جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء- كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

دراسة وظيفية ونسجية لتأثير الاشعة السينية X-Ray على الجهاز التناسلي الانثوي في الجرذان البيضاء

رسالة مقدمة

الى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة – علم الحيوان

الباحثة

بركات واثق رباط العوادي

دبلوم عالي فسلجه حيوانية – جامعة كربلاء 2009
بكالوريوس علوم حياة مايكروبايلوجي – جامعة بغداد 2003

بإشراف

أ . م . د. وفاق جبوري محمد البازي

1436 هـ

2015 م

بسم الله الرحمن الرحيم

وَيسَـــألونَكَ عَنِ ٱلرّوح قلْ الرّوحُ
مِن أَمرِ رَبِي و ما أُوتِيتُـــمِ
مِّن العِلمِ الا قَلِيـــلاً 85

صَدق اللّه العلي العَظيمْ

الاسراء: الآية 85

الإهداء

الى نبراس الهداية و معلم الناس الحكمة و حبيب الله وخير البرايا سيدي محمد (صلى الله عليه واله وسلم) و الذين تمكن حبهم من فؤادي ، واضاءت سيرتهم طريقي ائمة الهدى وسفينة النجاة عليهم السلام

الى ينبوع الحنان والصبر ، لقد ملات حياتي مودة وحباً ، ان رضت عني ، فقد رضي الله عني ، ادعو لها بطول العمر والصحة والعافية ، يا نور عيني . . . .**امي الحنونة**

لئن رحلت عني ، فذكراك تشد من ازري . . . زرعك قد اينع ، اهدي الى روحك في عليين ثمر ما زرعت ....**ابي العزيز**

والى كياني وجوهرة حياتي التي تحلو معهم .... بسمات أملي المشرقة .... **زوجي واولادي**

اخوتي واخواتي .... لقد عشنا معا ، الطفولة والشباب ... واهدي هذا النجاح لكم ، حبا واعتزازا......

كذلك اولئك الذين دعوا لي بصدق ومحبة وايثار ، اهديهم عملي المتواضع هذا...

بركات

شكر وتقدير

الحمد والشكر لله وحده، عدد كل DNA وصبغى ، وكل نواة ونوية ، وخلية وعضية ، وكل مادة كيميائية في اجسام خلقه منذ بدأ الخلق وحتى يوم القيامة ، على ما رزقني من نعمة وهداني لهذا وما كنا لنهتدي لولا ان هدانا الله .

وبعد.... فمن لا يشكر الناس لا يشكر الله....

اتوجه بفائق الشكر والتقدير والامتنان الى مشرفتي العزيزة الاستاذ المساعد الدكتورة وفاق جبوري محمد البازي ، لاقتراحها موضوع الرسالة، واشرافها، ومتابعتها العلمية ، ورعايتها الكريمة لي طيلة مدة الدراسة وتسهيل الصعاب ورسم الخطوات الصحيحة سائلة المولى القدير ان يجزيها عني خير الجزاء والثواب ان شاء الله .

كما يطيب لي ان اتقدم بوافر شكري وتقديري الى رئاسة جامعة كربلاء لأتاحتها الفرصة لاكمال دراستي وشكري وتقديري الى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء وقسم علوم الحياة رئاسة ومنتسبين واساتذة لجهودهم المبذولة في دعم الدراسات العليا ،ولاسيما اساتذتي الاعزاء الذين نهلت من علمهم وخبرتهم في دراستي للماجستير داعية المولى عز وجل ان يوفقهم ويحفظهم انه سميع مجيب ، واخص بالذكر الاستاذ المساعد الدكتور نجم عبد الحسين نجم عميد كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء ، والدكتور رافد عباس العيسى رئيس قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء ، والاستاذ الفاضل حسين علي عبد اللطيف، والدكتور نصير مرزة ، والدكتور محمد بهجت ناظم، واتقدم بخالص شكري الى اساتذتي في كلية الطب البيطري وخاصة الدكتور رائد الطائي، والدكتور حسين بشار ،واساتذتي في كلية العلوم الطبية التطبيقية، وخاصة الدكتورة سهاد ،ويسرني ان اشكر اساتذتي في كلية العلوم / جامعة كربلاء ،الدكتور نورس والدكتورة وفاء ، والدكتور شاكر في كلية العلوم / جامعة بابل ، وامتناني وشكري الى الدكتور مازن حامد الربيعي، والدكتور نزار من كلية الصيدلة .

وبكل امتنان اشكر كل من مد يد العون والمساعدة لانجاز هذا البحث، وشكري وتقديري لكل من اعانني بكلمة طيبة ، ودعاء صادق وليقبل اعتذاري كل من فاتني ذكر اسمه وليجازيه الله عني حق قدره .

بركات

إقرار المشرف على الرسالة

أشهد بان إعداد هذه الرسالة **(دراسة وظيفية ونسجية لتأثير الاشعة السينية على الجهاز التناسلي الانثوي في الجرذان البيضاء)** قد جرت تحت إشرافي في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء وهي جزءٌ من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة / الحيوان .

التوقيع:

الاسم **: د. وفاق جبوري محمد البازي**

المرتبة العلمية: استاذ مساعد

العنوان: كلية الطب البيطري / جامعة كربلاء

التاريخ : / / 2015

توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشارة إلى التوصية أعلاه من قبل الأستاذ المشرف ، أحيل هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها .

التوقيع:

الاسم : **د. زهير حميد عبود**

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

العنوان : كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

التاريخ : / / 2015

أقرار المقوم اللغوي

أشهد أنَّ هذه الرسالة الموسومة بـ (**دراسة وظيفية ونسجية لتأثير الاشعة السينية X-ray على الجهاز التناسلي الانثوي في الجرذان البيض**) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من اخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب والصحة في العبير.

التوقيع :-

الاسم :-

المرتبة العلمية:-

الكلية والجامعة :-

التاريخ :- / / 2015 .

إقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين أدناه ، نشهد باننا قد اطلعنا على رسالة الماجستير الموسومة **(دراسة وظيفية ونسيجية لتأثير الاشعة السينية على الجهاز التناسلي في اناث الجرذان البيضاء)** المقدمة من قبل الطالبة (**بركات واثق رباط العوادي**) كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير (**علوم الحياة / علم الحيوان**) وبعد اجراء المناقشة العلمية وجد انها مستوفية لمتطلبات الشهادة وعليه نوصي بقبول الرسالة بتقدير (امتياز) .

رئيس لجنة المناقشة

التوقيع :-
الاسم : **د. سامي رحيم الكاتب**
المرتبة العلمية : **استاذ**
مكان العمل : **جامعة الكوفة – كلية الطب**
التاريخ:- / / **2015**

عضو اللجنة

التوقيع :-
الاسم :- **د. خالصة كاظم خضير**
المرتبة العلمية : **استاذ**
مكان العمل: **جامعة بغداد - كلية الطب البيطري**
التاريخ: / / **2015**

عضو اللجنة

التوقيع :-
الاسم :- **حسين عبد اللطيف**
المرتبة العلمية : **استاذ**
مكان العمل : **جامعة كربلاء – كلية التربية للعلوم الصرفة**
التاريخ: / / **2015**

عضواً ومشرفاً

التوقيع :-
الاسم : **د. وفاق جبوري البازي**
المرتبة العلمية : **استاذ مساعد**
مكان العمل : **جامعة كربلاء – كلية الطب البيطري**
التاريخ:- / / **2015**

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

التوقيع :-
الاسم : **د. نجم عبد الحسين نجم**
المرتبة العلمية : **استاذ**
التاريخ:- / / **2015**

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية لمعرفة تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية X- Ray على الجهاز التناسلي الانثوي في اناث الجرذان البيض .

اجريت الدراسة الحالية في البيت الحيواني التابع لكلية التربية قسم علوم الحياة – جامعة كربلاء للفترة من 2015/1/5 لغاية 2015/6/25 ، تم استخدام اناث الجرذان البيض البالغة و عددها (24) انثى وقسمت عشوائياً الى ثلاث مجاميع (8 حيوانات/ مجموعة) وعوملت كالاتي: المجموعة الاولى G1 مجموعة السيطرة ، والمجموعة الثانية G2 عرضت للأشعة السينية بجرعة اشعاعية 80 Kv على بعد متر واحد يومياً لمدة شهر(تعريض الجسم كليا) ، اما للمجموعة الثالثة G3 تم تعريضها بنفس الجرعة لمدة شهرين متتالين ، ثم جمعت عينات الدم لغرض قياس المعايير الدموية (WBCs,RBCs,PLTs ,Hb) والكيموحيوية (VLDL-C , LDL-C , TG TC , GSH ,MDA , E2 ,Prog ,FSH ,LH) فضلا عن اخذ المقاطع النسجية للمبيض والرحم من المجاميع الثلاثة بعد انتهاء المدة المحددة للتجربة ، ودرست المعايير الفسلجية والكيموحيوية والنسجية واظهرت النتائج :-

لوحظ انخفاض معنوي($P < 0.05$) في اعداد كريات الدم الحمراء، وخلايا الدم البيض، والصفيحات الدموية ومعدل تركيز الهيموغلوبين في مصل دم الحيوانات المعرضة للاشعة السينية لمدة شهر واحد G2 والمجموعة المعرضة لمدة شهرين G3 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1، وانخفاض معنوي في اعداد (WBCs,RBCs,PLT) ومعدل تركيز الهيموغلوبين في G3 بالمقارنة مع G2 حصول ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في تركيز كل من VLDL-C , LDL-C , TG , TC في مصل دم الحيوانات المعرضة للأشعة السينية لمدة شهر واحد G2 والمجموعة المعرضة لمدة شهرين G3 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1. وارتفاع معنوي في تركيز(VLDL-C , LDL-C , TG TC) في G3 بالمقارنة مع G2 ، وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى تركيز HDL-C و مستوى تركيز البروتين الكلي في مصل دم الحيوانات المعرضة للاشعة السينية لمدة شهر واحد G2 والمجموعة المعرضة لمدة شهرين G3 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1. وانخفاض معنوي في تركيز (HDL-C , T- protein) في G3 بالمقارنة مع G2 ، وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى تركيز الكلوتاثايون المختزل GSH في مصل دم الحيوانات المعرضة للاشعة السينية لمدة شهر واحد G2 والمجموعة المعرضة لمدة شهرين G3 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1. وانخفاض معنوي في G3 بالمقارنة مع G2. كما يوجد ارتفاع معنوي (0.05>

P) في تركيز MDA في مصل دم الحيوانات المعرضة للاشعة السينية لمدة شهر واحد G2 والمجموعة المعرضة لمدة شهرين G3 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1، وارتفاع معنوي (P <0.05) في G3 بالمقارنة G2 ، في ما يخص هرمونات الجاهز التناسلي الانثوي العرض للاشعة السينية لمدة شهر (G2) وشهرين (G3) قد تسبب في حدوث انخفاض معنوي (0.05> P) في هرمون الاستروجين وانخفاض معنوي (P <0.05) في هرمون البرجستون وعدم وجود تغييرات في مستوى تركيز هرمون FSH , LH بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

اخذت نتائج الفحص النسجي لمبيض الجرذان البيضاء المعرضة للاشعة السينية لمدة شهرG2 ظهور احتقان دموي وخلايا التهابية inflammatory cells مقارنة بمجموعة السيطرة G1، بينما لوحظ في نسيج المبيض لجرذان المجموعة المعرضة للأشعة السينية لشهرين متتالينG3 وجود تغيرات نسجية واضحة وتحطيم الجريبات المبيضية Overian follicles وخلوها من الخلايا البيضية Oocytes وتفجي بالحويصلات المبيضية مع وجود كثافة دهنية وخلايا التهابية ، كما لوحظ وجود تنخرNecrosis بالنسيج وكثافة الخلايا الليفية Fibrosis والتي تعد من الاعراض المتأخرة للاصابة الاشعاعية .

في حين اظهرت نتائج الفحص النسجي لرحم الجرذان المعرضة للاشعة السينية لمدة شهر واحد G2 وجود تثخن في الطبقة الطلائية وتضخم في بعض خلاياها ووجود خلايا التهابية inflammatory cells مقارنة بمجموعة السيطرة G1 اما مجموعة الحيوانات المعرضة لمدة شهرين متتالين G3 فكان وجود تفجي واضح بالطبقة الطلائية لنسيج الرحم وتمزق بالغدد الرحمية وتنخر بمنطقة (النسيج الضام) للرحم مقارنة بمجموعة السيطرةG1.

اما نتائج التصبيغ الكيميائي النسجي المناعي Immunohistochemistry للكشف عن وجود خلايا ورمية في نسيج المبيض نتيجة التعرض المزمن للأشعة السينية المؤينة ، فقد اظهرت عدم وجود تغيرات معنوية في التعبير الجيني لمؤشر التكاثر السرطاني Proliferation marker Ki67 في الحيوانات المعرضة للأشعة السينية على فترتين مختلفتين .

نستنتج من الدراسة الحالية ان التعرض المزمن يومياً لمدة شهرين للاشعة السينية لها تأثير ضار على بعض المعايير الدمية والكيموحيوية ونسيج المبيض والرحم في اناث الجرذان البيض .

قائمة المحتويات

الموضوع	رقم الصفحة
الخلاصة	I
قائمة المحتويات	III
قائمة الجداول	VII
قائمة الصور	VIII
قائمة المختصرات	XI
1-الفصل الأول المقدمة	**3-1**
2 -الفصل الثاني استعراض المراجع	**25-4**
2-1: نبذة تاريخية	4
2.2: خصائص الاشعة السينية	5
2-3: استخداماتها	5
2-4: العوامل المتحكمة في اثار التعرض الاشعاعي للاشعة السينية المؤينة	5
2-5 : الية التأثير البايلوجي للاشعة السينية	8
2- 5-1: التأثير غير المباشر للاشعة السينية	8
2-5-1-1: انواع الجذور الحرة	9
2-5 -1-2: تاثيرات الجذور الحرة	9
2-5-2: التأثير المباشر للاشعة السينية	11
2-6: تأثير الاشعة السينية المؤينة على المستوى الجزيئي للخلية	12
2-6-1: تاثير الاشعاع المؤين على الحامض النووي DNA	13
2-6– 2: تأثير الاشعاع المؤين على البروتين والدهون	14
2- 7: الاثار البايلوجية للاشعة السينية المؤينة على مستوى الكائن الحي	16
2-7-1 :التأثيرات الجسمية	16
2-7-2 :تأثير الاشعة السينية المؤينة على الوراثة	19

8-2 : تأثير الاشعة السينية المؤينة على الجهاز التناسلي الانثويوالذكري	20
9-2: الكيمياء النسجية المناعية	23
10-2: المؤشرات السرطانية	25
3–الفصل الثالث المواد وطرائق العمل	**51-26**
1.3. المواد والأجهزة المستخدمة	26
1.1.3. الاجهزة والادوات المستخدمة	26
3 .1 .2 المواد الكيميائية المستخدمة	27
2-3 : الحيوانات المستخدمة في الدراسة	28
3.-3: تصميم التجربة	29
3- 4: جمع عينات الدم	29
3 – 5: الفحوصات المختبرية	30
3-5-1: فحص الدم بواسطة تحليل الدم الذاتي	30
3-5-2: الفحوصات الكيموحيوية	31
3-5-2-1: تقدير تركيز الكوليستيرول الكلي في مصل الدم	32
3-5-2-2: تقدير تركيز الكليسيريدات التلاثية في مصل الدم	33
3-5-2-3: تقدير تركيز الكوليستيرول في الشحوم البروتينية العالية الكثافة	34
3-5-2-4: تقدير تركيز الكوليستيرول في الشحوم البروتينية الواطئة الكثافة	36
3-5-2-5: تقدير تركيز الكوليستيرول في الشحوم البروتينية الواطئة الكثافة جدا	36
3-5-2-6: تقديرتركيزالبروتين الكلي	36
3-5-2-6: تقدير تركيز المالونداياالديهايد MDA في مصل الدم	37
3-5-2-7: تقدير تركيزالكلوتاثيون GSH	38
3-5-2-8: قياس تركيز هرمون الاستروجين	39
3-5-2 -9: قياس تركيز هرمون البروجسترون	14
3 -5-2-10: قياس تركيز هرمون المحفز للجريبات المبيضية	43

3-5-2-11: قياس تركيز هرمون المحفز للجسم الاصفر	45
3-6 جمع المقاطع النسجية	46
3-6-1: الانكاز والترويق	47
3-6-2: التشريب	47
3-6-3: الطمر	47
3-6-4: التقطيع	47
3-6-5: التصبيغ والتحميل	47
3- 6 -6: التصوير المجهري	48
3-7: التحليل الاحصائي	48
3-8: التصبيغ الكيميائي النسجي المناعي	48
3-8-1: Dewaxing and Rehydration	49
3-8-2: Retrieval Antigen:	49
3-8-3: buffer Washing	49
3-8-4: Treat the section with hydrogen peroxide :	49
3-8-5: Washing buffer	49
3-8-6: Incubation with Primary Ki67 antibody	50
3-8-7: Washing buffer	50
3-8-8: Incubation with Secondary antibody (biotinlated link)	50
3-8-9: Washing buffer	50
3-8-10: Conjugate –enzyme	50
3-8-11: Washing buffer	50
3-8-12: DAB-substrate and DABchromogen	50
3 - 8 - 13 Washing by Deionzed water	50
3 - 8 - 14 staining by Mayer's Hematoxylin	50

Dehydration and Clearing: 15- 8−3	51
Mounting slides:16- 8−3	51
4- الفصل الرابع النتائج والمناقشة	**82-52**
4-1: تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية المؤينة X-ray على بعض المعايير الدموية (RBC, Hb , WBC, PLT) في اناث الجرذ الابيض	52
4-2:تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية المؤينة X-ray على مستوى تركيز مرتسم الدهون (TG , TC , HDL, HDL, LDL, VLDL) والبروتين الكلي T-Protein في مصل اناث الجرذ الابيض	65
4-3 تأثير التعرض المزمن للاشعة السينية على مستوى تركيز الكلوتاثيون GSH والمالونالديهايد MDAفي مصل اناث الجرذ الابيض .	61
4-4 تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية في مستوى تركيز الهرمونات الانثوية (LH ,FSH, Progesterone , E2) في مصل اناث الجرذ الابيض	65
4-6 التغيرات النسجية	68
4-6-1 تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية على نسيج المبيض في الجرذان البيض	68
4-6-2 تأثير التعرض المزمن للاشعة السينية على نسيج الرحم في الجرذان البيضاء	73
4- 7 التغيرات الكيميائية النسجية المناعية لمؤشر السرطان Ki67 في نسيج المبايض .	80
الاستنتاجات	83
التوصيات	84
المصادر	116-85

قائمة الجداول

التسلسل	العنوان	الصفحة
3 – 1	الاجهزة والادوات المستخدمة حسب المنشأ والشركة	26
3 – 2	المواد الكيميائية حسب المنشأ والشركة	27
4 – 1	يبين تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية المؤينة X-Ray على بعض المعايير الدموية في اناث الجرذان البيضاء	52
4 – 2	يبين تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية المؤينة X-Ray على مستوى تركيز الشحوم البروتينية والبروتين الكلي في اناث الجرذان البيضاء	57
4 – 3	يبين تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية المؤينة X-Ray على مستوى تركيز GSH ,MDA في مصل اناث الجرذان البيضاء	62
4 – 4	يبين تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية المؤينة X-Ray على مستوى تركيز الهرمونات الأنثوية في مصل اناث الجرذان البيضاء	66

قائمة الصور

التسلسل	العنوان	الصفحة
4 – 1	**مقطع نسجي لنسيج المبيض لمجموعة حيوانات السيطرة**	69
4 – 2	**مقطع نسجي لنسيج المبيض لمجموعة الجرذان المعرضة للأشعة السينية بجرعة (Kv80) على بعد متر واحد يومياً ولمدة شهر واحد**	70
4 – 3	**مقطع نسجي لنسيج المبيض لمجموعة الجرذان المعرضة للأشعة السينية بجرعة (Kv80) على بعد متر واحد يومياً ولمدة شهرين واحد**	17
4 – 4	**مقطع نسجي لنسيج المبيض لمجموعة الجرذان المعرضة للأشعة السينية بجرعة (Kv80) على بعد متر واحد يومياً ولمدة شهر واحد**	27
4 – 5	**مقطع نسجي لنسيج الرحم لمجموعة السيطرة**	47
4 – 6	**مقطع نسجي لنسيج المبيض لمجموعة الجرذان المعرضة للأشعة السينية بجرعة (Kv80) على بعد متر واحد يومياً ولمدة شهر واحد**	75
4 - 7	**مقطع نسجي لنسيج المبيض لمجموعة الجرذان المعرضة للأشعة السينية بجرعة (Kv80) على بعد متر واحد يومياً ولمدة شهر واحد**	76
4 – 8	**مقطع نسجي لنسيج المبيض لمجموعة الجرذان المعرضة للأشعة السينية بجرعة (Kv80) على بعد متر واحد يومياً ولمدة شهرين**	77
4 – 9	**مقطع نسجي لنسيج المبيض لمجموعة الجرذان المعرضة للأشعة السينية بجرعة (Kv80) على بعد متر واحد يومياً ولمدة شهرين**	78
4 - 10	**مقطع نسجي يوضح تصبيغ الكيميائي النسجي المناعيIHC**	82

قائمة المختصرات

المختصر	المصطلحات
ROS	Reactive oxygen species
SOD	Superoxide dismutase
TC	Total cholesterol
TG	Triglyceride
SPSS	Statistical program For social sciences
FSH	Follicular stimulating hormone
LH	Luteinizing hormone
Hb	Hemoglobin
WBCs	White blood cells
RBCs	Red blood cells
H &E	Hematoxyline & Eosin
HDL	High density lipoprotein
LDL	Low density lipoprotein
VLDL	Very low density lipoprotein
WHO	World health organization
IHC	Immunohistochemistry
MDA	Malondialdehyde
ICRP	International commission on radiological protection
UNSCER	United nations scientific committee on the effect of

Radiation	
National Nursing Assistant Survey	**NNAS**
Thiobarbituric Acid	**TBA**
Deoxy Ribonucleic acid	**DNA**
Ethylenediaminetetraacetic acid	**EDTA**
Glutathione	**GSH**
Glutathione Peroxides	**GSH-Px**
United Nation Environmental Programme	**UNEP**
Hydrogen peroxide	**H_2O_2**
Complete Random Design	**C.R.D**
Lipidperoxidation	**LPO**
Hydroxel	**OH**
Ribonucleic acid	**RNA**
Least Significant Deference	**L.S.D**

المقدمة

تتعرض الكرة الارضية وكائناتها الحية الى عدد من العوامل الفيزيائية كيميائية او بايلوجية ، والتي قد تمر بشكل عابر بدون اي تأثير او ربما يكون لها تأثير مؤقت يزول بعد مدة قصيرة او يستمر لمدة طويلة من الزمن واحيانا يبقى التأثير بصورة دائميه . يتعرض الانسان خلال فترة حياته وبشكل مستمر الى انواع من الاشعاعات المؤينة وبمستويات مختلفة والتي تدخل البيئة من مصدرين اساسيين هما: المصدر الطبيعي كالأشعة الكونية cosmic radiation واشعة كاما ، وجسيمات الفا وبيتا والنيترونات والمصدر الصناعي: الذي يتضمن المواد ذات النشاط الاشعاعي Radioactivity ، واجهزة انتاج الاشعة السينية x-ray التي تستخدم لتشخيص الامراض او لمعالجة الاورام السرطانية **(الطويل ،1994) .**

وقد اشارت جمعية الامم المتحدة للبيئة في احد برامجها United Nation Environmental Programme ان التقدم العلمي في مجال الابحاث النووية منذ ان بدأ اكتشاف الاشعاع، وحتى الان الدول الكبرى تتنافس على امتلاك وتطوير القدرات النووية لاستخدامها في الاغراض السلمية والعسكرية ادى في النهاية الى تلوث البيئة بأحد اخطر انواع التلوث الذي عرفه الانسان وهو التلوث الاشعاعي والذي تكمن خطورته في تسلله الى جسم الكائن الحي دون مقاومة او دون ما يدل على تواجدها و يترك اثراً في بادئ الامر **(UNEP, 2007)**.

لقد ازداد التلوث الاشعاعي عندما استعملت الطاقة النووية للأغراض العسكرية ومن اشهر الحوادث النووية هو ما قامت به الولايات المتحدة بألقاء قنبلتين ذريتين على هيروشيما وناكزاكي عام 1945 واستعمال اليورانيوم المنضب خلال عدوانها على العراق عام 1991 مما ادى الى حدوث تلوثا اشعاعيا خطيرا في المنطقة **(العمر ، 2000)** .

لقد وجدت الاشعة المؤينة Ionizing Radiation منذ تكون الكرة الارضية الا ان الانسان لم يدرك اهميتها الا بعد اكتشاف الاشعة السينية X-ray نهاية القرن التاسع عشر ومحاولة استعمالها في شتى المجالات وخاصة المجالات الطبية ، وبعد دراسة طيف هذه الاشعة تبين ان لها طول موجي قصير وطاقة عالية تمكنها من اختراق مختلف المواد وتسبب تهيجها او تأينها **(شريف، 2005)**. ولهذا استخدمت في تشخيص العظام والكسور **(Gusev .*et al* ;2001)** . وهكذا بدأت تشق طريقها في مجال التطبيقات الطبية واصبح استعمالها من الاعمال الطبية المألوفة للمساعدة في تشخيص الحالات المرضية التي لا يمكن

رؤيتها بالعين او التعرف عليها بالوسائل الاخرى فقد ساعد التنظير الاشعاعي Fluoroscopy والتصوير الاشعاعي Radiography التعرف على الاعضاء الداخلية للانسان واصبح من الممكن رؤيتها شكلا وحجما **(انجق،2010)**.لكن الاستعمال الخاطئ والمفرط للإشعاع المؤين ادى الى تلوث البيئة وكائناتها مسببا اضراراً بايلوجية خطيرة **(Greenstock,1994)** ، فهي طاقة تعمل على تأين وتهيج الوسط الذي تمر من خلاله وتؤدي الى ازالة الالكترونات من مدارها مؤديا الى تحولها الى ذرات او جزيئات غير مستقرة فعند سقوط الاشعة السينية على الجسم الحي ، تخترق انسجته المختلفة بصورة متفاوتة مفرغة طاقتها في الخلايا الحية والتي تتكون من جزيئات الدهون والبروتينات والاحماض النووية مؤدية الى اكسدتها وبالتالي حدوث تلف كامل للخلايا خاصة اذا كان التعرض كبيرا للإشعاع المؤين. **(احمد، 2010).**

يؤدي التعرض للإشعاع المؤين بجرعات عالية اعراض سريرية واضحة لدى الاشخاص المعرضين بعد وقت قصير مثل الغثيان واحمرار الجلد وتساقط الشعر وهي تأثيرات جسدية مبكرة تظهر بصورة حتمية اذا تجاوزت الجرعة الاشعاعية المستوى العتبي **(Hendry *et al* ; 2006)**، او بشكل اثار جسدية متأخرة كالأورام السرطانية تظهر بعد فترة سكون طويلة اما اذا كانت الخلايا التي اتلفها الاشعاع جرثومية وظيفتها نقل الشفرات الوراثية فتظهر اثار وراثية متنوعة تنتقل عبر الاجيال **(Bentzen, 2006)** .

ان تعرض الاعضاء التناسلية لامرأة في سن الاربعين الى الاشعة السينية المؤينة يؤدي الى حدوث تغيرات فسلجية ونسجية تؤثر على وظائفها الحيوية حيث ان علامات سن الياس مع توقف دائمي للإنجاب قد يحصل جراء امتصاص جرعة اشعاعية مقدارها (Gy2) ، بينما تؤدي هذه الجرعة الى توقف مؤقت للطمث لامرأة في سن العشرين **(Wallace *et al*; 2005)**

ذكرت لجنة الامم المتحدة العلمية المعنية بآثار الاشعاع الذري United Nation Scientific Committee on Effect of Radiation ان استخدام الاشعة السينية في الحالات الطبية يساهم بأكثر من 95% من التعرضات الاشعاعية الناتجة من صنع الانسان **(UNSCEAR ,2000)**. كما اشارت الوكالة الدولية للوقاية من الاشعاع International Commission on Radiological Protection الى ان الحصة السنوية للفرد من الجرعة الفعالة بسبب التعرض الطبي للمرضى قد زادت بنسبة 35% والجرعة الجماعية قد زادت بنسبة 50% في حين ان نسبة الزيادة السكانية العالمية قد بلغت 10% فقط . و وجود حوالي 2000 مليون اجراء تشخيصي بالأشعة السينية و 32 مليون اجراء تشخيصي بالطب النووي

واكثر من 6 ملايين مريض يخضعون للعلاج الاشعاعي سنويا . ومن المتوقع ارتفاع هذه النسبة خلال السنوات القادمة **(ICRP ,2000 d,ICRP,2000 C)** .

ان تطور التطبيقات العلمية للأشعة السينية وانتشار استخدامها في المستشفيات والمراكز العلمية وخاصة في التطبيقات الطبية المستخدمة في التشخيص والعلاج الاشعاعي والتعقيم كان لابد من معرفة مخاطر الاشعة السينية على جسم الانسان والتأثيرات السلبية للاستخدام الخاطئ لأجهزة الاشعة السينية X-ray في مختبرات التصوير الاشعاعي فكان لابد من الوقوف عند هذه المخاطر التي تهدد سلامة العاملين داخل المستشفيات والمختبرات والمرضى والمراجعين; لذا هدفت الدراسة الحالية لمعرفة تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية وبجرعة اشعاعية مقدارها (80 Kv) على اناث الجرذان البيض وتتضمن :-

1- بعض المعايير الفسلجية الدمية (WBCs, RBCs, Hbs, PLTs) والمعايير الكيموحيوية (TC, TG, HDL-C, LDL-C, VLDL-C, T- protein) والهرمونات الانثوية (الاستروجين ،البروجسترون ، الهرمون المحفز للجريبات المبيضية ، وهرمون اللوتيني) ومضادات الاكسدة مثل الكلوتاثيون GSH والمؤكسدات مثل المالونالديهايد MDA .

2- دراسة تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية X- ray على المبايض والرحم من الناحية النسيجية

3- دراسة كيميائية نسيجية مناعية لمعرفة تأثير التعرض المزمن على المؤشر السرطاني Tumer marker (Ki 67) في نسيج المبيض.

1-2 : نبذة تاريخية :

إن اكتشاف الاشعة السينية X – ray احدى الصدف المهمة في التاريخ العلمي التي يسخرها الخالق عز وجل لعباده ليكتشفوا ابعاداً جديدة في دائرة معرفتهم بسنن الله في كونه الكبير وتتسع تجربتهم البشرية علما وادراكا . في أواخر العقد الأخير من القرن التاسع عشر عام 1895 تبشر العالم باكتشاف الاشعة السينية على يد العالم الالماني الفيزيائي وليام رونتجن ، وقد كان هذا العالم الفيزيائي منهمكا بدراسة ما يطلق عليه اسم الاشعة الكاثودية (أشعة المهبط) وهي : عبارة عن انتقال الالكترونات من قطب كهربائي سالب (الكاثود) الى قطب كهربائي موجب (الانود) تحت تأثير جهد كهربائي عالي ويتم ذلك داخل انبوب زجاجي مفرغ من الهواء وأثناء قيام رونتجن بتجاربه تعمد على جعل غرفة المختبر مظلمة وغطى الانبوبة بورق سميك اسود اللون وذلك منعا لتسرب الضوء الاعتيادي من خلالها ، وفي هذه الاثناء وجد بأنه عند امرار تيار كهربائي في انبوبة المهبط قد حصل لديه توهج أو تألق على حاجز يبعد عدة أقدام من أنبوبة المهبط مطلي بمادة سيانيد الباريوم البلاتيني كان موضوعاً بالصدفة بالقرب من الانبوبة ، وبإيقاف وتشغيل جهازه تأكد ان ظاهرة التألق التي شاهدها مرتبطة بأنبوبة المهبط (ان الضوء او التألق الناتج كان بسبب تأين لجزيئات الهواء المتبقية بواسطة الالكترونات السريعة) . درس هذا التألق وتوصل الى أنه لا يعود الى الالكترونات المنبعثة من الكاثود لأنها لا تخترق زجاج الانبوب وليس من الضوء الناتج من عملية التفريغ لأن الانبوبة مغلقة بقطعة سميكة من الورق الاسود لذلك استنتج ان هذه الاشعة غير معروفة تولدت نتيجة لتسليط جهد كهربائي عالي بين الكاثود والانود لها القابلية على اختراق الزجاج وفلورة بعض المواد وأشد قوة من أشعة المهبط . **(yarmonenk,1988) .** استمر هذا الباحث مستعملا مواد اخرى مختلفة السمك كالورق ، كتاب ، قطعة من الخشب ومواد اخرى تمنع مرور الضوء خلالها (وكلها معتمة للضوء) واضعا اياها ما بين انبوبة المهبط والحاجز فلوحظ ان شدة التفلور تختلف باختلاف نوع المادة وكانت دهشته كبيرة عندما شاهد عظام يده التي وقعت مصادفة بين انبوبة أشعة المهبط وشاشة التفلور فظهرت صورة لعظام يده على الشاشة وبالاستعانة على لوح فوتوغرافي استطاع رونتجن اخذ اول صورة بالأشعة السينية أظهرت تركيب عظام يد زوجته اليسرى وخيال خاتمها الكبير **(الاحمد ،1994)** .وأطلق عليها اسم الاشعة السينية X – ray او الاشعة السينية ويعود السبب في هذه التسمية لجهله خصائص تلك الاشعة حينها وكما معروف في لغة الرياضيات حيث يرمز للحرف (X) للمجهول . ولم تعرف خصائص هذه الاشعة الا بعد ستة عشر عاما من اكتشافها لكن بقي اسمها بالأشعة السينية اي الاشعة المجهولة تقديرا لمكتشفها العالم الفيزيائي وليام رونتجن . **(Alpen, 1990)**

2-2 خصائص الأشعة السينية :

هــي: عـبارة عن أشعة كهرومغناطيسية ، كالضوء والموجات الراديوية وأشعة گاما ، لا تمتلك كتلة ولا شحنة ذات طــاقة عالية وطول موجي قصــير يتراوح بــين (0.01 – 10) نانــو ميتر طاقتها العالية تمكنها من اختراق مختلف المواد وتسبب تهيجها او تأينها ، وتنتشر بخطوط مستقيمة وبسرعة 300 الف كم/ثا وتخضع لقانون التربيع العكسي square law أي كلما زادت المسافة بين مصدر الاشعة والحاجز قلت شدة تلك الاشعــة ، والاشعــة السينية تتــناسب عكسيا مع مربع المسافة . **(شريف ،2005)**

2-3 : استخداماتها:

إن مجالات استخدام الاشعة السينية وتطبيقاتها عديدة جدا يصعب حصرها غير انه وبشكل موجز يمكن تناول اهم هذه الاستخدامات . ففي المجال الطبي تستخدم هذه الاشعة في تشخيص جسم الانسان ومعرفة حالته الصحية وتشخيص الامراض كما تستخدم في المعالجة الطبية ولاسيما في علاج الاورام الخبيثة حيث تعمل الاشعة السينية على قتل الخلايا السرطانية . كما تستخدم في طب الاسنان للبحث عن خفايا او كسور في عظام السن ، كما تستخدم في تعقيم الادوات الطبية مثل الحقن والكفوف واجهزة نقل الدم ووحدات تنظيف الدم ،أما بالنسبة للتطبيقات الصناعية فتستخدم هذه الاشعة في الكشف عن التصدعات في الجسور والتآكل والاحتكاك في الآلات والسطوح المعدنية ، وكما تستخدم هذه الاشعة في فحص المواد الغذائية وحفظها وكذلك الكشف عن المجوهرات والاحجار الكريمة والآثار القديمة **(UNCEAR,2000)**.

إن للأشعة السينية تطبيقات علمية عديدة أهمها دراســة الوظائف الخلوية وتفاعــل الانزيمات والمــواد الناشئة من عمليات الأيض ، دراســة كيمياء التربة وخصوبتها وكــذلك فحص الصخور ومكوناتها وفي الدراسات الجيولوجية المختلفة كما تستخدم ايضا في دراسة التأثيرات البيولوجية الناتجة عنها واخيرا لهذه الاشعة استخدامات مهمة في مجال الامن والحماية لفحص الحقائب والطرود البريدية وكذلك استخدامها في شبــكات الحمــاية وحراسة المنشئات الحيوية . **(الكناني ، 2008)**

2-4 : العوامل المتحكمة في آثار التعرض الاشعاعي للأشعة السينية المؤينة :-

في حالة التعرض الخارجي للأشعة السينية المؤينة فإن مدى تأثيرها على جسم الكائن الحي وظهور التأثيرات البايولوجية وشدتها تتوقف على مجموعة من العوامل **(ICRP , 2001 ; 2007 ، احمد والسريع)** و منها :-

1- **معدل الجرعة Dose rate** :- تزداد التأثيرات البايولوجية بزيادة معدل الجرعة الاشعاعية .
2- **طاقة الاشعة Radiation energy** :- يزداد التأثير البايولوجي بزيادة الطاقة الاشعاعية اي كلما زادت كمية الاشعاع الممتص من قبل النسيج زاد تأثيره البايولوجي .
3- **الزمن Time** :- كلما زادت مدة التعرض الاشعاعي زاد التأثير البايولوجي .
4- **المسافة Distance** :- كلما قلت المسافة او قصرت المسافة بين المصدر الاشعاعي والشخص المعرض لها ازدادت نسبة الضرر .
5- **الحاجز Shield** :- كلما زاد سمك الحاجز الواقي ما بين المصدر الاشعاعي والشخص المتعرض للإشعاع قل التأثير البايولوجي للإشعاع المؤين .
6- **حساسية النسيج Tissue Sensitivity** :- النسيج الذي يحتوي على خلايا سريعة الانقسام يكون اكثر تأثيراً بالإشعاع Radio sensitive من النسيج الذي يحتوي على خلايا بطيئة الانقسام وتتناسب حساسية الانسجة والخلايا للإشعاع المؤين طرديا مع النشاط التكاثري لها وعكسيا مع التخصص الخلوي **(الهيتي ، 2007)**

كما ان تأثير الاشعاع في الجسم يتغير بدرجة ملحوظة مع التغيرات الحاصلة في الجرعة المعطاة للأعضاء المختلفة كبعد العضو او قربه من المصدر وشكل العضو وموضعه ومن الاعضاء التي تتأثر بالإشعاع المؤين ومنها الاشعة السينية والتي باستمرار تعرضها ممكن ان تصاب بالسرطان هي الطحال ، الغدد اللمفاوية ، القصبات الهوائية **(Guney *et al*;2006)**، الجلد (حروق وتقرحات في الحالات الشديدة) ، الاعضاء التناسلية (مما يؤدي الى عقم مؤقت) **(Burdorf *et al*; 2006)** ، المادة الوراثية (وهي التي تؤدي الى حدوث الطفرات والمشاكل في الكروموسومات) و البطانة الطلائية للجهاز الهضمي، لكن اعضاء الجسم ليست متساوية بحساسيتها بالنسبة للإشعاع المؤين واكثرها حساسية هي الاعضاء المكونة للدم والجهاز الهضمي والجلد والغدد التناسلية .**(Hall, 2008)**.

