



POLITECHNIKA WARSZAWSKA  
WYDZIAŁ FIZYKI



## DOZYMETRIA BIOLOGICZNA

CYTOGENETYCZNA REKONSTRUKCJA OTRZYMANEJ DAWKI PROMIENIOWANIA  
JONIZUJĄCEGO METODĄ MARKERÓW BIOLOGICZNYCH

PACYNIAK IWONA  
FIZYKA MEDYCZNA

OPRACOWANIE ZALICZENIOWE Z PRZEDMIOTU  
METODY I TECHNIKI JĄDROWE W ŚRODOWISKU, PRZEMYSŁE I  
MEDYCYNIE

PROWADZĄCY: PROF. DR HAB. JAN PLUTA

Warszawa, 2012/2013

---

## Spis treści

<b>1.Przegląd pojęć z dozymetrii .....</b>	<b>2</b>
1.1 Promieniowanie jonizujące .....	2
1.2 Instrumenty dozymetryczne .....	5
1.3 Wielkości dozymetryczne .....	6
<b>2.Oddziaływanie promieniowania z tkanką żywą .....</b>	<b>8</b>
<b>3.Ochrona przed promieniowaniem .....</b>	<b>11</b>
<b>4.Metody dozymetryczne .....</b>	<b>13</b>
4.1 Wykaz metod dozymetrycznych .....	13
4.2 Specyfika dozymetrii cytogenetycznej, istota metody .....	14
4.3 Metody cytogenetyczne.....	15
<b>5. Stanowisko Cytogenetycznej Rekonstrukcji Dawek w CLOR .....</b>	<b>20</b>
<b>6. Etapy wyznaczania dawki .....</b>	<b>21</b>
<b>7. Dodatek .....</b>	<b>23</b>
7.1 Charakterystyka aparatury pomiarowej .....	23
7.2 Opracowanie uzyskanych wyników .....	25
7.3 Zastosowanie programu CABAS do wyznaczenia krzywej wzorcowej dawka – skutek .....	26
7.3.1 Obliczenie dawki pochłoniętej w przypadku ekspozycji całego ciała.....	28
7.3.2 Obliczenie dawki pochłoniętej w przypadku ekspozycji części ciała .....	29
7.4 Weryfikacja wskazań dawkomierza indywidualnego .....	31
<b>8. Podsumowanie .....</b>	<b>34</b>
<b>Literatura .....</b>	<b>35</b>
<b>Zdjęcia .....</b>	<b>36</b>
<b>Spis ilustracji.....</b>	<b>43</b>

## 1. Przegląd pojęć z dozymetrii

### 1.1 Promieniowanie jonizujące

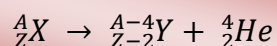
Promieniowanie to emitowanie i przenoszenie energii. Promieniowanie jonizujące ma tak dużą energię, że możliwe jest oderwanie elektronu z pierwotnie obojętnej materii, przez którą to promieniowanie przechodzi, w wyniku czego powstają swobodne elektrony i dodatnio naładowany jon. Zjawisko to nazywa się *jonizacją*.

Wyróżnia się cztery podstawowe rodzaje promieniowania jonizującego:

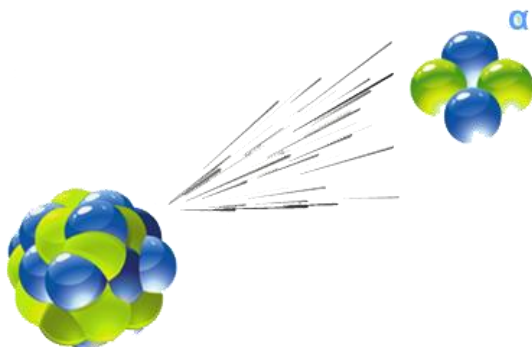
- promieniowanie  $\alpha$
- promieniowanie  $\beta$
- promieniowanie elektromagnetyczne ( $\gamma$  i X)
- promieniowanie neutronowe

**Promieniowanie, rozpad  $\alpha$**  - to proces spontanicznej emisji cząstki  $\alpha$  (jądra helu  ${}^4_2\text{He}$ ) przez nietrwale jądro atomowe. Zjawisko naturalnie występuje w jądrach pierwiastków o liczbie atomowej Z większej od 82. Cząstki wysyłane w takim rozpadzie mają jednakowe energie, są monoenergetyczne. Promieniowanie alfa cechuje duża zdolność jonizacji materiału, przez który przenika, w wyniku czego wysyłany strumień cząstek  $\alpha$  szybko traci swoją energię, a zasięg jest bardzo mały, nie przekracza kilku centymetrów. Z tego względu promieniowanie  $\alpha$  może być bardzo groźne jedynie przy bezpośrednim skażeniu ciała, w szczególności po przedostaniu się do wnętrza organizmu.

Schemat rozpadu jądra:



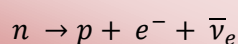
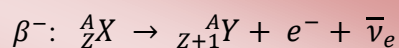
A - liczba masowa, Z - liczba atomowa, X - pierwiastek emitujący promieniowanie, Y - pierwiastek będący produktem rozpadu.



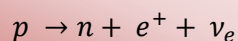
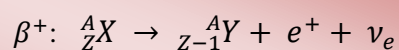
Rysunek 1. Rozpad  $\alpha$

**Promieniowanie  $\beta$**  – to rodzaj promieniowania jonizującego, podczas którego z jądra pierwiastka podczas przemiany jądrowej emitowane są elektrony lub pozytony (antycząstki elektronu -  $e^+$ ). Wobec tego rozróżnia się dwa rodzaje promieniowania beta: beta plus i beta minus. Emitowane cząstki nie są monoenergetyczne, lecz tworzą widmo ciągłe. Zdolność jonizacji cząstek beta jest dużo mniejsza niż cząstek alfa, w związku z czym zasięg cząstek w powietrzu jest znacznie większy, dochodzi do kilkudziesięciu metrów.

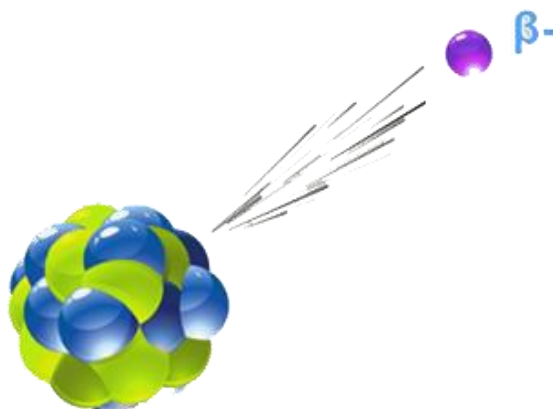
Schemat rozpadu jądra:



Następuje zamiana neutronu w proton oraz emisja elektronu  $e^-$  i antyneutrino elektronowego  $\bar{\nu}_e$ .



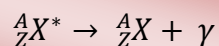
Następuje zamiana protonu w neutron oraz emisja pozytonu  $e^+$  i neutrino elektronowego  $\nu_e$ .



Rysunek 2. Rozpad  $\beta$

**Promieniowanie elektromagnetyczne** – promieniowanie gamma i rentgenowskie jest wysokoenergetycznym promieniowaniem fotonowym, które nie może bezpośrednio jonizować ośrodka, przez który przechodzi. Oddziaływanie promieniowania elektromagnetycznego z materią następuje na skutek trzech efektów: efektu fotoelektrycznego, efektu Comptona, efektu tworzenia par elektron – pozyton. We wszystkich zjawiskach energia najpierw przekazywana jest przez foton elektronowi, a następnie elektron przemieszczając się traci tę energię wywołując jonizację. W procesie fotoelektrycznym elektron uzyskuje najmniejszą energię, dlatego jego zasięg jest bardzo mały, w zjawisku Comptona i kreacji par energia, jaką otrzymał elektron jest na tyle duża, że pozwala mu na przebycie nawet kilku centymetrów. Promieniowanie elektromagnetyczne jest bardzo silnie przenikliwe, a przy przechodzeniu przez ośrodek ulega jedynie osłabieniu. Pochłanianie promieniowania, jak zostało to wspomniane wyżej, polega na przekazywaniu jego energii głównie elektronom, dlatego też im więcej elektronów w osłonie – im większa liczba atomowa  $Z$  pierwiastka, z którego zbudowana jest osłona, tym promieniowanie jest bardziej osłabione.

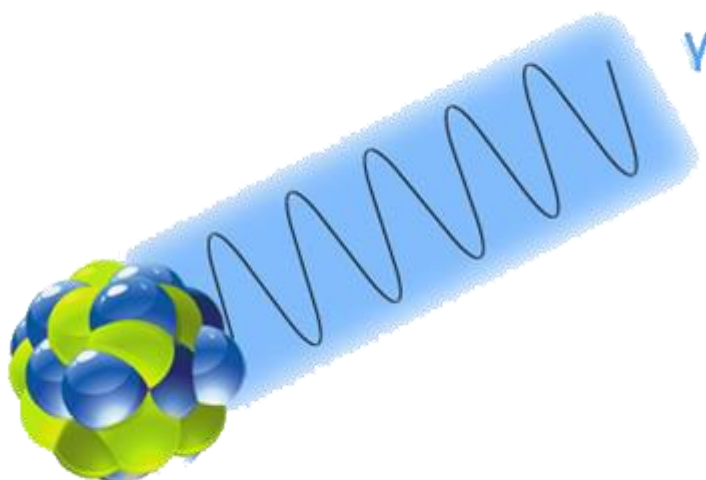
Schemat przemiany gamma:



$X^*$  - jądro pierwiastka w stanie wzbudzonym przechodząc do  $X$  - stanu podstawowego emituje  $\gamma$  - kwant gamma.

Jądro w stanie wzbudzonym, tj. energetycznie wyższym od stanu podstawowego, może powstać w wyniku przemian promieniotwórczych  $\alpha$  i  $\beta$ . Przechodząc do podstawowego stanu energetycznego emitowany jest kwant gamma.

Promieniowanie rentgenowskie jest promieniowaniem elektromagnetycznym emitowanym wskutek hamowania elektronu w polu jąder atomów materiału anody w lampie rentgenowskiej.



Rysunek 3. Rozpad  $\gamma$

**Promieniowanie neutronowe** należy do promieniowania bardzo przenikliwego wytwarzanego głównie w reaktorach jądrowych. Są to cząstki obojętne, nie wywołują więc bezpośredniej jonizacji, wobec czego mają bardzo duży zasięg. Jonizacja następuje po zderzeniu się neutronów z protonami. Neutrony oddają swoją energię protonom, które wywołują silną jonizację ośrodka. Rozróżnia się dwa rodzaje neutronów:

- natychmiastowe, powstałe w reakcji rozszczepienia ciężkich jąder pierwiastków
- opóźnione, powstałe z produktów rozszczepienia

Neutrony mogą być bardzo szkodliwe, chroniąc się przed nimi stosuje się grube ołowiane bądź wodne osłony.

## 1.2 Instrumenty dozymetryczne

Dozymetria jest działem fizyki, który obejmuje metody pomiaru i obliczania dawek promieniowania jonizującego, także pomiar aktywności źródeł promieniotwórczych oraz wpływ promieniowania jonizującego na tkanki żywe. Głównym zadaniem dozymetrii jest ochrona radiologiczna oraz pomiar i kontrola skażeń. W tym celu stosowane są specjalne urządzenia zwane dawkomierzami lub też dozymetrami.

Przyrządy dozymetryczne mają ogromne znaczenie do określenia stopnia zagrożenia wywołanego promieniowaniem jonizującym, gdyż są jedynym narzędziem wykrywającym promieniowanie. Człowiek nie posiada niestety zmysłu, który mógłby stwierdzić obecność szkodliwych dla niego promieni. Żeby ocenić stopień narażenia na promieniowanie jonizujące należy przeprowadzić pomiary rozkładu dawek. Do określenia wielkości dozymetrycznych wykorzystywane są przyrządy – dozymetry. Są to urządzenia, których działanie oparte jest na różnych zasadach w zależności od mierzonej wielkości. Można wyróżnić trzy podstawowe grupy przyrządów dozymetrycznych:

- mierniki do pomiarów dawki
- mierniki do pomiarów mocy dawki
- mierniki do pomiarów skażeń

Każdy przyrząd dozymetryczny posiada detektor, czyli element przekształcający promieniowanie na impulsy elektryczne. W zależności od rodzaju promieniowania i jego energii stosuje się różne typy detektorów.

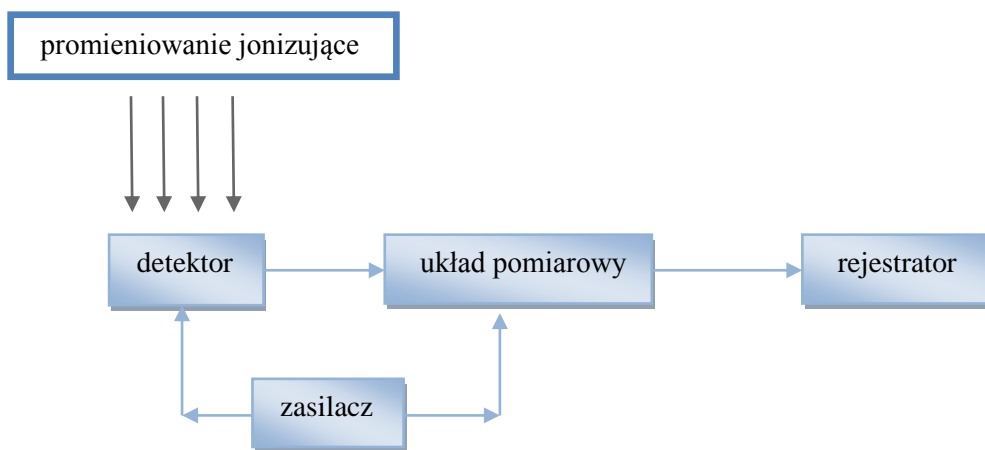
- detektory gazowe
- komory jonizacyjne
- liczniki proporcjonalne
- liczniki Geigera – Milera
- liczniki scyntylacyjne
- detektory półprzewodnikowe

Przyrządy dozymetryczne służą najczęściej do detekcji konkretnego rodzaju promieniowania. I tak na przykład dozymetr rejestrujący kwanty  $\gamma$  nie zarejestruje cząstek  $\alpha$  z tego względu, że promieniowanie  $\alpha$  jest mniej przenikliwe niż promieniowanie  $\gamma$ . Szybciej traci energię (w procesie jonizacji) w związku z tym już niewielka osłona jest w stanie zatrzymać strumień cząstek  $\alpha$ , podczas gdy promieniowanie  $\gamma$  jest bardzo przenikliwe, a zatrzymać je może dopiero gruba warstwa ołowiu.

Podziału przyrządów dozymetrycznych można dokonać na podstawie konstrukcji elektronicznej. Wyróżnia się wtedy:

- przyrządy – wyskalowane urządzenia
- wskaźniki – urządzenia niewyskalowane lub nieposiadające układu pomiarowego. Służą do określenia obecności promieniowania, jego lokalizacji oraz określenia orientacyjnego natężenia.

Podziału można także dokonać ze względu na mobilność – stacjonarne, przenośne oraz ze względu na zasilanie – zasilane z sieci lub za pomocą baterii.



Rysunek 4. Schemat blokowy przyrządu dozymetrycznego

### 1.3 Wielkości dozymetryczne

Nieodłącznym elementem tematyki promieniowania jądrowego oraz dozymetrii są wielkości opisujące i charakteryzujące występujące tu zjawiska. Dla lepszego zrozumienia zagadnień opisanych poniżej, przedstawione zostaną wybrane wielkości i jednostki dozymetryczne.

