# الحماية الإشعاعية للأشعة المؤينة وفوق البنفسجية من ناضح هيموغلوبين كريات الدم الحمراء

**حسين علي الجبوري* وبيداء طاهر سيه****

*** جامعة النهرين، كلية العلوم ، قسم الفيزياء.**

**** جامعة بغداد، كلية العلوم ، قسم الفيزياء.**

## الخلاصة

يعطي العالق المعزول من ناضج كريات الدم الحمراء المعرضة للأشعة المؤينة- أشعة كاما بجرعة مقدارها 200 كيلو راد، حماية إشعاعية واضحة ضد تأثير الأشعة المؤينة والأشعة فوق البنفسجية . حيث وجد أن نسبة الحماية الإشعاعية -P% في نماذج كريات الدم الحمراء بوجود عالق التخفيف المشعع (ع ش) تصل الى حوالي 66%، بينما تصل في حالة العالق غير المشعع (ع غ) إلى 10% فقط، كما يؤدي البروتين المستخلص من (ع ش) إلى حماية الإشعاعية - P% مقدارها 84% ضد تأثير الأشعة فوق البنفسجية و72% في حالة البروتين المستخلص من (ع غ). كما تم الأخذ بالاعتبار التسرب الأيوني لأيونات البوتاسيوم-K والكالسيوم- Ca والمغنيسيوم- Mg والبروتين المعدل والمتكون نتيجة التشعيع كعامل مهم في هذه الفرضية.

بينت هذه الدراسة أن ظهور الحماية الإشعاعية له علاقة بمجاميع الثايول -SH في تركيب الهيموغلوبين وتكوين مركبات حافظة. إضافة إلى وجود الكبريت الذي يتفاعل مع نواتج التحلل المائي الإشعاعي للماء. إن النتائج الحالية لا تقرر الدور الأساس المسبب لآلية الحماية ولكنها تشير إلى أهمية زيادة تكوين الكلوتوثايون والسلفاموغلوبين في الحماية بمساعدة الأيونات المتسربة.

## المقدمة

تمتلك كريات الدم الحمراء دورة مهمة في حياة الكائ ن الحي الفقري كنتيجة لما تقوم به من فعاليات فسلجية وحيوية (من نقل الأوكسجين إلى الأنسجة المختلفة ،إنتاج الطاقة ،عملية الانتقال الأيوني ،.....الخ). وتكون هذه التراكيب عبارة عن أغلفة بلازمية فقد تحتوي بداخلها على خزين من الهيموغلوبين، عمدت الدراسات الإشعاعية السابقة لتقدير الاستجابة الإشعاعية للأشعة المؤينة على دراسة نفاذية غشائها الخارجي كنتيجة للتلف الحاصل فيه من تقليل فعالية بعض الإنزيمات.

وتفسر تلك الاستجابة في الخلايا الحية على أنها استجابة نمطية تحددها التركيبة الوراثية للخلية التي تؤثر على فسلجة الأيض فيها أو استجابة مكتسبة تحدد بمجمل الظروف المرافقة أو التي تسبق أو تعقب التشعيع ، لذا تمثل كرية الدم الحمراء كموديل نموذجي لدراسة تأثير الأشعة لاسيما وأن مؤشر نسبة النضح المئوي للهيموغلوبين [1، 2] والتسرب الأيوني[3] لأيونات البوتاسيوم- K يمكن الاستفادة منها في قياس الاستجابة الإشعاعية عند التشعيع بالأشعة المؤينة أو بالأشعة فوق البنفسجية [4] وعلى مدى تجريعي كبير، حيث وجد أن الكرية تفقد أيونات البوتاسيوم -K ويزداد محتواها من ايونات الصوديوم - Na نتيجة تشعيعها بالأشعة المؤينة [5،6] أو بالأشعة فوق البنفسجية كنتيجة لأكسدة مجاميع الثايول- SH تلك وتكوين الكلوتوثايون[7] حيث وجد إن مبدأ الحماية الإشعاعية ضد تأثير الأشعة فوق البنفسجية يعتمد على المركبات التي تقلل من دور الأكسدة الضوئية في مكونات الكرية ومنها مركبات مجاميع الثايول التي تساعد على التقليل من النضح المباشر للهيوغلوبين [8،9].