هنالك عدة أعضاء حساسة للإشعاع بنوع خاص مثل الأعضاء التناسلية (وما ينجم عن ذلك من عقم مؤقت او دائم عن طريق فقد البيض والحيامن) وقد بينت دراسات متعددة اجريت على الأعضاء التناسلية للفئران اذ لوحظ أن عند تعريض خصى الفئران الى اشعة گاما وبجرعة (Gy5) فان ذلك يؤدي الى تأخير تكوين الخلايا الجرثومية الذكرية وعند إعطاء عقار الـ Phosphoramidmustrad لمدة (15-30) دقيقة من التشعيع ، فانه يؤخر اختفاء الخلايا الجرثومية الذكرية ويسارع في توليد الطبقة الطلائية المنوية **(Saharan and Devi, 1977)** .

كما وجد ان الخلايا الجذعية النطفية (Spermatogonia) تكون اكثر حساسية للإشعاع عندما تكون في المرحلة الطلائية عند تشعيعها بجرعة (Gy 1.5-0.75) من أشعة الانشطار الذري **(Van Beek, *et al*; 1986)** وعند تشعيع خلايا المبيض للهامستر الصيني (Chinese Hamster Ovary-CHO) فان ذلك يؤدي الى زيادة التغيرات الكروموسومية في مرحلة المدة البينية الأولى G1 (Gap1) في الخلايا البنوية الناتجة منها، وكذلك تزداد التغيرات الكروموسومية التركيبية Chromosomal Structural Changes في المراحل المتأخرة من مرحلة G1 عند تشعيعها **(Pantelias, 1986).**

من الأنسجة الحساسة للإشعاع الانسجة الضامة وخاصة العظم**(NCRP,2009)**، الرئة والعين والجهاز المناعي (**Hall ,2006 ;Hill , 2005; Yarmonenko, 1988**) ، اذ ان الجهاز المناعي يحمي الحيوان و الإنسان من الكائنات الممرضة والمواد الغريبة والخلايا الورمية، فيسبب الاشعاع المؤين في أضعاف وظيفة الجهاز المناعي وهذا آمر أكدته جيداً الدراسات التي اجريت على الحيوانات وكذلك من خلال الأعراض السريرية في مجال المعالجة الإشعاعية في الإنسان اذ تتأثر كافة عناصر الجهاز المناعي تقريباً بالإشعاع ولكن ليس بشكل متساو وحسب الجرع فمع الجرع الإشعاعية العالية تضعف كل عناصر الجهاز المناعي الآمر الذي ينجم عنه حدوث تسمم في الدم(Speticemia) **(Agrawal *et al*.,2000) (UNSCEAR, 2006)** وعند الجرع الإشعاعية الواطئة تظهر الفروق في الحساسية الإشعاعية لدى السلالات الخلوية وفروعها في الجهاز المناعي . **(Muiswinkel and Kalina, 1982 ; Muiswinkel *et al.*, 1975).** ليس الجلد منيعاً حيال الاشعاع وقد يتعرض له بشدة دون ان تتعرض له بقية اجزاء الجسم الأخرى ولاسيما في حالة الاشعاع المقتصر على أحد الأطراف اذ وجد انه عند تسليط جرعة (Gy3) خلال وقت قصير يكون رد فعل الجلد أصابته بمرض الحمامي العقدية، وعندما يكون التشعيع بجرع تتراوح بين (Gy 20-12) لأماكن محددة من الجسم فيظهر التهاب الجلد النضحي الحاد acute Dermatitis ، وكثيراً ما يؤدي ذلك الى التهاب الجلد المزمن الذي قد يتفاقم الى التقرح والنخر للخلايا والضمور وتخدش الجلد واطالة مدة الالتئام **(WHO, 1984b)** .

وقد تظهر التغيرات الدائمية للجلد والمتمثلة بسرطان الجلد والذي يشمل كل من الورم الملاني (Melanoma) والورم غير الملاني (Non-Melanocytic Melanoma) ، وكما وجد ان سرطان الشفة اكثر انتشاراً في المجاميع السكانية ذات العرق الأسود المتعرضة للإشعاع مقارنة بالمجاميع السكانية ذات الجنس الأبيض **(WHO, 1994)** .

وتختلف خلايا انسجة واعضاء جسم الكائن الحي في درجة استجابتها او حساسيتها للإشعاعات المؤينة وخصوصا الخلايا التي تنقسم بشكل منتظم مثل خلايا النخاع العظمي ، بينما تكون الخلايا التخصيصية اكثر مقاومة للاذى الاشعاعي **(Fliedner *et al* ; 2002)** .

ان الحساسية الاشعاعية للخلايا تتناسب طرديا مع القدرة على الانقسام وعكسيا مع التخصص الوظيفي functional differentiation للخلية **(ICRP , 2011)** اما اعضاء الجسم فتتفاوت في مدى تأثيرها للإشعاع المؤين فعند تعرض عضو محدد من الجسم الى جرعة اشعاعية فإن الضرر يكون اقل مما يتعرض اليه الجسم بأكمله **(Rodemann and Blaese , 2007)** .

7- **العمر والجنس** :- بينت الدراسات ان الحساسية العالية للإشعاع تظهر خلال فترة تطور الأجنة كذلك ان الاطفال وصغار السن يظهرون حساسية للإشعاع المؤين أكثر ممن هم أكبر سنا ، وان خطر الاشعاع المؤين يكون تأثيره أكبر عند النساء في مراحل عمرية مبكرة ومعرضات أكثر للإصابة بسرطان الثدي والغدة الدرقية واللوكيميا الحادة من الرجال.

(Land , 2003 ; Preston , 2002 ; Ron , 1995 ;Preston , 1994)

2-5 آلية التأثير البيولوجي للأشعة السينية المؤينة :-

ان الفرق الاساسي بين الاشعاعات المؤينة والاشعاعات الاخرى غير المؤينة الراديوية والضوء والحرارة ، هو ان الاشعاع المؤين له القدرة على احداث التأين او التهيج لذرات او جزيئات المادة المارة من خلالها**(UNSCEAR,2000a)**. تظهر التأثيرات البايولوجية الناتجة من تعرض الكائن الحي للأشعة المؤينة نتيجة لامتصاص الخلايا الحية للطاقة من هذه الاشعاعات المؤينة مسببة تغييرات فيزيائية وكيمياوية داخل الخلية الحية وهذه التغيرات ممكن ان تحدث بشكل مباشر او غير مباشر (**العارف ، 2001 ; Bushberg *et al* ; 2001**).

2-5-1: التأثير غير المباشر للأشعة السينية المؤينة :-

عند تشعيع النسيج الحي بالأشعة السينية ، فإن طاقتها تتفاعل مع سوائل الجسم وخاصة الماء الذي يكون حوالي 80% من وزن الجسم الحي . فتحدث تغيرات فيزيائية مباشرة متمثلة (بالمرحلة الفيزيائية) وهي عملية انتقال طاقة الاشعاع المؤين الى جزيئات الماء تسبب تهيجها وتأينها ، بعد ذلك تحدث تغيرات كيمياوية في مكونات الخلية والنسيج ، مما يؤدي الى تكوين الجذور الحرة Free Radicals مثل $[O_2^{\bullet}, H^{\bullet}, OH^{\bullet}]$ وهي عبارة عن مجموعة من الذرات او الجزيئات عالية النشاط الكيميائي وذات قدرة تفاعلية كبيرة بسبب مداراتها الالكترونية الخارجية المفردة (Unpaired) **(Rajapakse *et al* ; 2007 ; Ozturk *et al*; 2003)** التي تكون اكاسيد

الهيدروجين السامة مثل [HO_2 , H_2O_2] حيث تتحد هذه الاكاسيد مع مكونات الخلية مسببة تلفها وخاصة محتويات النواة .(**Valko *et al* , 2007 ; Flora 2007 ;Kamat *et al* , 2000**) .

ان طاقه الاشعاع العالية تسبب تكسر الروابط الهيدروجينية لجزيئه الماء فتتحلل الى ذره الهيدروجين وجزيئة هيدروكسايل OH وبالرغم من كون هذين المركبين قابلين للاتحاد مره اخرى لتكوين جزيئه الماء الا انها قادره ايضا على تكوين مركبات اخرى تختلف عن طبيعه الماء ، فجزيئات الهيدروكسيل تتفاعل مع بعضها لتكون بيروكسيد الهيدروجين H2O2 وهو مركب خطير يتميز بانه اقل استقرارا من الماء وله قدره كبيره للتفاعل مع عناصر عديده متوفرة في الخلية مثل الكلور والحديد والنحاس وغيرها. **(Galano *et al*; 2011; Reiter *et al*; 2010)**

2-5-1-1 : أنواع الجذور الحرة Types of Free radicals :

في الانظمة البايولوجية يوجد نوعان من الجذور الحرة انواع الاوكسجين الفعالة (reactive oxygen species) مثل جذر السوبر اوكسايد السالب Superoxyide anion radical ($O_2^{\cdot -}$) وجذر الهيدروكسيل($OH^{\cdot}$)hydroxyl radical وجذر الوكسيل Alloxyl ($Ro^{\cdot}$) .وجذر البيروكسل peroxyl (ROO) وجذر الهيدروبيروكسيل hydroperoxyl (HOO) وبيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 Hydrogen Peroxyide ، HOCl hypochlorous acid وانواع النتروجين الفعاله (reactive nitrogen species(RNS (RON) مثل ($ONOO^-$) Peroxynitrite anion وجذر النيترك اوكسايد (NO) nitric oxide وجذر نيتروجين دايوكسايد (NO2) nitrogen dioxide **. (Murray *et al* ; 2003)**

2-5-1-2 :تأثير الجذور الحرة Effect of free radical :

إن الجذور الحرة هي: جزيئات فعالة جدا ولها القدرة على اكسدة الجزيئات الحياتية التي تتضمن البروتين والدهون والاحماض النووية والكربوهيدرات والخطر الرئيس الناتج من الجذور الحرة عامة يكمن في قدرتها على تحطيم أهم مكونات الخلية وهو الحامض النووي DNA او غشاء الخلية مما تسبب تدميرها وعدم قدرتها على القيام بوظائفها بالشكل المطلوب (**Alonzo *et al* ; 2008 ; Ding and Guo , 2007**) إن نشاط حركة وانتقال الإلكترونات يعد من الأمور الأساسية في صناعة الطاقة وفي التفاعلات الحيوية الأخرى في الجسم، لكن إذا تمت هذه السلسلة من التفاعلات بطريقة عشوائية وغير مسيطر عليها فإنها تتسبب في تمزيق الأغشية البلازمية للخلايا وتغيير وظائفها، كما قد تؤدي إلى طفرات جينية وربما

إلى موت الخـلايا، وإتلاف الأغشية الحيوية الأخرى كأغشية المايتوكوندريا وتؤثر على الدهون غير المشبعة في الدهون الفوسفاتية وتؤدي إلى تصلب الأغشية ونقص نشاط الارتباط الإنزيمي بها كنقص نشاط مضخات الصوديوم Sodium pumps.(**Denicola and Radi, 2005) .** كما تؤثر الجذور الحرة على نشاط المستقبلات الغشائية وعلى نفاذية الأغشية أو ربما تؤدي إلى السرطان من خلال تدميرها DNA أو إلى أمراض أخرى كأمراض القلب والتهاب المفاصل. ويعزي كثير مـــن العلماء الشيخوخة وأمراض ضمور الخلايا إلى نشاط الجذور الحـر.
(Valko *et al* ., 2006; Cheng, *et al*., 2002)

ان تولد الجذور الحرة يلعب دوراً مهماً في العديد من الامراض مثل الامراض السرطانية ونقـص التروية الدموية ischemia ، وفقدان الفعالية البايولوجية في العـديد مـن مناطق الجسم عن طريق الجذور الحرة و استهلاك تدريجي ونقص لفعالية النسيج الوعائي. **(Robert *et al* , 2000)** .

من الجذور المهمة التي اظهرت تأثيرا ضارا في الصحة والفعاليات البايولوجية هي الاوكسجين المفرد Singlet oxygen وجذر سوبر اوكسيد السالب Super oxide anion وجذر الهيدروكسيل hydroxyl radical وبيروكسيد الهيدروجين واظهرت دراسة حديثة ان جزيئة الاوكسجين المفرد Singlet oxygen تمتلك تأثيرا في العديد من العمليات الفيزياوية والكيمياوية والبايولوجية في الجسم وفي العديد من الحالات المرضية **(Nappi and Vass, 1998)**، اذ وجد ان لجزيئة الاوكسجين المفرد القدرة على التفاعل مع الجزيئات الاخرى عن طريق الارتباط معها او نقل الطاقة المتهيجة إلى تلك الجزيئات ثم الحاق الاذى بها **(Schafer and Buettner ,1999)**، والتداخل مع الحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA Deoxyribonucleic acid مؤديا إلى تفكيكه كما يهاجم الاحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة Poly unsaturated fatty acid (PUFA) في الاغشية البايولوجية ثم تحطيم هذه الجزيئات بعملية بيروكسدة الدهن Lipid peroxidation **(Marnett, 1999)**. اما جذر الهيدروكسيل يمتلك فعالية مؤكسدة قوية جدا في احداث الاذى التاكسدي **(Surmen-Gur, et al., 2003)**، ويتكون هذا الجذر نتيجة لتعرض جزيئات الماء للاشعة الايونية مثل الاشعة السينية X- ray، ولهذا السبب تموت الخلايا عند تعرضها المستمر للاشعاع **(Ray, *et al*; 2000 ; Nappi and Vass, 1998)** .

اذ اشارت دراسة حديثة إلى قدرة جذر الهيدروكسيل للتفاعل مع الجزيئات البايولوجية مثل الدهون والبروتينات والاحماض النووية واكسدتها واحداث الطفرات الوراثية وظهور الاورام السرطانية **(Benhar, *et al*; 2002)**. اما لبيروكسيد الهيدروجين القدرة على تحطيم الجزيئات الحيوية في الخلية ، وتكمن خطورة بيروكسيد الهيدروجين في سرعة انتشاره عبر الاغشية البايولوجية بسهولة واحداث الضرر **(Cavalieri and Rogan, 1990)**.

ان التعرض للأشعة السينية X-ray بشكل مباشر او غير مباشر يحث على الاجهاد التاكسدي وتوليد الجذور الحرة وإحداث الضرر للحامض النووي الرايبوزي DNA كما تؤثر انواع الاوكسجين الفعالة (ROS) على الحامض النووي DNA و كسر الروابط الكيميائية بين ذرات الكاربون في جزيئة DNA وبالتالي ينتج عنه اعاقة انقسام الخلية ، و احداث تحويرات تركيبيه في DNA مما يؤدي الى حدوث الطفرات الوراثية وخلل في وظائف الخلايا **(Martin *et al*; 2010)**

وأكسدة الحوامض الشحمية غير المشبعة في الدهون.Poly unsaturated Fatty acids واحداث الضرر لأغشيه الخلايا. وأكسدة الاحماض الامينية في البروتين Oxidation of amino acids in Protein. **(Michael , 2001)**

إن التأثير غير المباشر للأشعة السينية المؤينة يزداد بزيادة ترسيب طاقتها وتفاعلها بشكل سريع مع السوائل الخلوية ومكونات الخلية ونتيجة لاستمرار التحلل الاشعاعي لجزيئات الماء ينتج عنه المزيد من الجذور الحرة وانخفاض في مستوى الانزيمات في داخل الخلايا **(Dowd and Tilson, 1999)**،وان سرعة اتحاد بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 العالية بالمركبات العضوية الخلوية ، يثبط عمل الانزيمات المسؤولة عن حماية الخلية من تأثير الجـــــذورالحرة والمعروفة بآلية الحماية المضادة للأكسدة وتتكون آلية الحماية من عدد من الانزيمات المهمة ومنها : **(**Glutathion Peroxidase SuperOxide ,Dismutase (SOD),Glutathion reductase **.(Niki, 2010 ; Halliwell,1997 Gutteriage and ;Cross, 1992)**

2-5-2 : التأثير المباشر للأشعة السينية المؤينة :

لا يقتصر تأثير الاشعة السينية المؤينة في الخلية على تأين جزيئات الماء وتكوين الجذور الحرة وأكاسيد الهيدروجين السامة بل ان الاشعاع المؤين يصيب مباشرة الاجزاء الحساسة في الخلية كالكروموسومات والمركبات العضوية الاخرى ومحاولة تدميرها وتستغرق هذه المرحلة من التأثير بين دقائق معدودة الى سنين طويلة مسببة اضرارا وخيمة على المدى البعيد وبالأخص

في الاجيال اللاحقة علما ان هذا النوع من التفاعل يؤثر على قدرة الخلية على الانتاج والتكاثر(**Cember, 1983**). احيانا لا يؤدي الضرر الاشعاعي في الخلية الى تعطيل كل الوظائف حيث ان للخلية القدرة على إصلاح الضرر الاشعاعي **(Saha,2006)** . إن عدم الاصلاح في جزيئة DNA يؤدي الى حدوث طفرات وراثية mutations والموت المبرمج apoptosis وشيخوخة الخلية إضافة الى الامراض السرطانية والموت carcinogenesis and death **(Lehnrt ,2007 ; Valentin,2006)**

6-2 تأثير الاشعة السينية المؤينة على المستوى الجزيئي للخلية :

يشمل التأثير الاشعاعي على المستوى الجزيئي الاحماض النووية Nucleic acids والبروتينات والدهون مؤديا الى تغيرات في تركيب الانوية والسايتوبلازم والاغشية والروابط بين الخلايا وعند تشعيع النسيج الحي يحصل نوعان من التغيرات والتي تحدث على المستوى الجزيئي مثل التجزئة وتكوين الروابط العرضية .

التحلل او التجزئة Degradation :

تحصل هذه الظاهرة في الجزيئات الكبيرة للخلية Macromolecules التي تتكون من سلسلة من الوحدات المتكررة monomers والمتمثلة بجزيئة الحامض النووي DNA والبروتينات حيث تتجزأ او تتحلل الى عدد من الوحدات الاصغر ولكن بنفس التركيب الكيميائي للجزيئة الاصلية ويعود السبب في حصول عملية التحلل هو تحطيم الاواصر الهيدروجينية التي تربط بين هذه الوحدات نتيجة لتأينها بطاقة الاشعاع المؤين ، لأن الاواصر الهيدروجينية من اضعف الاواصر واسرعها تحطيما ويضاف الى ذلك ان الاجزاء المتكونة نتيجة التجزئة تعود لترتبط مع بعضها بعض بروابط عرضية Cross – linking فتشكل تجمعات Aggregate وهي عبارة عن جزيئات مشوهة (Deformed molecules) **(Nais , 1998 ; Ward ,1988 ; Nelson , 2003)**

اما التغير الاخر على المستوى الجزيئي هوالالتحام او تكوين الروابط العرضية Cross – linking والتي تعد من التغيرات التركيبية الاكثر شيوعا عند حدوث تشعيع النسيج الحي ، فالجزيئات الطويلة التي تمتلك شيئا من المرونة في تركيبها اي قابلة للإنثناء والطي سرعان ما تلتئم مع بعضها بعض مكونة تكتلات من جزيئات مشوهة تأخذ شكلا صلبا عن طريق تكوين روابط عرضية مع الجزيئات المكونة لها (أي تلامس الجزيئة نفسها) وترتبط المجاميع الكيميائية الفعالة للجزيئات مع بعضها البعض لتكوين تركيب ثلاثي الأبعاد هذه التغيرات التركيبية من شأنها ان تقود الى العديد من التبدلات في الصفات البايولوجية للجزيئة.**(Dertinger and Jung,1970)**.

2-6-1 : تأثير الاشعاع المؤين على الحامض النووي DNA

تم دراسة تأثير الاشعاعات المؤينة على جزيئات DNA خارج النظم الحيوية *invitro* واخرى ضمن النظم الحيوية *invivo* اوضحت جميعها ان تأثير الاشعاع المؤين المباشر وغير المباشر يسبب انواعاً مختلفة من التلف على مستوى جزيئة الـ DNA وتختلف نسبته تبعا لطاقة ونوع الاشعة المستعملة وهي فقدان قاعدة نتروجينية او تغير في تركيب القواعد النتروجينية ، تكسر شريط مفرد من شريطي DNA (single – strand break (ssb) تكسر شريطي الـ DNA (الشريطان ينكسران في الوقت نفسه) (Double – Strand breaks) ارتباطات عرضية ضمن حلزون DNA نفسه ,ارتباطات عرضية مع جزيئة DNA أخرى , ارتباطات عرضية مع جزيئة بروتين , تحطيم نهايات الـ DNA هدم السكريات (**Sedelinekova *et al* ;2010) .**

لقد اجريت دراسة حول تأثير الاشعة المؤينة على الاحماض النووية ومنها ما قام به **Sega وجماعته (1978)** إذ شععوا الخلايا الجذعية للحيامن Spermatogonia في مرحلة الانقسام الاختزالي (meiosis) ومرحلة ما بعد الانقسام الاختزالي فلاحظوا زيادة في الـ DNA غير المبرمج وكما وجد ايضا هناك زيادة معنوية في DNA غير المبرمج في الخلايا الجرثومية عند الجرعة (Gy2) وهذه اقل جرعة قيست لخلايا اللبائن .تختلف نسب التغيرات السابقة في جزيئة الـ DNA تبعا لطاقة ونوع الاشعة المستعملة. والعواقب الرئيسة الناتجة من الضرر. قد تعاني الخلية من الضرر الكافي مما يسبب فقدان وظائفها و حدوث تغيرات في الخلية والتي ربما تؤدي الى انقسام خلوي غير طبيعي Function abnormally مما يؤدي الى امراض سرطانية على المدى البعيد ، حدوث تغير في المادة الوراثية للخلية وهذا التغير قد ينتقل الى الخلايا الجديدة اي ما يسمى بالطفرات الوراثية ، او عدم حصول اي ضرر في الخلية ،بإمكان انزيمات الاصلاح Reparing Enzymes تصحيح 95% من هذه الاضرار خاصة في الجرع الواطئة من الاشعاع حيث ان اصلاح الضرر يتم بعد فترة زمنية محددة نتيجة فعالية كيموحيوية تخص الخلايا بينما تصبح آلية الاصلاح الموضعي ضعيفة جدا عند حدوث كسر في شريطي DNA نتيجة التعرض لإشعاع مؤين بجرع عالية وبنفس المكان **(العارف ، 1999) (Hall and Giassi ,2006)**

2-6-2: تأثير الاشعة المؤينة على البروتين والدهون

ان التأثير المباشر وغير المباشر للإشعاع المؤين يسبب اكسده الجزيئات الكبيرة وخاصه تراكيب الأغشية الخلوية الغنية بالدهون المتمثلة بالدهون الفوسفاتيه phospholipid والدهون البروتينية lipo proteine والكروماتينية chromatin lipid والكليسريدات الثلاثية **(Gago- Dominguez *et al* ; 2005)**

تتصف اصناف الاوكسجين الفعالة Reactive Oxygen species (ROS) بقابليتها على أكسدة الدهون ، اذ وجد ان جذر السوبر اوكسيد السالب ($O_2^{\bullet -}$) بتراكيز عالية يكون ساما جدا للخلية فضلا عن العديد من التأثيرات الضارة فانه يهاجم سلاسل الاحماض الدهنية غير المشبعة Poly un Saturated Fatty acids (PUFA) بقوة ويؤكسدها بعملية تسمى اكسدة الدهون Lipid Peroxidation **(Halliwell and Gutteridge ,2004)** ، وقد أثبتت ان هذه العملية من المسببات الرئيسة للعديد من الحالات المرضية في الانسان والحيوانات وتطورها يؤدي الى حدوث مضاعفات حادة **(Rimm *et al* , 1993)** .ان تأثير الأشعة المؤينة في توليد الجذور الحرة بعملية الأكسدة وتوليد مركبات الديهايديه شديدة الفعالية ابرزها مركب المالوندايلديهايد Malondialdehyde (MDA) الذي يهاجم الجزيئات المهمة للخلية كالأحماض النووية والبروتينات وتثبيط وظائفها الحيوية. **(Comporti *et al* ; 2008)**.

كما اكدت دراسات **(Bhantia and Manda ,2004)** ، ان المركبات الالديهايديه وخاصة المالوندايلديهايد MDA الناتجة من اكسده الدهون تزداد معنويا بزياده الجرعة الإشعاعية في اغلب اعضاء جسم الكائن الحي المعرضة للأشعة المؤينة .

يعد الكوليسترول من المكونات الاساسية لجميع اغشية الخلايا الحيوانية **(Gurr & Harwood , 1992)** ويتأثر مستوى الدهون في البلازما بالعديد من العوامل منها الوراثية والغذائية والدوائية او الاصابة ببعض الامراض **(Feldman & Kuske , 1989)** يسبب التعرض للاشعاع المؤين ارتفاع في مستوى الدهون نتيجة تراكم الكوليسترول والكليسيردات الثلاثية والدهون الفوسفاتية **(Stepanov , 1989)**. ان تراكم الدهون يكون عرضة لعملية الاكسدة Peroxidation Process مما يسبب عدم التوازن ما بين الاجهاد التأكسدي ومضادات الاكسدة **(Dasgupta *et al*. ; 1997)** والناتج من تراكم اصناف الاوكسجين الفعالة (ROS) التي تسبب تحطيم الخلايا الحية **(Romero *et al* ; 1998)**. وأيضا توصل **Kafafy وجماعته (2005b)** الى ارتفاع في مستوى الكوليسترول والكليسيردات الثلاثية في مصل اناث الجرذان

البيض المعرضة للجرعة الاشعاعية النصف قاتلة من الاشعة السينية وأشعة گاما Sub – Lethal fractionated dose of gamma radiation – X – ray .

وجد من خلال دراسة اخرى اجريت على الجرذان المختبرية المعرضة للأشعة المؤينة انها تشير الى تغيرات معنوية في مستوى الكليسيردات الثلاثية والدهون الفوسفاتية والكوليسترول الكلي ومستوى الدهون البروتينية المنخفضة البروتين في الدم LDL – C lipoproteins **(Zahran *et al* , 2003)** . ولقد صرح **Noaman وجماعته (2005)** ان التعرض للإشعاع المؤين ينتج عنه تغيرات معنوية في الاحماض الدهنية الحرة والدهون المتعادلة والدهون الفوسفاتية بالدم وفي الكبد بعد 24 ساعة الى 48 ساعة من التعرض للأشعة السينية وأشعة گاما ، وهذا دليل على الخلل الوظيفي في ايض الدهون .

كـل الدراسات السابقة تؤكد ان تعرض الجسم بأكمله للإشعاع المؤين يعرضه للإصابة بارتفاع مستوى الدهونhyperlipidemia.**(El-Kafif *et al* ; 2003) (Feurgard *et al*; 1998)** ان الأشعة السينية المؤينة تؤثر على البروتينات والانزيمات بعمليه الأكسدة والتي تحدث حتى بعد التعرض لجرع اشعاعيه واطئة فيحدث عدم توازن بعمليات الأكسدة والاختزال وتؤدي الى حدوث تغيرات في العمليات الحيوية للخلايا كالانقسام والتكاثر والتمايز **(Shuryak and Benner ,2009)** إن تأثير الجذور الحرة على البروتينات يبدأ من خلال التأثير المباشر على الآصرة المزدوجة اذ تعمل على أكسدتها وأكسدة مجموعة الثايول SH فتتغير من تركيب البروتينات وبعد ذلك تؤثر على عملها وتثبيط فعالية الانزيمات المتخصصة (specific Enzymes) بواسطة اكسدة العامل المساعد **Oxidation of co –factor .**

.(Baynes and Dominic Zak , 2004)

يكمن الاساس الفيزيوكيميائي لتلف البروتين الناجم عن التشعيع الى انخفاض الوزن الجزيئي بسبب تقطيع الاواصر الالبوليببتيدية Polypeptide bonds وحدوث فوضى في التركيب الهيكلي للسلاسل الببتيدية ، هذا التحطيم يقود الى ارتباط عرضي Cross – Linking في التركيب الداخلي للبروتين ، ونتيجة لذلك تحصل تغيرات على البروتين تشمل الذوبانية Solubility وتحطيم الاحماض الامينية في السلسلة الببتيدية وكذلك تكوين جذور الببتايد طويلة العمر – Long Lived peptide radicals الناتجة من تشعيع الببتيدات بالأشعة السينية المؤينة وأشعة گاما ،**(Nelson ,2003)** .

لقد صرح **Badr El – Din (2004)** ان تعرض الفئران المختبرية لجرعة اشعاعية مفردة من الاشعة السينية المؤينة تسبب نقصان في مقدار البروتين الكلي .و ذكرت دراسات كل من

(EL-Missiry *et al* , 2007 ; Ali *et al* , 2007) انخفاض معنوي في مقدار البروتين الكلي لمصل الجرذان المختبرية المعرضة لجرع اشعاعية تتراوح ما بين (2-4 GY) بشكل كامل للجسم مقارنة بمجموعة السيطرة. وقد أشار(**EL-Tahawy وجماعته (2009) و (Ashry , 2008)** الى انخفاض معنوي في البروتين الكلي في مصل الجرذان المختبرية المعرضة لجرعة اشعاعية بمقدار (6 Gy) مقارنة بمجموعة السيطرة.

2-7 الأثار البيولوجية للأشعة السينية المؤينة على مستوى الانسان :

أن الإشعاعات المؤينة سواء كانت صادرة من مصادر خارجية أو من التلوث الداخلي للجسم بالمواد المشعة فأنها تؤدي إلى اثار بايولوجية في جسم الكائن الحي يمكن أن تظهر فيما بعد في شكل أعراض سريرية Clinical Symptoms وتعتمد خطورة تلك الأعراض على مقدار الإشعاع الممتص ونوعه ونوع النسيج أو العضو المتعرض للإشعاع والمعدل الزمني الذي استلم فيه ذلك الإشعاع ، كما أن التقدير الكمي للضرر الناتج من تعرض الأنسان للإشعاع المؤين صعب جداً وخاصة في الجرع الواطئة ، فقد لا تظهر على الأنسجة والأعضاء تأثيرات بايولوجية ومع ذلك فمن المحتمل أن يظهر التأثير البايولوجي في مرحلة متأخرة في الحياة وذلك بالإصابة بالسرطان **(ICRP, 2009)**.

وقد أوضحت وثائق اللجنة الدولية للوقاية من الإشعاع **ICRP** لسنة **2007** تصنيف التأثيرات البايولوجية للإشعاع المؤين على جسم الكائن الحي على نوعين :-

2-7-1 :- التأثيرات الجسمية Somatic effects

أ- التأثيرات البايولوجية الحادة (الأثار المبكرة)

يمكن ملاحظة تلف عدة خلايا أو التأخير في انقسامها في النسيج الحي المتعرض للأشعة المؤينة سريرياً فقط في حالة تجاوزت الجرعة الإشعاعية حد العتية (و مقدار حد العتية يعتمد على معدل الجرعة ونوع الاشعة ومعدل الانتقال الخطي لطاقة الإشعاع وحجم ونوع النسيج أو العضو المتعرض) وبزيادة الجرعات فوق حد العتية ترتفع احتمالية ظهور الأثر البيولوجي تدريجياً ولغاية نسبة 100% **(ICRP , 2007a)**

يزداد الأثر البايولوجي بزيادة الجرعة ، تتراوح المدة التي تظهر فيها الأثار البيولوجية الحادة بين بضعة دقائق إلى ساعات إلى بضع أسابيع بعد التعرض الحاد ، فتبدأ بالظهور اعراض المرض الاشعاعي Radiation Sickness أو متلازمه بوادر الاشعاع **(Joiner *et al* ; 2001)** والمتمثلة

بالأعراض المعدية والمعوية والعصبية والعضلية الحادة مثل فقدان الشهية ، الغثيان ، القيء ، والمغص المعوي والإسهال والجفاف ، امَا الاعراض العصبية والعضلية فهي الارهاق والخمول والعرق ، الحمى ، الصداع **(Steel , 2002)**، وانخفاض في ضغط الدم ، ومن التأثيرات الاخرى مثل النقص في خلايا الدم البيض **(Hendry and Lord , 1995)** ، واحمرار الجلد والحروق الجلدية والالتهابات المعوية ، فقر الدم ، النزف وفقدان المناعة ضد البكتريا **(UNSCEAR, 2006)** في حين لا تظهر سوى بعض الاعراض في الجرع الاشعاعية الواطئة فمن المحتمل عند التعرض لجرعة تتراوح (0.2– 0.6 Gy) ممكن أن ينتج عنها فقدان شهية لدى 10% من السكان المعرضين بينما تنتج جرعة مقدارها (1.7 – 4.4 Gy) فقدان شهية في 90% من السكان المعرضين **(WHO , 1984a)** ولكن الموت بسبب التعرض الحاد للإشعاع المؤين لا يحدث الا بعد مرور شهرين حيث استدل على ذلك من ضحايا القنابل الذرية في اليابان **(Pierce *et al* ; 1996).**

أن الموت الناتج من التعرض الى جرع (1-10 Gy) يكون سببه تلف الانسجة المولدة للدم ويرجع سبب الوفاة عند جرع اشعاعية اكبر، حدوث خلل في الجهاز الهضمي وتلف في الجهاز العصبي واغلب الإحصائيات التي يتم الحصول عليها لمعرفة الجرعة الاشعاعية المؤثرة على الانسان والتي يسبب له الاصابة بمتلازمة الاشعاع الحاد Acute radiation syndrome (ARS) هي ناتجة من التعرض للإشعاع خلال العلاج أو في المفاعل النووية أو خلال الحوادث النووية التي تحدث في مصانع الاسلحة النووية **(Fukuda *et al* ; 2013 ; Kinoshita *et al* ; 2011)** اضافة الى الناجين من هيروشيما ونكازاكي **(Pierce *et al* ; 1996).**

وقد حددت منظمة الصحة العالمية **(WHO)** في منشوراتها **(1984a)(b1984)** الاعراض المحتمل ظهورها عند التعرض الحاد للإشعاع المؤين:

1- في حالة الجرع الحادة والتي تزيد على (20 Gy) تظهر متلازمة الجهاز العصبي المركزي Central Nerve System syndrome عندها يحدث صداع خلال دقائق وعلى الاكثر خلال ساعة ثم يتلوها نعاس وخمول وكسل شديد ورعاش بالعضلات وفقدان التناسق العصبي والغيبوبة والصدمة وتحدث الوفاة في غضون مدة تتراوح بين ساعات قليلة إلى يومين ، ولا يوجد اي علاج وتنتهي هذه الحالة دائماً " بالموت " .

2- في حالة التعرض الشديد لجرع تتراوح بين (5-20 Gy) تظهر المتلازمة المعدية المعوية (Gastric Intestinal Syndrom) وحدوث اسهال دموي مع الجفاف الحاد والحمى الشديدة

وتحدث الوفاة بعد ظهور التهاب الامعاء وتسمم الدم واضطرابات سوائل الجسم في غضون اسبوع أو اسبوعين .

3- في حالة الجرع الاقل التي تنحصر بين (2-5 Gy) تظهر متلازمة تكون الدم وتعقب التعرض للإشعاع مباشرة إلى 24 ساعة من الغثيان والقيء مع مدة كامنة للعودة إلى الحالة الطبيعية من الاسبوع التالي ، ثم يبدأ الفتور العام والحمى مصحوبين بانخفاض في تعداد الصفائح الدموية وظهور نقط دموية في الجلد ونزف اللثة وعندها يبدأ فقر الدم ونزف نقي العظم واعتماداً على الجرعة الممتصة يظهر الضرر وقد يمتد إلى اسابيع أو عدة اشهر أو قد تحدث الوفاة بسبب الكبت المناعي أو تسمم الدم أو بسبب النزف .

ب- التأثيرات البايولوجية المزمنة (الأثار المتأخرة)

كان يعتقد سابقاً أن الجرع الاشعاعية العالية فقط هي المسؤولة عن تسبب مرض السرطان الا أن غالبية العلماء قد نبذوا هذه الفكرة والاعتقاد السائد الان أن اي جرعة مهما كانت قليلة يحتمل أن تحفز حدوث مرض السرطان(**NCRP,1981 ; Coggle, 1983).**

أن معظم التأثيرات التي تحدثها الاشعة المؤينة كالأشعة السينية أو اشعة گاما في الانسجة الحية تناسب طرديا مع معدل الجرعة الاشعاعية والفترة الزمنية للتعرض . فالإصابة الاشعاعية المزمنة ناتجة من التعرض إلى جرع اشعاعية واطئة لفترة طويلة وتحدث بعد فترات أو احقاب زمنية بعيدة والتي تظهر بشكل طفرات وراثية أو تنخر أو تليف الانسجة كالجلد أو العضلات و خسارة الشعر ، فقدان التذوق وخلل في نمو العظام اضافة إلى زيادة احتمال حدوث السرطان وخاصة سرطان الدم ، وسرطان الغدة الدرقية Thyroid Cancer اضافة إلى اعتام عدسة العين Cataract وضعف الخصوبة Fertility وسرطان الثديBreast cancer **(Delanian and Lef – aix , 2007 ; Delain *et al* ; 2005 ; Johansson *et al* ; 2000)**

وتعد النظرية الخطية غير العتبة Linear non threshold theory النظرية الاكثر قبولاً في مجال التأثيرات البيولوجية للإشعاع لتفسير الاحتمالية للتعرض المزمن لجرع واطئة من الاشعاع ، اذ لا يوجد حد حرج لا يحدث دونه تأثير بايلوجي . وتفترض هذه النظرية أن التاثير يحدث مهما كان التعرض واطئاً .(**Bara banove *et al* ;2007; Cooke *et al* ; 2003**) .

2-7-2 تأثير الأشعة السنية المؤينة على الوراثة :-

تنتج التأثيرات الوراثية للإشعاع من تلف الخلايا التكاثرية فيؤدي تعرض الخلايا الجنسية للإشعاع المؤين إلى تغيرات في تركيب هذه الخلايا، حيث يمكن للأشعة السينية وأشعة گاما وبيتا والنيترونات السريعة والأشعة فوق البنفسجية أن تؤدي إلى حدوث الطفرات الوراثية ، وتتراوح التأثيرات الوراثية الناجمة من الإشعاع المؤين بين طفرة في زوج واحد من النيكلوتيدات وهو ما يدعى بالطفرة النقطية Point Mutation أو انحراف كروموسومي Chromosomal Aberration يشمل عدة آلاف من المورثات .

