



**УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ” - ШТИП**

**Факултет за медицински науки**

**Специјалистички студии - втор циклус**

**специјализација за санитарно-хемиска лабораторија**

**Штип**

**Пале Ѓорѓиева**

**ГЕНОТОКСИКОЛОШКИ СКРИНИНГ НА НОРМАЛНИТЕ И ГРАНИЧНИТЕ  
ВРЕДНОСТИ НА МИКРОНУКЛЕУСНИОТ ТЕСТ ВО ЛИМФОЦИТИ КАЈ  
ЗДРАВА ХУМАНА ПОПУЛАЦИЈА**

**-СПЕЦИЈАЛИСТИЧКИ ТРУД-**

**Ментор:**

**Доц. д-р Невенка Величкова**

**Изработил:**

**Пале Ѓорѓиева**

**Штип, април 2016 год.**

**Комисија за оценка и одбрана:**

**Ментор:**            **Доц. д-р Невенка Величкова**  
**Факултет за медицински науки**

**Член:**              **Проф. д-р Татјана Рушковска**  
**Факултет за медицински науки**

**Член:**              **Проф. д-р Ѓорги Шуманов**  
**Факултет за медицински науки**

Датум на одбрана:

**07.04.2016**

**ОВОЈ СПЕЦИЈАЛИСТИЧКИ ТРУД ГО ПОСВЕТУВАМ НА МОИТЕ РОДИТЕЛИ  
И МОЈАТА СЕСТРА КОИ ЦВРСТО ВЕРУВАА ВО МЕНЕ И МОИТЕ  
СПОСОБНОСТИ И МЕ СЛЕДЕА ДОКРАЈ. НАЈГОЛЕМА БЛАГОДАРНОСТ ЗА  
НИВ И ЗА НИВНАТА НЕИЗМЕРНА ЛЈУБОВ И РАЗБИРАЊЕ.**

**Пале Ѓорѓиева**

## **БЛАГОДАРНОСТ**

*Оваа прилика ја користам да ја изразам мојата посебна  
благодарност кон мојот ментор:*

*Доц. д-р Невенка Величкова*

*за нејзиното залагање, поддршка и ангажирање при изработката на  
овој специјалистички труд, за нејзината професионалност и стручни  
совети кои ми беа од голема помош. Со нејзиното знаење и умешност  
претставува репер за квалитетен професор и личност.*

*Благодарност изразувам и кон членовите на комисијата за  
нивното стручно мислење, сугестии и забелешки за содржината на  
специјалистичкиот труд.*

*Секако, благодарност и кон мојата најблиска фамилија и моите  
пријатели кое безрезервно ме поддржуваа, веруваа во мене и се трудеа  
на секој начин да ми помогнат.*

*Бев поттикната, инспирирана и поддржана од страна на сите  
оние коишто веруваа во мене и ме научија да верувам во сопствената  
интуиција.*

**Ви благодарам уште еднаш!**

## **ГЕНОТОКСИКОЛОШКИ СКРИНИНГ НА НОРМАЛНИТЕ И ГРАНИЧНИТЕ ВРЕДНОСТИ НА МИКРОНУКЛЕУСНИОТ ТЕСТ ВО ЛИМФОЦИТИ КАЈ ЗДРАВА ХУМАНА ПОПУЛАЦИЈА**

### **Краток извадок – Апстракт**

**Вовед:** Во животната средина постојат различни видови на генотоксични агенси на кои е изложена хуманата популација во текот на секојдневниот живот. Станува збор за агенси кои предизвикуваат оштетувања во молекулата на ДНК, што може да резултира во појава на генетски мутации или канцер.

**Цел на студијата:** Да се укаже на важноста од примената на микронуклеусниот тест како стандардизирана цитогенетска метода и важен биомаркер во детекција на влијанието на различни физички, хемиски и биолошки агенси врз целокупниот генетски материјал кај здрава хумана популација. **Материјал и методи:** Користен е микронуклеусен тест како метод за откривање на цитолошкото влијание на физички, хемиски и биолошки агенси. **Резултати:** Микроскопската анализа покажа појава на мононуклеарни, бинуклеарни и мултинуклеарни лимфоцити. Анализата на микронуклеуси на 1000 бинуклеарни лимфоцити покажа дека вкупниот број се движи од 1-13, а просечната вредност изнесува 4 микронуклеуси (MN). **Заклучок:** Земајќи го предвид влијанието на генотоксичните агенси врз целиот организам, појавата на микронуклеуси укажува на потребата од постојан мониторинг на популацијата која е изложена на различни физички, хемиски или биолошки агенси.

**Клучни зборови:** лимфоцити, микронуклеус, јонизирачко зрачење

## **GENOTOXICOLOGICAL SCREENING OF NORMAL AND BORDER LINE VALUES OF MICRONUCLEUS TEST IN LIMPHOCTES AMONGST HEALTHY HUMAN POPULATION**

### **Resime – Abstract**

**Introduction** In the environment there are different types of genotoxic agents on which human population is exposed during everyday life. It is about the agents that cause damage in the DNA molecule, which can result in the appearance of genetic mutations or cancer. **Aim of the study:** To indicate the importance of applying a standardized test, which is micronucleus cytogenetic method as an important biomarker in detecting the impact of various physical, chemical and biological agents on the overall genetic material of the healthy human population. **Material and methods:** Micronucleus test is used as a method of detecting cytological influence of physical, chemical and biological agents. **Results:** Microscopic analysis showed the appearance of mononuclear, binuclear and multinuclear lymphocytes. Analysis of micronuclei per 1000 binuclear lymphocytes shows that the total number ranging from 1-13, and the average value is 4 micronuclei (MN). **Conclusion:** Taking into account the impact of genotoxic agents on the whole organism, the occurrence of micronuclei indicates the need for constant monitoring of the population is exposed to a variety of physical, chemical or biological agents.

**Key words:** lymphocytes, micronucleus, ionizing radiation

## **СОДРЖИНА:**

<b>1. ВОВЕД (Introduction)</b> .....	8
1.1 Влијание на генотоксичните агенси врз човечкиот организам .....	8
1.2 Поим за зрачење (радиоактивност).....	9
1.3 Јонизирачко зрачење.....	12
1.3.1 Форми на јонизирачко зрачење.....	12
1.3.2 Извори на јонизирачко зрачење.....	14
1.3.2.1 Извори на професионална изложеност на јонизирачко зрачење.....	15
1.3.2.2 Основни насоки во медицината во кои се применува јонизирачкото зрачење.....	16
1.3.3 Биолошки ефекти од јонизирачкото зрачење.....	17
1.3.3.1 Видови на биолошки ефекти.....	17
1.3.3.2 Поделба на ткивата во зависност од осетливоста спрема јонизирачко зрачење.....	19
1.3.3.3 Типови на оштетувања како резултат на изложеноста на организмот на јонизирачко зрачење.....	19
1.3.4 Биолошки ефекти во зависност од еквивалентната доза.....	22
1.3.5 Најчесто користени тестови за детекција на токсичноста и степенот на застапеност на јонизирачкото зрачење.....	25
1.3.6 Мерки за спречување и контрола на нивото на радиоактивната контаминација на животната околина.....	30

<b>2. ЦЕЛ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО (Object of work)</b> .....	32
<b>3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА РАБОТА (Material and method of operation)</b> ....	33
<b>4. РЕЗУЛТАТИ (Results)</b> .....	35
<b>5. ДИСКУСИЈА (Discussion)</b> .....	41
<b>6. ЗАКЛУЧОК (Concluding remarks)</b> .....	43
<b>7. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА (References)</b> .....	44

## **1. ВОВЕД (Introduction)**

### **1.1 Влијание на генотоксичните агенси врз човечкиот организам**

Во секојдневниот живот хуманата популација може да биде изложена на различни видови на генотоксични агенси. Тие можат да предизвикаат оштетувања во молекулата на ДНК, при што доаѓа до појава на генетски мутации или канцер. Мутациите можат да доведат до промена на молекуларната структура на гените, структурна промена во хромозомите и промена во бројот на хромозомите. Овие генотоксични агенси се потенцијално мутагени или канцерогени, особено кога навлегуваат по пат на инхалација, преку ГИТ со храната или кога навлегуваат преку кожата. Мутаген е агенс одговорен за поттикнување на промени на генетскиот материјал на организмот. Тој агенс може да биде од хемиско, биолошко и физичко потекло. Хемиски агенс е термин кој се користи да се опишат сите хемиски елементи и соединенија во природна или во обработена состојба, како и нивните нуспроизводи кои можат да предизвикаат трајни оштетувања на генетскиот материјал при долготрајно изложување на човечкиот организам. Според употребата, хемиските супстанции се делат на: растворувачи, бои, пестициди, детергенти и фармацевтски агенси кои човекот ги употребува во секојдневниот живот. Во групата на биолошки штетни агенси спаѓаат голем број микроорганизми кои се наоѓаат во природата, и тоа: вируси, бактерии, паразити, рикеции, габи, биолошки преносители на болестите (вектори) и др. Биолошките опасности се присутни во многу места каде што се ракува со органски материјал. Постојат ризици од животинскиот отпад во земјоделството, човечкото ткиво и други телесни течности во здравството и фрлената храна при третман и отстранување на отпад. Секогаш кога луѓето се во контакт при работа со природни или органски материјали, како земја, глина, растителни материјали (сено, слама, памук итн.), супстанции од животинско потекло (волна, влакна итн.), храна, органска прашина (на пример, брашно, прашина од хартија, животински првут), отпад, отпадни води, крв и други телесни течности, тие можат да бидат изложени на биолошки агенси.



Физички агенси се група на извори на енергија кои предизвикуваат различни заболувања кај целата хумана популација. Примери на физички агенси се: бучава, вибрации, електромагнетни зрачења, електрична енергија и екстремни температури. Доколку човечкиот организам е изложен на поголеми дози од овие агенси, истите може да дејствуваат летално, токсично или канцерогено, предизвикувајќи соматски мутации и генотоксични ефекти, додека малите дози можат да имаат кумулативен ефект врз генетскиот материјал на експонираната индивидуа.

