2 Nükleer Tıp Uygulamaları	30

GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1. Hasta Grubu- Demografik Veriler	35
3.2. Gereçler	39
3.3. Yöntem.....	39
3.3.1 MIRD ile Fiziksel Dozimetri.....	41
3.3.2Mikronükleus Yöntemi ile Biyolojik Dozimetri.....	46
3.4. İstatistiksel Analiz.....	51
BULGULAR.....	52
TARTIŞMA	61
SONUÇLAR	77
KAYNAKLAR.....	78

TEŞEKKÜR

Nükleer Tıp uzmanlık eğitimim boyunca ve tez aşamasında sonsuz bir sabır ile engin bilgisini ve desteğini esirgemeyen, çok saygı duyduğum, bilim insanı değerli hocam Doç. Dr. Taner ERSELCAN'a çok teşekkür ederim.

Yine ihtisas eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, birlikte çalışmaktan onur duyduğum değerli hocam Doç.Dr. Bülent TURGUT'a teşekkür ederim.

Kendilerini tanımaktan ve huzurlu bir ortamda birlikte çalışmaktan çok mutluluk duyduğum, desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım; Dr. Zekiye HASBEK, Dr. Perihan A.KELKİT, Dr. Serdar Savaş GÜL, Dr. Pelin DUMAN, Dr. Gürkan ÖZER, Dr. Fadime YUMUK ve aramıza yeni katılan Dr. Fatih BÖRKSÜZ'e teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca ve tez aşamasında emeklerini esirgemeyen başta biyolog; Ömer EMRAHOĞLU olmak üzere, hemşirelerimiz; Münevver KARAPINAR, Gülbahar IŞIK, teknisyen arkadaşlarım; Hülya DOĞAN, Yakup Emre DUMAN, Nafiz ERDAL, Alev VARLI, Kubilay ŞENTÜRK, Cemil ÖZDEMİR, Ayşe MOĞULKOÇ, Müzeyyen KARADAĞ, Muzaffer KORKMAZ, Celal GÖN ve sekreterlerimiz; Mübeccel TOPÇU ve Şenay KOÇ'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında radyoterapi hasta grubunun verilerinin düzenlenmesinde çok büyük katkıları bulunan Radyasyon Onkolojisi A.D fizikçisi Yıldırım ÖZGÜVEN'e teşekkür ederim.

Mikronükleus analizlerinin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Genetik A.D'da Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR ve biyolog; Binnur KÖKSAL'a teşekkür ederim.

Tıp eğitimim boyunca maddi manevi desteklerini esirgemeyen sevgili anne ve babama, ayrıca yine sonsuz sabrı ve desteği ile her zaman yanımda olan sevgili eşim Süleyman ÖZDAL ve biricik oğlum Sefa Çağlar'a çok teşekkür ederim.

ÖZET

Bu çalışmada, tedavi amaçlı radyoiodot (I-131) ile internal, radyoterapi ile eksternal iyonizan radyasyon alan hastaların maruz kaldığı radyasyon dozunun hesaplanmasında kullanılan teorik yöntemler ile (MIRD; Medical International Radiation Dosimetry, EWBD; Equivalent wholebody dose) lenfosit mikronükleus sıklığına dayanan biyolojik yöntemin karşılaştırılması amaçlandı.

Hasta grubu, hipertiroidi tedavisi (n=17), düşük doz I-131 ile tarama (n=15) ve yüksek doz I-131 ile ablasyon tedavisi alan differansiye tiroid kanserli (n=15) ve ayrıca farklı tanılarla farklı dozda eksternal radyoterapi alan (n=20) toplam 67 hastadan oluşmaktaydı (49 kadın, 18 erkek, ort.yaş; 51±16, yaş aralığı;23-83).

I-131 alan hasta grubunda total vücut absorbe dozu MIRD ve MIRDOSE3 yazılımı kullanılarak hesaplandı. Çalışmaya alınan tüm hastalardan tedavi öncesi, tedavi sonrasında ve 1. ayda (n=32) alınan periferik venöz kan örneklerinde mikronükleus analizi yapıldı. Sağlıklı gönüllüden alınan kan örneklerinin 6 MeV enerji değerinde X-ışınları kullanılarak 0- 5 Gy doz aralığında 300 cGy/dakika doz hızında ışınlanması ile in vitro doz yanıt eğrisi ise elde edildi.

MIRDOSE3 yazılımı ile hesap edilen total vücut absorbe doz düzeyleri, verilen I-131 aktivite düzeyleri ile uyumlu idi ($p=0.001$). Bu dozlar ablasyon tedavisi alanlarda (Ort±SD); 149.2±50.1 mGy, hipertiroidi hastalarında; 49.2±20.8 mGy tarama hastalarında ise; 6.6±1.6 mGy olarak hesaplandı ve gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). Hipertiroidi, tarama, ablasyon ve radyoterapi hasta gruplarında tedavi öncesi ve tedavi sonrası mikronükleus düzeyleri arasındaki fark anlamlıydı ($p<0.05$). Lineer quadratik modele uyan doz yanıt eğrisinde nonlinear regresyon analizi ile; $\alpha= 0.020 \pm 0.004$, $\beta= 0.006 \pm 0.001$ olarak hesaplandı. Radyoterapi hasta grubunda konvansiyonel radyoterapi dozları biyolojik dozimetrik dozlarla karşılaştırıldığında anlamlı ilişki saptanamadı. I-131 alan grupta ise biyolojik doz ile MIRD yöntemi ile hesaplanan dozlar arasında aynı yönlü ilişki saptandı ($r=0.68$, $p<0.05$). Buna karşılık, MIRD yöntemi ile karşılaştırıldığında biyolojik dozimetrik dozların oldukça yüksek olduğu dikkati çekti.

Bu çalışma, absorbe doz hesaplanmasında fantom simülasyonuna dayanan MIRD yöntemi ile lenfosit mikronükleus sıklığına dayanan biyolojik yöntem arasında fark bulunduğunu ve bu konuda yeni modelleri içeren ileri çalışmalara gerek olduğunu düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler: MIRD, Mikronükleus, Biyolojik dozimetri, I-131, Radyoterapi

“Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) tarafından T-389 proje numarası ile desteklenmiştir”

SUMMARY

The aim of the present study was to compare the theoretical absorbed dose calculation methods (MIRD, Medical International Radiation Dosimeter, EWBD; Equivalent wholebody dose) with the biological method of lymphocyte micronucleus analysis in patients receiving either internal ionizing radiation with radioiodine (I-131) or external radiation by radiotherapy.

The study group consisted of patients receiving I-131 treatment for hyperthyroidism (n=17), patients with differentiated thyroid cancer (DTC) who received low dose of I-131 (n=15) and a high dose I-131 ablation therapy (n=15), together with 67 patients with various diagnosis receiving external radiotherapy in different doses (49 female, 18 male; mean age:51 ±16; age range, 23-83).

The total body absorbed dose was calculated according to MIRD method by the help of MIRDOSE3 software in I-131 receiving patients. The micronucleus analysis was carried out in peripheral venous blood taken from all patients, before and after the treatment and in the first month of treatment (n=37). The in vitro dose-response curve was acquired through radiating the blood samples of a healthy volunteer by using X-rays of 6 MV energy value with the dose range of 0-5 Gy, using dose rate of 300 cGy/minutes.

The absorbed doses, calculated with MIRDOSE3 software were correlated with administered I-131 activities (p=0.001). Those were calculated as 149.2±50.1 mGy in ablation treatment receiving patients, 49.2±20.8 mGy in patients with hyperthyroidism and 6.6±1.6 mGy in patients receiving low activity of I-131 for screening purpose. Group comparison yielded significant difference in the absorbed dose levels (p<0.05). Before and after the treatment of frequencies of micronuclei were significantly different in the hyperthyroidism, screening, ablation and radiotherapy groups (p<0.05). The dose-response curve was compatible with the linear quadratic model and the analysis of nonlinear regression yielded; $\alpha = 0.020 \pm 0.004$ and $\beta = 0.006 \pm 0.001$. No significant relation was found between calculated doses of conventional radiotherapy and biological dosimetry. A significant correlation was observed between the biological doses and the doses of calculated MIRD method (r=0.68, p<0.05). On the other hand, the comparison of MIRD method with the biological dosimeter revealed that the results of seemed significantly higher than the MIRD method.

In conclusion; the present study suggested that there was a difference between MIRD and the biological dosimetric method, based on the micronucleus frequency and that there is a need for further investigations to be established for the new dosimetric models.

Key words: MIRD, Micronucleus, Biological Dosimeter, I-131, Radiotherapy

“This work is supported by the Scientific Research Project Fund of Cumhuriyet University under the project number T-389”

SİMGELER ve KISALTMALAR

BN	Binükleat(iki nükleuslu)
CA	Kromozom Aberasyon
CBMN	Sitokinez Bloke Mikronükleus
⁶⁰ Co	Kobalt 60
Cyt-B	Sitokalsin B
FISH	Fluresence Insitu Hybridization
GBq	Gigabequerel
Gy	Gray
I-131	Radyoaktif İyot 131
keV	Kiloelektron Volt
LET	Lineer Enerji Transferi
MIRD	Medical International Radiation Dosimetry
MN	Mikronükleus
MeV	Mega elektron volt
PET	Pozitron Emisyon Tomografi
RBE	Relatif Biyolojik Etki
rhTSH	Rekombinan tiroid stimüle edici hormon
SCE	Sister Chromatid Exchange (Kardeş Kromatid Değişimi)
Tc-99m	Teknesyum 99m
TSH	Tiroid stimüle edici hormon

TABLolar

Tablo 2.1 I-131'e ait S tablosu örneği.....	26
Tablo 3.1 Gruplar arası yaş ve cinsiyet dağılımı.....	36
Tablo 3.2 I-131 ile hipertiroidi tedavi hasta grubunda demografik veriler	36
Tablo 3.3 Düşük doz I-131 ile tarama hasta grubunda demografik veriler	37
Tablo 3.4 Yüksek doz I-131 ile ablasyon hasta grubunda demografik veriler	37
Tablo 3.5 Radyoterapi hasta grubu çalışma bilgileri.....	38
Tablo 4.1 I-131 alan hastalarda tedavi dozu, kalma süresi, absorbe doz düzeylerinin karşılaştırılması.....	53
Tablo 4.2 Her bir grupta tedavi öncesi ve tedavi sonrası mikronükleus düzeylerinin karşılaştırılması.....	54
Tablo 4.3 Her bir grupta tedavi öncesi, tedavi sonrası ve 1. ay kontrol mikronükleus düzeylerinin karşılaştırılması.....	55
Tablo 4.4 Işınlanan dozlara göre mikronükleus verimi dağılımı.....	56
Tablo 4.5 MIRD yöntemi ile hesaplanan absorbe doz düzeylerinin biyolojik dozimetri ile karşılaştırılması.....	58
Tablo 4.6 Radyoterapi hastalarında tedavi bilgileri ve EWBD.....	60

ŞEKİL ve RESİMLER

Şekil 2.1 Radyasyon tipleri.....	5
Şekil 2.2 Elektromanyetik radyasyonun enerji spektrumu.....	6
Şekil 2.3 Radyasyonun biyolojik etkileri.....	10
Şekil 2.4 Sitotoksik/ genotoksik ajanla maruziyet sonrası sitogenezin bloke olduğu hücre kültüründe oluşabilecek olaylar.....	14
Şekil 2.5 Mikronükleus hücrelerin ortaya çıkışı.....	15
Şekil 2.6 Binükleat hücreler.....	17
Şekil 2.7 Mikronükleus içeren Binükleat hücreler.....	17
Şekil 2.8a A ve B sublezyonlarının tek ve iki radyasyon etkisi ile oluşumu.....	20
Şekil 2.8b Lineer quadratik modelde sağ kalım oranı.....	20
Şekil 2.9 Lineer quadratik modele uyan sağ kalım eğrisi.....	21
Şekil 2.10 Disentrik aberasyon verimi için farklı radyasyon tiplerinde çizilmiş in vitro doz yanıt eğrileri örneği.....	22
Şekil 2.11 Kümülatif aktivitenin hesaplaması.....	25
Şekil 3.1 2 mCi I-131 ile hazırlanmış silindirik su fantomu ve 701 µCi I-131 ile hazırlanmış kalibratör tarama görüntüleri.....	42
Şekil 3.2 I-131 tüm vücut hastasında anterior ve posterior pozisyonda elde edilen sintigrafi örneği.....	43
Şekil 3.3 Standart aktivitede anterior ve posterior pozisyonda tüm vücut tarama.....	43
Şekil 3.4 Bir hastadan elde edile I-131'e ait zaman- aktivite eğrisi.....	44
Şekil 3.5 MIRDOSE3 yazılım ile absorbe doz örneği(1).....	45
Şekil 3.6 MIRDOSE3 yazılım ile absorbe doz örneği(2).....	45

Şekil 4.1 Tarama, hipertiroidi ve ablasyon amacıyla radyoaktif iyot alan hastalarda absorbe doz düzeyleri.....	52
Şekil 4.2 Herbir grupta tedavi öncesi mikronükleus ve tedavi sonrası mikronükleus düzeylerinin karşılaştırılması.....	54
Şekil 4.3 Doz- yanıt eğrisi.....	57
Şekil 4.4 MIRD ile hesaplanan absorbe dozların biyolojik dozlarla karşılaştırılması.....	58
Şekil 4.5 Radyoterapi hastalarında konvansiyonel radyoterapi dozları ile biyolojik dozimetrik dozların karşılaştırılması.....	59
Resim 1 Normal çift çekirdekli hücre.....	48
Resim 2 Çift çekirdekli mikronükleuslu hücreler.....	48
Resim 3 İki tane mikronükleus içeren çift çekirdekli hücre.....	48
Resim 4-5-6 In vitro kan ışınlanma örnek görüntüleri.....	50

GİRİŞ VE AMAÇ

Radyasyonu insan yararı için kullanırken şimdi ve gelecekteki toplumun sağlığını korumak ilk şarttır. Bu nedenle kişilerin maruz kaldığı radyasyon dozlarının bilinmesi oldukça önemlidir.

Radyasyona maruz kalan bireylerin absorbe ettikleri radyasyon dozunun belirlenmesine “dozimetri” denir.

Nükleer tıpta hastaların maruz kaldığı radyasyon dozu, yaygın olarak MIRD (Medical International Radiation Dosimetry) yöntemi kullanılarak radyofarmasötiklerin vücut içindeki dağılımından yararlanmak suretiyle belirlenmektedir.

Doz ile ilişkili olarak meydana gelen kromozom hasarı biyolojik dozimetri yöntemlerinden mikronükleus analizi ile gösterilebilmektedir. Mikronükleuslar hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan, esas çekirdeğe dahil olmayan, tam kromozom veya asentrik kromozom fragmanlarından köken alan oluşumlardır. Mikronükleus sayısındaki artış çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Mikronükleus testi sitogenetik harabiyetin tespitinde, kromozom analizine göre kolay uygulanabilmesi, daha fazla sayıda hücre sayılması ve istatistiksel yönden daha anlamlı sonuçlar elde edilmesi avantajı sağlamasıyla yaygın kullanım alanı bulan bir teknik olmuştur (1, 2).

Yukarıda verdiğimiz açıklamaların ışığında çalışmamızda tedavi amaçlı radyoiodot (I-131) ile internal, radyoterapi ile eksternal iyonizan radyasyon alan hastaların maruz kaldığı radyasyon dozunun hesaplanmasında kullanılan teorik yöntemler (MIRD; Medical International Radiation Dosimetry, EWBD; Equivalent Wholebody Dose) ile lenfosit mikronükleus sıklığına dayanan biyolojik yöntemin karşılaştırılması amaçlandı.

Öncelikle internal ve eksternal iyonizan radyasyona bağlı tedavi öncesi ve tedavi sonrası mikronükleus düzeylerinde değişiklik olup olmadığını değerlendirilmesi amaçlandı.

Literatürde bu amaçla yapılmış çalışmalardan örnek verilecek olunursa; Gutiérrez ve arkadaşları (ark.) (3) hipertiroidi ve tiroid kanserli hastalarda I-131 tedavisi

sonrasında sitogenetik hasarın değerlendirilmesi amacıyla mikronükleus testini kullanmış ve tedavi sonrası mikronükleus sayısında dozla orantılı, anlamlı artış göstermişlerdir.

Popova ve ark. (4) I-131 tedavisi alan diferansiye tiroid kanserli hastalarda bir aylık periyotta mikronükleus sayısında artış göstermişler ve genotoksik aktiviteyi göstermek için kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Erselcan ve ark. (5) tirotoksikoz veya ablasyon tedavisi amacıyla değişik dozlarda I-131 alan 15 hastada bazal, akut dönem ve geç dönemde olmak üzere 'sister chromatid exchange' (SCE) yöntemi ile kromozomal hasarı değerlendirmişler, kısa dönemde önemli artış tespit etmişler, tedavi sonrası 6 aylık süreçte kromozomal hasarın kısmen iyileşebildiğini göstermişlerdir.

Biyolojik dozimetri çalışması için in vitro kan ışınlaması yaparak farklı radyasyon dozlarında mikronükleus değişikliklerini kaydederek kurumumuza özgü bir doz- yanıt eğrisi elde edilmesi, bu eğriden yola çıkarak hastaların biyolojik dozlarının hesaplanması amaçlandı.

Radyoaktif iyot alan hastalarda MIRD yöntemi kullanılarak fiziksel dozimetri çalışması yapıldı. Bu yöntem ile total tüm vücut absorbe dozunun hesaplanması amaçlandı. Absorbe doz hesaplanmasında fantom simülasyonuna dayanan MIRD yönteminin kişisel farklılıkları ne şekilde yansıtılabileceğinin, biyolojik dozimetri ile karşılaştırılarak araştırılması planlandı.

Literatürde bu amaçla yapılmış çok az sayıda çalışma bulunmaktadır.

M'Kacher ve ark. (6) I-131 ile tedavi edilmiş 30 tiroid kanserli hastada yapmış oldukları çalışmada tedavi sonrası 4. günde tüm vücut tarama yaparak I-131 retansiyonunu hesaplamışlardır. Periferal lenfositlerde kromozomal aberasyon skorlamasını baz alarak elde edilen biyolojik dozimetrik sonuçların MIRD ölçümlerinden 2- 4 kez yüksek olduğunu göstermişlerdir.

Lloyd ve ark. (7) tiroid kanseri için geniş doz aralığında I-131 ile tedavi edilmiş 11 hastada fiziksel ve sitogenetik tüm vücut dozunu karşılaştırmışlardır. Tiroid uptake, plazma aktivite değişikliği ve üriner aktiviteden hesaplanan fiziksel doz ile kromozomal aberasyon analizi ile elde edilen dozlar arasında iyi uyum saptamışlardır. Sitogenetik

tüm vücut dozunun fiziksel doza kıyasla önemli ölçüde yüksek olduğunu vurgulamışlardır.

Çalışmamızda ayrıca farklı tanılarla radyoterapi almış hasta grubunda da tedavi öncesi ve tedavi sonrası mikronükleus düzeylerini tespit ederek biyolojik dozimetri çalışması yapmayı amaçlandı.

Jagetia ve ark. (8) radyoterapi alan 50 hastadan tedavi öncesinde, fraksiyone tedavinin ortalarında ve tedavi sonunda mikronükleus analizi yapmışlardır. Sağlıklı gönüllülerden oluşan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tedavi süresince 2 kattan fazla artmış mikronükleus düzeyi saptamışlardır.

Venkatachalam ve ark. (2) fraksiyone radyoterapi alan serviks kanserli hastalarda ve in vitro kobalt 60 (^{60}Co) ile ışınlanan kanlarda translokasyon, disentrik ve mikronükleus analizlerini uygulamışlar, sonuçta aberasyon frekansının doz bağımlı artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

Yukarıda bahsi geçen çalışmalardan farklı olarak bu çalışma internal ve eksternal iyonizan radyasyonun sitogenetik etkilerinin birlikte değerlendirilmesi, fiziksel ve biyolojik dozimetriklerin karşılaştırılması açısından orjinaldir.

GENEL BİLGİLER

2.1. RADYOAKTİFLİĞİN TANIMI

Elementlerin kendi özelliklerini taşıyan en küçük parçaları olan atomları; proton ve nötronların oluşturduğu bir çekirdek ve bu çekirdeğin etrafında dönen elektronlar oluşturur. Atom içerisinde proton ve nötron oranı dengesiz olduğunda kararsız bir atom ortaya çıkar. Kararsız atomlar etrafına çeşitli ışımlar yaparak kararlı hale geçmeye çalışırlar (9).

Bir radyoaktif çekirdeğin bir başka çekirdeğe dönüşmesi olayına *desintegrasyon* (bozunma, parçalanma), yapay olarak bir çekirdekten başka bir çekirdek elde edilmesi olayına da *transmütasyon* denir. Bu parçalanma sırasında, çekirdekten parçacıklar ve enerji dalgaları ortaya çıkar.

Radyasyon; İç dönüşüm geçiren atomlar tarafından yayımlanan, boşlukta ve madde içerisinde hareket edebilen enerji olarak tanımlanır. Bu yolla enerji veren elementlere de radyoaktif elementler adı verilir.

Radyoaktiflik 1896'da Henri Becquerel tarafından keşfedilmiştir. Bu keşif fizikokimya bilimlerinin en önemlisi olarak kabul edilir. Atomun yapısı, izotopluk kavramı, bazı atom çekirdeklerinin birer büyük enerji kaynağı olduğu ve bu alandaki daha pek çok yenilik bu keşiften sonra gerçekleştirilmiştir. 1898'de M.S.Curie yaptığı deneyler ile radyoaktif ışınların varlıklarını kanıtlamış, 1903'de Pierre Curie kalorimetrik ölçümlerle radyumun bir gramının saatte 140 kalori verdiğini bulmuştur (10).

Radyasyonu tanımlamada üç parametre kullanılır:

- Enerjisi (düşük ve yüksek enerjili radyasyon)
- Kaynağı (doğal ve yapay radyasyon kaynakları)
- Türü (parçacık radyasyonu ve elektromanyetik radyasyon) (Şekil 2.1)

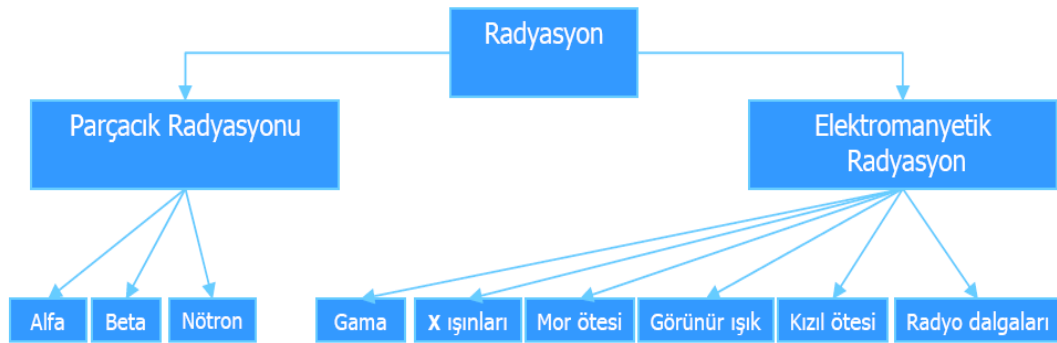
Radyasyonun nükleer tıptaki anlamı enerji geçiştir. Temel olarak iki özel tipi vardır:

1. Partiküler radyasyon: Taneciklerin yüksek hızla kazandıkları kinetik enerji olarak tanımlanır. Alfa ve beta radyasyonları partiküler (tanecik) tipte radyasyondur.

2. Elektromanyetik radyasyon: Enerjinin uzayda ışık hızıyla titreşerek taşınması anlamına gelir. Yüksek enerjili radyasyon iyonize radyasyon olarak da tanımlanır ve atomdan elektron koparabilen, dolayısıyla iyonize edebilen radyasyon türüdür. Bunlar; Alfa, Beta, Gama ve X ışınlarıdır.

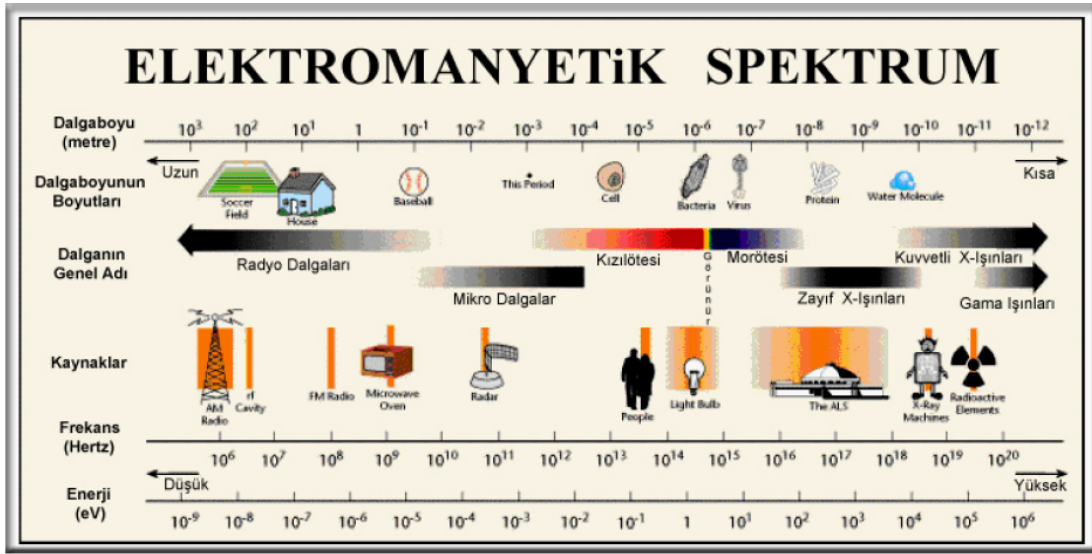
İyonize edici elektromanyetik radyasyon çekirdekten yayımlanıyorsa “gama ışını”, yörüngeden yayımlanıyorsa “X ışını” adını alır.

Düşük enerjili ya da iyonize olmayan radyasyon ise etkileştiği materyal içindeki atomları yeteri kadar enerjisi olmadığı için iyonize edemez ve sadece uyarılmakla yetinir. Mikrodalgalar, görünür ışık, radyo dalgaları, kızılötesi ve (çok kısa dalga boyluları hariç olmak üzere) mor ötesi ışık iyonize olmayan radyasyona örnektir.



Şekil 2.1. Radyasyon tipleri (11)

Elektromanyetik dalgaları birbirinden ayıran esas faktörler; dalga boyları, frekansları ve enerjileridir. Elektromanyetik radyasyonların enerjileri arttıkça, birer enerji paketi anlamına gelen foton adını alırlar. Fotonlar uzayda ışık hızıyla hareket ederler. Yük ve kütleleri olmadığından partiküler özellikteki radyasyonlardan farklıdır (Şekil 2.2) (12).



Şekil 2.2 Elektromanyetik radyasyonun enerji spektrumu (13)

2.2. İYONİZAN RADYASYONUN MADDE İLE ETKİLEŞİMİ

Radyasyon absorpsiyonu sonucunda canlı hücrelerde serbest radikaller ve uyarılmış moleküller oluşur. Hücreler büyük oranda sudan oluştuğundan, radyasyon enerjisinin su molekülleri tarafından absorblanma olasılığı çok yüksektir. Bu etkileşim sonucu hidroksil ve hidrojen radikalleri oluşur. Bu serbest radikaller, biyolojik açıdan önemli (DNA, enzim vb.) hedef moleküllerle reaksiyonlara girerek radyobiyojik hasarlara yol açarlar. Bu tip reaksiyonlar, radyasyonun *indirekt* etkisi olarak adlandırılırlar. Burada radyasyon enerjisinin biyolojik moleküllere transferi olayında serbest radikaller aracı olmuşlardır. Radyasyonun *direkt* etkisinde ise radyasyon doğrudan biyolojik hedef moleküllerle etkileşime girerek, enerjisini direkt olarak transfer eder. Biyolojik hasar açısından, biyolojik hedef molekülün direkt ya da indirekt yoldan etkilenecek hasarlanması büyük önem taşımaz. Fakat hücreler büyük oranda sudan oluştuğundan, radyobiyojik açıdan, radyasyonun indirekt etkileri, direkt radyasyon etkilerinden daha önemlidir ve radyasyon hasarlanmasının büyük ölçüde indirekt yoldan olduğu kabul edilmektedir.

Serbest radikaller ayrıca oksijen molekülleri ile de etkileşime girerler ve bu etkileşimler sonucunda gerek hidrojen gerekse bazı organik moleküllerin peroksit radikalleri oluşur ve bunlar biyolojik açıdan son derece tahrip edicidir. Radyasyonun canlı sistemlerde etkinlik derecesi, oksijen varlığı ile artmaktadır. Oksijen varlığı ile,

sözü geçen peroksit radikallerinin oluşma şansının artışı, bu etkinin mekanizması olarak kabul edilmektedir (14, 15).