(Hall and Giaccia , 2008 ; Buckley *et at* , 1997 ;Mueller and Ian , 1995)

تحدث الطفرات الوراثية في الخلايا الجسدية والجرثومية التكاثرية غير ان في حاله الخلايا الجسدية تظهر على المتعرض للإشعاع فقط بينما في حاله الخلايا التناسلية تمتد الى الاجيال اللاحقة وتشمل الشذوذ الجيني الذي لا يحدث تغيرات كرموسومية تركيبيه او عدديه بل يغير في مواقع احد الجينات منها مؤديا الى ظهور صفات مختلفة عن صفات الابوين **(Wons *et al* ;1995; IAEA, 2001)**

ان التأثير الوراثي للإشعاع غالبا ما يعبر عنه بمصطلح الجرعة المضاعفة Doubling dose التي تضيف إلى الخزين الوراثي العدد نفسهُ من العيوب التي تحدث طبيعياً ، وجاءت هذه المعلومات من دراسات أجريت على الحيوانات المختبرية (وخاصة الجرذان) والحشرات **(Pasternak, 2005)** وقد أكدت الدراسات أن الجرعة المضاعفة التي تسبب حدوث الطفرات الوراثية تلقائياً عند الإنسان تحدث عند مقدار (Gy1) من الإشعاع المؤين ومنها الأشعة السينية X-ray **(NCRP , 2009)** .

أن للجينات حساسية مختلفة للإشعاع المؤين ، إذ تعتمد هذه الحساسية على سرعة استلام الجرعة الإشعاعية وكميتها ونوع الاشعة والفترة الزمنية للتعرض وعلى اختلاف الجنس والعمر والصحة العامة ، وبذلك فأن الجرعة المضاعفة تعبر عن معدل تتغير قيمته تحت الظروف المختلفة لهذا فانهُ من غير الممكن تحديدها بصورة دقيقة **(Finch and Tanzi , 1997)**

وبين **(Ishimaru and Isimaru , 1975)** أن التعرض إلى (Gy 0.01) من الأشعة يحدث حوالي (1-10) حالات سرطان نقي العظم والغدة الدرقية لكل (10.000) شخص وظهور سرطان الحنجرة ، العظام والمريء والخصية والأنسجة العصبية حالة واحدة لكل مليون شخص .

8-2 تأثير الأشعة السينية (X – ray) على الجهاز التناسلي الأنثوي والذكري :-

تؤثر الأشعة المؤينة ومنها الأشعة السينية على الاعضاء التناسلية في الانسان والحيوانات ، ويعد الجهاز التناسلي الذكري شديد الحساسية للأشعة المؤينة ، فعند تعريض كامل جسم الانسان whole – body او التعريض الموضعي للخصية لجرعة اشعاعية حادة بمقدار (Gy1) يؤدي الى الاصابة بالعقم المؤقت Temporary sterility واحتمالية حدوثه بنسبة 50% عند التعرض لجرعة اشعاعية بمقدار (Gy 0.7)، بينما الاصابة بالعقم الدائمي عند تعرض الخصيتين لجرعة اشعاعية بمقدار (Gy 6) وتكون فترة العقم متناسبة مع جرعة الاشعة الممتصة **(Miller , 2007 ; Nias , 1998 ; Buckly *et al* ; 1997)** .

لقد اشار**(Georgieva *et al*; 2005 ; Oglivy and Shalet, 1993)** ان الاشعة السينية الايونية تؤثر على المناسل، ويعد الجهاز التناسلي الذكري شديد التأثر مقارنة بالجهاز التناسلي الانثوي ولهذا فان الخصوبة بصفة عامة لدى الذكور أكثر تضررا جرّاء علاجات السرطان منها لدى الإناث، ويمكن للعلاج الإشعاعي أن يخفض من إنتاج الحيوانات المنوية ، و للجرعات الإشعاعية المنخفضة تأثير مؤقت على معدلات الإنتاج، بينما تؤدي الجرعات الإشعاعية العالية إلى نقص دائم و نهائي، و يؤثر نقص معدلات إنتاج الحيوانات المنوية سلبا بطبيعة الحال على الخصوبة و القدرة على الإنجاب و لوحظ أن الأطفال الصغار ممن تلقوا علاجات الأورام الاشعاعية في سن مبكرة هم اقل عرضة لنشوء مثل هذا العجز، أما الإشعاع المباشر للخصيتين فيؤدي غالبا إلى العقم و تأخر البلوغ الجنسي ، من المضاعفات الممكنة للعلاج الإشعاعي للدماغ عند الذكور نشوء اختلال في وتيرة التطور الجنسي، نتيجة الضرر الواقع على منطقة تحت المهاد(hypothalamus)، و يشمل ذلك حدوث تبدلات في مستويات الهرمون الذكري الرئيس التستوستيرون Testosterone **(Lambrot) *et al* ; 2007)** الأمر الذي يؤدي إلى تأخر مرحلة البلوغ، أو إبطاء معدل تقدمها، أو العجز عن إكمالها، أو ظهور علامات البلوغ المبكر (Precocious puberty)، الذي يبدو واضحا من خلال ظهور علامات البلوغ في سن مبكرة بشكل غير طبيعي، إضافة إلى احتمال نشوء العجز الجنسي. **(Sivakumar *et al* ; 2006).**

تعد المبايض في الاناث أقل تحسسا للأشعة المؤينة من الخصى في الذكور . فتعرض جسم المرأة لجرعة اشعاعية حادة بمقدار يتراوح (Gy 6.4 – 1.5) قد يسبب العقم المؤقت Temporary sterility ، اما امكانية حدوث الاصابة بالعقم الدائمي Permenant sterility عند تعريض الانثى وخاصة التعريض الموضعي لمنطقتي البطن والحوض لجرع اشعاعية عالية تتراوح ما بين

(10-2Gy) ولكن التأثير البايولوجي للأشعة على المبايض يعتمد بدرجة كبيرة على عمر الانثى ومقدار الجرعة الاشعاعية والفترة الزمنية للتعرض، وتزداد احتمالية خطورة الاصابة بالعقم الدائمي بنسبة 50% عند النساء بعمر 40 سنة وخاصة القريبات من عمر اليأس menopause اكثر من النساء الاصغر عمرا والسبب يعود الى نقصان في عدد الخلايا البيضية للمرأة بتقدم العمر. **(Nias , 1998 ; Hall , 2009)** .

وقد أشار **(Jan car *et al* ; 2007 ; Bedaiwy *et al* ; 2004)** الى ان الزيادة في تركيز الجذور الحرة وخاصة جذور الاوكسجين الفعالة ROS لها تأثيرات ضارة على الخلايا الجرثومية التكاثرية الانثوية female germ cells للإناث المعرضات للأشعة المؤينة وبالتالي يؤثر على الخلايا البيضية Oocytes ومعدل الخصوبة Fertilization وعدد الاجنة وعملية انغراس البيضة المخصبة في الرحم .

كما ذكر **(Meistrich,1993)** ان الاشعاع المؤين يعد واحد من عوامل التسمم البيئي الذي يسبب موت الخلايا الجرثومية التكاثرية والاصابة بالعقم .كما يعد واحد من العوامل المسببة للإجهاض التلقائي اذا تعرضت المرأة الحامل للإشعاع خلال فترة الحمل، ويؤدي الى حدوث العقم عند الرجال والنساء ، بالإضافة الى ان العلاج بالأشعة السينية بجرع اشعاعية عالية في منطقة البطن والحوض قد يؤدي الى خلل في وظيفة المبايض ناتج من فقدان الخلايا البيضية وضمور المبايض المرتبط بنقصان عدد الجريبات المبيضية ويؤدي الى حدوث اضطرابات بالدورة الشهرية menstrual irregularities ونقصان الهرمونات الانثوية وهذا مرتبط بحالة الاصابة بالعقم **(Sonmezer and Oktay , 2008)** .

كما ذكر **(Howell and Shalet , 1998)** ان النساء المعرضات للأشعة السينية العلاجية في منطقة الحوض معرضات للاضطرابات الهرمونية وخطر الاصابة بالعقم amenorrhea أوpremature ovarian failure . وقد اشارت الدراسات الحيوية *invivo* لكل من **(Hanoux *et al* , 2007 ; Meirow and Nugent,2001 ; Kim and Lee , 2000)**

ان الاشعة المؤينة ومنها الأشعة السينية تدمر الجريبات المبيضية الصغيرة small follicles والجريبات القريبة من الغار antral follicles في الجرذان والفئران المختبرية وقرود الريسن **(Cortes – Wanstreet *et al* ; 2009)** .

ان من اهم مخاطر الاشعة المؤينة على المبايض هو نقصان في عدد الخلايا البيضية oocytes الذي يؤدي الى الاصابة بالعقم لدى النساء وسن الياس المبكر، هذا يحدث اذا تعرضت الانثى لجرع اشعاعية

عالية **(Burdorf *et al*; 2006)**. كما اشار **(Meirow and Nugent , 2001**) ان التعرض المزمن للاشعة السينية واحد من عوامل الخطورة للإصابة بالعقم بسبب تاثيرها المدمر والمباشر على الخلايا البيضية oocytes ويعتمد هذا التاثير بدرجة كبيرة على الجرعة الاشعاعية والفترة الزمنية للتعرض وعمر الانثى .ان حساسية الاعضاء التناسلية الانثوية للاشعة المؤينة تعتمد على العديد من العوامل اهمها مراحل تطور الخلايا الجرثومية التكاثرية ، اختلاف انواع الحيوانات، والجرعة الاشعاعية والفترة الزمنية للتعرض **(Aurora *et al* ; 2012) .**

لقد ذكر **(Hanoux *et al*; 2007)** ان الدراسات التي اجريت على الحيوانات المختبرية اظهرت مدى واسع في حساسية الخلايا البيضية للأشعة المؤينة باختلاف انواع الحيوانات وان هذه الخلايا oocytes تموت بعد تعرضها للأشعة المؤينة بالية الموت المبرمج apoptosis وازالتها بعملية البلعمة بعد ايام قليلة ، وتكون شديدة الحساسية للإشعاع في مراحل تطورها الاولى مقارنة بالمراحل المتأخرة لتكوينها . كما اشار ايضا الى ان الخلايا البيضية تقل بتقدم العمر عند الانثى وبالتالي فان من الممكن جرعات قلية من الاشعاع المؤين تسبب العقم في النساء الكبيرات بالعمر .

وقد **ذكرت (ICRP ,2007 a ; ICRP ,2003 b ; ICRP, 2000 b)** في منشوراتها عن تأثير الأشعة السينية التشخيصية على المرأة الحامل وحدوث وفيات الاجنة داخل الرحم وتشوهات اعضاء الجنين والاضطرابات الدماغية والتأثيرات المستقبلية ، ويكون تأثير الاشعة شديدا في الاسابيع الاولى من الحمل وهي فترة انقسام الخلايا وقد يسبب حدوث الاجهاض التلقائي ، اما المرحلة الثانية هي تكوين الاعضاء قد يسبب حدوث التشوهات الخلقية ، وتعرض المرأة الحامل للأشعة السينية في منطقة الصدر في الغالب كمية الاشعاع فيها قليلة ولا تحدث اي تأثيرات جانبية على الجنين أما الموجهة للبطن تحمل جرعات اعلى وتكون موجهة للجنين مباشرة فيجب استخدام الواقي فيها اما الاشعة المقطعية يكون تأثيرها ضعيف على الاجنة لكن استخدام الاشعة الملونة لمنطقة البطن فيجب عدم اجراءها اثناء الحمل.

يؤدي تعرض الحوامل للأشعة الى حدوث تشوهات خلقية في الاجنة يعرف بالتأثير الخلقي المشوه نتيجة لفقدان الخلايا الجنينية خاصتها بتكوين عضو من اعضاء الجسم مما ينتج عنه جنينا مشوها يحمل تشوها يتطور اثناء عملية التكوين الجنيني. **(Brush *et al*; 2007)**

واشار **Cember (1983)** عن طريق دراسة له اجراها على الحيوانات المختبرية ان زياده تعرض الغدد التناسلية للأشعة السينية يؤدي الى حدوث تغيرات وراثيه (نتيجة لتأثير الكروموسومات) وبذلك ستنتج حيامن وبيوض معتله فاقده لبعض الصفات الوراثية فاذا حدث ان خصبت الحيامن المعتلة بيضه

طبيعية غير معرضه للأشعة المؤينة فأنها ستؤدي الى تكوين جين مشوه خلقيا . ان سبب هذا التشوه يعتمد على نوع الضرر الذي اصاب الحيامن ونفس الحالة تنطبق على البيضة المصابة التي تحملها الانثى التي تعرضت للأشعة المؤينة فهي وان تم تلقيحها بنطف سليمه الا انها ستؤدي الى تكوين جنين مشوه خلقيا ، وهذا ما يعرف بالتأثير المطفر Mutagenic effect واذا كانت الطفرة في المرحلة الجينية فهذا يعني انتقالها الى الابناء ومن ثم استمرار الطفرة في المجموعة السكانية population.

كما ذكر **(Constine *et al*; 1993)(Preston *et al*; 2002)** ان التعرض لجرعات عالية من الاشعاع المؤين يعد واحد من عوامل الخطورة للإصابة بسرطان الغدة النخامية ، وان المرضى الذين يتعرضون للعلاج الاشعاعي في منطقة الراس والرقبة تحدث لديهم اضطرابات هرمونية نتيجة حدوث خلل في وظيفة الغدة النخامية يصاحبه نقصان بهرمون النمو والهرمونات المحفزة للغدة الدرقية والمحفزة للمناسل والغدة الكظرية، وعلى الرغم من حدوث الاضطرابات الهرمونية نتيجة التعرض للعلاج الاشعاعي الا ان نسبة حدوثها تختلف من شخص لأخر **(Shalet , 1993).**

اشار **Littley واخرون (1990)** ليس المصابين بسرطان الدماغ او امراض الغدة النخامية معرضين لانخفاض هرمونات الغدة النخامية نتيجة العلاج الاشعاعي بل ايضا الاصحاء يصابون بانخفاض هرمونات الغدة النخامية عند تعرضهم لجرعة اشعاعية تصل الى Gy20 واكثر .

9-2 الكيمياء النسجية المناعية :Immunnohistochemistry :

وهي تقنية مناعية تعتمد اساساً على التفاعل المنخفض للأجسام المضادة (Anti-body) والمستضدات (Antigen) في الانسجة البايولوجية المختلفة **(Anthony *et al*; 2004)** ذلك الارتباط الذي يحصل بين محددات متخصصة (Specific epitopes) موجودة على سطح البروتينات الهدف في النسيج البايولوجي وموقع ربط المستضد(Antigen – binding site) الموجود على جزيئة الجسم المضاد المحضر بطرق مختلفة اهمها عملية ربط الجسم المضاد بأنزيم يساعد على استقرار وتطور تفاعل لوني يسهل من عملية التشخيص .**(Jamie, 2003)**

ان هذه التقنية تربط بين الكيمياء والانسجة والمناعة ولهذا السبب جاءت تسميتها بالكيمياء النسجية المناعية حيت اشتق الاسم من Immuno اشاره الى الاجسام المضادة المستعملة في هذه التقنية و Histo اشارة الى المقاطع النسجية البايلوجية وChemistry اشارة الى الجزيئات الكيميائية المكونة للخلية الحية.

تعتمد **IHC** اساساً على التصبيغ الذي يعمل على تحديد الخلايا غير الطبيعية الموجودة في الانسجة البايولوجية المتضررة كالأورام السرطانية وبعض المحددات الجزيئية المتخصصة

(Specificmolecular marker) التي تميز بعض الاحداث الخلوية الخاصة كالتضاعف الخلوي (Proliferation) او الموت الخلوي المبرمج (Apotosis) **(Ramos and Miller,2014)**.

وتستعمل بصورة كبيرة في العديد من الابحاث التي تعطي مفهوماً واضحاً لموقع وتوزيع العلامات البايولوجية (Biomarker) وظهور البروتيني المتميز (Differently expressed protein) في مختلف الاجزاء من النسيج البايولوجي ، بعبارة اخرى تلك التقنية تساعد بصورة كبيرة لفهم توزيع موقع العلامات البايولوجية في النسيج الحي ، بالإضافة الى تطبيقاتها في تشخيص الامراض ، وتحديد كفاءة المضادات الحيوية في خلايا النسيج الحي ومعرفة كفاءة الادوية في علاج بعض الامراض، كما ان لدورها في تحديد الموقع الاولي للأورام الخبيثة و اهميتها كبيرة في تشخيص السرطانات مبكراً من خلال التفاعل المتخصص بين الأجسام المضادة المحضرة والمؤشرات السرطانية (Tumor markers) في خزعات الانسجة الحية المطمورة بالبرافين للمحافظة عليها والحفاظ على موقع وسلامة المحددات في تلك الانسجة الخاضعة للفحص المناعي الذي يعتمد اساساً على الارتباط المتخصص بين المستضدات النسجية والاجسام المضادة التي يتم تعلميها بطرق انزيمية تعتمد على تغيرات لونية (Enzyme chromogenic system) وعلى كون الجسم المضاد اولي (Primary Anti Body) او ثانوي(Secondary Anti Body) حيث تسمى الطريقة المعتمدة على الجسم المضاد الاولي بالطريقة المباشرة **(Direct method)** والتي تكون طريقة سهلة وسريعة لكنها غير حساسة بصورة كبيرة بسبب قلة الاجسام المضادة المتوفرة المستعملة فيها. **(Dennis et al ; 2006 ; Vlrika,1994**

اما الطريقة التي تعتمد على الجسم المضاد الثانوي فتعرف **(Indirect methods)** والتي تكون اكثر تعقيداً وحساسية ، كما تتضمن العديد من التقنيات المختلفة التابعة لها مثل كل من تقنية **APAAP** (Peroxidase Anti- (Alkaline Phosphatase Anti-Alkaline Phosphatase) **LSAB**(Labeled Streptavidin - **ABC** (Avidin-biotin complex) - Peroxidase) **PAP** . Biotin Peroxidase Complex technique)

وقد استخدمنا في هذه الدراسة طريقة **(LSAB)** والتي تعتمد اساساً على الارتباط المتخصص بين الجسم المضاد الاولي والمستضد النسيجي اولاً ، وثانياً على الارتباط بين الجسم المضاد الاولي والجسم المضاد الثانوي الذي تم تحضيره في حيوانات تجريبية اخرى معتمداً على جزيئة Biotine التي ترتبط تخصصياً مع الانزيم المرتبط بـ Streptavidin والتي يحصل تغيير لوني واضح بعد اضافة المادة الاساس(**Dennis *et al* 2006 ; Grey and lila,1994 ; Hsu *et al* 1981**)

10-2 المؤشرات السرطانية Tumor Marker :

وهي عبارة عن مواد في الاغلب بروتينية تنتج من الانسجة الطبيعية كاستجابة لوجود الاصابة السرطانية في النسيج الحي او تعد كنواتج للعمليات الايضية او المناعية في النسيج الحي المصاب بالسرطان**(Ramos –vera , 2005)** .اي بعبارة اخرى هي عبارة عن انتيجينات سطحية او بروتينات سايتو بلازمية ، انزيمات او هرمونات تنتج من الخلايا السرطانية او من خلايا جسمية اخرى كاستجابة لوجود الورم الخبيث او اي ظروف اخرى محفزة للظرف غير الطبيعي للجسم بحيث تزداد معدلاتها في الدم ، الادرار ، البراز والانسجة السرطانية للأشخاص المصابين بالسرطان، كما تعد مؤشر اساسي لوجود السرطان في داخل جسم الشخص الخاضع للفحص ، لذا فهي من المواد الاساسية التي تساعد بصورة كبيرة على الكشف عن الاصابة بالسرطان عن طريق عدها كمستضدات متخصصة ترتبط تخصصياً بالأجسام المضادة المحضرة للكشف عنها ، من خلال التفاعل المخصص معها في مواقع تواجدها في الخلايا الجسمية كالسايتوبلازم ، النواة او على سطح الخلايا بالشكل الذي يسهل الكشف عنها باستخدام المجهر الضوئي .(**Boenisch,2001 ; Saad and shoman,1998)**

Ki67 antigene هو بروتين نووي وله دور فعال جدا في عملية الانقسام الخلوي ويرتبط بعملية استنساخ الحامض النووي الرايبوسومي ribosomal RNA transcription ومؤشر ممتاز للانقسام الخلوي ، ويرتبط بقوة مع تكاثر الخلايا طول فترة الطور البيني interaphase ،موجود في نواة الخلية لكن خلال الانقسام الخلوي الاعتيادي Mitosis يتواجد على سطح الكروموسومات ،يتواجد طوال الاطوار الفعالة للدورة الخلوية (G1,S,G2, Mitosis) وتنخفض مستوياته في فترة سكون الخلية G° **(Stuart- Harris *et al*; 2007 ; Bullwinkel *et al;*2006)**

ان بروتين Ki67 مميز في تحديد نسبة نمو أي خلية في جسم الكائن الحي وغالبا ما ترتبط النسبة العالية للتعبير الكمي لهذا البروتين مع الخلايا السرطانية وخاصة سرطان الثدي والمبايض

(Stuart-Harris *et al*;2008; Munstedt *et al*;2004) والبروستات والرئة والكلية واورام الدماغ **(Johannessen and Torp,2006;Kankuri *et al*;2006;Shiba et al;2000)**

المواد وطرائق العمل:

3-1 المواد والأجهزة المستخدمة Materials and Device

3-1-1 الأجهزة والادوات المستخدمة

جدول (3 - 1) الأجهزة والأدوات المستخدمة حسب المنشأ والشركة

ت	الجهاز	المنشأ	الشركة
.1	ادوات بلاستيكية مختلفة الاحجام	Denmark	Nunclon
.2	أدوات زجاجية مقاومة للحرارة pyrex	England	Volac
.3	انابيب ابندروف Eppendrof tubes	Korea	Lab - Tech
.4	انابيب اختبار زجاجية Glass test tubes	Germany	Hermile
.5	انابيب غير حاوية على مادة مانعة للتخثر	Jordan	Gold star
.6	انابيب مانعة للتخثر EDTA tubes	Jordan	Gold star
.7	ثلاجة	France	Concord
.8	جارات زجاجية Staining Gar	Germany	Harshman
.9	جهاز الاشعة السينية X-ray device	Japan	Shimatzu
.10	جهاز الطرد المركزي Centerfuge	Germany	Hermile
.11	جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer	Japan	Apple 203
.12	جهاز المني فايدس Mini Vides	France	Bio Merieux
.13	جهاز تسخين مختبري Bidstilliter	Germany	GFL
.14	جهاز تعقيم Autoclave	Japan	Hirayama
.15	جهاز تحليل الدم الذاتي Automated Haemacounter	Germany	Hermile
.16	حاضنة رقمية Digital Incubator	Korea	Daihan Labtech
.17	حمام مائي Water Bath	Korea	Daihan Labtech
.18	ساعة وقتية Timer	China	Inter Leaved

.19	سلة جار تصبيغ Basket Staining Gar	Germany	Hermile
.20	شرائح زجاجية Slides	China	China MHECO
.21	شرائح زجاجية معلمةPositively charged slides	Denmark	DAKO
.22	عدة تشريح Dissecting Set	Pakestan	S.I.E
.23	غطاء للشرائحCover Slides	China	Inter Leaved
.24	فرن كهربائي Oven	Germany	Memmert
.25	كاميرا رقمية Digital Camera	Korea	Sony
.26	مازج Vortex	Italy	Roma
.27	ماصات دقيقة Micropipette	Canada	Bio Basic
.28	مايكرو توم Microtome	U.S.A.	Unico, T.M.
.29	مجهر ضوئي Light Microscope	Japan	Olympus
.30	مجهز للكهرباء Power Supply	England	Consort
.31	محاقن طبية Disposable Syringes	S.A.R.	Medical ject

2-1-3 المواد الكيميائية المستخدمة Chemical Materials

جدول (3-2) المواد الكيميائية حسب المنشأ والشركة .

التسلسل	المادة	المنشأ	الشركة
.1	زايلين Xylene	England	BDH
.2	شمع البارافين Paraffin Wax	Germany	Merck
.3	عدة التصبيغ الكيميائي النسجي المناعي وتشمل: LSAB(Labelled strpt- Avidin Biotion reagents) DAB(Diaminobenzwin – tetrahdrrochloride chromogenic substrate) Monoclonal mous A nti – Ki-67 Antigen Clon MIB-1)	Denmark	DAKO

.4	عدة تقدير الكلوستوورول الكلي TC	Germany	Biomaghreb
.5	عدة تقدير الكليسيردات الثلاثية TG	Germany	Biomaghreb
.6	عدة تقدير الدهون البروتينية HDL ,LDL,VLDL	Germany	Biomaghreb
.7	عدة تقدير البروتين الكلي T- Protein	Germany	Biomaghreb
.8	عدة تقدير الهرمونات الانثوية (H E2 -prog)	Germany	Veda Lab Veda
.9	عدة تقدير هرمونات (LH-FS)	Germany	Veda Lab Veda
.10	عقار الامبسلين	Germany	Dutch Farm
.11	عقار سلفات الصوديوم	France	CEVA
.12	فورمالين	Iraqi co.	Iraq
.13	كحول ايثانول مطلق 99%	Germany	Scharlau
.14	كلورفورم Chloroform	England	BDH
.15	المادة اللاصقة Dpx	India	Thomas Baker
.16	محلول الغسل (phosphate buffer saline)	Denmark	DAKO
.17	محلول ريتريفل Retrieval solution	Denmark	DAKO
.18	ملونات هيماتوكسيلين - ايوسين Hemotoxyline& Eosin	BDH	England
.19	محاليل قياس GSH و MDA		

2-3 الحيوانات المستخدمة في الدراسة Experimental animals

استخدمت في هذه الدراسة 24 انثى ناضجة من اناث الجرذان البيض المختبرية. تم جلبها من مختبر كلية الصيدلة – جامعة كربلاء بأعمار(3 – 4 اشهر) وبأوزان تتراوح من (150 – 200غم) وضعت في اقفاص معدة لهذا الغرض في البيت الحيواني التابع لكية التربية للعلوم الصرفة جامعة كربلاء ، وتم توفير الماء والغذاء مكون من العليقة الحيوانية اعطيه بصورة حرة ad libitum تحت ظروف تهوية مناسبة وبدرجة حرارة 25م واعتمدت الاضاءة الطبيعية ، وجرعت علاجاً للتأكد من خلوها من الأمراض المختلفة ،آذ جرعت فموياً 0.5 ملغم من (Sodium -Sulfadimidine) في 1 لتر من الماء ولمدة 5 أيام متتالية ،

و 0.5 ملغم من (Ampicillin 20 % W.S.P.) في 1 لتر من الماء ولمدة 5 أيام متتالية وتركت الحيوانات للتأقلم لمدة اسبوع.

3-3 تصميم التجربة : Experimental design

قسمت الحيوانات المختبرية المعدة للتجربة عشوائياً على ثلاث مجاميع وبواقع (8) اناث لكل مجموعة وعلى النحو الآتي : -

1 – المجموعة الاولى G1:- تركت بدون تشعيع وعدت مجموعة السيطرة (control)

2 – المجموعة الثانية G2:- عرضت هذه المجموعة يومياً للأشعة السينية باستعمال جهاز الاشعة السينية X-Ray نوع (شيماتزو) بفولتية مقدارها 80kv على بعد متر واحد ولمدة شهر كامل.

3 – المجموعة الثالثة G3:- عرضت هذه المجموعة يومياً للأشعة السينية وبفولتية مقدارها80kv على بعد متر واحد ولمدة شهرين متتاليين .

4-3 جمع عينات الدم : Blood samples

جوعت الحيوانات لمدة 12 ساعة ثم تم تخديرها باستعمال مادة الكلوروفورم بعدها تم سحب الدم من القلب مباشرة عن طريق طعنة القلب Cardic Puncture للحصول على اكبر كمية ممكنة . سحبت كمية بمقدار (7 مل) من حيوانات التجربة وبعد معاملتها بالتشعيع . وضعت عينات الدم في انابيب حاوية على مانع التخثر Potassium EDTA لغرض قياس المعايير الدموية والجزء المتبقي منه وضع في انابيب بلاستيكية خالية من مانع التخثر وفصل فيما بعد في جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 3000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق وتم فصل المصل الخالي من كريات الدم الحمر بواسطة الماصة الدقيقة micropipette وقسم المصل في عدة انابيب نظيفة ومعقمة وحفظ في حالة التجميد عند درجة حرارة 20 – درجة مئوية في ثلاجة المختبر لغرض قياس المعايير الكيموحيوية الوظيفية والفسلجية

5-3 الفحوصات المختبرية:

1-5-3 فحص الدم بواسطه تحليل الدم الذاتي Automated Haemacounter

يعمل هذا الجهاز على مبدأ العد الآلي لأنواع الخلايا المختلفة عن طريق تغذية أنبوب حقن العينة (الدم) في المكان المخصص لها على الجهاز لتدخل هذه العينة إلى حجرة خاصة بها،ويضاف إليها محاليل خاصة لتخفيف كثافة الدم (Diluents)، يقوم الجهاز بتمرير عينة مخففة داخل حجرة حاوية على فتحة ضيقة جداً لا تسمح إلا بمرور خلايا الدم خلية تلو خلية (Cell Aperture) وهذه الفتحة الضيقة مصنوعة من مادة خاصة موصلة للكهرباء، و يوجد أقطاب على طرفيها. عندما تكون الفتحة خالية من خلايا الدم تكون المقاومة الكهربائية على مستوى معين، لكن لدى مرور أي خلية ترتفع هذه المقاومة بشكل كبير حيث يقوم المعالج الإلكتروني للجهاز(Microprocessor) بإحصاء عدد المرات التي ارتفعت فيها المقاومة عبر الفتحة، قياس حجم الارتفاع يدل على عدد المرات التي ارتفعت فيها المقاومة التي تدل على عدد الخلايا التي مرت من خلالها، ولكل نوع من الخلايا يوجد حجرة خاصة للقياس أي ان هناك حجرة خاصة لإحصاء خلايا الدم البيضاء (WBC) وأخرى لخلايا الدم الحمراء (RBC) والصفائح الدموية(Platelets). ولمعرفة نسبة الـ Hemoglobin في الدم، يقوم الجهاز بتمرير عينة من الدم إلى حجرة خاصة حيث تضاف مادة تكسر الخلايا الحمراء تسمى . Lyses buffer تقوم هذه المادة بتفتيت خلية الدم الحمراء لإخراج مادة الـ Hemoglobin منها و يمرر هذا المحلول عبر خلية ضوئية وبالتالي تعطينا كمية وجود الـ Hemoglobin في العينة.

للجهاز القابلية لتقدير المعايير الاتية من خلايا عينة دم صغيرة وبفترة زمنية لا تتجاوز الدقيقة الواحدة .

1- العدد الكلي لكريات الدم الحمر Total Red Blood Cells count.

2- تعداد صفائح الدم PLT.

3- حساب تركيز الهيموكلوبين في الدم Hemoglobin level determination(HGB)

4- العدد الكلي لخلايا الدم البيض (WBC) (Total White Blood Cells count) .

2-5-3 الفحوصات الكيموحيوية:

1-2-5-3 تقدير تركيز الكوليستيرول الكلي في مصل الدم Estimation of serum total cholesterol concentration (TC) (mg/dl)

تم تقدير تركيز الكوليستيرول في مصـــل الـــــدم بالطريقة الإنزيمية بأستخدام عدة قياس الكليسترول (جدول 3-2) على وفـق طريقة **(Allani, 1974)** إذ تعتمد هذه الطريقة على تحويل Cholesterol Esterase بوجود الأوكسجين (O^2) وإنزيم Cholesterol Oxidase اللذان يعملان على أكسدة الكوليسترول الحر المتكون نتيجة التفاعل الأول إلى (Cholest – 4 en -3 one) و (Hydrogen Peroxidase) وهذا الأخير يتفاعل مع الفينول Phenol و 4-Aminoantiprinel وبوجود أنزيم Peroxidase ليكون كيتون آمين Quinoneoimine وردي اللون وكما موضح في المعادلات الاتية :-

$$\text{Cholesterol Ester} \xrightarrow[\text{Cholesterol Estrase}]{} \text{Fatty Acids} + \text{Cholesterol}$$

$$\text{Cholesterol} \xrightarrow[\text{Cholesterol Oxidase}]{} \text{Cholest -4-en-3-one} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{Phenol} + \text{4-amino –antipyrine} \xrightarrow[\text{Enzym}]{\text{Peroxidase.}} \text{Quinoneimine}$$

طريقة العمل

تم استخدام ثلاثة أنابيب اختبار هي العينة **sample** ، المحلول القياسي **standard** والمكافئ **blank** وحسب الجدول الاتي :-

المحاليل	BLANK	SAMPLE	STANDARD
Sample		**10 µ**	
Standard			**10µ**
Blank	**10µ**		
Reagent (a)	**1.0 ml**	**1.0 ml**	**1.0ml**

بعدها أضيف 1.0 ml من reagent a إلى العينة والمحلول القياسي والكفىء ومزجت المحاليل جيداً وتركت لمدة 5 دقائق في الحمام المائي بدرجة 37 مئوية وبعدها تم قراءة الامتصاصية لها بواسطة جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي **510 نانوميتر** وذلك بعد تصفير الجهاز بواسطة الكفىء .

الحسابات :

تم حساب تركيز الكوليسترول الكلي على وفق القانون الاتي :-

$$\text{Total Cholesterol mg/ dl} = \frac{\text{Sample x n}}{\text{Standard}} * N$$

آذ إن :

N = 200 وهو تركيز المحلول القياسي .

Sample = الامتصاصية الضوئية لعينة المصل .

Standard = الامتصاصية الضوئية للمحلول القياسي .

2-2-5-3 تقدير مستوى تركيز الكليسيريدات الثلاثية Estimation of Triacylglycerol (TAG) Concentrations

تم تقدير تركيز الكليسيرات الثلاثية بالطريقة الإنزيمية بأستخدام عدة قياس TAG (جدول 2-3) على وفق طريقة **(Fassati & Principe , 1982)** إذ تعتمد هذه الطريقة على تحويل الكليسيريدات الثلاثية الموجودة في مصل الدم عن طريق سلسلة من التفاعلات الكيميائية وبوجود عدد من الإنزيمات إلى كيتون أمين وردي اللون كما في التفاعلات الاتية :

$$\text{Triglycerides} + H_2O \xrightarrow{\text{Lipoprotein lipase}} \text{Glycerol} + \text{Fatty acids}$$

$$\text{Glycerol} + ATP \xrightarrow{\text{Glycerokinase (Gk)}} \text{Glycerol-3-phosphate} + ADP$$

$$\text{Glycerol-3-phosphate} + O_2 \xrightarrow{\text{Glycerol-3-phosphate oxidase (Gpo)}} \text{Dihydroxyacetone} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{Parachlophenol} + \text{4-aminoantipyrine} \xrightarrow{\text{Phosphate, Peroxidase}} \text{Quinoneamine} + 4H_2O$$

طريقة العمل

تم استخدام ثلاث أنابيب اختبار هي العينة **sample** ، المحلول القياسي **Standard** والكفىء **blank** ، وحسب الجدول الاتي :-

المحاليل	BLANK	SAMPLE	STANDARD
Sample		**10µ**	
Standard			**10µ**
Blank	**10µ**		
Working Reagent	**1.0 ml**	**1.0ml**	**1.0 ml**

بعدها أضيف 1 مل من محلول العمل Working reagent إلى العينة والمحلول القياسي والكفيء ومزجت المحاليل جيدا ووضعت لمدة 5 دقائق في الحمام المائي بدرجة 37 مئوية ، ثم قرأت الامتصاصية بواسطة جهاز المطياف الضوئي بطول موجي **505 نانوميتر** .

الحسابات :

تم حساب تركيز الدهون الثلاثية على وفق المعادلة الاتية :-

$$\text{Triglyceral concentration (mg/dl)} = \frac{\text{Sample}}{\text{Standard}} * N$$

آذ إن :

N = 200 وهو تركيز المحلول القياسي .

Sample = الامتصاصية الضوئية لعينة المصل .

Standard = الامتصاصية الضوئية للمحلول القياسي .

3-2-5-3 تقدير تركيز الكوليستيرول في الشحوم البروتينية العالية الكثافة

Estimate Cholesterol Concentrations of HDL-Cholesterol

تم تقدير تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL cholesterol بالطريقة الإنزيمية على باستخدام عدة قياس HDL –C (جدول 3-2) وفق طريقة **(Burstein , 1970)** وتعتمد هذه الطريقة على ترسيب دقائق الاستحلاب (الكيلوسية) وLDL و VLDL والموجودة في مصل الدم ويتم ذلك بإضافة معامل الترسيب Precipitating reagent إلى مصل العينات وبعد الانتهاء من هذه العملية وضعت العينات في جهاز الطرد المركزي علماً إن المحلول الناتج بعد عملية الترسيب رائق ويحوي على HDL والذي يمكن قياس مستوى الكوليستيرول فيه باستخدام الكاشف Reagent A من العدة الخاصة بتقدير مستوى الكوليستيرول .

طريقة العمل

تتضمن طريقة العمل في تقدير مستوى HDL cholesterol خطوتين هما :-

1 – الترسيب استخدمت هذه الخطوة لتحضير الراشح (الرائق) وذلك بإضافة 0.5 مل من محلول الترسيب Reagent 1 إلى 0.5 مل من مصل الدم ويمزج جيداً ويترك لمدة 5 دقائق في درجة حرارة الغرفة ، ثم يوضع في جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق بسرعة 3000 دورة / دقيقة .

2 –تقدير كمية HDL- cholesterol

قسم العمل على ثلاثة أنابيب اختبار هي: (العينة ،المحلول القياسي ،الكفىء)

المحاليل	BLANK	SAMPLE	STANDARD
محلول رائق من sample		0.5µ	
Standard			0.5µ
Blank	0.5µ		
Working Reagent	2.0ml	2.0ml	2.0ml

بعدها أضيف 2.0 مل من Reagent إلى المحاليل الثلاثة المذكورة أعلاه ومزجت جيداً ثم تركت لمدة 5 دقائق في الحمام المائي بدرجة حرارة 37 مئوي وبعدها تقرأ الامتصاصية بواسطة جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي **510 نانوميتر** .

