التأثيرات المرضية والجنينية لجرع مختلفة من إشعاع الكوبلت – ٦٠ في استحثاث الإنحرافات الكروموسومية والتبادل الكروماتيدي الشقيق – في الجرذان

بشرى إبراهيم القيسي
كلية الطب البيطري-جامعة بغداد

الخلاصة

تم خلال الدراسة الحالية , دراسة تأثير جرع مختلفة لمدد زمنية مختلفة لاشعاع الكوبلت – ٦٠ كمثال لاشعة كاما في الجرذان البيض ودرست التغيرات المرضية والخلوية الوراثية . عرضت مجموعتين من الجرذان البيض للجرع (٥٠ ، ١٥٠) راد من اشعاع الكوبلت ٦٠ وللمدد (٠ ، ٣٠، ٤٥ ، ٩٠) يوماً وتركت المجموعة الثالثة كمجموعة سيطرة . سجلت زيادة معنوية في معدلات النوى الصغيرة بزيادة جرع التعرض وهي (١٥٠) راد وللمدتين (٤٥،٩٠) يوماً كما سجل انحرافات كروموسومية تمثلت بزيادة الكسور والاشكال الحلقية وبدون مركز وذو مركزين وكانت شدتها في الجرعة (١٥٠) راد لمدتين (٣٠ ، ٤٥) يوماً من التعرض لاشعاع الكوبلت – ٦٠. اوضحت نتائج الدراسة وجود ارتفاعاً معنوياً $P<0.01$ في التبادل الكروماتيدي الشقيق مقارنة بالسيطرة مع انخفاضاً معنوياً في معامل تضاعف وانقسام الخلايا وخاصة في الجرعة (١٥٠) راد. تميزت التغيرات المرضية العيانية لمجاميع التعرض بكبر وتضخم الكبد والرئتين والكلية مع وجود اورام حبيبية متعددة ومنتشرة على سطح الكبد والرئتين . اما التغيرات المرضية في المدة (٩٠)يوم من التعرض عكست ظهور السرطانة الغدية في الكبد والرئتين مع وجود الأورام الحبيبية في الطحال وتلف ونخر الكليتين والدماغ .

Pathological & cytogenetic effects of different doses of Cobelt-60 in induced chromosomal aberrations and sister-chromatid exchanges – in rats

Bushra.I.Al-Kaisie
Depatment of Pathology –Vet. College Baghdad University

Summary

The present study was done in different period to study the pathological effects of different doses of Cobalt – 60 radiation which represent an example of gamma rays in white rats by study the pathological & cytogentic changes. Two groups of rats exposure ,first : C0 50 second C- 150 gray for (0,30,45,90)days and the 3rd group control .The results show significant increased $P<0.01$ in

micronuclei with high dose (C-150). Chromosomal aberration and SCE showed significant P<0.01 increased mostly in C-150 at (45 7 90)days of exposure with frequency of breaks ,dicentric , acentric and ring shape with significant reduction in mitotic index (MI)and replicative (RI) index. Pathological changes revealed that increased and enlargement with granulomatous lesion of kidney , :Liver , lungs of (C-50) and (C-150)groups. Histopathological lesion showed development of adenocarcinoma in lung , liver with granulomatous lesion in spleen and kidney brain had showed degenerative change with necrosis .

المقدمة

ان للاشعاع تاثيرات مضرة للانسان والحيوان على حد سواء (١) ويعد الاشعاع من اكثر الاسباب اهمية في حدوث السرطانات والمتضمن عدداً كبيراً من العناصر المشعة كالراديوم واليورانيوم والاشعاعات الضوئية الشمسية واشعة X (٢). استخدم الاشعاع في معالجة عدة انواع من الاورام في الكلاب حين عولجت اورام داخل الانف باشعاع الكوبلت ٦٠– (٣) او في علاج اورام ميلانية في الفم (٤) وفي معالجة الغرن العظمي في الكلاب (٥) كما سجل (٦) علاج الاكياس العدرية في الكلاب المعرضة لجرع مختلفة من هذه الاشعة .