İyonlaştırıcı radyasyonların biyolojik sistemlerde oluşturduğu etkiler, radyasyonun cinsine göre farklılık gösterir ve iki temel değer olan LET (Lineer Enerji Transferi) ve RBE (Rölatif Biyolojik Etki)'ye bağlıdır.

LET; radyasyonun birim yol boyunca meydana getirdiği iyonizasyon ile ortama transfer ettiği enerji miktarıdır (keV/μm). X ve gama ışınları düşük, alfa ışınları ve nötronlar yüksek LET'e sahiptir. Yüksek LET değerli radyasyonların uygulanması ile birim mesafede oluşan yoğun iyonlaşma olayları, enerjinin tümünün biyolojik moleküllerde absorblanması olasılığını artırır, böylece radyasyonun canlı üzerindeki etkisi de artmaktadır.

RBE; farklı tip radyasyonların aynı etkiyi oluşturması için gerekli dozlarının kıyaslanmasıdır. Buna göre RBE, 250 keV'lik X-ışını dozunun herhangi bir radyasyon çeşidi tarafından aynı biyolojik etkiyi oluşturması için gerekli olan dozuna oranıdır. Buna bağlı olarak, alfa ışınları ve nötronların RBE değerleri X-ışını ve gama ışınlarından daha yüksektir.

Bir radyasyonun RBE ve LET değeri paralel bir artış gösterirler. Ancak çok yüksek LET değerlerinde bu paralellik bozulur ve RBE değeri azalmaya başlar. Bunun nedeni ise, hücrelerin belli dozlardan sonra ölmesi ve aşırı transfer edilen radyasyon enerjisinin daha fazla bir etki gösterememesidir (14, 15).

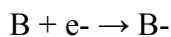
2.3. RADYASYON ENERJİSİNİN TRANSFERİ:

Radyasyonun canlı üzerinde oluşturduğu etkiler incelendiğinde birbirini izleyen dört etki kademesini sıralamak mümkündür:

1. Fiziksel basamak: Enerji, radyasyondan maddeye transfer edilir. Bu olay, radyasyonu absorblayan maddenin moleküllerinde uyarılma ya da iyonlaşmaya yol açar. İyonlaşma, bir atom veya molekülden bir elektronun kopmasıdır.



Bu olay sırasında A atomundan kopan serbest elektron (e-), bir negatif iyondur ve diğer bir B atomu ile birleşerek onu negatif hale getirebilir.



A⁺ ve e⁻ ya da A⁺ ve B⁻ iyonlarına, iyon çifti adı verilir. İyon çiftlerinin ömrü 10⁻¹⁰ saniye kadar kısa bir süredir.

2. Fiziko-Kimyasal basamak: İlk reaksiyonlarda ortaya çıkan yeni ürünler oldukça kararsızdırlar ve çok kısa bir süre içinde ikincil iyonlaşma reaksiyon ürünlerinin oluşmasına yol açarlar. Bu basamakta gerçekleşen olaylar ya tek tepkimeler sonucunda ya da karmaşık zincirleme tepkimeler sonucunda ortaya çıkarlar.

3. Kimyasal basamak: Önceki basamaklarda tepkime sonunda ortaya çıkan reaktif ürünler yani hasar görmüş atom ya da moleküller diğer hücresel yapılar ile reaksiyona girerler. Bu reaksiyonlar basit ya da karmaşık zincirleme reaksiyonlar şeklinde gelişebilirler ve serbest radikallerin oluşmasına yol açarlar. Bunlar çok reaktif yapılardır ve hem kendileri ile hem de ortamdaki diğer moleküllerle reaksiyona girmeye devam ederler. Serbest radikal reaksiyonları radyasyon absorpsiyonundan sonraki 1 milisaniye içinde tamamlanır.

4. Biyolojik basamak: Biyolojik kademe çeşitli hasarlara yol açan enzim reaksiyonları ile başlar. Bu arada DNA molekülünde hasarlar oluşur. Ancak bunların bir kısmı onarılabilir. Onarılamayan hasarlar ise hücre ölümüne yol açarlar (16, 17).

İyonlaştırıcı radyasyonların bir canlıda biyolojik etkiye yol açabilmeleri için radyasyon enerjisinin canlıyı oluşturan hücre ve dokular tarafından absorbe edilmesi ve bu enerjinin dokularda dağılması gerekir.

İyonlaştırıcı radyasyonların canlılarda oluşturduğu iyonlaşma olaylarının yolaçtığı fiziko-kimyasal değişiklikler, bir saniyeden daha kısa sürede olup biterler. Buna karşılık, fiziko-kimyasal değişikliklerin doğurduğu genetik mutasyonlar, kanserleşme ve hücre ölümü gibi biyolojik sonuçların ortaya çıkabilmesi için saatler, günler, aylar hatta yıllar geçmesi gerekebilir (15).

A2.3 Radyobiolojinin Temel Kanunu ve Radyasyon Duyarlılığı

Canlı organizmasının temel yapısı olan hücre ve hücre çekirdeğinin içinde genetik bilgileri barındıran DNA'nın, hücrenin bölünmesinden ve protein sentezinden sorumlu olarak ışınlanmış hücrelerde, esas hedef olduğu kanıtlanmıştır. Özellikle hücre bölünmesi sırasında hücre, radyasyona karşı en duyarlı evrededir ve bunda mitoz bölünme ile çoğalma sırasında DNA'nın iki katına çıkması ve radyasyonlar için daha

fazla ışınlanacak bölge oluşturmasının da payı olduğu kabul edilmektedir. Radyasyon etkisi ile DNA'nın tek kolunda, çift kolunda kırıklar ve bazı hasarlar oluşabilir.

“Radyobiolojinin Temel Kanunu” olarak isimlendirilen, 1906 yılında Bergonie ve Tribondeau tarafından geliştirilen, radyasyonun biyolojik etkilerine dayanan hipoteze göre, ışınlanan canlılarda gözlenen biyolojik etkiler, ışınlanan hücrelerin bölünme kapasiteleri ile doğru, farklılaşma dereceleri ile ters orantılıdır (18, 19).

A2.3.1 Hücre Duyarlılığı

Radyobiolojinin Temel Kanunu'na göre radyasyona karşı duyarlılık en hassastan en dirençliye doğru sıralanırsa; hızla bölünen, farklılaşmamış en duyarlı hücreler; eritroblastlar (eritrosit ana hücreleri), bağırsak kript hücreleri, sperm ana hücreleri ve epidermis bazal hücreleridir. Hücreler farklılaştıkça hızlı bölünme devam etmesine rağmen hassasiyet azalmaktadır. Miyelositler ve sperm oluşturan hücreler bu gruba girmektedir. Düzensiz bölünen ve dokulara destek sağlayan bağ dokusu hücrelerinin hassasiyetleri aradadır. Normalde bölünmeyen, ancak ihtiyaç halinde bölünme kapasitesine sahip olan karaciğer, pankreas hücrelerinde az olmakla beraber duyarlılık vardır. Radyasyona karşı en dirençli hücreler ise, bölünmeyen ve ileri derecelerde farklılaşmış olan kas, sinir hücreleri, olgun eritrositlerdir. Bu sınıflamaya uymayan tek hücre grubu, dolaşan kana geçtikten sonra bölünmeyen ve son derece farklılaşmış olmasına rağmen, radyasyona karşı duyarlı olan lenfositlerdir. Bu özellikleri, biyolojik doz tayinleri için büyük avantaj sağlamaktadır (19).

A2.3.2 Doku ve Organların Radyasyon Duyarlılığı

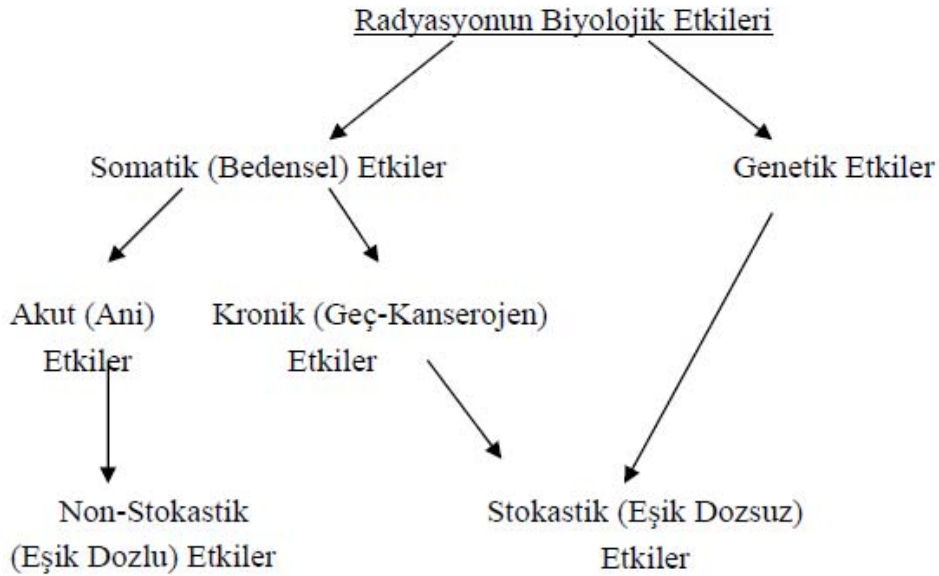
Radyasyona karşı duyarlılık yasasına göre; karaciğer, böbrek, kas, beyin, kemik, kıkırdak ve bağ dokuları ergin canlıda farklılaşmış ve bölünmediği için dirençli doku ve organları oluşturmaktadır. Buna karşılık; kemik iliği, ovaryum ve testislerin bölünen hücreleri, mide-bağırsak ve derideki epitel hücreleri ise radyasyona karşı duyarlıdır.

A2.4. Radyasyonun Biyolojik Etkileri

Vücuttaki atom ve moleküllerin radyasyonla etkileşmesi sırasında, organizma tarafından soğurulan enerji ölçüsünde, ışınlanan kişide biyolojik etkiler meydana gelir. Bu etkilere, iyonlaştırıcı radyasyonun somatik etkileri denir. Yani somatik etkiler, ışınlanan kişilerin kendisinde radyasyon dozunun absorpsiyonu ile ortaya çıkar. Alınan

radasyon dozu, somatik etkilere ilave olarak üreme hücrelerini etkileyebilir. Dolayısıyla radasyonun etkisi, radasyona maruz kalan kişilerin nesillerinde de görülebilir. Buna iyonlaştırıcı radasyonun genetik etkileri denir (14, 19, 20).

Radasyonun biyolojik etkileri Şekil 2.3' de gösterilmiştir.



Şekil 2.3 Radasyonun biyolojik etkileri

A2.4.1 Deterministik (Kesin) Etkiler

Tüm vücudun radasyonla ışınlanmasından sonra, biyolojik etkiler belli bir eşik doz değerinden sonra görülmeye başlar. Eşik doz aşıldığında görülen etkiler doz miktarındaki artışa bağlıdır. Somatik etkilerin görülmesinde dozun bir defada veya aralıklarla verilmesi de önemlidir.

Somatik kesin etkiler erken ve geç etkiler olarak iki türlü ortaya çıkar. Erken etkiler dozdan sonra ilk yıl içinde ortaya çıkar ve ölen hücre sayısı, hasarın onarılması, hasarlanmış hücre sayısı ile ilişkilidir. Erken etkilere örnek olarak eritem, radasyon pnömonisi ve radasyon hastalığı verilebilir. Somatik kesin geç etkiler genellikle dozdan bir yıl sonra ortaya çıkar. Bu etkilere örnek olarak; cilt kalınlaşması, pulmoner fibrozis, katarakt ve kan damarlarındaki anomaliler gösterilebilir (19- 22).

A2.4.2 Stokastik (Kesin olmayan) Etkiler

İşinlanan bireyde değil, fakat işinlanan toplumda ortaya çıkan etkiler topluluğu bu gruba girer. İnsanlar düşük dozlarda radyasyona, üstelik de aralıklı olarak maruz kaldığında, etkisi yıllar sonra bile görülebilen genetik bozukluklar, ömür kısalması ve kanser oluşumu gibi sonuçlar açığa çıkabilir. Bu etkilerin ortaya çıkması, bazı kanser türleri için yılları bulabilmektedir.

Radyasyonun bu etkisine, ortaya çıkması için herhangi bir doz barajı gerektirmediği için “Eşik Dozsuz Etkiler” denilir. Radyasyonun neden olduğu genetik etkiler, canlılığın tüm özelliklerinin şifrelendiği DNA ve proteinden oluşan kromozomlar incelenerek belirlenmeye çalışılmaktadır (19- 22).

2.4 BİYOLOJİK DOZİMETRİ

Radyasyonların varlığının anlaşılması duyu organları ile mümkün olmadığından, algılanmaları ve ölçümleri radyasyonlara hassas cihazlar ile yapılır. Radyasyon dozimetrisi, iyonlaştırıcı radyasyon miktarının ölçülmesidir. Radyasyonun ölçülme işlemine “dozimetri”, kullanılan araçlara “dozimetre” ya da “algılayıcı” denir. İyonlaştırıcı radyasyonlarla ışınlanma sonucu, kişilerin ne kadar doz aldığını belirlemek üzere kullanılacak birçok biyolojik dozimetri sistemi bulunmaktadır.

İdeal bir biyodozimetri sisteminin taşıması gereken özellikler aşağıdaki gibi olmalıdır (23);

- 1- Dozları tahmin etmek için seçilen etkiler iyonizan radyasyonlara özgü olmalıdır.
- 2- Düşük doğal sıklık ve kişiler arasında farklılık en düşük düzeyde olmalıdır.
- 3- Radyasyona maruz kalma sonucu oluşan etki kalıcı olmalı, eğer kalıcı değilse zamana bağlı olarak oluşan değişiklikler bilinmelidir.
- 4- Oluşturulan kontrol doz-cevap eğrilerinde dozların aralığı mesleki ışınlamalarda olduğu gibi çok düşük dozları ve kaza durumlarında olduğu gibi birkaç Gray (Gy)'e varan dozları da içermelidir.
- 5- Farklı radyasyon kalitelerinde uygulanabilmelidir (^{60}Co , x ışını, nötron v.b.).
- 6- Biyolojik materyal kolay elde edilebilmelidir (kan gibi).
- 7- Ölçümler kolay ve hızlı olmalı, kısa sürede sonuç elde edilebilmelidir.
- 8- Kronik ve homojen olmayan ışınlamalara da uygun olmalıdır.

Radyasyon ile ışınlamalarda, kişilerin ve toplumun maruz kalacağı dozların radyobiolojik ve istatistiksel olarak hesaplanması çok önemlidir. Ancak doz hesabını zorlaştıran fiziksel ve biyolojik birçok faktör vardır. Bunlar;

- a) radyasyonun cinsi,
- b) toplam uygulanan doz,
- c) dozun bir kerede ya da aralıklı uygulanması,
- d) kişinin kısmi veya tüm vücudunun ışınlanması,
- e) ışınlama üzerinden geçen zaman,
- f) kişisel duyarlılıkların farklı olması şeklinde sıralanabilir.

Fiziksel ve kimyasal ajanların etkisini belirlemek için kullanılan birçok biyolojik indikatör sistem olmasına rağmen, bunların hiçbirisi biyolojik dozimetre olarak kullanılmaya elverişli değildir. Bunlardan kemik iliği incelemeleri, spermogram, serum analizleri, timidin analizi, idrar aminoasitleri ve metabolitleri, vücut sıvıları, tırnak ve saç dokularının kullanılması üzerine yapılmış pek çok çalışma vardır. Fakat bu tip biyolojik sistemlerin çoğu, örnek almadaki güçlükler ve asenkronize popülasyonlar yani eşzamanlı reaksiyon veremeyen materyaller olmaları nedeni ile dozimetrik amaçla kullanılmazlar. Ayrıca bu tür hücreler, ancak vücudun belirli bir bölgesinden alınacağından tüm vücudu homojen olarak temsil etmezler (23- 25).

İnsan dolaşan kan lenfosit hücreleri, kişinin tüm veya kısmi olarak aldığı dozun, radyobiolojik ve istatistiksel olarak değerlendirilmesinde 1960'lerden beri biyolojik dozimetri olarak kullanılan tek biyolojik sistemdir. Genç erişkin bir insanda yaklaşık 500×10^9 lenfosit bulunmaktadır. Bunun %2 kadarı (10×10^9) periferik kanda bulunur. Geri kalan büyük kısmı ise timus, lenf nodları, tonsiller, intestinal lenfatik dokular, dalak ve kemik iliğinde bulunur. Periferik kan ile bu dokular arasında tekrarlayan sirkülasyon mevcuttur. Lenfositlerin redistribüsyon havuzundan periferik kana geçiş süresi her 12 saatte 30 dakika kadardır (24, 26).

Lenfositlerin %70'i T- lenfositlerdir ve bunların yaklaşık %98'i ufak, hücre siklusunun bölünmeyen bir fazında (G_0) bulunur. G_0 fazında olmaları dolayısı ile

biyolojik ömürleri uzundur. Periferik dolaşımdaki ortalama yarı ömürleri 3 yıl kadardır. Metabolik olarak inaktiftirler (24).

Lenfosit hücrelerinin biyolojik dozimetre olarak kullanılma nedenleri:

- Örnek almanın kolay olması ve tüm vücudu temsil etmesi,
- Radyasyona karşı çok duyarlı olmaları,
- Vücudun herhangi bir yerinde oluşan hasarı dolaşan kana taşınmaları,
- Dolaşımda bölünme olmayan G_0 fazında olmaları,
- Doku kültürü ortamında kolayca bölünebilmeleri,
- Senkronize (aynı anda aynı fazda) hücreler olarak bölünmeye geçebilmeleridir (24- 28).

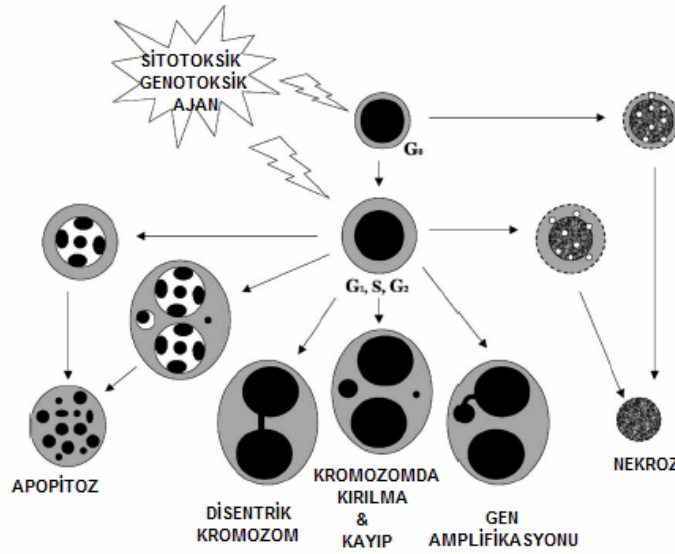
Biyolojik Doz Tayininde Radyasyon Sitogenetiği

Radyasyon sitogenetiği yöntemlerinin kullanıldığı biyolojik dozimetride, çok sayıda kişinin soğurduğu doz düzeylerinin hızlı ve güvenilir bir şekilde belirlenmesi gerekmektedir. Bu amaçla kullanılan yöntemlerin başında Kromozom Aberasyon (CA) yöntemi gelmektedir. 1960'lerden beri standartlaşmış ve güvenilir bir yöntem olarak, rutin bir şekilde kullanılan CA yöntemi ve çalışmamızda kullanılan Mikronukleus (MN) Analiz yönteminden başka, Erken Kromozom Yoğunlaşması (PCC), Kardeş kromatid değişimi (SCE) ve Fluresence In Situ Hybridization (FISH) yöntemleri de kullanılmaktadır.

Kromozom aberasyon analizlerini idealden uzaklaştıran; uzun zaman alması, uzman değerlendirici gerektirmesi gibi şartlardır. Bunun yanı sıra kararlı olmamaları, yani ardışık hücre bölünmelerinde hızla azalmaları, özellikle ışınlanma üzerinden uzun zaman geçtiği ve başlangıç doz düzeylerinin düşük olduğu şartlarda dozun gerçekte olduğundan daha az hesaplanması sonucunu doğurmaktadır (29). FISH yönteminin dozimetrik amaçla geçerliliği de tartışılmaktadır. Kullanılan problemlerin ve kimyasal maddelerin pahalı olması, yaşla birlikte translokasyon sıklığının artması, tüm genomu temsil etmesi için analiz edilen hücre sayısının artırılması gerekliliği sistemin yaygın kullanımını sınırlamaktadır (30).

2.5. MİKRONÜKLEUS TESTİ

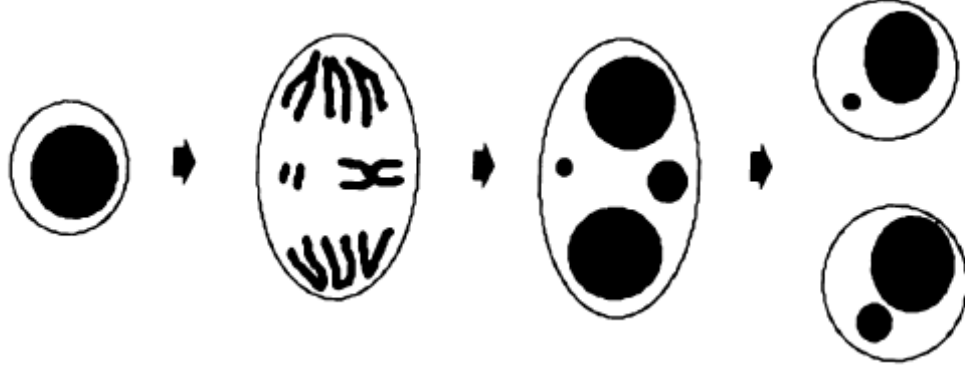
Mikronükleuslar hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan, esas çekirdeğe dahil olmayan, tam kromozom veya asentrik kromozom fragmanlarından köken alan oluşumlardır (31, 32). (Şekil2.5). Bu durumda bu parça mikronükleus adını alır ve interfazda kolayca görülebilir. Herhangi bir kimyasal veya fiziksel mutajene maruz kalmış lenfosit hücrelerinde, hasar gören kromozomlar ve onların asentrik parçaları veya mitotik iğde mutajen tarafından meydana getirilen hatalar sebebi ile kutuplara çekilemeyen kromozomların nükleus dışında kalması ve bunların sitoplazmada yoğunlaşması sonucunda oluşur (Şekil 2.4, 2.5) (33- 36).



Şekil 2.4 Sitototoksik/genotoksik ajanla maruziyet sonrası sitogenezin bloke olduğu hücre kültüründe oluşabilecek olaylar; kromozom kırıkları yada kaybı (mikronükleus oluşumu), gen amplifikasyonu (nuclear buds), nekroz yada apoptoz(37).

MN sayısındaki artış, çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Anöploidiyi uyaran ajanlar, sentromer bölünme hatalarına ve iğ iplikçiklerinde fonksiyon bozukluğuna yol açarak anafaz sırasında geri kalan tam bir kromozomdan MN oluşumuna neden olurken; klastojenler (kromozomlara zarar verme potansiyelinde olan) ise kromozom kırıkları oluşturarak MN oluşumuna katkıda bulunmaktadır (31). Mikronükleus analizi için mutajen muamelesi görmüş hücrelere sitokalsin-B uygulanarak sitoplazma bölünmesi engellenir ve bu yolla 2 yavru nükleusun birlikte

bulunduğu iki nukleuslu (binükleotid) hücreler ve bu hücrelerin sitoplazmaları içinde yer alan mikronukleuslar değerlendirilir (33).



Şekil 2.5 Mikronükleuslu hücrelerin ortaya çıkışı (37)

MN test yöntemi ilk kez 1970 yılında Boller ve Schmid tarafından önerilmiştir. Heddle 1973'te ajanların genotoksik potansiyellerini ölçmek için kemik iliği eritrositlerinde MN'u test yöntemi olarak kullanmıştır (38- 40). Daha sonra 1980'de MacGregor ve arkadaşları tarafından bu metod periferik kanda dolaşan polikromatik eritrositlerde denenmiş ve en az kemik iliği metodundaki kadar hassas olduğu gözlenmiştir. Bu metod hayvanları öldürmeden fazla sayıda örnek alınmasına olanak verdiği için daha avantajlı sayılmıştır (41).

Countryman ve Heddle (42) 1976 yılında yaptıkları çalışmada, lenfositlerde MN oluşumunu belirleyerek, kromozom hasarının meydana çıkarılmasında diğer bir uygulanabilir hüresel sistem ileri sürmüşlerdir. Von Ledebur ve Schmid 1973'te, Högstädt ve Karlsson 1985'te geliştirdikleri modifiye metodlarla, aneuploidiye yol açan ajanlar ile klastojenleri birbirinden ayırmada, MN büyüklük farkından yararlanmışlar; klastojenlerce uyarılan MN'ların asentrik kromozom fragmentleri içeren küçük, aneujenlerce uyarılan MN'ların ise tam kromozomlar içerdiğini ve daha büyük ebatlı olduğunu göstermişlerdir. Daha sonraları Fenech ve Morley tarafından geliştirilen Sitokinez-Blok (Cytokinesis-Blocked) Metodu, bazı kinetik problemlerin ortadan kalkmasını ve tekniğin uygulanmasındaki güvenilirliğin artmasını sağlamıştır (31, 33).

2.5.1. MN test yöntemi ve uygulama amacı

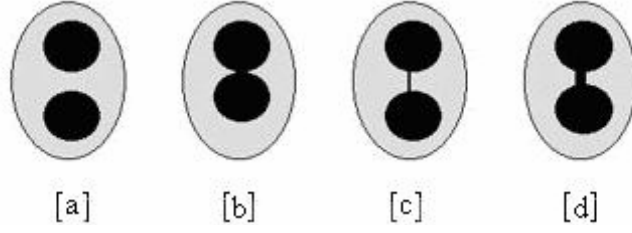
MN yönteminin geliştirilmesinde en önemli adım; MN oluşumuna izin veren, bir çekirdek bölünmesini tamamlamış hücrelerin sayılmasının esas alınmasıdır. Sitokinez-blok mikronükleus metodunu geliştiren Fenech ve Morley (43) 1986'da, hücre kültürüne mitoz sırasında sitoplazma bölünmesini durduran aktin inhibitörü sitokalasin-B (Cyt-B) ilave ederek çekirdek bölünmesini tamamlamış, ancak sitoplazmik bölünmesini gerçekleştirememiş çift çekirdekli hücreler elde etmişlerdir.

MN tekniği, lenfosit kültüründe yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsan kan hücrelerinin, özellikle lenfositlerin iyonlaştırıcı radyasyona hassas olduğu ve doz-cevap ilişkisi kurulabileceği 20 yıldan daha uzun bir süredir bilinmesine rağmen, çevresel mutajenlerin etkisinin tespitinde de güvenle kullanılabileceği son yıllarda kabul edilmiştir (24).

Sayım ve Değerlendirmede Binükleat (BN) Hücrelerin Seçim Kriterleri

Mikronükleus sıklığında değerlendirilecek sitokinez blok hücreleri aşağıdaki karakteristik özelliklere sahip olmalıdır (44):

1. Hücreler BN olmalıdır,
2. BN hücre içindeki iki çekirdek, hasar görmemiş çekirdek zarına sahip olmalı ve sitoplazmada bir düzende bulunmalıdır,
3. BN hücredeki iki çekirdek aynı ebatlarda, modelde ve aynı yoğunlukta boyanmış olmalıdır,
4. BN hücre içindeki iki çekirdek birbirleriyle bağlantılı olmamalıdır veya birbirlerine çekirdek çapının 1/4'ünden geniş olmayan düzgün köprülerle bağlanmış olmalıdır,
5. BN hücredeki iki ana çekirdek birbirine değebilir ama ideal olarak birbirinin üzerine geçmiş şekilde olmamalıdır,
6. BN hücrelerin sitoplazma sınırları ya da zarı hasar görmemiş olmalı ve birbiriyle çakışan hücrelerin sitoplazma sınırlarından net olarak ayırt edilebilir olmalıdır (Şekil 2.6).



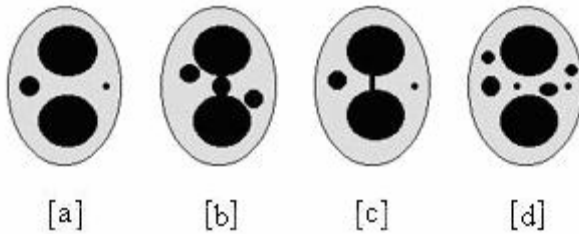
Şekil 2.6 Binükleat hücreler (44)

Mikronükleus Sayımı İçin Gerekli Olan Kriterler

Mikronükleuslar yapısal olarak ayırtedilebilir özelliktedirler, fakat ana çekirdekten daha küçüktürler. Mikronükleus tekniği ile değerlendirmede sayım kriterleri çok önemlidir. Sadece sitoplazması korunmuş binükleat hücreler ve bunlardaki mikronükleuslar sayılmalıdır.