*Aktywność źródła* to ilość rozpadów w preparacie promieniotwórczym w jednostce czasu. Jednostką aktywności promieniotwórczej w układzie SI jest bekerel [Bq].

$$1 \text{ [Bq]} = 1 \left[ \frac{\text{przemiana}}{\text{s}} \right]$$

Inną, pozaukładową jednostką aktywności jest kiur [Ci].

$$1 \text{ [Ci]} = 3,7 \cdot 10^{10} \left[ \frac{\text{przemian}}{\text{s}} \right]$$

*Dawka pochłonięta*  $D$  jest miarą pochłoniętego promieniowania na jednostkę masy. To energia tracona przez promieniowanie na jednostkę masy ośrodka, przez który przechodzi. Wielkość ta stosowana jest dla każdego rodzaju promieniowania bez względu na materiał.

$$D = \frac{dE}{dm}$$

Jednostką dawki pochłoniętej w układzie SI jest grey [Gy].

$$1 \text{ [Gy]} = 1 \left[ \frac{\text{J}}{\text{kg}} \right]$$

*Dawka równoważna, równoważnik dawki*  $H_T$  to dawka pochłonięta w tkance lub narządzie, uwzględniająca rodzaj i energię promieniowania jonizującego.

$$H_T = w_R D$$

$D$  – dawka pochłonięta w tkance lub narządzie

$w_R$  – czynnik wagowy, uwzględniający rodzaj i energię promieniowania

**Tabela 1. Wartości współczynników wagowych w zależności od rodzaju promieniowania**

Rodzaj promieniowania	$w_R$
Alfa	20
Neutrony termiczne	4,5
Rentgenowskie, gamma, cząstki beta	1

Jednostką dawki równoważnej jest siwert [Sv].

$$1 \text{ [Sv]} = 1 \left[ \frac{\text{J}}{\text{kg}} \right]$$

*Dawka skuteczna, efektywna*  $E$  jest dawką, za pomocą której można określić skutki biologiczne promieniowania. To suma iloczynów dawek równoważnych  $H_T$  dla poszczególnych tkanek lub narządów i czynników wagowych  $w_T$  danego narządu lub tkanki.

$$E = \sum H_T w_T$$



Tabela 2. Wartości współczynników  $w_T$  tkanek/narządów

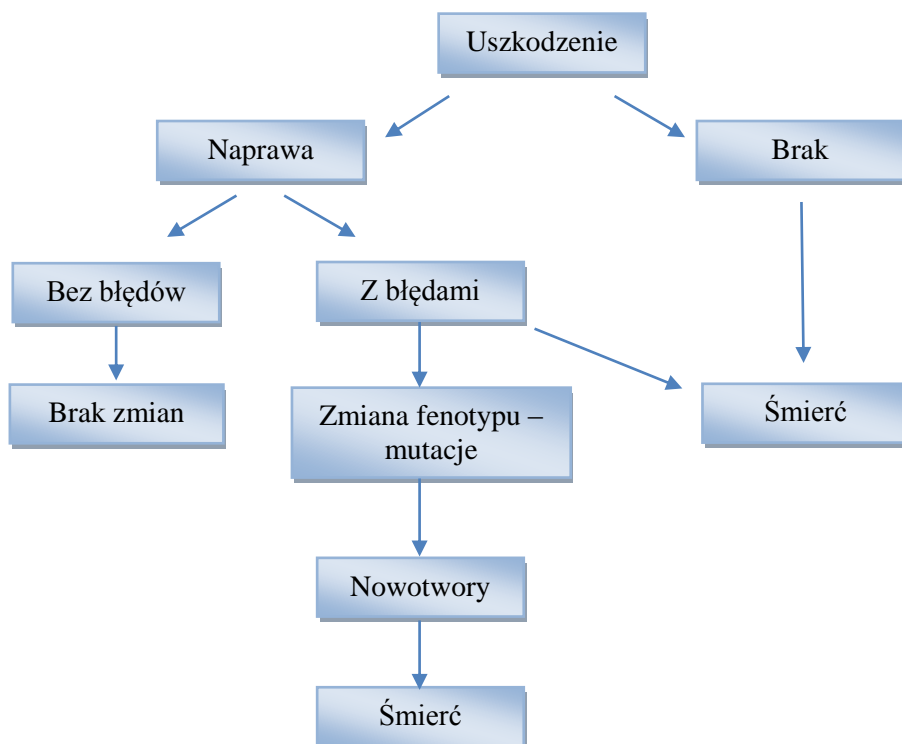
Tkanka lub narząd	$w_T$
Gonady	0,25
Gruzoły piersiowe	0,15
Czerwony szpik kostny	0,12
Płuca	0,12
Powierzchnie kości	0,03
Skóra	0,01
Całe ciało	1.00

Jednostką dawki skutecznej jest siwert [Sv].

$$1 \text{ [Sv]} = 1 \left[ \frac{\text{J}}{\text{kg}} \right]$$

## 2. Oddziaływanie promieniowania z tkanką żywą

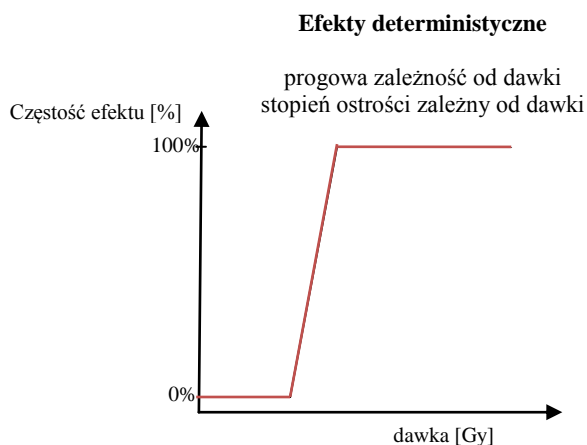
Promieniowanie jonizujące przechodząc przez ośrodek, powoduje jego jonizację w sposób bezpośredni (promieniowanie  $\alpha$ ,  $\beta$ ) lub pośredni (promieniowanie X,  $\gamma$ , neutronowe). Szkodliwe promienie nie oszczędzają istot żywych, w tym także człowieka, niszcząc jego narządy na poziomie komórkowym. Zespół komórek tworzy tkankę, zespół tkanek to narząd, narządy tworzą układ narządów, które z kolei tworzą organizm. Jonizacja w organizmie ludzkim ma niszczycielski wpływ na tkanki i narządy, prowadząc do przemian metabolicznych tkanek, zmian składu chemicznego, zaburzenia syntezy białek, a także przerwania nici DNA, a w ogólności na niesprawne działanie całego organizmu. DNA umiejscowione jest w jądrze komórkowym i odpowiada za najważniejsze funkcje komórki, powielanie, kontrolę, a co najważniejsze, zawiera informację genetyczną danego organizmu. W wyniku uszkodzenia nici DNA powstawać mogą mutacje, czyli zmiany informacji genetycznej. Cząsteczki DNA mogą być uszkodzane bezpośrednio przez uszkodzenie komórek lub pośrednio przez oddziaływanie np. z cząsteczkami wody, z których w wyniku jonizacji następuje utworzenie wolnych rodników, które następnie uszkodzają komórkę wchodząc w reakcje z makrocząsteczkami biologicznymi. Skutki działania promieniowania jonizującego na cząstki DNA mogą mieć różny charakter, od braku jakiegokolwiek reakcji, przez przejściowe zmiany morfologiczne, aż do śmierci komórki; w zależności od rodzaju uszkodzeń.



Rysunek 5. Schemat możliwych losów napromienionej komórki

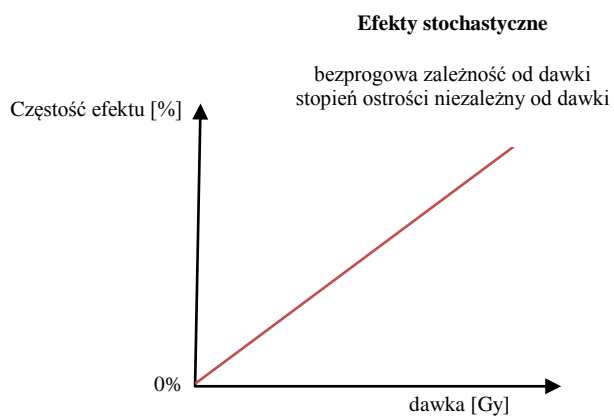
Wszystkie komórki mają zdolności naprawcze, czuwając w ten sposób nad prawidłowym stanem materiału genetycznego. Naprawa DNA nie jest jednak procesem przebiegającym bezbłędnie, często podczas napraw dochodzić może do nieodwracalnych zmian komórki, prowadząc do nowotworów lub nawet do śmierci komórki. Gdy uszkodzenia w komórce są duże następuje automatyczny, zaprogramowany proces niszczenia komórki przez organizm – apoptoza. Niekiedy jednak uszkodzone albo błędnie naprawione komórki zdołają przetrwać w organizmie i ulec podziałowi. Nowe komórki stają się kopiami komórki błędnej, które po kolejnych podziałach nabywają nowe cechy, takie jak zdolność do samoistnych, niekontrolowanych podziałów, zanik zjawiska apoptozy. Mechanizm taki prowadzi do zmian w funkcjonowaniu narządów lub co gorsze, do narastania tkanki nowotworowej. Takie skutki działania promieniowania jonizującego nazywa się skutkami stochastycznymi. Już nawet bardzo małe dawki promieniowania mogą prowadzić do skutków stochastycznych, które to występują z pewnym opóźnieniem, nawet wiele lat po napromienieniu. Skutki deterministyczne z kolei występują zaraz po zdarzeniu radiacyjnym. Może wówczas wystąpić rumień, oparzenie, zmiany w funkcjonowaniu narządów, choroba popromienna. Różnice w skutkach stochastycznych i deterministycznych polegają na zależności dawki od częstotliwości wystąpienia skutków oraz na ostrości objawów. W przypadku skutków deterministycznych po przekroczeniu dawki progowej następuje gwałtowny wzrost skutków.

Wykres 1. Zależność skutków deterministycznych od dawki



Ostrość skutków deterministycznych rośnie wraz ze wzrostem dawki promieniowania. Częstość występowania skutków stochastycznych zwiększa się wraz z dawką promieniowania, ale ostrość skutku pozostaje taka sama – nowotwór albo się rozwinie, albo nie.

Wykres 2. Zależność skutków stochastycznych od dawki



Skutki oddziaływania promieniowania jonizującego na człowieka zależą nie tylko od wielkości dawki, ale także od czasu ekspozycji oraz indywidualnej wrażliwości. Efekt napromienienia zależy następnie od tego czy dawkę otrzymał cały organizm czy tylko określona jego część.

### 3. Ochrona przed promieniowaniem

Jak już wiadomo skutki narażenia na promieniowanie jonizujące mogą w różnym stopniu niebezpieczne, od lekkich poparzeń, aż do śmierci organizmu. Wobec tego, gdy tylko mamy kontakt ze źródłami emitującymi promieniowanie należy się przed nimi chronić w możliwie najbardziej efektywny sposób. Efekty popromienne zależą są nie tylko od dawki promieniowania, ale także od czasu ekspozycji, czyli od czasu, przez który narażenia organizmu na promieniowanie, od odległości od źródła oraz od rodzaju osłon. Nieodłączną zasadą w ochronie radiologicznej jest jednak zasada ALARA.

Zasada ALARA (As Low As Reasonably Achievable), która mówi o optymalizacji ochrony. W przypadku ekspozycji na promieniowanie, z wyłączeniem promieniowania w celach terapeutycznych, wartości dawek, liczba narażonych osób, prawdopodobieństwo napromienienia, kontakt ze źródłem promieniotwórczym powinny być tak małe, jak to jest tylko możliwe.

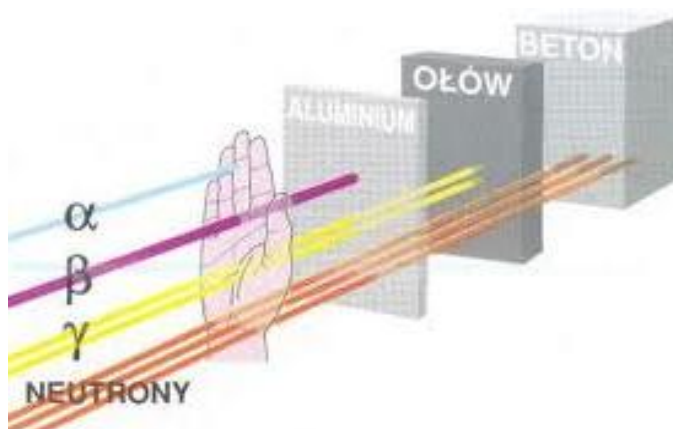
Ochrona przez odległość to jedna z najważniejszych zasad ochrony przed promieniowaniem jonizującym. Wynika z faktu, że dawka akumulowana w organizmie jest odwrotnie proporcjonalna do kwadratu odległości od źródła. Wobec tego mając do czynienia nawet ze słabymi źródłami nie należy ich dotykać, a jeśli wymagane jest przeniesienie izotopu, należy w tym celu posługiwać się szczypcami.

Ochrona przez osłony. W zależności od rodzaju promieniowania, z jakim mamy do czynienia do jego osłabienia, czy też zatrzymania stosuje się osłony zbudowane z różnych materiałów. Najłatwiej jest się chronić przed promieniowaniem  $\alpha$ , ponieważ ma ono dużą zdolność do jonizacji w powietrzu, tracąc przy tym znacząco swoją energię. Już kilkunastocentymetrowa warstwa powietrza, kartka papieru, czy powierzchnia skóry jest w stanie całkowicie zatrzymać cząstki alfa. Jednak po przedostaniu się do organizmu człowieka wraz z powietrzem, albo z pożywieniem mogą one być bardzo niebezpieczne dla zdrowia.

W celu ochrony przed promieniowaniem  $\beta$  stosuje się osłony zbudowane z materiałów o małej liczbie atomowej  $Z$ . Oczywiście ciężkie materiały także powstrzymałyby ten rodzaj promieniowania, jednak podczas oddziaływania elektronów z osłoną powstaje rentgenowskie promieniowanie hamowania, które jest proporcjonalne do  $Z^2$ . Powszechnie stosowane osłony dla tego promieniowania wykonane są ze szkła organicznego (pleksi) bądź aluminium (liczba atomowa  $Z_{Al}=13$ , podczas gdy np. dla ołowiu  $Z_{Pb}=82$ , widać więc znaczną różnicę w kwadratach obu liczb masowych).

Promieniowanie elektromagnetyczne ze względu na małą zdolność jonizacyjną jest promieniowaniem daleko zasięgowym. Pochłanianie promieniowania polega na przekazywaniu jego energii głównie elektronom, zatem im więcej jest ich w osłonie, im większa liczba atomowa  $Z$ , tym efektywniejsze jest osłabienie.

W celu ochrony przed neutronami stosuje się materiały, których jądra pochłaniają neutrony. Szczególnie przydatny w tym celu okazuje się być kadm (Cd). Często wykonuje się odmiany betonu zawierające sole baru (Ba), tzw. baryto-beton. Osłonę przed promieniowaniem neutronowym stanowi także woda lub parafina.



Rysunek 6. Rodzaje osłon dla promieniowania jonizującego

Ochrona przez możliwie najkrótszy czas narażenia na promieniowanie to także bardzo ważna zasada, ponieważ nawet przy małych dawkach promieniowania im dłuższy jest czas ekspozycji, tym poważniejsze mogą być skutki napromienienia.

Ochronę przed promieniowaniem można podsumować w trzech zdaniach:

- Im dalej od źródła, tym bezpieczniej.
- Im lepsze osłony, tym bezpieczniej.
- Im krótszy czas napromienienia, tym bezpieczniej.

## 4. Metody dozymetryczne

### 4.1 Wykaz metod dozymetrycznych

Jak już zostało wspomniane człowiek nie posiada zmysłu, za pomocą którego mógłby wykryć obecność promieniowania jonizującego. W związku z tym nie potrafi także stwierdzić, czy został napromieniony oraz jaką dawką. Może to jedynie podejrzewać na podstawie skutków popromiennych. Istnieje szereg metod pozwalających na precyzyjne określenie wielkości dawki pochłoniętej w ciele oraz potwierdzenie lub też zaprzeczenie czy napromienienie miało w ogóle miejsce. Wyróżnia się następujące metody:

- termoluminescencyjne
- fotograficzne
- kalorymetryczne
- jonizacyjne
- chemiczne
- biologiczne

Metoda termoluminescencyjna wykorzystuje zdolności niektórych substancji do gromadzenia i późniejszego oddawania energii promieniowania świetlnego. Ilość wydzielonego światła jest proporcjonalna do pochłoniętego promieniowania jonizującego.

Metoda fotograficzna polega na detekcji promieniowania na kliszy fotograficznej i pomiarze jej zaczernienia.

Metoda kalorymetryczna wykorzystuje bezpośredni pomiar ilości energii termicznej wydzielonej na skutek napromienienia badanej substancji.

Metoda jonizacyjna wykorzystuje pomiar liczby jonów wytworzonych na skutek oddziaływania promieniowania z materią.

Metoda chemiczna polegająca na pomiarze szybkości reakcji chemicznych inicjowanych przez promieniowanie jonizujące.

Metoda biologiczna wykorzystująca markery biologiczne, np. uszkodzone tkanki lub komórki do wyznaczenia wielkości pochłoniętej dawki. Swoistym markerem są także uszkodzone chromosomy, wówczas mówi się o metodzie cytogenetycznej.

Markery biologiczne to swego rodzaju mierniki umożliwiające ocenę zagrożenia człowieka związaną z obecnością szkodliwych czynników w środowisku. Biomarkerem może być analiza tkanek lub komórek człowieka, mająca na celu wykrycie obecności szkodliwych substancji lub skutków ich działania na organizm.

## 4.2 Specyfika dozymetrii cytogenetycznej, istota metody

Metoda biologiczna nie mierzy skażenia ani natężenia promieniowania, a tylko skutki biologiczne, jakie wywołuje promieniowanie jonizujące na organizmy żywe. Najczęściej wykorzystuje się zmiany w materiale genetycznym limfocytów krwi obwodowej, a ściślej mówiąc analizuje się chromosomy. Wówczas metoda zawęża się do tak zwanej dozymetrii cytogenetycznej.

Cytogenetyka jest działem genetyki, który zajmuje się badaniem chromosomów, zarówno ich kształtem jak i liczbą.

Metoda cytogenetycznej rekonstrukcji dawki stosowana jest głównie, gdy człowiek ma przypuszczenia, że mógł zostać napromieniony (zabiegi medyczne, narażenie zawodowe). Dawka promieniowania nie jest znana, w związku z czym nie można wykluczyć żadnych z możliwych niepożądanych skutków, które mogą się ujawnić z pewnym opóźnieniem. Porównując je ze skutkami od znanych dawek (modelowe krzywe kalibracyjne „dawka – skutek”) istnieje możliwość wyznaczenia wielkości dawki, na jaką został narażony dany osobnik. Krzywa „dawka – skutek” może przybierać różne kształty w zależności od rodzaju promieniowania, co zostanie przedstawione w dalszej części opracowania. Krzywe otrzymuje się napromieniając limfocyty pobrane od osób kontrolnych różnymi wielkościami dawki i badając efekty tego napromienienia – uszkodzenia cytogenetyczne. Osobami kontrolnymi są zarówno kobiety jak i mężczyźni, będący w różnym wieku, w celu wzięcia pod uwagę wszelkich możliwych czynników indywidualnych do standaryzacji wyników, takich jak płeć, wiek oraz osobnicza promieniowrażliwość limfocytów. Następnie stwierdza się zgodność skutków w przypadku napromienia *in vitro* (poza organizmem) i *in vivo* (w organizmie), co przedstawi się w postaci wykresu, jako zależność efektu działania promieniowania do otrzymanej dawki promieniowania jonizującego. Działanie to jest możliwe dzięki podobieństwu poziomu zmian struktur chromosomów po napromienieniu w organizmie i poza nim.