وجاء هذا البحث لدراسة تأثير العالق المشعع في زيادة قابلية الكريات لمقاومة الأشعة وكمحاولة لاستخدامه في دراسات الحماية الإشعاعية على المدى القريب.

## المواد وطريقة العمل

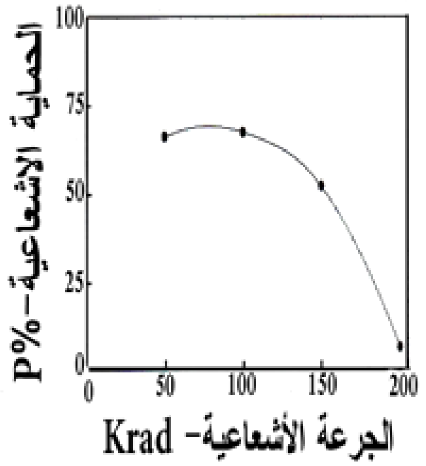
يؤخذ نموذج كريات الدم البشري الحمراء (المجهزة من مصرف الدم بمواصفات وعمر زمني ثابتين) ثم تعزل عنه البلازما بالطرد المركزي (2000 rpm لمدة 10 دقائق ) وبدرجة 4 مئوية ثم يعاد تقليل الكريات المتبقية بالدارئ (Sucrose Tris HCL Buffer–S.T.B.).

يحضر عالق كريات الدم الحمراء في الدارئ بتركيز 50% ثم يعرض إلى جرعة من الأشعة المؤينة مقدارها 200 Krad والمنبعثة من النظير المشع كوبلت –60 من جهاز(Canadian Gamma cell–200– في وزارة العلوم والتكنولوجيا) بمعدل جرعة1.902 Krad/ min ثم يفصل العالق بعدئذ بالطرد المركزي ويطلق علية (ع ش)، ويحضر عالق للسيطرة (ع غ) بنفس الطريقة تماما ولكن دون تشعيع. وتؤخذ النسبة المئوية لنضوح الهموغلوبين – H% لقياس مقدار الحماية الإشعاعية للكريات بعد اعتماد طريقة ناقص التوتر –Hypotonic باستخدام الماء المقطر [2،10] للوصول إلى نسبة النضوح الكلية للهيموغلوبين من الكريات، وتقاس كمية التسرب الأيوني بواسطة الرذاذ الخاص بجهاز الامتصاص الذري من نوع (Pirkin Elmer 305-B) والذي من خلاله يمكن إيجاد الكثافة الضوئية لكمية الايونات الموجودة في النماذج . وعند دراسة تأثير الأشعة على H% يضاف كلا من العالقين (ع ش) و (ع غ) بنسبة 25% إلى حجم 3 مللتر من كريات الدم البشري والمعلقة بالد ارئ بتركيز 10% عند التشعيع بالأشعة المؤينة أو المعلقة بالدارئ بتركيز 1 % عند التشعيع بالأشعة الفوق البنفسجية وبمعدل جرعة مقدارها (5.495 erg/ mm2/ sec).

**النتائج**

1. **الحماية الإشعاعية ضد تأثير الأشعة المؤينة**

يؤدي إضافة العالق المشعع (ع ش) إلى عالق الكريات الدم الحمراء إلى تقليل النسبة المئوية لنضوح الهيموغلوبين منها عند تعريضها إلى جرع إشعاعية متزايدة من الأشعة المؤينة (الشكل–1).