الحسابات

تم حساب تركيز HDL cholesterol من القانون الاتي :

$$\text{HDL –C (mg/dl)} = \frac{\text{sample}}{\text{Standard}} \text{ C .STD.} * 2$$

آذ إن :

STD C. = قيمة المحلول القياسي 50 mg / dl

(2) = عامل التخفيف بالمزج مع عامل الترسيب Precipiting reagent

4-2-5-3 تقدير تركيـــز الكوليستيرول فـي الشحوم البروتينية الواطئة الكـثافة

Estimation Cholesterol Concentrations of LDL-C

تـم تقـدير تركيـز الشـحوم البروتينيـة واطئـة الكثافـة LDL – Cholesterol حسـابياً باسـتخدام معادلـة Friedwald equation **(Chotkowska *et al* . , 2001 ; Friedewald *et al.* ,1972) هي :**

LDL-C =TC –(HDL-c +TAG / 5)
mg/dl

5-2-5-3 تقدير تركـــيزالكوليستيرول فـــي الشحـــوم البروتينية الواطئة الكثافة جدا Estimation Cholesterol Concentrations of VLDL-C

تم حساب تركيز VLDL بالاعتماد على المعادلة الموصوفة من قبل **(Friedewald *et al.***

VLDL- C = TAG/5 وهي **,1972)**

6-2-5-3 تقدير تركيز البروتين الكلي Estimation of the Total protein

قـدر مسـتوى البـروتين الكلـي فـي مصـل الـدم بالطريقـة اللونيـة وفقـاً لطريقـة البايوريـت Biuret Method والتي اشار اليها Young (2001) ، اذ اعتمد علـى تفاعل ايونـات النحـاس الموجـودة ضـمن تركيـب كاشـف البايوريـت (وهـو محلـول قاعـدي) مـع ببتيـدات البـروتين (الاواصر الببتيدية للحوامض الامينية) الموجودة في البروتين في وسط قاعدي وتكوين معقد بنفسجي ازرق اللون .

طريقة العمل : يبين الجدول الاتي قياس طريقة قياس البروتين الكلي في مصل الدم

	Blank	Standard	Sample
R(uL)	1.0	1.0	1.0
Standard (uL)	…	25	…
Sample (uL)	…	…	25

مزجت محتويات الانابيب جيداً وحضنت لمدة 5 دقائق عند درجة حرارة 37 درجة مئوية او 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة (15-25) درجة مئوية

7-2-5-3 تقدير تركيز المالونداياالديهايد في مصل الدم Estimation of Malondialdehyde (MDA)

استخدمت طريقة تفاعل حامض الثايوباربيتيورك (Thiobarbituric acid (TBA وحسب هذه الطريقة، قيس تركيز المالونداياالديهايد (MDA) الذي يمثل احد النواتج الرئيسة لعملية اكسدة الدهن ويعد مستواه مؤشرا لهذه العملية، اذ يعتمد القياس على التفاعل بين المالونيلديهايد مع (TBA) (Muslih, *et al*., 2001).

المحاليل المستخدمة :

1-محلول الثايوباراتيورك (TBA- solution)

يحضر بإذابة 0.6 غم من مادة الـ TBA في 100 مللتر من الصودا الكاوية بتركيز 0.05 مولالي باستخدام القليل من التسخين، ويحضر هذا المحلول عند الاستعمال.

2-محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور (TCA-solution) Trichloro Acetic Acid

يحضر هذا المحلول بتركيزين، التركيز الاول 17.5% يحضر بإذابة 17.5 غم من مادة TCA في 100 مللتر من الماء المقطر، والتركيز الثاني 70% يحضر بإذابة 70 غم من المادة نفسها في 100 مللتر من الماء المقطر، ويحفظ في الثلاجة لحين الاستخدام.

طريقة العمل:

1- يؤخذ 150 مايكروليتر من مصل الدم و يضاف اليه 1 مل من محلول TCA بتركيز 17.5%، ويضاف 1 مللتر من محلول TBA الى المزيج، ويرج جيدا وتحضن الانابيب في ماء مغلي لمدة 15دقيقة.

2- تبرد العينات ويضاف اليها 1 مللتر من محلول TCA بتركيز 70 % ويترك المزيج بدرجة 37 مئوية لمدة 20 دقيقة.

3- يفصل الراشح باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة/دقيقة ولـــمدة 5 دقائق .

4- تقرأ الامتصاصية عند الطول الموجي532 نانوميتر باستخدام جهاز المطـــياف الضوئي

ويحسب مستوى MDA حسب المعادلة الآتية :

امتصاصية العينة عند 532 نانوميتر

$$\varepsilon = 1.53 * 10^{5}\ M^{-1}\ cm^{-1}$$

الحسابات: نستخرج تركيز المالوندايلهايد من المعادلة الاتية:

$$serumMDA = \frac{Absorbance}{d\ X \in} X\ D.F$$

Serum MDA:- تركيز المالونداي الديهايد

Absobance-:الامتصاصية (من الجهاز)

d= عرض الخلية (ا سم و هو ثابت)

ε= معامل الممتصية (ثابت)

D.F =معامل التخفيف و يساوي 5.15

8-2-5-3 تقدير تركيزالكلوتاثيون في مصل الدم Estimation of Serum (GSH) Glutathion

تم قياس تركيزالكلوتاثيون في مصل الدم باستخدام طريقة كاشف المان Ellmans المتبعة من قبل (**Burits and Ashwood ,1999**).

المحاليل المستخدمة:

1 - محلول حامض السلفوسالسيليك solution sulfosalicylic acid

يحضر بإذابة 4 غم من حامض السلفوسالسيليك في 100 ملليلتر من الماء المقطر ويحفظ في الثلاجة.

2- محلول دارئ الفوسفات solution phosphate buffer

يحضر بمزج ($0.6\ M\ KH_2PO_4$) و ($0.08\ M\ Na_2HPO_4$) ، ويضبط الاس الهيدروجيني عند 8.

3- محلول كاشف المان Ellmans

يحضر بتركيز 0.1 ملي مول بإذابة 0.00396 غم من مادة
(DTNB) 5-5 dithiobis 2- nitrobenzoic acid في 100 ملليلتر من المحلول المنظم ويحفظ الكاشف في الثلاجة.

طريقة العمل:

1 - مزج حجم متساوي (150) مايكروليتر من مصل الدم ومحلول حامض Sulfosalicylic acid بتركيز 4%.

2– فصل الراشح باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة /دقيقة لمدة 5 دقائق.

3- سحب 150 مايكروليتر من الراشح الى انبوبة اختبار، واضيف اليها 4.5 مللتر من كاشف المانEllmans 0.1 ملي مول، وتترك لمدة 5 دقائق.

4-قرأت الامتصاصية للمحلول باستخدام جهاز الطيف الضوئي عند الطول الموجي 412 تم حساب تركيز الكلوتاثايون في مصل الدم باستخدام المعادلة الاتية :

$$\text{تركيز الكلوتوثايون (ميكرومول/ لتر)} = \frac{\text{Absorbance}}{L * Eo}$$

$$Eo = 13600\ M^{-1}\ CM^{-1}$$

L =light path (Cm)

9-2-5-3 قياس تركيز هرمون الاستروجين Estimation of Estrogen hormone Concentration

تم قياس الهرمونات الانثوية في مصل الدم المأخوذ من حيوانات المجموعة الأولى (G1) وحيوانات المجموعة الثانية (G2) ومجموعة (G3) وذلك بإتباع تقنية Enzyme linked :fluorescent Assya Technique واسم الجهاز (Mini) Bio Merieux VIDAS) مع عدة الفحص الخاصة المتكونة من المواد الآتية:-

1- أشرطة (Strips (STR الخاصة بهرمون Esteroidal : وهي أشرطة جاهزة للاستعمال من 10 حفر wells مغطاة بصفيحة رقيقة ومعلمة برمز Esteroidal لغرض تميزها .

2 – Solid phase receptacles (SPRs) : وهي جاهزة للاستعمال تشبه تماماً (tip) المستعمل في الماصة الدقيقة إلا أنها معلمة في نهايتها العريضة بالرمز Esteroidl لغرض تميزها .

3 - Esteriodl control (C1) : تم تحضيره بإضافة 3 مل $_3$من الماء المقطر ويترك لمدة 5-10 دقائق .

4 - Esteriol calibrator (S1) : تم تحضيره بإضافة 2 ملم $_3$ من الماء المقطر ويترك لمدة 5 – 10 دقائق .

5 – Esteroidl dilutant (R1) : وهو جاهز للاستعمال .

6 – بطاقة Mle : وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسة لبيانات المعايرة المستخدمة في تقويم الاختبار الخاص بتركيز هرمون الاستيرايدول .

اعتمد مبدأ قياس تركيز هرمون الاستيرايدول على طريقة Enzyme immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection

وتعمل مستلمات الطور الصلب (SPRs) عمل الطور الصلب فضلاً عن عملها أداة ماصة في الوقت نفسه لأجل المعايرة . أما المحاليل المستخدمة في المعايرة فهي محاليل جاهزة ومحضرة على أشرطة مختومة Sealed reagents strips مثلما هو موضح سابقاً .

أنجزت خطوات المعايرة أو القياس جميعاً بشكل أوتوماتيكي عن طريق جهاز Minvidas حيث يتحرك وسط التفاعل بشكل دوري من والى SPRs والمحاليل الموجودة مرات عدة .

تم نقل العينة إلى داخل الحفرة الحاوية على Anti-Esteriodl – antibodes المعلمة Alkaline phosphates الرابط . ويتحرك خليط (العينة / الرابط) بشكل دوري من والى SPRs ، وبهذا يرتبط المستضد بالأجسام المضادة SPR وكذلك بالرابط مكوناً بعد ذلك الشطيرة Sandwich .

خلال الخطوات النهائية من المعايرة تتحرك المادة الأساس 4-methly- umbliilferyl phosphate بشكل دوري من والى SPRs . ويقوم الإنزيم بعد ذلك بتحلل المادة الأساس إلى الناتج المشع وهو 4-methly- umbliliferone الذي يتم قياس كمية الإشعاع فيه على طول موجي (450 نانوميتر) ، وتعتمد شدة الإشعاع على التركيز النسبي للمستضد الموجود في العينة وفي نهاية المعايرة حسبت النتيجة بشكل أوتوماتيكي عن طريق الجهاز اعتماداً على المنحني القياسي المخزون في ذاكرة الجهاز وبعدها تم طباعة النتيجة عن طريق الجهاز أيضاً.

طريقة العمل :

تتضمن طريقة العمل الخطوات الآتية :-

1 –وضعت بطاقة M / e الخاصة بعدة الفحص في المكان المخصص لها في جهاز Minividas ليتعرف عن طريقها على الاختبار بشكل اوتوماتيكي آذ بدونها لا يتمكن الجهاز من أظهار النتيجة ومن ثم طباعتها .

2– تم استخدام شريط SPR & STR واحد لكل عينة من مصل الدم القياسي والسيطرة Standard & Control وتوضع في المكان المخصص لها في الجهاز .

3 - تم سحب 100 ml من عينة مصل الدم ووضعت في الحفرة (1) الخاصة بها على شريط Strip (STR) ويتم ذلك لمصل الدم القياسي والسيطرة .

4 - تم إتباع الخطوات الخاصة بالجهاز والموجودة في الـ MANUAL الخاص بالجهاز ، ليقوم الجهاز بالبدء بعملية المعايرة بشكل اوتوماتيكي والتي تستغرق مدة 45 دقيقة .

5- بعد أن تمت المعايرة وطباعة النتائج استخرجت STR و SPR من الجهاز ووضعت في حاوية خاصة تستعمل لمرة واحدة فقط .

10-2-5-3 قياس تركيز هرمون البروجسترون Estimation of progesteron hormone Concentration

يتم قياس الهرمون في مصل الدم المأخوذ من حيوانات المجموعة الأولى (G1) وحيوانات المجموعة الثانية (G2) ومجموعة (G3) وذلك بإتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة المتكونة من المواد الآتية:-

1- أشرطة (Strips (STR الخاصة بهرمون progestron : وهي أشرطة جاهزة للاستعمال من 10 حفر wells مغطاة بصفيحة رقيقة ومعلمة برمز progestron لغرض تميزها .

2 – Solid phase receptacles (SPRs) : وهي جاهزة للاستعمال تشبه تماماً (tip) المستعمل في الماصة الدقيقة إلا أنها معلمة في نهايتها العريضة بالرمز progestronl لغرض تميزها .

3 - progestron control (C1) : تم تحضيره بإضافة 3 مل $_3$من الماء المقطر ويترك لمدة 5-10 دقائق .

4 - progestron calibrator (S1) : تم تحضيره بإضافة 2 ملم $_3$ من الماء المقطر ويترك لمدة 5 – 10 دقائق .

5 – progestron dilutant (R1) : وهو جاهز للاستعمال .

6 – بطاقة Mle : وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسة لبيانات المعايرة المستخدمة في تقويم الاختبار الخاص بتركيز هرمون البروجسترون .

اعتمد مبدأ قياس تركيز هرمون الاستيرايدول على طريقة Enzyme immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection

وتعمل مستلمات الطور الصلب (SPRs) عمل الطور الصلب فضلاً عن عملها أداة ماصة في الوقت نفسه لأجل المعايرة . أما المحاليل المستخدمة في المعايرة فهي محاليل جاهزة ومحضرة على أشرطة مختومة Sealed reagents strips مثلما هو موضح سابقاً .
أنجزت خطوات المعايرة أو القياس جميعاً بشكل أوتوماتيكي عن طريق جهاز Minvidas حيث يتحرك وسط التفاعل بشكل دوري من والى SPRs والمحاليل الموجودة مرات عدة .
تم نقل العينة إلى داخل الحفرة الحاوية على Anti-progestron – antibodes المعلمة Alkaline phosphates الرابط . ويتحرك خليط (العينة / الرابط) بشكل دوري من والى SPRs ، وبهذا يرتبط المستضد بالأجسام المضادة SPR وكذلك بالرابط مكوناً بعد ذلك الشطيرة Sandwich .

خلال الخطوات النهائية من المعايرة تتحرك المادة الأساس 4-methly- umbliilferyl phosphate بشكل دوري من والى SPRs . ويقوم الإنزيم بعد ذلك بتحلل المادة الأساس إلى الناتج المشع وهو 4-methly- umbliliferone الذي يتم قياس كمية الإشعاع فيه على طول موجي (450 نانوميتر) ، وتعتمد شدة الإشعاع على التركيز النسبي للمستضد الموجود في العينة

وفي نهاية المعايرة حسبت النتيجة بشكل أوتوماتيكي عن طريق الجهاز اعتماداً على المنحني القياسي المخزون في ذاكرة الجهاز وبعدها تم طباعة النتيجة عن طريق الجهاز أيضاً.

طريقة العمل :

تتضمن طريقة العمل الخطوات الآتية :-

1 –وضعت بطاقة M / e الخاصة بعدة الفحص في المكان المخصص لها في جهاز Minividas ليتعرف عن طريقها على الاختبار بشكل اوتوماتيكي آذ بدونها لا يتمكن الجهاز من اظهار النتيجة ومن ثم طباعتها .

2– تم استخدام شريط SPR & STR واحد لكل عينة من مصل الدم القياسي والسيطرة Standard & Control وتوضع في المكان المخصص لها في الجهاز .

3 - تم سحب 100 ml من عينة مصل الدم ووضعت في الحفرة (1) الخاصة بها على شريط Strip (STR) ويتم ذلك لمصل الدم القياسي والسيطرة .

4 - تم إتباع الخطوات الخاصة بالجهاز والموجودة في الـ MANUAL الخاص بالجهاز ، ليقوم الجهاز بالبدء بعملية المعايرة بشكل اوتوماتيكي والتي تستغرق مدة 45 دقيقة .

5- بعد أن تمت المعايرة وطباعة النتائج استخرجت STR و SPR من الجهاز ووضعت في حاوية خاصة تستعمل لمرة واحدة فقط .

11-2-5-3 قياس تركيز هرمون محفز الجريبات Estimation of FSH Concentration

يتم قياس تركيز الهرمون وذلك بإتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة بهرمون FSH المتكون من المواد الآتية :

1 –أشرطة Strips (STR) الخاصة بهرمون FSH : وهي أشرطة جاهزة للاستعمال من 10 حفر wells مغطاة بصفيحة رقيقة ومعلمة برمز FSH ، لغرض تميزها .

2 - Solid phase receptacles (SPRs) : وهي جاهزة للاستعمال تشبه تماماً (tip) المستعمل في الماصة الدقيقة الا انها معلمة في نهايتها العريضة بالرمز FSH لغرض تميزها .

3 – FSH control (C1) : تم تحضيره باضافة 3 مل $_3$ من الماء المقطر ويترك لمدة 10- 5 دقائق .

4 - FSH calibrator (S1) : تم تحضيره باضافة 2 ملم $_3$ من الماء المقطر ويترك لمدة 5 – 10 دقائق .

5 - FSH dilutant (R1) وهو جاهز للاستعمال .

6 - بطاقة MIe وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسة لبيانات المعايرة المستخدمة في تقويم الاختبار الخاص بتركيز الهرمون المحفز للجريبات .

اعتمد مبدأ قياس تركيز الهرمون المحفز للجريبات على طريقة Enzyme immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection

وتعمل مسلمات الطور الصلب (SPRs) عمل الطور الصلب فضلا عن عملها بوصفها أداة ماصة في الوقت نفسه لأجل المعايرة، أما المحاليل المستخدمة في المعايرة فهي محاليل جاهزة ومحضرة على أشرطة مختومة Sealed reagents strips مثلما هو موضح سابقاً . أنجزت خطوات المعايرة أو القياس جميعاً بشكل اتوماتيكي عن طريق جهاز Minividas حيث يتحرك وسط التفاعل بشكل دوري من والى SPRs والمحاليل الموجودة مرات عدة . تم نقل العينة الى داخل الحفرة الحاوية على anti – FSH – antibodes المعلمة Alkaline phosphates الرابط . ويتحرك خليط (العينة / الرابط) بشكل دوري من والى SPRs وبهذا يرتبط المستضد بالأجسام المضادة APR وكذلك بالربط مكوناً بعد ذلك الشطيرة Sandwich خلال الخطوات النهائية من المعايرة تتحرك المادة الأساس 4-Methly-umbililiferyl phosphate بشكل دوري من والى SPRs . ويقوم الأنزيم بعد ذلك بتحلل المادة الأساس الى الناتج المشع وهو 4-Methly- umblliliferone الذي يتم قياس كمية الإشعاع فيه على

طول موجي **(450 نانوميتر)** ، وتعتمد شدة الاشعاع على التركيز النسبي للمستضد الموجود في العينة . وفي نهاية المعايرة حسبت النتيجة اتوماتيكي عن طريق الجهاز اعتماداً على المنحني القياسي المخزون في ذاكرة الجهاز وبعدها تم طباعة النتيجة عن طريق الجهاز أيضا .

طريقة العمل :

تتضمن طريقة العمل الخطوات الآتية :

1 - وضعت بطاقة M / e الخاصة بعدة الفحص في المكان المخصص لها في جهاز Minividas ليتعرف عن طريقها على الاختبار بشكل اتوماتيكي إذ بدونها لا يتمكن الجهاز من أظهار النتيجة ومن ثم طباعتها .

2 - تم استخدام شريط SPR & STR واحد لكل من مصل الدم القياسي والسيطرة Standard & Control وتوضع في المكان المخصص لها في الجهاز .

3 - تم سحب 100 µl من عينة مصل الدم وتوضع في الحفرة (1) الخاصة بها على الشريط Strip (STR) ويتم ذلك لمصل الدم القياسي والسيطرة .

4 - تم أتباع الخطوات الخاصة بالجهاز والموجودة في الـ manual الخاص بالجهاز . ليقوم الجهاز بالبدء بعملية المعايرة اتوماتيكي والتي تستغرق مدة 45 دقيقة .

5 - بعد ان تمت المعايرة وطباعة النتائج استخرجت STR و SPR من الجهاز ووضعت في حاوية خاصة تستعمل لمرة واحدة فقط .

3-5-2-12 قياس تركيز الهرمون المحفز للجسم الاصفر (الهرمون اللوتيني)

Estimation of LH Concentration

تم قياس الهرمون اللوتيني بإتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة بالهرمون اللوتيني المتكونة من المواد الآتية:

1 -أشرطة Strips الخاصة بالهرمون اللوتيني LH وهي جاهزة للاستعمال ومثلما هو الحال في أشرطة الهرمون المحفز للجريبات FSH ، فهي تتكون من عشر حفر .

2 - (SPR_2) Solid Phosereceptacles : وهي جاهزة للاستعمال مشابهة تماماً الى SPR_2 الخاصة بهرمون المحفز للجريبات الا انها معلمة بالهرمون اللوتيني .

3- (C1) LH Control : تم تحضره بإضافة 3 ملم ^{3} من الماء المقطر ويترك لمدة 5-10 دقائق .

4 - (S1) LH Calibrator : تم تحضيره بإضافة 2 ملم ^{3} من الماء المقطر ويترك لمدة 5- 10 دقائق .

5 – (R1) LH dilutant : وهو جاهز للاستعمال .

6 - بطاقة MLe : وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسة لبيانات المعايرة المستخدمة في تقويم نتيجة الاختبار الخاص بتركيز الهرمون اللوتيني .

اعتمد مبدأ قياس تركيز هرمون LH أيضاً على Combines enzyme immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection إذ يحدث تنافس بين المستضد الموجود في العينة و المستضد المعلم بـ Anti-LH antibodies المغطية للـ SPR1 وفي النهاية يتكون ناتج مشع تم قياس كمية هذا الإشعاع عن طريق الجهاز بشكل اتوماتيكي . أما بالنسبة لطريقة العمل فقد تم أتباع الطريقة ذاتها المستخدمة في أثناء قياس الهرمون المحفز للجريبات .

6-3 جمع المقاطع النسجية

تم حفظ العينة بعد استئصالها من حيوانات التجربة في محلول الفورمالين بتركيز 10% في عبوات بلاستيكية نظيفة وبعد ثلاثة ايام استخرجت من الفورمالين وغسلت عدة مرات بماء الحنفية وبعدها اجريت عليها سلسلة من العمليات اعتماداً على الطريقة الموصوفة في هذا **(Persnell and Schreibman ,1997)**

3-6-1 الانكاز والترويق Dehydration and Clearing

تم سحب الماء من النسيج وذلك بتمرير النماذج في سلسلة تراكيز تصاعدية من الكحول الاثيلي (70%، 80%، 90%، 95%، 100%) ولمدة ساعتين في كل تركيز بعدها روقت النماذج بوضعها في الزايلين لمدة ساعتين.

3-6-2 التشريب Infiltration

بعد الانتهاء من عملية الترويق نقلت النماذج الى قناني حاوية على خليط من شمع البرافينParaffin wax (ذي درجة انصهار 57-60ْم) المنصهر والمرشح والزايلين بنسبة 1:1 لمدة نصف ساعة داخل فرن كهربائي درجة حرارته 60ْم وذلك لابقاء الشمع منصهراً ولضمان تمام عملية التشريب الكامل للنماذج بالشمع نقلت الى قناني اخرى حاوية على شمع البرافين داخل الفرن ايضاً لمدة ساعة واحدة ثم نقل مرة اخرى الى قناني اخرى حاوية على شمع البرافين لمدة ساعة واحدة ايضاً.

3-6-3 الطمر Embedding

تم عمل قوالب من الشمع حاوية على نماذج العينات وذلك بصب الشمع في قوالب بلاستيكية خاصة طمرت فيها النماذج وتركت في درجة حرارة المختبر لتتصلب ثم فصلت عن القالب وحفظت حتى وقت تقطيعها

3-6-4 التقطيع Sectioning

تم استخدام جهاز المشراح اليدوي Rotary Microtome لتقطيع النماذج وبسمك تراوح ما بين 5-6 مايكروميتر، ثم حملت اشرطة المقاطع على شرائح زجاجية Slides نظيفة وممسوحة بآح ماير بعد ان وضعت في حمام مائي درجة حرارته 45-50ْم لمدة دقيقة- دقيقتين لضمان فرش المقاطع بعدها تركت على صفيحة ساخنة Hot Plate لتجف بدرجة حرارة 37ْم.

3-6-5 التصبيغ والتحميل staining and Mounting

صبغت جميع المقاطع النسجية باستخدام صبغة هيماتوكسلين- ايوسين-Haematoxylin Eosin stainاذ وضعت الشرائح في الزايلين لمدة 5 دقائق للتخلص من الشمع ثم مررت بسلسلة

تراكيز تنازلية من الكحول الاثيلي (100%، 100%، 90%، 80%، 70%، 50%) لمدة دقيقتين في كل تركيز بعدها صبغت بصبغة الهيماتوكسلين لمدة دقيقة واحدة ثم غسلت بالماء المقطر لمدة دقيقتين بعدها غطست بالكحول الحامضي لمرتين او ثلاث مرات لازالة الصبغة الزائدة ثم صبغت بصبغة الايوسين لمدة ربع دقيقة ونقلت بعدها الى سلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (50%، 70%، 80%، 90%، 95%، 100%، 100%) ولمدة دقيقتين في كل تركيز ما عدا التركيز الاخير وضعت فيه لمدة 5 دقائق ثم روقت بالزايلين بمرحلتين في كل مرحلة لمدة 10 دقائق بعدها اجريت عليها عملية التحميل باستخدام بلسم كندا Canada Balsam لتثبيت غطاء الشريحة ثم تركت على صفيحة ساخنة لتجف لمدة 8 ساعات لتكون جاهزة للفحص .

3-6-6 التصوير المجهري Microphotography

تم تصوير المقاطع النسيجية بأستخدام مجهرضوئي نوع Olympus light microscope مزود بكاميرا رقمية Digital Camera نوع OLympus عالية الدقة.

3-7 التحليل الاحصائي Statistical analysis

تم اجراء التحليلات الاحصائية باستخدام البرنامج الاحصائي (SPSS, V20) وصممت التجربة على وفق التصميم العشوائي التام (C. R. D) واستخدام اختبار Anova tabal لدراسة تأثير المجاميع في الصفات المدروسة وقورنت الفروق بين المتوسطات باختبار اقل فرقاً معنوياً (L.S.D)**(زغلول ، 2003).**

3- 8 التصبيغ الكيميائي النسجي المناعي :- Immunohistochemistry

بعد ان تم طمر النسيج الحيوي (المبيض) بشمع البرافين Paraffin embedded blocks والمثبت مسبقا بالفورمالين قطعت الخزع النسجية باستخدام جهاز microtome الى شرائح نسجية سمك الواحدة منها يتراوح (3-5) مايكرون وثبتت على سلايدات خاصة تسمى positively charged تعمل على تثبيت النسيج وابقاءه بمكان واحد اثناء التصبيغ .

اعتمدنا في تلوين المقاطع النسجية بالصبغة الكيميائية النسجية المناعية على طريقة الشركة الصانعة للأضداد المناعية وهي شركة DAKO الدنماركية والتي كانت على وفق التسلسل الاتي:-

3- 8- 1:Dewaxing and Rehydration

توضع السلايدات الحاوية على المقاطع النسجية في فرن كهربائي لمدة 30 دقيقة وبدرجة حرارة 60 C لإزالة الشمع بعدها توضع السلايدات في الزايلول Xylene لمدة 10 دقائق مرتين ثم تمرر في سلسلة من الكحول والزايلين ولمدة 5 دقائق في كل تركيز حسب التسلسل التنازلي الاتي:- (Xylene 100% - Xylene 100% - Ethanol %100 - 95 % Ethanol 90% Ethanol -70% Ethanol). بعدها تغسل السلايدات بماء مقطر لمدة 5 دقائق .

3-8-2: Retrieval Antigen :

هي عملية تنشيط واظهار المستضد المخفي بالنسيج وازالة بقايا الشمع بشكل كامل وتسهيل تفاعله مع الجسم المضاد المحضر في الكت ، تغمر السلايدات في محلول citrate buffer المسخن بدرجة حرارة 95 درجة مئوية لمدة نصف ساعة (citric acid 2ml : 98 ml D.W)وبعدها تترك السلايدات لتبرد في درجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة .

3- 8-3: Washing buffer :- تغسل السلايدات بمحلول Phosphate buffer (PBS (solution (تم تخفيف مقدار 5g من فوسفيت بفربواحد لتر من الماء المقطر) وبعدها الاستعانة بورق نشاف لأزاله المحلول الزائد .

3-8-4- : معاملة النسيج مع بيروكسيد الهيدروجين Treat the section with hydrogen peroxide

((prevention of endogenous staining اضافة من 3 الى 5 قطرات hydrogen peroxide على السلايدات الحاوية على النسيج وتترك لمدة 15 دقيقة .

3-8-5: **Washing buffer**:- تغسل السلايدات بمحلول PBS لمدة 2 - 5 دقائق واستعمال ورق نشاف لازالة المحلول الزائد

3- 8-6: Incubation with Primary Ki67 antibody:- اضافة الجسم المضا د الاولي Ki67 الجاهز للاستعمال بمقدار 100 مايكروليتر الى السلايدات الحاوية على النسيج الحيوي وتوضع بالحاضنة عند درجة حرارة $25^{o}C$ لمدة 30 دقيقة .

3-8-7 :Washing buffer: - تغسل السلايدات بمحلول PBS مرتين ولكل مره 10 دقائق ثم يزال المحلول الزائد بمحلول النشاف .

3- 8- 8 :Incubation with Secondary antibody (biotinlated link):- اضافة 3 الى 5 قطرات من الجسم المضاد الثانوي المحضر بالkit الخاص بالصبغة الكيميائية المناعية الى المقاطع النسجية وتوضع بالحاضنة لمدة 15 دقيقة وبدرجة حرارة الغرفة $25^{o}C$

3- 8-9: Washing buffer:- تغسل السلايدات بمحلول PBS مرة واحدة ولمدة 10 دقائق وازالة المحلول الزائد باستعمال ورق نشاف .

3- 8-10 :Conjugate –enzyme: - اضافة 100 مايكروليتر (**Streptavidin – peroxides (label** الى المقاطع النسجية ويترك بالحاضنة لمدة 15 دقيقة .

3- 8-11:Washing buffer : تغسل السلايدات بمحلول **PBS** لمدة دقيقتين وبعدها ازالة المحلول الزائد بورق نشاف.

3 -8-12:DAB-substrate and DABchromogen :- اضافة قطرة واحدة -DAB chromogen الى (1ml) من DAB-substrate ويمزج جيدا ثم تضاف 100 مايكروليتر من المزيج الى المقاطع النسجية وتترك لمدة 10 دقائق بالحاضنة بدرجة حرارة الغرفة .

3-8-13: تغسل العينات **بالماء المقطر Deionzed water** ولمدة دقيقتين **.**

3-8-14:تلون المقاطع النسجية بصبغة **Mayers Hematoxylin** لمدة دقيقتين بعدها تغسل السلايدات جيدا بماء الحنفية لمدة دقيقة .

3-8-15 Dehydration and Clearing:

تم سحب الماء من النسيج وذلك بتمرير النماذج في سلسلة تراكيز تصاعدية من الكحول الاثيلي والزايلين (Xylene 100% - Xylene 100% - Ethanol %100 - 95 % Ethanol Ethanol%90 - Ethanol% 70).ولمدة دقيقتين لكل تسلسل .

3-8-16 Mounting slides:- يتم تغطية العينات بمادة لاصقة ثم وضع cover slides لتثبيت العينات ويتم فحصها تحت المجهر الضوئي .Microscop Olympus BX21 وكاميرا Olympus D72

ملحوظة :- كل الخطوات السابقة تتم بدرجة حرارة الغرفة والمحافظة على وضع السلايدات بشكل افقي وضرورة بقاءها رطبة .

*** Positive control :-** تحضير مقطع نسجي لنسيج حيوي مصاب بالسرطان لملاحظة وضوح الصبغة المناعية النسجية **(الكروموجين)** في اكثر من 40% من نوى الخلايا السرطانية (خلايا لمفاوية مصاب بالسرطان)

*** Negative control :-** تحضير مقطع نسجي لنسيج المبيض لجرذان مجموعة السيطرة ومقارنتها مع المعاملات الاخرى في الدراسة الحالية .

***قراءة النتائج :-** يستعمل Ki67 لتحديد الاورام السرطانية بالاعتماد على التقدير الكمي لحساب النسبة المئوية للخلايا المصبوغة ،حيث تعد الخلايا مصبوغة النوى ايجابية بغض النظر عن قوة الصبغة. فاذا كانت النسبة المئوية في النسيج اقل من 2% تمثل **low grad** للمرض السرطاني ،اما اذا كانت النسبة المئوية 2-10% فتمثل **intermediate grad** للسرطان ، اما اذا كانت النسبة المئوية اكبر من 10% فتمثل **high grad** ،اما في حالة عدم وجود الخلايا المصبوغة فالنتيجة سالبة ولا توجد خلايا سرطانية بالنسيج.

1-4 تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية المؤينة X-ray على بعض المعايير الدموية (RBC, Hb , WBC, PLT) في اناث الجرذ الابيض

اظهرت نتائج الجدول (4-1) الى وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في اعداد كريات الدم الحمر RBC في مجموعه الجرذان المعرضة للأشعة السينية G2 خلال فتره التجربة وبجرعة اشعاعية مقدارها 80kv لمده شهر كامل ، وحيوانات المجموعة الثالثة G3 المعرضة للأشعة السينية بجرعه اشعاعية 80kv لمده شهرين متتالين مقارنه بمجموعة السيطرة G1 ، ويلحظ من الجدول وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في G3 بالمقارنة مع G2

كما يشير الجدول الى وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في عدد خلايا الدم البيض WBC معدل الهيموغلوبين Hb و عدد الصفيحات الدموية في مجموعتي الجرذان المعرضة للأشعة السينية خلال فتره التجربة في G2 , G3 مقارنه بمجموعه السيطرة G1، ويلحظ من الجدول وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في G3 بالمقارنة مع G2.

جدول (4-1) يبين تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية المؤينة X-ray على بعض المعايير الدموية (PLT, RBC, Hb,WBC) في اناث الجرذ الابيض

المجموعة / المدة	كريات الدم الحمراء $RBC \times 10^{12}/L$	الهيموغلوبين Hb ml /dl	خلايا الدم البيض $WBC \times 10^{9}/L$	الصفيحات الدموية $PLT \times 10^{9}/L$
G1	6.31 ± 0.04 A	13.16 ± 0.15 A	12.33 ± 0.12 A	864.50 ± 11.96 A
G2	5.69 ± 0.12 B	11.18 ± 0.38 B	11.75 ± 0.18 B	756.75 ± 32.86 B
G3	3.60 ± 0.14 C	7.89 ± 0.26 C	6.69 ± 0.11 C	388.00 ± 23.79 C

المعدل ± الخطأ القياسي ، n= 8 / مجموعة
الحروف الكبيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال ($P < 0.05$)، G1 مجموعة حيوانات السيطرة .G2 مجموعة الحيوانات المعرضة للأشعة السينية لمدة شهر،G3 مجموعة الحيوانات المعرضة للأشعة السينية لمدة شهرين .

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان تعرض حيوانات التجربة للأشعة السينية المؤينة في المجموعتين الثانية والثالثة ادى الى وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستويات المعايير الدموية (PLT, WBC, Hb,RBC). وقد جاءت هذه النتائج متفقه مع **(Hashem and sharkawy،2009) و (Abdel Aziz *et al* ; 2010) و (Osman and Hamza,2013)**

أن التعرض للأشعة السينية المؤينة بشكل مباشر او غير مباشر يتسبب في توليد الجذور الحرة Free radicals وزياده معدلات الاجهاد التأكسدي الذي يؤدي الى حدوث خلل في الوظائف الحيوية للجسم وحالة عدم التوازن بين مضادات الأكسدة –والمواد المؤكسدة وارتفاع معدلات عمليات الأكسدة وخاصة الأكسدة الفوقية للدهون lipid peroxidation **(Nordbeg and Arner,2001)** وبالتالي زياده الاضطرابات الأيضية الفسلجية والتغيرات المرضية في اغلب المعايير الدموية والكيموحيوية. **(Elmasry and Saad , 2005 ; Ammar , 2009)** ، يعد نسيج الدم ومحتواه الخلوي بشكل خاص من الأنسجة شديده الحساسية للإشعاع المؤين والاجهاد التأكسدي بسبب كون الأغشية البلازمية لخلايا الدم غنيه بالأحماض الدهنية الغير مشبعة ومعرضة بشكل كبير لمهاجمة الجذور الحرة وتوليد سلسلة من تفاعلات الأكسدة بعملية lipid peroxidation وتلف اغلفتها البلازمية **(Ma *et al* ; 2012)**.

و قد يعود السبب في انخفاض المعايير الدمية الى حدوث اضطرابات مرضية في بعض الأنسجة المولدة لخلايا الدم كنقي العظم والطحال وحدوث خلل في نظام تكوين خلايا الدم hemopoietic system وتثبيط عمليه الانقسام الاعتيادي mitotic للخلايا المولدة الاحتياطية في نقي العظم bone marrow precursors . و يسبب تأثير الاجهاد التأكسدي المتزايد تلف لخلايا الدم الناضجة المتخصصة في الدورة الدموية واتلافها **(Ramadan , 2007 ; Hassan *et al* ; 1996)** ، وكذلك فان التعرض الى الجرعات العلاجية العالية سواء أكانت اشعاعية ام كيمياوية في معالجة الاورام السرطانية لها تأثير سلبي في نخاع العظم مما يؤدي الى هبوط في تكوين خلايا الدم **(Muralikrishman & Shyamaladevi, 1996).**

ان تعرض الجسم لجرعة اشعاعية عالية يؤدي الى نقص في عدد RBC وهو امر بغايه الخطورة لما لها دور مهم في تزويد انسجة الجسم بالأوكسجين الضروري لادامتها مما يؤدي الى اضعاف الجسم بشكل عام اضافه الى الضرر الذي يصيب الاعضاء لقله الاوكسجين الواصل اليها **.(Baranov and Konchalovski *et al* ; 1988)**

كما اشار **(Desnoyers, 2000)** ان عمل الجذور الحرة هو مهاجمة وتحطيم اغشيه الكريات الحمر وتأكسد الدهون الموجودة في هذه الاغشية وتؤدي الى تفكيكها او انحلالها ، وان هذا الضرر الذي يصيب الكريات الحمر يتم عن طريق اكسده ايونات الحديد الثنائية الحديديوز (Fe^{+2}) في جزيئه الهيموغلوبين وتحولها الى الحديديك (Fe^{+3}) ، وخاصه جذر الهيدروكسيل **HO°** الذي يسبب اتلاف الأغشية الخلوية واغشيه بيوت الطاقة واكسده الاحماض الدهنية غير المشبعة poly unsaturated fatty acid(PUSFA) المتواجدة بنسبه عالية في الأغشية البلازمية لخلايا الدم كما تؤثر الجذور الحرة على نشاط المستقبلات الغشائية وعلى نفاذية الأغشية ، **(Ornoy, 2007)** .اذ يعمل جذر الهيدروكسيل على مهاجمة الانزيم المختزل للميتاهيموغلوبين الموجود في كرية الدم الحمراء وهو مسؤول عن تحويل الميتاهيموغلوبين الى الاوكسيهيموغلوبين **(Barham *et al.* ,2004)**

إذ أن كريات الدم الحمر ليس لها القدرة على إعادة توليد هذا الإنزيم نتيجة لافتقادها إلى النواة ونتيجة لاستنفاذ هذا الإنزيم لذلك تكون كريه الدم الحمراء أكثر عرضة للإضرار التأكسدية ولتكون أجسام هينز (Henz ,Bodies) وبالتالي تكون أكثر عرضة للتكسر في جيوب الطحال الضيقة **(Josef , 2007)** والذي يؤدي إلى حصول انخفاض في معدل أعداد كريات الدم الحمر RBC والهيموكلوبين Hb ,أو تكون كريات الدم الحمر التي وصلت إلى الدم المحيطي تحمل كمية إضافية من α-globin الذي يعمل على زيادة تكون أجسام هينز وزيادة مستوى ROS الذي بدوره يؤدي إلى تحطم كريات الدم الحمر وتسريب صبغه الهيموغلبين خارجها وهي من اهم اثار الاصابة الاشعاعية مما يؤدي الى انخفاض معدلات الهيموغلوبين **.(Khani *et al* ;2007 ; Bank , 2005)**

كما ذكر(**Coskun واخرون 2003**) ان نقص في كريات الدم الحمراء قد يعود الى خلل ايضي وظيفي للكريات الحمر يصاحبه قصر في عمرها(Short life-Span) عند التعرض للأشعة المؤينة . كما اشار (**Kowluru *et al*.,1989**) الى انخفاض نشاط الانزيم Na-K-ATPase في أغلفة الكريات الحمر وهذا يؤدي الى زيادة في حجم الخلايا وهشاشتها الاوزموزية Osmotic fragility وانخفاض في قابليتها الترشيحية Filterability ويقود ذلك الى حدوث اضطرابات في الدوران الشعيري مما ينجم عنه تحلل عددا من الكريات وحدوث الانيميا Anemia ، يضاف الى ذلك التغيرات في مكونات اللبيدات الغشائية والتي تؤدي الى تغيير في مرونة Fluidity كريات الدم الحمر مسببة تحللها بسهولة **(Ishimura *et al* , 1998).**

تعد كريات الدم البيض WBC شديده الحساسية للأشعة المؤينة ومؤشر بايلوجي لتشخيص وكشف الإصابة الإشعاعية ، كما يؤثر الاشعاع المؤين على الجهاز المناعي وحدوث خلل في قدرته على ازالة الحطام الإشعاعية ونقصان في المستضدات الحيوية الخاصة لخلايا الدم البيض والإصابة بالأنيميا Hemolytic anemia**(Moen *et al* ; 1984).** كما قد يعود سبب انخفاض عدد الصفيحات الدموية PLT الى تأثير الاشعاع المؤين بشكل مباشر او غير مباشر بتثبيط عملية تكوينها thromboiesis وحدوث النزف **الدموي (Hussein *et al* ;2007 ; Ashry, 2003 ; lee and Ducoff ,1994)** . ان تعرض اجزاء واسعه من نخاع العظم للإشعاع يؤدي الى خفض معدل RBC وخطر فقر الدم المتكون نتيجة هذا النقص ، اضافه الى سهوله حدوث النزف وفقد القدرة على التام الجروح باي موضع من الجسم **(Chen ,2004)** .