Powstaje jednak pytanie, dlaczego w dozymetrii cytogenetycznej analizuje się właśnie limfocyty? Otóż jak wiadomo limfocyty są składnikiem krwi, są więc łatwo dostępne. Można je bez problemu pobrać, przechowywać, przetransportować, do badania wystarcza niewielka ilość – już nawet 5ml. Jak się okazuje są one łatwe w hodowli, która jest nieodłącznym elementem weryfikacji narażenia osoby na promieniowanie w metodzie cytogenetycznej i nie powoduje dodatkowych zniszczeń badanego materiału. Ponieważ aby oszacować częstość występowania uszkodzonych chromosomów we krwi osoby napromienionej, należy doprowadzić do pierwszego popromiennego podziału komórkowego, kiedy to chromosomy stają się maksymalnie zagęszczone i najłatwiej jest je oglądać pod mikroskopem. Limfocyty krążą po całym ciele, wobec tego nawet, gdy napromienieniu ulegnie tylko niewielka część ciała nadal istnieje możliwość wykonania dozymetrii biologicznej. Dozymetria biologiczna pozwala na uzyskanie informacji o wysokości dawki pochłoniętej na podstawie analizy poziomu popromiennych uszkodzeń w napromienionych komórkach, czyli na podstawie skutków działania promieniowania. W tym celu najczęściej bada się częstość uszkodzeń cytogenetycznych - aberracji chromosomowych lub mikrojąder - w limfocytach krwi obwodowej napromienionej osoby.

Do metod cytogenetycznych należą:

- Chromosomy dicentryczne
- Mikrojądra
- Translokacje
- Przedwczesna kondensacja chromosomów (PCC)

### 4.3 Metody cytogenetyczne

Aberracje chromosomowe to nieodwracalne i trwałe zmiany w liczbie lub strukturze chromosomów, do których może dochodzić spontanicznie, ale najczęściej jest to związane z czynnikami mutagennymi jak np. promieniowanie jonizujące, ultrafioletowe, czy wysoka temperatura. Innymi słowy, aberracje to mutacje chromosomowe.



Rysunek 7. Zdjęcie dicentryka

Przykładem aberracji powstałych pod wpływem promieniowania jonizującego są **dicentryki** – chromosomy posiadające dwa centromery zamiast jednego, powstałe pod wpływem wymiany i połączenia się uszkodzonego materiału chromosomowego pomiędzy dwoma pękniętymi chromosomami. Uszkodzenia pojawiają się zaraz po napromienieniu i są utrzymywane do czasu pierwszej mitozy – podziału komórkowego, a częstość ich występowania jest proporcjonalna do pochłoniętej dawki. Spontaniczne dicentryki powstają rzadko – średnio 1 dicentryk na 1000 komórek, liczba ta wzrasta wraz z wielkością pochłoniętej dawki. Po napromienieniu dawką 0,1 Gy występuje około 6 dicentryków na 1000 komórek. Metodę analizy chromosomów dicentrycznych stosuje się gdy dawka, na jaką narażony był człowiek wynosiła od 0,1 do 5-6 Gy. Powyżej tego zakresu podział komórek jest hamowany, metoda staje się więc bezużyteczna dla dawek wyższych. Dicentryki należą do tak zwanych aberracji niestabilnych. Zniszczenia w komórce mogą prowadzić do jej samostnej śmierci jeszcze przed podziałem, a w miejsce usuniętych komórek tworzone są ze szpiku kostnego młode limfocyty. Liczba komórek z chromosomami dicentrycznymi maleje więc wykładniczo z czasem.

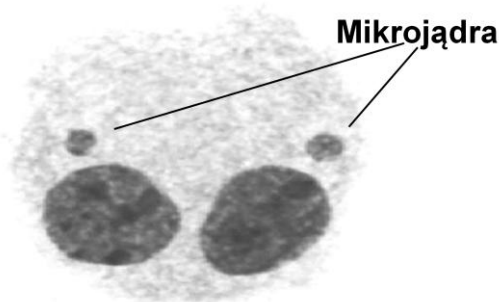
$$N = N_0 e^{-t/t_0}$$

Gdzie  $N_0$  – początkowa liczba komórek z dicentrykami,  $t_0$  – połowiczny czas życia komórek z dicentrykami.

$T_0$  ocenia się na ok. 130 dni (zakres 95-220 dni). Dicentryki są więc dobrym wskaźnikiem dawek, ale tylko niezbyt odległych w czasie, ponieważ ich poziom maleje eksponentalnie z półokresem.



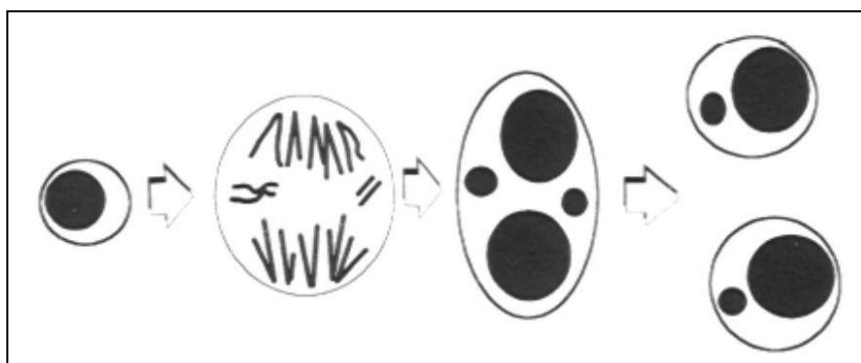
W celu stwierdzenia występowania aberracji chromosomowych w napromienionych limfocytach krwi obwodowej należy stymulować ich dzielenie i hodować je do czasu pierwszego podziału komórkowego po napromienieniu. Wtedy, jak zostało już wspomniane, chromosomy są maksymalnie zagęszczone i uwidocznione pod mikroskopem świetlnym. Dzielące się komórki trzeba następnie utrwalić i nanieść na szkiełka mikroskopowe w celu ich przeanalizowania. Żeby chromosomy były lepiej widoczne pod mikroskopem, szkiełka z naniesionym materiałem do badania zabarwia się barwnikiem Giemsy. Poszczególne etapy postępowania omówione zostaną w rozdziale 6.



Rysunek 8. Zdjęcie mikrojąder

Innym przykładem mutacji występujących na poziomie molekularnym są **mikrojądra**. Nie są one jednak charakterystyczne tylko dla promieniowania jonizującego, gdyż na ich ilość wpływają także czynniki chemiczne oraz wiek. Powstają, gdy chromosom lub jego fragment nie zostaje wcielony do jądra komórki podczas mitozy. Widoczne są jako owalne lub okrągłe obiekty w pobliżu jądra komórkowego w okresie kiedy komórka nie dzieli się - interfaza. Ich obecność świadczy o istniejących wcześniej aberracjach chromosomowych. Analizy mikrojąder dokonuje się podobnie jak dicentryków w komórkach, które od napromienienia podzieliły się tylko raz. Istnieje większa możliwość, że tylko niewielka część została usunięta z komórki. Mikrojądra nie są tak czułe na promieniowanie jak dicentryki. Minimalny poziom detekcji dawki wynosi 0,3 Gy. Częstość występowania mikrojąder jest proporcjonalna do dawki promieniowania.

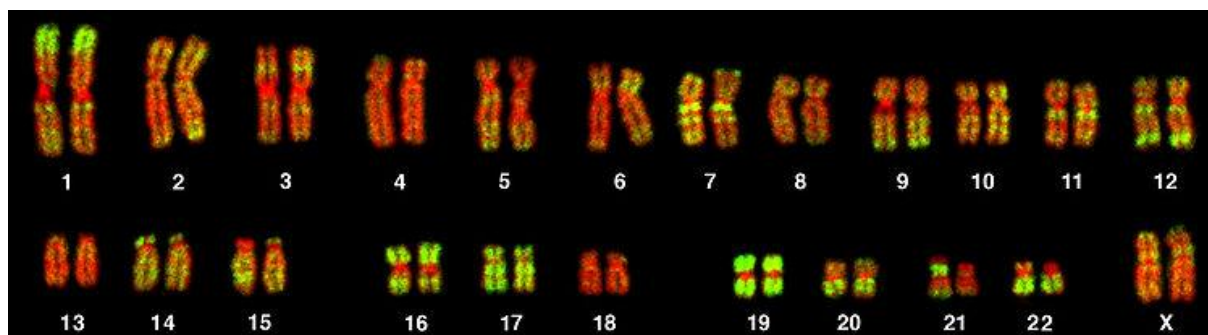
Etapy powstawania mikrojąder.



Rysunek 9. Kolejne etapy powstawania mikrojąder

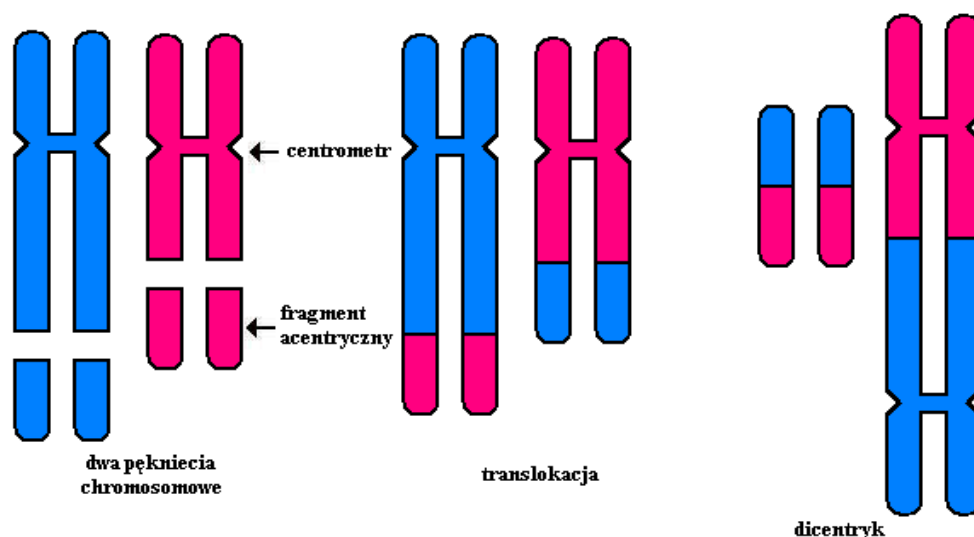
*Translokacje chromosomowe* także należą do aberracji wywołanych przez promieniowanie jonizujące. Na ich występowanie mają także wpływ takie czynniki, jak palenie papierosów, picie alkoholu, kawy, zażywanie leków, czy też wiek. Powyżej 50 roku życia obserwuje się podwyższoną częstość translokacji. Ten typ aberracji zalicza się do tak zwanych aberracji stabilnych, które mogą przetrwać wiele pokoleń komórkowych, ponieważ są przekazywane do komórek potomnych podczas podziałów komórki. Dlatego też ich poziom jest względnie stały w czasie i dokładna ocena dawki możliwa jest nawet kilka lat po napromienieniu. W odróżnieniu od dicentryków translokacje nie da się wykryć po zabarwieniu badanego materiału barwnikiem Giemsy, ponieważ nie występują w nich wyraźne różnice strukturalne. Wykrycie tego typu aberracji możliwe jest dzięki metodzie fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH), która wizualizuje specyficzne sekwencje DNA za pomocą sond molekularnych. Badanym obszarem może być cały chromosom lub obszar chromatyny w pobliżu centromerów poszczególnych chromosomów. Do detekcji miejsca hybrydyzacji stosowane są fluorochromy emitujące światło o określonej długości fali. Można dokonać wizualizacji kilku sekwencji DNA przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego, stosując fluorochromy emitujące różne długości fali. Technika znana jest także pod nazwą malowanie chromosomów. Dzięki temu translokacje pomiędzy chromosomami pomalowanymi na różne kolory stają się łatwo rozpoznawalne. Częstość występowania spontanicznych translokacji wynosi od 4 do 12 na 1000 komórek, a zakres mierzonych dawek wynosi od 0,5 do 5 Gy.

Hybrydyzacja kwasów nukleinowych – zjawisko spontanicznego łączenia się komplementarnych nici kwasów nukleinowych.



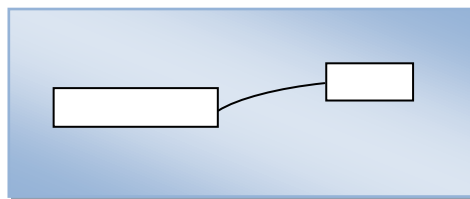
Rysunek 10. Chromosomy człowieka poddane metodzie FISH

Różnicę w strukturze chromosomów między dicentrykami a translokacjami wyjaśnia poniższy rysunek.



Rysunek 11. Schemat wyjaśniający różnice między dicentrykiem a translokacją

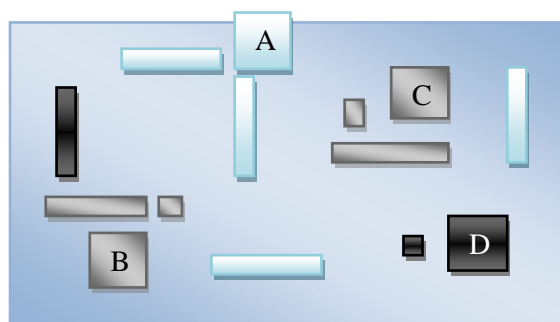
*Przedwczesna kondensacja chromosomów* ma przewagę nad analizą częstości występowania chromosomów dicentrycznych w limfocytach krwi obwodowej, gdy dawka, jaką został napromieniony człowiek, przekracza 5-6 Gy. W wyniku pochłonięcia tak dużej dawki część komórek może przechodzić z fazy G2 do apoptozy – obumierać, limfocyty napromienione tak dużą dawką tracą zdolność do „wejścia” w mitozę (w której chromosomy są najlepiej widoczne) lub wejście to jest opóźnione ze względu na blokadę cyklu komórkowego i naprawę uszkodzonego DNA. Metoda chromosomów dicentrycznych nie byłaby w tym przypadku wiarygodną metodą, zaś przedwczesna kondensacja chromosomów w zasadzie nie ma ograniczenia jeśli chodzi o dawkę promieniowania. PCC polega na analizie częstości uszkodzeń chromosomów w innych fazach cyklu podziałowego, kiedy chromosomy nie są jeszcze w mitozie, co uzyskuje się powodując skondensowanie chromatyny, uwidaczniając w ten sposób chromosomy. Kondensacji chromatyny można dokonać w komórce w każdej fazie oprócz S, gdzie uzyskiwany jest nienadający się do analizy obraz „sproszkowanych” chromosomów, w skutek mającej w tej fazie miejsce replikacji DNA. Następnie bada się częstość nadmiarowych fragmentów acentrycznych – fragmentów PCC, która jest proporcjonalna do dawki promieniowania. Można połączyć metodę PCC z metodą FISH, uzyskując wówczas oprócz możliwości zliczenia fragmentów acentrycznych także liczbę wymian i ocenę udziału poszczególnych chromosomów w ich powstawaniu. Analizując materiał czasem ciężko jest stwierdzić co jest fragmentem PCC, ponieważ kondensacja może mieć miejsce w różnych fazach cyklu, podczas których widoczne są pojedyncze chromatydy – faza G1, podwójne – faza G2, „sproszkowane” – faza S. W metodzie stosowane jest pojęcie „pozornych fragmentów acentrycznych”, które zdają się być odłączone od chromosomów, podczas gdy w rzeczywistości fragment łączący może być tak cienki, że niemal niezauważalny – słabo skondensowany.



Rysunek 12. Budowa chromosomu po PCC

Jeśli krótki fragment znajduje się w tej samej osi co rozpatrywany chromosom lub w jego pobliżu, uznaje się, że łączy je fragment, który jest słabo skondensowany, niewidoczny. Te krótkie dodatkowe fragmenty określa się jako pozorne, nie wynikają one z uszkodzenia DNA spowodowanego napromienieniem. Jeśli z kolei fragment acentryczny znajduje się w oddaleniu, prawdopodobieństwo, że łączy je nieskondensowana „linia” jest znikome, fragment uznaje się za acentryczny.

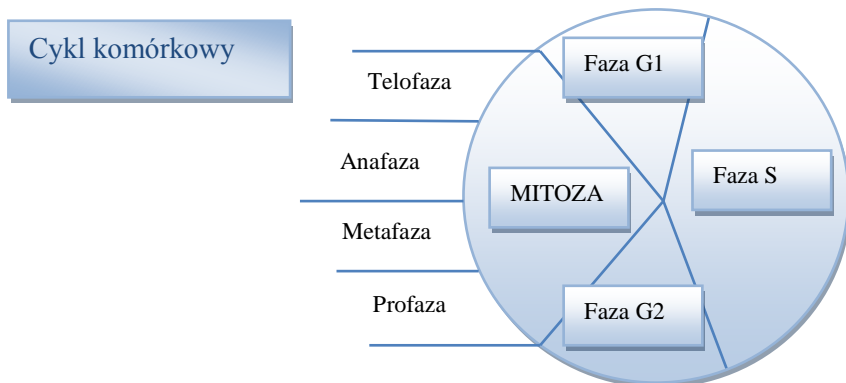
Schemat, który wyjaśnia kryteria kwalifikowania pozornych i rzeczywistych fragmentów PCC. Prostokąty A – chromosomy nieuszkodzone. B i C to chromosomy z fragmentami acentrycznymi leżącymi w osi chromosomu macierzystego (B) lub w jego bezpośrednim sąsiedztwie (C), połączone niewidocznym łącznikiem. D to chromosomy z oddalonym prawdziwym fragmentem acentrycznym, powstałym wskutek uszkodzenia nici DNA przez promieniowanie jonizujące.



Rysunek 13. Schemat wyjaśniający klasyfikację fragmentów acentrycznych

### 4.3.1 Cykl podziałowy komórki

Poniziej przedstawione zostaną poszczególne fazy cyklu komórkowego w celu lepszego zrozumienia zmian zachodzących w komórce z udziałem chromosomów, o których była mowa powyżej.



Rysunek 14. Kolejne fazy cyklu komórkowego

W fazie G<sub>1</sub>, czyli w tzw. okresie popodziałowym następuje intensywne syntezę białek komórkowych, co umożliwia wzrost jądra i cytoplazmy komórki potomnej.

W fazie G<sub>2</sub>, czyli w tzw. okresie przedpodziałowym (przygotowującym do podziału) następuje syntezę białek niezbędnych do wytworzenia wrzeciona

Faza S jest to okres intensywnej syntezy kwasu deoksyrybonukleinowego (replikacja DNA) oraz białek, które są składnikami chromosomów. Jest to niezbędne w świetle zbliżającego się podziału komórkowego.