Bir mikronükleusun sahip olması gereken karakteristik özellikler şunlardır (44):

1. İnsan lenfositlerindeki MN çapı, ana çekirdeğin 1/3'ü ile 1/16'si arasında değişiklik gösterebilir,
2. MN, ana çekirdek ile aynı yapı ve boyanma özelliklerine sahip olmalıdır. Parlama yapmamalıdır,
3. MN, ana çekirdek ile bağlantılı olmamalıdır,
4. MN, ana çekirdeğe değebilir fakat ana çekirdek ile çakışmamalıdır ve sınırları belirgin olmalıdır,
5. Yuvarlak veya yuvarlağa çok yakın bir şekilde olmalıdır (Şekil 2.7).



Şekil 2.7 Mikronükleus içeren Binükleat hücreler (44)

2.5.2 Mikronükleus Tekniğinin Avantajları

1. Analizi kolay ve hızlı bir yöntemdir.
2. Genellikle büyük radyasyon kazaları gibi ciddi sağlık problemleri beklenen olaylarda, çok sayıda kişinin hızlı bir şekilde doz düzeylerinin belirlenmesinde,
3. Nükleer tesislerde çalışan kişilerin iş öncesi kontrolleri ile klastojenik ajanlara duyarlılığı olanların önceden saptanmasında,
4. Kanserli hastaların tedavisinde radyoterapi ve kemoterapiye karşı kişisel duyarlılık farklılığının belirlenmesinde,
5. Radyasyon gibi fiziksel etmenler ile kimyasal olarak kromozomları etkileyen maddelerin etkileşimlerinin araştırılmasında tercih edilmektedir.

2.5.3. Mikronükleus Tekniğinin Dezavantajları

1. Yüksek dozlarda hücre bölünmesinin gecikmesi, hücre ölümü ve bir MN içine birden çok kromozom parçasının dahil olabilmesi nedeniyle doz değerlendirmesinde yetersiz kalabilmektedir,
2. MN, radyasyon dışı nedenlerle de oluştuğu için düşük dozlarla ışınlamalarda ve spontan oluşum sıklığının bilinmediği durumlarda güvenilirlik azalmaktadır.

Sonuç olarak, periferik lenfositlerde MN tekniği, fiziksel ve kimyasal ajanların biyolojik etkilerinin sitogenetik yöntemlerle araştırılmasında oldukça kolay ve hassas bir teknik olarak literatürde yerini almıştır (36, 44- 47).

2.5.4. Mikronükleus Analizinin Biyolojik Dozimetri Amacıyla Kullanımı :

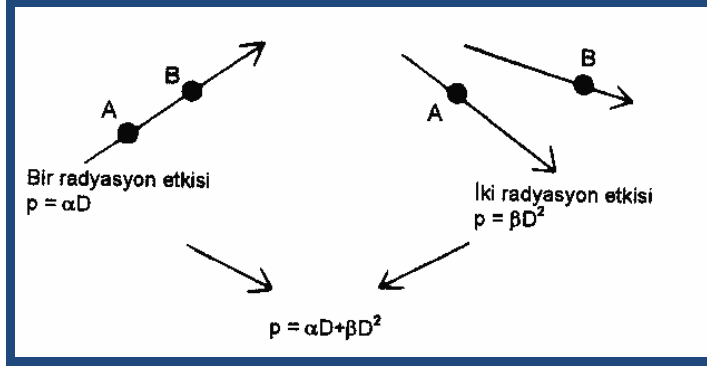
Biyolojik dozimetri amaçlı in vitro çalışmalar iki nükleuslu hücrelerde sayılan MN'ların miktarı ile absorbe edilen radyasyon dozu arasında doz- cevap ilişkisini göstermiştir. Bu amaçla oluşturulan eğriler radyobiolojide absorblanan radyasyon dozu ile sağ kalan hücrelerin arasındaki ilişkiyi gösteren sağ kalım eğrileri baz alınarak elde edilmiştir.

Radyobiyojik açıdan; iyonlaştırıcı radyasyon etkisi ile hücre ölüm oranının, sağ kalabilen hücrelerin oranının gösterilebilmesi önemlidir. Radyasyon dozu ile sağ kalan

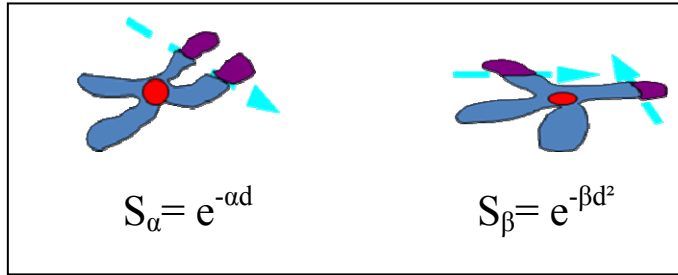
hücreler arasındaki eksponansiyel ilişki radyasyon etkisi ile meydana gelen hücre ölümünün rastgele olduğunu gösterir. Yani radyasyon dozundaki herhangi bir birim artış, canlı kalan hücrelerin oranında bir birim azalmaya yol açar. Bu tür bir ilişkinin varlığı sadece yarı logaritmik çizilen sağ kalım eğrilerinde görülebilir. Ayrıca bu tür eğrilerin şekilleri değerlendirilerek ait oldukları hücrelerin radyasyon duyarlılıkları ile ilgili kantitatif verileri elde etmek de mümkündür. Bu sebeple radyobiyojide sağ kalım eğrileri yarı logaritmik olarak çizilir (14).

Memeli hücrelerine değişik radyasyon dozlarının uygulanması ile elde edilen sağ kalım eğrileri, ilk kez 1956 yılında Puck ve Marcus tarafından in vitro koşullarda yetiştirilen ve ışınlanan hücrelerde gösterilmiştir.

Hücre ölüm modellerinin açıklanmasında 1946 yılında Lee tarafından geliştirilen ‘Hedef teorisi’ birçok radyobiyojik görüşün temelini oluşturmaktadır. Bu teori, hücrelerde hedef adını alan çeşitli kritik moleküllerin veya bölgelerin bulunduğunu ve hücrelerin ölmesi için, radyasyon tarafından bir vuruş meydana gelmesi sonucunda bu hedeflerin inaktif hale geçmesinin gerekli olduğunu ileri sürmektedir. Teoriye göre bu hedeflere bir vuruş olmaz ise, hücre radyasyondan etkilenmez ve sağ kalır. Lineer-kvadratik model ise radyasyon etkisi ile hücre ölümünün iki komponenti olduğunu ileri sürer. Bunlardan bir tanesi dozla, bir tanesi de dozun karesi ile orantılıdır. Bu görüş Kellere ve Rossi tarafından geliştirilen dual radyasyon etkisi teorisine dayanır. Bu teoriye göre biyolojik etkiyi oluşturan lezyonlar sublezyonlar arasındaki etkileşimler sonucunda meydana gelir. Bunun için en az iki sublezyon gereklidir ve bunlar hedeften bir ya da iki radyasyonun geçmesi sonucunda oluşurlar. Burada α parametresi düşük dozlarda başlangıçtaki eğimi ifade eder ve tek radyasyon izi boyunca meydana gelen etkinin olasılığını belirler. β ise iki radyasyon izi boyunca oluşan etkinin olasılığını aksettirir (Şekil 2.8) (14, 24).



Şekil 2.8a A ve B sublezyonlarının tek ve iki radyasyon etkisi ile oluşumu. İki sublezyonun bir letal lezyon oluşturacak şekilde etkileşim olasılığı; $p = \alpha D + \beta D^2$ şeklindedir.



Şekil 2.8b Lineer quadratik modelde sağ kalım

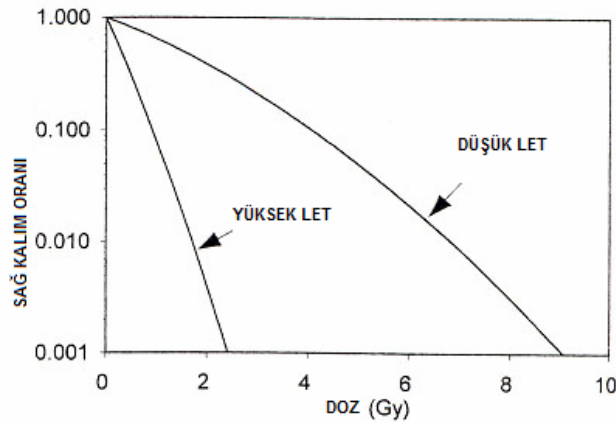
Lineer- quadratik modelde sağ kalım; $S = S_{\alpha} S_{\beta} = e^{-\alpha d + \beta d^2}$

$d =$ Doz (Gy)

α (Gy⁻¹) = Radyasyon etkisi altında kalan hücre popülasyonunun tek vuruşta kendini yenileyemeyen komponentidir (lineer ifade, eğrinin başlangıç eğimini verir).

β (Gy⁻²) = Birçok vuruştan sonra çoğalmayı duran, ancak bu aralarda kendini yenileyebilen komponentdir (quadratik ifade, final eğimi verir).

Lineer Quadratik modele uyan sağ kalım eğrileri eksponansiyel bölge içermeyen, sürekli kavisli eğrilerdir (Şekil 2.9).



Şekil 2.9 Lineer-kvadratik modele uyan sağ kalım eğrisi (14)

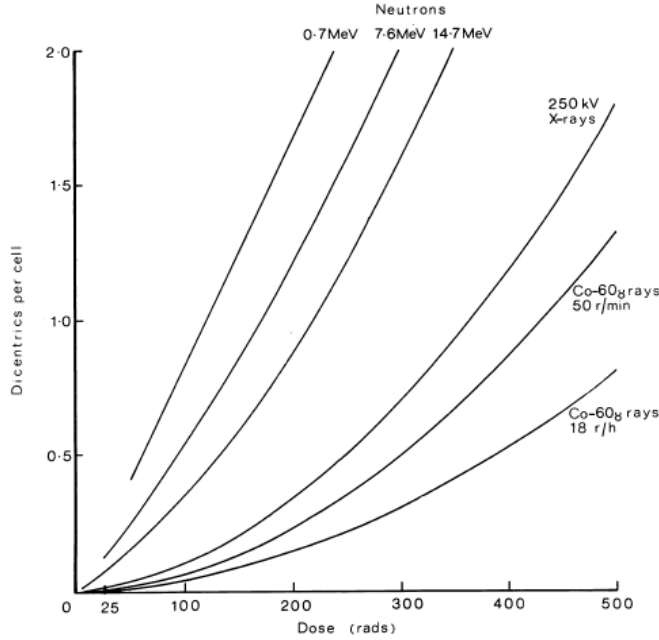
Logaritmik olarak çizilen sağ kalım eğrileri, düşük dozlarda bir omuz bölgesine sahipken, yüksek dozlarda ise eksponansiyel karakter gösterirler.

Yüksek LET değerlerinde letal olaylar dozla lineer olarak birikirler, elektronlar gibi düşük LET değerli radyasyonlarda ise, letal olaylar dozun karesi ile birikirler. Bu durumda kritik bölgelerin inaktivasyonunun iki ayrı elektron tarafından gerçekleştirildiğini söylemek mümkündür. Hücre hasarının tamir süreci de düşük ve yüksek LET değerli radyasyonlar için farklıdır. Düşük LET'li radyasyonlarda bir seri enzimatik olaylar neticesinde DNA'nın kendini tamir etmesi ve hasarlı bölgenin çıkarılarak hasarsız bölgenin bilgilerinin kopyalanması sonunda hücre tamir edilecektir. Böylece yaşam eğrisi daha yatay olacaktır. Yüksek LET li radyasyonlarla ise hücre içindeki bireysel hedef molekülleri içindeki yoğun iyonizasyon tamir yeteneğini ortadan kaldırır (14).

Biyolojik dozimetri amacıyla *in vitro* elde edilen doz yanıt eğrileri de yarı logaritmik özelliktedir.

In-vitro ışınlanan lenfositlerin yaklaşık olarak *in-vivo* ile benzer doz- yanıt ilişkisi gösterdiği saptanmıştır (48). Bu da MN analizi'nin biyolojik dozimetri olarak hizmet etme potansiyelinde olduğunu ortaya koymuştur. Değişik radyasyon kaliteleri, doz ve doz hızlarında *in-vitro* koşullarda elde edilmiş çok sayıda doz-cevap eğrisi bulunmaktadır. MN doğal oluşum sıklığının farklı olması, 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.

Absorbe radyasyon dozunun miktarı o tipteki kontrol doz- cevap eğrilerinden faydalanılarak bulunmaktadır (Şekil 2.10).



Şekil 2.10 Disentrik aberasyon verimi için farklı radyasyon tiplerinde çizilmiş in vitro doz yanıt eğrileri örneği (49)

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

Burada; Y= Aberasyon verimi, A= geri plan frekansı D= Gy cinsinden biyolojik doz karşılığıdır.

Kontrol doz- cevap eğrileri daha önce radyasyonla çalışmamış ya da herhangi bir şekilde radyasyona maruz kalmamış sağlıklı bireylerden alınan kanların akut ve homojen ışınlanmaları sonucunda oluşturulur. Biyolojik dozimetri 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. Çünkü radyasyon kazaları genelde bu dozlar arasında meydana gelir (23).

MN'ların verimi yüksek dozlarda bir MN içinde birden çok sayıda kromozom hasarı yoğunlaştığı için ve ayrıca radyasyon dışı nedenlerle de oluştuğu için düşük dozlu ışınlanmalarda ve ışınlama öncesi MN sıklığının bilinmediği durumlarda düşmektedir (23, 49, 50).

2.6. FİZİKSEL DOZİMETRİ:

MIRD (Medical Internal Radiation Dose):

Radyonüklidler vücutta çok çeşitli şekillerde dağılım gösterirler. Genel olarak radyoaktivitenin büyük bir kısmının bulunduğu organa **kaynak organ**, absorbe ettiği radyasyonu ölçmek istediğimiz organa da **hedef organ** adı verilir. Nükleer tıp tetkiklerinde kullanılan radyoaktif maddelerin vücutta bir veya daha fazla kaynak organ ve hedef organda yayılan radyasyon dozu (MIRD) Amerikan Nükleer Tıp Derneği bünyesindeki radyasyon komitesinin önerdiği yöntemle hesaplanmaktadır. Bu yöntemle göre enjekte edilen radyofarmasötüğün belirli bir organa verdiği radyasyon dozunu hesaplamada bazı faktörler göz önünde bulundurulur. Bunlar:

- 1- Enjekte edilen aktivitenin miktarı,
- 2- Radyonüklidin yaydığı ışınların tipleri,
- 3- Hedef organın ağırlığı,
- 4- Radyonüklidin vücuttaki dağılım şekli,
- 5- Kaynak organ ile hedef organ arasındaki dokuların geometrisi (boyut, şekil ve mesafe)
- 6- Kaynak organda biriken radyasyon enerjisinin toplam miktarı ve toplanma süresi
- 7- Kaynak organdan yayılan radyasyonun hedef organ tarafından absorbe edilen miktarı
- 8- Radyonüklidin efektif yarı ömrü gibi çeşitli biyolojik ve fiziksel faktörlerdir.

Kaynak organda biriken radyasyon enerjisinin toplam miktarı; radyonüklidin bilinen fiziksel özelliklerini içerir. Kaynak organdan yayılan radyasyonun hedef organ tarafından absorbe edilen miktarı ise organların anatomik yerleşimleriyle ilgili geometrik faktörleri içerir. Radyoaktivitenin toplamı ve kaynak organda radyoaktivitenin toplanma süresinin belirlenmesi zordur. Bu nedenle ilgili kriterler daha önceden yapılan hayvan çalışmaları ile tespit edilir. Organların anatomik yapısı ve geometrik yerleşimleri hastadan hastaya değişiklik gösterir. Bu nedenle standart modeller üzerinde çalışılarak radyasyon dozları belirlenir (51, 52).

Absorbe edilen doz şu formülle hesaplanır:

$$D = \bar{A} / m v \times \Delta \times \Phi$$

D= absorbe edilen doz(rad)

Formülde geçen doz birimleri aşağıda açıklanmaktadır;

Absorplanmış doz birimi rad; ışınlanan maddenin 1kg'ına 10⁻² joule'lik enerji veren radyasyon miktarıdır. SI birimleri sisteminde absorplanmış doz birimi olarak Gray (Gy) kullanılmaktadır ki; ışınlanan maddenin 1 kg'ına 1 joule'lik enerji veren radyasyon miktarıdır.

Farklı iyonlayıcı radyasyonların meydana getirdiği biyolojik etkiler de farklıdır. Etkileştiği maddede aynı miktar enerji absorpsiyonu bırakan farklı karakterdeki radyasyonlar aynı biyolojik etkiyi doğurmayabilir. RBE farklı radyasyonların oluşturduğu biyolojik etkilerin değişik olduğunu göstermek için kullanılır. RBE'ler genellikle tam sayı olmadığından, bunların tam sayılara çevrilmiş şekli kalite faktörü (KF) olarak kullanılır.

Biyolojik doz birimi olan rem ise, 1 röntgenlik X veya gama ışınlarının meydana getirdiği aynı biyolojik etkiyi meydana getiren herhangi bir radyasyon miktarıdır. Absorplanmış doz (rad) * KF olarak tanımlanabilir. Gama ve X ışınları için KF değeri 1 olduğundan rad ve rem cinsinden hesaplanmış doz miktarları birbirine eşit kabul edilebilir. SI birimleri sisteminde doz eşdeğeri birimi Sievert (Sv) olup; 1 Gy'lik gama ya da X ışınları ile aynı biyolojik etkiyi oluşturan herhangi bir radyasyon miktarıdır. Gama ve X ışınları için Gy ve Sv birbirinin yerine kullanılabilir (9, 10).

Absorbe doz formülümüzdeki parametreler şu şekildedir;

\bar{A} = kümülatif aktivite (zaman integral aktivitesi)

Mv= hesaplanan organın ağırlığı(gr)

Δ = her bir nükleer bozunma başına yayılan radyasyonun ortalama enerjisi

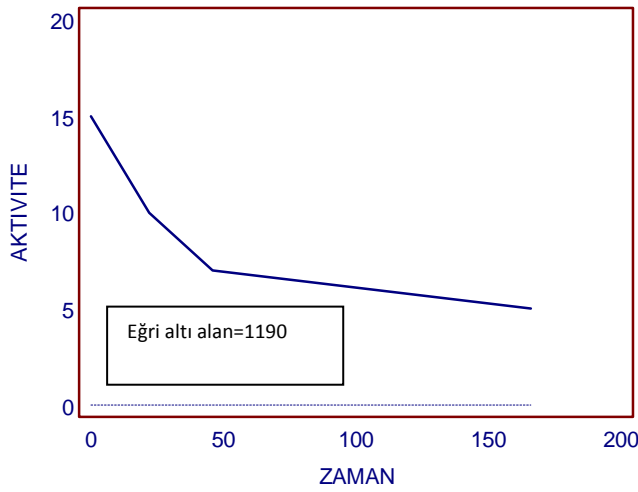
Φ = hedef organ tarafından absorbe olunan enerji fraksiyonu

Kümülatif (birikmiş) Aktivite: Hedef organın maruz kaldığı radyasyon dozu, kaynak organda biriken aktivitenin miktarına ve süresine bağlıdır. Miktar ve süre kavramları birlikte kaynak organda “birikmiş aktivite” olarak bilinir. Bir organdaki

mevcut aktivite miktarı genellikle organda zaman ile değişen fiziksel parçalanma, biyolojik tutulum ve atılım olayları ile değişir. Şayet zaman aktivite eğrisi bilinirse, birikmiş aktivite bu eğrinin kapattığı alan içinde ölçülebilir. Eğri altında kalan alan, fiziksel yarılanma süresinin 1.44 katı ile A_0 başlangıç aktivitesinden çizilen doğrularla koordinat eksenleri arasında kalan dikdörtgenin alanına eşittir. Bu da hesaplamalarda oldukça kolaylık sağlamaktadır. T_e ise; efektif yarı ömrü ifade etmektedir (Şekil 2.11).

Birikmiş aktivitenin matematiksel ifadesi: $\bar{A}(\mu\text{Ci-saat}) = \int A(t)dt$ ile verilir.

$$\bar{A} = 1.44 \times A_0 \times T_e$$



Şekil 2.11 Kümülatif aktivite hesabı: Birikmiş aktivite eğri altında kalan alanın hesaplanmasıyla bulunabilir. (şekilde çalışmaya alınmış olan bir hastada eğri altı alan hesaplama örneği verilmektedir).

Δ = her dizentegrasyonda yayılan enerji miktarıdır. Radyoaktif maddenin yaydığı, gerek penetre olabilen (X ya da gama ışınları), gerekse penetre olmayan (alfa, beta ışınları, pozitronlar, konversiyon elektronları gibi) bütün enerjiler göz önünde bulundurulur. Bunların hesaba katılabilmesi için oluşan tüm ışınların fraksiyonel bollukları (n_i) ve bunların ortalama enerjileri (E_i : meV) bilinmelidir.

$$\Delta = 2.13 \times n_i \times E_i = \text{gram} \times \text{rad} / \mu\text{Ci} \times \text{saat}$$

Φ = hedef organın absorbe ettiği enerji fraksiyonudur. Bu fraksiyon kaynak organ tarafından yayılan radyasyon enerjisinin hedef organ tarafından absorbe edilen oranını gösterir. Penetre olmayan radyasyonlar 1 cm içinde tüm enerjilerini kaybettiklerinden, bunların absorbe edilen fraksiyonları daima 1'dir. Penetre olan radyasyonlarda ise

radyonüklidin konsantre olduğu organ ve dokularda sadece kısmi absorpsiyon oluşur. Bunu hesaplamak için standart bir insan fantomundan yararlanılır.

Oldukça karmaşık olduğu görülen bu matematiksel hesaplamaları kolaylaştırmak için MIRD tarafından yaklaşık 110 radyonüklid ve 20 kaynak/ hedef organ kombinasyonu için S- tabloları yapılmıştır. Bu tablolarda her radyonüklid için kaynak organın hedef organa etkisi belirli katsayılarla belirlenmiştir (51- 54).

Buna göre absorbe doz; $D = \bar{A} \times S$ eşitliği ile verilir. Bu eşitlikteki S değeri kaynak organdan hedef organa (h←k) standart tablolardan alınan değerdir (rad / μCi -saat) (Tablo 2.1).

Kaynak Organ	Hedef Organ	S-Değeri (rad / μCi -saat)
Mesane	Mesane	1.2×10^{-3}
Mide	Mide	9.7×10^{-4}
Böbrek	Böbrek	1.5×10^{-3}
Böbrek	Adrenal	3.2×10^{-5}
Böbrek	Dalak	2.4×10^{-5}
Tiroid	Tiroid	2.2×10^{-2}
Tiroid	Tüm vücut	9.5×10^{-6}
Tiroid	Akciğer	2.9×10^{-6}
Tiroid	Kemik iliği	2.4×10^{-6}

Tablo 2.1 I-131'e ait S tablosu örneği

MIRD İLE ABSORBE DOZ ÖLÇÜMÜNÜN LİMİTASYONLARI:

MIRD ile absorbe doz ölçümünde bazı limitasyonlar bulunmaktadır. Şöyleki; her bir organın homojen dansite ve kompozisyonda olduğu farzedilmektedir. Örneğin böbrek modeli korteks ve medulla şeklinde bölünmemiştir. Ayrıca radyoaktivitenin

standart organ alanında homojen dağıldığı varsayılırken, pek çok kişide dağılım farklıdır. Bremsstrahlung radyasyonu gibi minör doz katılımları, ayrıca düşük enerjili fotonlar ve tüm partiküler radyasyonlar için lokal absorpsiyon göz ardı edilmektedir (51, 52).

2.7. TEDAVİ AMAÇLI RADYASYON KULLANIMI

Tıpta radyoaktif izotoplar ve radyoaktif ışınlar çeşitli hastalıkların tanısı ve tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla çeşitli oluşumların vücuttaki yerlerini saptamak için radyasyondan yararlanan radyoloji, fizyolojik görüntüleme için radyoaktif izotoplardan yararlanan nükleer tıp ve radyasyonla tedaviye yönelen radyasyon onkolojisi, bu yaygın uygulamaları kapsayan alanlardır.

2.7.1. RADYOTERAPİ:

Radyasyon onkolojisi; kanser ve bazı benign hastalıkları çeşitli enerji ve tipteki iyonizan radyasyonu kullanarak tedavi etmeyi amaçlayan dahili bir bilim dalıdır. Tüm kanser olgularının %60-70'i kanser sürecinin herhangi bir anında radyoterapiye gereksinim duyar (11).

Radyoterapide derindeki dokulara girebilen ve hasta hücrelerin ölümüne yol açan yüksek enerjili X ışını kaynakları, partikül akselatörleri ve ⁶⁰Co kaynaklarından elde edilen iyonlaştırıcı radyasyonlar kullanılır. Bugün bu amaçla kullanılan radyoterapi tekniklerini iki ana grupta toplamak mümkündür:

- 1- brakiterapide radyasyon kaynağı hedef kitlenin yani tümörün ya içine ya da yakınına yerleştirilir ve bir süre burada bırakılır.
- 2- teleterapide ise, tümör hastanın vücudunun dışında bulunan bir kaynaktan ışınlandırılır.

Radyoterapinin ilk basamağı; simülasyon işlemidir. Simülasyon; tedavi aygıtıyla enerji ve amaç dışında benzer fiziksel ve geometrik özelliklere sahip tanısal amaçlı bir X ışını aygıtı olan simülatör aygıtı ile hastanın tedaviden önce immobilize edilmesi, görüntülemenin yapılması ve tümör lokalizasyonunun yapılması işlemidir. Bu işlem CT, MR ve PET-CT aygıtlarıyla da yapılabilir. Konvansiyonel simülatör aygıtlarıyla yapılan simülasyon, hasta üzerinde yapıldığı için gerçek bir simülasyondur. CT, MR vb. aygıtlarla yapılan simülasyonlar ise dijital ortamda hasta olmadan yapıldığı için sanal

simülasyon adını alır. Tedavi alanı simülasyonla belirlendikten sonra tümör derinliği ve normal dokuya göre kullanılacak enerji seçilir. Derin yerleşimli tümörlerde yüksek enerjiler seçilirken, yüzeysel tümörlerde elektron enerjileri tercih edilir.

Tümör veya hedef derinliği ile tedavi alanı boyutuna göre enerji seçilir:

- Batın veya toraks gibi kalın bölgelerde yüksek enerjili X ışınları tercih edilir.
- Baş-boyun, ekstremiteler gibi kalın olmayan organlarda ^{60}Co veya 4 MeV X ışını gibi düşük enerjiler kullanılabilir.
- Hedef volüm, riskli normal dokular enerji seçiminde başlıca parametrelerdir.
- Yüzeysel yerleşimli tümörlerde genellikle elektronlar tercih edilir. Hedef volüm seçilen enerjinin %90-95 izodozunun kapsama alanında olmalıdır. Elektron tedavilerinde derin yerleşimli normal dokular korunmaktadır. Enerjinin üçte biri derinlikten, elektron enerjisine ait %85-90 izodoz geçer. Gerekliğinde yüzeysel dozunu artırma amaçlı bolus kullanılabilir.

Hedef volümün tanımlanması:

Radyoterapide başarılı bir tedavi tümörlü doku ya da organ için uygun tedavi tekniğinin belirlenmesine ve bu tekniğin doğru uygulanmasına bağlıdır. Böylece tümörü oluşturan hücreler ortadan kaldırılırken korunması gereken sağlıklı dokular minimum düzeyde zarar görmektedir. Tedavi parametrelerini belirleyebilmek ve tümör yerleşimi ile yayılımını tedavi planlamasında doğru tanımlayabilmek için, ICRU(International Commission on Radiation Units and Measurements) tarafından raporlar yayınlanmıştır. ICRU 50 ve 62 raporlarında volüm tanımları yapılmıştır (11).

Radyoterapinin günlük dozlara bölünerek uygulanması fraksiyone radyoterapi olarak tanımlanır. Tek ve yüksek dozda radyoterapi uygulamalarının tümöre etkinliğinin az ve yan etkisininse çok ciddi olduğunun anlaşılmasından sonra, bölünmüş dozlarla radyoterapi çalışmaları başlamıştır.

Fraksiyone radyoterapiye karşı normal ve neoplastik dokuların yanıtını etkileyen biyolojik faktörler Withers'in 1975 yılında tanımladığı ilk dört R olan 'Onarım'(Repair), 'Yeniden dağılım' (Reassortment yada Redistribution), 'Yeniden çoğalma' (Repopulation), 'Yeniden oksijenlenme' (Reoxygenation) ve sonradan eklenen 5. R Radyosensitivite (intrinsic radiosensitivite) şu şekilde ifade edilmektedir.