اما **(Akleyev and Varfolomeyeva,2007; Attar *et al* ; 2007)** فقد بينوا ان خلال فتره هبوط معدلات خلايا الدم الى مستويات حرجة سوف يكون المريض عرضة لعدة مخاطر اهمها ضعف في الجهاز المناعي ، وان حدوث أي خلل في هذا الجهاز يؤدي الى سهوله انتقال العدوى المختلفة دون القدرة على مقاومتها **(UNACEAR, 2008)**.

2-4 تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية المؤينة X-ray على مستوى تركيز مرتسم الدهون (TG , TC , HDL, HDL, LDL, VLDL) والبروتين الكلي T- Protein في مصل اناث الجرذ الابيض

اظهرت نتائج الجدول (4-2) الى وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى تركيز الكوليسترول الكلي TC في مجموعه الجرذان المعرضة للأشعة السينية X-ray لمده شهر G2 وشهرين G3 مقارنة مع مجموعه السيطرة G1. كما لوحظ وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في G3بالمقارنة مع مجموعه G2 .

واشار الجدول الى وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$)في مستوى تركيز الكليسريدات الثلاثية TG في الجرذان المعرضة للأشعة السينية خلال فترة التجربة في G2 و G3 مقارنة بمجموعة السيطرة G1 .ونلحظ من الجدول وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في G3 مقارنه مع G2

اظهرت نتائج الدراسة الحالية كما مبينة بالجدول (4-2) وجود ارتفاع معنوي($P < 0.05$) في معدل تركيز الدهون البروتينية الواطئة الكثافة LDL-C والدهون البروتينية الواطئة الكثافة جدا VLDL-C في الجرذان المعرضة للأشعة السينية خلال فترة التجربة في G2 G3,بالمقارنة بمجموعة السيطرة G1 كما نلحظ بالجدول وجود ارتفاع معنوي($P < 0.05$) في معدل تركيز VLDL-Cو LDL-C في G3 بالمقارنة مع G2 .

واظهرت نتائج الجدول وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى الكليسترول في الدهون البروتينية العالية الكثافةHDL- C ومستوى البروتين الكلي Total -protein في الجرذان المعرضة للأشعة السينية خلال فترة التجربة للمجموعتين G2و G3 مقارنه بمجموعه السيطرةG1 , ونلحظ وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) فيHDL، Total-protein في G3 مقارنه مع G2.

جدول (4-2) يبين تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية X-Ray على مستوى تركيز مرتسم الدهون (TG,TC,HDL, LDL, VLDL) (mg/dl) ومستوى تركيز البروتين الكلي Total- Protein في اناث الجرذ الابيض

المعايير / المعاملات	الكلسترول الكلي mg/dl	الكليسيريدات الثلاثية mg/dl	الكليسترول في الدهون البوتينية العالية الكثافة mg/dl	الكليسترول في الدهون البروتينية الواطئة الكثافة mg/dl	الكليسترول في الدهونالبروتينية الواطئة الكثافة جدا mg/dl	البروتين الكلي T-proteine mg/dl
G1	75.75 ± 0.45 A	73.00 ± 0.42 A	31.50 ± 0.46 A	29.80 ± 0.45 A	14.6 ± 0.24 A	8.21 ± 0.16 A
G2	91.63 ±0.38 B	85.50 ± 0.57 B	23.63 ±1.03 B	50.90 ± 1.03 B	17.1 0.32 ± B	7.00 ±0.13 B
G3	163.63 ±0.68 C	94.75 ± 0.73 C	21.00 ± 0.46 C	123.68 ± 0.76 C	18.95 0.41 ± C	6.20 ± 0.12 C

المعدل ± الخطأ القياسي ، n= 8 / مجموعة
الحروف الكبيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال (P <0.05)، G1 مجموعة حيوانات السيطرة .G2 مجموعة الحيوانات المعرضة للاشعة السينية لمدة شهر،G3 مجموعة الحيوانات المعرضة للأشعة السينية لمدة شهرين .

ان نتائج الدراسة الحالية توضح وجود زياده معنويه (P <0.05) في مستويات تركيز كل من الكولسترول الكلي والكليسيريدات الثلاثية والدهون البروتينية الواطئة الكثافة والدهون البروتينية الواطئة الكثافة جدا وانخفاض معنوي (P <0.05) في مستوى تركيز الدهون العالية الكثافة ومستوى البروتين الكلي في مجموعتي لمعامله الثانية والثالثة مقارنه بالسيطرة وهذه النتائج جاءت متفقه مع نتائج (**Abou Safi et al ;2005** ; **Ragab and Ashry ,2004** ;**Zahran *et al*;2003**) وتتفق ايضاً مع **(Nada,2008 ; Said and Azab, 2006**

وقد يعزى سبب الزيادة في مستوى الكليسترول الى تأثير الاشعاع المؤين في تسريع المسارات الأيضية البايلوجية لتصنيع الكوليسترول في الكبد والأنسجة الدهنية وذلك بتحفيز نشاط انزيم Cholesterol Acyl Transferase فيرتفع تركيز الاحماض الدهنية الحرة (FFA) Free Fatty Acid في بلازما الدم وفي الكبد تتحول الاحماض الدهنية الحرة الى الدهون المفسفر Phospholipid والى Acetyl-coAالذي يدخل في صناعه الكوليسترول والاجسام الكيتونية التي تتحرر الى الدم مسببه حدوث ارتفاع الكوليسترول hypercholesterolemia و قد يكون السبب

الى ان الاستمرار بالتعرض للأشعة المؤينة يكون مصحوبا باضطرابات في الوظيفة الايضية للكبد نتيجة ارتفاع معدل الاجهاد التاكسدي الدهن ومهاجمه الاحماض الدهنية غير المشبعة في اغشية الخلايا البلازمية واغشية المايتوكوندريا وتمزيقها **(Nagesware *et al* ;2007)**

ان التجمع المفرط للجذور الحرة في الخلايا الكبدية يؤدي خلل في عملية توازن الدهون Lipid homeostasis مما يؤدي إلى تغيير فعالية إنزيم Hydroxyle-3-methylglutary-Co-enzyme A(HMG-CoA) الذي يؤدي إلى حدوث اضطرابات لا سترات الكوليسترول Cholesterol esters وهبوط فعالية إنزيم Lipoprotein lipase وبالتالي زيادة نسبة الأحماض الدهنية الحرة Free Fatty Acids في الدم **(Choie *et al*.,2001 ;Mateo-Gallepo , 2010)** ، ان ارتفاع الدهون الثلاثية في مصل الدم ناتج من زياده فعالية المرافق الأنزيمي (HMG-CoA) الذي يعد مفتاحا ضروريا لبدء التفاعلات الحيوية لاعادة بناء المكونات الحيه للأغشية الخلوية **(Kolomijtseva, 1986)** فزياده الدهون الثلاثية بعد التعرض للأشعة السينية ينتج عنه تثبيط في فعالية Lipoprotein lipase وبالتالي قله تراكم هذه الشحوم في الخلايا الدهنية Adipose cells اضافة الى قلة اكسده الاحماض الدهنية **(Sedlakova *et al* ; 1998)** .

كما إن زيادة تراكم الجذور الحره في الكبد قد يؤدي إلى زيادة نسبة السايتوكاينينات الكبدية مثل: (TNF-α) و(IL-1β) tumar necrosis interleukin التي تعمل على زيادة مستويات Cholesterogenic enzyme مثل: HMG-Co A- reductase وانخفاض تركيز إنزيم Cholesterol7 α-Hydroxylase المسؤول عن عملية تقويض الكوليسترول في الكبد **(Kojima *et al*.,2004)**، فضلا عن أهمية ما ذكره **(Dabbagh *et al* ., 1997)** حول تحسس مستقبلات LDL-receptors المتواجدة في جدران الأوعية الدموية لتجمع البروتينات الدهنية في البلازما مما يؤدي إلى ارتفاع نسبة TG, VLDL, LDL,في المصل ،إن تجمع LDL في المصل يكون له القابلية على أكسدة جزيئات LDL إلى ox-LDL وهذا ينتج العديد من الاوكسي ستيرول Oxysterol التي لها القابلية على تثبيط فعالية مستقبلات LDL وتحفيز فعالية إنزيم Cholesterol acyl transferase مؤديا إلى زيادة تكوين أسترات الكوليسترول**;** **(Brunet *et al* . 1999)**.كما يوثر الإجهاد التأكسدي وبشكل مباشر على زيادة في تركيز الكولسترول في LDL الذي له دور في تجمع الصفيحات الدموية وانخفاض زمن التخثر**(العقيلي**

lipoprotein -C ،او بسبب تأثير الاجهاد التأكسدي على البروتينات الداخلة في تركيب **2009)** B LDL **(Burcham et al;2002)** ويمكن ان يعزى سبب ارتفاع LDL الى انخفاض فعالية انزيم lipoprotein lipase مما يؤدي الى عدم تحلل الكلسيريدات الثلاثية وتحول معظم VLDL الى LDL مما يؤدي الى ارتفاع مستواه في مصل الدم ويكون غير مرغوب فيه لكونه يشكل عامل خطورة للإصابة بأمراض القلب **(Daisy *et al* , 2009)**. او قد يعزى السبب في ارتفاع LDL كما اشار **Karbowink and Reiter (2000)** ان التعرض للأشعة السينية يؤدي الى تحلل جزيئات الماء في الخلية وينتج عن هذا التحلل جذور الهدروكسيل **OH**· والتي تتفاعل مع PUSFA في الاغشية الحيوية وانتاج الالديهايدات السامة التي تتفاعل مع نواقل البروتينات الدهنية lipoprotein B لجزيئة LDL-C منتجه مركبا يمكن تميزه من قبل مستقبلات الخلايا البلعومية Macrophage Receptors، وينتج من هذا الارتباط تكون الخلايا الصابونية Foam cells وبالتالي تدمير الاغشية الخلوية وتصلب الشرايين مما يزيد من مخاطر الاصابة بأمراض القلب**(E-Batal *et al* ; 2008)**

إن مستويات تركيز HDL-C في المصل ترتبط بعلاقة عكسية مع مستويات تركيز LDL-C إذ يكون للـ LDL- C دور في النقل العكسي للكوليسترول إذ ينقله من الأنسجة المحيطية إلى الكبد لذلك فان زيادة LDL-C تسبب نقصان HDL-C **(Pischon *et al*., 2005)** . كما تؤدي الشدة التأكسدية الناتجة من التعرض المزمن للأشعة السينية المؤينة الى تغيرات في نوعية جزيئات HDL-C كما انها تسبب في زيادة معدل هدم البروتينات الداخلة في تركيب الHDL-C Apolipoproteins مؤدياً الى انخفاض HDL-C ومن ثم تعطيل عملية نقل الكوليسترول من الدم الى الكبد (**Burcham *et al* ; 2002**). كما اشارت الدراسة الحالية الى زياده معنويه في مستوى تركيز الدهون البروتينية الواطئة الكثافة جدا VLDL في المجوعتين الثانية والثالثة مقارنه بمجموعه السيطرة وقد يعود السبب الى تثبيط فعالية انزيم Lipoprotein lipase وانخفاض معدل ايض VLDL وتثبيط البروتين الناقل للاستروكوليستيرول cholesterol ester transfer protein (CETP) والذي يقوم بنقل TGالى VLDL-C ومن ثم ارتفاع مستواه في مصل الدم **(Kovar *et al*.,2004)** نتيجة نقصان عدد مستقبلات VLDL مسبباً عدم دخوله للأنسجة وبقاءه في المجرى الدمويVLDL **(Iwasaki *et al*; 2005)** .

يشكل البروتين احد المركبات المهمة التي تتكون منها الأغشية الخلوية وانسجه الجسم ، يصنع ويفرز البروتين في مختلف الخلايا بالاعتماد على طبيعة ونوع البروتين المطلوب ومن اهم وظائفه المحافظة على التوازن الطبيعي لسوائل الجسم عن طريق السيطرة على التوازن الاوزموزي بين سوائل الجسم والدم وبين الدم والاغشية الخلوية ونقل الدهون والهرمونات والمعادن الغير العضوية (**Harpev, 1997**) وبينت الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي في مستوى البروتين الكلي وهذا يتفق مع نتائج (**Haggage *et al* ; 2008 ; Abou Safi *et al* ; 2005**) .

ان التأثير المباشر وغير مباشر للأشعة السينية المؤينة يؤدي الى حدوث اكسدة الدهون Lipid peroxidation للجزيئات الكبيرة وخاصه التي تتواجد في تركيب الاغشية الخلوية كالدهون والبروتينات ومكوناتها العضوية واللاعضوية حيث تعمل على تغير الخصائص الفيزيوكيميائية لطبقات الدهون المكونة للأغشية فتؤدي الى تلف الخلايا والأنسجة مما يؤدي الى خلل في الفعالية الخلوية مثل السيولة والنفاذية اضافة الى تعطيل وظائف عدة انزيمات مرتبطة بالأغشية ومستقبلات البروتينات، كما تؤدي عوامل الاجهاد التأكسدي الى تحفيز تحلل البروتينات protolytic (**Gullbahar *et al* ; 2009**)، او قد يعزى سبب انخفاض مستوى البروتين الكلي الى التأثير الضار للأشعة السينية على الكبد والكلية وتغير في نفاذية نسيج الكبد والكلية وحدوث اضطرابات بايلوجية في عملية تصنيع البروتينات في الكبد ، و انخفاض معدلات صناعه انواع البروتينات في البلازما كالالبومين والكلوبيولين نتيجة تلف خلايا الكبد(**Kafafy and Ashry , 2001 ; Smarth *et al* ; 2001**) .

تتميز اضافة الاوكسجين الفعالة ROS ولاسيما جذر الهيدروكسيد °OH بقدرتها على مهاجمة جميع الجزيئات الحيوية داخل الخلية ومنها الجزئيات البروتينية بعملية اكسدة البروتين Protein peroxidation مؤدية الى اتلاف البروتين (**Deen *et al* ;1997 ;Ilhan *et al* ;2004**) وقد يؤدي تعرض البورتين للجذور الحرة بوجود الاوكسجين الى توليد اصناف من المركبات الضارة بالوظائف البايولوجية والتركيبة للخلية ومن ثم تفاقم الاضطرابات المصاحبة لعدد من الحالات المرضية. فعند تفاعل جذر الهيدروكسيد او اي نوع اخر من الجذور الحرة مع البروتين فانه يتم سحب ذرة هيدروجينية من البروتين ليعطي جذر Protein radical ليعطي جذراً اخر هو جذر ببروكسيل البروتين (POO) Protein peroxyl radical كذلك يمكن ان يتفاعل جذر

بيروكسيد السالب ليعطي ايون بروتين بيروكسيل (Protein peroxyl anion) وان هذه العملية التي تمثل الاذى الحاصل بفعل الجذور الحرة العملية التي تعد الاذى المحدث في البروتين بفعل الجذور الحرة. **(Earla and Barbara, 1997 ; Gibicki and Gebicki, 1993)**.

وعند تعرض البروتين الى انواع الآوكسجين الفعالة Reactive oxygen species بوجود الاوكسجين فانه يؤدي الى حدوث تغيرات في الجزيئات الهدف مثل اكسدة جانب السلسلة وحدوث تغيرات في الروابط بين السلاسل ويتكون مجاميع جديدة هي hydroperoxides. ويعد الالبومين من اكثر الانواع البروتينية عرضة للأكسدة (Earl and Barbara, 1997)، وتؤدي Hydroperoxides الناتجة عن اكسدة البروتين دورا كبيرا في احداث السرطان لتفاعلها القوي مع الحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA واحداث الطفرات الوراثية فيه **(Ilhan, *et al*; 2004 ; Wang, *et al*; 2004)**.

ومن خلال ما تقدم يتضح ان الاشعاع المؤين يتفاعل مع الخلية بطريقتين حسب ما اشار اليه **Aurora واخرون (2012)** الاولى مباشرة ويتم فيها التفاعل بعد امتصاص الجزيئات المكونة للخلية لطاقة الاشعاع مما يؤدي الى تحليلها وكسر الاواصر التساهمية في سلاسل الببتايد للبروتينات والثانية طريقة غير مباشرة حيث تتأين جزيئات الماء بتأثير طاقة الاشعاع مما يؤدي الى تكوين الجذور الحرة Free radicals المسؤولة عن تدمير وتلف 99% من البروتينات **(Kempner , 2001) .**

3-4 تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية على مستوى تركيز الكلوتاثيون GSH والمالونالديهايد MDAفي مصل اناث الجرذ الابيض .

اظهرت نتائج الجدول **(4-3)** الى وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى تركيز الكلوتاثيون GSHفي مجموعه الجرذان المعرضة للاشعة السينية خلال فترة التجربة لمدة شهر G2 ولمدة شهرين G3 بالمقارنة بمجموعة السيطرة G1 . ويلحظ من الجدول وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى تركيز GSH في G3 بالمقارنة مع G2 . كما اشار الجدول الى وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى تركيز المالونالديهايد MDA في الجرذان المعرضة للأشعة

السينية خلال فترة التجربة في G2 وG3 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1. ونلحظ ايضا وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى تركيز MDA في G3 بالمقارنة مع G2 .

جدول (4-3) يبين تأثير المزمن التعرض الأشعة السينية المؤينة X-ray على مستوى تركيز MDA, GSH في مصل اناث الجرذان البيض

المعايير / المعاملة	المالونالديهايد (mmol/l) MDA	الكلوتاثايون (mmol/l) GSH
G1	1.90 ± 0.16 A	3.14 ±0.19 A
G2	3.03 ± 0.22 B	2.04 ±0.13 B
G3	4.66 ± 0.20 C	1.32 ±0.10 C

المعدل ± الخطأ القياسي ، n= 8 / مجموعة
الحروف الكبيره المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال ($P < 0.05$)، G1 مجموعة حيوانات السيطرة .G2 مجموعة الحيوانات المعرضة للاشعة السينية لمدة شهر،G3 مجموعة الحيوانات المعرضة للاشعة السينية لمدة شهرين .

ان نتائج الدراسة الحالية اظهرت وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى تركيز الكلوتاثيون GSH وارتفاع معنوي في مستوى تركيز المالونالديهايد MDA في الجرذان المعرضة للاشعة السينية خلال فترة التجربة والتي جاءت متفقة مع (**Bhatia and Jain , 2004**

(EL- Ashry *et al*; 2008 Guny *et al*; 2004 ;

يعد الكلوتاثايون احد اهم مضادات الاكسدة الداخلية في الجسم عن طريق عمله كعامل مساعد للعديد من الانزيمات المسؤولة عن ازالة سمية المركبات المؤكسدة، كأصناف الاوكسجين الفعالة ل (ROS) مثل انزيم peroxidase Glutathione و Glutathione transfrase (**Kojima,2004**) وهو من أوفر مركبات الثايول تواجدا في انسجة اللبائن **(Kerksick and Willoughby, 2005)** ، تنتقل جزيئة GSH المصنعة داخل الخلايا الى السوائل الجسمية عبر اغشية الخلايا وله دور في العديد من العمليات الحيوية المهمة منها بناء البروتينات، ويسهم في

فعالية بعض الانزيمات من خلال عمله كمادة اساس substrate او مرافق انزيمي لبعض العمليات الحيوية للخلية وحماية البروتينات التي تشترك في بناء الحوامض النووية التي لها دور في اصلاح المادة الوراثية **(Higurchi,2004 ; Ramadan *et al* ; 2001)** لذا فان انخفاض مستوى الكلوتاثايون هو دليل قاطع على الإجهاد التأكسدي الحاصل بسبب الجذور الحرة التي هاجمت أنسجة الجسم. **(Kojima , 2004)**.

ان انخفاض مستوى الكلوتاثيون في اناث الجرذان المعرضة للأشعة السينية المؤينة يمكن ان يعزى الى انخفاض تخليقه و زيادة توليد الجذور الحرة، ومن ثم زيادة معدل استهلاك الكلوتاثيون الذي يعد اهم مضادات الاكسدة غير الانزيمية في ازالة الجذور الحرة ونواتجها، ثم يتحول الى شكله الثاني غير الفعال الشكل المؤكسد للكلوتاثيون Glutathione disulfide. وتعد مجموعة الكبريت في تركيب الكلوتاثيون عاملاً مختزلاً جيداً تهب ذرة هيدروجين بسهولة، وذلك لضعف الاصرة بين الكبريت و الهيدروجين (S-H) وقوة الاصرة (C-H) في الجذور الحرة لذلك فهي تقوم بحماية الاغشية من الاذى التاكسدي **(Lands, *et al*.,1999)**.

كما ان الاجهاد المزمن لمجموعة الحيوانات المعرضة للأشعة المؤينة خلال فترة التجربة ادى الى انخفاض في مستوى GSH وهو من مضادات الاكسدة الداخلية وذلك نتيجة لاستنزافه في تحويل المؤكسداتH2O2 الى ماء H2O او نتيجة لضعف فعالية بعض الانزيمات وقلة انتاجها لمضادات الاكسدة المهمة مثل الكلوتاثيون بيروكسيديز والكاتليز وبالتالي نقص التجهيز الدموي hypoxia **(Roe *et al*,2010)** ، هنالك دراسات عديدة اظهرت ان التعرض للاشعة السينية له تأثير سلبي على فعالية بعض الانزيمات المضادة للأكسدة Superoxide dismutase ، Catales ، Peroxidase بالتالي تاثيرها السلبي على العمليات الحيوية المسؤولة عن تصنيع الكلوتاثيون ومجموعة الثايول Thiol group والتي تعد عوامل مضادة للأكسدة في تركيب الكلوتاثيون ، وقد اقترح **Erden(1992)** ان الكلوتاثيون له دور مهم في الحماية ضد التأثير المدمر للجذور الحرة الناتجة من التعرض للإشعاعة السينية X-ray في الدم والرئة والدماغ ، اذ تؤثر الاشعة على قابلية الجسم في تحويل الشكل المؤكسد للكلوتاثيون (GSSG) الى الشكل المختزل (GSH) **(Fiorani *et al* ; 1998)**.

يعد المالونداياالديهايد من اهم النواتج النهائية لبيروكسدة الدهن المتسببة عن تفاعلات الجذور الحرة مع جزيئات المركبات الحيوية، وتعد الحوامض الدهنية المتعددة غير المشبعة للاغشية الخلوية الهدف الاكثر تعرضا لتفاعلات الجذور الحرة بسبب امتلاكها اواصر مزدوجة تمثل الهدف الرئيس للجذور الحرة، وباكسدة هذه الحوامض الدهنية من خلال تفاعلات الجذور الحرة تنتج المالونداياالديهايد بعملية بيروكسدة الدهن Lipid peroxidation والتي تزداد في الكثير من الحالات المرضية. **(Kampa, *et al* ; 2003).**

ان ارتفاع مستوى (المالونديهايد) يرافقها زيادة في مستوى البروتينات الدهنية واطئة الكثافة للكولستيرول في مصل الدم وذلك لكون المالونديهايد ناتج من أكسدة البروتينات الدهنية واطئة الكثافة لذا فأن أرتفاع مستوى MDA دليل على حالة الاجهاد التأكسدي الحاصل بسبب تولد الجذور الحرة (Free radicals) التي هاجمت انسجة الجسم والتي تلعب دورا مهما في الاصابة بالامراض اذ انها تؤدي الى تحطيم الفوسفوليبيدات الموجودة في اغشية الخلايا وتلف الانسجة **(Ferrari *et al*; 1992) .**

ان زيادة مستوى أكسدة الدهون(LPO) تؤدي الى خلل في نفاذية الاغشية الخلوية وخاصة الخـــــلايا البطانية بالإضافة الى التحورات التأكسدية للبروتينات الدهنية واطئة الكثـــــافة حيـــث تعمل علـــى نشوء افات التصلب الشرياني في جدران الاوعية الدموية (**EderKrichgessner,1997**). ان تأثير الاشعة السينية الضار يولد اجهاد تأكسدي كبير له القدرة على احداث خلل في التوازن ما بين توليد الجذور الحرة ومضادات الاكسدة فـــــي الجسم وخاصـــة الجذور الحـــرة الأوكسجينة (ROS) مثل جذر الاوكسجين Superoxid radical(O-)وجذرالهيدروكسيل(OH- Hydroxel radicals) (وجذربيروكسيدالهيدروجين H2O2 **(Khan *et al*. , 2009)**

ان زيادة توليد الجذور الحرة الاوكسجينية المتولدة نتيجة للإجهاد المزمن تعمل على تحطيم الاغشية الخلوية عن طريق اكسدتها للدهون (LPO) اذ تعد الدهون الغير مشبعة Polyunsaturated fatty acids من المكونات الكيميائية الاساسية لتراكيب الاغشية الخلوية وكذلك اغشية بيوت الطاقة وتضررها يؤدي الى خلل في نفاذيتها وبالتالي موت الخلية **(Mabuchi,1996)**. اذ ان ROS تهاجم وبشكل مستمر لهذه الدهون PUFA لأغشية

المايتوكوندريا والأغشية الخلوية لتنتج الديهايد ثلاثي يسمى (MDA) وان الكشف عنها وقياس مستواها في مصل الدم من اوسع الطرق للكشف عن حالة الاجهاد التأكسدي **(Ma *et al* ., 2012)**

تحدث عملية بيروكسيد الدهن عندما تفوق انتاج الجذور الحرة قدرة الانظمة الدفاعية المضادة للاكسدة لكسحها او التخلص من نواتجها نتيجة لا كسدة الحامض الدهني المتعدد غير المشبع الموجود في الاغشية الخلوية ، فيتكون غشاء مشرب تنفذ السوائل والمواد منه واليه بدون تحكم اي فقدان صفة النفاذية الاختيارية للغشاء selective permeability **(Turk dogan and Hekim ,1998)** اذ يتكون هيروكسيد الدهن Lipid hydropercoxide عند اكسدة الحوامض الدهنية ومن ثم يحدث تجزء fragmentation في هذه المواد ليتكون بالأخير مركبات ذات سلاسل قصيرة هي المالونديالديهايد MDA **(Block *et al* ; 2002)** ويؤدي المالونديالديهايد دورا كبيرا في حدوث الطفرات الوراثية نتيجة لتفاعله مع الحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA ومـــن ثم حـــدوث الاورام السرطانية **(Sewerynek *et al* ;2000) .**

4-4 تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية في مستوى تركيز الهرمونات الانثوية (LH ,FSH, Progesterone , E2) في مصل اناث الجرذ الابيض

اظهرت نتائج الجدول (4-4) الى وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى تركيز هرمون الاستروجين E2 في مصل الجرذان المعرضة للأشعة السينية X-ray خلال فترة التجربة لمدة شهر G2 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ووجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في الجرذان المعرضة للأشعة السينية لمدة شهرين G3 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 . بينما لا توجد فروق معنوية في تركيز الاستروجين بين المجموعتين G2 و G3 .

واشار الجدول الى وجود انخفاض غير معنوي ($P < 0.05$) في مستوى تركيز هرمون البروجستيرون Progesterone في مصل الجرذان المعرضة للأشعة السينية X-ray خلال فترة التجربة لمدة شهر G2 ووجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في G3 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

كما اشار الجدول الى عدم وجود فروق معنويه (P <0.05) في مستوى تركيز كل من الهرمون المحفز للجسم الاصفر(هرمون التبييض) LH والهرمون المحفز للجريبات المبيضية FSH في مصل الجرذان المعرضة للأشعة السينية X-Ray خلال فترة التجربة في المجموعتين G3,G2 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (4-4) يبين تأثير الأشعة السينية المؤينة X-ray على مستوى تركيز الهرمونات الأنثوية (E2, Progsteron, FSH, LH) في مصل اناث الجرذان البيض

المجموعة / المدة	الاستروجين E2 pg/ ml	بروجسترون Progesteon ng/ml	الهرمون المحفز للحويصلات FSH IU/mlµ	الهرمون اللوتينتي LH µIU/ml
G1	34.97 0.63± A	10.636 ±0.177 A	0.125 ±0.003 A	0.126 ± 0.007 A
G2	32.79 ± 0.60 B	10.526 ± 0.183 A B	0.124 ± 0.003 A	0.125 ± 0.006 A
G3	31.78 ± 0.51 C	10.163 ± 0.094 B	0.118 ± 0.003 A	0.14 ± 0.002 A

المعدل ± الخطأ القياسي ، n= 8 / مجموعة
الحروف الكبيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال (P <0.05)، G1 مجموعة حيوانات السيطرة .G2 مجموعة الحيوانات المعرضة للأشعة السينية لمدة شهر،G3 مجموعة الحيوانات المعرضة للاشعة السينية لمدة شهرين .

ان نتائج الدراسة الحالية اظهرت وجود انخفاض معنوي(P <0.05) في هرمون الاستروجين وهرمون البروجسترون وجاءت هذه النتائج متفقة مع **(Lee and Yoon , 2005) (Choi *et al*;2002)** ، يقوم المبيض ، فضلاً عن انتاجه للخلايا الجنسية بإفراز الهرمونات الجنسية الانثوية هما الاستروجين والبروجسترون ، المسؤولة عن نمو الاعضاء التناسلية الانثوية، وظهور الصفات الجنسية الثانوية ونمو الغدد اللبنية وتسمك بطانة الرحم وزيادة الانسجة الدهنية (**Emmen and Korach ,2003)** ، كما ان افراز هرمونات المبيض يتحفز بفعل الهرمون المحفز للجريبات FSH والهرمون المحفز للجسم الاصفر (هرمون الابيض) LH والتي يسيطر عليها بفعل الهرمون المحرر للهرمون المحرض للقند

GnRH (Gonadotropin releasing hormone) من تحت المهاد والذي يكون له دور في تطور المبيض اذ يحفز الغدة النخامية على افراز هرموني LH و FSH (**Gougeon ,1996**) .

يعد الاشعاع المؤين من عوامل الخطورة المسببة لحدوث الاضطرابات الهرمونية وعدم التوازن الهرموني وتغير مساره الطبيعي ، حيث يسبب التعرض المفرط للاشعة السينية المؤينة الى ارتفاع مستويات الاجهاد التأكسدي وحدوث تغيرات هرمونية بسبب التغير الحاصل في ايض الدهون الناتج من حالة عدم الانتظام في hypothalumas- pituitary axis dysregulation ، اوقد يعزى سبب انخفاض الهرمونات الانثوية وخاصة الاستروجين الى حدوث الارتفاع المعنوي في مستوى الدهون وانخفاض تركيز هرمون الاستروجين للحيوانات المعرضة للإجهاد التأكسدي **(السعدي، 2012)** بوصفه عامل حماية يحد من نشوء أفات التصلب الشرياني، او لما له من دور بوصفه عاملاً وقائياً يحافظ على العمليات الايضية للشحوم البروتينية والتي ينتج عنها انخفاض مستوى apoB-LDL-C وزيادة مستوى HDL-C في بلازما الدم **(Knopp & Zhu ,1997)** او قد يعزى السبب في انخفاض الهرمونات الانثوية الى زيادة الجذور الحرة التي تعمل على مهاجمة وتحطيم خلايا الحويصلات المبيضية في المبيض وخاصة الحويصلات الاولية مما يقلل فعالية انزيم aromatase وانخفاض مستوى هرمون الاستروجين في المصل**(Lee *et al* ; 1998)**

وبينت النتائج الى وجود انخفاض في مستوى تركيز هرمونات القند LH,FSH الا ان هذا الانخفاض لم يصل الى مستوى المعنوية ($P < 0.05$) ويعود السبب في ذلك ان الجهاز العصبي المركزي CNS من الاعضاء الشديدة المقاومة للإشعاع المؤين حيث دلت الاحصائيات الخاصة بحيوانات التجارب على حدوث تلف في الجهاز العصبي عند تعرضها لجرعات شديدة الارتفاع .فعندما يتعرض الانسان لجرعة مقدارها 50Gry او اكثر تحدث تلف او تدمير لأنسجة الجهاز العصبي المركزي **(السيوفي , 2010)** .

كما اشارت دراسة(**Taki *et al* ; 2002; Shama,2001)** ان تأثير الاشعة السينية العلاجية على الجهاز العصبي المركزي في الحيوانات المختبرية يظهر بعد مرور فتره زمنية طويله ، فعلى المدى الطويل قد يؤدي الى حدوث عجز في هرمونات النمو ونقصان في مستوى الهرمونات المحفزة للغدة الدرقية والهرمونات المحفزة للمناسل ويعود السبب الى الاذى الواقع على منطقة ما تحت المهاد او الوطاء (Hypothalamus) والغدة النخامية المسؤولة عن تنظيم النمو .كما ذكرت

هذه الدراسة ان تأثير الاشعة السينية المؤينة سواء كانت تشخيصية او علاجية على الجهاز العصبي المركزي يختلف باختلاف انواع الحيوانات ومراحل التطور الجيني .

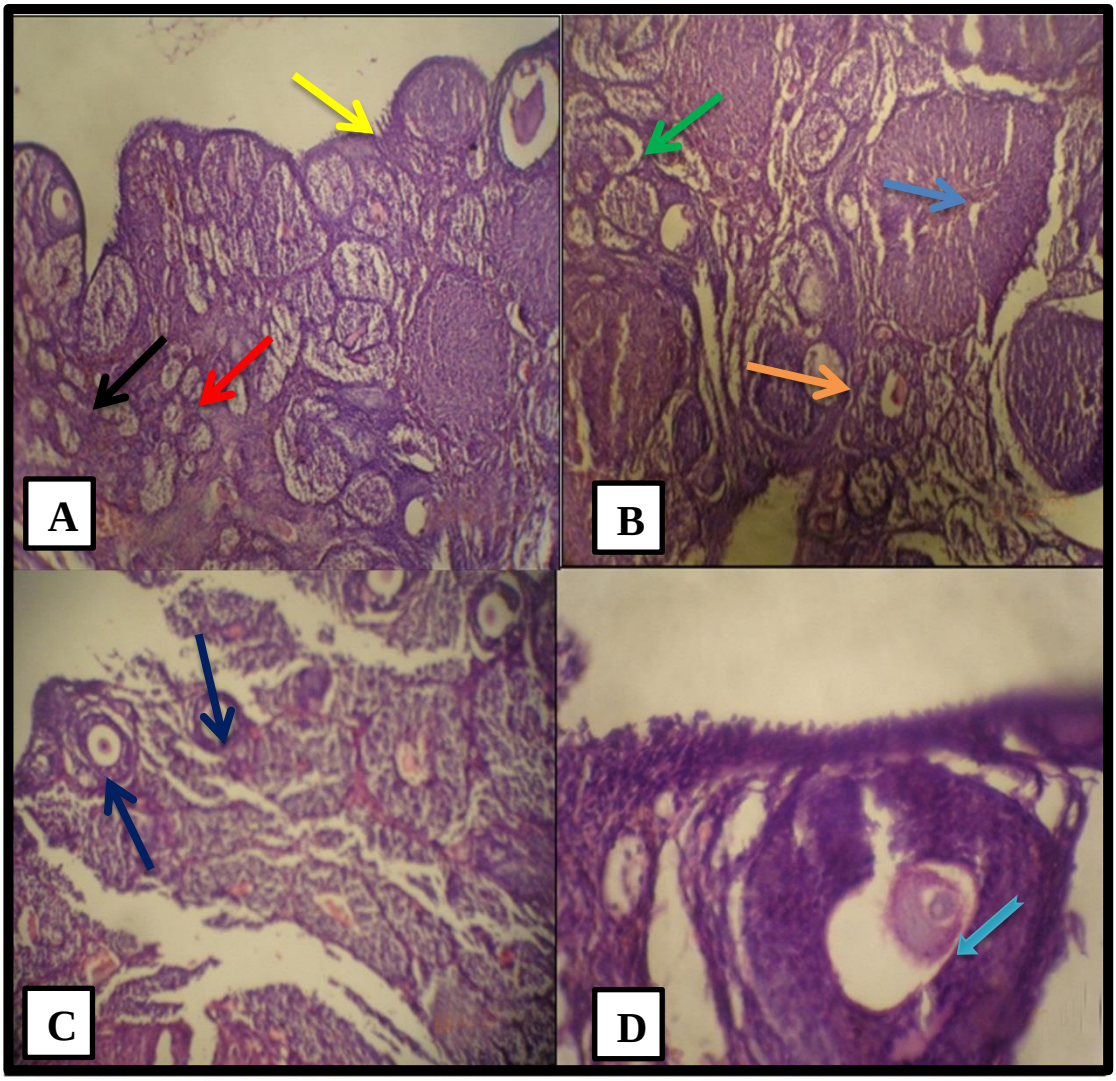
6-4 التغيرات النسيجية :

1-6-4 تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية على نسيج المبيض في الجرذان البيض.