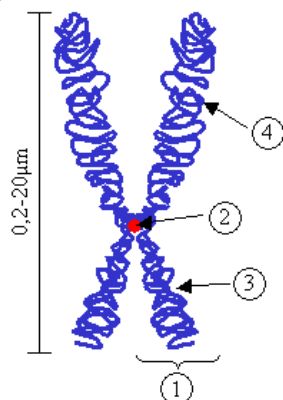
$$G1 + S + G2 = \text{INTERFAZA}$$

Interfaza – najdłuższa faza życia komórki. Jest etapem, w którym komórka przygotowuje się do podziału mitotycznego lub mejotycznego.

Mitoza – proces podziału pośredniego jądra komórkowego, któremu towarzyszy precyzyjne rozdzielanie chromosomów do dwóch komórek potomnych. W jego wyniku powstają komórki, które dysponują materiałem genetycznie identycznym z komórką macierzystą.

Apoptoza – naturalny proces zaprogramowanej śmierci komórki w organizmie wielokomórkowym. Dzięki temu mechanizmowi z organizmu usuwane są stare, zużyte lub uszkodzone komórki. Komórki nowotworowe dzielą się w sposób niekontrolowany, ponieważ „wyłączyły” tryb autodestrukcji.

Chromosomy najlepiej widoczne są podczas właściwego podziału komórkowego - mitozy, kiedy to są maksymalnie zagęszczone. Chromatyna jest to włóknista substancja występująca w jądrze komórkowym, zbudowana z DNA i białek, będąca w stadium międzypodziałowym jądra. Stanowi główny składnik chromosomów. Struktura oraz liczba chromosomów jest charakterystyczna danemu gatunkowi. U człowieka występuje 46 chromosomów, 22 pary chromosomów somatycznych i 1 para chromosomów płciowych.



Chromosom – forma organizacji materiału genetycznego wewnątrz komórki.

- 1 - chromatyda
- 2 - centromer - miejsce złączenia dwóch chromatyd
- 3 - ramię krótkie
- 4 - ramię długie

Rysunek 15. Chromosom

## 5. Stanowisko Cytogenetycznej Rekonstrukcji Dawek w CLOR

Instytutem, który zajmuje się m.in. dozymetrią biologiczną jest Centralne Laboratorium Ochrony Radiologicznej w Warszawie. CLOR to ponad 50-letni instytut badawczy, którego działalność nastawiona jest na ochronę przed skutkami promieniowania jonizującego społeczeństwa i osób narażonych zawodowo.

Współpraca naukowa :

- Komisja Wspólnoty Europejskiej
- Instytut Pierwiastków Transuranowych ITU, JRC, Unia Europejska
- Międzynarodowa Agencja Energii Atomowej, MAEA, Wiedeń, Austria
- Komisja Helsińska (HELSINKI COMMISSION, BALTIC MARINE ENVIRONMENTAL PROTECTION COMMISSION, HELCOM MORS)
- Współpraca w dziedzinie pomiarów radonu i jego produktów rozpadu: National Radiation Protection Institute, Development & Rn Standardization, Czechy; State Metrological Center for Radon, National Authority for NBC Protection, Czechy.

W instytucie znajduje się Stanowisko Cytogenetycznej Rekonstrukcji Dawki, do którego zadań należy „wyznaczanie dawki pochłoniętej w ciele człowieka narażonego na działanie promieniowania jonizującego na podstawie oceny częstości występowania chromosomów dicentrycznych w limfocytach krwi obwodowej jako swoistego, biologicznego markera dawki przy napromienieniu zewnętrznym.”



Rysunek 16. Stanowisko Cytogenetycznej Rekonstrukcji Dawek w CLOR

W grudniu 2010 r. Stanowisko Cytogenetycznej Rekonstrukcji Dawek, jako pierwsze w Polsce uzyskało akredytację Polskiego Centrum Akredytacji (PCA) dla metody cytogenetycznej oceny dawki pochłoniętej od promieniowania gamma  $^{60}\text{Co}$  i promieniowania rentgenowskiego o energii 122keV, dla zakresu pomiarowego od 0,25Gy do 4 Gy. W przypadku narażenia na dawki. Osoba wykonująca biologiczną ocenę dawki:

### Dr Maria Kowalska

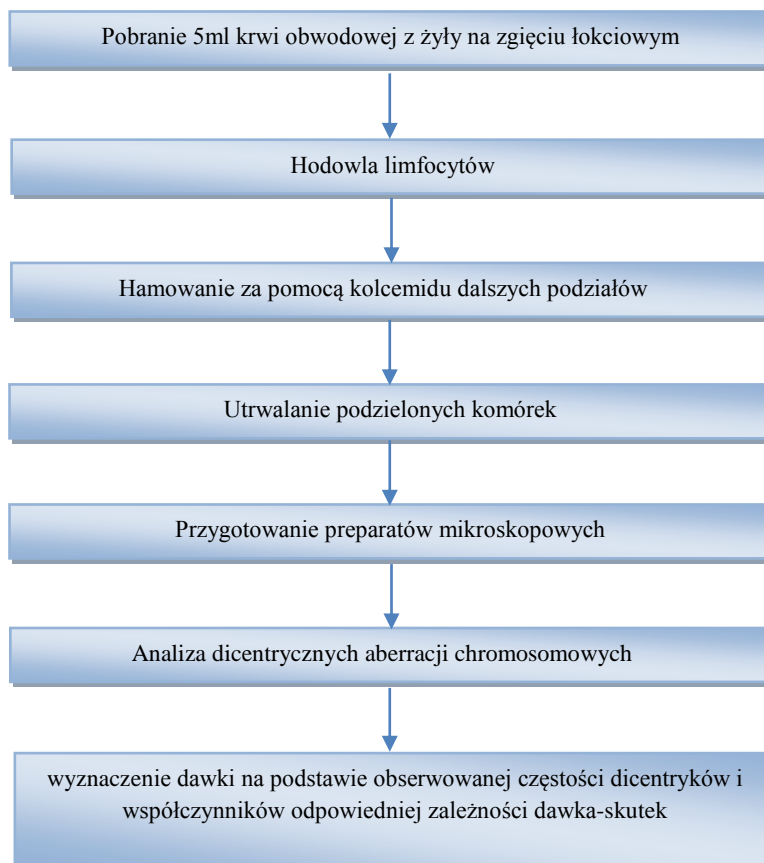
„W ocenie dawki pochłoniętej powyższa cytogenetyczna metoda dozymetrii biologicznej stanowi cenne uzupełnienie eksperymentalnych i teoretycznych metod fizycznych. Stosuje się ją głównie w przypadku zdarzeń radiacyjnych z udziałem osób, które nie posiadały dawkomierza osobistego, albo gdy uległ on uszkodzeniu bądź skażeniu substancjami promieniotwórczymi, a w miejscu zdarzenia nie były prowadzone kontrolne pomiary radiometryczne.

Wskazaniami do biologicznej weryfikacji fizycznych pomiarów dawki są też: znaczne, nieuzasadnione przekroczenia dawek granicznych oraz praca w warunkach zmiennych pól promieniowania lub przewlekłego, wewnętrznego i zewnętrznego narażenia radiacyjnego.”

Więcej informacji dotyczących placówki oraz zakresu wykonywanych działań znajduje się na stronie internetowej: <http://www.clor.waw.pl>

## 6. Etapy wyznaczania dawki

Etapy procedury wyznaczenia dawki pochłoniętej w ciele człowieka na podstawie częstości występowania dicentryków w limfocytach krwi obwodowej można przedstawić według następującego schematu.



Rysunek 17. Kolejne etapy wyznaczania dawki metodą cytogenetycznej dozymetrii biologicznej

W celu wyznaczenia dawki pochłoniętej w ciele człowieka narażonego na działanie promieniowania jonizującego na podstawie oceny częstości występowania chromosomów dicentrycznych w limfocytach krwi obwodowej należy wykonać następujące czynności:

- *Pobranie krwi*

Krew obwodową należy pobrać z żyły w zgięciu łokciowym za pomocą strzykawki z heparyną litową jako antykoagulantem. Pobrana krew trzymana jest w temperaturze 37°C do czasu rozpoczęcia napromieniania.



- *Hodowla limfocytów*

Do 0,5 ml pełnej krwi dodaje się ciepłą pożywkę z dodatkiem mitogenu-fitohemaglutyniny, stymulując hodowlę. Inkubuje się ją do czasu pierwszej popromiennej mitozy w temperaturze 37°C i w atmosferze nasyconej 5% CO<sub>2</sub>. W celu zahamowania podziałów komórkowych do hodowli dodawany jest kolcemid. Hodowla może trwać od 24 do 72 godzin. W celu opracowania krzywej wzorcowej lub cytogenetycznej rekonstrukcji dawki, komórki najczęściej utrwała się po 48 lub 52 godzinach hodowli.

- *Utrwalanie limfocytów*

Pierwszym etapem jest oddzielenie pożywki od komórek przez wirowanie 15 minut przy 900-1000 obrotach/minutę. Następnie odciągany jest nasącz zostawiając ok.0,5 ml roztworu. W dalszej części ostrożnie mieszając, dodaje się do osadu po kropli 5 ml 0,075 M roztworu KCL o temperaturze 37°C . Teraz 20 minutowa inkubacja w 37°C, a następnie 15 minutowe wirowanie przy 900 -1000 obrotach/minutę. Ponownie odciągany jest nadsącz i dodany 5% kwas octowy. Inkubowanie, wirowanie, odciąganie nadsączu. Ostrożnie mieszając dodaje się do osadu po kropli zmieszanego w stosunku 1:3 lodowatego kwasu octowego i metanolu (5 ml mieszaniny) o temperaturze pokojowej. Czynność ta powtarzana jest 3 (lub więcej) razy, w zależności od uzyskanego osadu.

- *Przygotowanie preparatów mikroskopowych*

Należy nałożyć równomiernie po ok. 40 µl otrzymanej zawiesiny komórkowej na szkiełka podstawowe. W celu uzyskania dobrego rozdzielania chromosomów i małej zawartości cytoplazmy można:

- nakropić na suche szkiełko zawiesinę komórek z wysokości 1cm

- nanieść na suche szkiełko roztwór 50% kwasu octowego i dotykając końcówką pipety powierzchni szkiełka nałożyć zawiesinę komórek

-nakropić na wilgotne szkiełko zawiesinę komórkę z wysokości 1cm i pozostawić w 37°C w łaźni wodnej

-nakropić z wysokości 1 cm 3 x 12 µl zawiesiny komórek na suche szkiełko, przenieść je na metalową tackę i umieścić je na 40 sek w łaźni wodnej o temperaturze 50°C .

Uzyskane preparaty suszone są przez 24 godziny w temperaturze pokojowej, a po wysuszeniu chromosomy wybarwi się 5-10% roztworem barwnikiem Giemsy.

- *Analiza dicentrycznych aberracji chromosomowych*

Jednocie wybarwione chromosomy analizuje się w świetle widzialnym za pomocą mikroskopu optycznego. Poszukiwanie chromosomów dicentrycznych rozpoczyna się od znalezienia komórki, która znajduje się w stadium metafazy, następnie zmienia się obiektyw o powiększeniu x10 na obiektyw o powiększeniu x100 i liczy chromosomy w komórce. Jeżeli komórka posiada nie mniej niż 46 chromosomów można przystąpić do szukania dicentryków. Chromosom klasyfikowany jest jako dicentryk, jeżeli posiada dwa centromery oraz towarzyszący fragment acentryczny. Chromosom z trzema centromerami i dwoma towarzyszącymi fragmentami acentrycznymi jest traktowany, jako ekwiwalent dwóch dicentryków.

- *Wyznaczenie dawki na podstawie obserwowanej częstości dicentryków i współczynników odpowiedniej zależności dawka-skutek*

Postępowanie wyjaśnione w rozdziale 7.

## 7. Dodatek

**Poniżej zawarte są przykłady postępowania przy wyznaczaniu krzywej wzorcowej dawka-skutek dla mieszanego promieniowania  $n+\gamma$  oraz wyznaczania dawek oparte na faktycznych pomiarach częstości występowania dicentrycznych aberracji chromosomowych.**

W opracowaniu przedstawione zostaną również wyniki analizy cyklu komórkowego, apoptozy oraz częstości mikrojąder w kontrolnych i napromienionych komórkach, które zostały uzyskane w czasie odbywania wakacyjnej praktyki studenckiej w CLOR.

### 7.1 Charakterystyka aparatury pomiarowej

Od momentu pobrania krwi aż do przeanalizowania jej pod mikroskopem upływa kilkadziesiąt godzin, a każdy etap wymaga użycia odpowiednich urządzeń. Krew pobierana jest za pomocą strzykawki, dzielona i przelewana do sterylnych mikroprowek i transportowana do Świerku, gdzie w Reaktorze Maria zostaje napromieniona w kanale 8 odpowiednimi dawkami. Po napromienieniu krew jest przechowywana w specjalnym inkubatorze w temperaturze 37°C. Wszelkie działania wykonuje się pod wyciągiem w celu jak najlepszej ochrony osoby przeprowadzającej badanie. Po dodaniu pożywki czy innych odczynników następuje ich wymieszanie z krwią w wirówce laboratoryjnej, a następnie nadmiar zawiesiny jest odciągany. Gdy materiału znajduje się już na szkiełkach umieszcza się je w wysokiej temperaturze w łaźni wodnej w celu odparowania utrwalczy. Ostatecznie wykorzystuje się mikroskop do analizy częstości dicentryków.

**Reaktor Maria w Świerku:** jedyny działający polski reaktor jądrowy wysokiej mocy o mocy cieplnej 30 MW. Nosi imię Marii Skłodowskiej-Curie. Jego budowę rozpoczęto w czerwcu 1970 r., a uruchomiony został w grudniu 1974r. Reaktor ten dostarcza głównie neutrony termiczne wraz z towarzyszącymi im fotonami gamma. W trakcie propagacji w materiale biologicznym neutrony termiczne oddziałują z atomami, co skutkuje powstaniem promieniowania rozproszonego, składającego się w większości z promieniowania gamma.

Aby wykorzystać mieszane promieniowanie  $n+\gamma$  do zbadania zależności między dawką pochłoniętą a częstością występowania chromosomów dicentrycznych w napromienionych in vitro limfocytach krwi obwodowej należy przeprowadzić jego charakterystykę, czyli określić gęstość jonizacji w funkcji długości toru w próbce krwi, z uwzględnieniem oddziaływania różnych składowych wiązki. Składowe te mają nieco odmienny przebieg absorpcji energii w materiale biologicznym, co musi zostać uwzględnione przy określaniu mocy dawki pochłoniętej i czasu ekspozycji próbek krwi.

**Charakterystyka kanału 8:** Reaktor MARIA posiada siedem kanałów poziomych. Do napromieniania próbek krwi najdogodniejszy jest kanał H-8, gdyż jest łatwo dostępny, pewny co do sterowania, a ponadto posiada procedury bezpiecznego użytkowania. Kanał należy do Środowiskowego Laboratorium Neutronografii.

Uzyskane dane służą do obliczenia składowych dawki pochłoniętej w 1,5 ml próbkach krwi, oraz dawki od przewidywanego promieniowania rozproszonego w celu opracowania krzywej wzorcowej.



**Inkubator Green Line** firmy Assab Kebo Biomed (Szwecja) - urządzenie do hodowli komórek w temperaturze 37°C i atmosferze składającej się w 5% z CO<sub>2</sub> i 95% z powietrza atmosferycznego.

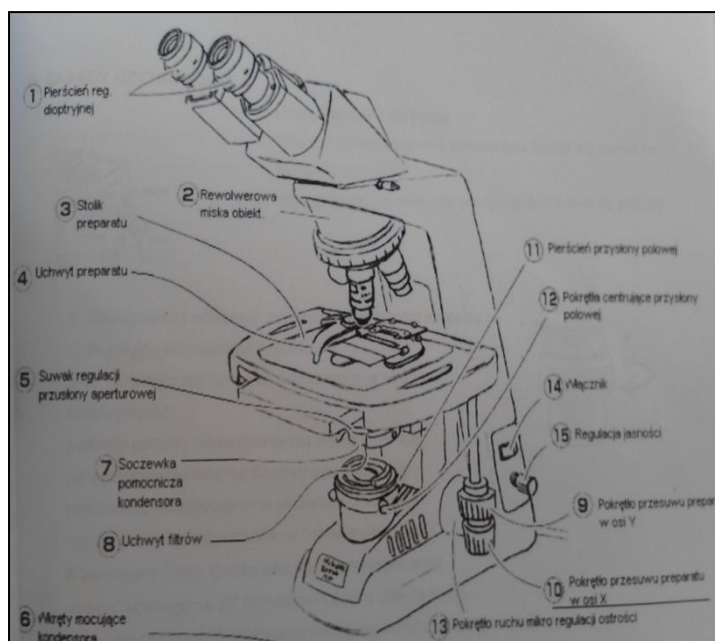
**Komora laminarna** bio-hazard firmy assab kebo – biomed pb bs 7258 – urządzenie do bezpiecznej pracy z materiałem biologicznym.

**Wirówka laboratoryjna** mpw-221 firmy mpw-med. instruments – używana w celu separacji osadu komórkowego ( max 3500 obr/min, max przyspieszenie 5200 xg).

**Vortex** – używany do mieszania komórek z roztworami stosowanymi przy przygotowaniu preparatów mikroskopowych.

**Łaźnia wodna** – używana do odparowania utrwalcza przy przygotowywaniu preparatów mikroskopowych (50°C).

**Mikroskopy optyczne:** Eclipse E-2000 firmy Nikon i Primo Star firmy Zeiss.



Rysunek 18. Schemat mikroskopu optycznego Nikon Eclipse

## 7.2 Opracowanie uzyskanych wyników

W tabeli znajdują się wyniki analizy w różnych fazach cyklu komórkowego oraz apoptozy w komórkach kontrolnych i napromienionych dwiema dawkami promieniowania  $n+\gamma$ .