## **1.2 Поим за зрачење (радиоактивност)**

Во 1896 година францускиот научник Henri Becquerel го открил зрачењето додека работел со фосфоресцентни материјали. За откривањето и дефинирањето на радиоактивноста се заслужни и други научници како: Marie Curie, Ernest Rutherford, Paul Villard, Enrico Fermi и многу други кои со разни експерименти и размена на мислења дошле до сознанието дека радиоактивноста претставува способност на поединечни материи (радиоактивни материи - радионуклеиди) со спонтано распаѓање на нивните јадра да емитираат такво зрачење кое поседува доволно енергија да во интеракција со материјата низ која поминува врши јонизација на живата материја. При секоја таква промена се ослободува енергија која се манифестира како радијација, а процесот на премин во нова состојба се нарекува радиоактивен распад (Кочубовски, 2013).

Изложеноста на зрачења не се однесува само на ризиците кои постојат кај здравствените работници во медицината, туку и кај општата популација, особено кај населението кое живее во градските средини.

Употребата на зрачење во медицината придонесува за големи подобрувања во дијагнозата и третманот на болестите кај луѓето, но нивната несоодветна употреба може да предизвика различни патофизиолошки промени кај пациентите и персоналот.

Радиокативноста може да биде **природна и вештачка (техничка)**.

**За природните извори на зрачење** имале сознание и најстарите цивилизации. Количината на тоа зрачење е различна на различни места на Земјината топка. Во природни извори на зрачења спаѓаат:

- Електростатички полиња кои се резултат на атмосферскиот електрицитет. Овие видови на природни зрачења имаат одредено влијание на човекот бидејќи произлегуваат од електричната и магнетната состојба во атмосферата. Ако опкружувањето на човек со нарушена јонска рамнотежа содржи аеројони, тогаш тие влегуваат во телото и дејствуваат преку кожата и дишните патишта;
- Електрозвук е облик на механички бранови кои се простираат низ материјална средина како звучни бранови. Тоа е нејонизирачко зрачење кое преку ултразвучни бранови дејствува штетно врз човекот;
- Космичко зрачење овозможува непрекинато движење на воздухот во атмосферата и создава услови за сите видови на физички и метеоролошки процеси. Голема улога во овој вид на зрачење има сонцето и во време на негово зголемено дејствување предизвикува промени во магнетното зрачење на земјата, до промена на атмосферскиот притисок и други значајни влијанија важни за животот на сите живи суштества на земјата;
- Ултравиолетово зрачење потекнува од сонцето и може да биде корисно во мали дози. Во поголеми дози предизвикува бројни штетни последици;
- Инфрацрвено зрачење е тоplotно зрачење, кое опфаќа дури половина од соларната светлина и може негативно да делува на човекот;

- Јонизирачко зрачење потекнува од природните радиоактивности на Земјата, предизвикува озрачување по пат на воздухот, водата, храната, но и преку директно делување на радиоактивните зраци;
- Метеоролошки промени настануваат како посебен вид на зрачења условени од временските фактори. Човекот има мошне низок праг на чувствителност на метеоролошките промени, бидејќи организмот не може брзо да се адаптира, при што доаѓа до нарушување на метаболизмот, крвниот притисок и температурата во организмот.

**Вештачките**, односно **техничките извори на зрачења** стануваат се поприсутни и попознати во почетокот на минатиот век. Тие се јавуваат како последица на технолошкиот развој или се секундарна последица на природните зрачења. Тука спаѓаат електроенергетски зрачења, радиофреквентни зрачења и сите зрачења во медицината.

Во однос на природните, вештачките зрачења можат да делуваат поштетно врз човечкиот организам. Додека човекот илјадници години се адаптирал на штетното влијание на природните зрачења, вештачките зрачења постојано се зголемувале со развојот на техниката и технологијата, и тоа за краток временски период.

Во последните 100 години значително се зголемува производството и преносот на електрична енергија, мобилната технологија го освојува секој поединец, воените активности се сè побројни, а целата иднина се потпира на информатичката технологија. Нам ни се познати позитивните карактеристики од развојот на техниката, но забораваме да инвестираме во научно-истражувачките проекти за штетноста од нив, а особено во заштитата. Тоа е слабоста на денешниот човек, поради која последиците ги чувствуваат и наредните генерации (Симич, 2006).

### **1.3 Јонизирачко зрачење**

Од сите видови на зрачења, на јонизирачкото зрачење му се дава најголема важност, бидејќи претставува феномен за кој човечките сетила не се развиени. Директните последици од јонизирачкото зрачење врз живиот свет се јавуваат доцна и многу тешко можат да се поврзат со причината. Под јонизирачко зрачење се подразбира зрачење кое при интеракција со материјалната средина низ која поминува, на посреден или непосреден начин предизвикува јонизација на нејзините атоми или молекули. Човекот може да биде изложен на високи смртоносни дози на јонизирачко зрачење, но во истиот момент во текот на зрачењето да не чувствува ништо. Ефектите од зрачењето можат да се забележат само по некое време, од неколку часа до неколку дена, па дури и години, во зависност од видот и својствата на зрачењето.

Оттука е разбирлив човековиот страв, а од исклучителна важност е познавањето на основните својства на јонизирачкото зрачење, формите, интеракцијата на зрачењето со супстанции, а особено ефектите на радијацијата врз живите суштества се од исклучителна важност како во професионална така и во психолошка смисла (Dzelalija, 2006).

#### **1.3.1 Форми на јонизирачко зрачење**

Јонизирачкото зрачење се јавува во две форми, и тоа: електромагнетни бранови и јонизирачки честички.

##### **а) Јонизирачко зрачење предизвикано од електромагнетни бранови**

Во нашиот живот постојано сме изложени на различни влијанија на електромагнетни бранови со различна фреквенција, кои се невидливи и се распространуваат насекаде низ средината во која живееме и работиме. Нивното создавање и ширење низ просторот е слично на движењето на водените бранови.

Сите физички карактеристики на електромагнетните бранови се дефинирани со нивната фреквенција и бранова должина. Овие две величини се обратнопропорционални. Електромагнетните бранови со поголема фреквенција имаат помала бранова должина и поголема енергија.



Сл. 1 Спектар на електромагнетно зрачење

Pic.1 Spectrum of electromagnetic radiation

Во електромагнетниот спектар, X-зраците и гама-зраците се наоѓаат во неговиот високофреквентен дел. Тие носат во себе многу голема енергија што може да предизвика раскинување на врските на атомите и молекулите во материјата со која доаѓаат во контакт. Со тоа тие предизвикуваат нејзина јонизација, а зрачењето што го создаваат се нарекува јонизирачко зрачење.

- ✚ X-зраците уште се нарекуваат и рендген зраци и се користат за дијагностички цели, бидејќи лесно минуваат низ определени структури, најчесто меки ткива и кожа, а потешко низ коските.
- ✚ Гама-зраците се со најмала бранова должина, а со најголема енергија во спектарот. Тие се добиваат со спонтано распаѓање на некои радиоактивни материјали. Оние гама-зраци коишто се добиени од кобалт 60 се користат за радиотерапија на малигни болести.

#### б) Јонизирачко зрачење предизвикано од јонизирачки честички

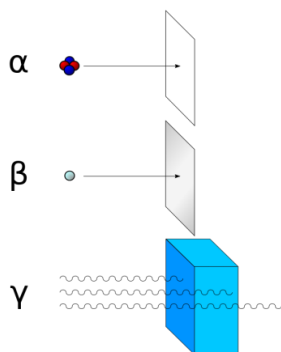
Јонизирачко зрачење предизвикуваат следниве честички: алфа-честички, бета-честички и неутрони. Според механизмот на дејствување тие се поделени на:

1. Честички кои предизвикуваат директна јонизација:

- ☞ алфа честички – имаат мала продорна моќ, силна јонизациона моќ и предизвикуваат интерна експозиција;
- ☞ бета честички – имаат поголема продорност, но помала јонизациона моќ и предизвикуваат интерна експозиција;

2. Честички кои предизвикуваат индиректна јонизација:

- ☞ неутрони – самите не предизвикуваат јонизација, туку преку водородот, и предизвикуваат многу посериозни оштетувања во однос на гама-зраците.



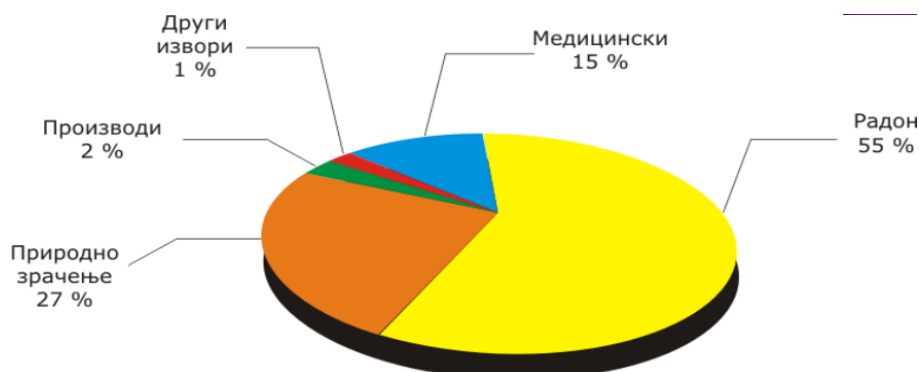
Алфа честичките можат целосно да се запрат со лист хартија, а бета честичките со тенок слој од алуминиум. Додека, пак, за гама-зраците е потребен материјал со многу поголема густина, како на пример оловото (Frank, 1992).

### 1.3.2 Извори на јонизирачко зрачење

Се разликуваат два извори на јонизирачко зрачење кои според своето потекло се поделени на:

- природни извори кои потекнуваат од космичките зраци, природните радиоактивни елементи во земјата, почвата, водата и воздухот и
- вештачки извори на јонизирачко зрачење кои се предизвикани од страна на човекот, а во нив спаѓаат: нуклеарните центри, центрите за радиодијагностика и радиотерапија, истражувачките лаборатории и др.