1- ONARIM (REPAIR)

Radyasyon etkisi ile oluşan hücre inaktivasyonunu açıklayabilmek için 1946 yılında Lee tarafından geliştirilen hedef teorisi temel alınmaktadır. Bu teoriye göre düşük dozlarda radyasyon hücrenin ölmesi için tüm hedeflere isabet edememiştir. Burada hedeflerin bir kısmı ölmüş, ancak bir kısmı tahrip olmuştur. Bu tip hasara subletal hasar denir. Subletal hasar görmüş hücreler doz uygulamaları arasında kendilerini onarma imkanı bulurlar.

2- YENİDENDAĞILIM (REASSORTMENT, REDISTRIBUTION)

Birbirini izleyen iki mitoz bölünme arasında geçen süreye 'mitotik siklus' ya da daha yaygın olarak 'hücre siklusu' adı verilir. Mitotik siklusun her fazının radyasyona yanıtı farklıdır. Mitoz fazı hücrenin radyasyona en duyarlı olduğu fazdır. G2 fazıda muhtemelen mitoz fazı kadar duyarlıdır. Sentez fazı ise en dirençli olduğu fazdır. Radyoterapi fraksiyone dozlarda verildiğinde, iki fraksiyon arasında S fazındaki hücreler giderek daha duyarlı olan G2 ve M fazına doğru ilerlerler. Böylece daha yüksek oranda hücre ölümü gerçekleştirilir.

3- YENİDEN ÇOĞALMA (REPOPULASYON)

Bir dokuda proliferasyon safhasında hücreler radyasyona uğrar ve ölürlerse onların yerini tamamlamak için yeni hücreler geçer. Bölünen kök hücreler sayıyı yeniden arttırlar.

4- YENİDEN OKSİJENLENME (REOKSİJENASYON)

Fraksiyonlar arasında hipoksik hücrelerin oksijenlenmesi sonucunda hücreler radyasyona daha duyarlı hale gelirler. Oksijenlenmiş hücrelerin X ışınlarına duyarlılığı 2-3 kat artmıştır.

5-RADYOSENSİTİVİTE

Radyosensitivite; ışınlamaya bazı tümörlerin diğerlerinden daha duyarlı olmasıdır.

Radyoterapide kullanılan fraksiyonasyon mantığı radyobiyojinin 5-R sine dayanmaktadır. Toplam radyasyon dozu küçük fraksiyonlara bölüldüğünde iki fraksiyon arasındaki süre, yeteri kadar uzunsa normal dokular subletal hasarın onarımı ve yeniden çoğalma ile kendilerini korurlar. Tümör ise, fraksiyonlar arasında olan yeniden dağılım ve yeniden oksijenlenme ile daha fazla hasara uğrar.

Radyobiyojik olarak 5-R radyoonkolojide normal ve neoplastik dokuların fraksiyone radyoterapiye karşı yanıtını etkileyen biyolojik faktörlerin yansıdığı kompleks bir antitedir (11, 14).

2.7.2. NÜKLEER TIP UYGULAMALARI

Sintigrafik tetkik, eser düzeyde radyoaktif bir maddenin genellikle damardan enjeksiyonu sonrası fizyolojik bir fonksiyonun görüntülenmesidir. Fizyolojik görüntüleme; bir organın görevini yaparken bazen ihtiyaç duyduğu bir maddeyi (veya benzerini) kullanmasından yararlanarak, bazen kanlanmasından yararlanarak işleyişinin takibi ve bu durumun görüntülenmesidir.

Nükleer tıp tarihçesi 1800'lü yılların başında İngiliz kimyager John Dalton'un atom teorisini ortaya atmasına, Alman Wilhelm Konrad Roentgen'in 1895'de X ışınlarını bulmasına, 1928'de Amerika'da Ernest Lawrence'ın siklotronu yapmasına kadar uzanmaktadır. Nükleer tıp gelişimindeki en önemli adım 1934 yılında Marie Curie'nin yapay radyoaktiviteyi keşfetmesidir. Ancak birçok tarihçi nükleer tıbbın gerçek başlangıcı olarak radyoaktif iyodun toksik guatr tedavisinde kullanılmaya başlandığı 1940'lı yılları göstermektedir. İlk olarak Hertz ve Roberts, aynı zamanlarda Hamilton ve Lawrence I-131 ile hipertiroidi tedavisini rapor etmişlerdir (55- 57). Bu radyonüklidin kullanımı günümüze kadar önemli ölçüde artmış olup, nükleer tıpta kullanılan tüm tedavilerin yaklaşık %90'ını kapsamaktadır (58).

Halen nükleer tıp görüntülemelerinde en sık kullanılan radyoaktif madde olan teknesyum yapay olarak 1937 yılında üretilmiş, 1965 yılından sonrada ticari üretim, dağıtım ve kullanımı başlamıştır. Takip eden yıllarda karaciğer-dalak ve beyin görüntülemesinde kullanılan ajanlar bulunarak nükleer tıp günümüze kadar süren hızlı gelişmesine başlamıştır.

Tanı ve tedavi amacıyla kullanılan radyoaktif maddelere radyofarmasötik denir. Nükleer tıpta radyofarmasötiklerin ancak %5 gibi küçük bir miktarı tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Radyofarmasötikler, farmakolojik etkileri olmadığı için diğer ilaçlardan farklıdır. Tanı amacıyla vücuda eser miktarda verildiklerinden doz- cevap ilişkisi de göstermezler (59).

Radyofarmasötiklerin çoğu işaretli bileşiktir. Yani radyoizotop ile bioaktif bir bileşenin (kit) birleştirilmesi ile oluşturulmuştur (Tc99m bileşikleri gibi). Bunun yanında bir element (I-131) veya bir iyon (Tc99mO₄) formunda radyofarmasötik olabilir. İşaretli bileşik durumunda radyofarmasötiğin iki bileşeni vardır. Bunlar; radyonüklid ve farmasötiktir.

Nükleer tıpta tedavi amaçlı olarak kullanılan en yaygın radyonüklid iyot-131'dir. Hipertiroidi ve tiroid kanseri tedavisinde rutin olarak kullanılmaktadır (59).

Burada çalışma gruplarını oluşturan; I-131 ile tiroid ablasyon tedavisi, hipertiroidi tedavisi ve I-131 ile tarama bulgularından kısaca bahsedilecektir.

I-131 ile Tiroid Ablasyon Tedavisi:

Nodüler guatr kadınlarda erkeklerden 4 kez daha sık görülür. Tiroid kanserlerinde ise bu oran 2/1 'dir. İyi diferansiye tiroid kanserlerinde tedavinin amacı; uzun süreli hastalısız bir yaşam sağlamak ve sağlıklı yaşamın kalitesini arttırmaktır. Bu bağlamda iyi diferansiye tiroid kanserinde 3 aşamalı bir tedavi protokolü uygulanır:

- 1- Tiroid operasyonu
- 2- Bakiye tiroid dokusunun radyoablasyonu
- 3- TSH supresyonu

Radyoaktif iyot (I-131) epitelyal kökenli iyi diferansiye papiller ve folliküler tiroid kanserlerinin tedavisinde 50 yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır. Mazzaferi ve ark. (60) total tiroidektomi + I-131 tedavisi + T4 supresyon tedavisi kombinasyonunun tiroid kanser hastalarının yaşam sürelerini uzatan ve nüks oranlarını azaltan en uygun seçenek olduğu vurgulamışlardır.

I-131'in fiziksel özellikleri: I-131 nükleer santrallerde uranyumun fisyonu sırasında telluriumun nötronlarla bombardımanı sonucunda elde edilir. Yarı ömrü 8,02 gündür. Beta bozunması ile Xenon 131'e parçalanır. Bozunması sırasında ortaya çıkan beta partiküllerinin minimum enerjisi 69 kiloelektronvolt (keV), ortalama enerjisi 190 keV, maksimum enerjisi 606 keV'dir. 364 keV enerjiye sahip gama emisyonu bu bozunma sırasında ortaya çıkan, görüntüleme için kullanılan ve çevreyi etkileyen esas radyasyondur.

Radyobiyojik prensipler: I-131'in beta partikülleri doku içerisinde 0,08- 2,3 milimetre (mm) arasında ilerleyebilirler. Genel olarak bütün beta partikülleri doku

içerisinde ilerlerken mikrometre başına ortalama 0,2 keV düzeyinde enerji transfer ederler. Bu düzey alfa partikülleri ve auger elektronları ile kıyaslandığında oldukça düşüktür. Ancak doku içerisinde milimetreyi geçen ilerleme mesafesine sahip olduklarından birçok hücreyi etkileri altına alırlar. Hücrelerin öldürülebilmesi için çok sayıda beta partikülüne ihtiyaç vardır. Bunun en önemli sebebi partikül başına transfer edilen enerjinin hücrenin öldürülebilmesi için çok düşük düzeyde kalmasıdır. Hücrelerin çok sayıda beta partikülü ile karşı karşıya kalmalarını sağlayan yine kendileridir. Bir tümör kitlesi çok sayıda hücreden oluşmaktadır ve hücreler ortamdan yakaladıkları I-131'in beta partikülleri ile birbirlerini etkilerler. Dolayısıyla bir hücre birçok hücreden gelen beta partikülünün enerjisine maruz kalarak hem ölür hem de kendisinden saçılan beta partikülleri ile diğerlerinin ölümüne katkıda bulunur. Bu olaya çapraz ateş etkisi denir. Çapraz ateş beta partikülleri ile tedavinin temel ilkesidir (59).

Radyasyonun oluşturduğu moleküler etkiler: Radyasyon temel etkisini DNA üzerinde gösterir. DNA'da oluşabilecek hasarlar tek zincir kopması, baz hasarı, DNA-protein çapraz bağlantısı olabilir. Bu hasarlar radyasyonun direkt iyonizan etkisi ya da serbest radikaller aracılığı ile olabilir. DNA'da çift zincir kopması birim mesafede enerji transferleri çok yüksek olan alfa partikülleri ya da auger elektronları ile gerçekleşir (61).

Tedavi dozunu belirlemede genel yaklaşımlar

Öncelikle tedavi öncesi diyetten yüksek miktarda iyot içeren yiyecekler çıkarılmalı, iyot içeren ilaçlar kesilmeli, dahili ya da harici iyot kullanılan medikal uygulamalardan kaçınılmalıdır. Hem benign tiroisitlerde hem de malign tiroisitlerde tiroid stimüle edici hormon (TSH) uyarısı iyot tutulumunu artırır. TSH'nın tedavi öncesi 30 mU/ml değerine ulaşması istenir. Bu amaca ulaşmak için totale yakın tiroidektomi operasyonu sonrasında levotiroksin (LT4) ya da T3 verilmeden 4-6 hafta beklenebilir. LT4 tedavisi alan hastalarda; LT4 radyoaktif iyot tedavisinden 1 ay önce kesilmelidir. Bu hastalarda hipotiroidinin belirtilerini azaltmak için kısa süreli T3 verilebilir. T3 radyoaktif iyot tedavisinden 2 hafta önce kesilmelidir. Rekombinan tiroid stimüle eden hormon (rhTSH) enjeksiyonu ile eksojen yoldan da TSH yükseltilebilir.

Radyoaktif iyot tedavisi dozu belirlenirken 3 farklı yaklaşım söz konusudur. İlki ampirik sabit doz yöntemi, ikincisi kantitatif dozimetre yöntemi, üçüncüsü kan dozimetresi yöntemidir.

Ampirik sabit doz uygulamasına göre ablasyon tedavisinde 30-100 mCi, lokal ilerlemiş tiroid karsinomunda 150-200 mCi, lenf nodu metastazlarında 100- 175 mCi, uzak metastazlarda 200 mCi, milier – mikro nodüler akciğer metastazlarında 150 mCi verilmesi uygun bulunmuştur.

Kantitatif dozimetre yöntemine göre radyoaktif iyot tedavisinde verilecek dozun belirlenmesinde hedefteki kitleye uygulanması gereken radyasyon gözönünde bulundurulur. Başarılı ablasyon için bakiye dokunun 300 Gy ve üzerinde radyasyona maruz kalması gerekir. Metastatik tümör kitlesinin ortadan kaldırılması için 80 Gy ve üzerinde radyasyona maruz kalması gerekir. 35 Gy ve altında kalan dozlarda radyoaktif iyot tedavisinden fayda sağlanamaz.

Kan dozimetresine göre verilecek radyoaktif iyot tedavisinde doz seçimi kanın maruz kalacağı radyasyona ve 48 saat sonra vücutta kalacak radyoaktif iyot dozuna göre belirlenir. Kanın maruz kalacağı radyasyon dozu 2 Gy ve altında olmalıdır. 48 saat sonra vücutta kalacak radyoaktif iyot 120 mCi'nin altında kalmalıdır (62).

Rekürrens ya da rezidüel hastalığın gösterilmesinde I-131 ile tüm vücut sintigrafisi: Supresyon tedavisi ya da TSH uyarısı altında tiroglobulin (Tg) değerinde yükseklik saptanan hastalarda yüksekliğe neden olabilecek tümör dokusunu göstermek için I-131 ile tüm vücut sintigrafisi kullanılabilir. Tetkik öncesinde rhTSH enjeksiyonu ya da endojen yolla TSH yükseltilmelidir. Verilen I-131 dozu 1-10 mCi arasında değişebilir. 24, 48, gerekirse 72.saatte tüm vücut tarama yapılır. Düşük doz I-131 ile tüm vücut sintigrafisinin duyarlılığı %40-80, özgüllüğü %90-100 arasındadır. I-131 yerine I-123 kullanıldığında testin duyarlılığı %75-95'e yükselmektedir (63). Gallowitsch ve ark. (64) 5 mCi I-131 ile tüm vücut taramasının duyarlılığının hastalığın lokalizasyonuna göre farklılık gösterdiğini saptamışlardır. Duyarlılıklar; lokal rekürrenste; %57, lenf nodu metastazlarında; %22, mediasten metastazlarında; %50, akciğer metastazlarında; %43, kemik metastazlarında; %54'tür.

I-131 ile tüm vücut sintigrafisinde tutulum gösteren alanlar normal tiroid dokusu ve maligniteleri için çok spesifiktir. Ancak koroid pleksus, tükürük bezleri, mide ve böbreklerde normal olarak tutulabilir. Üst ve alt gastrointestinal sistemde, üriner sistemde normal olarak dağılabilir. Tg aracılığı ile karaciğere ve safra sistemine ulaşabilir. Terleme idrar bulaşıkları ve baş boyun bölgesindeki sekresyonların cilde yayılması ile anormal

bulgular oluşturabilir. Nedeni henüz ortaya konulamamakla birlikte birçok tümör, kist, enfeksiyon ve enflamasyon alanında birikim gösterebilir (65).

Hipertiroidi Tedavisi

Radyoaktif iyot tedavisi; toksik nodüler guatr, komplikasyonlu guatr, basedow hastalığında tercih edilebilmektedir. Hasta tercihi, yaşlı hasta, antitroid ilaçların kesilmesinden sonra nüks olması, cerrahi veya medikal tedavinin kontrendike olması endikasyonlar arasındadır.

Kalp hastalığı olanlarda, bezi büyük olanlarda ve şiddetli hipertiroidizmi olanlarda antitroid ilaçla hastayı önceden ötiroid hale getirmek gerekir. Antitroid ilaçlar radyoaktif iyot verilmeden 3-5 gün önce kesilir ve 3 gün sonra tekrar başlanır.

Uygulanacak aktivite (doz seçim felsefesi) her departmanın kendi politikasına göre belirlenmektedir. Genel olarak düşük, orta veya yüksek doz tedavi stratejileri arasında başarı şansı ve geç dönem hipotiroidi oranlarında büyük farklılıklar yoktur. Tedavi kademeli olarak uygulanabilir. Tiroid bezi küçük, hafif tirotoksikozlu hastalarda 5-10 mCi (185-370 MBq), orta büyüklükte tiroid bezi ve orta derecede tirotoksikozu olan hastalarda 10-20 mCi (370-740 MBq), tiroid bezi büyük, şiddetli tirotoksikozu olan ve tirotoksikozu bağlı kardiyak problemleri olan hastalarda 20-25 mCi (740-925 MBq) I-131 verilebilmektedir. Palpasyon, ultrasonografi veya sintigrafi ile hesaplanan tahmini bez ağırlığı ve uptake değerleri kullanılarak tedavi dozu hesaplanabilir. Bu yöntemle bezin gram ağırlığı için düşük, orta veya yüksek doz uygulanabilir. Klinikler bu amaçla doz tercihini 80-200 µCi/g olacak şekilde hesaplamaktadır. Kullanılan bazı formüllerden biri şudur:

$$\text{Tedavi dozu(mCi)} = \text{bezin gr. olarak tahmini ağırlığı} \times 80\text{-}200\mu\text{Ci} / 24 \text{ saat uptake oranı}(\%) \times 10$$

İlk 6 ayda başarılı şekilde tedavi sağlanır. Eğer hastanın hipertiroidizmi devam ediyorsa 6- 12 ay sonra tekrar radyoaktif iyot verilebilir. Radyoaktif iyot tedavisinin ilk etkisi folikül hücrelerinde nekroz ve vasküler oklüzyondur. Bu etki haftalar ya da aylar sonra ortaya çıkar. O nedenle ötiroid hale gelme veya hipertiroidizm kontrolü için haftalar veya aylar gerekir. Daha sonra da atrofi, fibrozis ve sonuçta hipotiroidizm gelişebilir (66).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı ve Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ile beraber yürütüldü.

Çalışma öncesi, yapılan işlem ve ilgili detaylar tüm hastalara açıklanarak ve yazılı ve sözlü onamları alınmıştır. Ayrıca bu çalışma için Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'ndan 03/03/2009 tarih ve 2009-03/12 karar no ile onay alınmıştır (Ek.1).

“Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) tarafından T-389 proje numarası ile desteklenmiştir”

3.1. HASTA GRUBU

Çalışmada tedavi amaçlı I-131 ile internal, radyoterapi ile eksternal iyonizan radyasyon alan hastaların maruz kaldığı radyasyon dozunun hesaplanmasında kullanılan teorik yöntemler (MIRD, EWBD) ile lenfosit mikronükleus sıklığına dayanan biyolojik yöntemin karşılaştırılması amaçlandı.

Çalışmaya Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı'na Mart 2009- Temmuz 2009 tarihleri arasında hipertiroidi tedavisi, düşük doz I-131 ile tarama ve yüksek doz I-131 ile ablasyon tedavisi amacıyla başvuran hastalar, ayrıca Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'nda farklı tanılarla farklı doz ve sürelerde eksternal radyoterapi alan toplam 67 hasta dahil edilmiştir.

Çalışmaya hamilelik olasılığı olan kadın hastalar, ayrıca daha önce radyoterapi almış ve radyoterapi ile eş zamanlı kemoterapi alan hastalar dahil edilmemiştir.

Çalışmamıza aldığımız toplam 67 hastanın ortalama yaşı; 50.8 ± 15.6 (minimum;23, maksimum;83) olup, 49'u (%73.1) kadın, 18'i (%26.9) erkek hastadan oluşmakta idi.

Bu hastaların yaş ve cinsiyet gruplarına göre dağılımları aşağıdaki şekildedir (Tablo3.1).

TABLO 3.1 Gruplar arası yaş ve cinsiyet dağılımı

Gruplar	Yaş (Ort±SD)	cinsiyet	
		K	E
Hipertiroidi	57.7±16.2	13	4
Tarama	45.7±9.7	15	0
Ablasyon	39.6±15.3	13	2
Radyoterapi	57.4±13.4	8	12

Hasta gruplarına ait demografik veriler tablo 3.2, 3.3, 3.4, 3.5' de verilmiştir.

TABLO 3.2 I-131 ile hipertiroidi tedavi hasta grubunda demografik veriler

Hasta No	Yaş Cinsiyet	Verilen Doz (mCi)	Verilen Doz (MBq)	Tanı
1	39/K	12	444	TMNG
2	49/K	10	370	MNG
3	69/K	13	481	TMNG
4	30/K	10	370	NG
5	65/K	15	555	NG
6	38/K	13	481	MNG
7	61/E	10	370	NG
8	73/K	12	444	MNG
9	52/K	7	259	NG
10	83/K	12	444	TMNG
11	64/K	13	481	TMNG
12	48/E	11	407	TMNG
13	80/E	13	481	NG
14	38/K	10	370	MNG
15	49/K	15	555	TMNG
16	65/K	15	555	MNG
17	77/E	10	370	MNG
Toplam;17	Ort: 57.7±16.2	Ort: 11.7±3	Ort: 431.5±112.3	

TMNG: Toksik multinodüler guatr MNG: Multinodüler guatr NG: Nodüler guatr

TABLO 3.3 Düşük doz I-131 ile tarama hasta grubunda demografik veriler

Hasta No	Yaş Cinsiyet	Verilen Doz (mCi)	Verilen Doz (MBq)	Tanı
1	36/K	5	185	DTC
2	29/K	3	111	DTC
3	42/K	5	185	DTC
4	39/K	5	185	DTC
5	49/K	5	185	DTC
6	43/K	5	185	DTC
7	42/K	5	185	DTC
8	61/K	6	222	DTC
9	46/K	5	185	DTC
10	48/K	5	185	DTC
11	42/K	5	185	DTC
12	39/K	5	185	DTC
13	67/K	6	222	DTC
14	55/K	5	185	DTC
15	48/K	5	185	DTC
Toplam;15	Ort: 45.7±9.7	Ort: 5.0±0.9	Ort: 185.2±22.1	

DTC= Diferansiye tiroid kanseri

TABLO 3.4 Yüksek doz I-131 ile ablasyon hasta grubunda demografik veriler

Hasta No	Yaş Cinsiyet	Verilen Doz (mCi)	Verilen Doz (MBq)	Tanı
1	30/K	109	4043	DTC
2	31/K	101	3737	DTC
3	29/K	123	4551	DTC
4	59/K	107	3959	DTC
5	26/K	150	5550	DTC
6	32/K	103	3811	DTC
7	25/K	122	4514	DTC
8	43/E	103	3811	DTC
9	23/K	115	4255	DTC
10	49/K	124	4588	DTC
11	35/K	97	3589	DTC
12	27/E	166	6142	DTC
13	53/K	116	4292	DTC
14	62/K	106	3922	DTC
15	70/K	120	4440	DTC
Toplam; 15	Ort: 39.6±15.3	Ort: 117.5±18.8	Ort: 4347±693.8	

TABLO 3.5 Radyoterapi hasta grubu çalışma bilgileri

Hasta no	Yaş Cinsiyet	Fraksiyon Sayısı	Konvansiyonel Doz(cGy)	Işınlanan	
				Alan Sayısı	Bölge
1	49/K	25	5000	2	meme
2	64/K	7	2600	4	pankreas
3	41/E	9	3400	2	Vertebra-torakal
4	61/K	25	5000	2+2	meme
5	56/E	13	4900	2	Tüm beyin
6	51/K	29	5800	4	Akciger
7	68/E	6	2200	2	Vertebra=T5-10
8	49/K	31	6200	2	Meme
9	75/E	11	2200	2	Parsiyel Beyin
10	23/E	24	4800	3	Dudak
11	54/K	10	2000	2	Meme
12	83/K	14	2800	2+2	Meme
13	72/E	8	1600	3	Parsiyel Beyin
14	55/E	5	1800	2	Tüm Beyin
15	49/E	24	4320	2	Akciger
16	59/E	4	2400	2	Vertebra=T+L
17	67/E	9	1800	4	Bas-Boyun
18	67/E	8	1440	5	Bas-Boyun
19	59/K	7	2600	2	Parsiyel Beyin
20	45/E	5	2800	2	Humerus başı

3.2. GEREÇLER

MIRD Hesaplaması için kullanılan demirbaş malzemeler

- 1- Toshiha GCA-7100 Gama kamera
- 2- Gama Counter

Radyofarmasötik

- 1- I-131 solüsyon ve kapsül

Biyolojik dozimetri (mikronükleus testi) için kullanılan demirbaş malzemeler

- 1- Etüv
- 2- Su banyosu
- 3- Vorteks
- 4- Mikroskop
- 5- Santrifüj
- 6- Hassas terazi
- 7- Otomatik pipet

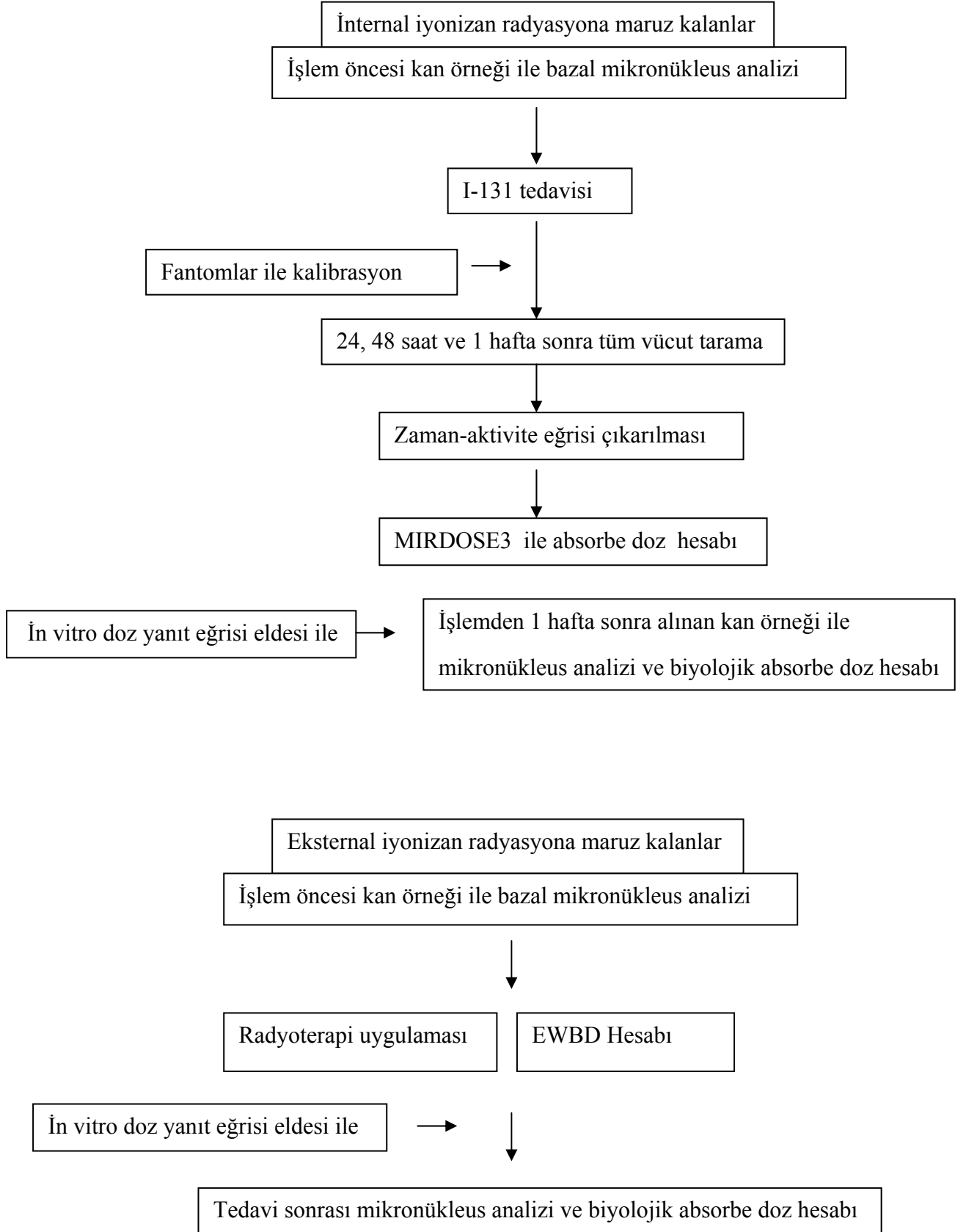
Sarf malzemeleri

- 1- Chang MF (with PHA) besi ortamı
- 2- Penisilin-Streptomisin
- 3- Cytochalasin- B
- 4- Heparin
- 5- Giemsa
- 6- KH_2PO_4
- 7- $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{H}_2\text{O}$
- 8- Glasiyel asetik asit
- 9- Ksilol
- 10- Metanol
- 11- KCL
- 12- İmmersiyon yağı
- 13- % 96'lık alkol
- 14- Distile su
- 15- Konik tabanlı 10 ml'lik steril kültür tüpü
- 16- Lam, lamel
- 17- Enjektör

3.3 YÖNTEM

Çalışmada takip edilen basamaklar aşağıdaki şemada özetlenmiştir.