Tabela 3. Uzyskane wyniki analizy komórek w różnych fazach cyklu komórkowego

DAWKA [GY]	LB. PRZEANALIZOWANYCH KOMÓREK	I <sub>1</sub>	I <sub>2</sub>	M	A
0	1357	823	47	475	12
-	-	61%	3%	35%	1%
0,9	770	563	16	179	12
-	-	73%	2%	23%	2%
2	1461	911	57	456	37
-	-	62%	4%	31%	3%

I<sub>1</sub> - interfaza pierwsza

I<sub>2</sub> - interfaza druga

M- mitoza

A-apoptoza

W tabeli oprócz liczby uzyskanych komórek w danej fazie, przedstawiona jest procentowa liczba tych komórek w stosunku do wszystkich przeanalizowanych dla określonej dawki. Znajomość procentowego udziału poszczególnych rodzajów komórek jest potrzebna do poszerzenia charakterystyki biologicznej skuteczności promieniowania  $n+\gamma$ .

### Test mikrojąder

Analiza preparatów mikroskopowych dała następujące wyniki:

Tabela 4. Uzyskane wyniki analizowanych preparatów z mikrojądrami

K1	K2	K2+M	K3	K4	WSZYSTKIE
1288	465	69	44	17	1814
71%	26%	4%	2%	1%	-

K1 - komórki 1-jądrzaste

K2 - komórki 2-jądrzaste

K3 - komórki 3-jądrzaste

K4 - komórki 4-jądrzaste

K2+M – komórki 2-jądrzaste z mikrojądrami

Częstość mikrojąder liczona w liczbie otrzymanych komórek dwujądrzastych.

Tabela 5. Częstość występowania mikrojąder

K2 WSZYSTKIE	K2	K2 + M	K2 + 1M	K2 + 2M	K2 + 3M
534	465	69	54	6	1
-	87%	13%	10%	1%	0,02%

K2 wszystkie – wszystkie komórki 2-jądrzaste

K2 – komórki 2-jądrzaste bez mikrojąder

K2 + m – komórki 2-jądrzaste z mikrojądrami

K2 + 1M – komórki 2-jądrzaste z 1 mikrojądrem

K2 + 2M – komórki 2-jądrzaste z 2 mikrojądrami      K2 + 3M – komórki 2-jądrzaste z 3 mikrojądrami

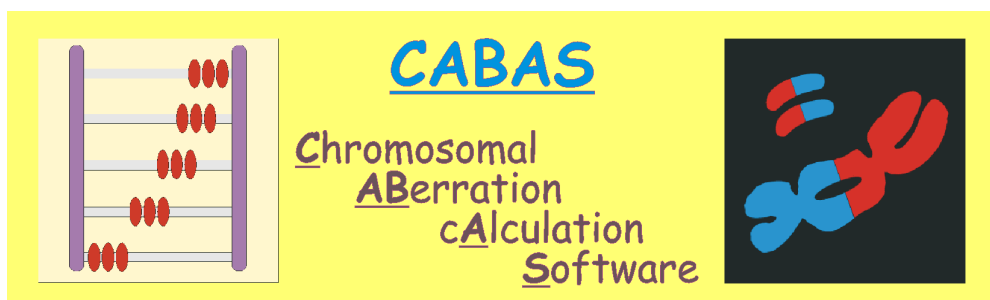
Test mikrojąder stosowany jest do:

- oceny stopnia uszkodzeń chromosomów na poziomie pojedynczej komórki
- oceny wpływu środowiskowych i genetycznych czynników, oraz stylu życia na stabilność genetyczną

Polega na określeniu częstości występowania w komórce mikrojąder, im więcej mikrojąder tym więcej uszkodzeń.

### 7.3 Zastosowanie programu CABAS do wyznaczenia krzywej wzorcowej dawka – skutek

Program CABAS (Chromosomal Aberration Calculation Software) to ogólnodostępny, darmowy program do wyznaczania krzywych kalibracyjnych w dozymetrii aberracji chromosomowych. Umożliwia dopasowanie ilości uzyskanych aberracji do konkretnej wielkości dawki za pomocą odpowiednich równań, przez maksimum prawdopodobieństwa i testowanie dokładności dopasowania. Za jego pomocą można obliczyć wielkość dawki oraz niepewności, wykorzystując częstość występowania aberracji, sprawdzić, czy napromienione zostało całe ciało, czy jedynie jego część, oszacować liczbę komórek niezbędnych do wykrycia danej dawki promieniowania, obliczenie dawki w przypadku frakcjonowania lub przewlekłej ekspozycji na promieniowanie.



Rysunek 19. CABAS

Krzywą dawka-skutek wyznacza się na podstawie przeanalizowanych komórek i uzyskanych aberracji. Krzywa ta wyraża się wzorem:

$$\text{aberrations/cell} = aD^2 + bD + c$$

Program przelicza wprowadzone wielkości i rysuje wykres zależności liczby aberracji chromosomowych od dawki promieniowania, gdzie D oznacza dawkę a, b, c to współczynniki równania.

Po wprowadzeniu otrzymanych danych do programu, wylicza on współczynniki a, b, c oraz rysuje wykres. Analiza napromienienia źródłem Co 60.

$$c = 0,0010 \pm 0,0004$$

$$b = 0,0119 \pm 0,0027$$

$$a = 0,0557 \pm 0,0016$$

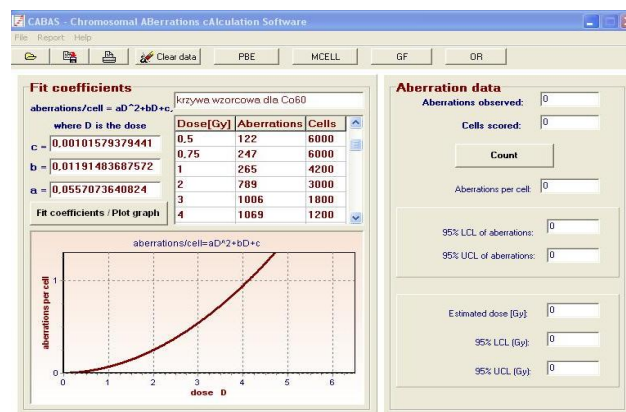
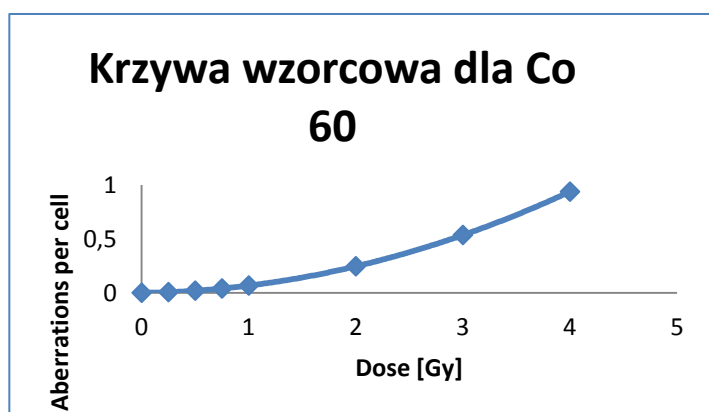
Tabela przedstawia liczbę przeanalizowanych komórek napromienionych określoną dawką oraz liczbę znalezionych dicentryków.

Tabela 6. Wyniki do wyznaczenia krzywej wzorcowej dla Co 60

DOSE [GY]	ABERRATIONS	CELLS
0	6	6000
0,25	48	6000
0,5	122	6000
0,75	247	6000
1	265	4200
2	789	3000
3	1006	1800
4	1069	1200

Wykres oraz rzut na panel programu CABAS przedstawiają takie same krzywe dawka – skutek.

Wykres 3. Krzywa wzorcowa dla Co 60



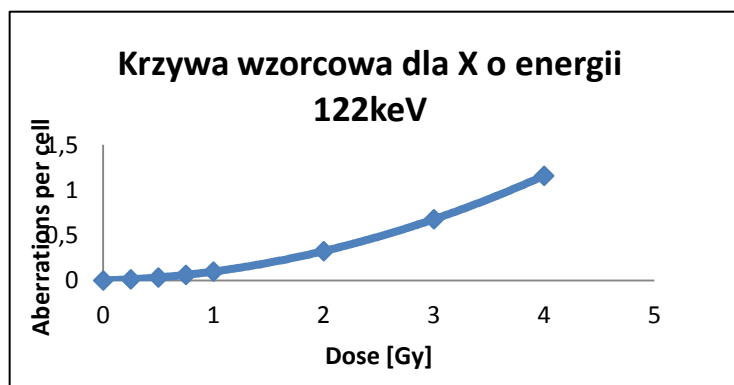
Rysunek 20. Rzut na panel programu CABAS

Analiza napromienienia promieniowaniem rentgenowskim o energii 122keV.

DOSE [GY]	ABERRATIONS	CELLS
0	6	6000
0,25	102	6000
0,5	183	6000
0,75	375	6000
1	416	4200
2	975	3000
3	1222	1800
4	1393	1200

Wykres 4. Krzywa wzorcowa dla promieniowania X

Program oblicza współczynniki a, b, c potrzebne do narysowania wykresu.  
 $c=0,0011 \pm 0,0004$   
 $b=0,0348 \pm 0,0033$   
 $a=0,0635 \pm 0,0019$



### 7.3.1 Obliczenie dawki pochłoniętej w przypadku ekspozycji całego ciała

Za pomocą CABAS można obliczyć dawkę, jaką mogło zostać napromienione całe ciało.

Obliczanie dawki na całe ciało od promieniowania gamma Ir192:

Zaobserwowane aberracje: 7

Przeanalizowane komórki: 1400

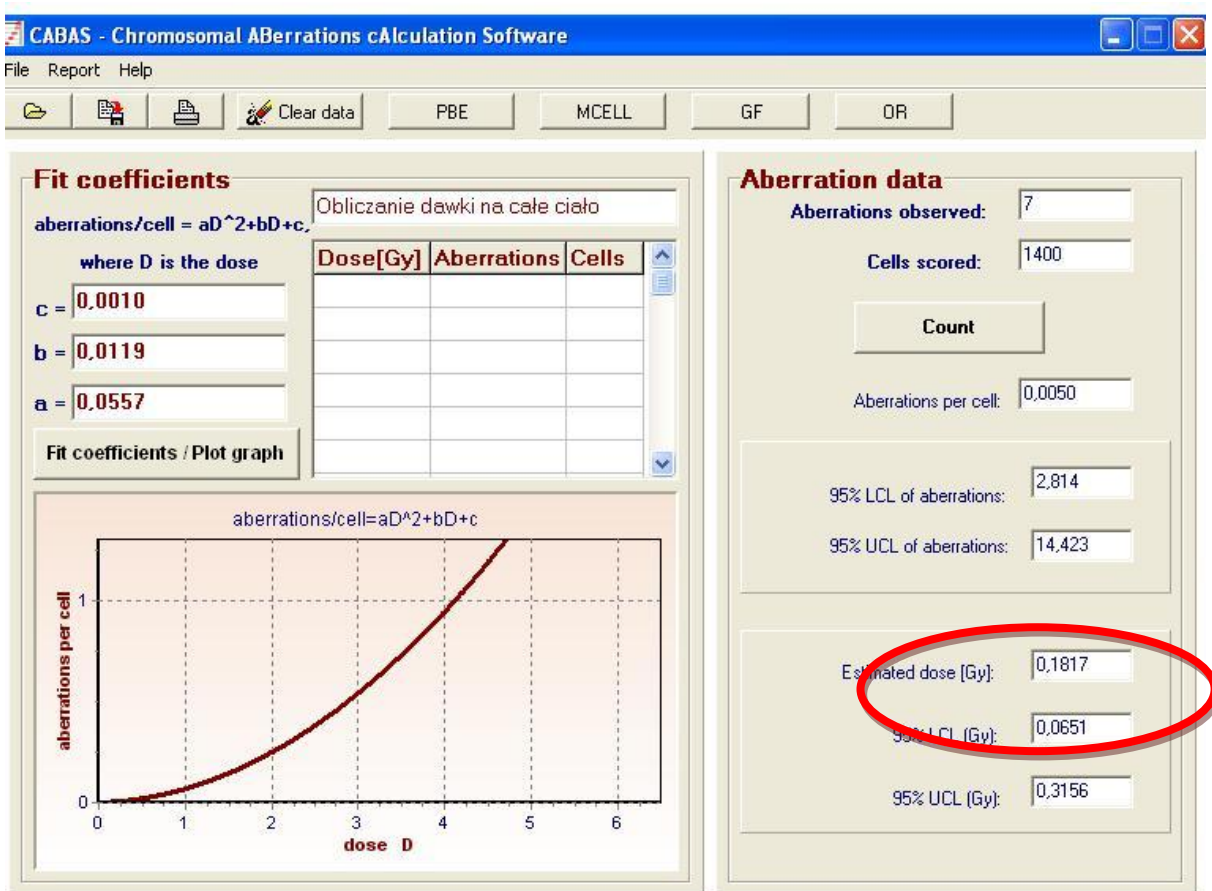
$$c = 0,0010 \pm 0,0004$$

$$b = 0,0119 \pm 0,0027$$

$$a = 0,0557 \pm 0,0016$$

$$\text{aberrations/cell} = aD^2 + bD + c$$

Przybliżona dawka na całe ciało obliczona przez CABAS wynosi: 0,18 [Gy]



Rysunek 21. Widok panelu CABAS

### 7.3.2 Obliczenie dawki pochłoniętej w przypadku ekspozycji części ciała

Za pomocą CABAS możliwe jest również obliczenie dawki, jaką mogła zostać napromieniona część ciała.

Obliczanie dawki na część ciała (krzywa wzorcowa dla promieniowania X):

Zaobserwowane aberracje: 86

Przeanalizowane komórki: 1000

$$c = 0,0011 \pm (0,0004)$$

$$b = 0,0348 \pm (0,0033)$$

$$a = 0,0635 \pm (0,0019)$$

$$\text{aberrations/cell} = aD^2 + bD + c$$

Przybliżona dawka na całe ciało obliczona przez CABAS wynosi: 0,91 [Gy]

Tabela 7.

LICZBA ABERRACJI	LICZBA KOMÓREK
0	932
1	56
2	9
3	1
4	1
5	1

Procent napromienionej części ciała wynosi 34,95% . Dawka na tą część wynosi 2,5Gy.

**CABAS - Chromosomal ABerrations cAlculation Software**

Close Minimized Clear View report

**PBE - partial body exposure**

Class	Number of cells
0	932
1	56
2	9
3	1
4	1
5	1
6	0
7	0
8	0
9	0
10	0

$D_0$ : 2.7

Count

**Statistics of the observed distribution**

Sum of aberrations: 86  
Mean aberrations per cell: 0,0860  
Aberrant cells: 68  
Non-aberrant cells: 932

Dispersion index: 1,5667  
u - value: 12,7404

Distribution is Poissonian: No  
Dose to whole body: 0,9143 Gy

**Results**

Yield to exposed fraction: 0,490  
Partial body dose: 2,5142 Gy  
Percent of body exposed: 34,95 %

Obliczanie dawki na część ciała ( krzywa wzorcowa dla promieniowania X):

Zaobserwowane aberracje: 39

Przeanalizowane komórki: 200

$$c = 0,0011 \pm 0,0004$$

$$b = 0,0348 \pm 0,0033$$

$$a = 0,0635 \pm 0,0019$$

$$\text{aberrations/cell} = aD^2 + bD + c$$

Przybliżona dawka na całe ciało obliczona przez CABAS wynosi: 1,49 [Gy]

Tabela 8.

LICZBA ABERRACJI	LICZBA KOMÓREK
0	176
1	17
2	3
3	3
7	1

Procent napromienionej części ciała wynosi 47,9% . dawka na tą część wynosi 3,8Gy.

**CABAS - Chromosomal ABerrations cAlculation Software**

Close Minimized Clear View report

**PBE - partial body exposure**

Class	Number of cells
0	176
1	17
2	3
3	3
4	0
5	0
6	0
7	1
8	0
9	0
10	0

$D_0$  : 2.7

Count

**Statistics of the observed distribution**

Sum of aberrations: 39

Mean aberrations per cell: 0.1950

Aberrant cells: 24

Non-aberrant cells: 176

Dispersion index: 2.5099

u - value: 15.2577

Distribution is Poissonian: No

Dose to whole body: 1.4948 Gy

**Results**

Yield to exposed fraction: 1.060

Partial body dose: 3.8187 Gy

Percent of body exposed: 47.91 %

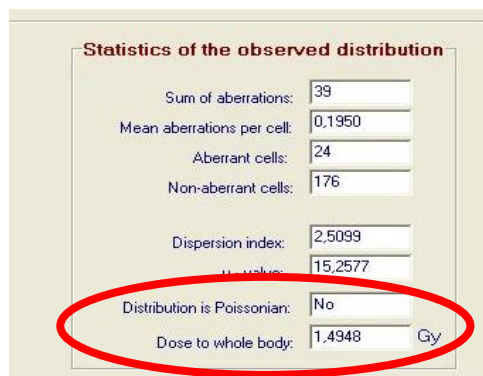
Rysunek 23. Widok panelu CABAS



### 7.4 Weryfikacja wskazań dawkomierza indywidualnego

Program CABAS pozwala dokonać weryfikacji wskazań dawkomierza by określić czy napromieniona została część ciała, czy całe ciało, a może dozymetr, wykorzystując w tym celu rozkład Poissona zmiennej losowej. Jeśli występuje rozkład Poissona świadczy to o napromienieniu całego ciała, w przeciwnym razie napromieniona jest jego część..

Przykłady napromienienia, po którym wskazania dawkomierza dawały niepokojące wyniki, a nie było pewności czy napromienieniu uległ człowiek, czy sam dawkomierz.



Rysunek 24. Widok panelu CABAS

W ochronie radiologicznej zdarzają się przypadki wątpliwości, co do wskazań dozymetrów personalnych. W sytuacji, gdy przeprowadzona dozymetria biologiczna wykazuje obecność 0 dicentryków należy się odwołać do statystyki Poissona w celu rozstrzygnięcia, czy napromieniona została osoba, czy dawkomierz.

Tabela 9.