Најголем дел, речиси 55% од просечната доза на зрачење што човекот ја прима во текот на една година, отпаѓа на зрачењето од радон, а 15% се од зрачењето во текот на медицинските радиодијагностички постапки (Стикова, 2006).



Сл.2 Приказ на учеството на различни извори во просечна годишна доза на зрачење

Pic.2 Showing the involvement of various sources in the average annual radiation dose

### 1.3.2.1 Извори на професионална изложеност на јонизирачко зрачење

Кога станува збор за професионална изложеност на јонизирачко зрачење, тоа не се однесува само на ризиците кои постојат кај здравствените работници, туку и кај општата популација. Општата популација може да биде изложена на јонизирачко зрачење кога е вклучена во одреден медицински третман.

Медицинска изложеност е всушност изложеноста на медицинскиот персонал и пациентите како дел од дијагностичките или терапевтските постапки на кои се изложени, на лица кои не работат со извори на јонизирачко зрачење, додека свесно и доброволно помагаат при третманот на пациентите и на лица кои доброволно се изложуваат на зрачења во рамките на програмите за биомедицински истражувања (контролна група). (Закон за заштита од јонизирачко зрачење и радијациона сигурност, 2002)

Професионална изложеност на јонизирачко зрачење постои во најразлични гранки, и тоа при:

- употреба и производство на радиоактивни изотопи во индустријата, медицината, земјоделството;
- во нуклеарната медицина;

- затворени извори за масовно користење на извори на јонизирачко зрачење во радиотерапијата;
- примена на радионуклеиди во медицината;
- индустриска радиографија;
- процесна техника и индустриска автоматика и
- експлоатација на радиоактивни руди.

### **1.3.2.2 Основни насоки во медицината во кои се применува јонизирачкото зрачење**

Основни насоки во медицината во кои се применува јонизирачкото зрачење и на кои најмногу е изложена општата популација се:

- рендген дијагностика во која рендгентските зраци најмасовно се употребуваат за дијагностика, со помош на рендгенографија, рендгеноскопија и компјутерска томографија, при што се откриваат и следат различни заболувања на различни органи и системи. Може да се користат и за скрининг, што претставува масовно испитување на здрави луѓе со цел рано откривање и профилактика на одредено заболување, како што се туберулоза и рак на дојка;
- радионуклеидна дијагностика која применува радиоактивни изотопи во дијагностиката и терапијата;
- радиотерапија се користи за лечење на малигни заболувања која користи зрачења за убивање на клетките на канцерот со цел оневозможување на нивно множење и
- флуорографирање кое се користи за да се добие слика на мозок т.е. пет скен на човечки мозок.

Ризиците од прекумерната радиоактивност со јонизирачки зраци при медицинската терапија се основен развој на малигни заболувања и канцерогена дегенерација на ткива.

Енергијата на јонизирачкото зрачење се користи и како метод за зачувување на храната од расипување. Храната може да биде третирана со јонизирачко зрачење со што се овозможува уништување на



микроорганизмите, бактериите, вирусите, инсектите и токсините. Но, доколку е употребена висока доза на зрачење и доколку храната е подолго третирана, при консумирање на истата може да има големо влијае врз здравјето на човечкиот организам.

### **1.3.3 Биолошки ефекти од јонизирачкото зрачење**

Генерално, сите луѓе се изложени на радијација во екстремно мали дози во текот на нивниот живот. Но сепак постои теоретска можност дека мала количина на радиоактивност ослободена во животната средина, од медицински установи кои нормално работат, како и од претходните атмосферски тестирања на нуклеарно оружје, ја зголемила инциденцата на одредени видови на канцер во човечката популација. Оштетувањето предизвикано од многу ниски дози на зрачење може да биде кумулативно или да се додаде на оштетувањето предизвикано од други штетни агенси на кои луѓето се изложени, при секојдневниот работен однос.

#### **1.3.3.1 Видови на биолошки ефекти**

Оштетувањата на клеточните структури кои настануваат при изложеност на организмот на јонизирачко зрачење може да бидат последица на: **примарни биолошки ефекти** (директни и индиректни) и **секундарни биолошки ефекти**.

- *Примарните директни ефекти* се јавуваат како последица од апсорбирање на енергијата од страна на молекулите и атомите на озрачената материја при што се формираат јонски парови, додека примарните индиректни ефекти се последица на одредени хемиски реакции како и дисоцијација на молекулите на озрачената материја, при што се создаваат токсични агенси.
- *Секундарните ефекти* се јавуваат како последица на промените во структурата на јаглехидрати, нуклеински киселини, липиди и клеточните протеини при што доаѓа најпрво до патофизиолошки, а потоа и до патоанатомски и функционални оштетувања на органите и ткивата.

Јонизирачкото зрачење може да го оштети секое ткиво во човечкиот организам. Специфичните ефекти на радијацијата на живите суштества зависат од видот на зрачењето, дозата, должината на експозицијата и типот на ткивото изложено на радијација. Како резултат на тоа, оштетувањето од изложувањето на високи нивоа на радијација е поделено во две категории, и тоа:

- ➔ соматското оштетување - се однесува на ефектите врз физиолошкото функционирање на организмот во целина;
- ➔ генетското оштетување - се однесува на штетата предизвикана врз репродуктивните клетки, вклучувајќи ги и наследните ефекти кои можат да влијаат врз потомството. Можат да доведат до промени во структурата на клеточното јадро и ДНК.

Оптималната зона на јонизирачката радијација предизвикува два типа биолошки ефекти:

- ➔ детерминистички, кои се јавуваат како резултат на губењето на биолошката функција и најчесто настануваат набрзо по озрачувањето (во рамки на неколку недели) и нивниот интензитет расте со растот на нивото на озрачување и
- ➔ стохастички, кои се јавуваат како резултат на промените во генетската структура на клетките. Може да поминат повеќе години до нивна клиничка манифестација, при што многу често оставаат и последици на следните генерации во потомството на експонираните. Не постои праг на озрачување под кој нема да има такви ефекти.

### **1.3.3.2 Поделба на ткивата во зависност од осетливоста спрема јонизирачко зрачење**

Во однос на **осетливоста** на јонизирачкото зрачење, ткивата се поделени во три групи, и тоа:

- ☞ Високоосетливи ткива и клетки (лимфоцити, клетките на коскената срж и гаметите);
- ☞ Умерено радиоосетливи ткива (епител на кожата, дигестивниот тракт, плунковите жлезди, ендотелот на крвните садови, коскено ткиво во текот на својот раст и сврзното ткиво) и
- ☞ Радиоосетливи ткива (мускулно ткиво, коскено ткиво, бубрег, црн дроб, панкреас, тироидната жлезда, хипофиза, надбубрежна и паратироидната жлезда, мозок и др.).

Најбрзорастечките ткива се најранливи, бидејќи зрачењето најмалку три пати го зголемува ефектот во текот на фазата на растење на клетката. Најчувствителни региони на човечкото тело се оние кои имаат најактивна делба на клетките, како што се цревата, ткивата, кожата и гонадите, кои создаваат крвни клетки (слезината, коскената срцевина и лимфните органи). Поотпорни се епителните клетки од телото, а тоа се цревата и кожата. Најотпорни се мозочните клетки, затоа што нивното растење е најбавно (UNSCEAR, 2000).

### **1.3.3.3 Типови на оштетувања како резултат на изложеноста на организмот на јонизирачко зрачење**

Изложувањето на организмот на јонизирачко зрачење може да предизвика појава на **акутни и хронични радијациски оштетувања**.

- 🌸 **Акутните радијациски оштетувања** ги опфаќаат сите симптоми и промени кои се развиваат во интервал од неколку недели до неколку месеци по релативно краткотрајно и рамномерно озрачување на организмот со високи дози на јонизирачко зрачење.

Акутни радијациски оштетувања има кај луѓето кои ги преживеале атомските бомби во Хиросима и Нагасаки, како и првиот бран на спасувачи во најголемата Чернобилска несреќа во историјата на нуклеарни центри во 1986 година (Berger, 2002).

Клиничката манифестација, како и тежината на клиничките симптоми и синдроми зависат од неговата индивидуална отпорност, видот и интензитетот на зрачењето, општата состојба на организмот и времето и површината на озраченост. Во зависност од овие карактеристики, акутните радијациски оштетувања може да се јават во неколку клинички форми, и тоа:


- ❖ акутна радијациска болест или акутен радијациски синдром - сите ткива примаат приближно исти дози на зрачење;
- ❖ акутен радијациски дерматит - дифузна или парцијална екстерна контаминација кога најголемата доза ја прима кожата;
- ❖ акутна интерна контаминација - акутно внесување на радиоактивни честички по пат на инхалација или ингестија и
- ❖ акутен радијациски акцидентален синдром - комбинација на две или повеќе клинички форми од горенаброените.

Најкарактеристина е акутната радијациска болест која минува низ четири фази, и тоа:

1. продромална фаза, која трае 1-2 дена и се карактеризира со анорексија, малаксаност, слабост, дијареа, гадење и повраќање;
2. фаза на латенција, која трае 1-2 недели, при што пациентот се чувствува релативно добро и здраво и тој субјективно закрепнува, а за тоа време доаѓа до постепено развивање на патолошки и биохемиски промени кои претходат на клиничката манифестација;
3. фаза на клинички манифестна болест која трае 2-3 недели и се манифестира со промени на хематолошкиот систем, при што се јавува висока температура, тахикардија и тешко дишење. При хематолошкиот преглед постои изразена леукопенија и тромбоцитопенија, а подоцна се манифестира и анемија. Исто така се јавуваат и кардиоваскуларни и промени на централниот нервен систем.
4. фаза на рековалесценција трае 3-4 недели и доколку не дојде до летален исход, тогаш доаѓа до фаза на реконвалесценција при што

постепено се намалува температурата, инфективните компликации и крварењата се намалуваат по својот интензитет.