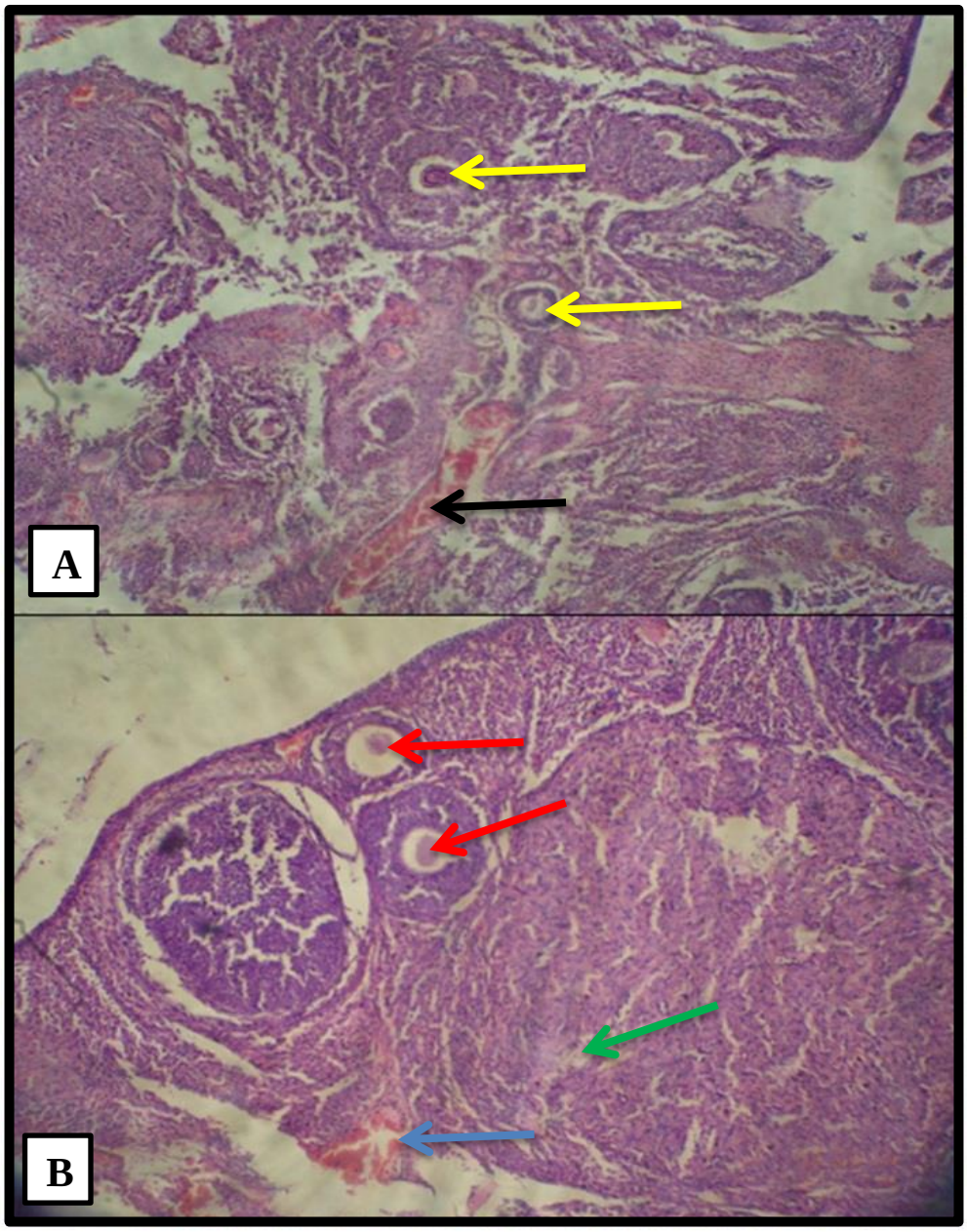
يلحظ في الصورة **(1-4)** مقطع لنسيج المبيض لمجموعة حيوانات السيطرة الذي يظهر فيه العدد والنمو الطبيعي للجريبات المبيضية المتمثلة بالجريبات الاولية والابتدائية والثانوية والناضجة ومراحل تكوين الجريبات بشكل طبيعي ووجود الجسم الاصفر كما توضح الصورة الجريبات الناضجة ووجود الخلايا البيضية في الجريبات المبيضية والنمو الطبيعي للخلايا الحبيبية مع وجود المنطقة الشفافة Zona plucida حول الخلية البيضي .

يلحظ بالصورة **(2-4)** تأثير الاشعة السينية المزمن على نسيج المبيض ولمدة شهر واحد ، لم يسبب بحدوث تغيرات نسيجية كبيرة بالمبيض حيث تظهر الجريبات المبيضية بشكلها الطبيعي واحتوائها على الخلايا البيضية oocytes مقارنة بالسيطرة ونلحظ مراحل تطورها بشكلها الطبيعي وبقاء الطبقة الجرثومية سليمة، مع ظهور احتقان دموي congestion وخلايا التهابية inflammatory cells ، في حين اظهر المقطع النسجي لنسيج المبيض لمجموعة الجرذان المعرضة للأشعة السينية ولمدة شهرين متواصلين كما موضح في الصورة **(3-4)** حيث ان التعرض المزمن للأشعة سبب بحدوث تغيرات نسيجية بالمبيض متمثلة بقلة الحويصلات المبيضية بشكل عام مع وجود تحطيم للجريبات المبيضية وخلوها من الخلايا البيضية oocytes وهذا يتفق مع **(Ratts *et al* ; 1995)** ووجود احتقانات دموية congestion وتفجي او تنكس degenerationفي الجريبات المبيضية مع وجود خلايا التهابية inflammatory cells و كثافة دهنية اضافة الى عدم انتظام في ترتيب الخلايا الحبيبية granulosa cells مع وجود احتقان الاوعية الدموية في منطقة اللب حول الخلايا الحبيبية ونقصان واضح في سمك القراب الداخلي Theca Enterna واختفاء منطقة Zona plucida بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. وجاءت هذه النتائج

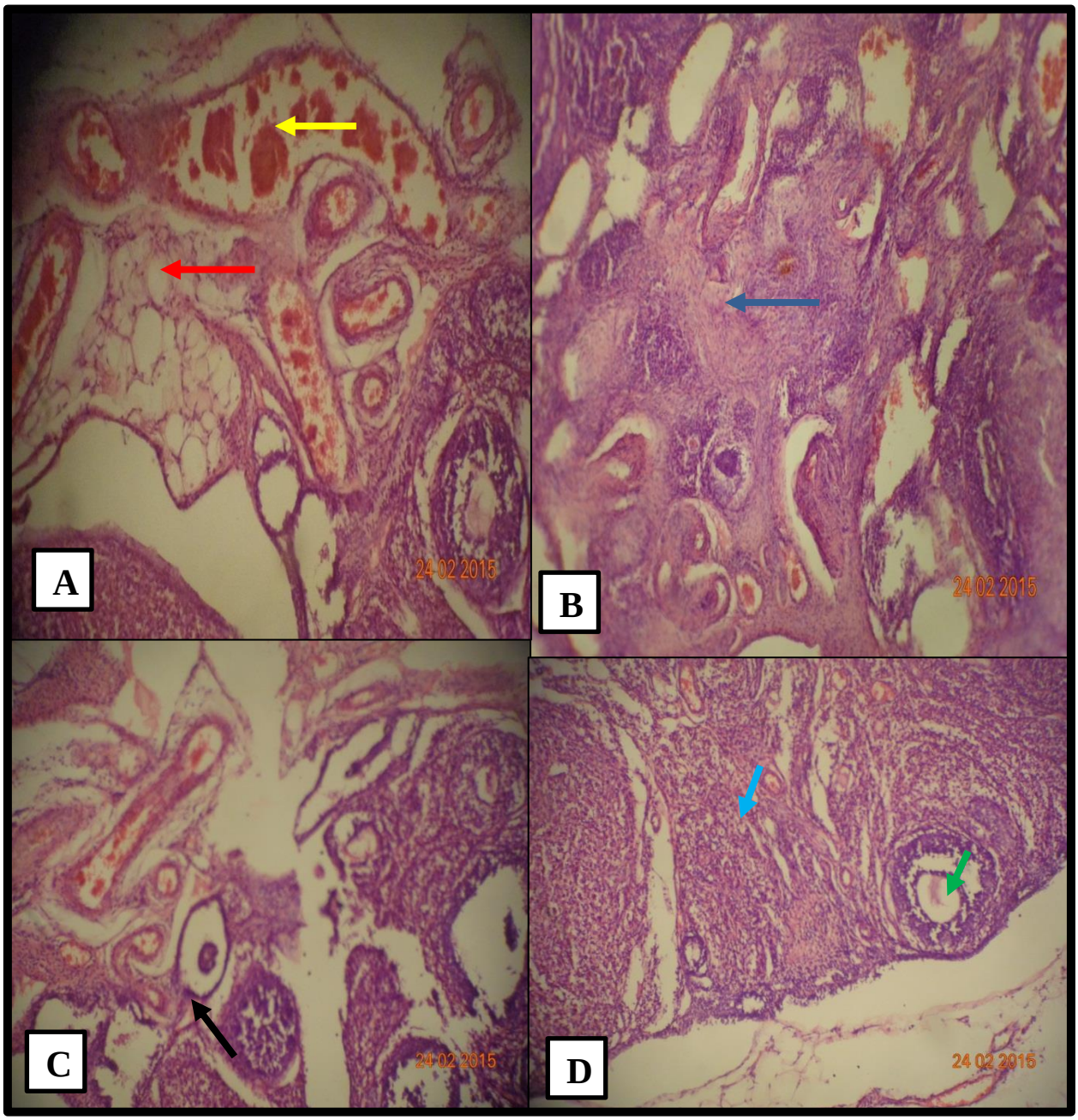
متفقة مع **(Bath *et al* ; 1999)** ، اما في الصورة **(4-4)** نلحظ وجود فرط التنسج او تليف واضح Fibrosis وكثرة الخلايا المولدة للألياف Fibroblast. ووجود تنخر Necrosis في القراب الخارجي Theca Externa وجاءت هذه النتائج متفقة مع **(Cos *et al* ; 2003).**



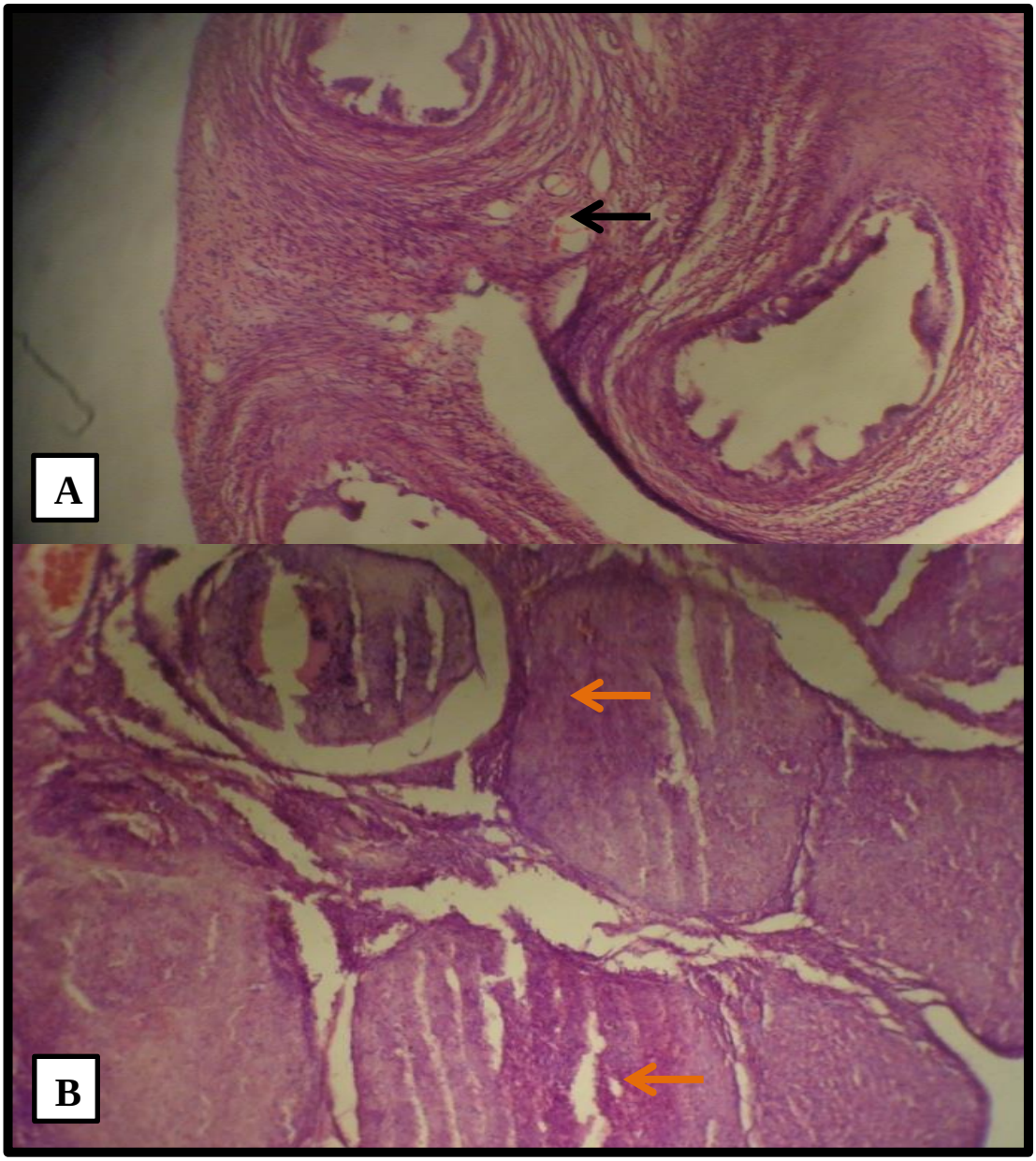
صورة (4-1) مقطع نسجي لنسيج المبيض لمجموعة حيوانات السيطرة يظهر فيه (A) الطبقة الجرثومية بشكل طبيعي والجريبات المبيضية الاولية Primordial والجريبات الابتدائية Primary follicles..(B) الجريبات الثانوية Secondary follicles والجريبات الناضجة Growing follice والجسم الاصفر. (C) الجريبة الناضجة Mature follicle وتظهر فيه الخلية البيضة واضحة والمنطقة الشفافة Zona plucida. (H&E X10) (D) الجريبات المبيضية التي تحتوي على الخلايا البيضية Oocytes. (H&E X 40)



صورة (4-2) لنسيج المبيض لمجموعة الجـــرذان المعرضة للاشعة السينية بجرعة Kv80 على بعد متر واحد يوميا ولمدة شهر واحد ،يلحظ (A) وجود الجريبات الحويصلية الطبيعية ووضوح مراحل تطورها،وجود احتقان دموي (B) الجريبات الناضجة واحتوائها على الخلايا البيضية ،مع وجود منطقة التهابية واحتقان دموي (H&E 10X)



صورة (3-4) لنسيج المبيض لمجموعة الجرذان المعرضة للاشعة السينية بجرعة Kv80 على بعد متر واحد يوميا ولمدة شهرين ، يلحظ (A) وجود الاحتقان الدموي ←، خلايا دهنية ← . (B) وجود الخلايا الالتهابية ← .(C) تحطم ونقصان الخلايا الحبيبية ونقصان في سمك القراب الداخلي Theca enterna وعدم وجود منطقة Zona plucida ← . (D) زيادة سمك القراب الخارجي Theca externa ← وعـــدم وجود الخلية البـــيضية oocytes ← (H&E 10 X).



صورة (4-4) لنسيج المبيض لمجموعة الجرذان المعرضة للاشعة السينية بجرعة Kv80 على بعد متر واحد يوميا ولمدة شهرين ،يلحظ (A) وجودالتليف Fibrosis وكثرة خلاي Fibroblast ← . (B) وجود تحطم تنخر Nicrosis في منطقة القراب الخارجي Theca Externa ← (H&E 10X)

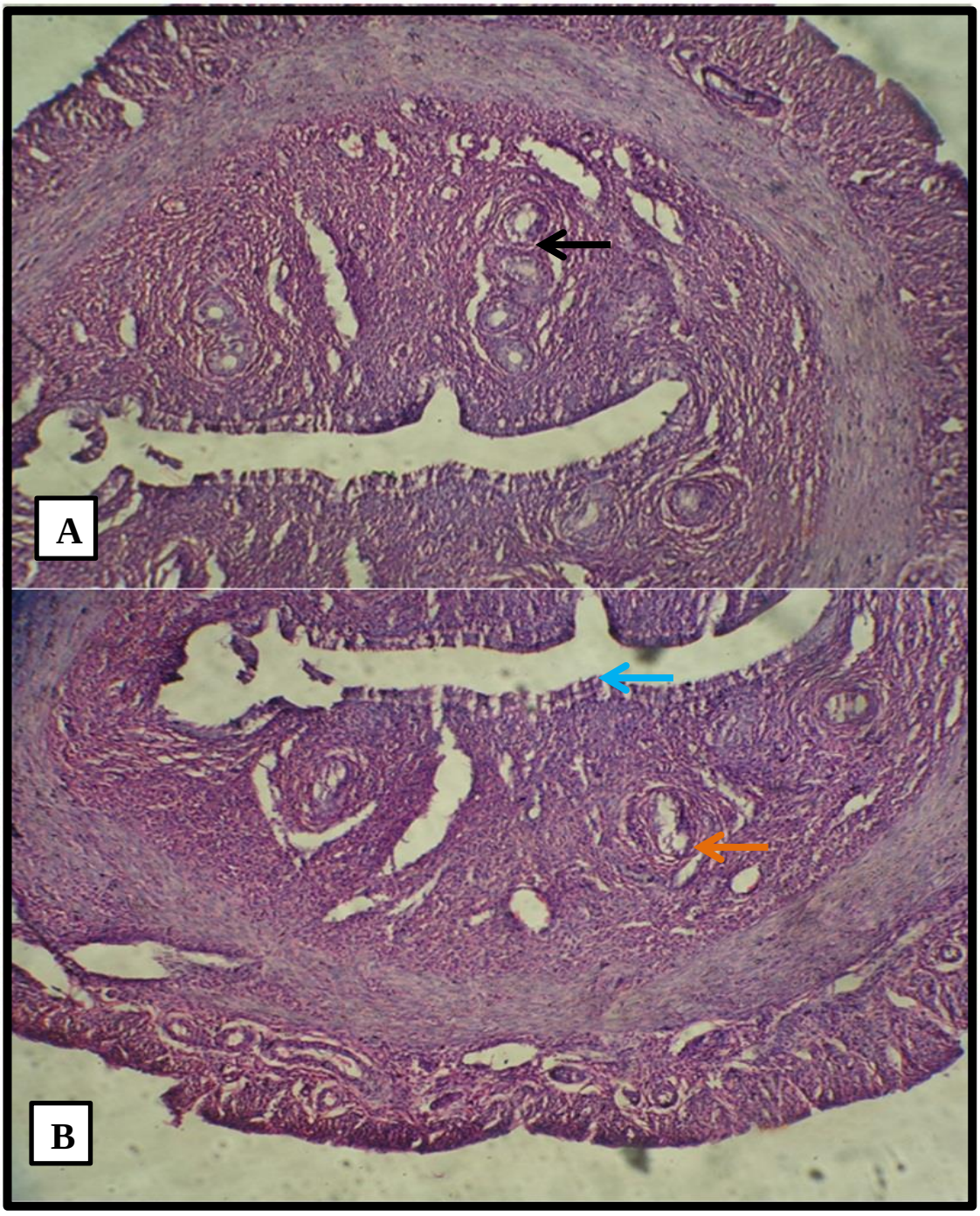
4-6-2 تأثير التعرض المزمن للاشعة السينية على نسيج الرحم في الجرذان البيضاء.

يلحظ بالصورة **(4-5)** مقطع لنسيج الرحم لمجموعة حيوانات السيطرة الذي تم تصبيغه بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين يظهر فيه الطبقات الطبيعية للرحم ووجود الغدد الرحمية بشكلها وترتيبها ووفرتها الطبيعية .

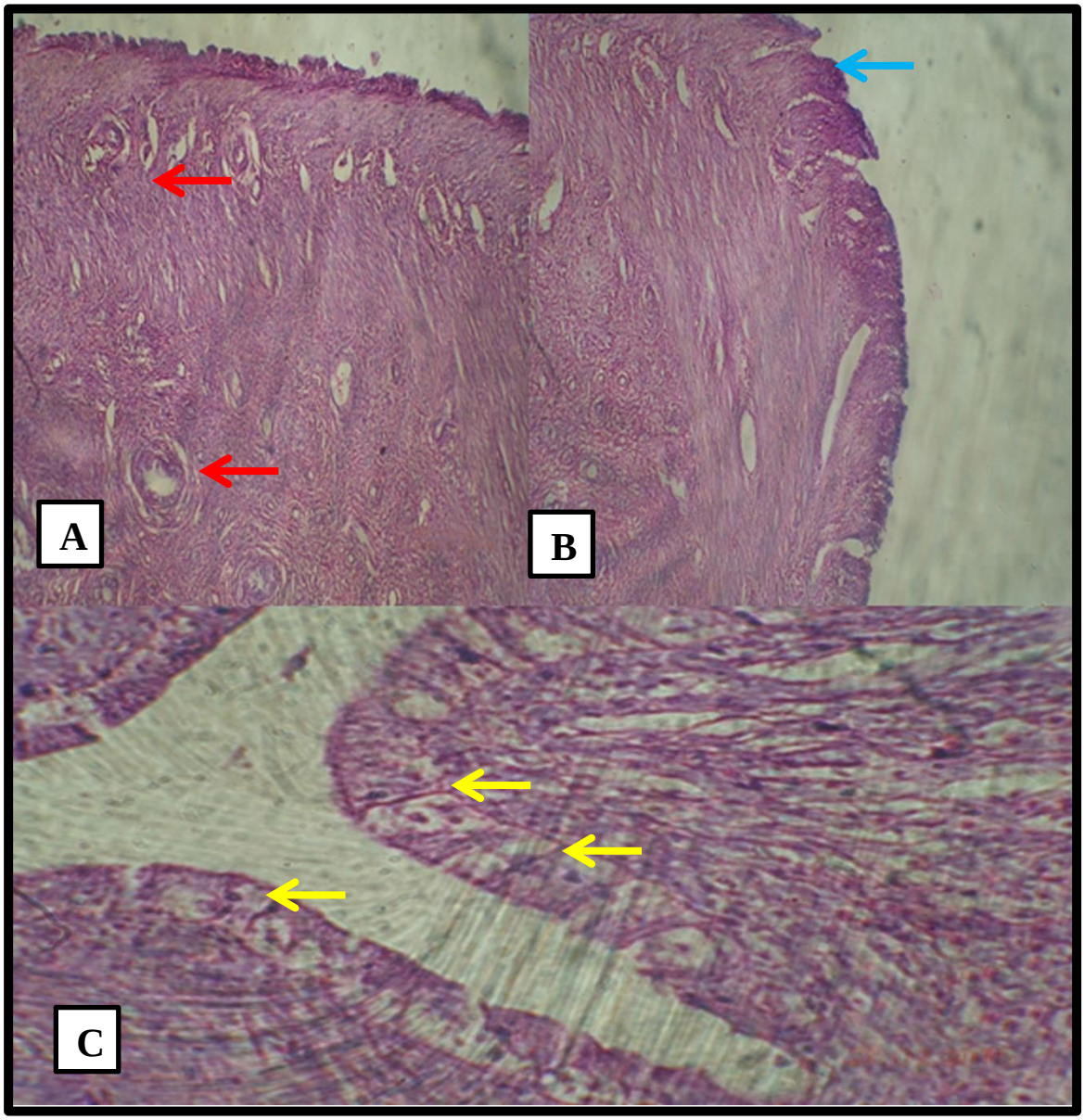
اظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود تغيرات نسجية كثيرة في نسيج الرحم لمجموعة الجرذان المعرضة للأشعة السينية بجرعة اشعاعية KV80 لمدة شهر واحد مقارنة بمجموعة السيطرة ووجود عدد من الغدد الرحمية uterian glands بشكلها وترتيبها الطبيعي مع وجود تثخن في الطبقة الطلائية وتضخم الخلايا الطلائية كما موضح بالصورة **(4-6)** ووجود خلايا التهابية inflammatory cells كما في الصورة **(4-7) .**

اما في الصورة**(4-8)** يظهر فيها نسيج الرحم لمجموعة الجرذان المعرضة للاشعة السينية لمدة شهرين متواصلين بجرعة اشعاعية KV80 نلحظ وجود ضرر وتفجي واضح بالطبقة الطلائية للرحم وايضا قلة الغدد الرحمية وعدم انتظامها وتضخمها مع وجود تمزق وتفجي بنسيج الغدد الرحمية، في حين ظهر في الصورة **(4-9)** تنخر في الستروما لنسيج الرحم .

ان التغيرات النسجية التي ظهرت في نسيج الرحم للجرذان المعرضة للأشعة السينية المؤينة جاءت متفقة مع نتائج**(Bath *et al*; 1999) (Patil *et al*; 1998) Critchley and Wallace, 2005)**

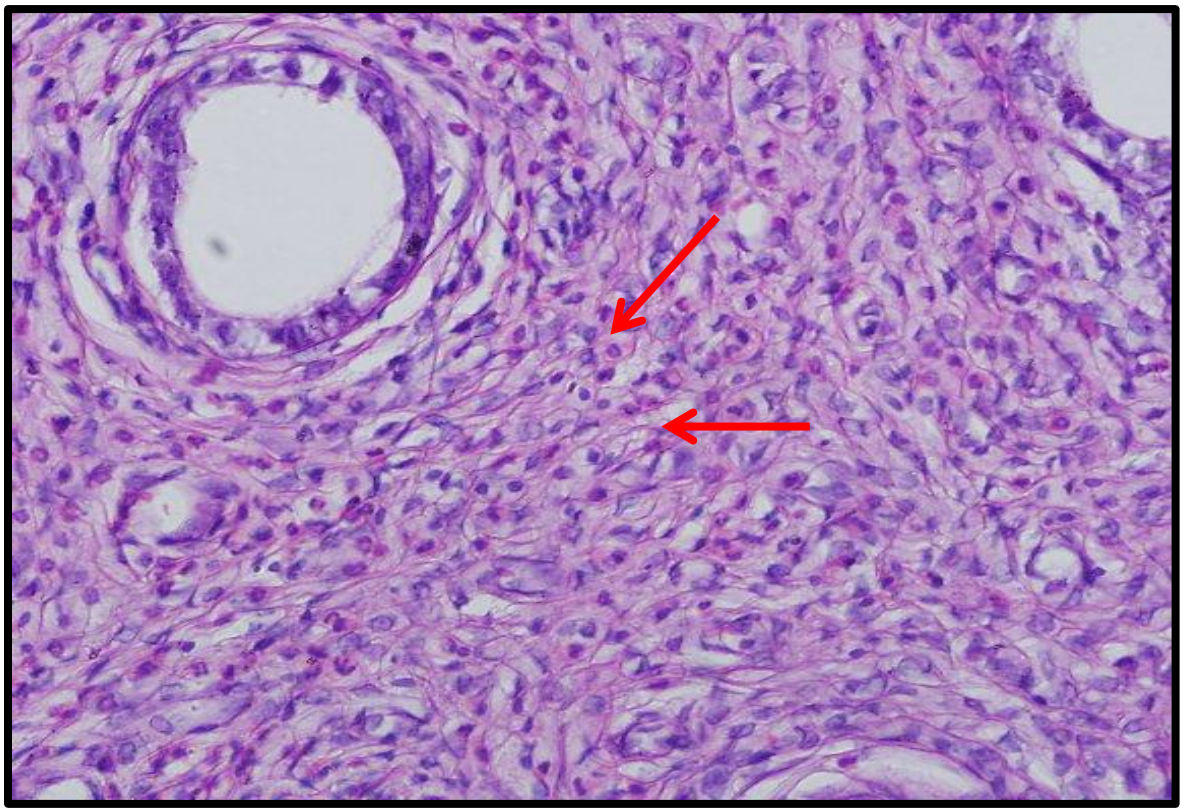


صورة (4-5) مقطع نسجي لنسيج الرحم لمجموعة حيوانات السيطرة يظهر فية (A)الغدد الرحمية الطبيعية المنظمة ← في الطبقة الداخلية للرحم Endometerium. (B) نلاحظ الحجم الطبيعي للغدة الرحمية ← والطبقة الطلائيه الطبيعية للرحم ← (H&E10X) .

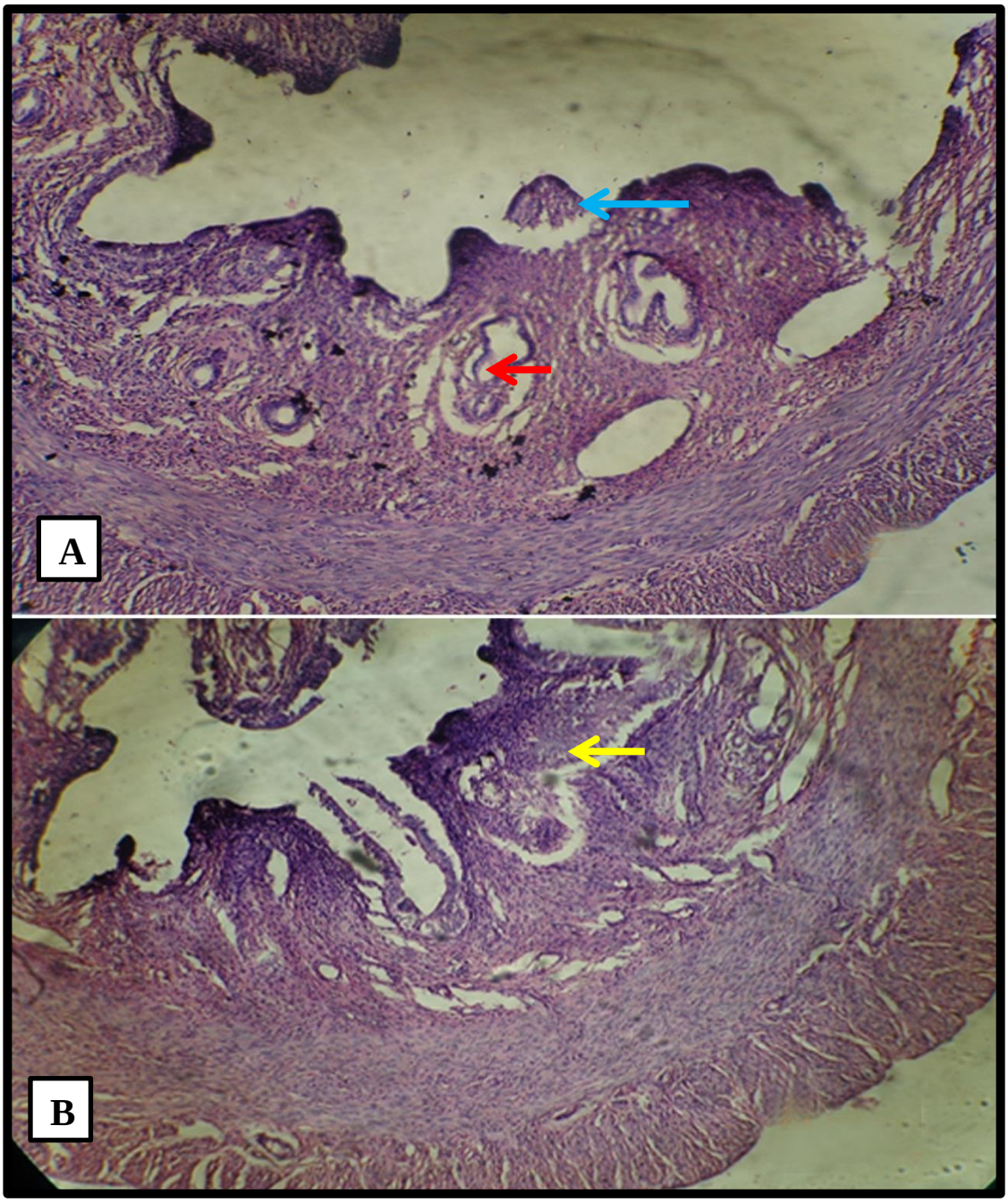


صورة (4-6) لنسيج الرحم لمجموعة الجرذان المعرضة للأشعة السينية بجرعة (Kv80 على بعد متر واحد يوميا ولمدة شهر واحد، يظهر فيه (A) وجود الغدد الرحمية بشكل طبيعي ← (B) يلاحظ تثخن في الطبقة الطلائية للرحم ←

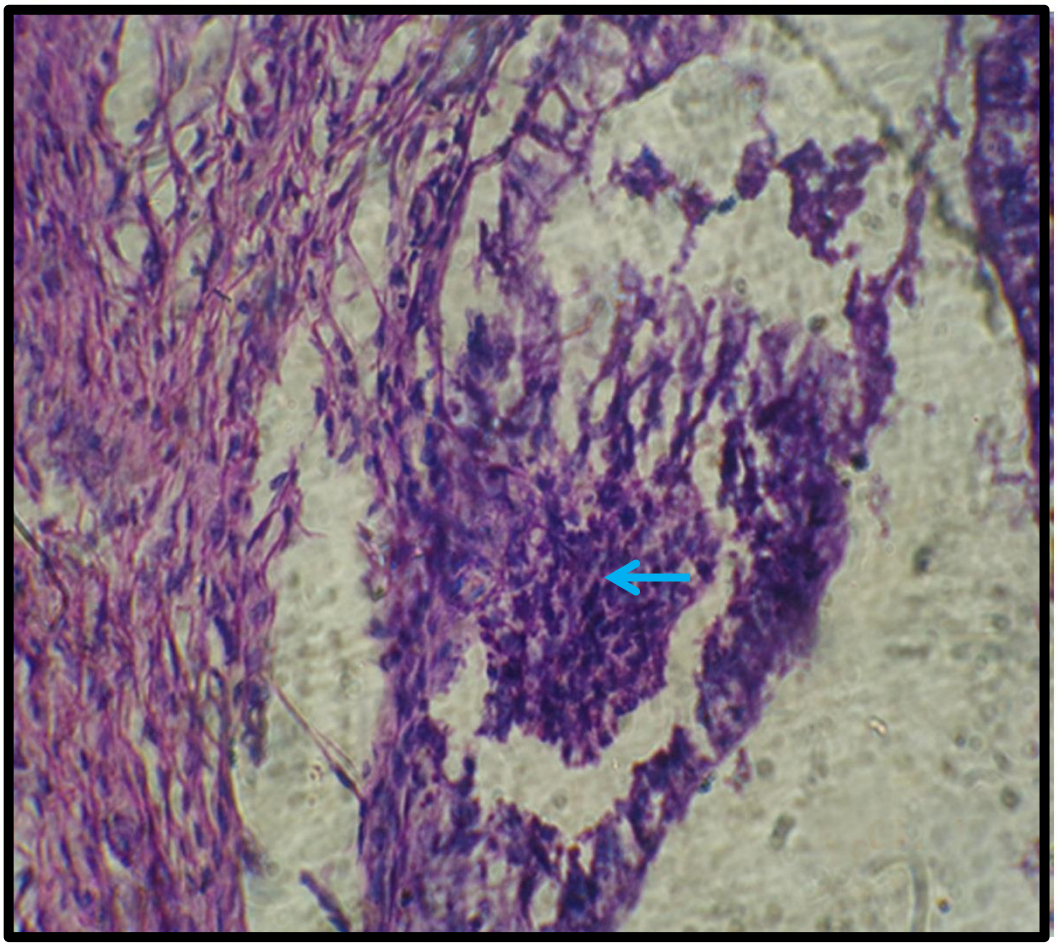
(H&E 10X) . (C)يوضح وجود تضخم في حجم الخلايا اطلائية ← (H&E 40X)



صورة (4-7) لنسيج الرحم لمجموعة الجرذان المعرضة للاشعة السينية بجرعة Kv80 على بعد متر واحد يوميا ولمدة شهر واحد، يظهر فيه الخلايا الالتهابية ← (H&E 40X)



صورة (4-8) لنسيج الرحم لمجموعة الجرذان المعرضة للاشعة السينية بجرعة Kv80 على بعد متر واحد يوميا ولمدة شهرين يظهر فيه (A) وجود ضرر واضح بالطبقة الطلائية الداخلية ← ونلاحظ تفجي و تضخم في الغدد الرحمية ← (B) منطقة التهابية ← (H&E 10X)



صورة (4-9) لنسيج الرحم لمجموعة الجرذان المعرضة للاشعة السينية بجرعة Kv80 على بعد متر واحد يوميا ولمدة شهرين، يظهر فيه التنخر Necrosis ← (H&E 40X)

المبيض ،هو: عضو التناسل عند الاناث ويلعب دورا مهما في التكاثر والنضج والاباضة في الكائنات الثدية والتي تحدث داخل الجريبات المبيضية overian follicles حيث يوجد في كل مبيض عند الولادة في انواع الثديات المختلفة بضعة مئات الى حوالي مليون بويضة oocytes تتنكس وتضمحل معظمها اما في طور الجريبات الابتدائية Primary follicles او احد مراحل تطورها ، فهناك دلائل تشير الى انخفاض متزايد في عدد البويضات بين الولادة والبلوغ بمعدل 50% تقريبا ، فمثلا تحتوي مبايض المرأة حوالي نصف مليون خلية بيضية وفي كل شهر تحاول العديد من الخلايا المرور بعملية النضج ولكن خلية بيضية واحدة فقط هي تستطيع الاستمرار بالنضج بينما الخلايا الاخرى تمر بمراحل التنكس والاضمحلال مكونة الحويصلات الضامرة او الراتقة atretic follicles.

ان احد المخاطر التي تنتج من التعرض المزمن للأشعة السينية هو الضرر الذي يصيب الجهاز التناسلي الانثوي وخاصة المبايض والرحم ، كما مبين بالدراسة الحالية وجود تحطم وتفجي في طبقة الخلايا الجرثومية للمبيض والرحم ووجود احتقان دموي وتحطم الخلايا البيضية oocytes وعدم انتظام الخلايا الحبيبية granulosa cells وتفجي في الجريبات المبيضية مع وجود ارتشاح التهابي وخلايا ليفية وكثافة دهنية وكل هذه التغيرات دليل التأثيرات السمية للأشعة السينية نتيجة تراكم الجذور الحرة بفعل التحلل الاشعاعي للسوائل الخلوية وزيادة مستويات الاجهاد التأكسدي الذي يتسبب بحدوث عرقلة في تطور الجريبات المبيضية Folliculogenesis وتحطيم الطبقة الجرثومية للمبيض والرحم (**Beltran-Garcia *et al* ; 2000 ; Esterbauer , 1996**).