ÇALIŞMA ŞEMASI

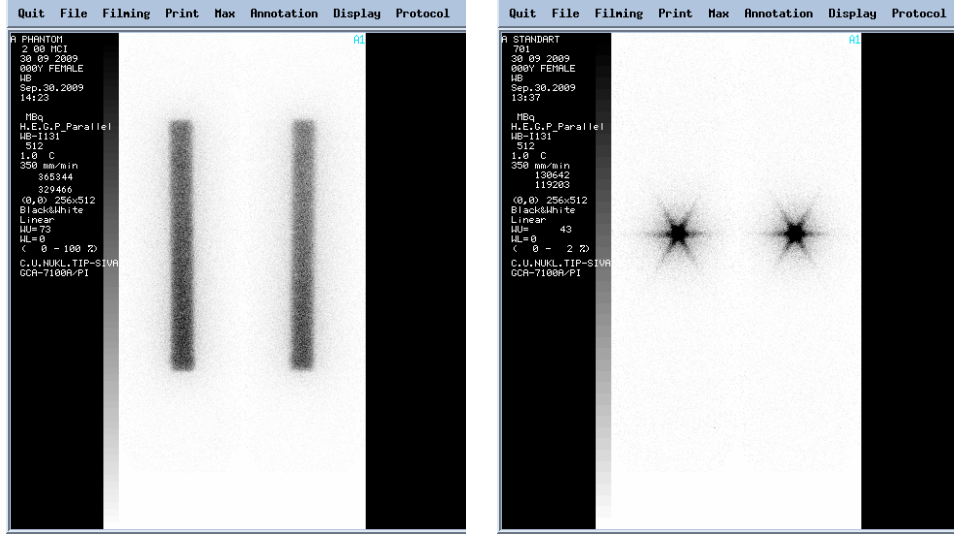


3.3.1 MIRD (medical internal radiation dosimetry) yöntemi ile fiziksel dozun hesaplanması:

Total vücut absorbe dozun hesaplanması amacıyla; MIRDOSE3 yazılımı kullanılmıştır (MIRD committee, Radiation Internal Dose Information Center, Oak Ridge Institute of Science and Education, USA) (67). Program tarafından öncelikle istenen parametre, hastada radyoizotopun “kalma süresinin” (residence time) hesaplanması idi. Hesaplamalarda ‘2008 EANM Dosimetry Committee’ prosedürü uygulandı (68).

A3.3.1.1 Fantom çalışması

- a- Fantom çalışması için nokta kaynak ve silindirik fantom kullanıldı. Standart aktivite ile nokta kaynak şeklinde bir kalibratör hazırlandı. Hasta üzerindeki kümülatif aktiviteyi temsilen bilinen miktardaki aktivite içi su ile doldurulmuş silindir içine konularak bir fantom hazırlandı.
- b- Tarama hızının ayarlanması için; fantom ve kalibratöre ayrı ayrı tek dedektörlü Toshiba GCA-7100 gama kamerada yüksek enerjili, genel amaçlı paralel delikli kollimatör kullanarak 512x512 görüntü matriksinde, birkaç kez farklı hızlarda tarama denemesi sonucunda 350mm/sn hızla anterior ve posterior tarama yapıldı (Şekil 3.1).



Şekil. 3.1 2 mCi I-131 ile hazırlanmış silindirik su fantomu ve 701 µCi I-131 ile hazırlanmış kalibratör tarama görüntüleri

Anterior ve posterior sayımların geometrik ortalaması alındı. Kalibratör taranması ile elde edilen sayım miktarı ile silindirik su fantomunun taranması ile elde edilen sayım miktarları oranlanarak fantomdaki kümülatif aktivite miktarı sağlanması yapıldı.

Elde ettiğimiz sayımlarla yapmış olduğumuz işlemleri daha açık şekilde belirtecek olursak;

701 µCi I-131 ile hazırlanmış kalibratörde anterior sayım; 130642, posterior sayım; 119203, geometrik ortalama ise; 124791.5 şeklinde bulundu.

2 mCi I-131 ile hazırlanmış fantomda ise anterior sayım; 365344, posterior sayım; 329466, geometrik ortalama ise; 346941.5 şeklinde bulundu.

$$\text{Silindirik fantom aktivitesi} = \frac{\text{Nokta kaynak aktivitesi}}{\text{Nokta kaynak sayım}} \times \text{Silindirik fantom sayım}$$

Elde edilen veriler yukarıdaki formülde yerine konulduğunda beklenen aktivite miktarı 1949µCi (1,949mCi) şeklinde bulundu.

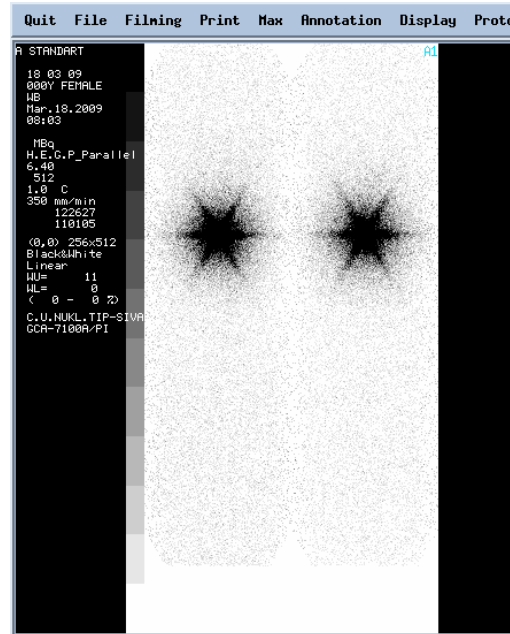
A3.3.1.2 İnvivo taramalar

Hastalarda öncelikle I-131 uygulandıktan sonra 24, 48 ve 168. saatlerde anterior ve posterior pozisyonda tüm vücut tarama yapıldı (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Bir I-131 tüm vücut tarama hastasında anterior ve posterior pozisyonda elde edilen sintigrafi

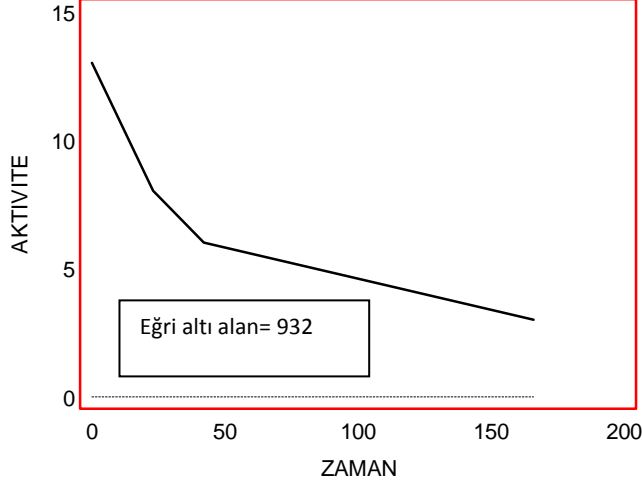
Her tarama öncesi standart aktivite ile hazırlanan kalibratör ile ayrıca tarama yapıldı ve oranlanarak hasta üzerindeki tahmini doz hesaplandı (Şekil 3.3)



Şekil 3.3 Standart aktivite ile anterior ve posterior pozisyonda tarama sintigrafisi örneği

A3.3.1.3. Zaman-aktivite eğrileri

I-131 uygulandıktan sonra 24, 48 ve 168. saatlerdeki taramalarda hasta üzerinde bulunan aktivite miktarı zamanın bir fonksiyonu olarak grafiğe aktarıldı.(Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Bir hastadan elde edilen I-131'e ait zaman-aktivite eğrisi

A.3.3.1.4. Hastada kümülatif aktivite ve kalma süresi hesabı;

Zaman-aktivite eğrisi altında kalan alan (kümülatif aktivite) istatistik programı (MedCalc) aracılığı ile hesaplandı.

Daha sonra kalma süresi (residence time) aşağıdaki gibi hesaplanmıştır;

$$\text{Kalma süresi} = \frac{\text{Kümülatif aktivite}}{\text{Uygulanan doz (mCi)}}$$

Total absorbe edilen doz, elde edilen total vücut kalma süresi ve MIRDOSE3 programı kullanılarak hesaplandı (Şekil 3.5 ve 3.6).

Input data for 131-I-53

File Help

Elements	Nuclides	Phantoms
Gadolinium	122-I-53	<input checked="" type="checkbox"/> Adult (70 kg)
Gallium	123-I-53	<input type="checkbox"/> 15-year-old (57 kg)
Germanium	124-I-53	<input type="checkbox"/> 10-year-old (32 kg)
Gold	125-I-53	<input type="checkbox"/> 5-year-old (19 kg)
Hydrogen	126-I-53	<input type="checkbox"/> 1-year-old (9.8 kg)
Indium	129-I-53	<input type="checkbox"/> Newborn (3.4 kg)
Iodine	130-I-53	<input type="checkbox"/> Adult Female - Nonpregnant
Iridium	131-I-53	<input type="checkbox"/> 3-month Pregnant Woman
Iron	132-I-53	<input type="checkbox"/> 6-month Pregnant Woman
		<input type="checkbox"/> 9-month Pregnant Woman

Residence Times (hr)

<input type="checkbox"/>	Adrenals	<input type="checkbox"/>	Kidneys	<input type="checkbox"/>	Testes
<input type="checkbox"/>	Brain	<input type="checkbox"/>	Liver	<input type="checkbox"/>	Thymus
<input type="checkbox"/>	Breasts	<input type="checkbox"/>	Lungs	<input type="checkbox"/>	Thyroid
<input type="checkbox"/>	Gallbladder Contents	<input type="checkbox"/>	Muscle	<input type="checkbox"/>	Urin. Bl. Contents
<input type="checkbox"/>	LLI Contents	<input type="checkbox"/>	Ovaries	<input type="checkbox"/>	Uterus
<input type="checkbox"/>	SI Contents	<input type="checkbox"/>	Pancreas	<input type="checkbox"/>	Fetus
<input type="checkbox"/>	Stomach Contents	<input type="checkbox"/>	Red Marrow	<input type="checkbox"/>	Placenta
<input type="checkbox"/>	ULI Contents	<input type="checkbox"/>	Cortical Bone	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> Total Body
<input type="checkbox"/>	Heart Contents	<input type="checkbox"/>	Trabecular Bone		
<input type="checkbox"/>	Heart Wall	<input type="checkbox"/>	Spleen		

Select All Clear All

Use ICRP 30 GI tract model? Yes
Use Dynamic Bladder Model? Yes

Nodule Module: Report

Sphere Size:
Sphere Diameter:

Self-dose S-value:

Control Panel: Calculate Doses S-Value Table

Label for Program Output:

Şekil 3.5 MIRDOSE3 yazılım ile absorbe doz hesabı örneği(1)

File View Help

Radiation Dose Estimates for the REFERENCE ADULT for 131-I-53

TARGET	Total	Dose	Primary	Secondary		
ORGAN	mGy/MBq	rad/mCi	Contributor	Contribution	Contributor	Contribution
Spleen	2,00E-02	7,39E-02	Total Body	100,0%		0,0%
Testes	2,00E-02	7,39E-02	Total Body	100,0%		0,0%
Thymus	2,00E-02	7,39E-02	Total Body	100,0%		0,0%
Thyroid	2,00E-02	7,39E-02	Total Body	100,0%		0,0%
Urin Bladder	2,00E-02	7,39E-02	Total Body	100,0%		0,0%
Uterus	2,00E-02	7,39E-02	Total Body	100,0%		0,0%
Total Body	2,00E-02	7,39E-02	Total Body	100,0%		0,0%
EDE	2,00E-02	7,39E-02	Remainder	30,0%	Gonads	25,0%
ED	2,00E-02	7,39E-02	Gonads	20,0%	Stomach	12,0%
EDE/ED units:	mSv/MBq	rem/mCi				

SOURCE ORGAN	Residence Time (hr)	Dynamic Bladder Model?	ICRP 30 GI Model?
Total Body	1,35E+01	<input type="checkbox"/> Yes <input checked="" type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes <input checked="" type="checkbox"/> No

Back to Input Form

Şekil 3.6 MIRDOSE3 yazılım ile absorbe doz hesabı örneği(2)

3.3.2 Mikronükleus Yöntemi ile Biyolojik Dozimetri

A3.3.2.1 Kan Örneklerinin Alınması:

Çalışmamıza alınan toplam 67 hastadan tedavi öncesi, tedavi sonrasında ve radyoaktif iyot alan hasta grubu içerisinde 1. ay kontrole gelebilen 32 hastadan periferik venöz kanlar, 0.1-0.2 ml heparin içeren 5 ml'lik steril enjektörler kullanılarak alındı. Kan örnekleri alındıktan hemen sonra lenfosit hücre kültürü için, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda daha önceden hazırlanan kültür ortamına ekildi.

A3.3.2.2 MN Elde Etmek İçin Kullanılan Yöntem:

1- Kültür Ortamı (Besiyeri) Hazırlanması

Kullanılan malzemeler ve miktarları;

Malzeme	Miktarı
Chang MF (with PHA)	100 ml
Penisilin- Streptomisin	1 ml

Besiyeri; steril ortamda 100 ml'lik Chang MF içine 1 ml penisilin- streptomisin eklenip elle yavaş bir şekilde birkaç kez karıştırılarak hazırlandı. Hazırlanan medyum yine steril ortamda 5'er ml olmak üzere vidalı kapaklı konik tabanlı kültür tüplerine bölünüp 10-15 dk. laboratuvarında bekletildikten sonra -20°C'de dondurularak saklandı.

2- Kültür Tekniği

Önceden 37°C'ye getirilmiş olan 5 ml medyum içeren kültür tüplerine steril ortamda, alınan kan örneklerinin 3-4 damlası dışarı atıldıktan sonra 10 damla (0.4 ml) kan ilave edildi. Tüplerin üzerine olgu adı, ekim tarihi ve hangi seansta olduğu yazıldı. Tüpler hafifçe karıştırılarak 37°C'lik etüvde 72 saat bekletildi. 44. saatte sitokalsin-B eklendi. Tüplerin homojenliğini sağlamak için yavaşça karıştırılıp 37°C'lik etüvde 2 saat daha bekletildi.

3- Çıkarım İşlemleri

Fenech ve Morley Metoduna göre yapıldı (32). 0.1 M hipotonik solüsyon 1.894 g KCl tartılıp distile su ile 250 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

Yetmişiki saat inkübasyondan sonra kültürler etüvden çıkartılarak 1000 rpm'de 6 dk. santrifüj yapıldı. Dipte 0.6-0.7 ml kalıncaya kadar üstteki şekilli eleman içeren kısım atıldı ve hücreler laboratuvar ısısında beklemiş olan, 0.1 M hipotonik solusyondan 6 ml eklenerek yine laboratuvar ısısında 4 dk. bekletildi.

Dört dakika hipotonikte bekleyen hücreler sonra 6 dk 1000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatantlar atılıp üzerine taze hazırlanmış soğuk fiksatiften 6 ml (3:1, metanol, glacial asetik asit) ilave edilip bekletilmeden 6 dk. 1000 rpm'de santrifüj yapıldı. Dipte 0.7 ml fiksatifli hücre bırakılarak süpernatantlar atıldı ve 1 gün buzdolabında (+ 4°C) bekletildi.

4- Preperatların Hazırlanması

% 70'lik soğuk metanolden çıkartılan lamlar kurulandı. Pastör pipeti ile fiksatifli hücre içeren kültür tüplerindeki hücre süspansiyonundan 7-8 damla alınarak yakın mesafeden lamlara damlatıldı ve hazırlanan preperatlar kurutulmaya bırakıldı.

5- Boyama İşlemi

Kuruyan preperatlar % 5'lik giemsada 6 dk. bekletilerek boyandı. İki kez distile suda yıkanıp kurutuldu. Ksilolden geçirilerek kanada balsamı damlatılıp lamelle kapatıldı.

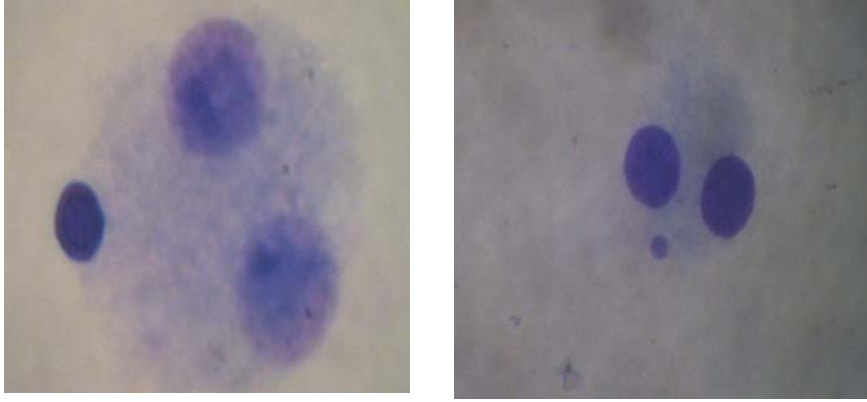
6- Mikronükleus Sayımı:

MN sayımı yapılırken sayılan hücre çekirdeklerinin tekrar sayılmaması için 40'luk objektifte sitoplazması iyi korunmuş (sitoplazması dağılmayıp sınırları belli olan) çift çekirdekli hücreler belirlendi ve sadece bu hücrelerin sayımı yapıldı (69).

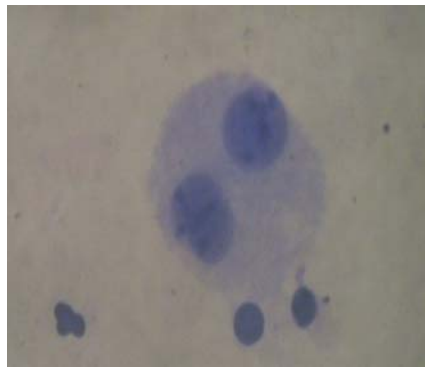
Her olgu için tedavisi öncesi, sonrası ve 1.ay kontrollerinde alınan kanlarından hazırlanan preperatlarda Fenech kriterlerine uygun olarak çift çekirdekli 1000 hücre sayılıp, bu hücreler içindeki MN sayısı kaydedildi (Resim1,2 ve 3).



Resim 1. Normal çift çekirdekli hücre



Resim 2. Çift çekirdekli mikronükleuslu hücreler



Resim 3. İki tane MN içeren çift çekirdekli hücre

3.3.3 Biyolojik Dozimetri

Mikronükleus yöntemi ile hastada absorbe dozun hesaplanabilmesi için in vitro kan ışınlanması yapıldı (24).

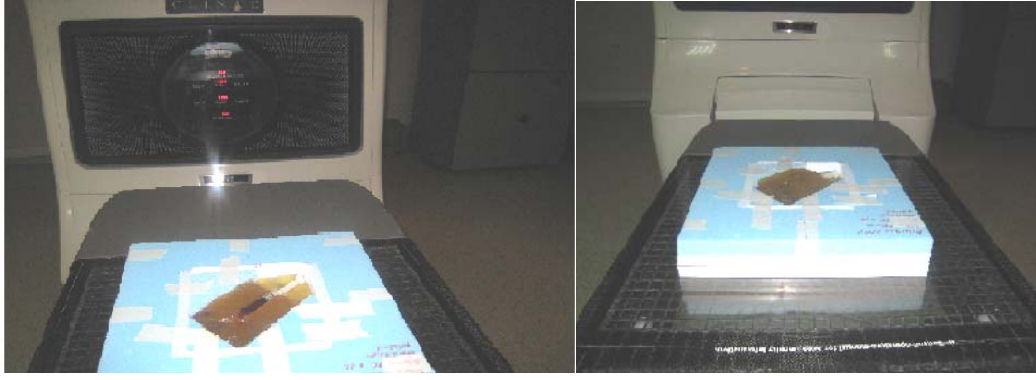
1- Sağlıklı bir donörden heparinize enjektöre alınan 30 ml kadar kan 3'er ml'lik 10 ayrı enjektöre bölündü.

2- Hazırlanan kanlar Cumhuriyet Üniversitesi Radyasyon Onkolojisi A.B.D.'da bulunan VARIAN marka CLINAC DHX model Lineer Akseleratör cihazında ışınlandı. Kanlar 2 ml lik enjektörlere dolduruldu. Bu enjektörler ışın merkezine ve ışının geliş yönüne paralel olarak yerleştirildi.

3- Bu kurulumun her defasında aynı olması için doku eşdeğeri olan bolus malzemesi kullanılarak özel fantom oluşturuldu. Işının istenen absorbe doz değerine (2 mGy) kadar azaltılması için radyoterapi kalite kontrol ve kalibrasyonlarında kullanılan Katı Su Fantomu kullanıldı.

4- Kanların ışınlanmasında 6 MeV enerji değerinde X-ışınları kullanıldı. X-ışınları radyoterapi tedavilerinde kullanılan 300 cGy/dakika doz hızında uygulandı.

5- Kanların ışınlanmasında, ışınlamada en düşük doz olan 2 mGy değerine standart olan dozumuzu indirebilmek ve cihazı gereğinden fazla ışınlama yaparak, yormamak için üç kez kurulum değiştirildi. Her kurulumda radyoterapide kalibrasyon için kullanılan SCANDİTRONİX WELFHÖFER marka DOSE1 model elektrometre ve FC65-G iyon odasından oluşan dozimetri sistemiyle ışınlama öncesi dozların değişimi incelendi.



Resim 4. Işınlanacak kan fantoma yerleştirildi Resim 5. Doku eşdeğeri malzeme yerleşti



Resim 6. Doz ayarlamak için kalınlık değiştirildi

6-Öncelikle ışınlamada 6 MeV enerjili fotonlar ile 10 cm x 10 cm alan, SSD (kaynak cilt mesafesi) 135 cm ve 23 cm'ye özel fantomuyla yerleştirilen kan 1(monitör unit)MU ışınlandı. Kanın bulunduğu enjektörün merkezine $2mGy \pm 0,0142mGy$ doz verildi. Burada aynı kurulumda 2 mGy, 1 cGy, 5 cGy ışınlandı.

7- İkinci kurulum olarak; ışınlamada 6 MeV enerjili fotonlar ile 10 cm x 10 cm alan, SSD 100 cm ve 15 cm'ye özel fantomuyla yerleştirilen kan 20 MU ışınılandı. Kanın bulunduğu enjektörün merkezine $10 \text{ cGy} \pm 0,004 \text{ cGy}$ doz verildi. Burada aynı kurulumda 10 cGy, 20 cGy, 50 cGy, 100 cGy, 200 cGy ışınılandı.

8- Üçüncü kurulum olarak; ışınlamada 6 MeV enerjili fotonlar ile 10 cm x 10 cm alan, SSD 100 cm ve 5 cm'ye özel fantomuyla yerleştirilen kan 348 MU ışınılandı. Kanın bulunduğu enjektörün merkezine $300 \text{ cGy} \pm 0,0001 \text{ cGy}$ doz verildi. Burada aynı kurulumda 300 cGy, 400 cGy, 500 cGy ışınılandı (Resim 4,5, 6).

9- 37 °C 'da saklanan örnekler ışınlamadan 1 saat sonra Cumhuriyet Üniversitesi Genetik Anabilim dalı laboratuvarına ulaştırıldı.

10- Işınlanan her doz için mikronükleus düzeyleri belirlendi.

İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

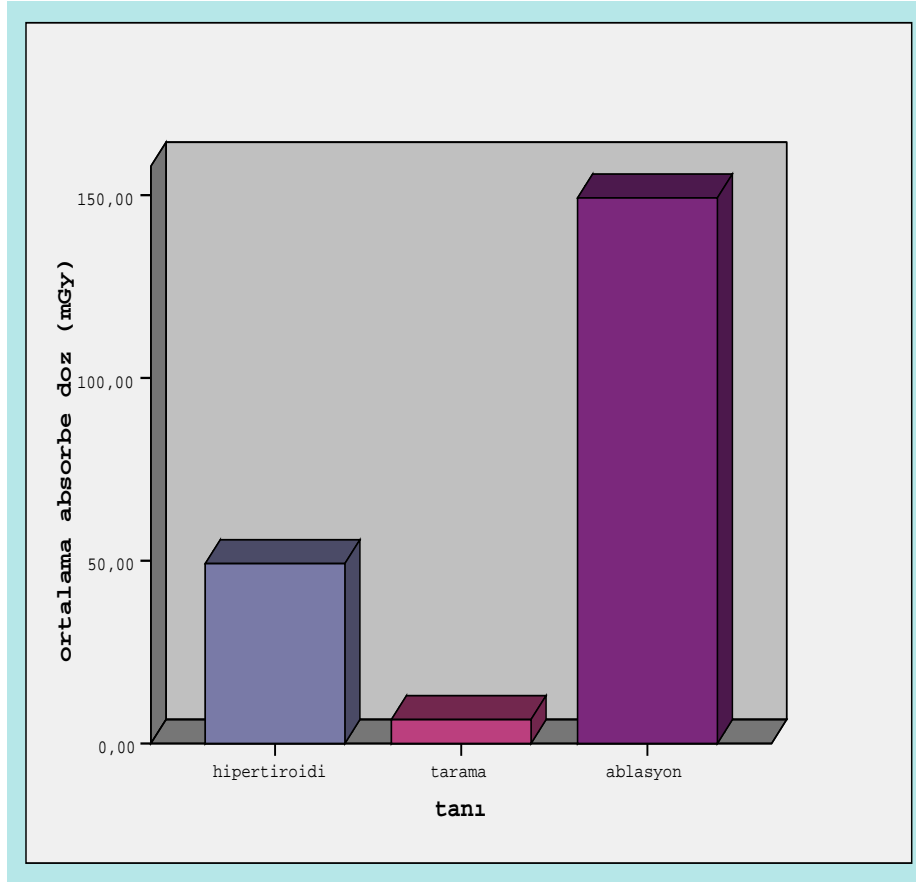
Çalışmadaki veriler SPSS (versiyon 14.0) programına yüklenerek değerlendirildi. Verilerin değerlendirilmesinde; gruplar arasında absorbe doz yönünden fark, Kruskal – Wallis testi, tüm gruplarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası mikronükleus değerleri karşılaştırılırken Wilcoxon testi, tüm gruplarda tedavi öncesi, tedavi sonrası ve 1. ay mikronükleus ölçümleri arasındaki fark ise Friedman testi ile araştırıldı. Değişkenler arasındaki ilişki ve yine değişkenler arasındaki doğrusal bağıntı denklemlerini elde ederken nonlinear regresyon analizi, linear regresyon analizi ve korelasyon analizi kullanıldı. Verilerimiz tablolarda aritmetik ortalama \pm standart sapma şeklinde ifade edildi. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamıza aldığımız hastaların 17'si hipertiroidi (%25.4), 15'i tarama (%22.4), 15'i ablasyon (%22.4), 20'si ise radyoterapi (%29.9) hastalarından oluşmakta idi.

Çalışmaya alınan hipertiroidi tedavi hastalarına; 11.7 ± 3 mCi (431.5 ± 112.3 MBq), I-131 ile düşük doz tarama hastalarına; 5.0 ± 0.9 mCi (185.2 ± 22.1 MBq), yüksek doz I-131 ile ablasyon tedavi hastalarına; 117.5 ± 18.8 mCi (4347.2 ± 693.8 MBq) I-131 oral olarak verilmiştir.

Hipertiroidi tedavisi, düşük doz ile tarama ve yüksek doz ablasyon tedavisi amacıyla I-131 alan hastalarda MIRD yöntemi ile hesap edilen absorbe doz düzeyleri verilen I-131 düzeyi ile korele olup, ablasyon tedavisi alanlarda; 149.2 ± 50.1 mGy, hipertiroidi hastalarında; 49.2 ± 20.8 mGy, tarama hastalarında ise; 6.6 ± 1.6 mGy olarak bulundu. Gruplara göre absorbe doz düzeyleri karşılaştırıldığında farklılık anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$).



Şekil 4.1 Tarama, hipertiroidi ve ablasyon amacıyla radyoaktif iyot alan hastalarda ortalama absorbe doz düzeyleri

Gruplara ait kalma süresi değerleri karşılaştırıldığında; hipertiroidi grubunda en fazla olduğu (59.3±20.2 saat), hipertiroidi hastaları ile tarama ve ablasyon hastaları arasında anlamlı fark bulunduğu saptanmıştır (p<0.001). Kalma süresi; tarama hastalarında; 18.4±4.2 saat, ablasyon hastalarında ise; 18.3±5 saat olarak hesaplanmıştır.

Radyoaktif I-131 alan hastalarda ortalama verilen dozlar, kalma süresi ve absorbe doz düzeyleri tablo 4.1’de özetlenmiştir.

TABLO 4.1 I-131 alan hastalarda tedavi dozu, residence time (kalma süresi), absorbe doz düzeylerinin karşılaştırılması

	Hipertiroidi	Tarama	Ablasyon
	(Ort±SD)	(Ort±SD)	(Ort±SD)
Tedavi dozu(mCi)	11.7±3.0	5. ±0.9	117.49±18.75
Tedavi dozu(MBq)	431.5±112.3	185.2±22.1	4347.2±693.8
Residence time (kalma süresi)(saat)	59.3±20.2**	18.4±4.2	18.3±5
Absorbe doz(mGy)	49.2±20.8*	6.5±1.6*	149.2±5 *

*: p<0.01 **: p<0.001

Her bir grup için hem tedavi öncesi hem de tedavi sonrası mikronükleus düzeyleri incelendiğinde; düşük doz I-131 ile tarama hasta grubunda en düşük mikronükleus düzeyleri, radyoterapi hastalarında ise en yüksek mikronükleus değerleri elde edilmiştir.