Летален исход се јавува во период од два месеца по експозицијата на јонизирачкото зрачење. Најчести причини за смрт се нарушувањата на хематопоезката функција на коскената срж, што предизвикува појава на имунодефициенција, консекутивни секундарни инфекции и септикемија (Стикова, 2006).

 **Доцни хронично-радијациски оштетувања** се јавуваат по неколку години од експозицијата.

Во доцни радијациски оштетувања спаѓаат:

- ® промени на хематопоезскиот систем кои се најчувствителниот биолошки индикатор за хроничното дејство на јонизирачкото зрачење. Како резултат на дејството врз хематопоезката се јавува леукопенија, тромбоцитопенија, лимфоцитоза, неутропенија, анемија и еозинофилија;
- ® промените на очите се лоцирани на очната леќа и се манифестираат во форма на радијациска катаракта. Епителните клетки кои биле изложени на јонизирачко зрачење се движат кон задната страна на леќата, што предизвикува нејзино заматување;
- ® појава на малигни болести кои се јавуваат 5-10 години од експозицијата. Тие се најзначајните доцни промени кои се последица на изложеноста на јонизирачко зрачење. Не постои нивна типична локализација, но најчеста е појавата на леукози;
- ® хромозомски аберации кои со оглед на тоа дека хромозите се составени од голем број гени, се претпоставува дека јонизирачкото зрачење предизвикува привремен прекин на синтезата на нуклеинските киселини и оштетувања на клеточната ДНК на гените, а со тоа и на структурата на хромозомите. Па така со зголемување на дозата на изложеност, се зголемуваат бројот и видот на хромозомските абнормалности;

- ® промени на кожата кои се јавуваат во три форми: кожни дистрофии, доцни радионекрози и малигни промени на кожата;
- ® промени на имунолошкиот систем така што јонизирачкото зрачење влијае директно врз имунолошкиот систем на човековиот организам и подеднакво ги зафаќа Б и Т-лимфоцитите, со што доведува до депресија и на хуморалниот и на целуларниот имунитет и
- ® репродуктивни промени при кои доаѓа до намалување на бројот и подвижноста на сперматозоидите кај мажите, а кај жените доаѓа до појава на привремен стерилитет и промени во фертилитетот. Значајно е и влијанието на јонизирачкото зрачење врз ембрионот чии клетки се високо радиосензитивни, па како последица на изложеноста можно е да дојде до соматски малформации на плодот или до смрт на ембрионот.

#### **1.3.4 Биолошки ефекти во зависност од еквивалентната доза**

**Доза** е всушност средна енергија на јонизирачко зрачење ослободена во единица маса од озрачениот материјал или предмет, додека, пак, **дозиметрија** е одредување на количината на радиоактивното зрачење која некој извор ја ослободува во средината.

Дозиметријата се врши со помош на различни апарати и методи кои се поделени во две поголеми групи:

- *метода за одредување на зрачењето во работната средина* која уште се нарекува и мониторинг на работната средина и се состои во одредување на брзината на дозата на зрачење во работните простории и во проверка на степенот на контаминација во работните средини. Мониторингот на работната средина се користи за проценка на степенот на изложеност на јонизирачкото зрачење како кај работниците, така и кај пациентите кои ги посетуваат истоимените работни простории;
- *методи за лична (персонална) дозиметрија*, кои од медицински аспект се многу позначајни, затоа што на овој начин се добива увид за точната доза што секој работник ја примил во одреден период.

Во биолошка смисла на зборот, не постои доза на зрачење која не е штетна по организмот. Доколку се зборува за дозволена доза, тоа е дозата која е дозволена под претпоставка да се исцрпени сите мерки, односно зрачењето потполно да се елиминира.

**МДД** т.е. максимално дозволена доза претставува најголема поединечна доза или доза која според сегашното познавање на последиците од јонизирачкото зрачење, не доведува до значајни соматски или генетски оштетувања. На основа на таквата доза (праг) се пропишуваат и другите норми на сигурност (Закон за заштита од јонизирачко зрачење и радијациона сигурност, 2002).

Малигна индукција од радиолошко озрачување се јавува само кај ткива изложени на озрачување. Не постои праг на радијација под кој нема ризик од канцер, но ризикот се зголемува во директна пропорција со висината на примената доза.

Здравствените ефекти врз целиот организам при краткотрајна изложеност (секунди, минути или часови) се:

- ☀ *Помалку од 1.000 mSv.* - Нема да се предизвикаат забележливи симптоми причинети од единечна доза. Без дозиметар, или точна информација за инцидентот лицето ќе биде несвесно за експозицијата. Анализите на крвта ќе покажат времен пад на леукоцитите, додека нормалното ниво ќе се поврати за краток период.
- ☀ *Околу 2.000 mSv.* - Единечна доза може да даде лесни, неспецифични симптоми, како гадење, главоболка или повраќање по 2 часа од изложеноста. Дозата причинува пад на лимфоцитите (за 1 недела) и тромбоцитите (за 3-4 недели) за околу 50%. По краток временски интервал се регулираат нормалните вредности на леукоцитите и тромбоцитите.

- ❁ *Околу 3.000 mSv.* - Многу луѓе страдаат од најчесто познатите симптоми од радијациона болест. Симптомите се неспецифични и потсетуваат или се слични со симптомите на други заболувања. При средни дози симптомите се развиваат порано. После неколку дена пациентот може да се чувствува подобро, но се јавува нов удар од болеста со симптоми како крв во фецесот, инфекции, дехидратација и можно губење на коса. Иако постои мал ризик од смрт, преживеаните обично добро закрепнуваат за неколку недели или месеци.
- ❁ *4.000-6.000 mSv.* - Симптомите се јавуваат неколку недели после експозицијата на јонизирачко зрачење со оштетување на слузокожата на гастроинтестиналниот тракт и/или коскената срж. При такви дози штетите можат да бидат толку големи за да можат да се повратат во иста состојба. 4.000 mSv претставува значителна закана за животот, 5.000 mSv значи голема веројатност за смрт и 6.000 mSv значи речиси сигурна смрт без интензивна здравствена заштита. Оштетувањата на интестиналниот тракт го отежнува внесот и апсорпцијата на нутриенси, вклучително и течности за закрепнување. Третманот со трансфузија на крв и трансплантација на коскена срж дава различни резултати.
- ❁ *Дози повисоки од 6.000 mSv.* После единечна доза над 6.000 mSv, шансите за преживување подолго од неколку недели се мали. Ако дозата надмине 10.000 mSv слузокожата на гастроинтестиналниот тракт ќе биде оштетена и ќе предизвика смрт од дехидратација за неколку недели. Ако дозата е близу до 50.000 mSv, централниот нервен систем ќе биде оштетен (Кочубовски, 2013).



### **1.3.5 Најчесто користени тестови за детекција на токсичноста и степенот на застапеност на јонизирачкото зрачење**

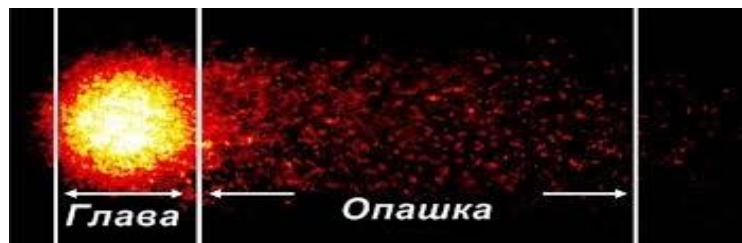
За рана детекција на биолошките промени во рутинската практика се врши одредување на бројот на црвените крвни зрнца, леукоцитите, тромбоцитите и лимфоцитите. Сите овие хематолошки параметри се задолжителни елементи кај превентивните медицински прегледи што се вршат кај професионално експонираните работници како и кај општата популација кај кои е дијагностицирано заболување предизвикано од јонизирачко зрачење. Имајќи предвид дека човекот е изложен на различни видови агенси, можат да се користат цитогенетски тестови за утврдување на оштетувањата на ДНК и појавата на хромозомски аберации. Еден од најважните тестови е микронуклеусниот тест на периферните крвни лимфоцити кој се користи во генотоксикологијата. Цитогенетските тестови најчесто се применуваат при изложеност на организмот на ултразвук, јонизирачки и нејонизирачки зрачења, анестетици, цитостатици, пестициди итн. Тие се едноставни, веродостојни и осетливи тестови бидејќи со нив можат да се детектираат оштетувања во молекулата на ДНК и дополнителни реаранжмани на генетскиот материјал во клетката.

Цитогенетски тестови за утврдување на оштетувањата на ДНК се:

- 1) Детекција на центромерите во микронуклеусите или комет техника (Comet Assay);
- 2) Тест за размена на сестрински хроматиди (SCE TEST - sister chromatid exchange) и
- 3) Микронуклеусен тест (CBMN - cytokinesis-block micronucleus).

**1) Детекција на центромерите во микронуклеусите или комет техника** е една од широко прифатените техники каде што со хемиски реакции се предизвикува делумно одмотување на ДНК. Клетките се вклопуваат во агарозен гел и со помош на раствор од висока концентрација на етилен-диамин-тетраоцетна киселина (EDTA) и детергент се лизираат цитоплазмата и мембранските структури во клетките и се ослободува

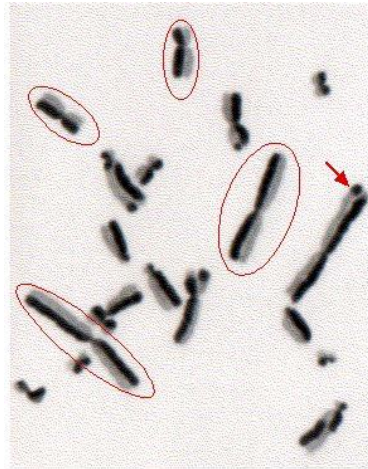
вкупната ДНК. Помалите исечоци или фрагменти од ДНК различно се обојуваат со флуоресцентни бои и под микроскоп се видливи како комети. Се мерат најмалку 50 комети на кои се утврдуваат три различни параметри, и тоа: должината на опашката, интензитетот на опашката и опашниот момент. Должината на опашката на кометата ја претставува најголемата оддалеченост, интензитетот на опашката го означува процентот на ДНК која мигрирала, додека опашниот момент обично се дефинира како умножување на должината на опашката и процентниот однос на ДНК во опашката. Со оглед на тоа дека оштетените клетки личат на комета со јасно флуоресцентна глава и опашка, целата оваа постапка се нарекува комет-техника.