وقد اشار (**Yacobi *et al* ; 2004 ; Paskowski *et al* ;1995**) ان حدوث الضرر اوالتفجي degeneration في نسيج المبيض والرحم بتاثير الاشعاع المؤين مرتبط بقوة بزيادة تراكم جذور الاوكسجين الفعالة ROS ونقصان في فعالية الانزيمات المضادة للاكسدة وخاصة الكلوتاثيون المؤكسد GPX والكلوتاثيون المختزل GSH والذي يعد السبب الرئيس في زيادة تحطيم الجريبات المبيضية وزيادة معدل الموت المبرمج للخلايا الحبيبية في نسيج المبيض ، كما ذكر(**England & Cotter, 2005**; **Feinendegen;2002** ; **Shinomiya, 2001**) ان استمرار التعرض المزمن للأشعة السينية يؤدي الى ارتفاع مستوى عمليات الاكسدة الدهنية (LPO) في نسيج المبيض والرحم وزيادة تعرضهم للإجهاد التأكسدي الذي يحث على الموت المبرمج للخلايا

apoptosis of cells وتمزيق الاغشية الخلوية وخاصة اغشية المايتوكوندريا مما يؤدي الى تحرر cytochrome c من المايتوكوندريا الى السايتوبلازم الذي يفعل Caspase وهو احد مفعلات الموت المبرمج للخلية .

4- 7 التغيرات الكيميائية النسجية المناعية لمؤشر السرطان Ki67 في نسيج المبايض .

بينت الصورة **(4-10)** نتائج التصبيغ الكيميائي النسجي المناعي في نسيج المبيض الى عدم وجود فروقات واضحة في التعبير الجيني لمؤشر التكاثر Proliferation -Ki67 expression marker في نسيج المبيض لمجموعة الجرذان المعرضة للأشعة السينية لمدة شهر واحدG2 ومجموعة الجرذان المعرضة للاشعة السينية لمدة شهرين G3 مقارنه بمجموعة السيطرة G1.

معظم خلايا الجسم الطبيعية تنمو وتنقسم وتموت بطريقة منتظمة ، علما بأن اغلب الخلايا الطبيعية تنقسم من اجل تعويض الخلايا الميتة او اصلاح حالات الأصابة في الجسم ، وتشذ عن هذه القاعدة الخلايا غير طبيعية اي الخلايا الشاذة لكونها تتميز بخصائص النمو والأنقسام (التكاثر) الغير محدود ونتيجة لفقدانها نظام التوازن الطبيعي فأنها تؤدي الى تكوّن اوراما حميدة او خبيثة. **(قمحية، 1997).**

فالسرطان Cancer هو مرض الدورة الخلوية ، يتميز بنمو الخلايا الشاذة (الخلايا غير الطبيعية Abnormal Cells) والتي لا يمكن ضبطها. وهذه الخلايا الشاذة تستمر في النمو والانقسام Growth and Division دون اي عائق ،فالانقسام الخلوي الغير مسيطر علية من الصفات المميزة للسرطانات والخلايا الورمية **(Kilian, *et al*., 2003)** حيث تفقد الخلايا التنظيم المورثي لدورتها مما يؤدي الى اكتسابها عيوبا مباشرة في الجينات المنظمة سواء كانت محفزة للدورة الخلوية او الكابحة لها وهي ضرورية لتطور الاورام . يبدأ السرطان عموما عندما تبدأ الخلية بالتكاثر الشاذ ويعود السبب الى عدة عوامل تدعى المولدّات السرطانية Carcinogenesis ويعد الاشعاع المؤين واحد من هذه العوامل ولاسيما عند التعرض لجرعات اشعاعية عالية، فالتعرض المباشر او غير المباشر للأشعة السينية قد يؤدي الى حدوث الطفرة Mutation وهي

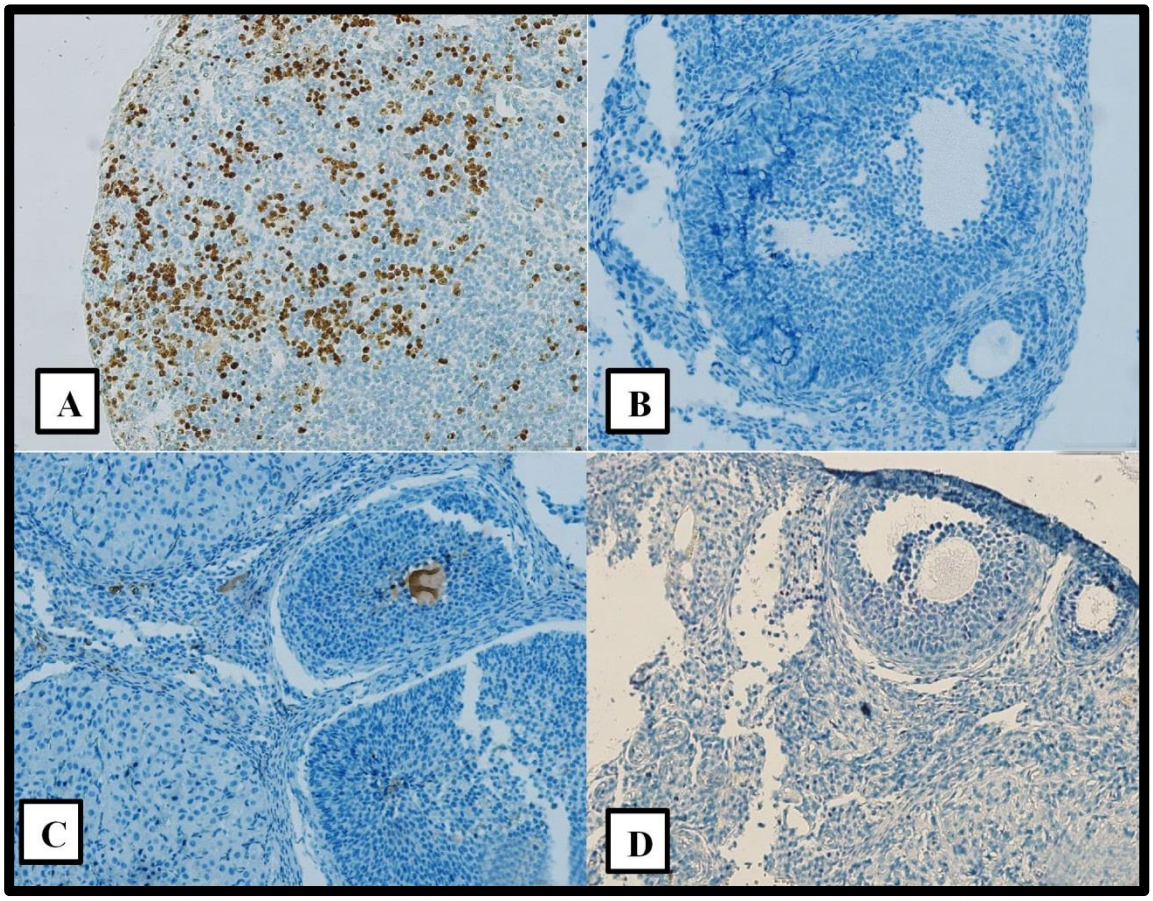
التغير او الخلل المفاجئ والشاذ في الحامض النووي DNA المادة الجينية للخلية والمسؤولة عن انقسامها ونموها **(ياسين وتوفيق،1990)(Miki *et al*;2001)**

ان للإشعاع المؤين دورا في احداث السرطان وذلك من خلال التوليد المتزايد للجذور الحرة والتي تؤثر تأثيرا مباشرا في المادة الوراثية DNA محدثة الطفرات ومؤدية الى حصول نمو وانقسامات غير مسيطر عليها في الخلية والتي تؤدي بالنهاية الى ظهور الاورام السرطانية

(Ikediobi, et al.,2004 ; Qian and Buettner, 1999)

اذ ان للجذور الحرة دورا كبيرا في تنشيط الجينات السرطانية ، إلى جانب تداخل نشاط الجذور الحرة مع الدفاعات المناعية والتي تعمل على انتشار السرطان الى مناطق اخرى من الجسم بسهولة **(Alamery and Abdul- baki, 2002)** . كما اشارت دراسة حديثة في دور جذر الهيدروكسيل في التفاعل مع جزيئة الحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA واحداث الطفرات فيها **(Masaki, *et al*., 1995)** اذ يعمل جذر الهيدروكسيل على شطب القواعد النتروجينية المفردة في DNA وخاصة قاعدة الكوانين Guanine التي تعد من اكثر القواعد النيتروجينية حساسية لعملية الاكسدة **(Johnston, *et al*., 2002).** وكذلك اظهر جذر السوبر اوكساييد دورا فعالا في اكسدة الحوامض النووية وتوليد انواع اخرى من الجذور الحرة مثل :جذر الهيدروكسل وبيروكسيد الهيدروجين **(Marnett,1999) .**

وان الافراط في التعرض للأشعة المؤينة بكل انواعها ممكن ان يسبب العديد من الاورام السرطانية ،الا ان نقطة النهاية للتأثيرات السمية الجينية genotoxicity لبداية حدوث السرطان وانبثاقه تحتاج الى العديد من السنوات ، فهناك صفة عامة تتميز بها السرطانات الاشعاعية هي طول فترة السبات فقد تطول تلك الفترة حتى (30-40)عاما ماعدا سرطان الدم الذي يعد من اكثر السرطانات الاشعاعية حدوثا وتكون فترة الكمون قصيرة جدا تقريبا ما بين (2-5) سنوات**(Ishimaru *et al* ; 1982 ; السيوفي ،2010)**



صورة (4-10) التصبيغ الكيميائي النسجي المناعي IHC يوضح (A) النتيجة الموجبة للخلايا الورمية Positive control لخلايا لمفاوية سرطانية (B) النتيجة السالبة لمبيض حيوانات السيطرة (C) النتيجة السالبة لمبيض حيوانات G2 (D) النتيجة السالبة لمبيض حيوانات G3 . (H 20X)

الاستنتاجات

ان التعرض المزمن للأشعة السينية X-Ray ولفترات زمنية تتراوح بين شهر واحد الى شهرين متواصلين يؤدي الى :

1- زيادة معنوية في مستوى الكوليسترول الكلي TC ، ومستوى تركيز الدهون الثلاثية TG ، والشحوم البروتينية منخفضة الكثافة LDL-C والشحوم البروتينية منخفضة الكثافة جدا VLDL-C وانخفاضا معنويا في مستوى الدهون البروتينية المرتفعة الكثافة HDL-C في مستوى البروتين الكلي Total - protein .
2- انخفاضا معنويا في اعداد كريات الدم الحمرRBC وخلايا الدم البيضاء WBC ومستوى تركيز الهيموكلوبين Hb ، واعداد الصفيحات الدموية PLT.
3- ارتفاعا معنويا في مستوى مستوى المالوندالديهايد MDA وانخفاضا معنويا في مستوى تركيز الكلوتاثيون GSH .
4- انخفاضا معنويا في مستوى تركيز هرمون الاستروجين E2 وهرمون البروجسترون وعدم وجود تغيرات معنوية في هرمون المحفز للجريبات المبيضية FSH وهرمون الليوتني LH.
5- حصول حالة تحطم للجريبات المبيضية، وتحطم في الخلايا البيضية ، اضافة الى وجود تنخر Nicrosis وتليف Fibrosis في نسيج المبيض.

6- لا توجد زيادة في التعبير الجيني للمؤشر السرطاني بروتين Ki-67

التوصيات

من خلال معرفة التأثيرات الجانبية التي سببها التعرض المزمن للأشعة السينية التشخيصية X-Ray لذا نوصي بتجنب الاستخدام المفرط للإشعاع التشخيصي او العلاجي قدر الامكان للمرضى الا في حالة الضرورة القصوى واستخدام اقل قدر ممكن من الجرع الاشعاعية .

وضرورة ارتداء العاملين في مجال الاشعة السينية ملابس واقية او ادوات واقية مدعمة بمادة الرصاص تقي من خطر التعرض للأشعة المؤينة كما يجب ان يخضعوا بين فترة واخرى الى فحوصات شاملة للكشف المبكر عن الاصابات الناتجة من التعرض للأشعة . كما نوصي من الناحية العلمية البحثية:-

1- دراسة تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية X- Ray بشكل مباشر او غير مباشر على الجلد والدماغ والجهاز الهضمي والغدد الملحقة به من الناحية الفسلجية والنسجية .

2- دراسة تأثير التعرض المزمن للأشعة السينية X- Ray على الجهاز التنفسي والقلب .

3- معرفة مدى تأثير الاشعة السينية X- Ray على الخصوبة Fertility في الذكور وعن طريق فحص الهرمونات التناسلية ومعدل الولادات وملاحظة الاجنة ومقدار تأثيرها بالأشعة السينية. و التأكيد على اختيارات وظائف الحيامن وفحص تشوهات رؤوس الحيامن .

4- عمل دراسات مكثفة عن التحليلات الوراثية الخلوية المستعملة في الكشف عن تأثير الاشعاع كاختبار دليل الانقسام الخيطي واختبار التغييرات الكروموسومية .

المصادر العربية

- احمد ، احمد (2010). البيئة الكيميائية ، مكتبة الدار العالمية ، القاهرة .
- الاحمد ، خالد عبيد (1994). مقدمة في الفيزياء الصحية ،دار الكتب للنشروالطباعة ، جامعة الموصل .
- احمد ، محمد فاروق، السريع،احمد (2007). مبادى الاشعاعات المؤينة والوقاية منها –سلسلة النشرات المتخصصة تصدرها اللجنة الدائمة للوقاية من الاشعاعات بجامعة الملك سعود. المملكة العربية السعودية.
- انجق ، اسامة .(2010) الوقاية الاشعاعية في مجال التشخيص الشعاعي ، الجمهورية العربية السورية .
- الخطيب ، احمد سفيق ،(1986) ، معجم المصطلحات العملية والفنية والهندسية ، انكليزي – عربي ، الطبعة السادية ، مكتبة لبنان ، بيروت .
- زغلول ، سعد (2003) . دليلك الاحصائي الى البرنامج الاحصائي SpSS ، الطبعة الاولى . وزارة التخطيط . العراق .
- السعدي ، ريم عبد الرحيم مردان(2012)تأثير إزالة المبايض وفرط الحديد على بعض المعايير الفسلجية والوراثية في إناث الأرانب البالغة. رسالة ماجستير. كلية التربيةللعلوم الصرفة. جامعة كربلاء.
- السيوفي ، محمد صفوت . (2010). فيزياء الطب النووي . دار النشر للجامعات. القاهرة.
- شريف ، نجلاء رجب (2005). قياس الجرع الاشعاعية وتوليد الجودة لاجهزة الاشعة السينية لتصوير الثدي ،(رسالة ماجستير).كلية التربية ابن الهيثم . جامعة بغداد.

- الطويل ، وليد غانم .(1994) زيادة حدوث بعض الامراض بعد الحرب .استبيان اراء (400) طبيب استشاري وقائع الندوة العلمية الدولية حول بيئة العراق ما بعد الحرب .بغداد 10-12 كانون الاول .1994 جمعية حماية وتحسين البيئة العراقية .ص : 89-90.
- العارف ، معن صفاء (1999). الفيزياء ا الحياتية لاشعاعية ، دار اسامة للنشر . عمان.
- العارف ، معن صفاء (2001) . فيزياء الاشعة التشخيصية ،الحامد للنشر والتوزيع . عمان.
- العقيلي ، براء نجم ،**(2009)** دور الفلافونيدات المعزولة من بذور الحبة السوداء في التقليل من تاثير بيروكسيد الهيدروجين على المخطط الكهربائي للعضـــلة القلبية في ذكور الأرانب البالغة ، المجلة الطبية البيطرية العراقـــية ،المجلد 33 ،1 (145-152) .
- العلوجي ، صباح ناصر (2008) ، هرمونات الغدد الصم والغدد التناسلية ، الطبعة الاولى ، دار الفكر للنشر والتوزيع ، الاردن عمان.
- العمر ، مثنى عبد الرزاق .(2000) التلوث البيئي . الطبعة الاولى . دار وائل للطباعة و النشر .عمان الاردن .
- قمحية، حسان احمد (1997). الفزيولوجيا الطبية والفزيولوجيا المرضية.الجزء الثالث. (مترجم) دار ابن النفيس. المركز التقني المعاصر.
- الكناني ، عذاب طاهر (2008).الفيزياء الاشعاعية- الاشعة السينية التشخيصية ، الطبعة الاولى ، دار الفجر للنشر والتوزيع . القاهرة .
- الهيتي ، قاسم امين (2007). التاثير البايولوجي والوقاية من الاشعة السينية ،كلية العلوم .جامعة بغداد.

- الهيئة العربية للطاقة الذرية (2011). الوقاية من الاشعاع في الطب (الترجمة العربية). تونس.ICPR: 105
- ياسين، عقيل عبد و توفيق، طارق حفظي (1990). السرطان ومسبباته. رقم الايداع في دار الكتب والوثائق ببغداد 329 لسنة 1990.

المصادر الاجنبية :

- **Abd Aziz, H. ; Shabat, M . ; Khitam, E. ; Osman, A. (2010)**. Effect of EMF on body weigt and blood indices in Albino rat and the therapeutic action of vitamin C, E. Rmanian . J. Biophys ., 20: 235-244.
- **Abou-Safi, H. M., Ashry, O.M. and Kafafy, Y. A. (2005)**. Effect of N – acetyl- L- cysteine and α-o Tocopherol administration on endogenous antioxidant protection of liver DNA and RNA and plasma lipid profile in y-irradiatin rats . Egypt . J.Applc ., 18(1) : 81-96.
- **Agrawal , N.; Korkaya , H. and Jameel , S. (2000)** . How viruses evade host responses. Current Science. 79 (6): 711-724.
- **Akleyev, A. V. and Varfolomeyeva, T. A. (2007).** The state of hemopoiesis under long- term radiation exposure of bone marrow in residents of the Techa riverside villages . Radiation Biology. Radioecology. 47(3): 307- 321.
- **AL-Amery, H. ; Abdul-baki (2002)**. Free radicals and carcenoma of urinary bladder. Basic. Med. 2(2): 148-152.
- **Ali, M. M.; Noaman, E.; Kamal, Sh.; Soliman, S. and Ismail, D. A.(2007).** Role of germanium L-cysteine α-tocopherol complex asstimulator of some antioxidant defense system in gamma irradiated.
- **Allain.(1974).**Measurement of cholesterol.Clin.Chem., 20:470-475.
- **Alonzo, F. ; Hertel-Aas, T. ; Gilek, M. ;Gilbin, R. ; Oughton , D.H. and Garnier-Lapace, J. (2008)**.J. Environ . Radiact., 99:1464-1473.
- **Alpen , E. L. (1990)**.Radiation Biophysics. Hall, Englewood Cliffs , New York, USA.

- **Ammar, A. A. (2009):** Evaluation of the protective role of wheat germ oil in irradiated rats. Isotope and Rad. Res ., 41: 911-920.
- **Anthony, Warford, William Howat and John McCafferty. (2004)** Expression profiling by high-throughput IHC. Journal of Immunological Methods, Vol 290, Issues 1-2, 81-92.
- **Ashry, O. (2003)**. Modullation of radiation induced toxicity by caffeine preinjection in female rats. Egypt. J. Rad. Sci. Applic ., 16(1) : 1-11.
- **Ashry, O. M. (2008)**. Hesperidin, a citrus bioflavonoid attenuates liver oxidative stress in rats produced by carbon tetrachloride and irradiation. Egypt. J. Rad. Applic ., 21(2): 407-422.
- **Attar, M. ; Molaie Kondolousy, Y. and Khansari, N. (2007).** Effect of high dose natural ionizing radiation on immune system of the exposed resident of RamsarTown, Iran.J. Allergy Asthma Immunol ., 6(2): 73-78.
- **Aurora, R.H. ; Francisca, G. and Montserrat, G.C.(2012)**from Mammalian and Reproduction : What can we learn from Mammalian Females? Genes ,3:521 -544 .
- **Badr El-din, N. K. (2004):** Influence of pretreatment with sanumgerman on total body γ–irradiation induced kidney impairment in mice. Egypt. J. Rad. Sci. Applic ., 17(1): 61-74.
- **Bank , A.(2005)** Understanding globin regulation in β-thalassemia :its as simple as simple as α ,β,γ and σ. J. Clin. Hnvestigation , 115 (6): 1470-1473.
- **Barabanova,A.V.; Baranov, A.E. ; Bushmanov, A.(2007).**Chronic radiation sickness due to uniform irradiation .Moscow. Slovo . 85-101.
- **Baranov, A. E. ; Konchalovski, M. V. and Soloviev, W.Y. (1988).** Use of blood cell count changes after radiation exposure in dose assessment and evaluation of bone marrow function . In. Ricks,

R.C. ; Fry, S. A. (Eds). The Medical Basis for Radiation Accident 6668 Preparedness II. Elsevier, New York . PP: 427-443.

- **Barham,K.J. ;Masters ,C.L. &Bush ,A.L. (2004)** Neurodege nerative Diseases and oxidative stress .Nat.Rev. Drug. Discov.;3:205-2014.
- **Bath, L.E. ; Critchley, H. O. ; Chambers, S.E.; Anderson, R. A. ; Kelnar, G.J.(1999).** Ovarian and uterine characteristics after total body irradiation in childhood and adolcscence respone to sex steroid replacement . Br..Obstet. Gynaecol ., 106: 1265-1272.
- **Baynes, J.W. And Dominiczak , H.M. (2004).**"MedicaI Biochemis-try". 2nd
- **Bedaiwy , M.A. ; falcone ,T. ;Mohamed ,M.S. ;Aleem, A.A.;Sharma, R.K.(2004)** deferential growth of human embryos in vitro : role of reactive oxygen species fertil stril . 82 :593 -600.
- **Beltran- Garcia, M.J. ; Espinosa, A. ; Herrera, N. ; Perez-Zapata, A. J. ; Betran-Garcia, C.(2000)**. Formation of copper oxychoride and reactive oxygen species as causes of uterine injury during copper oxidation of Cu-IUD. Contraception . 61: 99-103.
- **Benhar**, M. **; Engelberg , D. and Levitzki, A. (2002).** ROS, stress-activated kinases and stress signaling in cancer. EMBO. Rep ., 3:420-425.
- **Bentzen, S.M.(2006).** Preventing or reducing late side effect of radiation therapy : radiobiology meet molecular pathology .Nat. Rev. Cancer, 6: 702-713.
- **Bhatia , A. L. ; Manda, K. (2004-a).** Study on pre- treatment of melatonin against radiation- induced oxidative stress in mice.Environ. Toxicol. Pharmacol . 18: 13-20 .

- **Bhatia, A. L. and Jain, M. (2004)**: Spinacia oleracea L. protects against gamma radiations , a study on glutathione and lipid peroxidation in mouse liver. Phytomed., 11(7-8): 607-615.
- **Bhatia, A. L. and Jain, M. (2004-b):** Spinacia oleracea L. protects against gamma radiations , a study on glutathione and lipid peroxidation in mouse liver. Phytomed ., 11(7-8): 607-615.
- **Block, C., Dietrich, M., Norkus, E., Morrow, J.D., and Poker L. (2002).** Factors associated with oxidative stress in human populations. Am J. of Epidemiol. 156 (3): 274-278.
- **Boenisch, T. (2001).** Handbook on Immunohistochemical Staining Methods, 3rd ed. DAKO. Corporation, Carpinteria , CA.
- **Brunet , S. ; Thibault , L. ; Delvin , E. ; Yotov ,W. ; Bendayan , M. and Levy , E. (1999)** . Dietary Iron overload and induced lipid Peroxidation Are Associated with Impaired plasma Lipid Transpor t and Hepatic Sterol Metabolism in Rats .Hepatol ., 1809-1817.
- **Brush, J. ; Lipnick, S.L. ; Phillips, T. ; Sitko, J. ; Mcdonald, J.T. and Mcbride, W.H. (2007)**. Molecular mechanisms of late normal tissue injury . Semin . Radiat. Oncol ., 17 (2): 121-130.
- **Buckley, P.G. ; Bines, W.P. ; Kemball, P. T.; Williams, M.K.(1997)**.Development of revised Ionizing Radiation Regulation. J.Radiol. Prot. , 18(3): 115-118.
- **Bullwinkel, J.; Baron-Luhr,B. ; Ludemann, A. (2006).** Ki67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells. J. Cell physiol ., 206 : 624-635.
- **Burcham, P. C. ; Kaminskas, L. M. and Fontain, F.R.(2002).** Aldehyde sequestering drug Tools for studying protein damage by lipid peroxidation products.Toxicol . 229: 181- 182 .
- **Burdorf , A. ; Figa -Talamanca , I. ; Jensen , T. K and Thulstrup , A. M. (2006).** Effect of occupational exposure on the reproductive

system : Core evidence and practical implication. Occup Med ., ; 56: 516- 20. [PubMed]

- **Burits., C.A. and Ashwood, E. R. (1999).**Trits Text Book of clinical chemistry 3rd ed. W.B.Saunders company,Tokyo.1034-1054.
- **Burstein, M. J. (1970).** Measurement of HDL. Lipid Res. , 11: 583.
- **Bushberg , T.; Anthony Seibert , J. ; Leidholdt, E. ; and Boone, J. (2001).** The Essential Physics of Medical Imagining. 2nd ed. Lippincott Williams and Wilkins Pub. California. USA.
- **Cavalieri, E.L. and Rogan, E.G. (1990)**. Radical cations in aromatic hydrocarbon carcinogenesis. FreeRadic. Res .Commum ., 11:77-87.
- **Cember , H.(1983). Introduction to Health Physics , Pergamon press. Ward,J.F.(1988)**. DNA damage produced by ionizing radiation in mammalian cells, identities ,mechanisms of formation and reparability. Prog. Nucleic Acid Res.Mol. Biol ., 35: 95-125.
- **Chen, J. (2004).** Senescence and functional failure in hematopoietic stem cells. Experimental Hematology. 32(11): 1025-1032.
- **Cheng, F.C., Jen, J.F. and Tsai, T.H. (2002)** Hydroxyl radical in living systems and its separation methods. J. Chromatography., 781(1-2): 481-496
- **Choi, H. G. ; Kim, J.K. ; Kwak, D. H. ; Cho, J. R. ; Kim, J.Y. ; Kim, B. J. ; Jung, K.Y. ; Choi, B. K. ; Shin, M.K. and Choo, Y.K. (2002).** Effect of high molecular weight water – soluble chitosan on in vitro fertilization and ovulation in mice fed ahigh- fat diet. Archives of pharmacol .Research . 25(2): 178-183.
- **Choie , J.W. ;Kim , S. K. and Pai , S.H. (2001)**. Changes in serum lipid concentraction durin Iron depleting and after iron suppleme-Natatio Annals of clinical and liboratory science . 31(2): 15-157.

- **Chotkowska ,E. ; Kurjata ,P. and Kupsc ,W. (2001)**. Evaluation of the precision of the friedewalds nsformula for the calculuation of LDL-C Concentraction in serum .Pol. Merkariusz –Lek . 11 (64) 348-51.
- **Coggle, J.E.(1983).** Biological Effect of Radiation . 2nd ed . Toy Lor & Fracis Ltd ., London.
- **Comporti, M. ; Signorini, C. ;Arezzini, B. ; Vecchio,D. ; Monaco, B. and Gardi, C. (2008).** F2-isoprostanes are not just markers of oxidative stress . Free Radic. Bio. Med,44: 247- 256.
- **Constine, L.S.; Woolf, P.D. ; Cann,D. ; Mick, G. ; McCormik,K. and Raubertas, R. F. (1993).** Hypothalamic dysfunction after radiation for brain tumors. N. Engl.j. Med. , 328 : 87-94.[PubMed].
- **Cooke, M.S. ; Evan, M. D. ; Dizdaroglu, M. ; Lunec, J. (2003).** Oxidative DNA damage , mechanisms, mutation , and disease. FASB.J.,17:1195-1214.
- **Cortes-Wanstreet, M.M.; Giedzinnski, E. ; Limoli, C.L.; Luderer, U. (2009).** Overexpression of glutamate cysteine ligase protect human COV434 granulosa tumer cells against oxidative and y-radiation- induced cell death . Mutagenesis. 24: 211-224.
- **Cos, E.P.; De Bruyne Tapers , S. Vandenden B,D. ; Pieters, L. and Vlietinck, A.J. (2003).** Planta Med ., 69: 589.
- **Coskun, H. ; Ozlem, E.R. ; Tanriverdi, F. ; Altinbas, M. (2003).** Hyperosinophilia as a preclinical sign of tongue squamous cell cancer in gastric cancer patient with complete remission. Turk . J. Hametol ., 20: 107- 110 .
- **Critchley, H. O. and Wallace, W.H.(2005).** Impact of cancer treatment on uterine function .J. Natl Cancer. Inst. Monogr, : 64-68.
- **Dabbagh , A.J. ; Shwaery ,G.T. ; Keaney , J.F. and Frei, B. (1997)** . Effect of iron overload and deficiency on atherosclerosis in the

hyper Cholestero lemicrabbit Arterioscler . Thromb . Vase .Biol ., 17 : 2638-2645.

- **Daisy, P. ; Santosh, K. ; Rajathi , M. (2009).** Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of Clitoria ternatea Linn. in alloxan-induced diabetic rats. Afr. J. Microbiol. Res ., 3 (5) , 287-291.
- **Dasgupta, A.; Malhotra, D.; Levy, H.; Marcadis, D.; Blackwell, W. and Johnston, D. (1997):** Decreased total antioxidant capacity but normal lipid hydroperoxide concentrations in sera of critically ill patient. Life Sci ., 60(4-5): 335-340.
- **Dean, RT., Fu, S., Stocker, R. and Davies, MJ. (1997)** Biochemistry and pathology of radiocalmediated protein oxidation. Biochem. J. 324, 1–18.
- **Delanian , S. and Lefaix , J. L. (2007) .** Current management for late normal tissue injury , radiation – induced fibrosis and necrosis. Semin. Radiat. Oncol .,17(2): 99-107.
- **Delanian, S. ; Porcher, R.;Rudant , J.and Lefaix , J. L. (2005)** . Kinetics of response to long-term treatment combining pentoxifylline and tocopherol for regression of superficial radiation-induced fibrosis. J.
- **Denicola , A. ; Radi , R.(2005).** Peroxynitrite and drug-dependent toxicity. Toxicology, 208(2): 273-288.
- **Dennis, E. Chenoweth, Marc Key, A.D,(2006).** Immunohistochemical Staining Methods, 4th ed. DAKO.
- **Dertinger , H. and Jung , H. (1970)** . Molecular radiation , translated by Huber, R.P.O ; Greshgm , P.A. and Zimmen , K.J ; Longman Springer , New York , U.S.A.
- **Desnoyers, M. Feldman, B.F. ; Zinkl, J.G. ; Jain, N. C. ; Baltimor, (2000)**.Anemias associated with Heinz bodies , Schalms Veterinary hematology, 5th ed . Lippincott Williams and Wilkins, P.P: 178-180.

- **Ding , G.R. and Guo, G.Z (2007).** Advances in research of radioprotec .J. Radiat . Process . 25:321-324.

  directly on protein molecules. J. Pharm. Sci. 90(10): 1637-1646.
- **Dowd , S . B . and Tilson , E . R . (1999)** . Practical Radiation Protection and Applied Radiobiology . 2nd ed. Philadelphia, P.A.Sounders . 118-120.
- **Earl, R.S. and Barbara, S.B. (1997).** Free radical mediated modification of Protein. Free Radical Toxocology J. 5 : 71-87.
- **Eder, K. and Kirchgessner, M. (1997).** Concentrations of lipids in plasma and lipoproteinsand oxidative susceptibility of low-density lipoproteins in zinc-deficient rats fedlinseed oil or olive oil. J. Nutr. Biochem ., 8(8):461-468
- **EL- batal, A. ; Azad, K. S. ; Saada, H. ; Rezk, R. and EL-tahawy, N. (2008).** amelioraying effect of yeast glucan with zinc bisglycinat in histological and biochemical changes in y- irradiation rat. In. J. agri. Boil. 10: 361-368.
- **El-Ashry, M. ; Ibrahim, M. and Ali, E. (2008b).** The influence of 50 Hz magnetic field on liver oxidative . Suez. Canal. Univ. Med. J ., 11(1): 53-58.
- **El-Kafif, M.; Ragab, M.; El-Dawy, H. and Tawfik , S. (2003).** Effect ofttaurine treatment on some biochemical parameters in gammairradiated mice. Environ. Sci ., 6 (2):393-401.
- **El-Masry, F. S. and Saad, T. M. (2005)**. Role of selenium and vitamin E in modification of radiation disorders in male albino rats: Isotope and Rad. Res ., 37 (5): 1261-1273.
- **El-Missiry, M. A.; Fayed, T. A.; El-Sawy, M. R. and El-Sayed, A. A (2007).** Ameliorative effect of melatonin against gammairradiation induced oxidative stress and tissue injury. Ecotoxicol. Environ. Saf ., 66(2): 278-86.

- **El-Tahawy, N. A.; Hanafi , N. and Said , U. Z. (2009).** Antitumor andantioxidant activities of activin in kidney tissue of mouse bearingmurine mammory Aden carcinoma and exposed to gammaradiation. Egypt. J. Rad. Sci. Applic ., 22(2): 427-443.
- **Emmen, J.M. and Korach, K.S. (2003).** Estrogen receptor knockout mice: phenotypes in the female reproductive tract. Gynecol. Endocrinol. 17: 169-176.
- **England, K. Cotter, T.G. (2005).** Direct oxidative modification of signalling protein in mammalian cell and their effect on apoptosis . Redox. Rep ., 10 : 237-245.
- **Erden ,M. (1992).** Radyasyonum baziertrasit enzimlere etkisi. Doga .Turk. J. Med ., 16: 55-66.
- **Esterbauer, H. (1996).** Estimation of peroxidative damage. A critical review. Pathol. Bio. (Paris) 44: 25- 28.
- **Fajardo, L.F., Berthrong, M., Anderson, R.E. (2001).** Radiation pathology. New York: Oxford University Press.
- **Fassati, P. and Principe ,L. (1982)**. Measurement of Triglyceride.Clin. Chem., 28(20):77-80
- **Feinendegen , L. E. (2002).** Reactive oxygen species in cell responses to toxic agent. Hum. Exp. Toxicol ., 21: 85-90.
- **Feldman, E. B. and Kuske , T. T. (1989).** Lipid disorders , Diet and drug therapy . J. Clin . Med ., 6(3) : 27 .
- **Ferrari, R. ; Ceconi, C. ; Curello, S. ; Cargnoni, A. ; De Giuli, F. and Visioli, O. (1992).**Occurrence of oxidative stress during myocardial reperfusion. Mol. Cell. Biochem ., 111(1-2): 61-69.
- **Feurgard, C.; Bayle, D.; Guézingar, F.; Sérougne, C.; Mazur, A.;Lutton, C.; Aigueperse, J.; Gourmelon, P. and Mathé, D.(1998)**. Effects of ionizing radiation (neutron/gamma rays) on plasma lipids and lipoproteins in rats. Rad. Res ., 150 (1): 43- 51.

- **Finch, C.E. and Tanzi, R. (1997)** .Genetics of Aging Science 273 : 40-424.
- **Finch, S.C.; and Beebe, G.W.(1975).** Aging. J. Radiat . Res ., Supplement . 108-121.
- **Fiorani, M.; Biagiarelli, B. ; Vetrano, F. ; Guidi, G. ; Dacha, M.; Stocchi, V. (1998).** In vitro effect of 50 Hz maganetic field on oxidatively damged rabbit red blood cells . Bioelectromagnetics ., 18: 125- 131.
- **Fliedner ,T. M. ; Graessle , D. ; Paulsen, C. (2002).** Structure and function of bon marrow hemopoiesis: mechanisms of response to ionizing radiation exposure. Cancer . Biother. Radiopharm ., 17: 405-426.
- **Flora , S.J.(2007).** Role of free radicals and antioxidant in health and disease. Cell.Mol. Biol .,53:1-2.
- **Fried ewald ,W.; Levy ,R.; Fredirckson ,D. C. (1972)** .Clin .Chem., 18 :199.
- **Fukuda, T., Kino, Y., Abe, Y., Yamashiro,H., Kuwahara,Y., Nihei, H., Sano, Y., Irisa-wa, A., Shimura, T., Fukumoto, M., Shinoda, H., Obata, Y., Saigusa, S., Sekine,T., Iso-gai, E. and Fukumoto , M.(2013).** Distribution of artificial radionuclides in the abandoned cattle in the evacuation zone of Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant. Plos ., ONE. 8, 54312 .
- **Gago - Dominguez , M. ; Cstelao, J. E . ; Pike , M. C ; Sevanian , A . and Haile , R.W. (2005).** Role of lipid peroxidation in the epidemiology and prevention of breast cancer. Cancer Epidermiol .Biomarkers Prev ., 14:2829-2839.
- **Galan, A. ; Tan, D.X. ; Reiter, R.J (2011).** Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physiocochemical examination .Journal of Research 51:1-16.

- **Gebicki, S. and Gebicki, JM. (1993).** Formation of peroxide in amino acid and proteins exposed to oxygen free radicals. Biochem J., 289: 743-794.
- **Georgieva, T. S.; Yablanskii, P.; Georgiev, D.; yakov, M. and Oblakova, M. (2005).** Reciprocal transloction and reproductive capacity in rabbits following external gamma irradiation. Bulgarian J. Vet. Med., 8(4):227-232.
- **Gougeon ,A. (1996).** Regulation of ovarian follicular development in primates: Facts and hypotheses. Endocrine. Rev 17: 121-155.
- **Greenstock, C.l.(1994).**Biological and biophysical techniques to asses radiation exposure: A perspective prog .Biophys.Mole.Biol ., 61:81-130.
- **Grey, L. and Lila, R. (1994).** Immunohistochemistry.In: Ulrikav.Mikel. Advanced laboratory method in histology and pathology, Armed forces institute of pathology. American registry of pathol. Washington, D.C, 2 :1-30.
- **Gulbahar, O. ; Aricioglu, A. ; Akmansu, M. and Turkozer, Z. (2009).** Effect of radiation on protein oxidation and lipid peroxidation in brain tissue. Transplant proc . 41(10): 4394-4396.
- **Guney ,Y. ; Turkcu , U. O. ; Hicsonmez , ; Andrieu , M . N. ; Guney , H . Z. ; Bilgihan , A . and Kurtman , C. (2006).** Carnosine may reduce lung injury caused by radiation therapy. Med Hypotheses. 66(5) :957-959.
- **Guney, Y.; Bukan, N.; Dizman, A. and Bildihan, A. (2004):** Effects of two different doses of irradiation on antioxidant system in the liver of Guinea pigs. Oncol ., 26: 71-74.
- **Gurr , M. T. and Harwood , J. L. (1992).** Lipid Biochemistey- an introduction , 4th ed. Campan and Hall.(Ed). London , U. K.