Dawka	Obserwowano: 0 dicentryków w 1000 komórek Oczekiwano: 1 dicentryk/ 1000 komórek dla dawki 0 Gy 68 dicentryków/1000 komórek dla dawki 1 Gy $(Y=0,001+0,0119D+0,0557D^2)$
	Wzór na obliczanie prawdopodobieństwa dla rozkładu Poissona : $P(k)=Y^k e^{-Y}/k!$ , gdzie $k=0,1,2,3...$ to ilość dicentryków/1000 komórek, Y – średnia ilość dicentryków/komórkę
0 Gy	$k=0 \quad Y= 1$ $P=e^{-1}=0,368$
1 Gy	$k=0 \quad Y= 68$ $P= e^{-68}=2,937E-30$
	$P(0Gy)/P(1 Gy)=1,252E+29$



Tabela 10.

Dawka	<p>Obserwowano: 0 dicentryków w 1000 komórek</p> <p>Oczekiwano: 1 dicentryk/ 1000 komórek dla dawki 0 Gy</p> <p>25 dicentryków/1000 komórek dla dawki 4,02 Gy na ręce</p> <p>(<math>Y=0,001+0,0119D+0,0557D^2</math>)</p>
	<p>Wzór na obliczanie prawdopodobieństwa dla rozkładu Poissona :  <math>P(k)=Y^k e^{-Y}/k!</math> ,</p> <p>gdzie <math>k = 0,1,2,3...</math> to ilość dicentryków/1000 komórek,  <math>Y</math> – średnia ilość dicentryków/komórkę</p>
0 Gy	<p><math>k=0</math>    <math>Y= 1</math></p> <p><math>P= e^{-1} = 0,368</math></p>
4,02 Gy na ręce	<p><math>k=0</math>    <math>Y= 25</math></p> <p><math>P= e^{-25} = 1,389E-11</math></p> <p><math>P(0 \text{ Gy})/P(4, 2 \text{ Gy})= 1,764E+10</math></p>

Z porównania obu prawdopodobieństw w tabeli 9 i10 wynika, że napromienienie dawkomierza jest bardziej prawdopodobne od napromienienia pracownika.

Tabela 11.

Dawka	<p>Obserwowano: 2 dicentryków w 1000 komórek</p> <p>Oczekiwano: 1 dicentryk/ 1000 komórek dla dawki 0 Gy</p> <p>2,7 dicentryków/1000 komórek dla dawki 0,047 Gy na cała ciało</p> <p>(<math>Y=0,001+0,0119D+0,0557D^2</math>)</p>
	<p>Wzór na obliczanie prawdopodobieństwa dla rozkładu Poissona :  <math>P(k)=Y^k e^{-Y}/k!</math> ,</p> <p>gdzie <math>k = 0,1,2,3...</math> to ilość dicentryków/1000 komórek,  <math>Y</math> – średnia ilość dicentryków/komórkę</p>
0 Gy	<p><math>k=2</math>    <math>Y=1</math></p> <p><math>P=e^{-1}=0,184</math></p>
0,047 Gy	<p><math>k=2</math>    <math>Y=2,7</math>    <math>P= e^{-2,7}=0,245</math></p> <p><math>P(0Gy)/P(0,047Gy) \approx 1</math></p>

W ostatnim przypadku – tabela 11, nie ma pewności, co do jednoznacznego określenia napromienienia dawkomierza, a nie pracownika,  $P \approx 1$ . Wówczas w CLOR stosuje się parametr statystyczny, nazywany progiem decyzji  $D_0$ .

Próg decyzji ( $D_0$ ) oznacza częstość występowania chromosomów dicentrycznych, przy której lub powyżej której uznaje się, że różnica pomiędzy częstością występowania dicentryków w badanej próbce ( $Y$ ), a częstością występowania dicentryków w odpowiedniej próbce ślepej ( $Y_0$ ) jest istotna przy przyjętym prawdopodobieństwie  $\alpha$  błędu pierwszego rodzaju w wysokości 0,05.

$$Y - Y_0 \geq D_0$$

Próbka ślepa to nienapromieniona próbka limfocytów krwi obwodowej, która jest całkowicie identyczna z próbką, która jest poddana analizie.

Błąd pierwszego rodzaju (fałszywie dodatni) określa prawdopodobieństwo błędnego wnioskowania w przypadku odrzucenia hipotezy, która jest prawdziwa.

Dla badanej próbki wartość progu decyzji oblicza się ze wzoru:

$$D_0 = k_{1-\alpha} [Y_0(1/n_0 + 1/n)]^{1/2} = 1,645 [Y_0(1/n_0 + 1/n)]^{1/2}$$

$Y_0$  to częstość występowania chromosomów dicentrycznych w próbce ślepej, która wynosi 1/1000 = 0,001 dic/kom

$n_0$  – liczba komórek użytych do wyznaczenia  $Y_0$

$n$  - liczba komórek użytych do wyznaczenia częstości występowania dicentryków w badanej próbce.

Wartość progu decyzji dla badanej próbki:

$$D_0 = 0,002 \text{ dic/kom}$$

Różnica między częstością występowania dicentryków w badanej próbce i odpowiedniej próbce ślepej:

$$Y - Y_0 = 0,002 - 0,001 = 0,001 \text{ dic/kom}$$

Różnica między częstością występowania dicentryków w badanej próbce i odpowiedniej próbce ślepej jest mniejsza od wartości progu decyzji dla tej próbki:

$$Y - Y_0 < D_0$$

Oznacza to, że dany wynik netto nie stanowi statystycznie znaczącej różnicy w stosunku do tła dicentryków w limfocytach osoby poddanej analizie cytogenetycznej. Na tej podstawie można przyjąć z prawdopodobieństwem błędu pierwszego rodzaju  $\alpha = 0,05$ , że zarejestrowana dawka jest wynikiem przypadkowego napromienienia dawkomierza. Poprawność takiej oceny zależy od różnicy pomiędzy rzeczywistym tłem osoby poddanej pomiarowi, którego nie znamy, a tłem tej osoby ocenianym na podstawie odpowiedniej próbki ślepej.

## 8. Podsumowanie

Skutkiem działania promieniowania jonizującego na człowieka są różnego rodzaju zmiany w komórkach i tkankach organizmu. Zmiany, które cechuje trwałość, swoistość na promieniowanie i proporcjonalność do ilości energii pochłoniętej w jednostce masy ciała człowieka narażonego na działanie promieniowania, mogą stanowić biologiczne markery ekspozycji i dawki pochłoniętej. Najdokładniejszym biomarkerem dawki jest częstość występowania chromosomów dicentrycznych w limfocytach krwi obwodowej osoby narażonej.

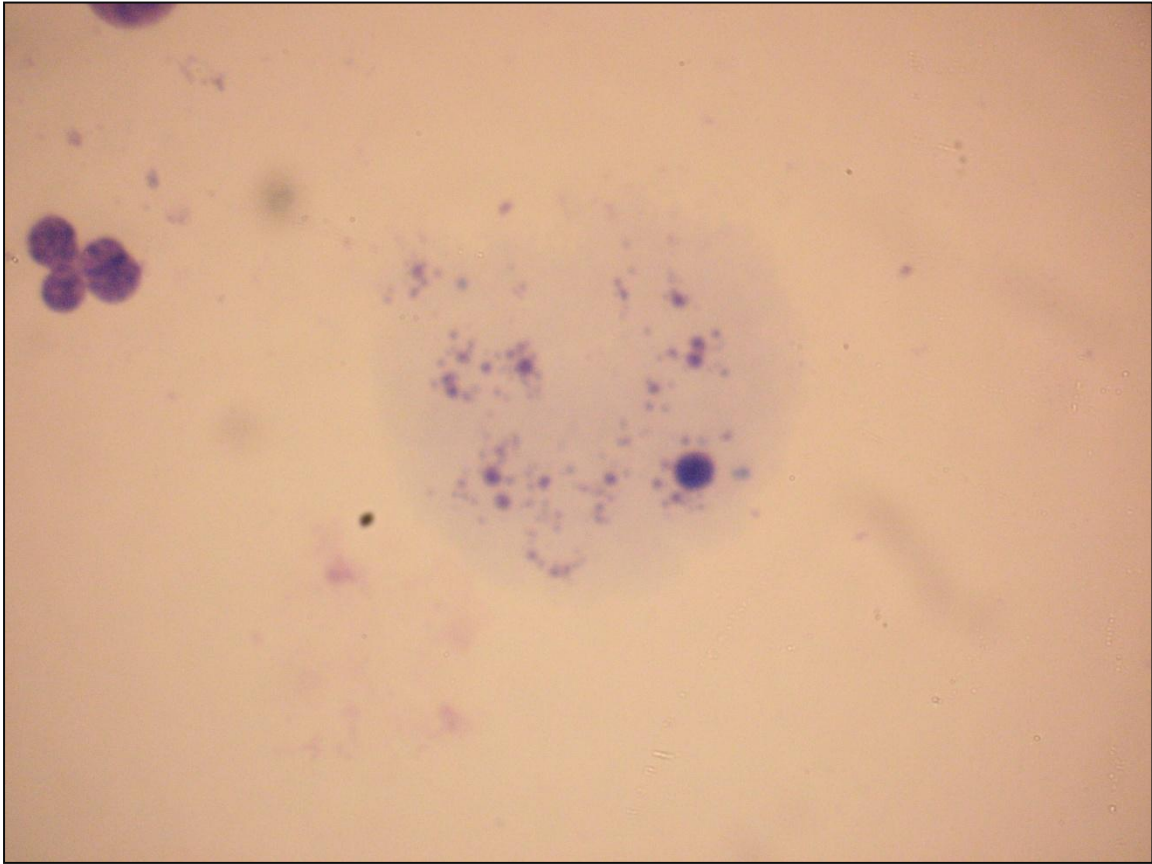
W celu cytogenetycznej rekonstrukcji dawki pobrane limfocyty krwi obwodowej stymuluje się do dzielenia w hodowli, utrwała w czasie pierwszego popromiennego podziału komórkowego, nanosi na szkiełka mikroskopowe, barwi barwnikiem Giemsy i analizuje w stadium metafazy, kiedy szczegóły morfologii chromosomów są najbardziej widoczne. Dokładna ocena dawki wymaga przeanalizowania 1000 komórek metafazowych lub znalezienia 100 dicentryków. Obserwowana częstość występowania dicentryków jest następnie przeliczana na dawkę pochłoniętą za pomocą współczynników liczbowych odpowiedniej krzywej wzorcowej, wzorów matematycznych i programu komputerowego Chromosomal Aberration Calculation Software (CABAS).

Przy narażeniu na dawki mniejsze od 1 Gy ocena dawki jest tym mniej dokładna, im więcej czasu upłynęło między napromienieniem a pobraniem próbki krwi. Dzieje się tak dlatego, że stare limfocyty są usuwane z organizmu i zastępowane przez młode komórki ze szpiku kostnego, które dicentryków nie zawierają. Dicentryki należą do tzw. niestabilnych aberracji chromosomowych, gdyż obecność dwóch centromerów utrudnia rozdzielenie się chromatyd chromosomu i ich przemieszanie do nowo powstających jąder komórek potomnych. Skutkiem ubytku informacji genetycznej jest śmierć komórek potomnych, a to powoduje, że w układzie krwiotwórczym komórki zawierające dicentryki z czasem znikają z populacji komórek dzielących się. We krwi obwodowej liczba komórek zawierających dicentryki maleje wykładniczo z czasem ( $N=N_0e^{-\ln 2t}$ ). Połowiczny czas życia limfocytów z dicentrykami (T) ocenia się na ok. 130 dni. Dla cytogenetycznej dozymetrii biologicznej oznacza to, że częstość występowania chromosomów dicentrycznych w limfocytach krwi obwodowej jest biomarkerem dawek niezbyt odległych w czasie i materiał do oceny dawki powinien być pobierany nie później niż 6 miesięcy po narażeniu. W przeciwnym wypadku wynik oceny dawki może być obarczony dużym marginesem niepewności w związku z dużym, osobniczym zróżnicowaniem połowicznego czasu życia limfocytów z dicentrykami i jego zależnością od chwilowego zapotrzebowania organizmu na komórki układu odpornościowego.

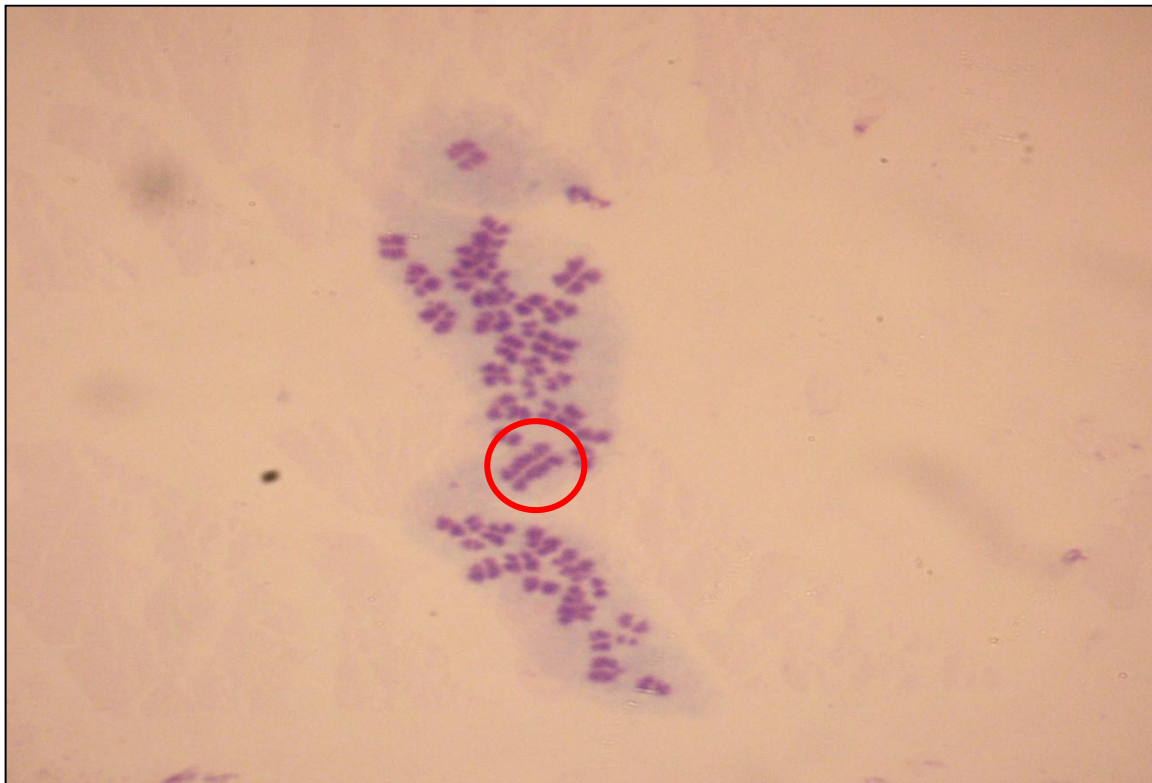
## Literatura

- [1] IAEA (2001) Cytogenetic analysis for radiation dose assessment, technical series No.405, international Atomic Energy Agency, Vienna
- [2] M. Kowalska, Aberracje chromosomowe, jako biologiczny wskaźnik napromienienia organizmu i dozometr biologiczny. Postępy Techniki Jądrowej, 2002, Vol.45 Z.1, 33-41.
- [3] M. Szłuińska, A. A. Edwards, D. C. Lloyd, Statistical Methods for Biological Dosimetry, raport HPA-RDP-011, November 2005.
- [4] M. Szłuińska, M. Deperas-Kaminska, A. Edwards, D. Lloyd, C. Lindholm, H. Romm, L. Roy, R. Moss, J. Morand, A Wojcik. CABAS - a freely available PC program for fitting calibration curves in chromosome aberration dosimetry. Radiation Protection Dosimetry 124:115-123, 2007.
- [5] L. Dobrzyński, E. Droste, W. Trojanowski, R. Wołkiewicz; „Spotkanie z promieniotwórczością”. Instytut Problemów Jądrowych im. A. Sołtana; Świerk, 2005.
- [6] <http://www.if.pw.edu.pl/~pluta/pl/dyd/mtj/wyklad/index.html>, 29.11.12
- [7] <http://www.if.pw.edu.pl/~rafix/ochrona%20radiologiczna.htm>, 13.11.12
- [8] M. Szymańska, Biologiczne skutki promieniowania jonizującego
- [9] A. Wasilewski, J. Henschke: Przyrządy dozymetryczne
- [10] Dr D. Mielżyńska, Narażenie na substancje o działaniu kancerogennym – biomarkery narażenia.
- [11] S. Sommer, I. Szumiel, PCC w dozymetrii. Mechanizm bimolekularny, zalety i wady.