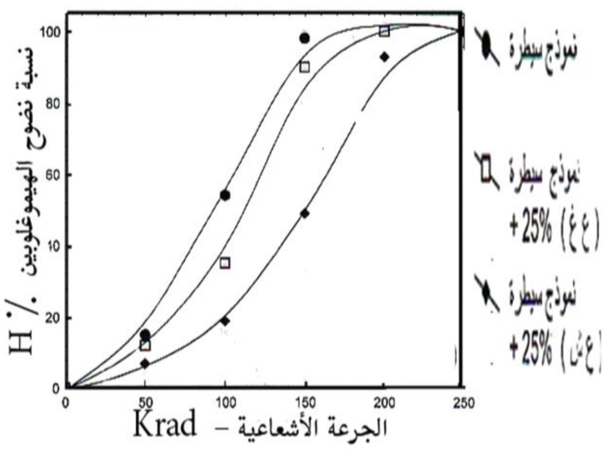

**(شكل–1) نسبة الحماية الأشعاعية -P% في نماذج كريات الدم الحمراء تركيز 10% بوجود عالق التخفيف المشعع (ع ش) بنسبة25%.**

يبلغ مقدار الهبوط في نسبة النضوح -H% مقاسة بنسبة الحماية الإشعاعية -P% والمتمثلة بالمعادلة التالية:

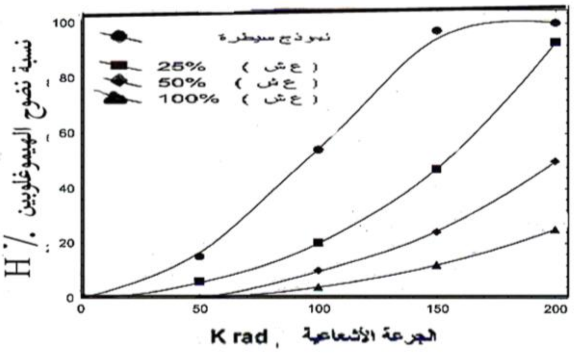
$$P\% = \frac{\text{(الحد الأقصى H\%-الحد الأقصى H\% بوجود عامل الحماية)}}{\text{الحد الأقصى H\%}} \times 100$$

إلى حوالي 66% بينما تبلغ هذه النسبة عند استعمال العالق غير المشعع–ع غ 10% فقط.

تظهر هذه الحماية في الجرعة الإشعاعية القليلة وتزداد حتى تصل قمتها عند الجرعة 100 krad تمثل بزيادة الجرع حتى تختفي بالجرعة 200 krad (الشكل–2).




**شكل (2) تأثير الأشعة المؤينة على نسبة نضوح الهيموغلوبين في نماذج كريات الدم الحمراء البشري تركيز 10% بوجود عالق التخفيف المشعع (ع ش) وعدم وجوده (ع غ).**

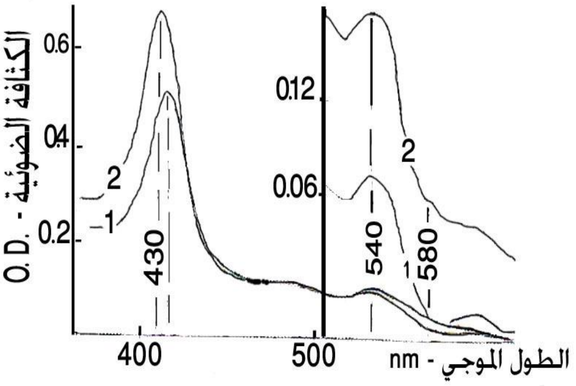



**(شكل-3) نسبة نضوح الهيموغلوبين H% لنماذج كريات الدم الحمراء البشري تركيز 10% المشعة بالأشعة المؤينة بوجود التخفيف المشعع (ع ش). بنسب 25%،50%،100%.**

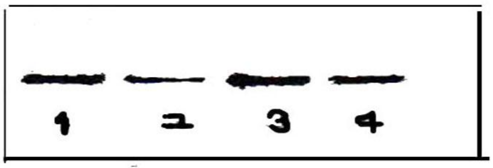
كما إن زيادة تركيز العال ق (ع ش) بتراكيز (25%، 50%، 100%) يؤدي إلى زيادة مطردة في نسبة الحماية (الشكل-3) وتبلغ أعلى نسبة نضوح حوالي 82% عندما تشعع بوجود العالق (ع ش) غير المخفف تركيز 100%.