- Gusev, I.A.; Mettler, F.A. and Guskova, A.K. (2001). Medical Management of Radiation Accidents .Second edition,CRC Press, Boca Raton .
- **Gutteriage , J.M.S. and Cross , C.E. (1992)** . Free radicals antioxidants and human disease .J . Lab.Clin.Med ., 119: 598-620.
- **Haggag , A. M.; El-Beih, N. M. and Mangood, S. A. (2008):** In vivo internal decontamination of 134Cs and 60Co from male albino rats. Egypt. J. Rad. Sci. Applic ., 21(2): 531-546.
- **Hall , E . J. ; Giaccia , A. J. (2006).** Radiobiology for the radiologist. 6th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins .
- **Hall ,E . J . ; Giaccia , A . (2008)** . Radiobiology for the Radiologist. 6th ed . Philadelphia , PA : Lippincott ,Williams & Williams.
- **Hall, E.J. (2009)** Radiation biology for pediatric radiologists. Pediatr. Radiol., (39) Suppl. (1):S57–64.
- **Halliwell , B. (1997).** Antioxidants: the basics- what they are and how to evaluate them.Adv.Pharmacol ., 38:3-20.
- **Halliwell ,B. and Gutteridge , M. C. J.(2004).**Free radicals in biology and medicine. 3rd ed. Oxford University Press . Inc ., New York .
- **Hanoux, V. ; Pairault, C. ; Bakalska, M. ; Habert, R. ; Livera, G. (2007).** Caspase-2 involvement during ionizing radiation – induced oocyte death in mouse ovary . Cell .Death. Differ. , 14: 671-681.
- **Harper, H. A.; Rodwell, V. W. and Mayes P. A. (1977):** In review of physiological chemistery. 18th ed. Lange Medical Publication. Marzen Company Limited. Los Altos. California. USA. 328.
- **Harris ,L. ; Fritsch, H. ; Mennel, R. (2007).** American Society of Clinical Oncology , update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. J. Clin . Oncol, 25 : 5287-5312 .
- **Hashem, M.A. and EL- Sharkawy, N.I. (2009).** The effect of low electromagnetic field and lead acetate combination on som

hemato-biochemical and immunotoxicological parameters in mice. Turk. J. Hematol ., 26: 181- 189 .

- **Hassan, S.; Abu-Gahadeer, A. and Osman, S. (1996):** Vitamins B group and / or folic acid restoring the haematopoieic activity in irradiated rats. Egypt. J. Rad. Sci. Applic ., 9 (1): 67-78.
- **Hendry, J.H., and Lord, B.I.(1995).** Radiation toxicology, bon marrow and leukaemia (Eds)
- **Hendry, J.H.; Jeremic , B.; Zubizarret a, E.H. (2006)** . Normal tissue complication after radiation therapy. Rev. Panam.Salud ., 20: 151-160.
- **Herrman ,I. (1997)** Radiation recation in the gonads : importance in patient counseling . Strahlenther , Onkol ,173:7993-501.
- **Higuchi , Y. (2004)** . Glutathion depletion – induced chromosomal DNA fragmentation associated with apoptosis and neerosis .J. cell .Mol ., 8 (4):455-464.
- **Hill , R . P . (2005)** . Radiation effect on the respiratory system . BJR Suppl ., (7) : 75- 81.
- **Howell**, **S.; Shalet, S; (1998):** Gonadal damage from chemotherapy and radiotherapy .Endocrinol Metab Clin. North Am., 27 (4): 927-43.
- **Hsu, S.M, Raine, L. and Fanger, H. (1981)** The use of avidin biotin peroxidase complex in immuno-peroxidase techniques. Am. Clin. Pathol .,75 :816-861.
- **Hussien, E. M. ; Darwish, M. M. and Ali, S. E. (2007).** Prophylactic role of combined treatment with Coenzyme Q 10 and Vitamin E against radiation in male rats. Egypt. J. Rad. Sci. Applic. ; vol 20 (1): 181-194.
- **ICRP**, **(2000c).** Prevention of accidental exposures to patients undergoing radiation therapy. ICRP Publication 86. Ann ., ICRP 30(3).
- **ICRP**, **(2000d).** Managing patient dose in computed tomography. ICRP Publication 87. Ann ., ICRP 30(4).

- **ICRP,(2001)**. Radiation and your patient – a guide for medical practitioners. ICRP Supporting Guidance 2. Ann. ICRP 31(4).
- **ICRP,(2007a).** Biological and epidemiological information on health risks attributable to ionizing radiation. a summary of judgements for thepurposes of radiological protection of humans. Annex A to 2007 Recommendations.
- **ICRP,(2009).** Preventing accidental exposures from new external beam radiation therapy technologies. ICRP Publication 112. Ann. ICRP ., 39 (4).
- **ICRP,(2007).** Recommendation of the International Commission on Radiological Protection , Biological effects of radiation and Bases for judging the significance of effect of radiation. Publication103. Ann. ICRP ., 37: 1-332.
- **ICRP,.(2000 a)** .pregnancy and medical radiation . ICRP ., 30:(1).
- **ICRP,.(2003b)** .Biological effects after perntal irradiaton (embryo and Fetus) .ICRP , Publication . 90 Amm .ICRP ., 33:(1-2)
- **ICRP,.(2007b)** .The recommendation of the inrternational commission on radiological protection. ICRP ., 37:(2-4)
- **Ikediobi, O., Badisa, V.; Ayuk-Takem, L. ; Latinwo, M. ; West, J. (2004)**. Response of antioxidant enzeymes and redox metobolites to cadimium-induced oxidative stree in CRL-1439 normal rate liver cells. Int. J. Mol. Med. 14 (1): 87-92.
- **Ilhan, N., Akbulut, T. and Kucuksu, M. (2004).** C- reactive protein, procalcitonin, interlukin-6, vascular endothelial growth factors and oxidative metabolites in diagnosis of infection and staging in patient with gastric cancer. World J. Gastroenterol. 10 (8) :1115-1120.
- **International Atomic Energy Agency IAEA (2001).**Cytogenetic analysis for radiation dose assessment .Technical Reports Series No.405, Vienna.

- **Ishimaru, M. and Ishimaru, T. (1975).** Leukemia and related disorders. J. Radiat. Res. Supplement . 89 : 96.
- **Ishimura, Y. ;Nishizawa, S. ;Okuno, S. ;Matsumoto, N. ; Emoto, M.; Inaba, M.; Kawagishi, T. ; Kim C. and Morii, H.(1998).** Diabetes Mellitus increase the severity of anemia in non-dialyzed patients with renal failure. J. Nephrology ., 11(2):88-91.
- **Iwasaki, T. ;Takahashi , S. ;Yamamoto, T.T. and Haltori, H. (2005) .** Deficiency of very low- density lipoprotein (VLDL) receptors in streptozotocin – induced diabetic rats :insulin dependency of VLDL receptor . Endocrinol . 8: 3286- 3294.
- **Jamie Davies. (2003)** . Introduction to Immunocytochemistry. J. Anat ., 202 (2):251-252.
- **Jancar ,N. ;kopitar, A.N.; Ihan ,A. ;Virant, Klun ,I. ;bokal ,E.V.; (2007)** .Effect of opoptosis and reactive oxygen species production in human granulosa cells on oocyte fertilization and blastocyst development . I Assist Reprod Genet., 24 :91-97 .
- **Johannessen, A. L., Torp , S.H.(2006).** The clinical value of Ki67/MIB-1labeling index in human astrocytomas. Path. Oncol. Res .,12 : 143-147.
- **Johansson, S.; Svensson, H. and Denekamp, J. (2000).** Timescale of evolution of late radiation injury after postoperative radiotherapy of breast cancer patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*., 48(3): 745–50.
- **Johnston, S. D., Starrs, A. p. Danids, C. B., and Orgeiny, S. (2002).** Ontogeny of the pulmonary surfactant and antioxidant enzyme systems in the viviparous lizard, Tiliqua rugosa. Physiol and Biochem. Zoology. 15(3): 260-272.
- **Joiner, M. C. ; Marples, B., Lambin, P. ; (2001).** Low-dose hypersensitivity current status 1527, and possible mechanisms. Int.J. Radiat. Oncol. Biol. Phys ., 49: 379-389.

- **Josef , B. (2007).** Phenylhy drazine haematotoxicity.J. Applied .Biomed .5: 125-130.
- **Kafafy, Y. A.; Roushdy, H.; Abdel-Haliem, M.; Mossad, M.; Ashry, O. and Salam, S. (2005b).** Green tea antioxidative potential in irradiated pregnant rats. Egypt. J. Rad. Sci. Applic ., 18(2): 313-333.
- **Kafafy, Y. H. and Ashry, O. (2001):** Antioxidative potential of parsley on gamma irradiated rats. Egypt J. Rad. Sci. Applic ., 14: 25-42.
- **Kamat , J. P. ; Boloor, K . K . ; Devasagayam ,T.P.A and Venkatachalam, S.R (2000).** Antioxidant properties of Asparagus racemosus against damage induced by y –radiation in rat liver mitochdondria.J.Ethnopharmacol., 71:425.
- **Kampa, M., Nistikaki, A., Tsaousis V., Votas, G., Nistikaki A., Hatzoglou A., and Blekas, G. (2003)**. Antiproliferative and apoptotic effect of selective phenolic acids on T47D human breast cancer cells: potential of mechanism of action. Breast Cancer Research. 6 (2): 63-74.
- **Kankuri , M. , Soderstrom, K.O. , Pelliniemi, T.T. (2006).**The association of immunoreactive P53 and Ki67 with T-stage , grade, occurrence of metastases and survival in renal cell carcinoma. Anticancer Res ., 26 : 3825-3833.
- **Karbownik, M. and Reiter, R. S. (2000).** Antioxidantive effect of melatonin in protection against cellular damage caused by ioninzing radiation . Proc. Soc. Exp. Biol. Med ., 225(1): 9-16.
- **Kato, H. ; Beebe, G.W.& Land, C. E. (1979).** Mortality among a-bomb survivors 1950-1974. J. Radiat. Res ., 17:51.
- **Kempner, E. S. (2001):** Effects of high-energy electrons and gamma rays
- **Kerksick ,C. and Willoughby , D. (2005).**the antioxidant vole of glutathione and N-acetyl- cystien supplements and exercise induced oxidative stress. J. Int. Soc. Sports Nutr ., 2(2):38-44.

- **Khan, M. R.; Rizvi, W.; Khan, G. N.; Khan, R. A. and Shaheen, S. (2009):** Carbon tetrachloride induced nephrotoxicity in rats: Protective role of Digera muricata.Ethnopharmacol . J ., 122 (1): 91-99.
- **Khani,I. ;Montazeri , A. ;Ghorbani, A. ; Ramezani , M.; Seyedi , T. ; Mohseni ,F. and Narmani , B.(2007).**Mental health status of beta- Thalassemia major in mazandaran province in 2006 .J. Fundametals .Mental Health ., (9):35-36.P.85-96.
- **Kilian, M., Mautsch, I., Gregor, J.I., Heinicheu, D., Jacobi, CA., Schimke, I. and Wenger, FA. (2003)**. Influence of conjugated and conventional linoleic acid on tumor growth and lipid peroxidation in pancreatic adenocarcinoma in hamster. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 69 (1): 67-72.
- **Kim, J.K. and Lee, C.J. (2000).** Effect of exogenous melation on the ovarin follicles in γ-radiation mous . Mutat. Res., 449: 33-39
- **Kinoshita, N., Sueki , K., Sasa, K. ,Kiagawa, J. , Ikawashi , S. , Nishimura,T., Wong , Y. S., Satou , Y., Handa, K., Takahashi,T., Sato, M., Sato, M., Yamagata , T. (2011).** Assessment of individual radionuclide distribution from the Fukushima nuclear accident covering central-east Japan.Pro. Natl. Acad.Sci ., 108, 1952-19529.
- **Knopp ,R. and Zhu , X. (1997).** Multiple beneficial effect of estrogen on lipoprotein metabolism .J. Clin .Endocrinol . Metab ., 82 : 3952-3954.
- **Kojima, M.; Masui ,T. ; Nemoto , K. and Degawa , M.(2004).**Lead nitrate induced development rats: sterol.independent gene regulation Of hepatic cholesterol homeostasis . Toxicol. Lett ., 154:35-44.

- **Kolomijtseva, I.K.(1986).** On activation of cholesterol genesis under the effect of ionizing radiation o mammalian body. radiobiologiya, 26(1):3.
- **Kovar, J. ; Fejefarova,V. Pelikanova , T. and Poledne , R. (2004).** Hyperglycemia down regulates total lipoprotein lipase activity in humans. Physiol. Res ., 53: 61-68.
- **Kowluru R. ; Bitensky M., Kowluru A. ; Dembo M. ; Keaton P. and Buican T.(1989).** Reversible sodium pump defect and swelling in the diabetic rat erythrocytes: effect of filterability and implications for microangiopathy. Proc. Natl. Acad. Sci. USA .,86:3327-3331
- **Kryston, T.B. ; Georgiev , A.B. ; Pissis , P. ; Georgakilas , A.G. (2011) .** Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. Mutat. Res, 711: 193-201.
- **Lambrot, R.; Coffigny, H.; Pairault, C.; Lécureuil, C.; Frydman, R.; Habert, R. and Rouiller-Fabre, V. (2007)**: High radiosensitivity of germ cells in human male fetus. J. Clin. Endocrinol. Metab., 92(7): 2632-9
- **Land , C. E. ; Tokunaga, M. ; Koyama , K. ; Soda, M.; Preston , D.L. ; Nishimori , I. and Tokuoka, S. (2003).** Incidence of Female Breast Cancer among Atomic Bomb Survivors, Hiroshima and Nagasaki, 1950-1990. Radiat Res.Dec.,160(6):707-17.
- **Lands, LC., Grey, VL. ; Smountas, A.A. (1999)** Effect of supplementation with a cysteine donor on muscular performance. J. Appl. Physiol. 87:1381-1385.
- **Lee, C.J. and Yoon, Y.D.(2005).** Gamma- radiation – induced follicular degeneration in prepubertal mous ovary. Mutal. Res ., 247-255.
- **Lee, S. W. and Ducoff. J. S. (1994).** The effect of ionizing radiation on avian erythrocytes . Rad. Res., 137(1) : 104-110.

- **Lee, Y.K. ; Chang,H. H. ; Kim, W.R.; Kim. J. K. ; Yoon, Y. D.(1998).** Effect of gamma- radiation on ovarian effect of gamma-radiation on ovarian follicles . Ar.Hiv. Za. Higijenu. Rada. Toksikologiju . 49: 147- 153.
- **Lehnert , S.(2007).** Biomolecular Action of Ionizing Radiation, Taylor and Francis Group . LLC.
- **Littley,M.D. ; Shalet, S.M. ; Bearwell, C.G.(1990).** Radiation and hypothalamic- pituitary function . Baillieres. Clin. Endocrinol. Metab. , 4 : 147-75. [PubMed].
- **Ma, Y. ; Nie, H. ; Sheng, C. ; Chen, H. ; Wang, B. ; Liu, T.; Shao, J.; He, X. ; Zhang, T.; Zheng, C; Xia, W. and Ying, W.(2012)**. Roles of oxidative stress in synchrotron radiation X-ray induced testicular damage of rodent . J. Physiol. Pathophsiol. Pharmacol. , 4(2): 108-114 .
- **Mabuchi M.(1996).** Pharmacological intervention and LDL of fauclical hypercholesterolemia. A.P.J.C.N ., 5(4), 4-7.
- **Marnett, L. (1999).** Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. Mutat. Res., 424 (2): 83-95.
- **Martin, L. M. ; Marples , B. ; Coffey, M. ; Lawler , M .; Lynch ,T. H; Hollywood , D. and Marignol, L. (2010).** DNA mismatch repair and the DNA damage response to ionizing radiation , making sense of apparently conflicting data. Cancer Treat Rev.,36: 518-527.
- **Masaki, H., astumi, T. and Sakurai H. (1995)**. Deteection of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals in murine skin fibroblasts under UVB irradiation. Biochem Biophys Res Comm., 206: 474-479.
- **Mateo – Gallepo , R.; Solanas-Barca , M. ; Burillo ,E. ; Cenarro , A. and Civeira , M. (2010)** Iron deposits and dietary patterns in familial Combined hyperlipidemia and familial hypertriglycerdemia.J. Physiol . Biochem ., 3:36-45.

- **Meirow,D. and Nugent, D. (2001).** The effect of radiotherapy and chemotherapy on femal reproduction .Hum. Reprod. Update. ; 7: 535-543. .
- **Meistrich, M. L. (1993).** Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis. Eur. Urol., 23(1): 136-41.
- **Michael, L. (2001).** The peroxy Radical" Department of chemistry, University of Iowa, Iowa city, IA 52242.
- **Miki, K., Mingxu, X., Gupta A., Bouvet, M., and Moossa, A.R. (2001).** Methioninase cancer Gene therapy with selenomethionine as suicide prodrugs substrate. Cancer Res ., 61: 6805-6810.
- **Miller, A.C. (2007).** Depleted Uranium: Properties, Uses, and Health Consequences. Boca.Raton. FL: CRC,Press/ Taylor and Francis.
- **Misurova, E. & Kalina, I. (1982).** DNA synthesizing cells in the blood or rats exposed to X-radiation . Folia biologic. 28 : 233-242.
- **Moen , M. ; Bratli , A. and Moen , T. (1984).** Distribution of HlA antigens among patient with endometricosis. Acta obstet Gynecol Scand .,123: 25-27.
- **Mueller, R.F. and Ian, D.Y. (1995).** Element of medical genetics. 9thed. Churchill Livingston, U.K.
- **Muiswinkel , W. ; Beek , J. and Soest , P. (1975)** .The recovery of the B-cell population in adult thymectomized, lethally irradiated and bone marrow-reconstituted mice. Immun., 29 : 827-831.
- **Munstedt, K, Von Georgi, R. Franke, F.E. (2004).** Correlation between MIB 1- determind tumer growth fraction and incidence of tumer recurrence in early ovarian carcinoma. Cancer.Invest ., 22 : 185-194.
- **Muralikrishman**, **G.S and Shyamaladevi, C.S. (1996).** The modulating effect of glutathione on lipid peroxidation on in rate treated with Anticancer drugs and x-ray irradiation. Indian J. of Pharmacol. 28: 188-190.

- **Murray, R.K.; Granner, D.K. and Mayes, P.A. (2003).** Harper's Illustrated Biochemistry .26th ed. Lange Medical Books / Mc Graw- HilL . 87-91.
- **Muslih, B., Mizil, Y. O.and Al-Nimer, M. S. (2001).** Detection The level of peroxynitrite, and related with antioxidant status in the serum of patients with acute myocardial infraction.National J. Chemistry , (4):625-637.
- **Nada , A. S. (2008):** Modulating efficacy of rosemary extracts in rats exposed to oxidative stress. Egypt. J. Rad. Sci. Applic ., 21(2): 499- 514.
- **Nageswara, R. ; Madamanchi, A. and Marschall, S. (2007)**. mitochondrial dysfunction in atherosclerosis. Circul . RES., 100:460-473.
- **Nais , A.H.W.(1998).** Introduction to Radiobiology. 2nd ed. Chichester , England . Wiley ., 4.
- **Nappi, AJ. and Vass, E. (1998).** Hydroxyl radical formation resulting from the interaction of nitric oxide and hydrogen peroxide. Biochimica. Biophys. Acta ., 1380 (1): 55-63.
- **National Council on Radiation Protection and Measurement. NCRP. (2009).** Ionizing Radiation Exposure of Population of the United State. Bethesda, MD: NCRP, Report 160.
- **NCRP. (1981).**Crtical Issues in setting Radiation Dose limits. Symposium proceeding , National Council on Radiation Protection and Measurments, Report No, 24 . U. S.A.
- **Nelson , G. A.(2003).** Fundamental space radiobiology. Gravitational and Space Biology Bulletin : Publication of the American Society for Gravitational and Space Biology . 16(2):29-36.
- **Niki , E.(2010).**Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. Free Radic. Biol. Med .,49:503-515.

- **NNAs, (1980).** The effect on poplation of exposure to low level of ionizing radiation. National Academic Press. U. S. A.
- **Noaman , E.; Mansour, S. Z. and Ibrahim, N. K. (2005).** Early effect of high dose of ionizing radiation exposure on plasma lipids profile and liver fatty acids composition in rats. Egypt. J. Rad. Sci. Applic ., 18(2): 227-293.
- **Nordberg, J. and Arner, E. (2001):** Reactive oxygen species, antioxidants and mammalian thioredoxin system. Free Radic. Biol. Med ., 31: 1287-1312.
- **Oglivy-Stuart, A. L.and Shalet, S. M. (1993).** Effect of radiation on the human reproduction system. Environ Health Perspect. Suppl. , 101 : 109-16 [PMC free article][PubMed].
- **Ornoy, A. (2007).** Embryonic oxidative stress as a mechanism of teratogenesis with special emphasis on diabetic embryopathy . Reprodu . Toxico ., 24:31.
- **Osman, N. N. and Hamza, R. G. (2013):** Protective Effect of Carica papaya Linn Against? Radiation-Induced Tissue Damage in Rats. Arab. J. of Nucl. Sci. and Appli ., 46 (1): (305-312).
- **Ozturk ,I. ; Mansour, B ; Yalcin, A. S. ; Celkoglu , F. and Gokhan, N. (2003).**Lipid peroxidation and osmotic fragility of red blood cells in spleepapnea patients .Clin. Chim.Acta., 332:83-88.
- **Pantelias , G .E. (1986).** Radiation-induced cytogenetic damage in relation to changes in interphase chromosome conformation. Radiat. Res., 105:3411-350.
- **Pasternak, J.J.(2005)** An introduction to human molecular genetics: mechanisms of inherited diseases. 2nd ed. Hoboken, N.J: Wiley-Liss;
- **Paszkowski, T. ; Traub, A. I. ; Robinson, S. Y. ; McMaster, D. (1995).** Selenium dependent glutathione peroxidase activity in human follicular fluid . Clin. Chim. Acta ., 236: 173-180.

- **Patil, S. R., Ravindra, Londonkar, R., Patil,S. B.(1998).** Nicotine induced ovarian and uterine changes in albino mice . Indian. J. Physiol. Pharmacol, 42: 503- 508 .
- **Pierce, D.A.; Shimizu, Y. ; Preston, D. L. ; Vaeth, M. ; Mabuchi, K. (1996).** Studies of the mortality of atomic bomb survivors . Report ,12 , part 1. Cancer: 1950- 1990 . Radiat. Res .,146, 1-27.
- **Pischon , T. ;Girman , C. ;Saks ,F. ; Rifai , N. and Rimm , E. (2005).** Non –high - density Lipoprotein cholesterol and apolipoprotein in the Prediction of coronary heart disease in men .Circulation .112 : 3375-3383.
- **Presnell, J.K. and Schreibman, M.P. (1997)**. Humason's animal tissuetechniques ,5thedn., John Hopkins Univ. Press, Balfimore, 546.
- **Preston , D.L ; Kusumi .S ; Tomonaga , M. ; Izumu ,S.; Ron ,E. ; Kuramoto. A.; Kamata, N. ; Dohy, H. ; Matsui, T. ; Nonaka , H. ; Thompson , D.E. ; Soda, M. and Mabuchi, K. (1994).** Cancer incidence in atomic bomb survivors, Part III: Leukemia, lymphoma, and multiple myeloma, 1950!87. Radiat Res., 137:S68-S97.
- **Preston, D.L.; Ron, E. ; Yonehara, S. ; Kobuke, T. ; Fujii, H. ; Kishikawa, M. (2002).** Tumors of nervous system and pituitary gland associate with atomic bomb radiation exposure . J.Natl Cancer Inst ., 94: 1555-63.
- **Qian S.Y. and Buettner G. R. (1999).** Iron and dioxygen chemistry is an important route to initiation of biological free radical oxidation: an electron paramagnetic resonance spin trapping study. Free Radical Biol. and Med.26 (11/12). 1447-1456.
- **Ragab, E.A. and Ashry, O.M. (2004)**. Lipid and carbohydrate metabolism in rats. Egypt. J. Sci. Applic, 17(2): 403-414.

- **Rajapakse, N; Kim, M. M. ; Mendis,E. and Kim, S. K (2007).** Inhibition of free radical mediated oxidation of cellular biomolecules by carboxylated chitoologosaccharides .Bioorg.Med.Chem ., 15(2):997-1003.
- **Ramadan, F. L. (2007):** Evaluation of the synergistic effect of danazol and radiation exposure on some biochemical functions in female albino rats. Egypt. J. of Hospit. Med ., 27: 255– 262.
- **Ramadan, L. A.; Shouman, S. A.; Sayed-Ahmed M. M. and El-Habit, O. H. (2001):** Modulation of radiation-induced organs toxicity by cremophor-el in experimental animals. Pharmacol. Res., 43(2):185- 91.
- **Ramos – Vara, J.A. (2005).** Technical Aspects of IHC. Vet. Pathol ., 42: 405–426.
- **Ramos-Vara, J.A. and Miller, M.A. (2014).** When tissue antigens and antibodies get along : revisiting the technical aspects of immunohistochemistry – the red, brown , and blue technique. Veterinary. Pathology. 51 (1): 42-87.
- **Ratt, V.S., Flaws, J. A. ; Kolp, R.; Sorenson, C.M., Tilly, J.L.(1995).** Ablation of bcl-2 gene expression decreases the numbers of oocytes and primordial follicles established in the after –natal female mouse gonad Endocrinology ., 136: 3665-3668.
- **Ray, G., Batra, S., Shukla, NK., Deo, S., Raina, V. and Husain S.A. (2000)**. Lipid peroxidation, free radical production and antioxidant status in breast cancer. Breast Cancer. Res. Treat ., 59:163-70
- **Reiter, R .J. ; Manchester, L.C and Tan, D.X. (2010).**Neurotoxins: free radical mechanisms and melatonin protection.Curr Neuropharmacol ,8: 194-210.

- **Rimm, E. B; Stampfer, M. J; Ascherio, A. N; Willeth, W. C.(1993).** Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men . N. Eng . j. Med ., 328: 1450-1457.
- **Robert, K. ; Murray Darryl, K.; Granner Peter, A. Mayes and victor, W. Rod well (2000).** "Harper's Biochemistry, 25th ed. Appleton Lamye.
- **Rodemann , H . P.; Blaese, M . A .(2007).** Responses of normal cells to ionizing radiation .Semin Radiat Oncol . 17 (2):81-88.
- **Roe, M. T.; Messenger, J. C.; Weintraub, W.S. (2010).** Treatment, trends, and out outcomes of acute of acute myocardial infraction and percutaneous coronary intervention . J. Am. Coll. Cardiol . , 56(4): 254-63.
- **Romero, F. J.; Morell, F. B.; Romero, M. J.; Jareno, E. J.; Romero, B.; Marin, N. and Roma, J. (1998):** Lipid peroxidation products and antioxidant in human disease. Environ. Health. Prespect ., 106(5): 1229-34.
- **Ron, E. ; Lubin , J. H. ; Shore, R. E. ; Mabuchi. K .; Modan .B; Pottern. L.M; Schneider , A.B ; Tucker. M.A and Boice, J.D ; J.R (1995).**Thyroid cancer after exposure to external radiation: A pooled analysis of seven studies. Radiat Res., 141:259-277.
- **Saad, Eissa and Shoman, Sohair (1998)** .In:Tumor markers. London, Chapman and Hall . 332-336.
- **Saha, G. B. (2006) .**Physics and radiobiology of nuclear medicine. 3rd ed. New York: Springer.
- **Saharan, B. R. and Devi , P. V. (1977).** Radiation protection of mouse testes with 2-mercaptopropionylglycine. J. Radiat . Res., 18: 308-316.
- **Said, U. Z. and Azab , Kh. Sh. (2006).** Efficacy of wheat germ oil in modulating radiation induced heat damage. Egypt. J. Rad. Sci. Applic ., 19(2): 433-452.

- **Samarth, R. M. and Kumar, A. (2003).** Radioprotection of Swiss albino mice by plant extract Mentha piperita (Linn). J. Rad. Res., 44(2): 101-9.
- **Samarth, R. M.; Goyal, P. K. and Kumar, A. (2001):** Modulatory effectof Mentha piperitia (Linn.) on serum phophatases activity in Swissalbino mice against gamm-irradiation. Ind. J. Exp.Biol., 39(5): 479-82.
- **Schafer, F.Q. and Buettner, G.R. (1999).** Singlet oxygen is cell line-dependent: A study of lipid peroxidation in nine leukemia cell lines. Photocemistry & Photobiology., 70(6): 858-867.
- **Sedelinkova , O. A. ; Reden , C.E ; Dikey , J.S ; Nakamura , A. J. , Georgakilas , A.G. and Bonner, W.M. (2010).** Role of oxidatively induced DNA lesion in human pathogenesis. Mutat. Res .,704: 152-159.
- **Sedlakova, A. ;Timoko, Y. ; paulikova, E. And Dyatelink, k. I. (1998).** lipid synthesis in irradiation rats. *Radio. biologiya,* 28(1):80.
- **Sega,G.A.;Sotomayor, R. E. and Owen , J.G. (1978) .** A study of unscheduled DNA synthesis induced by X-rays in the germ cells of male mice.Mut.Res.49:239-257.
- **Sewerynek, J., Wiktorska, J., Nowak, D. and Lewinski, M. (2000).** Methimazole protection against oxidative stress induced by hyperthyrodism in graves' disease. Endocrine Regulations. 34 : 83-89.
- **Shalet, S.M.(1993).** Radiation and pituitary dysfunction .N.Engl.J. Med, 328: 131-3. [PubMed].
- **Shama, M.(2001).** Investigation on β- Carotene vs radiation effect on mice cerebellum . PhD.Thesis, University of Rajathan, Jaipur.
- **Shiba , M. ; Kohno, H. ; Kakizawa, K. (2000).** Ki67 immunostaining and other prognostic foctors including tobacco smoking in patient

with resected non small cell lung carcinoma . Cancer . 89 : 1457-1465.

- **Shinomiya, N. (2001).** New concepts in radiation – induced apoptosis , premitotic apoptosis and postmitotic apoptosis . J. Cell Med., 5: 240-253.
- **Shuryak ,I. and Brenner, D.J. (2009).** Amodel of interaction between radiation- induced oxidative stress protein and DNA damage in Deinococcus radiodurans. J. Theor. Biol ., 261:305-317.
- **Sivakumar, R.; Sivaraman, P. B.; Mohan-Babu, N.; Jainul-Abideen, I. M.; Kalliyappan, P. and Balasubramanian, K. (2006):** Radiation exposure impairs luteinizing hormone signal transduction and steroidogenesis in cultured human leydig cells.
- **Sonmezer , M. ; Oktay, K. ; (2008)** . Assisted reproduction and fertility preservation techniques in cancer patients . Curr. Opin. Endocrinol Diabetes Obes ., 15:514-522 .
- **Steel, G.G. (2002).** The dose –rate effect brachytherapy and target radiotherapy . In. steel, G.G .(Ed). Basic Clinical Radiobiology. Arnold, London, 192-216.
- **Stepanov , S. A. (1989).** Lipid metabolic changes in rats with radiation sickness and a pronounced intestinal syndrome following the local irradiation of the abdominal area. The total lipid content of the blood serum and tissues . Radiobiologiia . 29(2): 179-82.
- **Stuart-Harris, R. , Caldas, C., Pinder, S.E. (2008)** Proliferation markers and survival in early breast cancer : a systematic review and meta-analysis of 85 studies in 32,825 patients. Breast ., 17: 323-334.
- **Taki, S.; Higasi, K. ; Oguehi, M. (2002).**Changes in regional cerebral blood flow in irradiation region and normal brain after stereotactic radiosurgery. Ann.Nucl. Med ., 16: 273.

- **Turkdogan, M. K. and Hekim, H. (1998).** Lipid peroxidation and upper gastrointestinal cancers. Eastern J. Med ., 3(2): 39-42.
- **UNEP (2007).** Technical Report on Capacity-building for the Assessment of Depleted Uranium in Iraq. Final Report, November. Geneva.
- **UNSCEAR (2000).** Sources and Effect of Ionizing Radiation , Report to the General A ssemly with Scientific Annexes. NewYork: United Nation Scientific Committee on the Effect of Atomic Radiation.
- **UNSCEAR (2000a**).The United Nation Scientific Committee on the Effect of Atomic Radiation. UNSCEAR 2000 report to the general Assembly .
- **UNSCEAR,. (2008).** Effect of ionizing radiation . Annex D: Effect of ionizing radiation on the immune system . In: United Nations Scientific Committee on the Effect of Atomic Radiation . Report to the General Assembly. New York.
- **UNSCEAR,.(2006).** Effect of ionizing radiation . Annex.D. Effect of ionizing radiation on the immune system .In. United Nation Scientific Committee on the Effect of Atomic Radiation . Report to the General Assembly. New York .
- **Valentin, J.(2006).** Low-dose Extrapolation of Radiation – Related Cancer Risk , Elsevier .
- **Valko, M. ; Leibfritz , D. ; Moncol , J. ; Cronin, M. T. ; Mazur, M. and Telser, J .(2007).** Free radicals and antioxidant in normal physiological function and human disease. Int. J. Biochem cell Bio., 39:44-84.
- **Valko, M. ; Rhodes, C.J ; Moncol , J. ; Lzakovic , M. and Mazur , M. (2006).**Free radicals , metals and antioxidant in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interact. , 160: 1-40.
- **Van Beek , ME. A. B. ; Davids , J. A. G. and De Rooj , D. G. (1986).** Nonprandom distruibution of mous spermatogonial stem cells surviving fission neutron irradiation. Radiat. Res., 107: 11-23.

- **Vlrika , V. M. (1994)** . Advanced laboratory method in histology and pathology. American forces institute of pathology . 1-3.
- **Wallace, W.H.; Thomson, A.B.; Saran, F. (2005**). Predicting age of ovarian failure after radiation to a field that includes the ovaries. Int., J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 62, 738-744.
- **Wang, L., Shen, J., Zheng, S. and Zhang, S. (2004).** Amino acid uptake in arterio-venous serum of normal and cancerous colon tissue. World J. Gastroenterol. 10 (9): 1297-1300.
- **Wones, R.; Radack, K.; Martin,V.; Mand,K.;Pinney, S.; Buncher, R.(1995).** Do persons living near aluminum processing site have evidence of increased somatic cell gene mutation.Mutat. Res.,335: 171-184.
- **World Health Organization (WHO). (1984a)** Work shop on the standarized investigation of the infertile couple. MTP Press Ltd. Lancaster, Boston, The Hague Dordrecht: 427-443.
- **World Health Organization (WHO). (1984b)** .Effects of nuclear war on health and health services. WHO. Geneva 79: 140.
- **World Health Organization (WHO). (1994).** Environmental health (Criteria 160). WHO Geneva: 3-5.
- **Yacobi, K. ; Wojtowicz, A. Tsafriri, A. ; Gross, A .(2004).** Gonadotropins enhance caspase-3 and -7 activity and apoptosis in the theca – interstitial cell of rat preovulatory follicles in culture . Endocrinology . 145 : 1943-1951.
- **Yarmonenko , S. P. (1988).** Radiobiology of humans and animals. Mir publishers Moscow.
- **Zahran, A. M.; Noaman, E.; Omran, M. F. and Said, K. (2003).** Influence of some micronutrients quenshing the effect of gamma radiation on plasma lipids and vitamine E contents in rats. Egypt. J. Rad. Sci. Applic ., 16(1): 71-84.

Summary

The aim of this study was to investigate the effect of chronic exposed of X-Ray on reproductive system in white female rats .

Twenty four adult of female rats were divided randomly into three groups (8 animals / group), the first group considered as control group (G1) , Second group (G2) were exposed to X-Ray (80kv), along one meter/ daily for whole one month as well as the third group (G3) but for two months, blood samples and tissue sections for ovary and uterus were collected from the three treatments (groups) , after the determined period was done and the next physiological parameters and The results of current study present :-

Significant decrease (P <0.05) in the number of (w.B.C , RBC, PTL) and in level Hb concentration in the blood serum of exposed animals of G2 and G3 as compared with G1. and Significant decrease (P <0.05) in the number of (w.B.C , RBC, PTL) and in level Hb in G3 compared with G2.

significant increase (P <0.05) in the concentration of (TC, TG, LDL-C , VLDL-C) in the blood serum exposed animals G2 and G3 as compared with G1. And significant increase (P <0.05) in the concentration of (TC, TG, LDL, VLDL) in G3 compared with G2.

Significant decrease (P <0.05) in the concentration of (HDL-C, T-protein) in the blood serum exposed animals G2 and G3 as compared with G1. and Significant decrease (P <0.05) in the concentration of (HDL-C, T- protein) G3 compared with G2 .

significant decrease (P <0.05) in the concentration of (GSH)) in the blood serum exposed animals G2 and G3 as compared with G1. and Significant decrease (P <0.05) in the concentration of (GSH) in G3 compared with G2 . also significant increase (P <0.05) in the concentration of (MDA) in the blood serum of G2 and G3 as compared with G1. And significant increase (P <0.05) in the concentration of (MDA) in G3 compared with G2.

Significant decrease (P <0.05) in the concentration of Estrogen hormone (E2), Progestrone hormone in the blood serum of exposed animals of G2 and G3 as compared with G1. and no significant effect of X-Ray in Follicle stimulating (FSH) and Luteinizing hormone (LH) in the blood serum of exposed animals of G2 and G3 as compared with G1.

The results of histological section of ovary exposed animals for one month G2 ,to appear as blood congestion and inflammatory cells , comparing with control group G1 . while there was clear histological changes in rats exposed for two month G3 include the occurrence of destruction in Overian follicles, without oocytes , degeneration , fat density and inflammatory cells in addition late effect of radiation injury include nicrosis and fibrosis, comparing with control group G1.

The results of histological section of uterus in rat exposed to x-ray for one month G1, thickness in the epithelial layer and hypertrophy in some epithelial cells , and inflammatory cells comparing with control group G1 , while the rat exposed for two month G3, the occurrence of degeneration in the epithelial layer of uterus tissue , tearing or laceration in uterian glands and nicrosis in stroma comparing with control group G1

The results of Immunohistochemistrical expression proliferation marker Ki67 (tumer marker) in ovary tissue , was no significant increase in gene expression of Ki67.

As conclude from the recent study that chronic exposed of X-Ray radiation causes harmful effect on some blood and chemobiological parameters and ovary , uterus tissue in female white rats.

Ministry of Higher Education and

Scientific Research

Karbala University / college of Education

Pure Sciences

Effect of X-Ray on Functional and structural study on the female Reproductive system in the Albino Rats

A thesis

Submitted to the council of education of pure science – Kerbala University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Biology – Zoology

By

Barakat wathiq Rebat AL-Awadi

Higher Diploma - animal Physiology-Kerbala University -2009

B.SC. Microbiology -Baghdad University- 2003

Supervised by

Assist . prof. Dr. Wefak Gabourry Al- Bazii

2015 A.D **1436 A.H**