Zdjęcia



Rysunek 26. Apoptoza

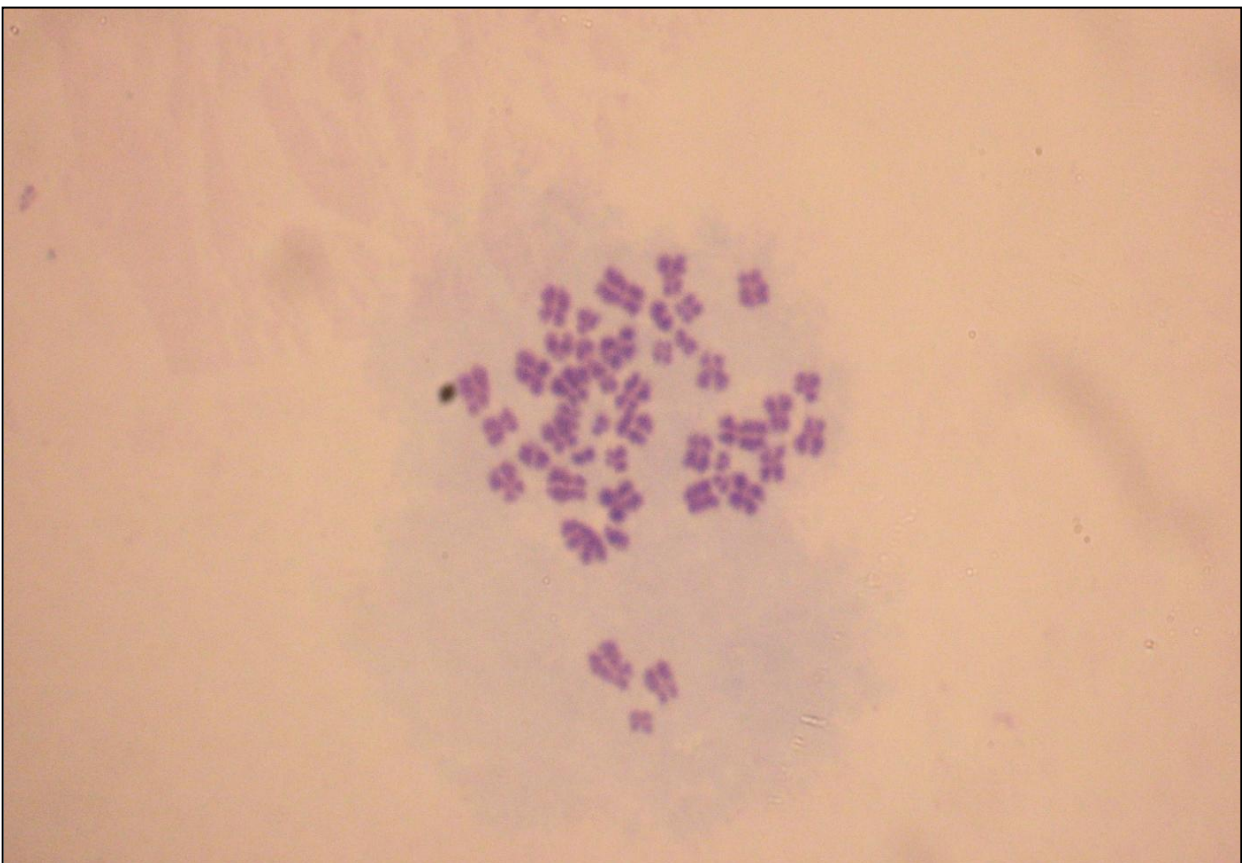


Rysunek 25. Dicentryk

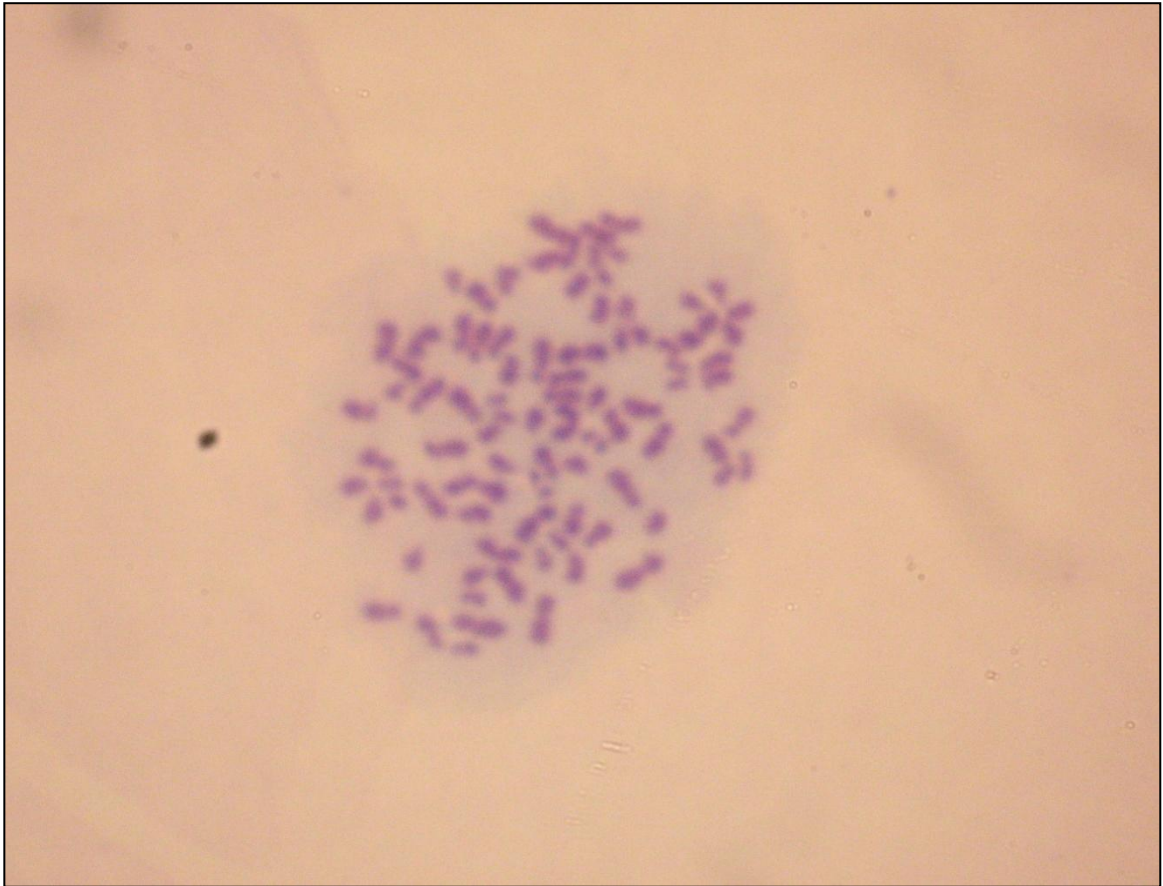




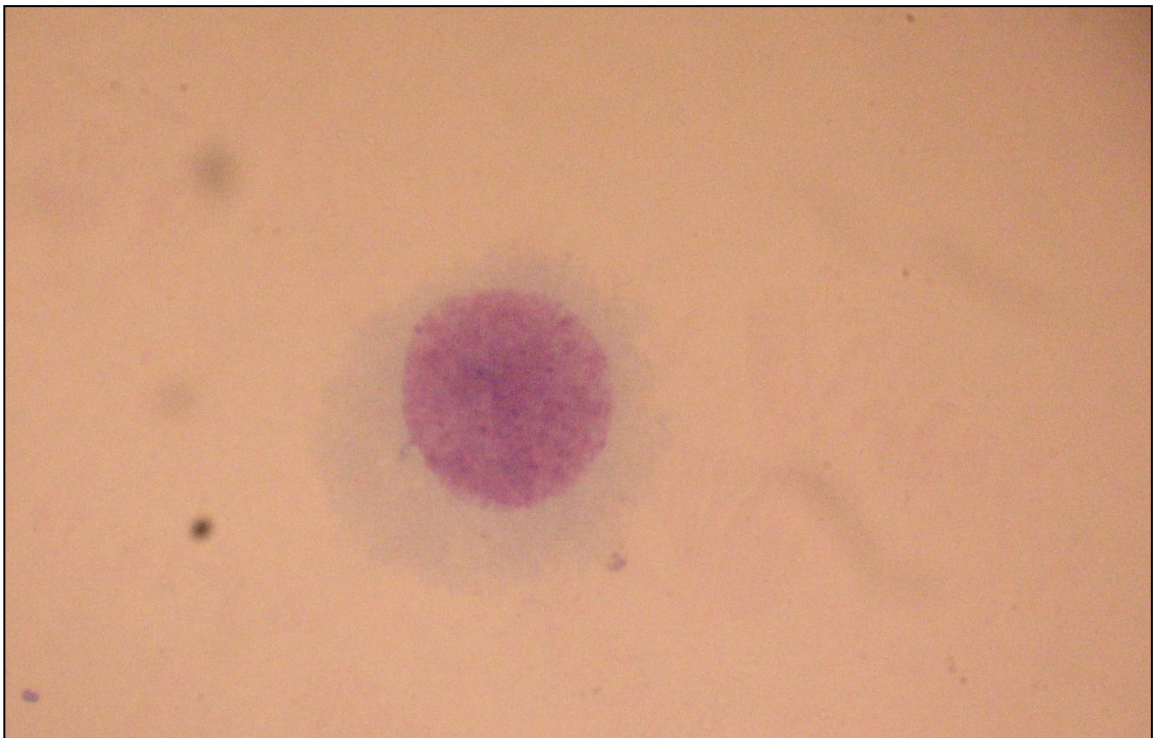
Rysunek 28. Dicentryk



Rysunek 27. Mitoza

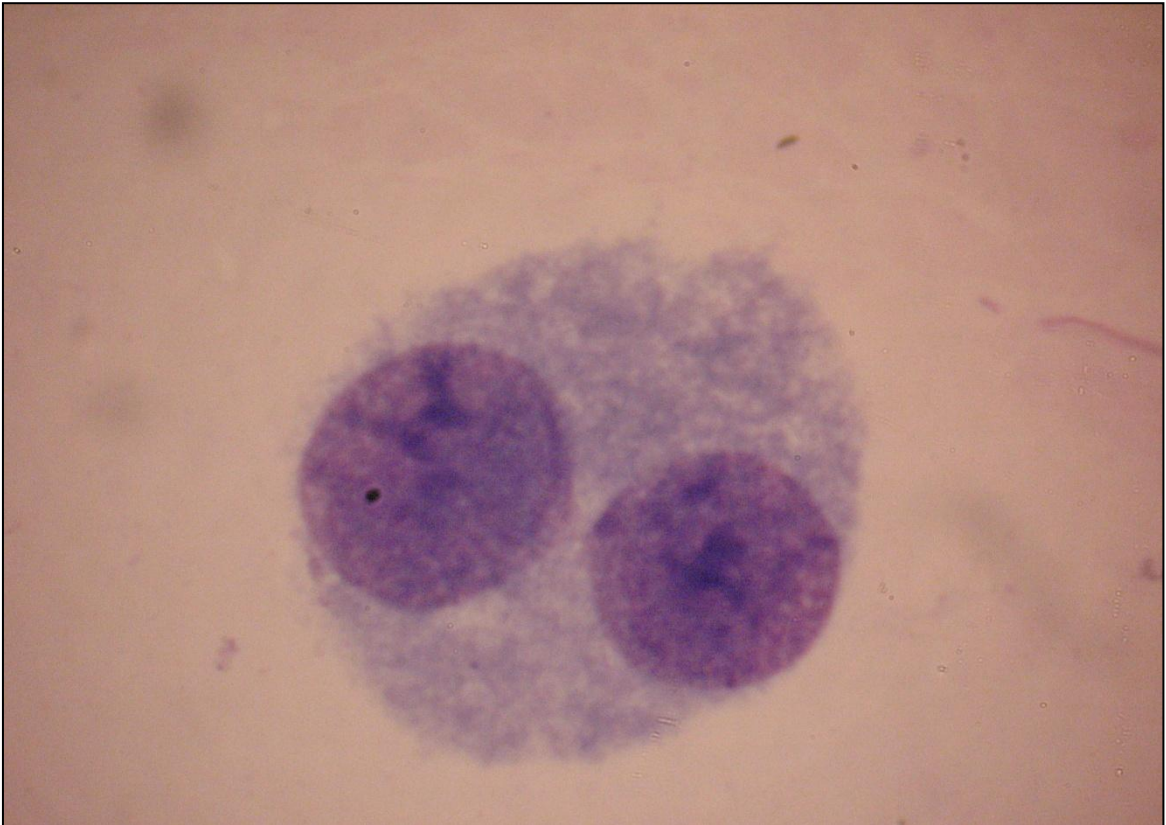


Rysunek 30. Późna mitoza

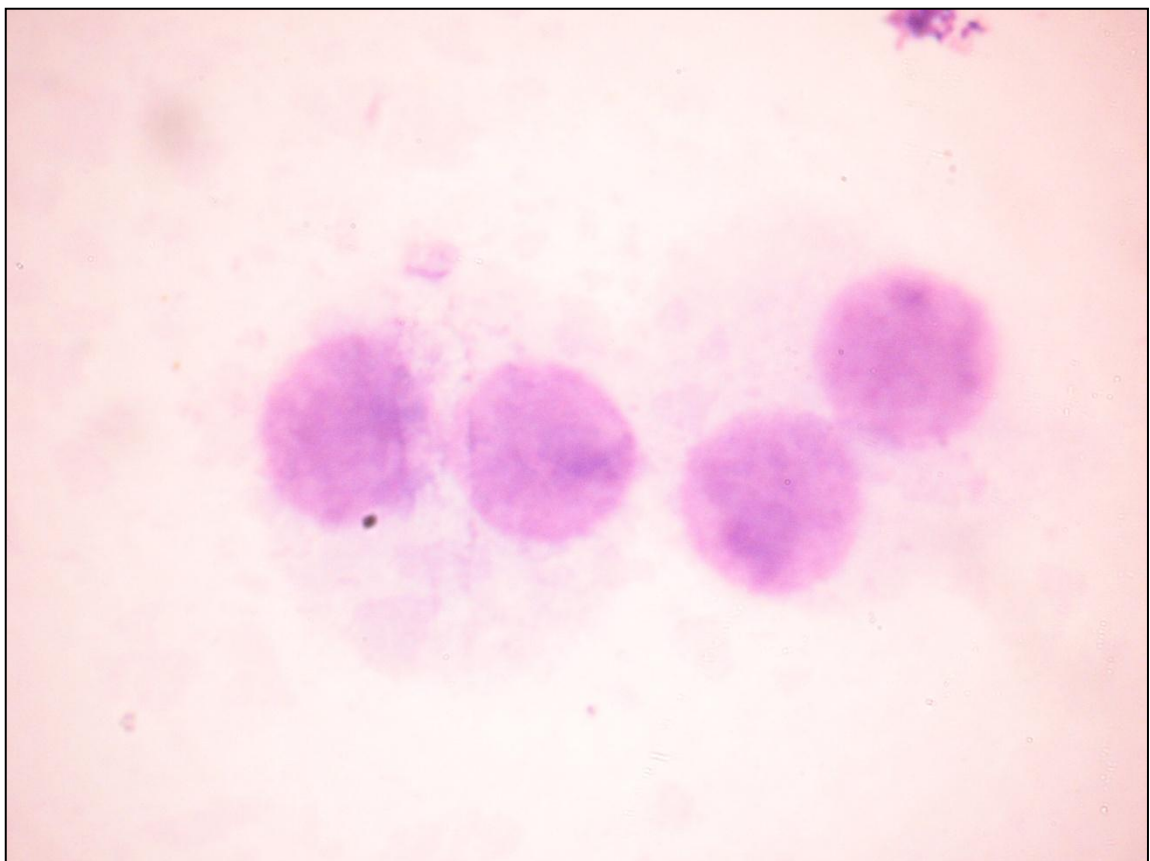


Rysunek 29. Pojedyncza komórka



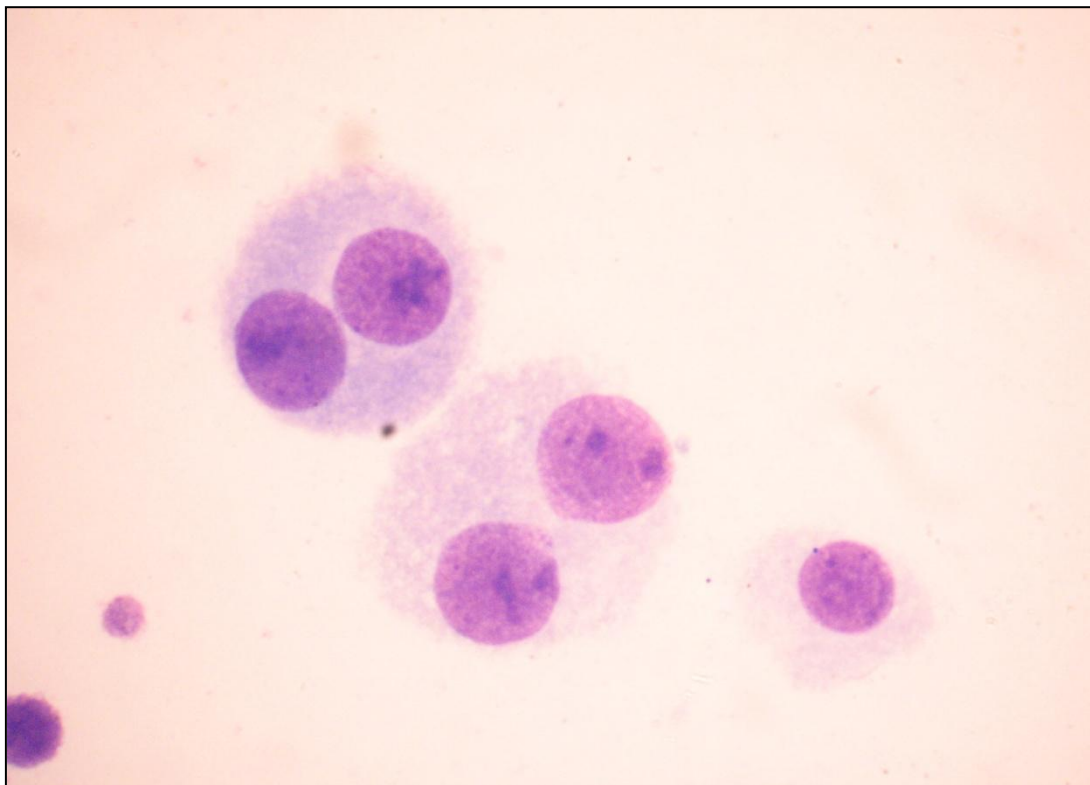


Rysunek 31. Komórka dwujądrzasta

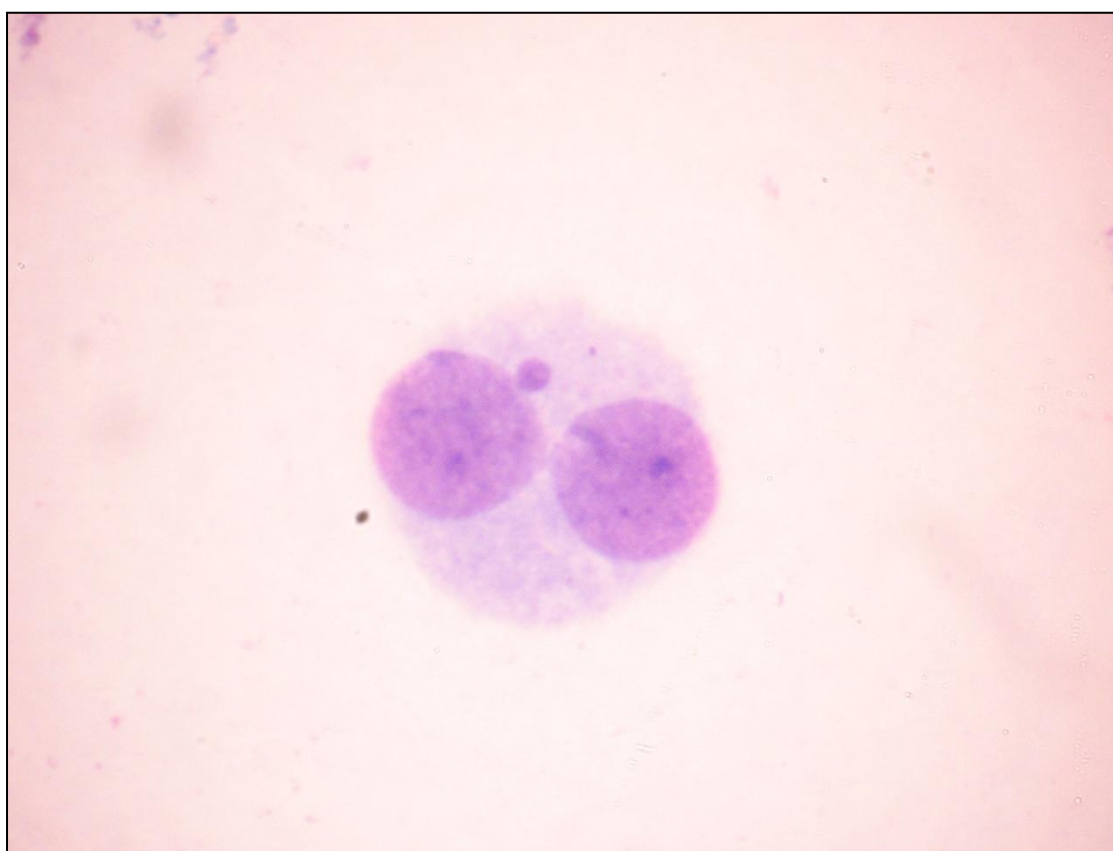


Rysunek 32. Dwie komórki dwujądrzaste

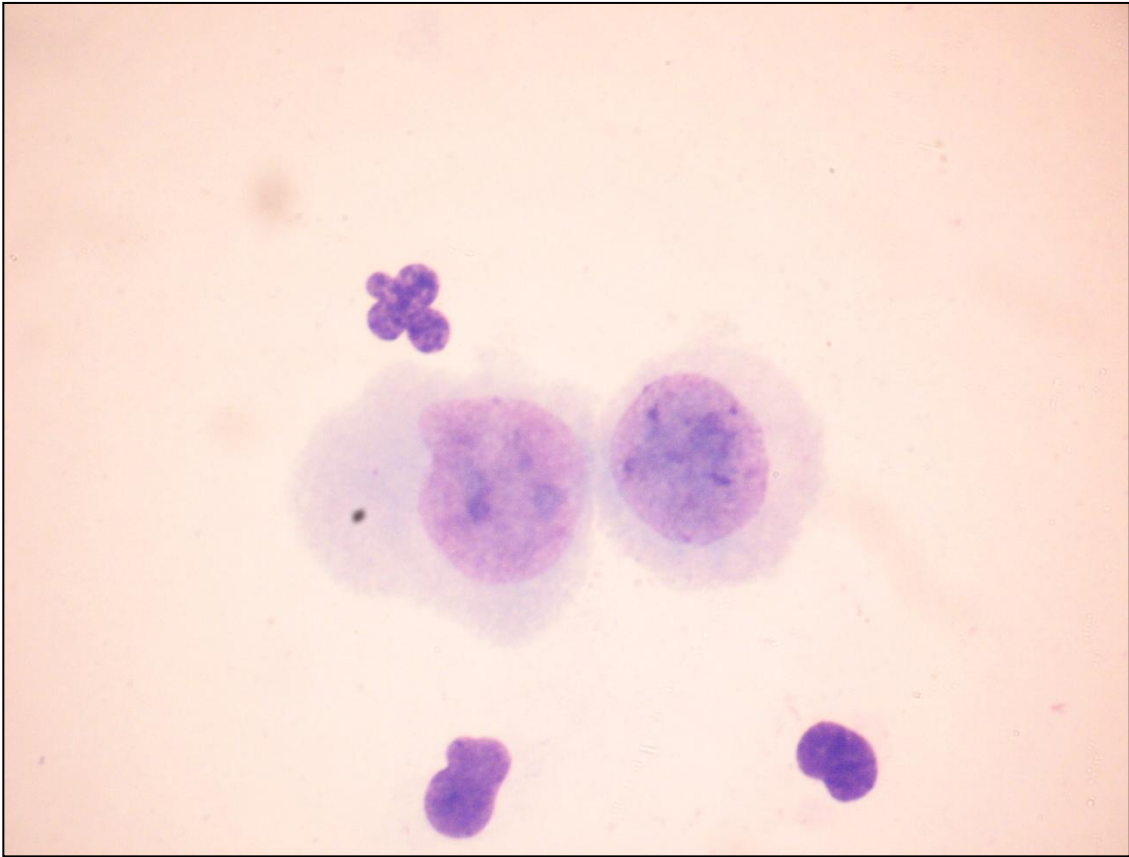




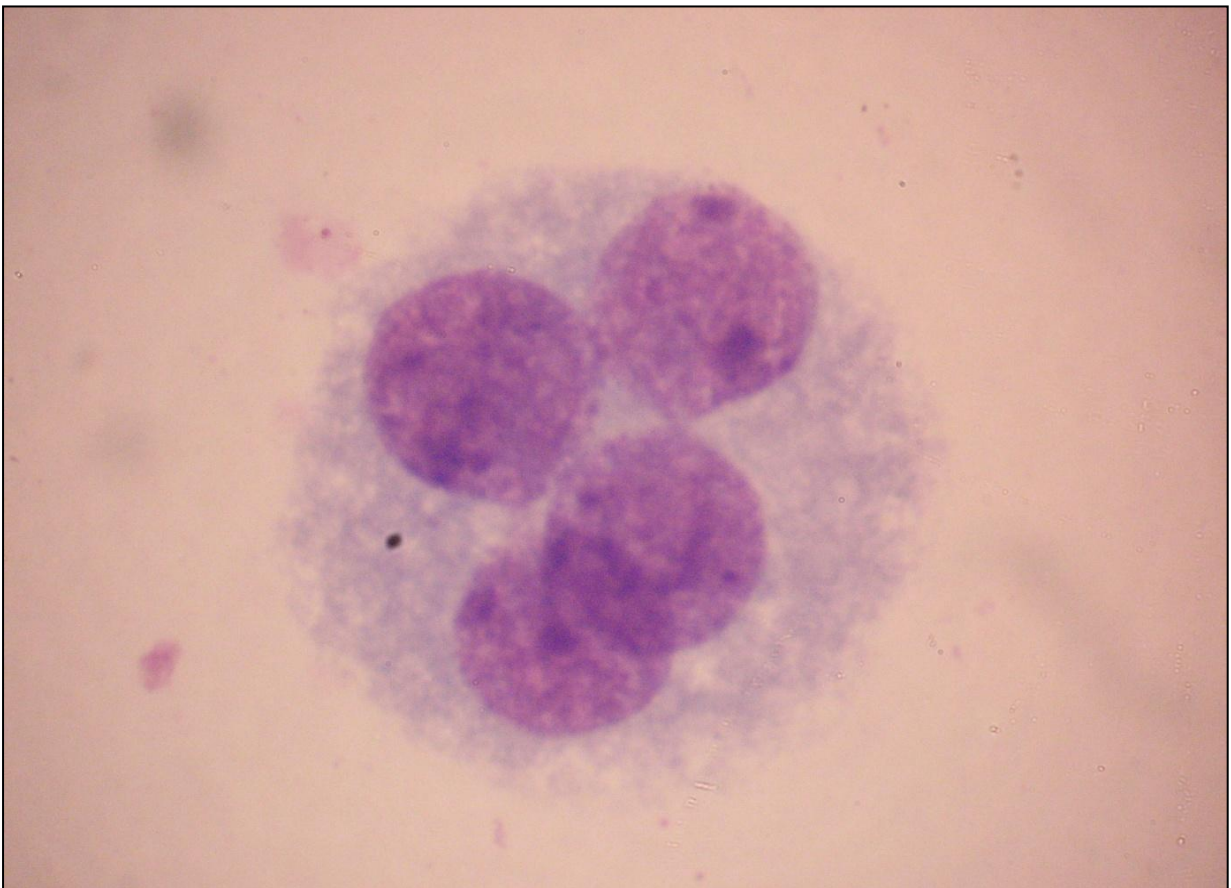
Rysunek 33. Dwie komórki dwujądźrzaste i jedna pojedyncza komórka



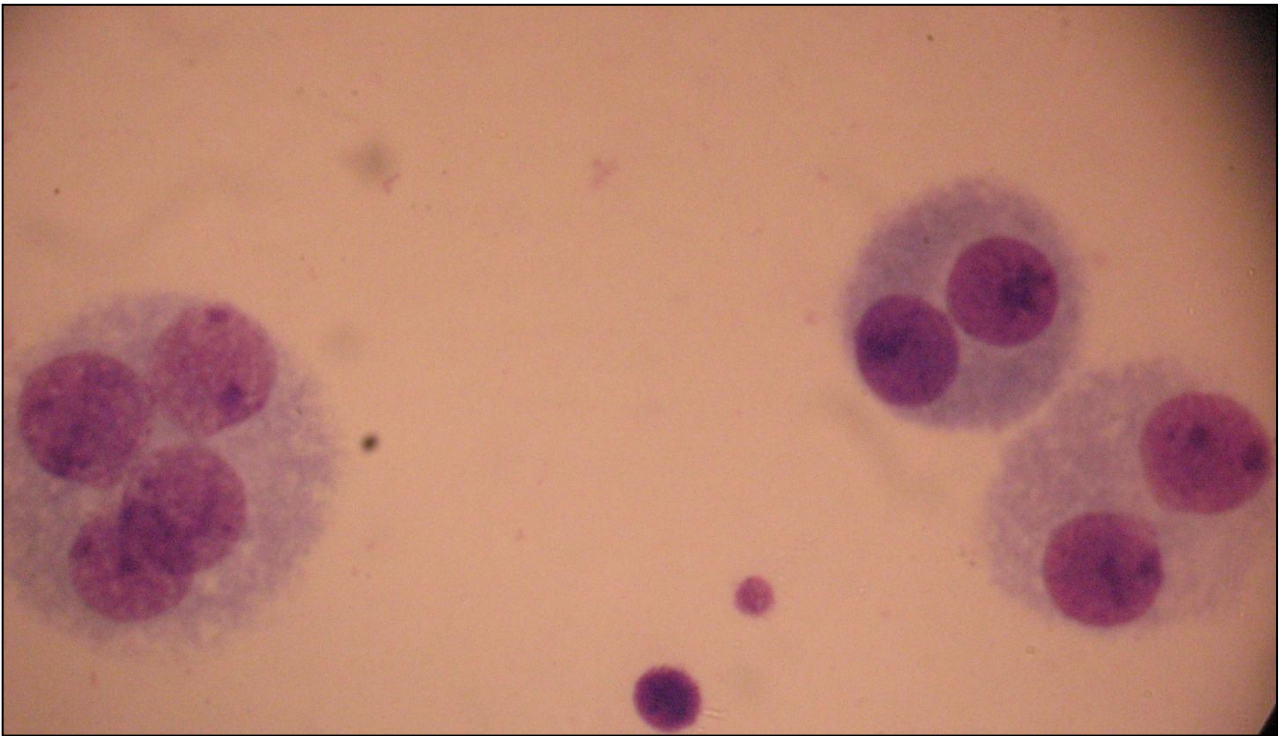
Rysunek 34. Komórka dwujądźrzasta z 1 mikrojądzem



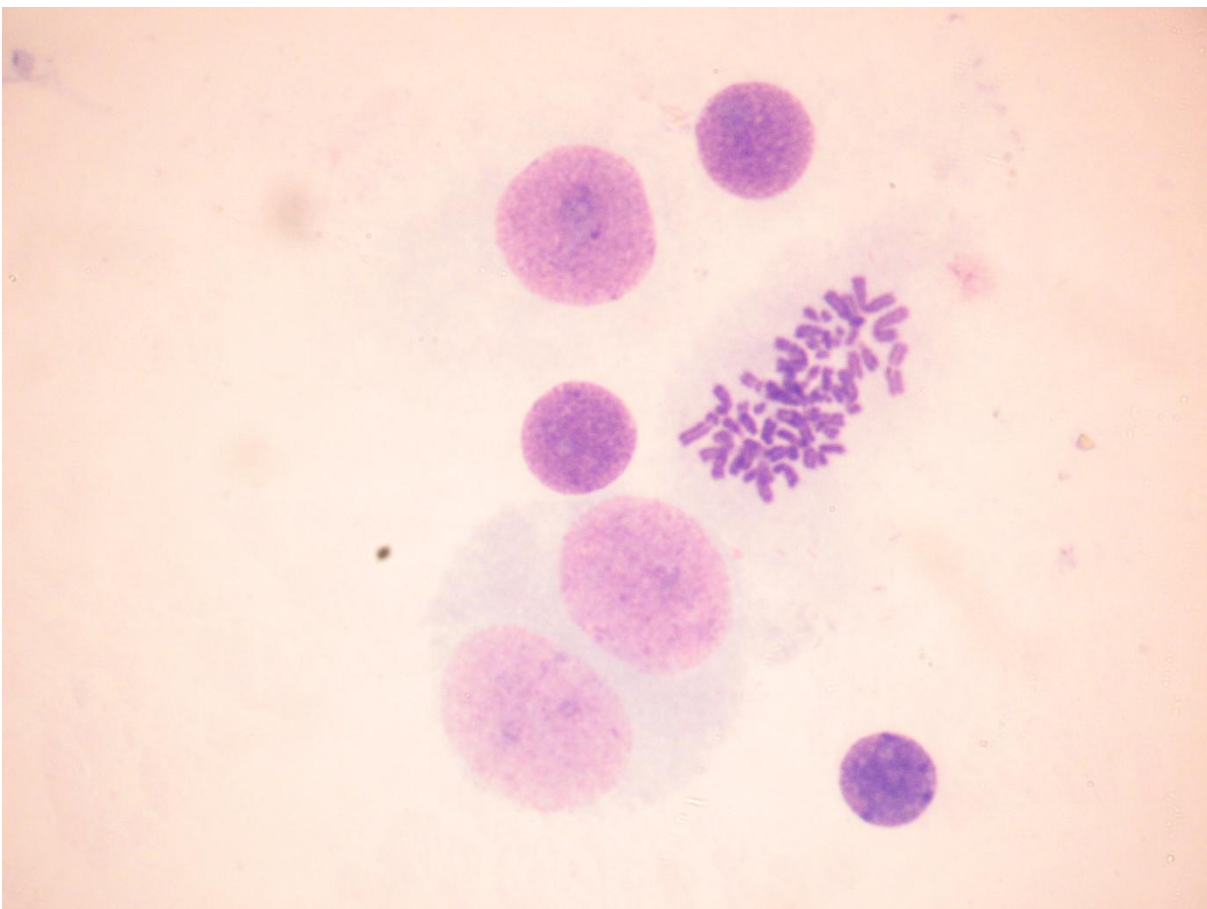
Rysunek 35. Dwie oddzielne komórki



Rysunek 36. Komórka 4-jądrzasta



Rysunek 37. Dwie komórki 2-jądrzaste i jedna komórka 4-jądrzasta



Rysunek 38. Komórka 2-jądrzasta w otoczeniu innych komórek

## Spis ilustracji

Rysunek 1. Rozpad $\alpha$	2
Rysunek 2. Rozpad $\beta$	3
Rysunek 3. Rozpad $\gamma$	4
Rysunek 4. Schemat blokowy przyrządu dozymetrycznego	6
Rysunek 5. Schemat możliwych losów napromienionej komórki	9
Rysunek 6. Rodzaje osłon dla promieniowania jonizującego	12
Rysunek 7. Zdjęcie dicentryka	15
Rysunek 8. Zdjęcie mikrojąder	16