*Сл.3 „Комет техника“ - ДНК фрагменти предизвикани од генотоксичен агенс мигрираат надвор од клеточното јадро (главата) во опашката*

*Pic. 3 „The Comet Assay” - DNA fragments induced by a genotoxic agent migrate in an electric field out of the cell nucleus (Head) into a Tail*

2) **SCE тест** – **тест за размена на сестрински хроматиди** кои се користат како индикатори за можните хромозомски оштетувања од генотоксичните агенси. Тоа значи „кршење“ и повторно спојување на ДНК на привидно хомологни места помеѓу две хроматиди.



Сл. 4 Размена на сестрински хроматиди

*Pic.4 Sister strand exchanges*

3) Микронуклеусен тест (CBMN - cytokinesis-block micronucleus) на периферните крвни лимфоцити е еден од најважните методи кои се користат во генотоксикологијата.

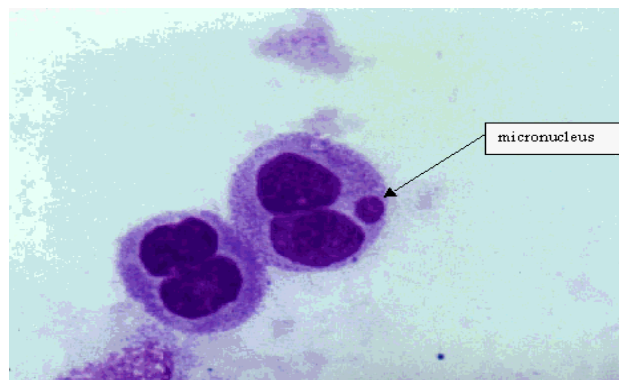
Основен предуслов за примена на овој тест со цел надзор на професионално изложеното население е познавање на нормалните вредности на биолошките индикатори (биомаркери) кај контролната група население. Микронуклеусниот тест практично се изведува врз самостојни хроматински структури, преку кондензација на ацентрични хромозомски фрагменти или цели хромозоми. Овде апоптотичните клетки не содржат главно јадро со неколку помали јадра, туку група на пикнотични јадрени фрагменти.

Микронуклеусот (MN) се формира за време на метафазната/анафазната клеточна делба. Се формира како резултат на цел заостанат хромозом (фаза која води кон хромозомна загуба) или ацентрично отцепување на хромозомски фрагмент, кој се одделува од хромозомот по кинењето.

При изведба на овој тест, најпрвин е потребно 72 часовно култивирање-фитохемаглутинин, преку инхибитор на цитокиназата, или цитохлазин В, при што се лизираат еритроцитите со помош на хипотоничен раствор на KCl, а талогот со лимфоцити се прочистува со неколку кратни центрифугирања и фиксирања на клетките (метанол и ацетоцетна киселина 3:1). Потоа се капнува на предметно стакло и се суши на собна температура, по што се бои со Гимза.

Во 1000 бинукларни лимфоцити се одредува вкупниот број на микронуклеуси, каде што горната граница на референтни вредности изнесува 13 микронуклуси на 1000 бинуклеарни клетки. Микронуклеусите кои се негативни на центромерниот сигнал, јонизирачкото зрачење и микронуклусите кои во себе содржат центромер главно се индуцирани од хемиски агенци.

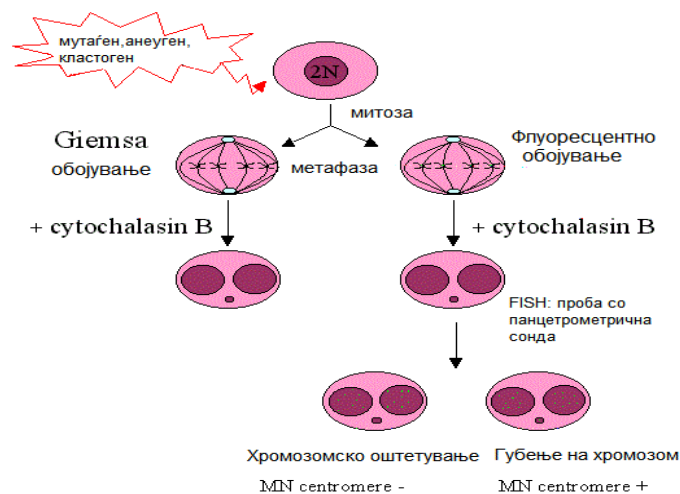
Одредувањето на микронуклеусите може да се врши многу лесно и тоа на различни видови клетки релевантни за човековиот биомониторинг: лимфоцити, фибробласти, епителни клетки, без дополнително ин витро култивирање. Микронуклеусот, кој може да се забележи во раслоените клетки, не се индуцира кога клетките се на епителната површина, туку кога тие се во базалниот слој. Големината на микронуклеусите може да изнесува од 1/16 или 1/3 од големината на јадрото.



*Сл.5 Бинуклеарни клетки со микронуклеус*

*Pic.5 Binucleated cells with MN*

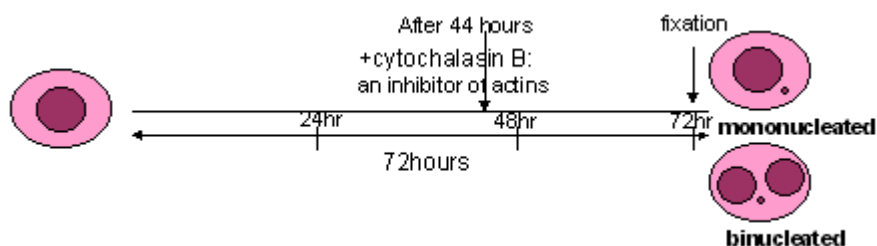
При комбинација на микронуклеусниот тест со FISH-методата се овозможува разликување на микронуклеусите кои го зафаќаат целиот хромозом (центромер позитивните микронуклеуси) и ацентричните хромозомни фрагменти (центромер негативните микронуклеуси). FISH-методата овозможува процена на апсорбираната доза, доколку поминало подолго време од моментот на озрачување.



Сл.6 Комбинација на микронуклеусната анализа со FISH методата

Pic.6 combination of micronuclei analysis with FISH method

Во присуство на цитохалазин Б (cytochalasin B), мононуклеарните клетки се анализираат 24 часа по RNA стимулацијата, додека бинуклеарните клетки се препорачува да се анализираат по 72 часа.



Сл.7Анализирање на мононуклеарни и бинуклеарни клетки во присуство на  
цитохалазин Б

Pic.7 Analyzing mononuclear and binuclear cells in the presence of cytochalasin B

### **1.3.6 Мерки за спречување и контрола на нивото на радиоактивната контаминација на животната околина**

Генерално сите услови за заштита од јонизирачкото зрачење и обезбедување на сигурноста на изворите на јонизирачкото зрачење обезбедуваат нормална изложеност во рамките на границите на дозите што ги пропишува Дирекцијата и во согласност со основните принципи на радијационата заштита.

Мерки за спречување и контрола на нивото на радиоактивната контаминација на животната околина и можното штетно влијание врз здравјето на луѓето претставуваат следниве активности:

- мониторинг на јонизирачкото зрачење;
- определување локација, изградба и користење извори на јонизирачко зрачење;
- обезбедување опрема и средства за заштита и контрола на ефикасноста од таа заштита;
- водење евиденција (регистар) на изворите на јонизирачко зрачење и изложеноста на лицата што работат со извори на зрачењето;
- превентивни медицински прегледи на лицата професионално експонирани;
- складирање и трајно депонирање на радиоактивниот отпад согласно со неговите карактеристики со максимална заштита на средината.

Во последните неколку години човекот вештачки произвел неколку стотини радионуклеиди. Најчесто истите се користат во медицински (дијагностички и терапевтски цели), при што се наведува податокот дека во индустриски развиените земји годишно на секои 1000 жители се вршат 300-900 рендгенски прегледи (кај земјите во развој таа бројка е значајно помала - 100-200/1000 жители) (Librenjak, 2003).

Денес природната радиоактивност која потекнува од космичкото зрачење и природните радиоизотопи е повеќекратно зголемена поради постоење на вештачка радиоактивност. Со контаминација на водата и воздухот, се контаминира и храната. Преку неа доаѓа до внатрешна контаминација и на човекот. Затоа е неопходна постојана контрола на радиоактивноста во животната средина. Во денешно време се преземаат мерки за деконтаминација на водата, храната, земјата и подот и се води сметка за правилно отстранување на радиоактивните отпадоци. Радиоактивните отпадни води се испуштаат со претходно прочистување.

Програмата за радијациона заштита детерминира план за радијациони вонредни настани и програма за обезбедување квалитет и контрола на сигурност донесени согласно со прописите за заштита од јонизирачко зрачење и радијациона сигурност и потпишани од сите лица вклучени во дејноста со изворите, со што се потврдува дека истите ги прочитале и дека работат во согласност со пропишаното.

## **2. ЦЕЛ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО (Object of work)**

Главна цел на овој труд е да се укаже на важноста од примената на микронуклеусниот тест како стандардизирана цитогенетска метода и важен биомаркер во детекција на влијанието на различни физички, хемиски и биолошки агенси врз целокупниот генетски материјал кај здрава хумана популација.