كمرحلة أولى لغرض تبيان الاختلاف في الصفات الفيزيو-كيمائية بين العالقين المشعع (ع ش) وغير المشعع (ع غ) درس طيف الامتصاص الضوئي لكلا العالقين ولأطوال موجية مختلفة (الشكل-4) وفيه يلاحظ إن العالق (ع ش) يمتص الضوء عند القمة 580nm, 540nm بكميات تقدر ب 0.24 و 0.05 على التوالي زيادة عن نظيره (ع غ)، كما أنه يزيد في كمية امتصاص القمة 430nm بمقدار 0.16 مع وجود انحراف في طول الموجة ولغرض تبيان إمكانية حصول تغير في بروتين الكرية المسبب عن التعرض الإشعاعي. قورن سيماء الهجرة الكهربائية للعالقين بطريقة [11] (Davis 1964) وكما هو واضح لا يبدو أي اختلاف منظور بين النموذجين مما يدل على عدم وجود اختلاف في جزيئات البروتين الناضح من الكرية أثناء التشعيع (شكل-5).

أن احتمال ظهور آلية الحماية الإشعاعية قد يعزى إلى وجود الأيونات في العالق المشعع (ع ش)، وقد كشف عن ذلك بطريقة الفصل بالنبذ العالي دون الترسيب الملحي . حيث وجد ان الأخير يؤدي إلى إضافة أيونات جديدة تؤثر على النسب الموجودة أصلا في النموذج.




(شكل-4) طيف الامتصاص الضوئي
1 - عالق التخفيف الغير المشعع (ع غ)
2 - عالق التخفيف المشعع (ع ش) بجرعة 200Krad




(شكل -5) جيلاتين الهجرة الكهربائية
1, 2 - نماذج سيطرة
3 - عالق التخفيف غير المشعع (ع غ)
4 - عالق التخفيف المشعع (ع ش)
المستخلص من نماذج كريات الدم البشري تركيز 50%
حضر الجيلاتين بطريقة - [17] DAVIS

لذا تم عزل وحساب كمية الايونات الموجودة في العالقين(جدول-1). وان الزيادة في تركيز الايونات يبدو واضحا للعالق المشعع (ع ش) بالقياس إلى نضيرة غير المشعع (ع غ).

**(جدول -1)**

**كمية الأيونات في رواسب (ب و ب*) وعوالق (ع) و(غ) للعالقين (ع ش) و(ع غ) المفصولة بطريقة الطرد المركزي (4000 دورة/ دقيقة و 4 مئوية 60 دقيقة).**

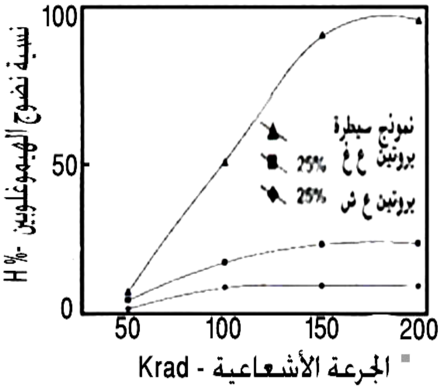
| الأيون (1) | عالق التخفيف غير المشع (ع غ) | | عالق التخفيف المشع (ع ش) | |
|---|---|---|---|---|
| | ب | ع | ب* | غ |
| بوتاسيوم - K | 5.00 | 60.00 | 6.00 | 590.00 |
| كالسيوم - Ca | 1.30 | 8.00 | 1.90 | 10.00 |
| مغنسيوم - Mg | 0.12 | 0.62 | 0.37 | 0.75 |

**(1) تمثل كمية الأيون معدل لقرائتين على الأقل لكل أيون مقاسة بـــ ppm.**

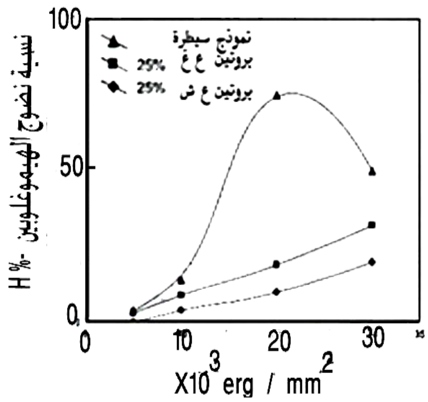
**2. الحماية الإشعاعية للبروتين المستخلص من العالق المشعع ضد تأثير الأشعة فوق البنفسجية.**

(الشكل–6) يبين علاقة البروتين المستخلص بطريقة الفرز الغشائي من عالق التخفيف المشعع (ع ش) بكسب الكريات حماية إشعاعية أكثر من نظيرة المستخلص من عالق التخفيف غير المشعع (ع غ) تحت نفس الظروف عند تشعيع نماذج من هذه الكريات بالأشعة المؤينة وفوق البنفسجية.