Hipertiroidi hasta grubunda tedavi öncesi mikronükleus düzeyi; 2.5±5.5 iken, tedavi sonrası; 10±12.6,

Tarama hasta grubunda tedavi öncesi mikronükleus düzeyi; 0.6±2.3 iken; tedavi sonrası; 5.8±8.3,

Ablasyon hasta grubunda tedavi öncesi mikronükleus düzeyi; 1.9±5.1 iken, tedavi sonrası; 28.5±17,

Radyoterapi hasta grubunda tedavi öncesi mikronükleus düzeyi; 4.7±7.1 iken, tedavi sonrası; 33.1±10.8 olarak bulunmuştur.

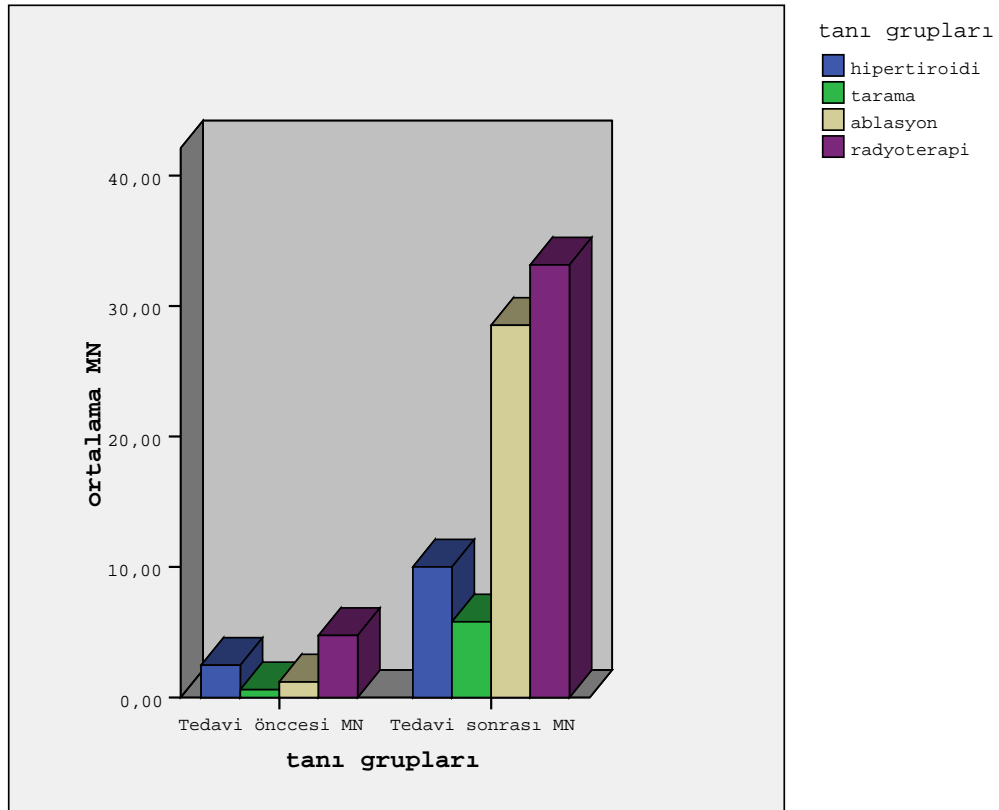
Her bir grupta tedavi öncesi ve tedavi sonrası ortalama mikronükleus düzeyleri tablo 4.2 ‘te özetlenmiştir.

Hipertiroidi, tarama, ablyasyon ve radyoterapi hasta gruplarında tedavi öncesi ve tedavi sonrası mikronükleus düzeyleri karşılaştırıldığında her bir grupta tedavi öncesi ve tedavi sonrası mikronükleus düzeyleri arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

TABLO 4.2 Çalışma gruplarında tedavi öncesi mikronükleus (TÖMN) ve tedavi sonrası mikronükleus (TSMN) düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar	TÖMN (Ort±SD)	TSMN (Ort±SD)	Yüzde Artış (%)
Hipertiroidi	2.5±5.5	10±12.6*	%57
Tarama	0.6±2.3	5.8±8.3*	%59
Ablasyon	1.9±5.1	28.5±17*	%217
Radyoterapi	4.7±7.1	33.1±10.8*	%187

*= $p<0.05$



Şekil 4.2 Herbir grupta tedavi öncesi mikronükleus ve tedavi sonrası mikronükleus düzeylerinin karşılaştırılması

Hipertiroidi, tarama ve ablasyon hastalarından 1. ay kontrol kanı alınan 32 kişilik hasta grubunda ise gruplar arası mikronükleus düzeyleri karşılaştırıldığında; tedavi öncesi ile tedavi sonrası mikronükleus düzeyleri arasındaki fark anlamlı bulunurken ($p<0.05$), tedavi sonrası mikronükleus düzeyleri ile 1. ay kontrol mikronükleus düzeyleri arasında hipertiroidi ve tarama hasta grupları arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Ablasyon hastalarında hem tedavi öncesi-tedavi sonrası, hem de tedavi sonrası- 1. ay kontrol mikronükleus düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.001$).

Birinci ayda kontrol kanı alınan hasta grubunda;

Hipertiroidi hastalarında (10 hasta) tedavi öncesi mikronükleus düzeyi; 2.6 ± 5.5 iken, tedavi sonrası; 12.5 ± 11.5 , 1. ayda ise; 9.4 ± 9.3

Tarama hastalarında (12 hasta) tedavi öncesi mikronükleus düzeyi 0.8 ± 2.6 iken, tedavi sonrası; 6.4 ± 8.9 , 1. ayda ise; 2.8 ± 5.2

Ablasyon hastalarında (10 hasta) tedavi öncesi mikronükleus düzeyi 1.3 ± 4.1 iken, tedavi sonrası; 24.6 ± 17 , 1. ayda ise; 12.5 ± 10.6 olarak bulunmuştur.

Birinci ay kontrol kanı alınabilen 32 kişilik hasta grubunda tedavi öncesi, tedavi sonrası ve 1. ay ortalama mikronükleus düzeyleri tablo 4.3'te özetlenmiştir.

TABLO 4.3 Her bir grupta tedavi öncesi (TÖMN), tedavi sonrası (TSMN) ve 1. ay kontrol mikronükleus (MN) düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar	TÖMN (Ort±SD)	TSMN (Ort±SD)	1.AY MN (Ort±SD)
Hipertiroidi (n=10)	2.6 ± 5.5	$12.5\pm11.5^*$	9.4 ± 9.3
Tarama (n=12)	0.8 ± 2.6	$6.4\pm8.9^*$	2.8 ± 5.2
Ablasyon (n=10)	1.3 ± 4.1	$24.6\pm17^*$	$12.5\pm10.6^*$

* = $p<0.05$

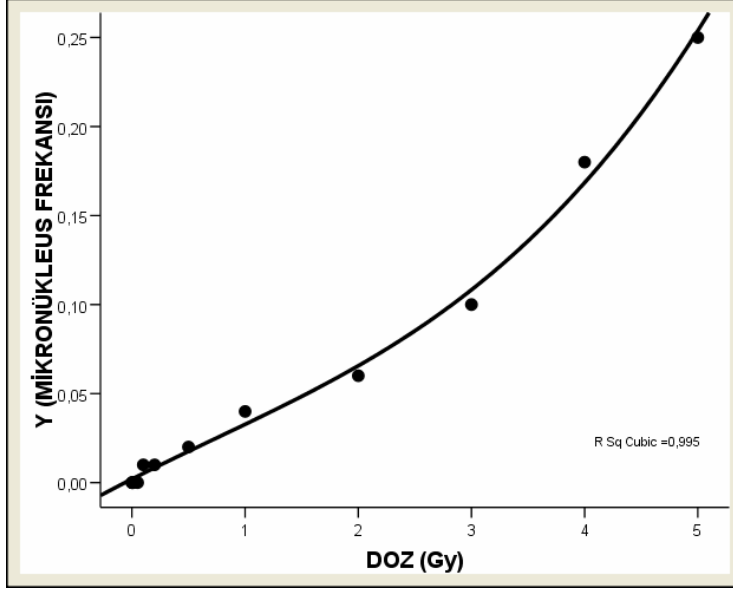
Biyolojik dozimetri hesaplamaları amacıyla in vitro şartlarda ışınlanan kanlarda her ışın dozu için mikronükleus frekansı bulunmuştur.

Y= mikronükleus frekansı: Her sayımda çıkan toplam mikronükleus sayısı (MN) aynı sayımdaki toplam binükleat sayısına (BN) bölünerek o örneğin mikronükleus frekansı bulundu (Tablo 4.4).

TABLO 4.4 Işın dozlarına göre mikronükleus frekansı dağılımı

Işınlanan doz(Gy)	Y(MN/BN)
0	0,00
0,002	0,00
0,01	0,00
0,05	0,00
0,10	0,01
0,20	0,01
0,50	0,02
1	0,04
2	0,06
3	0,10
4	0,18
5	0,25

Elde edilen veriler kullanılarak %95 güvenilirlik sınırları içinde kurumumuza özgü doz- yanıt eğrisi şekil 4.3'de görüldüğü gibi elde edildi.



Şekil 4.3 Doz—Yanıt Eğrisi.

Nonlinear regresyon analizi ile α ve β parametreleri ise aşağıdaki gibi oluştu;

$$\alpha = 0.020 \pm 0.004$$

$$\beta = 0.006 \pm 0.001$$

Absorbe dozun biyolojik dozimetrik yöntemle hesabı için;

$Y = \alpha D + \beta D^2$ eşitliğinden yola çıkılarak elde edilen

$D = \{-\alpha + \sqrt{\alpha^2 + 4\beta Y}\} / 2 \times \beta$ formülü kullanılmıştır (D= Gy cinsinden biyolojik dozimetrik doz) (24).

Radyoaktif iyot tedavisi alan (hipertiroidi, tarama ve ablasyon hastaları) grupta biyolojik dozimetri yöntemi ile hesap edilen biyolojik doz ile MIRD yöntemi ile hesaplanan dozlar arasında aynı yönlü ilişki saptanmıştır. Bununla birlikte, biyolojik dozimetrik dozların MIRD yöntemi ile karşılaştırıldığında oldukça yüksek olduğu dikkati çekmektedir.

Hipertiroidi hasta grubunda biyolojik doz; 390.5 ± 475 mGy

Tarama hasta grubunda biyolojik doz; 241.1 ± 335 mGy

Ablasyon hasta grubunda biyolojik doz; 1028.1 ± 539.2 mGy

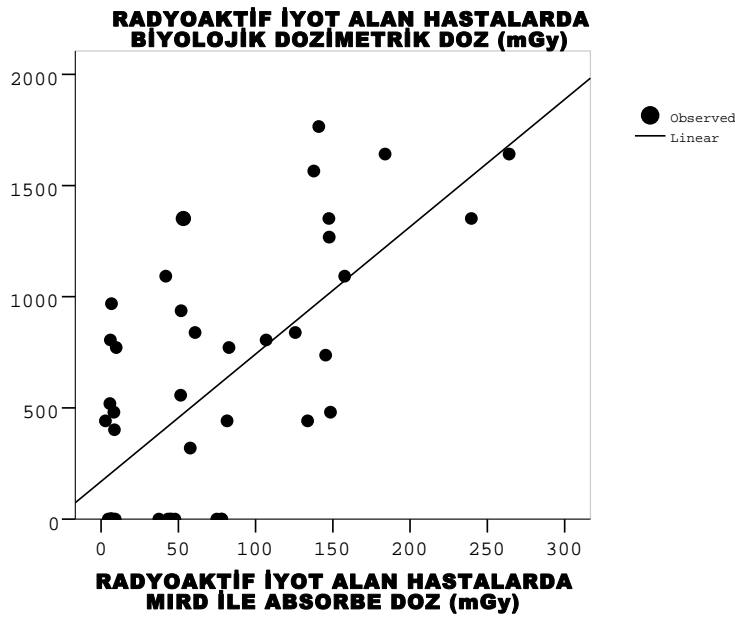
Radyoterapi hasta grubunda biyolojik doz; 1198.3 ± 315.3 mGy olarak bulunmuştur.

Radyoaktif iyot alan hastalarda MIRD ile hesaplanan absorbe dozlar ile biyolojik dozimetrik dozlar tablo 4.5’te özetlenmiştir.

TABLO 4.5 MIRD yöntemi ile hesaplanan tüm vücut absorbe doz düzeylerinin biyolojik dozimetri ile karşılaştırılması

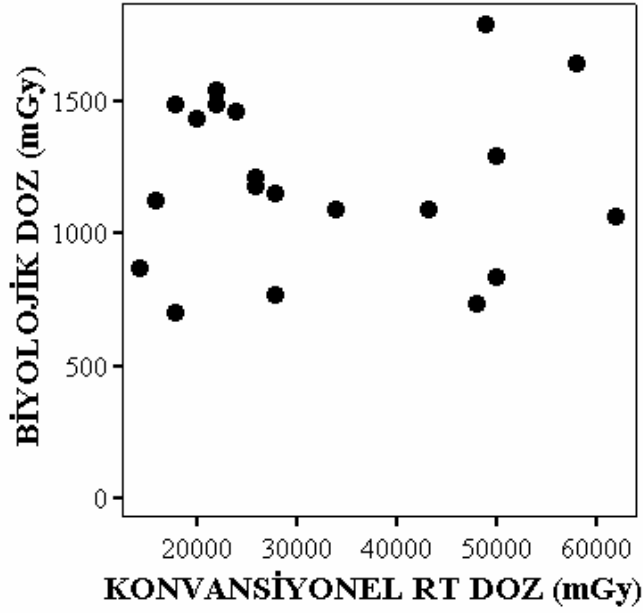
Gruplar	MIRD ile absorbe doz (mGy) (Ort±SD)	Biyolojik dozimetri ile absorbe doz (mGy) (Ort±SD)
Hipertiroidi	49.2±20.8	390.5±475
Tarama	6.5±1.6	241.1±335
Ablasyon	149.2±50	1028.1±539.2

Tüm I-131 alan hasta grubunda (n= 47) MIRD ile hesaplanan ortalama absorbe doz; 67.9±67.2 mGy iken, biyolojik dozimetrik doz; 558.2±562.5 mGy olarak hesaplanmıştır. İki yöntem arasındaki ilişki şekil 4.4’de verildiği gibi istatistiksel olarak anlamlı olup, orta düzeyde korelasyon mevcuttur ($p<0.05$, $r= 0.68$).



Şekil 4.4 MIRD ile hesaplanan absorbe dozların biyolojik dozimetrik dozlarla karşılaştırılması

Radyoterapi hasta grubunda ise konvansiyonel radyoterapi dozları (tümör hücresinde maksimum hasarı yapabilecek, normal hücrede ise minimum hasar oluşturacak 200 cGy/fr şeklinde uygulanan doz karşılığı) biyolojik dozimetrik dozlarla karşılaştırıldığında anlamlı ilişki saptanamadı ($p>0.05$, $r=0.05$).



Şekil 4.5 Radyoterapi hastalarında konvansiyonel radyoterapi dozları ile biyolojik dozimetrik dozların karşılaştırılması

Radyoterapi hastalarında teorik olarak integral dozun (Σ), hasta ağırlığına (W) bölünmesi ile elde edilen eşdeğer tüm vücut dozu ($EWBD$) hesaplamalarında Venkatachalam ve ark. (2) ve Lee ve ark. (117) tarafından refere edilmiş olan Mayneord'un integral doz hesabı için öngördüğü formül kullanılmıştır (70).

İntegral doz=

$$\Sigma = 1440 \times D_0 \times A \times d_{1/2} \times \left(1 - e^{\frac{-0.693 \times d}{d_{1/2}}} \right) \times \left(1 + \frac{2.88 \times d_{1/2}}{SSD} \right) \quad (Gy.kg)$$

$$EWBD = \left(\frac{\Sigma}{W} \right) \quad (Gy)$$

20 kişilik radyoterapi hasta grubumuzdan, aynı enerjide ışınlanan 9 hastada EWBD hesabı yapılabilmektedir. Aşağıdaki tabloda ilgili parametreler verilmektedir.

Tablo 4.6 Radyoterapi hasta grubunda tedavi ve EWBD bilgileri

No	Alan	Enerji (MeV)	SSD (cm)	Derinlik (cm)	Yükleme	Dmax (Gy)	Kg	Integral doz (Gy*kg)	EWBD (Gy)
1	13*13	6	94,3	5,7	1	28,56	78	81,25	1,04
	15*13	6	91,3	8,7	0,9				
2	16*10	18	87,4	12,6	0,8	27,73	75	119,65	1,60
	16*10	18	90	10	1				
3	9*10	18	82,2	17,8	0,5	24,84	65	64,08	0,99
	9*10	18	93,2	6,8	1				
4	18*20	6	92	8	1	18,6	70	112,96	1,61
	18*20	6	92	8	1				
5	17.5*17	6	92	8	1	22,73	70	128,42	1,83
	17.5*17	6	89	11	1				
6	9.5*9	6	91,7	8,3	1	23,1	70	34,34	0,49
	9.5*9	6	91,6	8,4	1				
7	11*23	18	87,3	12,7	1	23,76	73	137,78	1,89
	11*23	18	94,5	5,5	1				
8	9*28	18	84,3	15,7	0,5	35,13	75	231,72	3,09
	9*28	18	94	6	1				
9	12*18	6	94	6	1	52	65	152,97	2,35
	12*18	6	94	6	1				

Bu hastalarda EWBD (Ort±SD); 1,65±0.8 Gy, mikronükleus analizi ile elde edilen biyolojik doz ise; 1,21±0.3 Gy olarak bulunmuş olup, aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0.142).

TARTIŞMA

Son yıllarda çeşitli tipte terapötik radyofarmasötiklerin artan kullanımı ile iyonizan radyasyonun kromozomlar üzerine etkileri daha çok dikkat çekmekte, radyasyonun sitokastik etkileri tartışılmaktadır. Bu bağlamda bireylerin internal absorbe doz düzeylerinin belirlenmesi gittikçe önemli bir konu haline gelmiştir.

Her ne kadar nükleer tıpta kullanılan radyofarmasötiklerin geç dönem etki insidansında artışla uyumlu açık epidemiyolojik kanıtlar bulunmasa da genel anlamda radyasyonun düşük dozlarda canlı üzerinde yıllarca sonra bile ortaya çıkabilecek genetik etkilere neden olabileceği görüşü hakimdir. Radyasyonun özellikle düşük dozlardaki etkileri, canlıların tüm genetik özelliklerinin şifrelendiği kromozomlar incelenerek belirlenmeye çalışılmaktadır (71).

Çalışmamızda çeşitli medikal nedenlerle I-131 uyguladığımız hastalarda, hastaların maruz kaldığı internal radyasyon dozunu mikronükleus tekniği kullanarak biyolojik dozimetri ve MIRD yöntemi ile karşılaştırmalı olarak inceledik. Ayrıca radyoterapi alan, yani terapötik eksternal iyonizan radyasyona maruz kalan bir grup hastada yine biyolojik dozimetri uyguladık ve teorik doz hesabı ile karşılaştırdık.

Biyolojik dozların doğru olarak değerlendirilmesi; mesleki ve çevresel ışınlanma düzeylerinin belirlenmesinde, kaza ışınlanmalarında uygun tedavi programlarının saptanması ve gecikmeden başlatılmasında, düşük dozlarda geç etkiler konusunda kişilerin bilinçlendirilmesinde, ayrıca tümörlerin radyasyona karşı duyarlılıklarının belirlenmesi ve radyoterapi sırasında sağlam dokuların korunması gibi konularda önem kazanmaktadır (28, 72).

Mikronükleus Analizi

İyonizan radyasyonla ışınlanma sonucu absorbe edilen dozu belirlemek üzere giriş bölümünde de bahsettiğimiz gibi birçok biyolojik dozimetri tekniği tanımlanmıştır. Çalışmamızda biyolojik dozimetri amacıyla mikronükleus analizini tercih ettik. Biyolojik hasarların tayini için kullanılan MN analizi; kimyasal ve fiziksel mutajenlere maruz kalma durumunda toplam biyolojik etkiyi göstermesi açısından, diğer bir deyişle

sitogenetik harabiyetin tespitinde, kromozom analizine göre kolay uygulanabilmesi, daha fazla sayıda hücre sayılması ve istatistiksel yönden daha anlamlı sonuçlar elde edilmesi gibi avantajlar sağladığından yaygın kullanım alanı bulan bir teknik olmuştur (45, 46, 73).

1980'den sonra özellikle deney hayvanlarıyla gerçekleştirilen kontrollü çalışmalarda, kimyasal ve fiziksel ajanların sebep olduğu sitogenetik harabiyetin güvenilir bir göstergesi olarak kullanılan MN çalışmalarının sayısı çok hızlı bir şekilde artmıştır. MN analizi basit ve hızlı bir mutajenite testidir. Aynı zamanda diğer sitogenetik uygulamalara (kromozom aberasyonları, kardeş kromatid değişimi, anöploidi) göre ekonomik bir yöntemdir. MN analizi 13 Eylül 1987'de Goiânia'da (Brezilya) meydana gelen radyoterapi kazası sonrası bireylerde meydana gelebilecek olan genetik hasarı belirleyebilmek amacıyla kullanılmıştır. MN frekansında iyonizan radyasyonun dozuna bağlı çok anlamlı bir artış gözlenmiş ve MN testinin biyolojik dozimetre olarak kullanılması önerilmiştir. Ayrıca Goiânia kazasına maruz kalan insanlardaki sitogenetik değişiklikler iyonizan radyasyon ile yaş ve hayat tarzı (alkol tüketimi, sigara kullanımı) gibi faktörlerin etkisi birlikte ele alınarak değerlendirilmiş, rastgele seçilen 276 kişide MN bakılmıştır. Maruz kalınan radyasyon dozu ile MN frekansındaki artışın güçlü bir ilişki gösterdiği, aynı zamanda yaş, sigara alışkanlığı ve alkol kullanımı ile MN frekansının etkilendiği gözlenmiştir. Daha sonra bu konuda yapılan çeşitli araştırmalar ile iyonizan radyasyonun klastojenik etkisi açıkça ortaya koymuş ve karakteristik mutajen özelliklere de sahip olduğunu göstermiştir (33, 45, 74-76).

Çekmece Nükleer Araştırma Merkezi'ndeki işçilerde yapılan bir çalışmada, yine MN frekansında radyasyonun dozuna bağlı olarak artış saptanmıştır. Bu konu ile ilgili olarak yapılan in vitro çalışmalarda da radyasyona maruz kalan lenfositlerde oluşan MN sayısı ile radyasyon dozu arasında paralel bir ilişki bulunmuş, iyonizan radyasyon dozu ile mikronükleus frekansı arasında kantitatif bir ilişki bulunduğu ve biyolojik dozimetri amacıyla kullanılabilceği gösterilmiştir (77, 78).

Çalışmamızda tedavi öncesi mikronükleus frekanslarında gruplar arası fark tespit edilmiştir. Radyoterapi hastalarında mikronükleus frekansları yüksek bulunmuştur. Kanser hastaları içerisinde daha önce kemoterapi almış hastalar da bulunmakta idi, bu

durumda yüksek mikronükleus frekansı beklenen bir durumdur. Hipertiroidi hasta grubumuzun ise yaş ortalaması en büyük olup, radyoiod grubunda en yüksek bazal mikronükleus düzeyini açıklamaktadır.

Çalışmamızda öncelikle hastalarımızın tedavi öncesi mikronükleus frekanslarını belirledik. Böylelikle tedavi sonrası mikronükleus frekanslarındaki değişiklikleri değerlendirirken bireysel farklılıkların etkisini optimize etmeyi, tedavi öncesi ve sonrası şeklinde kıyaslama ile yalnızca iyonize radyasyonun etkisine bakmayı amaçladık.

Peace ve ark. (79) yaptıkları bir çalışmada farklı gruplardan oluşan normal bir popülasyon için mikronükleus sıklığının geniş bir yelpazede çok değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Huber ve ark. (80) 14 donörden sitokinez-blok mikronükleus(CBMN) yöntemi ile ve 30 donörden sadece 3 Gy ¹³⁷Cs ile ışınlama sonrası stimüle edilmemiş periferik lenfositlerde iyonizan radyasyona yanıtlarını incelemişler, bazal ve ışınlanmış mikronükleus frekanslarında önemli bireysel değişkenlik saptamışlardır. Yine, mikronükleus frekansının yaş ile ilişkisini değerlendirmişler ve her bir yıllık yaş artışı için %3.4±1.3'lük oranında mikronükleus artışı rapor etmişlerdir. Mikronükleus ölçümü ile hücre çoğalma kinetiklerinin belirlenmesinin bireysel radyasyon duyarlılığının gösterilmesinde yardımcı olabileceği sonucuna varmışlardır.

Yaşlılarda yapılan başka bir çalışmada kadınlarda MN frekansının yaşlanma ile artış gösterdiği anlaşılmış, ayrıca FISH tekniği ile MN oluşturan kromozomların kimliği belirlenerek; yaşlı kadınlarda X kromozomlarının otozomal kromozomlardan daha sık olarak MN oluşumuna katıldığı gösterilmiştir. X kromozom kaybı, aynı zamanda monozomik hücrelerde karyotip analizleriyle de doğrulanmış olup, MN oluşumu ile karyotip analizlerinde saptanabilen kromozom düzensizlikleri arasındaki paralellik ortaya çıkarılmıştır (81).

Fenech ve ark. (82- 86) uzun yıllardır mikronükleus yöntemi üzerinde çalışmakta olup, farklı laboratuvar protokollerinin, skorlama kriterlerinin, bireysel faktörlerin, yaşam şekillerinin ve bazal mikronükleus frekansının etkilerini incelemişler ve optimizasyon sağlamak amacıyla yol göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da

mikronükleus sayım kriterleri olarak genel bilgiler kısmında açıklandığı üzere Fenech Metodu baz alınmaktadır.

Radyoaktif iyot tedavisi ve Biyolojik Dozimetri

Çalışmamızda her bir hasta grubunda tedavi sonrası mikronükleus frekansında istatistiksel olarak anlamlı artış tespit ettik. Bu sonuç, radyoaktif iyot tedavisi sonrası mikronükleus düzeyinin arttığına dair literatürde yer alan bir çok çalışma ile uyumludur (3, 4, 31, 46). Bizim elde ettiğimiz bulgular; diğer raporlar dikkate alındığında mikronükleus analizinin, internal ve düşük LET iyonizan radyasyonun indüklediği kromozomal hasarının gösterilmesinde duyarlı bir yöntem olduğu sonucunu desteklemektedir.

Popova ve ark. (4) I-131 tedavisi alan diferansiye tiroid kanserli hastalarda bir aylık periyotta mikronükleus frekansında artış göstermişler ve genotoksik aktiviteyi göstermek için kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Federico ve ark. ise (87) yaş ortalaması 14.8 ± 3.1 olan, 1.11- 4.44 GBq I-131 ile ablasyon tedavisi alan diferansiye tiroid karsinomlu 11 adölesan hastada tedavi öncesi, tedaviden 24 saat ve 48 saat sonra kan örneği alarak mikronükleus analizi yapmış ve DNA tamir ve apoptoz yollarında gözlenen bazı genleri değerlendirmişlerdir. I-131 verilmesinin ardından stimüle T lenfositlerinde mikronükleus varlığı ile gösterilebilen erken gen hasarının ve/ veya DNA tamir ya da apoptoz yolunda bazı genlerin aktive olabileceğini vurgulamışlardır. Total tiroidektomili hastada I-131'in 2.5 saatte maksimum serum düzeyine ulaştığını ve kandaki yarı ömrünün 12- 48 saat arasında değiştiğini belirterek, aynı zamanlı kan örnekleme ile lenfositlerdeki potansiyel genotoksik etkinin gösterilmesini amaçlamışlardır. 24 ve 48. saatte MN frekansında bazal düzeye kıyasla belirgin değişiklik saptamamışlardır. 11 hastanın 9'unda 24. saatte DNA tamir ve apoptozis genlerinde önemli derecede artış, 48. saatte ise 24. saate oranla azalma izlenmiştir. Tedavi sonrası 48 saat süresince kromozom hasarı gösterilememiş olup, bu durumun, hem lezyon tamiri hem de apoptoz yoluyla kromozom mutasyonuna ilerleyen zararlı çift kol kırıklarının önleyerek gen

bütünlüğünün sürdürülmesi şeklindeki mekanizma aktivasyonuna bağlı olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızda literatürdeki örneklere dayanarak tedavi sonrası kan örneklemesini radyoaktif iyot tedavisinden yaklaşık 1 hafta sonra yaptık. Federico ve ark. da (87) çalışmalarındaki negatif sonucun kan örneklemesinin erken dönemde yapılmasına bağlamışlardır. I-131 tedavisi sonrası hasarın genellikle tedaviden 1 hafta sonra ve sonrasında daha uzun periyotta meydana geldiğini, bu sürede dolaşımda lipid peroksidasyon ürünlerinin, TNF α gibi sitokinlerin, süperoksit radikallerin artması ile hasar mekanizmasının oluştuğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızı planlarken I-131 verilmesini takiben mikronükleus frekansındaki kısa dönem değişikliği de takip etmeyi amaçlamıştık. Teknik yetersizlikler nedeniyle 1 ay sonra I-131 alan 47 kişilik hasta grubumuzdan 32 tanesinde mikronükleus analizi yapabildik. Tarama ve hipertiroidi grubunda tedavi sonrası mikronükleus frekansına kıyasla belirgin değişiklik saptanmamıştır. Ablasyon hastalarında ise 1. ayda saptanan mikronükleus frekansında istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edilmekle birlikte, halen bazal düzeylerden yüksek olduğu görülmüştür.