Останатите потцели подразбираат:

1. Микроскопска анализа на мононуклеарни и бинуклеарни лимфоцити;
2. Квалитативна и квантитативна анализа на микронуклеуси во бинуклеарни лимфоцити;
3. Генотоксиколошки скрининг на гранични и нормални вредности на микронуклеуси во бинуклеарни лимфоцити и
4. Споредба на бројот на микронуклеуси кај испитаници од различен пол и возраст.



### **3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА РАБОТА** **(Material and method of operation)**

Постапките и текот на истражувачката работа беа претходно одобрени од страна на Етичкиот комитет на Факултетот за медицински науки при Универзитетот „Гоце Делчев“ во Штип, и се во склад со Декларацијата на Хелскинки (1984). Во истражувањето се вклучени 10 испитаници (5 мажи и 5 жени) и истите се на возраст од 18-40 години кои доброволно прифатија давање на полна венска крв за спроведување на цитогенетската анализа. Испитаниците беа информирани за целта на истражувачката работа и им беа објаснети потцелите на трудот. Целокупната организација на истражување, комуникација со испитаниците, земањето крв, постапките при ракувањето со примероците на крв во лабораторијата, условите и третманот на добиените резултати се вршеа во согласност со етичките начела соодветни за биомониторинг на хумана популација. Испитаниците беа одберени врз основа на вреднување на податоците собрани со стандардизирана анкета т.е. анкетен прашалник за цитогенетски истражувања. Прашалникот содржи основни анамнестички податоци, информации за начин на живот, животни навики (пушење, консумирање алкохол), терапии во последната година, наследни болести итн. Медицински лаборант од испитаниците вршеше минимално земање на количество венска крв од кубитална вена, која се чуваше во хепаризирани епруветки (V=5ml). Венепункцијата се вршеше во утринските часови и примероците беа чувани во фрижидер на 4°C сè до нивна обработка која беше спроведна во рок од 24 часа.

За MN-тестот е применет стандарден протокол според Fenech (2000), при што 0,5ml примерок на хепаризирана полна крв беше ставен во епруветки кои содржат 4,5ml на RPMI 1640, основа збогатена со 20% фетален серум и 0,2 ml 1% фитохемаглутинин кој придонесува за делба на клетките. Епруветите беа центрифугирани во времетраење од неколку минути, а потоа се инкубираа за време од 44 часа на температура од 37°C

во соодветна аранжирана позиција. Во секоја култура беше додаден цитохлазин Б со концентрација од 3ml за да ја спречи цитокинезата (клеточната делба), по што културите се инкубираа дополнително уште 24 часа. Потоа клетките беа одвојувани со центрифугирање на 1500 вртежи во минута за време од 10 минути. Супернатантот (одвоената течност) се одвојува со пипетирање со цел да остане што помал дел. Клеточниот концентрат се ресуспендира со остатоците од супернатантот. 10 ml на млак хипотоничен раствор беше додаден внимателно во секоја епрувета при што тие се центрифугираа и инкубираа за време од 30 min во водена бања на 37°C. Епруветите, пак, беа центрифугирани на 1500 rpm за време од 10 минути, супернатантот беше отфрлен, концентратот се ресуспендираше со остатоците од супернатантот, а постепено во секоја епрувета беа додадени 5 ml врзивен раствор. Епруветите беа ставани во фрижидер во времетраење од 30 минути. Истите се центрифугираа, а супернатантот се одвојуваше. Фиксативните постапки беа повторувани дополнително уште три пати. По завршеното центрифугирање, клетките се ресуспендираа во мал волумен на фиксативен раствор (приближно 0,5 – 1 ml) зависно од волуменот на клеточниот концентрат со цел да се добие малку заматен раствор. Во микроскопската лабораторија при Универзитетот „Гоце Делчев“ во Штип беа анализирани бинуклеарни лимфоцити со сочувана мембрана и цитоплазма. Се користеше микроскоп со поларизирана светлина од типот Leica DM4500 P (×40 and ×100).

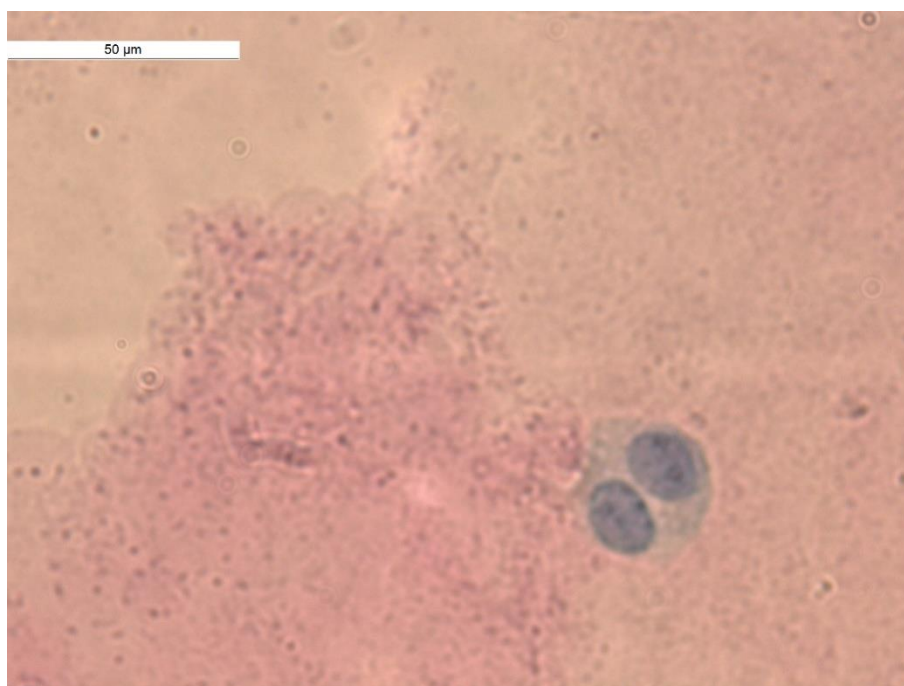
#### 4. РЕЗУЛТАТИ (Results)

Микроскопската анализа покажа појава на мононуклеарни (сл.8 и 11),  
бинуклеарни (сл.8, 9, 10 и 11) и мултинуклеарни лимфоцити (сл.11).

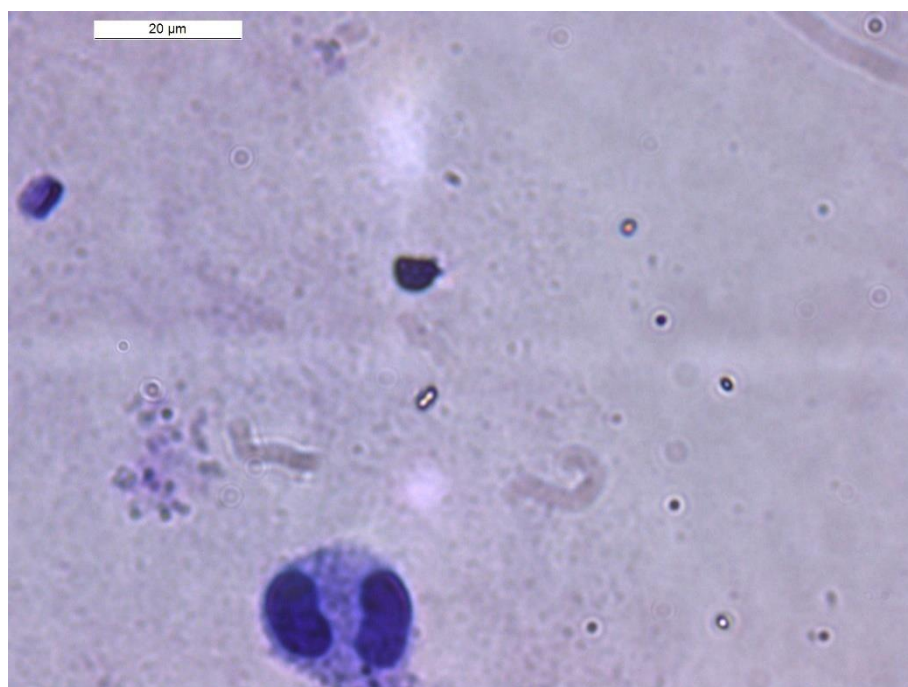


**Слика 8**

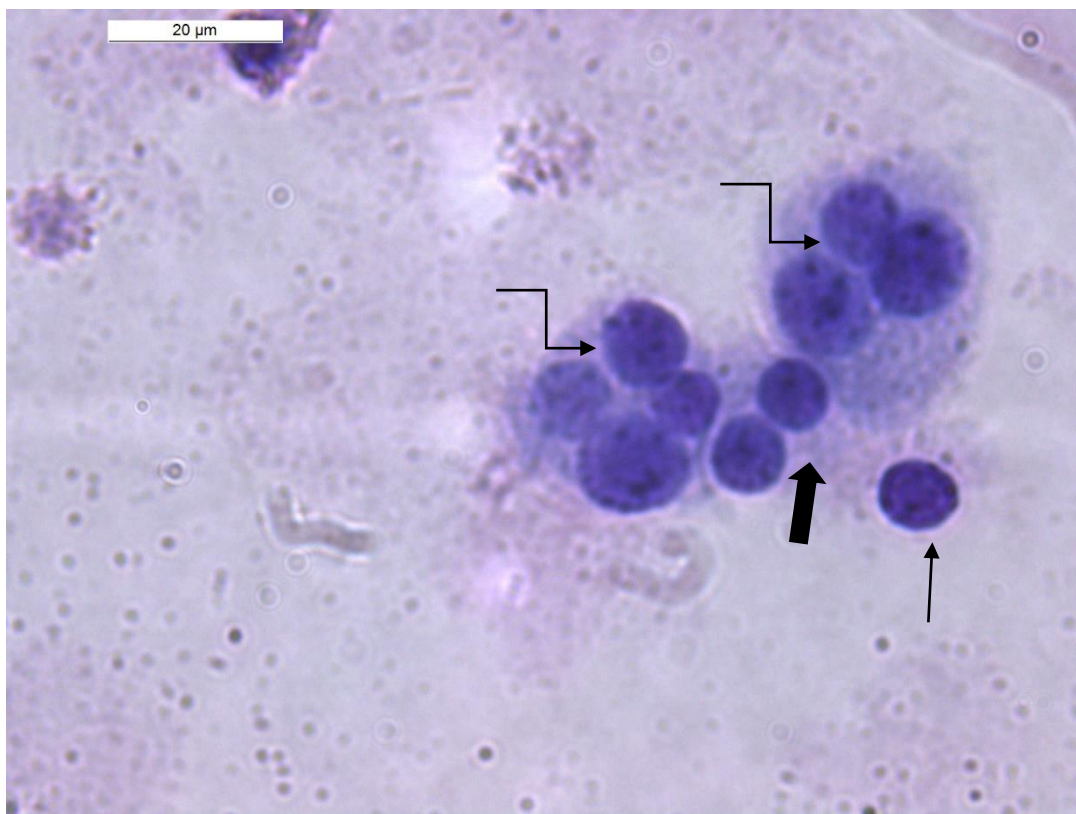
(Мононуклеарни ↓ и бинуклеарни ↓ лимфоцити)