Rysunek 9. Kolejne etapy powstawania mikrojąder	16
Rysunek 10. Chromosomy człowieka poddane metodzie FISH	17
Rysunek 11. Schemat wyjaśniający różnice między dicentrykiem a translokacją	17
Rysunek 12. Budowa chromosomu po PCC	18
Rysunek 13. Schemat wyjaśniający klasyfikację fragmentów acentrycznych	18
Rysunek 14. Kolejne fazy cyklu komórkowego	19
Rysunek 15. Chromosom	19
Rysunek 16. Stanowisko Cytogenetycznej Rekonstrukcji Dawek w CLOR	20
Rysunek 17. Kolejne etapy wyznaczania dawki metodą cytogenetycznej dozymetrii biologicznej	21
Rysunek 18. Schemat mikroskopu optycznego Nikon Eclipse	24
Rysunek 19. CABAS	26
Rysunek 20. Rzut na panel programu CABAS	27
Rysunek 21. Widok panelu CABAS	28
Rysunek 22. Widok panelu CABAS	29
Rysunek 23. Widok panelu CABAS	30
Rysunek 24. Widok panelu CABAS	31
Rysunek 26. Apoptoza	36
Rysunek 25. Dicentryk	36
Rysunek 28. Dicentryk	37
Rysunek 27. Mitoza	37
Rysunek 30. Późna mitoza	38
Rysunek 29. Pojedyncza komórka	38
Rysunek 31. Komórka dwujądrzasta	39
Rysunek 32. Dwie komórki dwujądrzaste	39
Rysunek 33. Dwie komórki dwujądrzaste i jedna pojedyncza komórka	40
Rysunek 34. Komórka dwujądrzasta z 1 mikrojądrem	40
Rysunek 35. Dwie oddzielne komórki	41
Rysunek 36. Komórka 4-jądrzasta	41
Rysunek 37. Dwie komórki 2-jądrzaste i jedna komórka 4-jądrzasta	42
Rysunek 38. Komórka 2-jądrzasta w otoczeniu innych komórek	42