Literatürde mikronükleus frekansının uzun süreli takip edildiği çalışmalar bulunmaktadır. Gutiérrez ve ark. (3) hipertiroidi ve tiroid kanserli hasta grubunda tedavi sonrası mikronükleus düzeyini 1 yıl süre ile takip etmişlerdir. 47 hipertiroidi ve 39 tiroid kanserli hastadan oluşan çalışma grubunda tedavi öncesi ve tedaviden 1 hafta, 1 ay ve 3 ay sonra mikronükleus frekansını değerlendirmişler, ayrıca bu grup içerisinde 17 hipertiroidi hastasında tedaviden 6 ay sonra, tiroid kanserli 4 hastada ise 6 ay ve 1 yıl sonra mikronükleus analizini tekrar etmişlerdir. Hipertiroidili hasta grubunda mikronükleus frekansında tedavi sonrası önemli derecede artış, 3.aya kadar giderek artış ve 6. ayda devam eden yüksek değerler olduğunu tespit etmişlerdir. Tiroid kanserli grupta tedavi öncesine göre mikronükleus frekansının tedaviden 1 hafta sonra iki kat yüksek olduğunu görmüşlerdir, bu değerlerin zaman içinde düşmekle birlikte 1 yıl sonra da önceki değerlerden yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir.

M'Kacher ve ark. (88) 50 tiroid kanserli hastayı iki yıl süresince izlemişler, 3. ayda tedavi sonrası 4. güne oranla kromozomal aberasyon sıklığında azalma saptamışlardır.

Tedaviden 2 yıl sonra ise hala bazal düzeylerden yüksek aberasyon sayısı tespit etmişlerdir. 3.ayda aberasyon sıklığındaki azalmanın, I-131 verildikten sonra lenfosit miktarında azalma ile hem stem cell'in mitotik aktiviteyi hızlandırması, hem de dalak vs. organlardan radyasyondan daha az etkilenmiş lenfositlerin sirkülasyona geçmesi ve kan dolaşımında çoğalmalarıyla ilgili olduğunu belirtmişlerdir.

Guitérez ve M'Kacher (3, 88) çalışmalarında lenfositlerin periferik dolaşımdaki ortalama yarı ömürlerinin 3 yıl olduğunu, bu süre içinde kromozomal hasar tespit edilebileceğini vurgulamışlardır. Bu da radyasyon kazaları sonrası geç dönemde de mikronükleus analizinin kullanılabilir olma özelliğini açıklamaktadır. Diğer taraftan, Watanabe ve ark.ları (89) 25 tiroid kanserli hasta grubunda yaptıkları çalışmada tedaviden 1 yıl sonra mikronükleus düzeylerinin bazal seviyelere döndüğünü rapor etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda 1 aylık takip süresi kısa olmakla birlikte yüksek doz I-131 verilmesini takiben 1. ayda azalmış mikronükleus frekansı görülmesi 'tamir sürecinin düşük dozlara kıyasla daha hızlı başladığı' tezini de akla getirmektedir. Bu konuda daha geniş çalışma grubunda daha uzun süreli takipte çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu düşünmekteyiz.

Watanabe ve ark. (90) başka bir çalışmada 3.7 GBq I-131 tedavisi almış 22 tiroid kanserli hasta grubunda sitogenetik hasar belirlemede B lenfositlerinde mikronükleus analizi yapmanın tüm lenfositleri değerlendirmeden daha sensitif olduğunu vurgulamışlardır. Birkaç in vitro çalışmada da bu durum desteklenmektedir. Wuttke ve ark.ları (91) B lenfositlerin T lenfositlerden daha radyosensitif olduğunu, yine Vral ve ark.ları (92) B lenfositlerin in vitro mikronükleus oluşumunda oldukça radyosensitif davranış sergilediklerini göstermişlerdir. İmmun fonksiyon ve apoptozis değerlendirildiğinde B lenfositlerin diğer lenfosit subpopülasyonuna oranla daha radyosensitif olduğu vurgulanmıştır (93). Streffer ve ark.ları (94) ise B lenfositlerinde mikronükleus analizinin 0.3- 5 Gy doz aralığında genel prosedürlerden daha düşük sensitivitede olduğunu ileri sürmüşlerdir. Anlaşıldığı üzere bu konuda çelişkili raporlar bulunmaktadır, Teknik yetersizlikler nedeniyle izole B lenfositlerde mikronükleus analizi yapma şansımız olmadı.

M'Kacher ve ark. (95) boyun veya akciğer metastazı bulunan 18 diferansiye tiroid kanserli hastada I-131 ile tekrarlayan tedaviler esnasında kromozom aberasyon skorlaması ile biyolojik dozimetri çalışması yapmışlardır. 3.7 GBq I-131 verdikten sonra ortalama dozimetrik index (periferik kanda bulunan lenfositlerde ortalama I-131 absorbe dozu) 0.5 Gy bulunmuştur. Hastalara ilk tedaviden 4, 6 ya da 12 ay sonra boyun relapsı ya da akciğer metastazı nedeniyle yıl içerisinde tekrar I-131 tedavisi verilmiştir. Tekrarlayan tedavilerde de aynı dozlar saptanmış olup, iki ile yedi tedavi aralığında birikmiş doz 1- 3.5 Gy bulunmuştur. 4. günde kromozom aberasyon düzeyi baz alınarak ölçülen tüm dozlar 3. tedavi sonrası dozdan sonra lenfositlerin gerçek absorbe dozundan düşük bulunmuştur. Bu durumun multipl kromozom anomalili lenfositlerin ölmesine yani apoptozise bağlı olabileceği vurgulanmıştır. Belirlenen dozimetrik index normal tiroid fonksiyonu ve normal metabolik aktivitede bireylerden alınan kanlarla elde edilen ICRP'nin (International Commission on Radiological Protection) sonuçlarından (0.13 Gy) yüksek bulunmuştur. Burada ise tiroid kanserli hastaların hipotiroid halde I-131 almaları ve hipotiroid süreçte radyoaktif iyodun azalmış renal klirensi nedeniyle daha fazla tüm vücut ışınlanmasına maruz kaldığı belirtilmiştir. Radyoaktif iyodun verilmesinden sonra 4. gündeki dozimetrik index tüm vücut I-131 retansiyonu ile uyumlu bulunmuştur.

Burada hipotiroid süreçte elde edilen mikronükleus verimi ile sağlıklı bir gönüllüden alınan kanların in vitro ışınlanması ile elde edilen doz yanıt eğrisine dayanarak doz hesabı yapmanın doğru olup olmadığı sorusu akla gelmektedir. Pek çok çalışmada bizim örnek aldığımız gibi bu yöntem kullanılmış olmakla birlikte hipotiroid sürecin etkilerini araştıran daha geniş çaplı çalışmaların olması gerektiğini düşünmekteyiz.

Biyolojik Dozimetric Doz Yanıt Eğrileri

MN doğal oluşum sıklığının farklı olması, 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 olması gerektiğini daha önce belirtmiştik. Mikronükleus analizi ile biyolojik dozimetrik ölçüm için farklı dozlarda in vitro ışınlanan kan örneklerinde mikronükleus frekansı belirlenerek doz-

yanıt eğrisi elde edilmektedir. Elde edilen eğrilerde bireysel doz-yanıt farklılıkları bulunabilmektedir.

Thierens ve ark. (96) mikronükleus ile doz yanıt eğrisi oluşturmak amacıyla 0-4 Gy aralığında X ışını ile ışınlanmış heterojen popülasyonda 10 farklı donörü değerlendirmişler, 2 Gy ve üzerindeki dozlarda x ışınının indüklediği mikronükleus veriminde (MN/BN) bireysel farklılığın yol açtığını doz belirsizliğini göstermişlerdir. %95 güven aralığında 0.3 Gy altındaki dozlar net olarak tespit edilememiştir. Donör popülasyonunun bazal mikronükleus sıklığındaki değişiklik ve hücre skorlamadaki zayıf istatistiksel kesinliğin buna sebep olabileceğini belirtmişlerdir. Bireylerin mikronükleus analizi öncesi bazal düzeylerinin bilinmesi ve hücre skorlamada otomatik sistemlerin kullanılmasının düşük doz düzeylerinde kesinlik ve duyarlılığı arttıracaklarını vurgulamışlardır.

Bizim verilerimizde 0.1 Gy altındaki dozlar tespit edilememiştir. Standart eğri oluşturulurken çok küçük doz noktalarında (<0.5 Gy) doz- cevap ilişkisini ortaya koymak için çok fazla sayıda hücre sayımının yapılması önerilmektedir (kalibrasyon eğrisi oluşturmak için 10000-15000 hücre) (23). Ancak bu sayılardaki hücre skorlama işlemi uzman eleman gerektirmemekle birlikte, oldukça zahmetli ve zaman alıcı bir süreçtir. Çalışmamızda hastalarda olduğu gibi kalibrasyon eğrisi için hücre skorlamasında 1000 BN hücre sayımı yaptık. Otomatik skorlama sistemlerinin geliştirilmesi ile biyolojik dozimetri çalışmalarının yaygınlaşacağını düşünmekteyiz.

Bizim in vitro şartlarda elde ettiğimiz eğri linear-quadratik modele uymaktadır. Düşük LET'li radyasyonların herhangi bir dozunda iyonizasyon rastgele dağılır. X ve gama gibi düşük LET'li radyasyon ile akut ve homojen ışınlanma ile oluşan kromozom aberasyonlarının Poisson dağılımına uygunluk gösterdiği belirlenmiştir. Homojen olmayan ışınlanmalarda ve kronik ışınlanmalarda ise Poisson dağılımından sapmalar büyük olmaktadır (23). Rusov ve ark. (97) kromozomal hasara ait doz-yanıt ilişkisi düşük LET'li radyasyonlarda (özellikle 0.4-0.7 Gy absorbe doz aralığında) yüksek LET'li radyasyonlardan daha kompleks özellikte olduğunu, düşük LET'li radyasyonlara ait doz-yanıt eğrisi linear-quadratik modele uyduğunu rapor etmişlerdir.

Fabry ve ark. (98) gama ışını ile tedavi altındaki hastalardan lenfosit kültüründe kromozom aberasyon analizi yaparak, Huber ve ark. (99) in vitro nötron, gama, 220 KeV X-ışını ve ⁶⁰Co gama ışınlama sonrası mikronükleus analizi sonrası düşük LET radyasyonlar için doz yanıt ilişkisinin linear- quadratik modele uygun bulunduğunu göstermişlerdir. Huber ve ark. (99) nötronun indüklediği mikronükleus frekansının ise lineer modele uymakta olup, yüksek dozlarda doymuşluk etkisinin görüldüğünü rapor etmişlerdir. Fabry ve ark.larının (98) çalışmasında ise in vitro düşük doz akut gama ışınlama ile elde edilen kromozom aberasyon sıklığı, in vivo koşullar ile benzer bulunmuş olup, in vitro kalibrasyon eğrilerinin in vivo absorbe dozun biyolojik ölçümü için kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Lloyd ve ark. (100) lenfositlerde radyasyonun indüklediği kromozom aberasyon doz yanıt eğrisinin genellikle quadratik modele uyduğunu belirtmektedir. Düşük doz radyasyonun lenfositlerde stimüle ettiği enzimatik tamir kapasitesi mekanizmasının nonlineer olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Erselcan ve ark. (5) tirotoksikoz veya ablasyon tedavisi amacıyla değişik dozlarda I-131 alan 15 hastada bazal, akut dönem ve geç dönemde olmak üzere SCE yöntemi ile kromozomal hasarı değerlendirmişler, kısa dönemde önemli artış tespit etmişlerdir. Tedavi sonrası 6 aylık süreçte kromozomal hasarın kısmen iyileşebildiğini göstermişlerdir. İn vivo şartlarda akut ve geç doz yanıt ilişkisinin linear- quadratik modele uyduğunu belirtmişler, sonraki çalışmalarda biyolojik dozimetrik sonuçların MIRD ile karşılaştırılması gerektiğini vurgulamışlardır.

MIRD Metodu ile Fiziksel Dozimetri

Absorbe doz hesabı için giriş bölümünde açıkladığımız üzere öncelikle tüm vücut kalma sürelerini (residence time) hesapladık. Çalışmamızda hipertiroidi hastalarında elde ettiğimiz kalma süreleri tiroid kanserli hastalara göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Bu durum Zanzanico ve ark. (101) tarafından da tespit edilmiştir. İlgili mekanizma, I-131'in efektif yarı ömrünün iki hasta popülasyonunda farklı olması ile açıklanmaktadır. Hipertiroidi hastalarında, hızlı çalışan tiroid dokusu ve yavaş temizlenen tiroid hormonunun yüksek değerlerde salgılanması ile I-131' in efektif yarı ömrü yaklaşık 8 gün, tiroid kanserli hastalarda ise tiroidektomi sonrası çok az ya da

olmayan fonksiyone tiroid dokusu ve sirkülasyona çok az tiroid hormonu salgılanması sonrası I-131'in efektif yarı ömrünün 1 gün kadar olduğu ifade edilmektedir. Nitekim tiroid Ca hastalarımızda efektif yarı ömür ortalama 1 gün iken, hipertiroidi hastalarında 4 gün kadardı.

MIRD metodu ile absorbe doz hesabı klinik rutinde tedavi öncesi verilecek doz tahmini ve tedavi sonrası her bir organ ve fetal absorbe doz düzeylerini belirlemek için kullanılmaktadır.

Absorbe doz hesabı için literatürden birkaç örnek verecek olursak;

Ahmed S ve ark. (102) 3700- 7400 MBq I-131 tedavisi alan 29 tiroid kanserli kadın hastada MIRDOSE3 paket programı kullanarak ablasyon tedavisi sırasında su içmenin mesane absorbe doz düzeyini ne şekilde etkilediğini araştırmışlardır. İlk üç gün için mesane duvarı absorbe dozunun su içmekle azaldığını tespit etmişlerdir.

Carlier ve ark. (103) 41 Grave's hastasında MIRD metodu temel alınarak farklı metodlarla doz hesabı yapmışlardır. Marinelli, Leslie, Bockisch gibi metodlar ile elde edilen absorbe doz düzeylerinin uyumlu olduğunu belirtmişler, bireysel biyokinetiğin değerlendirilmesinin önemini vurgulamışlardır.

Hastalarımızın tüm vücut absorbe doz hesabı için MIRDOSE3 programı tarafından öncelikle istenen parametre, hastada radyoizotopun "kalma süresinin" (residence time) hesaplanması idi. Hesaplamalarda '2008 EANM Dosimetry Committee' prosedürü uygulandı (68). Burada işlemin doğruluğu açısından nasıl bir fantom çalışması yapılması gerektiği açık olarak belirtilmemiş olmasına karşın, biz oluşturduğumuz silindirik fantomla işlemlerimizin sağlamlasını yaptık. Hastalardan 24, 48. ve 168. saatlerde tüm vücut tarama görüntüleri elde ederek manuel hesaplama ile kalma sürelerini elde ettik. Son yıllarda bu konuda MIRDOSE dışında paket programlar geliştirilmeye çalışılmaktadır. Visser ve ark. (104) OLINDA/EXM paket programını geliştirerek planar tüm vücut sintigrafi görüntülerindeki ilgi alanlarından otomatik ROI'lerin çizilmesi, geri plan aktivite ve atenüasyon düzeltilmesi ile her bir organ için kalma sürelerini (residence time) belirlemişlerdir. SPRIND (internal doz ölçümü için paket program)'in radyasyon doz belirleme çalışmalarında kullanıcı dostu bir paket program olduğunu vurgulayıp, daha kısa zamanda ve daha az hata ile çalışılabileceğini

belirtmişlerdir.

Çalışmamızda absorbe doz hesaplanmasında kullanılan MIRD yöntemi fantom simülasyonuna dayanmakta olup, kişisel farklılıkları yeterli derecede yansıtılabileceği tartışma konusudur. Giriş bölümünde de bahsettiğimiz üzere MIRD yönteminde radyoaktivitenin standart organ alanında homojen dağıldığı varsayılırken, pek çok kişide dağılım farklıdır. Biyolojik efektif doz baz alınarak internal dozimetrik hesaplama yapmak radyonüklid tedavi planlamasında önemli bir yere sahiptir.

Brill ve ark. (105) terapötik I-131'in çok farklı medikal uygulamalarının bulunduğunu, absorbe doz hesabı için ise tiroid gland ağırlığı, uptake, efektif yarı ömür, diğer organ ve dokularda dağılım ve vücuttan atılım gibi parametrelere ihtiyaç duyulduğunu belirtmişlerdir. Bu verilere ulaşmanın zor olduğunu ve daha çok referans modeller baz alınarak doz hesabı yapıldığını ifade etmişlerdir. MIRD ve ICRP tarafından yayınlanan metabolik modellerin radyofarmasötik birikim ve atılım yolları değiştiğinde modifiye edilmesi gerektiğini bildirirken, I-131 alan hastalarda doz dağılımı ve etkilerini göstermede geniş hata payı bulunduğunu vurgulamışlardır.

MIRD formülasyonunun teorisyenlerinden Stabin (106) çok yakın zamanda yayınlamış olduğu derlemede MIRD modellerinin doz ölçümlerinde ve bireysel tedavi planlamasında yetersiz kaldığını vurgulamaktadır. Medikal imaj verilerinin baz alındığı hastaya spesifik vücut modellerinin geliştirilmesiyle, üç boyutlu doz dağılımlarının belirlenmesinin gerektiğini düşünmektedir. İnternal dozimetreyi altın çağa itecek gelişmenin biyolojik etkinliği ortaya koyacak yüksek kalitede radyasyon doz belirleme olduğunu ve yeni modellerin geliştirilmesinde daha geniş çalışmalara ihtiyaç olduğunu bildirmektedir.

Bu konuda geliştirilmiş yeni yöntemler ile daha geniş çaplı araştırmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Fiziksel ve Biyolojik Dozimetri Karşılaştırması

İnternal ve eksternal iyonizan radyasyonun sitogenetik etkilerinin birlikte değerlendirilmesi, fiziksel ve biyolojik dozimetrik karşılaştırılması açısından çalışmamız orijinal niteliktedir.

Çalışmamızda radyoaktif iyot tedavisi alan hasta grubunda MIRD DOSE3 yazılımı ile hesaplanan ortalama absorbe doz; 67.9 ± 67.2 mGy iken, biyolojik dozimetrik doz; 558.2 ± 562.5 mGy olarak hesaplanmış olup, biyolojik dozların oldukça yüksek olduğu dikkat çekmektedir.

Literatürde fiziksel doz ile biyolojik doz arasındaki ilişkiyi gösteren az sayıda çalışma bulunmaktadır. Biyolojik dozların yüksekliğini açıklayacak mekanizmalar yeterince açık değildir.

Wuttke ve ark. (107) diferansiye tiroid kanserli hastalarda I-131 verilmesiyle birlikte artmış kromozomal hasar ve yüksek kemik iliği absorbe dozu saptamışlar, ancak doz yanıt ilişkisi hakkında matematiksel bilgi sunmamışlardır.

Monsieurs ve ark. (108) tirotoksik hastalarda ölçülen total absorbe doz ile mikronükleus verimi baz alınarak hesaplanan total vücut dozu arasında korelasyon olmadığını rapor etmişlerdir. Yine aynı grup (109) başka bir çalışmada tirotoksik hastalarda tedavi sonrası 7. günde tiroide kalan aktivite miktarı ile mikronükleus verimi arasında ilişki saptamamışlardır.

M'Kacher ve ark. (6) I-131 ile tedavi edilmiş 30 tiroid kanserli hastada periferik lenfositlerde kromozomal aberasyon skorlamasını baz alarak yaptıkları biyolojik dozimetrik çalışmada, biyolojik dozimetrik sonuçların MIRD ölçümlerinden (tedavi sonrası 4. günde tüm vücut tarama yapılarak I-131 retansiyonu hesaplanmış) 2- 4 kez yüksek olduğunu göstermişlerdir.

Lloyd ve ark. (7) tiroid kanseri için geniş doz aralığında I-131 ile tedavi edilmiş 11 hastada fiziksel ve sitogenetik tüm vücut dozunu karşılaştırdıkları çalışmalarında; tiroid uptake, plazma aktivite değişikliği ve üriner aktiviteden hesaplanan fiziksel doz ile kromozomal aberasyon analizi ile elde edilen dozlar arasında iyi uyum saptamışlardır. Farklı tiroid fonksiyonlarına sahip hastalarda sitogenetik dozlar her zaman dikkate değer ölçüde yüksek bulunmuş olup, tiroid ve karaciğerde organik olarak depo edilmiş iyotun yakınında bulunan lenfositlerin artmış selektif β ışınlanmasının buna sebep olabileceği vurgulanmıştır. Tüm vücut radyasyon dozunun ölçülmesinde iyot metabolizmasının anlaşılmasının hala problem olduğunu belirtmişlerdir.

Bizim çalışmamızda da internal iyonizan radyasyona maruz kalan hastalarda biyolojik dozimetrik dozların yüksek bulunması lenfositlerin selektif β ışınlanmasına bağlı olabilir şeklinde düşünmekteyiz. Sebep olabilecek diğer mekanizmalar ise açık değildir.

Catena ve ark. (110) I-131 tedavisi alan 20 hastada (19 tiroid kanserli ve 1 Plummer hastalığı olan) MIRD metodu ve modifiye ICRP kompartman modeli kullanarak absorbe dozu hesaplamışlardır. Ayrıca hastalardan tedavi öncesi, tedavi sonrası 3-7. ve 20-40. günlerde kan örnekleri alarak mikronükleus analizi ve kalorimetrik test (fitostimülasyondan 75 saat sonra 100 μ l MTT (tetrazolium salt 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) solüsyon ilave edildikten 20 saat sonra optik absorpsiyon bakılarak yapılmaktadır.) uygulamışlardır. Tedavi sonrası kemik iliği absorbe dozla tutarlı MTT test saptamışlardır.

Righi ve ark. (111) bireysel sitogenetik yanıtın MIRD ile hesaplanan absorbe doza oranla orta derecede yüksek olduğunu, ancak sitogenetik çalışmanın I-131 tedavisine yanıtta bireysel farklılığı ayırmada uygun olmadığını belirtmişlerdir.

Bir başka çalışmada, Chernobyl kazası sonrası tiroid kanseri gelişen ve I-131 tedavisi alan 44 tiroid kanserli hastada tedavi öncesi ve tedavi sonrası retikülositlerde mironükleus frekansına bakılmış, tedavi sonrası 1. gün maximum artış, 2-5 gün boyunca ise tedavi öncesi değerlere doğru azalma saptanmıştır (112). Bu çalışmada 100 mSv total doz kolaylıkla saptanabilmiş olup, akut ışınlanma sonrası sensitif değerlendirmenin 50 mSv olabileceği belirtilmiştir. Radyoiyot tedavisinde kırmızı kemik iliğinin kritik organ olduğu vurgulanıp, MIRDOSE3 yazılımı kullanarak kemik iliği absorbe dozunu da hesaplamışlardır. Standart insan modeli kompartmanları ile hastaların birebir uymaması nedeniyle ölçümlerin standart sapmalarının biraz yüksek bulunduğunu rapor etmişlerdir. Bu durum, MIRDOSE3 yazılımı ile absorbe doz hesabında hata payının yüksek olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada ayrıca periferel sirkülasyonda retikülosit migrasyonu ve eritroblast maturasyonun gösterilebilmesi amacıyla fare modeli üzerinde çalışılmıştır. İnsan eritroblastlarında mikronükleus düzeyi tespiti için farelerin model olabileceği ise tartışmalıdır.

Genel anlamda biyolojik dozimetrik dozlar bizim çalışmamızda olduğu gibi absorbe doza kıyasla yüksek bulunmuş olmakla birlikte, fiziksel ve biyolojik dozlar arasında nasıl bir bağlantı olduğunu söylemek için yeterli değildir.

Radyoterapi Hastalarında Biyolojik Dozimetri

Çalışmamızın diğer bir kolu ise Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalında radyoterapi alan hastalardan oluşmaktaydı. Bu hasta grubunda da tedavi amaçlı uygulanan eksternal iyonizan radyasyon sonrası mikronükleus frekanslarının tedavi öncesine göre yüksek olduğunu saptadık.

IAEA raporunda (24) fraksiyone ışınlamalarda ışınlama süresinin dikkate alınması gerektiği söylenmekle birlikte, bu durum nükleer reaktör kazaları gibi uzun süreli maruziyet sonrası kullanılabileceğinden ve radyoterapi hastalarında ışınlama süresi birkaç dakikayı geçmemesi nedeniyle fraksiyone ışınlamalar için modifiye edilmiş formül (G faktörü) biyolojik dozimetri hesaplamalarında dikkate alınmamıştır.

Bizim çalışmamıza aldığımız radyoterapi hasta grubu çok farklı kanser tanıları bulunan hastalardan oluşmakta idi. İki alandan, aynı enerji ile ışınlanmış hastalarda teorik olarak EWBD hesaplandı. Hastalarımızın bir kısmı ise çoklu alan (ikiden fazla), farklı enerjiler (6 MeV, 18 MV), farklı SSD (her alan başına farklı uzunluklarda kaynak cilt mesafesi) ve farklı yükleme (her alandan farklı doz) ile ışınlanmışlardı. Bu durumda Mayneord (70) tarafından referans edilen integral doz formülü ile radyoterapi hasta grubundaki tüm hastalarda EWBD hesabı yapılamadı. İntegral doz hesabı için güncel başka kaynaklara da ulaşılamadı.

EWBD hesaplanan 9 hastada biyolojik dozimetrik doz ile EWBD uyumlu olup, aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. EWBD hesaplanan daha geniş hasta popülasyonunda geliştirilmiş çalışmalara gerek olduğunu düşünmekteyiz.

Radyoterapik konvansiyonel dozlarla biyolojik dozlar arasında ise ilişki saptanamamıştır. Bu sonuç fraksiyone radyoterapi hastalarında beklenen bir durumdur.

Fenech ve ark. (1) iyonizan radyasyon sonrası artan mikronükleus frekansının zamanla azaldığını, bunun hasarlanmış lenfositlerin yenilenmesi, tamir süreci ile ilgili olduğunu vurgulamışlardır. Işınlanma sonrası resirkülasyon ile lenfosit dağılımı

değişirken tamir mekanizması da devreye girmektedir. Fraksiyone ışınlamalarda ve farklı doz hızlarında doz hesabı karmaşık bir süreçtir. Akut parsiyel ışınlanma sonrası lenfosit kültürü tüm vücutta radyasyondan etkilenmiş ve etkilenmemiş hücreleri tam olarak yansıtmamaktadır. Fraksiyonlar arası tamir süreci, mitotoik gecikme ya da hücre ölümü tam olarak açıklanamamaktadır.

Yine literatürden örnekler verecek olursak;

Kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada tedavi amaçlı yapılan radyoterapi sırasında hastaların tümünde MN frekansında dozla ilişkili artış bulunmuştur (69).

Jagetia G.C ve ark. (8); farklı tipte kanser tanısı almış hastalarda 36- 66 Gy ⁶⁰Co ile 5- 6 hafta süreli planlanan radyoterapi tedavisi öncesi 27 hastadan kan alarak mikronükleus analizi yapmışlardır. Bu hasta grubunda tedavi öncesi mikronükleus frekansı tedavi almamış sağlıklı gönüllülerle karşılaştırıldığında anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Mikronükleus sıklığında; radyoterapi ortalarında tedavi öncesine kıyasla 2 veya daha fazla kat artış, tedavi sonrasında ise tedavi öncesi ve ortasındaki mikronükleus frekansına göre anlamlı ölçüde artış tespit edilmiştir. Tedavi öncesi mikronükleus frekansında artışın immun sistem değişikliği veya bozulmuş DNA tamir sistemine bağlı olabileceği vurgulanmıştır.

Senthamizchelvan ve ark. (113) biyodosimetri yöntemi ile terapötik akut yüksek doz parsiyel vücut ışınlanması yapılmış hastalarda doz hesabı yapmışlardır. Mitotik gecikme ve fraksiyonlar arası hücre ölümlerinin, ışınlanmış ve ışınlanmamış lenfositlerden oluşan non homojen kültürlerin doz ölçümünde kesinliği etkilediğini belirtmişlerdir.