**Слика 9**  
(Бинуклеарен лимфоцит)

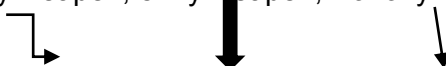


**Слика 10**  
(Бинуклеарен лимфоцит)

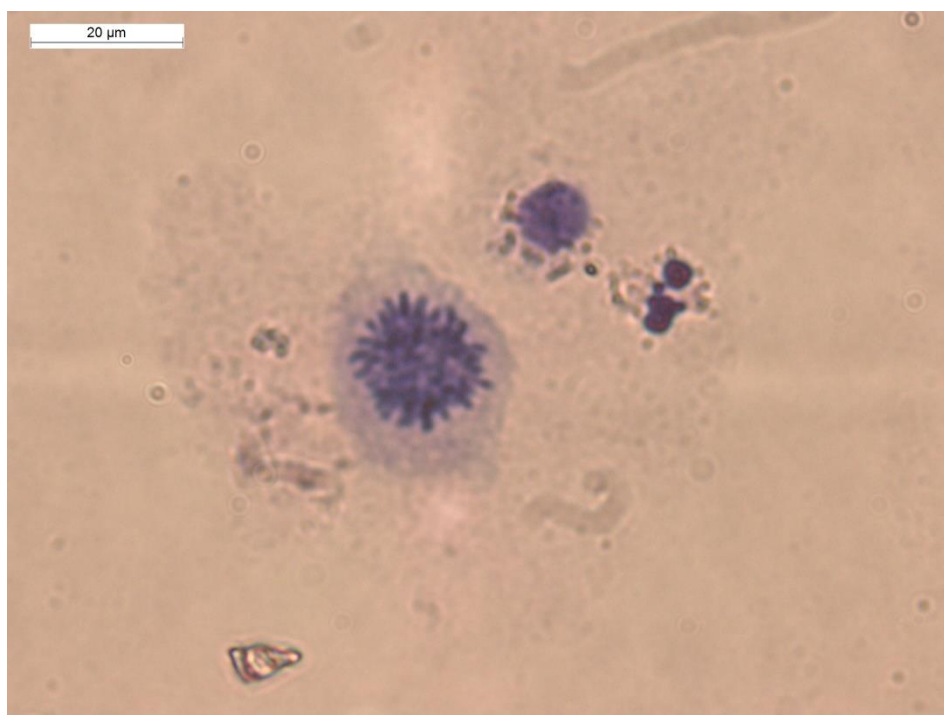


**Слика 11**

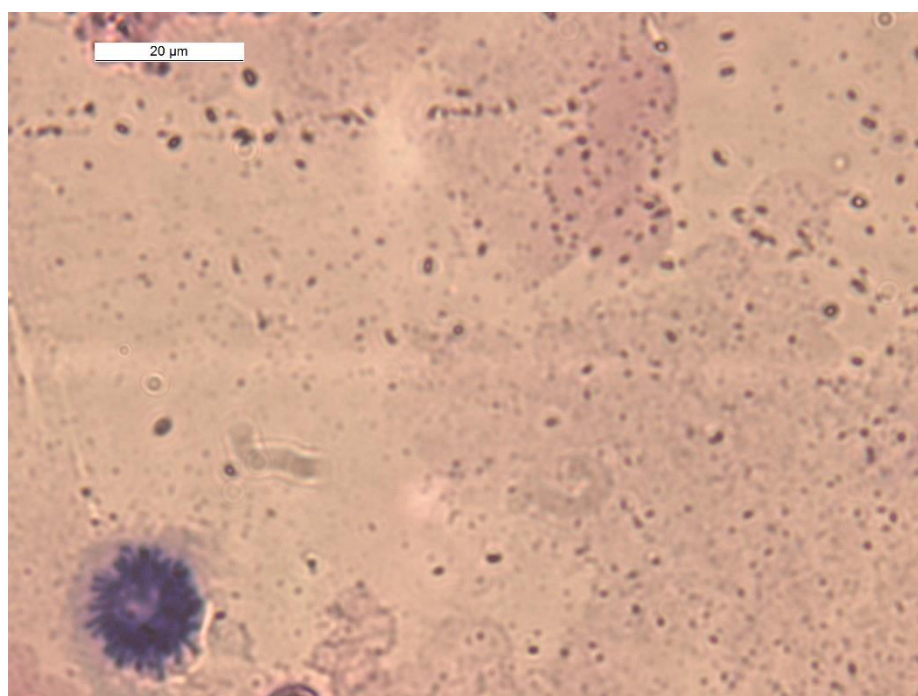
(Мултинуклеарен, бинуклеарен, моноклеарен лимфоцит)



Како резултат на интензивната стимулирана делба на лимфоцитите кај неколку испитаници успеавме да ја детектираме и фотографираме првата фаза од делбата на клетките - профаза (слика 12 и 13).



**Слика 12**  
Делба на клетка (профаза)

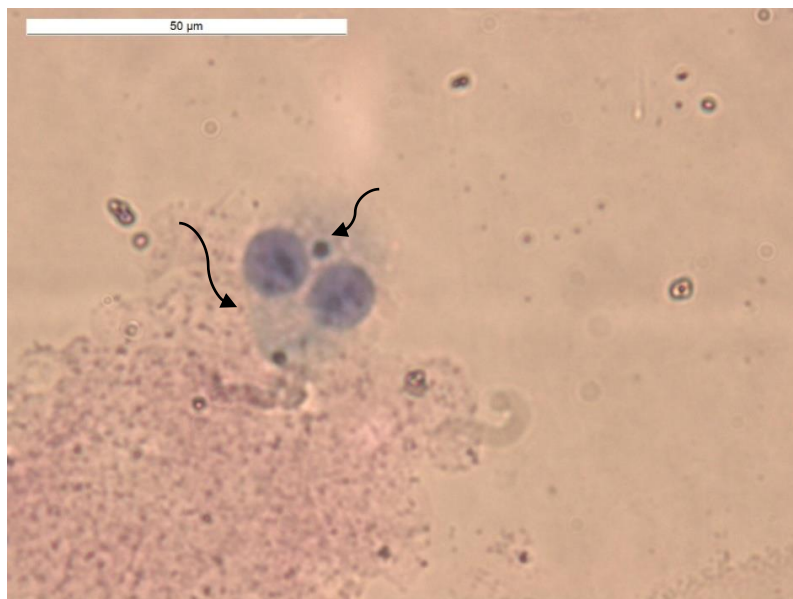


**Слика 13**  
Делба на клетка (профаза)

При евидентирањето на микронуклеусите како предвид беа земани само бинуклеарни лимфоцити во кои микронуклеусот се регистрира како дополнителни јадра со големина од 1/16 до 1/3 од останатите јадра со иста коегзистенција како и нив (сл.14 и 15). Во принцип ваквите јадра (микронуклеуси) претставуваат материјал од самиот геном којшто не е вклопен со останатиот генетски материјал.



**Слика 14**  
Бинуклеарен лимфоцит со микронуклеус



**Слика 15**  
Бинуклеарен лимфоцит со микронуклеус

Резултатите покажуваат дека вкупниот број на микронуклеуси во 1000 анализирани бинуклеарни клетки се движи од 1-13 (Табела 1).

Табела 1

ПРИМЕРОК	ИСПИТАНИЦИ			
	М/Ж	ГОД	П/НП	МН
1.	М	19	НП	0
2.	М	18	НП	1
3.	М	33	П	8
4.	М	25	НП	2
5.	М	21	П	0
6.	Ж	31	НП	2
7.	Ж	28	П	3
8.	Ж	18	НП	4
9.	Ж	32	П	9
10.	Ж	40	П	13
<b>ВКУПНО</b>				<b>42</b>
<b>СР.ВРЕДНОСТ</b>				<b>4</b>

Просечната вредност на вкупниот број микронуклеуси изнесува 4.

Вкупниот број на микронуклеуси кај мажи е 11, додека средната вредност изнесува 2 МН. Вкупниот број на микронуклеуси кај жени е 31, додека средната вредност изнесува 6 МН, при што јасно може да се утврди дека во просек кај жените се јавува поголем број на микронуклеуси во однос на мажите.

Постојат разлики и во влијанието на навиките за пушење во однос на спонтаната појава на микронуклеуси. Вкупниот број на микронуклеуси кај пушачи е 33 МН, а кај непушачи 9 МН. Просечната вредност на микронуклеуси кај пушачи изнесува 7, а кај непушачи 2 МН. Овие разлики се поврзани со возраста на испитаниците. Како кај мажите, така и кај жените, најголемо влијание во однос на навиките за пушење се јавија кај возрасната група од 32-40 година, што е компатибилно или слично со веќе објавени трудови од слични истражувања.