أن نسبة الهبوط في الاستجابة الإشعاعية (الحماية الإشعاعية) للأشعة المؤينة في حالة البروتين العالق (ع ش) هي أكثر من تلك التي يسببها بروتين العالق (ع غ) حيث تقدر النسبة 90%.




**شكل (6) نسبة نضوح الهيموغلوبين H% من نماذج كريات الدم البشري تركيز 10% نتيجة تأثير الأشعة المؤينة بعد أضافة، 25% بروتين عالق التخفيف (ع غ) و(25%) بروتين عالق التخفيف المشعع (ع غ).**




**شكل (7) نسبة نضوح الهيموغلوبين H% من نماذج كريات الدم البشري تركيز 1% نتيجة تأثير الأشعة فوق البنفسجية بعد أضافة، 25% بروتين عالق التخفيف(ع غ) و(25%) بروتين عالق التخفيف المشعع (ع غ).**

من وجود الأول في حين لا تتجاوز 80% من وجود الثاني (الشكل–6). وتبدو الصورة متكررة عند استخدام الأشعة فوق البنفسجية (الشكل–7) والذي يظهر هبوط الحد الأقصى لنضوح الهيموغلوبين عند الجرعة (20x103 erg/mm 2) حيث تقدر نسبة الحماية الإشعاعية بـــ 84% في حالة البروتين (ع ش) و 72% في حالة البروتين(ع غ) الأمر الذي يدعو للاعتقاد بان الحماية الإشعاعية الذي يسببه البروتين (ع ش) يؤدي نفس الدور حيال الأشعة فوق البنفسجية.

**المناقشة**

إن وجود الهيموغلوبين يقلل إمكانية أكسدة مجاميع الثايول التي يرافقها إعادة عمليات فوق أكسدة الشحم [12]، كما ان الهيموغلوبين المؤكسج (الميثاموغلوبين ) بفعل الأشعة يزيد من عوامل الحماية لتكوينه (أنزيميا ) مادة الكلوتوثايون الحافظة[13].

إن تعرض الميثاغلوبين للأشعة يتفكك إلى جزيئات الهيم [14] ذات أوزان جزيئية اقل[15]، ترتبط هذه بدورها مع مركبات بروتين غشاء الكرية البلازمي(لاسيما وتلك الحاوية على مجاميع الثايول ) لترصين الحماية الإشعاعية وتكوين مركبات حافظة. إضافة إلى ذلك فان التأثير المباشر للأشعة على الهيموغلوبين يكون راسب السلفاموغلوبين [16] الذي يحوي على هيموغلوبين مع مجاميع الثايول-SH الناضحة.

إن للسلفاموغلوبين دور مهم في الحماية الإشعاعية لاحتوائه على الكبريت الذي يتفاعل مع نواتج التحلل المائي الإشعاعي للماء وخاصة جذر *OH فيتحد تأثيرها [17,6]. إن علاقة الزيادة في التركيز الأيوني ( جدول – 1) مع الحماية الإشعاعية ضد تأثير الأشعة المؤينة متوقع على اعتبار أن غياب بعض الأيونات كالنحاس يقلل من التأثير الغير مباشر، بفعل الجذور الحرة (لاسيما جذور البيروكسيد -(HO2*) [12،6] إضافة لدور هذه الأيونات في عمليات تكوين الكلوتوثايون الحافظة [18] وزيادة فعالية المركبات الحيوية على مجاميع الثايول-SH.