Catena ve ark. (114) radyoterapi alırken azalan lenfosit sayısı ile bireysel sitogenetik yanıt arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. İlk olarak lenfositlerdeki azalmanın bireysel farklılık gösterdiğini tespit etmişlerdir. Lenfosit azalma oranı ve tüm vücut dozu arasındaki ilişki bireysel lenfosit havuzunun radyosensitivitesi ile ilişkili bulunmuştur. Aynı dozlarda in vivo ışınlama ile elde edilen mikronükleus değerleri in vitro değerlerden düşük bulunmuştur. Bu durumun sitogenetik tamir faktörü ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir.

Léonard A ve ark. (115) meme kanseri tanısıyla radyoterapi alan hastalarda periferik lenfositlerde sitolojik inceleme yaparak, ortalama değerlerin kvadratik modele uygun olduğunu belirtmişlerdir. Erken dönemde daha az sayıda lenfositin ışınlanması sonrası aberasyon veriminin doz yanıt eğrisine oranla dşuk bulunduğunu vurgulamışlardır.

Le Roux J ve ark. (116) CBMN lmnn radyoterapi alan kanser hastalarında biyolojik dozimetre olarak kullanılabilirliğini araştırmak amacıyla öncelikle sağlıklı 4 donörden aldıkları kanları in vitro ortamda ışınlamışlar ve doz ile uyumlu mikronükleus frekansları belirlemişlerdir. Pelvik bölgede farklı tümörleri bulunan 6 hastada ise tedavi öncesi ve tedavi sırasında alınan kanlarda mikronükleus frekanslarını hesaplamışlardır. EWBD’da hesaplanan hastalarda; in vivo ve in vitro doz yanıt ilişkisi lineer olarak bulunmuş olup, 4 Gy altındaki dozlarda fiziksel doz ile biyolojik doz arasında çok yakın uyum bulunduğunu rapor etmişlerdir.

Venkatachalam ve ark. (2) fraksiyone radyoterapi almış serviks kanserli hastalarda ve in vitro ışınlanmış kanlarda periferik lenfositlerde translokasyon, disentrik ve mikronükleus analizi ile doz hesabı yapmışlardır. 1.25 Gy üzerinde ışınlanmış hastalardaki mikronükleus frekansı in vitro doz yanıt eğrisi ile benzer bulunurken, 1.25 Gy altındaki dozlarda fraksiyone dozlar in vitro dozlara kıyasla dşuk bulunmuştur.

Lee ve ark. (117) fraksiyone radyoterapi almış 8 prostat kanserli hastada yapmış oldukları çalışmada CBMN analizi ile ex vivo doz yanıt ilişkisinin önemli bireysel farklılıklar gösterdiğini ancak in vivo ışınlama sonrası biyodosimetri olarak kullanılabilirliğini bildirmişlerdir. Mayneord referans alınarak hesaplanan EWBD ile mikronükleus verimi arasında lineer ilişki bulunduğunu ve DNA hasarının sebep olduğu yüksek mikronükleus veriminin sitogenetik tamir sürecinde bireysel yüksek radyosensitivite ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Sonuç olarak; çalışmamızda internal iyonizan radyasyona maruz kalan hasta grubunda tüm vücut absorbe doz hesaplamasında teorik ve biyolojik yöntemler arasında fark bulunduğunu gözlemledik.

İnternal iyonizan radyasyona maruz kalan hastalarda absorbe doz hesaplamalarında mikronükleus analizi ile elde edilen biyolojik dozimetrik dozların gerçek absorbe dozlara kıyasla yüksek çıkabileceğini, absorbe doz hesaplanmasında fantom similasyonuna dayanan MIRD yönteminin ise kişisel farklılıkları yeterli derecede yansıtmayabileceğini ve bu konuda daha geniş hasta gruplarında araştırmalara ihtiyaç duyulduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- 1- Fenech M, Denham J, Francis W, Morley A. Micronuclei in cytokinesis-blocked lymphocytes of cancer patients following fractionated partial-body radiotherapy. *Int J Radiat Biol.* 1990; 57(2): 373-83
- 2- Venkatachalam P., Solomon P, Prabhu K, Mohankumar M, Gajendiran N: Estimation of dose in cancer patients treated with fractionated radiotherapy using translocation, dicentric and micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes. *Mutation Research* . 1999; 429: 1-12
- 3- Gutiérrez S, Carbonell E, Galofré P, Creus A, Marcos R. Cytogenetic damage after 131- iodine treatment for hyperthyroidism and thyroid cancer A study using the micronucleus test. *European Journal of Nuclear Medicine* 1999; 26: 1589-1596
- 4- Popova L, Hadjidekova V, Hadjivea T, Agova S, Vasilev I. Cytokinesis-block micronucleus test in patients undergoing radioiodine therapy for differentiated thyroid carcinoma. *Hell J Nucl Med.* 2005; 8(1): 54-7
- 5- Erselcan T, Sungu S, Ozdemir S, Turgut B, Doğan D, Ozdemir D. Iodine-131 treatment and chromosomal damage: in vivo dose-effect relationship. *Eur J Nucl Med.* 2004; 31: 666-84
- 6- M'Kacher R, Légal J-D, Schlumberger M, et al. Sequential biological dosimetry after a single treatment with iodine-131 for differentiated thyroid carcinoma. *J Nucl Med* 1997; 38: 377-380
- 7- Lloyd D.C. Biological Dosimetry in Radiological Protection: Recent Developments. *J. Soc. Prot.* 1984; 4: 216-230
- 8- Jagetia G.C, Jayakrishnan A, Fernandes D, Vidyasagar M.S. Evaluation of micronuclei frequency in the cultured peripheral blood lymphocytes of cancer patients before and after radiation treatment. *Mutation Research* 2001; 491: 9-16
- 9- Tamgaç F, Erselcan T. Klinik Uygulamada Nükleer Tıp. Ünal ofset Matbaacılık Ambalaj Sanayi ve Ticaret A.Ş. İstanbul 2001 s:201
- 10- Demir M. Nükleer Tıp Fiziği ve Klinik Uygulamaları. Pozitron Teknik Hizmetler İç ve Dış Tic. San. Ltd. Şti. İstanbul 2008 s: 110-166
- 11- Beyzadeoğlu M.M, Ebruli C.C Klinik Radyasyon Onkolojisi içinde: Beyzadeoğlu M.M, Ebruli C.C Temel Radyasyon Onkolojisi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Basımevi 2008 s: 135-157
- 12- Early PJ. Nature of radiation. In: Early PJ, Sodee D.B, eds. Principles and practice of nuclear medicine. St. Luis: Mosby, 1995 p: 17-22

- 13- <http://www.geocities.com/gtureci/emspek.gif>
- 14- Özalpan A. Temel Radyobioloji Haliç Üniversitesi Yayınları 2001 s:1-15, 36- 45, 115-128
- 15- Hall EJ. Radiobiology for Radiologist. 3rd edition Lippincott Co, Philadelphia, 1988 p: 36-54
- 16- Detringer H and Jung H. Molecular Radiation Biology. Springer- Verlag, Newyork, Heidelberg, Berlin 1970 p: 38-68
- 17- Pouget JP, Mather SJ. General aspects of the cellular response to low and high-LET radiation. Eur J Nucl Med 2001; 28: 541-561
- 18- Coggle JE Biological Effects of Radiation Eds. Matt., N. Wykeham Publ. London 1977 p: 81- 86
- 19- Tubiana M, Dutreix J: Introduction to Radiobiology. Taylor&Francis, Paris 1990. p: 24-99
- 20- Kekilli E. İyonize radyasyonun biyolojik etkileri İçinde: Kekilli E. Nükleer Tıp'a Giriş Malatya 2001 s: 49- 77
- 21- Ronald J. Scala Biologiical effects of ionizing radiation In: Early PJ. Sodee D.B, eds. Principles and practice of nuclear medicine. St. Luis: Mosby, 1995: 118-130,
- 22- S.Julian Gibbs Radiobiology In:Sandler M.P., Coleman R.E, Patton J.A., Wackers F.J.TH, Gottschalk A Diagnostic nuclear medicineLippincott Williams and wilkins, 2003: 185-204
- 23- Coşkun M, Coşkun M. Biological dosimeter and related developments. Cerrahpaşa J Med 2003; 34: 207-218
- 24- IAEA, Cytogenetic analysis for radiation dose assessment, a manual. Technical Report No.405. Vienna: International Atomic Energy Agency, 2001
- 25- Buckton KE, Court Brown WM, Smith PG. Lymphocyte survival in man treated with X-rays for ankylosing spondylitis. Nature 1967; 214: 470- 473
- 26- Moorhead PS, Nowell PC, Hengerford DE Chromosome preparation of leukocytes cultured from human peripheral blood. Experimental Cell Research 1960; 20: 613-616.
- 27- Köksal G, Dalcı D, Pala FS, (1990) Dozimetri: Biyolojik indikatörler, çevre biyolojisi sempozyumu, 17-19 Ekim Ankara
- 28- Awa A, Nakano M, Ohtaki K, Kodama Y, Lucas J. Factors that determine te vivo dose- response relations in a- bomb survivors. Journal of radiation research 1992; 33: 206-214

- 29-** IAEA, Biological dosimetry: Chromosomal Aberration Analysis for dose Assessment. Technical Report Series No:260. Vienna: International Atomic Energy, 1986
- 30-** Moquet J.E, Edwards A.A, Lloyd D.C., Hone P. The use of FISH Chromosome painting for assessment of old doses of ionising radiation, Radiation Protection Dosimetry 2000; 88: 27-33
- 31-** Demirel S, Zamani A.G Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları. Genel Tıp Dergisi 2002; 12(3): 123-127
- 32-** Vanparys P, Vermeiren F, Sysmans M, Temmerman R. The micronucleus assay as a test for the detection of aneugenic activity. Mutat Res 1990; 244: 95-103
- 33-** Fenech, M., Morley, A.A., Measurement of Micronuclei in lymphocytes. Mutation Research 1985; 147: 29-36
- 34-** Al-Sabti K, Micronuclei induced by selenium, mercury, methylmercury and their mixtures in binucleated blocked fish erythrocyte cells. 1994; 320: 157-163
- 35-** Heddle JA., Hite M., Kirkhart B. The induction of micronuclei as measure of genotoxicity. A report of the U.S. Environmental protection agency. Mutation Research 1983; 123: 61-118
- 36-** Migliore L., Parrini M., Sbrana I. Micronucleated lymphocytes in people occupationally exposed to potential environmental contaminants: the age effect. Mutation Research 1991; 256: 13-20
- 37-** Fenech M. The in vitro micronucleus technique. Mutation Research 2000; 455: 81-95
- 38-** Heddle J.A., Cimino M.C., Hayashi M., Romagno F., Shelby M.D., Tucker J.D, Vanparys Ph., MacGregor J.T. Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present and future. Environ. Mol. Mutagen 1991; 18: 277-291
- 39-** Kirsh-Volders, M., Sofuni, T., Aardema, M., Albertini, S., Eastmond, D., Fenech, M., Ishidate, J.M., Kirchner, S., Lorge, E., Morita, T., Norppa, H., Surrales, J., Vanhauwaert, A., Wakata, A. Report from the in vitro micronucleus assay working group. Mutation Research, 2003, 540: 153-163.
- 40-** Heddle J, Arapid in vivo test for chromosomal damage. Mutation Research 1973; 18(2): 187-190
- 41-** Almassy, Z., Krepinski, A.B., Bianco, A., Köteles, G.J. The present state and perspectives of Micronucleus Assay in radiation Protection. A review. Appl. Radiat. Isot. 1987; 38: 241-249.

- 42-** Countryman PI, Heddle JA, The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutation Research* 1976; 41: 321-332
- 43-** Fenech M, Morley AA. Cytokinesis-block micronucleus method in human lymphocytes: Effect of in vivo ageing and dose X-irradiation. *Mutat Res* 1986; 161: 193-197
- 44-** Fenech M, Chang WP, Kirsch- Volders M, Holland N, Bonassi S, Zeiger E. HUMN Project: Detailed Description of the Scoring Criteria for the Cytokinesis- block Micronucleus Assay Using Isolated Human Lymphocyte Cultures. *Mut. Res.* 2003; 534: 65-75
- 45-** Prosser JS. Micronuclei Origins: Applications and Methodologies. Report of an HSE Sponsored Workshop Held at ICI Aderley, London 1988
- 46-** Berces J, Otos M, Szirmai S, Using the micronucleus assay to detect genotoxic effects of metal ions. *Environmental health perspectives supplements.* 1993;101(suppl.3): 11-13
- 47-** Anwar W.A Assessment of cytogenetic changes in human populations at risk in egypt. *Mut. Res.* 1994; 313: 183-191
- 48-** Fabry L, Lemaire M, Dose response relationships for radiation induced chromosome aberrations in human lymphocytes in vivo and in vitro. *Strahlentherapie* 1986; 162: 63-67
- 49-** Lloyd DC, Purrott RJ, Dolphin GW, Horton PW, Halnan KE, Scott JS, A comparison of physical and cytogenetic estimates of radiation dose in patients treated with iodine-131 for thyroid carcinoma. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med.* 1976; 30(5): 473-85
- 50-** Dalcı D., Dörter G., Güçlü İ, Köksal E.M. Biyolojik doz tayininde kullanılan başlıca sitogenetik yöntemler ve uygulamaları 2003 8. Ulusal Nükleer Bilimler ve Teknolojileri Kongresi Bildiri Kitabı. Kayseri
- 51-** Early PJ. Dosimetry. In: Early PJ., Sodee D.B, eds. Principles and practice of nuclear medicine. St. Luis: Mosby, 1995: 81-93
- 52-** Bushberg J, Stabin M. Radiopharmaceutical dosimetry. In: Sandler M.P., Coleman R.E, Patton J.A., Wackers F.J.TH, Gottschalk A Diagnostic nuclear medicine Lippincott Williams and wilkins, 2003:165-176
- 53-** Synder W, Ford M, Warner G. Estimates of specific absorbed fractions for phantom sources uniformly distributed in various organs of a heterogeneous phantom. *MIRD Pamphlet No. 5.* New York: Society of Nuclear Medicine, 1978

- 54-** Görpe A, Cantez S, Mudun A. Temel Fizik İçinde: Cantez S Pratik Nükleer Tıp Nobel Tıp Kitabevi 1992 s: 3- 20
- 55-** Saenger EL, Kereiakes JG, Soddi VJ, David R. Radiotherapeutic agents: properties, dosimetry and radiobiologic considerations. Seminars Nucl Med 1979; IX: 72-84
- 56-** Pauwels EK, Smit JW, Slats A, Bourguignon M, Overbeek F. Health effects of therapeutic use of ¹³¹I in hyperthyroidism. Q J Nucl Med 2000; 44: 333-339
- 57-** de Keizer B, Koppeschaar HP, Zelissen PM, Lips CJ, van Rijk PP, van Dijk A, de Klerk JM. Efficacy of high therapeutic doses of iodine-131 in patients with differentiated thyroid cancer and detectable serum thyroglobulin. Eur J Nucl Med 2001; 28: 198-202
- 58-** Freitas J. Therapeutic options in the management of toxic and nontoxic goiter. Semin Nucl Med 2000; 30: 88-97
- 59-** Ronald E., Weiner and Mathew L., Radiopharmaceuticals In: Sandler M.P., Coleman R.E, Patton J.A., Wackers F.J.TH, Gottschalk A Diagnostic nuclear medicine Lippincott Williams and wilkins, 2003: 97-114
- 60-** Mazzaferri EL, Kloos RT. Current approaches to primary therapy for papillary and follicular thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab. 2001; 86(4): 1447-63
- 61-** Kassis AI, Adelstein SJ. Radiobiologic principles in radionuclide therapy. J Nucl Med. 2005; 46: 4-12.
- 62-** M. Luster. Clarke , S. E, Dietlein M, Lassmann M, Lind P., Oyen W. J. G., Tennvall J., Bombardieri E. Guidelines for radioiodine therapy of differentiated thyroid cancer Eur J Nucl Med Mol Imaging 2008; 35(10):1941-59
- 63-** Haugen BR, Lin EC. Isotope imaging for metastatic thyroid cancer Endocrinol Metab Clin North Am. 2001; 30(2): 469-92
- 64-** Gallowitsch HJ, Mikosch P, Kresnik E, Unterweger O, Gomez I, Lind P. Thyroglobulin and low dose iodine-131 and technetium-99m-tetrofosmin whole-body scintigraphy in differentiated thyroid carcinoma. J Nucl Med. 1998; 39(5): 870-5
- 65-** Ma C, Kuang A, Xie J, Ma T. Possible explanations for patients with discordant findings of serum thyroglobulin and 131I whole-body scanning J Nucl Med. 2005; 46(9): 1473-80
- 66-** Özdoğan Ö, Argon M, Atasever T. Çelen Y.Z. Guideline for 1-131 Treatment of hyperthyroidism. Turk J Nucl Med 2001; 10: 29-32
- 67-** Stabin M. MIRDOSE- the personal computer software for use in internal dose assessment in nuclear medicine. J Nucl Med 1996, 37: 538-546

- 68-** Lassmann M, Hänscheid H, Chiesa C, Hindorf C, Flux G, Luster EANM Dosimetry Committee series on standart operational procedures for pre- therapeutic dosimetry I: blood and bone marrow dosimetry in differentiated thyroid cancer therapy. *M Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008; 35: 1405- 1412
- 69-** Fenech M: The Cytokinesis- block micronucleus technique: A detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. *Mutation Res* 1993; 285: 35-44
- 70-** W.V. Mayneord, The measurement of radiation for medical purposes. *Proc. Phys. Soc.* 1942; 54: 405-425
- 71-** Silva MA,Guimarães M, Yoriyaz H, Ribela M, Buchpiguel C, Bartolini P, Okazaki K. Evaluation of the cytogenetic effects of ¹³¹I preceded by recombinant human thyrotropin(rhTSH) in peripheral lymphocytes of Wistar rats. *Radiat Environ Biophys* 2008; 47: 453-461
- 72-** Lloyd D.C., Edwards A.A, Prosser J.S., The response relationship obtained at constant irradiation times for induction of chromosome aberrations in human lymphocytes by Co-60 gamma rays. *Radiation Environmental biophysics* 1984; 23: 179-189
- 73-** Rozgaj R, Kasuba V. Chromosome aberrations and micronucleus frequency in anaesthesiology personel. *Arh Hig Rada Toksikol* 2000; 51: 361-8
- 74-** Cruz AD, McArthur AG, Silva CC, Curado MP, Glickman BW. Human micronucleus counts are correlated with age, smoking, and cesium-137 dose in the Goiania (Brazil) radiological accident. *Mutat Res* 1994; 13: 57-68
- 75-** Müller WU, Nüsse M, Miller BM, Slavotinek A, Viaggi S, Streffer C: Micronuclei: A biological indicator of radiation damage. *Mutation Res* 1996; 366: 163-169
- 76-** Silva MJ, Carothers A, Dias A, Luis JH, Piper J, Boavida MG. Dose dependence of radiation-induced micronuclei in cytokinesis-blocked human lymphocytes. *Mutat Res* 1994; 322: 117-128
- 77-** Köksal G, Dalcı DÖ, Pala FS: Micronuclei human lymphocytes: the Co 60 gamma-ray dose- response. *Mutation Res* 1996; 359: 151-157
- 78-** Yoshida K, Yamazaki H, Ozeki S, Inoue T, Yoshioka Y, Yoneda M, et al. Mitochondrial genotype and radiation- induced mikronucleus formation in human osteosarcoma cells in vitro. *Oncol Rep* 2001; 3: 615-9
- 79-** Peace BE, Succop P Spontaneous micronucleus frequency and age: what are normal values? *Mutation Research* 1999; 425: 225-230

- 80-** Huber R, Braselmann H, Bauchinger M. Screening for interindividual differences in radiosensitivity by means of the micronucleus assay in human lymphocytes. *Radiat Environ Biophys.* 1989; 28(2): 113-20
- 81-** Richard F, Muleris M, Dutrillaux B. The frequency of micronuclei with X chromosome increases with age in human females. *Mutat Res* 1994; 316: 1-7
- 82-** Fenech M, Holland N, Chang W.P, Zeiger E, Bonassi S The HUMAN Micronucleus Project_ An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans *Mutation Research.* 1999; 428: 271-283
- 83-** Fenech M. Important variables that influence base- line micronucleus frequency in cytokinesis- blocked lymphocytes- a biomarker for DNA damage in human populations *Mutat Res.* 1998; 404(1-2): 155-65
- 84-** Bonassi S, Fenech M et al. HUMAN Micronucleus Project: international database comparison for results with the cytokinesis-block micronucleus assay in human lymphocytes: I.Effect of laboratory protocol, scoring criteria and host factors on the frequency of micronuclei. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 2001; 37: 31-45
- 85-** Fenech M, Bonassi S, Turner J, Lando C, Ceppi M et al. Intra- and inter-laboratory variation in the scoring of micronuclei and nucleoplasmic bridges in binucleated human lymphocytes results of an international slide- scoring exercise by the HUMAN Project. *Mutation Research* 2003; 534: 45-64
- 86-** El-Zein RA, Fenech M, Lopez MS, Spitz MR, Etzel CJ. Cytokinesis-blocked micronucleus cytome assay biomarkers identify lung cancer cases amongst smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008; 17(5): 1111-9.
- 87-** Federico G, Boni G, Fabiani B, Fiore L, Lazzeri P, Massart F, Traino C, Verola C, Saggese G, Mariani G, Scarpato R. No evidence of chromosome damage in children and adolescents with differentiated thyroid carcinoma after receiving ¹³¹I radiometabolic therapy, as evaluated by micronucleus assay and microarray analysis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008; 35: 2113-2121
- 88-** M'Kacher R, Légal J-D, Schlumberger M, et al. Sequential biological dosimetry after a single treatment with iodine-131 for differentiated thyroid carcinoma. *J Nucl Med* 1997; 38: 377-380
- 89-** Watanabe N, Yokoyama K, Kinuya S, Shuke N, Shimizu M, Futatsuya R, Michigishi T, Tonami N, Seto H, Goodwin D.A. Radiotoxicity after iodine-131 therapy for thyroid cancer using the micronucleus assay. *J Nucl Med* 1998; 39:436-440
- 90-** Watanabe N, Kanegane H, Kinuya S, Shuke N, Yokoyama K, kato H, Tomizawa G, shimizu M, Funada h, Seto H. The radiotoxicity of I-131 therapy of

thyroid cancer: assessment by micronucleus assay of B lymphocytes. *The Journal of Nuclear Medicine* 2004; 45: 608-611

91- Wuttke K, Streffer C, Muller WU. Radiation induced micronuclei in subpopulation of human lymphocytes. *Mutat Res.* 1993; 286:181-188

92- Vral A, Louagie H, Thierens H,, et al. Micronucleus frequencies in cytokinesis- blocked human B lymphocytes after low dose gamma-irradiation. *Int J Radiat Biol.* 1998; 73: 549-555

93- Seki H, Kanegane H, Iwai K, et al. Ionizing radiation induces apoptotic cell death in human TcR-gamma/delta+ T and natural killer cells without detectable p53 protein. *Eur J Immunol.* 1994; 24: 2914-2917

94- Streffer C, Muller WU, Kryscio A, Bocker W. Micronuclei-biological indicator for retrospective dosimetry after exposure to ionizing radiation. *Mutat Res* 1998; 366: 163-169

95- M'Kacher R, Schlumberger M, Légal J-D, Violot D, Béron-Gaillard N, Gausson A, Parmentier C. Biologic Dosimetry in thyroid cancer patients after repeated treatments with Iodine-131. *The Journal of Nuclear Medicine* 1998; 39: 825-829

96- Thierens H, Vral A, de Ridder L. Biological dosimetry using the micronucleus assay for lymphocytes: interindividual differences in dose response. *Health Phys.* 1991; 61:623-630

97- Rusov V, Zelentsova T, Melentchuk I, Beglaryan M. About some physical mechanisms of statistics of radiation- induced effects formation and non-linear cell response in low dose area. *Radiat Meas* 2001; 34: 105-108

98- Fabry L, Lemaire M. Dose response relationships for radiation induced chromosome aberrations in human lymphocytes in vivo and in vitro. *Strahlenther Onkol.* 1986; 162(1): 63-7

99- Huber R. Dose-response relationships of micronuclei in human lymphocytes induced by fission neutrons and by low LET radiations. *Mutat Res.*1994; 306:135-41

100- Lloyd DC, Edwards AA, Léonard A, Deknudt G, Natarajan A, Obe G, Palitti F, Tanzarella C, Tawn EJ. Frequencies of chromosomal aberrations induced in human blood lymphocytes by low doses of X-rays. *Int J Radiat Biol Stud Phys Chem Med.* 1988; 53: 49-51

101- Zanzonico PB. Radiation dose to patients and relatives incident to I-131 therapy. *Thyroid* 1997; 7: 199-204

102- Ahmed S, Demir M, Yasar D, Uslu I. Quantification of absorbed doses to urine bladder depending on drinking water during radioiodine therapy to thyroid

cancer patients: a clinical study using MIRDOSE3. Nuclear Medicine Communications. 2003; 24: 749-754

103- Carlier T, Salaun P-Y, Cavarec M-B, Valette F, Turzo A, Bardiés M, Bizais, Couturier O. Optimized radioiodine therapy for Graves' disease: Two MIRDOSE3-based models for the computation of patient-specific therapeutic ^{131}I activity. Nuclear Medicine Communications. 2006; 27: 559-566

104- Visser E, Postema E, Boerman O, Visschers J, Oyen W, Corstens F. Software package for integrated data processing for internal dose assessment in nuclear medicine (SPRIND). Eur J Nucl Med Mol Imaging 2007; 34: 413-421

105- Brill AB, Stabin M, Bauville A, Ron E. Normal organ radiation dosimetry and associated uncertainties in nuclear medicine, with emphasis on iodine- 131. Radiat Res. 2006; 166: 128-40

106- Stabin M. Nuclear medicine dosimetry. Phys. Med. Biol. 2006; 51: 187-202

107- Wuttke K, Streffer C, Muller WU, Reiners C, Biko J, Demidchik E. Micronuclei in lymphocytes of children from the vicinity of Chernobyl before and after I-131 therapy for thyroid cancer. Int J Radiat Biol 1996; 69: 259-268

108- Monsieurs MA, Thierens HM, Vral AM, Van De Wiele C, De Ridder LI, Dierckx RA. Adaptive response in patients treated with ^{131}I . J Nucl Med 2000; 41: 17-22

109- Monsieurs MA, Thierens HM, Van De Wiele CV, Vral AM, Meirlaen IA, de Sadeleer CJ, de Ridder LI, Kaufman JM, Dierckx RA. Estimation of risk based on biological dosimetry for patients treated with radioiodine. Nucl Med Commun 1999; 20: 911-917

110- Catena C, Conti D, Trenta G, Righi E, Breuer F, Melacrinis FF, Montesano T, Ventroni G, Ronga G. Micronucleus yield and colorimetric test as indicators of damage in patients' lymphocytes after ^{131}I therapy. J Nucl Med. 2000; 41(9): 1522-4

111- Righi E, Catena C, Conti D, Trenta G. Biodosimetric diagnostic profile. Riv N Cim. 1998; 21: 1-57

112- Grawé J, Biko J, Lorenz R, Reiners C, Stopper, Vershenya S, Vukicevic V, Hempel K. Evaluation of the reticulocyte micronucleus assay in patients treated with radioiodine for thyroid cancer. Mutation Research 2005; 583: 12-25

113- Senthamizhelvan S, Pant G.S., Rath G.K., Juka P.K., Nair. O: Biodosetry using micronucleus assay in acute partial body therapeutic irradiation. Health Physics. 2008; 94(2): 112-117

114- Catena C, Parasacchi P, Conti D, Sgura A, Trenta G, Righi E, Trinci MM, Trinci M. Peripheral blood lymphocyte decrease and micronucleus yields during radiotherapy. *Int J Radiat Biol.* 1997;72(5): 575-85

115- Léonard A, Fabry L, Lemaire M, Gerber GB. Lymphocyte chromosome aberrations in patients undergoing radiation therapy for mammary carcinoma. *Acta Radiol Oncol.* 1983; 22: 429-31

116- Le Roux J, Slabbert J, Blekkenhorst G. Assessment of the micronucleus assay as a biological dosimeter using cytokinesis- blocked lymphocytes from cancer patients receiving fractionated partial body- radiotherapy. *Strahlenther Onkol.* 1998; 174: 75-81

117- Lee T-K, O'Brien K, Naves J, Christie K, Arastu H, Eaves G, Wiley A, Karlsson U, Salehpour M. Micronuclei in lymphocytes of prostate cancer patients undergoing radiation therapy. *Mutation Research* 2000; 469: 63-70