## **5. ДИСКУСИЈА (Discussion)**

Истражувањата на Корјар и соработниците (2010) укажуваат дека средната медијална вредност на микронуклеуси кај општата здрава популација во Хрватска изнесува 7 микронуклеуси на 1000 бинуклеарни клетки, додека вкупниот број се движи од 4-12 микронуклеуси, чиј резултат е сличен на овој специјалистички труд, при што просечната вредност на микронуклеуси кај општа здрава популација изнесува 4. Како и во овој специјалистички труд, тие за истражувањето одбрале здрави испитаници чии занимања не се поврзани со одредена физичка и хемиска опасност што би можело да влијае на вредноста на цитогенетскиот наод, како и испитаници кои во претходната година не биле изложени на X-зраци, ниту пак долготрајно земале лекови кои би можеле да влијаат на покачување на вредностите на цитогенетските биомаркери.

Тие утврдиле дека во просек кај жените се јавува поголем број на микронуклеуси во однос на мажите и тој резултат е сличен на оној MN тест чии податоци биле анализирани на поголем број испитаници, добиени од страна на Bonassi и соработниците (2001). Овој феномен главно го објаснуваат со губење на еден од X-хромозомите како резултат на појава на MN. И во овој специјалистички труд е утврден поголем број на микронуклеуси кај жени во однос на мажи, при што средната вредност на микронуклеуси кај мажи изнесува 2, а кај жени 6 MN.

Во истражувањето на Корјар и соработниците (2010) како значаен фактор кој го нарушува интегритетот на DNA во лимфоцитите кај здравите испитаници од општата популација се покажало и пушењето. Нивната студија покажала дека постојат разлики во влијанието на навиките за пушење во однос на спонтаната појава на MN, а тие разлики се поврзани со возраста на испитаниците. Како кај мажите, така и кај жените, најголемо влијание во однос на навиките за пушење се јавиле кај возрасната група од 31-40 година. Овие резултати се слични со резултатите од овој специјалистички труд во кој исто така е утврдено дека најголемо влијание во однос на навиките за пушење се јавија кај возрасната група од 32-40 година.

Во друга студија направена од страна на Milošević-Djordjević и соработниците (2001), кои ја утврдувале хромозомската нестабилност во периферните крвни лимфоцити кај пациенти кои се нерепродуктивни во однос на возраста, навиките за пушење, полот и спонтаните абортуси како фактори за варијација на бројот на MN итн., на популација од 164 испитаника утврдиле просечно  $(8,03 \pm 0,42)$  MN на 1000 бинуклеарни клетки. Во некои истражувања е наведен само вкупниот број на MN, па така Duffaudi (1997) на популација од 198 испитаника утврдил просечно  $(9,7 \pm 2,8)$  клетки со MN на 1000 бинуклеарни клетки кај мажи ( $N=119$ ), односно  $(9,8 \pm 3,1)$  клетки со MN на 1000 бинуклеарни клетки кај жени ( $N=79$ ). Пониски вредности за вкупниот број MN  $(4,74 \pm 0,31)$  на 1000 клетки се добиени во истражувањето кај испитаници од општа популација во Хрватска (Milošević-Djordjević, 2001). Слични податоци добил и Barale (1998) во една студија за италијанската популација, каде просечните вредности за регионот Cascina изнесува  $(4,13 \pm 3,20)$  MN на 1000 клетки ( $N=439$ ), регионот Navacchio  $(4,10 \pm 3,55)$  MN на 1000 клетки ( $N=341$ ) и за регионот Pisa  $(3,19 \pm 3,19)$  MN на 1000 бинуклеарни клетки ( $N=870$  испитаника). Тие исто така пронашле енормно висок број на MN кај жени во однос на мажи во истата група. Исто така и во други истражувања има поголем број на MN кај жени во однос на мажи (Thierens et al., 2000; Joseph et al., 2009).

На присуството или зголемениот број на микронуклеуси во лимфоцитите влијаат поголем број ендогени фактори кои се нормално присутни во нашата секојдневна работна и животна средина. Од посебно значење или дополнителен фактор кој влијае на зголемување на бројот на микронуклеусите во самите лимфоцити претставуваат и оксидативните процеси кои се одвиваат во самите клетки (Burcham, 1999).

## **6. ЗАКЛУЧОК (Concluding remarks)**

Микронуклеусниот тест на периферните крвни лимфоцити е еден од најважните методи кои се користат во цитогенетските контроли.

Кај здравите испитаници ретко се наоѓа висок број на микронуклеуси. Просечната вредност на вкупниот број микронуклеуси во овој специјалистички труд изнесува 4. Кај жените во однос на мажите, се јавува поголем број на микронуклеуси при што просечната вредност изнесува 6 MN. Овој феномен главно се објаснува со губење на еден од X-хромозомите како резултат на појава на MN.

Во однос на пушењето, просечната вредност на микронуклеуси кај пушачи изнесува 7, а кај непушачи 2 MN. Овие разлики се поврзани со возраста на испитаниците. Како кај мажите, така и кај жените, најголемо влијание во однос на навиките за пушење се јавија кај возрасната група од 32-40 година.

MN-тестот може да се користи во откривање на геномската нестабилност која е поврзана со зголемен ризик од карцином. Во поново време се докажува и причинско-последичната врска помеѓу зголемувањето на бројот на MN и некои видови карцином.

## **7. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА (References)**

1. Barale R, Marrazzini A, Bacci E, Di Sibio A, Tessa A, Cocchi L, Scarcelli V, Lubrano V, Vassalle C, Landi S. Sister-chromatid exchange and micronucleus frequency in human lymphocytes of 1650 subjects in an Italian population: I. Contribution of methodological factors. *Environ Mol Mutagen* (1998); 31:218-27.
2. Berger ME, O'Hare FM Jr, Ricks RC, editors. *The Medical Basis for Radiation Accident Preparedness: The Clinical Care of Victims*. REAC/TS Conference on the Medical Basis for Radiation Accident Preparedness. New York: Parthenon Publishing (2002);
3. Bonassi S, Fenech M, Lando C, Lin Y, Ceppi M, Chang WP, Holland N, Kirsch-Volders M, Zeiger E, Ban S, Barale R, Bigatti MP, Bolognesi C, Jia C, Di Giorgio M, Ferguson LR, Fučić A, Garcia Lima O, Hrelia P, Krishnaja AP, Lee T-K, Migliore L, Mikhalevich L, Mirkova E, Mosesso P, Muuller W-U, Odagiri Y, Scarfo MR, Szabova E, Vorobtsova I, Vral A, Zijno A. Human Micronucleus Project: International database comparison for results with the Cytokinesis-Block Micronucleus Assay in human lymphocytes: I. Effect of laboratory protocol, scoring criteria, and host factors on the frequency of micronuclei. *Environ Mol Mutagen* 2001;37:31-45.4.
4. Duffaud F, Orsiere T, Villani P, Pelissier AL, Volot F, Favre R, Botta A. Comparison between micronucleated lymphocyte rates observed in healthy subjects and cancerpatients. *Mutagenesis* (1997); 12:227-31.
5. Joseph LJ, Bhartiya US, Raut YS, Kand P, Hawaldar RW, Nair N. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes of thyroid cancer patients after radioiodine therapy and its relationship with metastasis. *Mutat Res* (2002);

6. Kopjar N, Vilena Kashuba, Mirta Milich, Ružica Rozgaj, Davor Željezich, Goran Gajski, Marin Mladinich, Vera Garaj-Vrhovac. Micronucleus assay in Croatian general population. Arh Hig Rada Toksikol. Zagreb, Hrvatska (1997);
7. Кочубовски, М. (2013), Здравствено-еколошки аспекти на тешки метали од интерес, Скопје;
8. Milosevic-Djordjevic O, Grujicic D, Novakovic T, Arsenijevic S, Marinkovic D. Micronuclei and ageing in a sample of Yugoslavian population. Russ J Genet 2002; 38:201- 4.
9. Симич, Р. (2006), Мини књиге о проналасцима. Прва књига СЕРБ, Београд;
10. Сتيкова, Е. (2012), Медицина на трудот:Физички штетности во работната средина, Скопје;
11. Thierens H, Vral AM, Mohier R, Aousalan B, Ridder DI. Cytogenetic monitoring hospital workers occupationally exposed ionizing radiation using the micronucleus centromere assay. Mutagenesis (2000);
12. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation to the General Assembly (UNSCEAR 2000), Sources and Effects of Ionizing Radiation, A Report of the, Volume II: Effects, New York;
13. Fenech M., CSIRO Health Sciences and Nutrition, PO Box 10041, Adelaide BC 5000, South Australia, Australia. Mutation Research 455 (2000) 81–95;
14. Fenech M., Chang WP, Kirsch-Volders M, Holland N, Bonassi S, Zeiger E. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. Mutat Res 2003;534:65-75.
15. Frank J. B. (1992), Modern Physics, p.363-366;
16. Hrvoje Librenjak. (2003), Rizici pojave karcinoma uslijed izloženosti ionizirajućem zračenju, Fakultet elektrotehnike i računarstva, Sveučilište u Zagrebu;
17. Dzelalija, M. (2006), Ionizirajuće zračenje u biosferi. Svetouciliste u Splitu, Kemijsko-tehnoloski fakultet;

Закон за заштита од јонизирачко зрачење и радијациона сигурност. Сл.  
весник на Р. Македонија, бр. 48/02 од 27.06.2002 год.

<http://www.crios.be/> - преземено на 05.06.2015

[http://www.hko.gov.hk/education/dbcp/rad\\_health/eng/r4.htm](http://www.hko.gov.hk/education/dbcp/rad_health/eng/r4.htm) - преземено на  
08.08.2015

[https://www.ehs.washington.edu/rsotrain/radprotectionprinciples/biological\\_effects.pdf](https://www.ehs.washington.edu/rsotrain/radprotectionprinciples/biological_effects.pdf) - преземено на 26.10.2015