من المعروف أن وجود الأيونات الكالسيوم -Ca والبوتاسيوم -K بتراكيز عالية يزيد من فعالية الأنزيم ATP-ace [19] الذي يساعد في تكوين مادة الكلوتو

ثايون. أما سبب الحماية الإشعاعية ضد تأثير الأشعة فوق البنفسجية (شكل-7) فهو أكثر تعقيدا لغ ياب التأثير غير المباشر للأشعة إضافة إلى إمكانية لظهور نواتج ضوئية-كيميائية بفعل الأشعة فوق البنفسجية . [20،21،22] تدخل في عمليات الحماية الإشعاعية[23].

إن النتائج الحالية لا تقرر الدور الأساس المسبب لآلية الحماية ولكنها تشير إلى أهمية زيادة تكوين الكلوتوثا يون والسلفاموغلوبين في الحماية بمساعدة الأيونات المتسربة.

**المصادر**


[1] Michlson. A.N., Photo. Chem. Photo. Biol., 25, 55-63 (1977).

[2] Chan.T. K. et. al.,J. Cell. Physiol. 85, 47-52, (1982).

[3] Robert. M. S., Rad. Res., 34, 300-314, (1968).

[4] KK Khanna, MF Lavin Oncogene 8:3307-12. (1993).

[5] Sutherland. R. M. et. al., Int J. Rad. Biol., 12, 551-564, (1967).

[6] Z Szweda-Lewandowska Free, Radic. Res. 37: 1137-43. (2003).

[8] Magorzata Karbownik, and Russel J. Reiter Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 225:9-22 (2000).

[7] Modig. H. G. et. al., Int. J. Rad. Biol., 22, 257-268, (1971).

[9] Roshchupkw. D. I., Photo. Chem. Photo. Boil., 21, 62-63, (1975).

[10] Roberts. P. B., Int. J. Rad. Biol., 35, 561-579, (1979).

[11] Devis. B. J., Annl. N. Y. Acad. Sci., 121, 404-429, (1964).

[12] Surgenor. D. M. In "The red blood cell" Acad. Prees. p: 368-463, (1974).

[13] Pushla. M. et. al., Int. J. Rad. Biol., 39, 683-688, (1981).

[14] Mark Juckett, Yahou Zheng, Hua Yuan, Thomas Pastor, William Antholine, Marc Weber, and Gregory Vercellotti , J. Biol. Chem, Vol. 273, (1998).

[15] Todo. T., et. al., Rad. Res., 89,408-419, (1982).

[16] Modthash.N. et. al., Rad. Res., 86, 479-487, (1981).

[17] Wdzieczak.J. et. al., J. Red. Res. 19,141-152, (1978).

[18] Sato.C.etal. Rad .Res., 69, 367-347, (1977).

[19] Scharff. O .et. al., Biochem. Biophys. Acta, 509, 67-77, (1979).

[20] Bartosz. G. et. al., Int. J. Rad. Res., 31, 179-200, (1977).

[21] Bartosz. G. et. al., Int. J. Rad. Biol., 38, 187-192, (1980).

[22] A. Kralli S. H. Moss, British Journal of Dermatology, Volume 116 Issue 6, Pages 761–772 (2006).

[23] Joselyn. P.C., in "Biochemistry of SH group "Academic Press .New York. London (1974).


## Abstract


Superannuate isolated from heamolysid human erythrocytes, gives gamma–radiation dose of 200 Krad, provide an outstanding protection against the damaging effects of ultraviolet and gamma-radiation. The radiation protection-P% in RBC samples with irradiated

Diluted superannuated was 66% while in un irradiated diluted superannuated was 10%. The protein which extracted from irradiated diluted superannuated produce radiation protection-P%: 84% against the effect of ultraviolet radiation and 72% for protein which extracted from un irradiated diluted superannuated. Take into account the ionic efflux for potassium-K ,calcium–Ca, magnesium-Mg and the modified protein have been tested and the hater could be a key factor to this outstanding phenomenon,

This study showed the effect of radiation protection was related to SH-qroup in hemoglobin structure and formation of the preservative components of S–sulphur which interaction with free radicals analysis. The results of this study don't decided the meager reason of the process of radiation protection but refer to the important of the formation increases of glutathione and sulfmoglobine for protection with ionic efflux.