ان المقياس العام لتاثير الاشعة على جسم الكائن الحي هو بقاء او موت الكائن المعرض للاشعة ، ويعتمد تاثيرها على كمية الطاقة الاشعاعية المستلمة من قبل الكائن الحي ونوع ذلك الكائن وعمرة وحالتة الفسلجية اثناء عملية التشعيع وان من اكثر التعابير استخداماً في اللبائن هي الجرعة القاتلة لنصف العدد Lethal Dose 50 خلال مدة (٣٠) يوماً وتساوي (٣٦٠) رونتكن في الفئران البيضاء (٧) . ان الخلايا اللمفية هي الاكثر نشاطاً وانقساماً اذ يعطي دراسة افضل للكروموسومات (٨) كما ان معامل الانقسام (٩) يعكس ما يحدث للخلايا اثناء تعرضها للعوامل المطفرة والمسرطنة لبيان تاثيرها الوراثي. هناك اختبارات عدة يمكن من خلالها الكشف عن قابلية المواد المطفرة في احداث تغيرات في المادة الوراثية من خلال التغيرات في جزيئة الدنا DNA وشملت الاحياء الراقية القريبة من الانسان كالفئران والجرذان (١٠) ، كما ان استعمال الاوساط الزرعية يكشف عن توليد المسرطنات لكونها تكشف عن التغيرات في الاحماض النووية فاستعملت انواع الخلايا اللمفية كخلايا الانسان (١١) وخلايا الرئة في الهامستر (١٢) . ان التغيرات الكروموسومية الناتجة من تعرض الخلايا الى الاشعاع وحدوث المطفرات الوراثية والمسرطنات على نوعين الاول التغيرات الكرموسومية والثاني الكرموتيدية (١٣). وتاتي هذه الدراسة لمعرفة التاثيرات المرضية والوراثية الخلوية التي تحدثها تعرض متكرر لجرع مختلفة لاشعاع الكوبلت ٦٠– تجريبياً في الجرذان البيض .

المواد وطرق العمل

A .اشعاع الكوبلت –٦٠ :– شععت حيوانات التجربة باشعة كاما باستخدام اقطاب مشعة لعنصر الكوبلت –٦٠ وهو مثالاً لاشعة كاما بمنظومة التشعيع

Phapha Atomic Research center , Trompay , Bombay, India

(Gama cell – 900) بمعدل طاقة EV μ ١.٢٥ وطول موجي يعادل

meter λ 81.585416X 10 0.13 في كلية العلوم / قسم الفيزياء النووية / جامعة بغداد.

B . حيوانات التجربة:– استخدمت في هذه الدراسة (١٨) من ذكور الجرذان البيض بوزن (٣٠–٣٥) غرام، قسمت الى ثلاثة مجاميع متساوية تضم الواحدة (٦) جرذان: المجموعة الاولى سيطرة اما الثانية عرضت الى (٥٠) راد لمدة (١.٩٨) دقيقة، اما الثالثة عرضت الى (١٥٠) راد لمدة (٥.٩٧) دقيقة. كرر تعريض المجموعتان الثانية والثالثة لنفس الجرعة والوقت في المدة (٣٠ و ٤٥ و ٩٠) يوم من التعرض الاول مع الاخذ بنظر الاعتبار بعد الجسم من الاشعة (١) م .

C . الفحوصات الوراثية الخلوية : اجريت الفحوصات الوراثية الخلوية على دم حيوانات التجربة في المدد (٣٠ و٤٥ و٩٠) يوم من التعرض للكوبلت –٦٠ ودرست المعايير الاتية :–

١. فحص النوى الصغيرة : Miscronuclei :– تم حساب النوى الصغيرة في (١٠٠٠) خلية ذات نواتين Binucleate CB cells ويستخرج منها المعدل وحسب طريقة (١٤) حيث زرعت نماذج الدم على الوسط الزرعي RPM1 1640 والحاوي (٥) مايكروغرام / مل من PHA حضن بدرجة حرارة ٣٧ °م وبعد (٤٤) ساعة من الحضن تم اضافة (٢٠) مايكروليتر من مادة Cyto-B ثم اعادة الحضن الى ٧٢ ساعة . وعوملت الخلايا بعد الترسيب بمحلول ٠.١ μ من KCl لمدة (٣) دقائق ورسبت بجهاز المنبذة × ٢٠٠ لمدة (١٠) دقائق وثبتت بالمثبت وغسلت لثلاث مرات متتالية بالمثبت مع معاملة الخلايا بهدوء وتجنب الرج وصبغت الشرائح بصبغة الكمزا .

٢. فحص الانحرافات الكرموسومية : حسب طريقة (١٥) ، تم حساب معدل (٥٠) خلية في الطور الاستوائي الاول حيث حضرت الكروموسومات بسحب نماذج الدم من الوريد الوداجي في انابيب اختبار تحوي على الهيبارين اضيف لهما (٠.٥) مللتر من الدم الى انابيب الزرع اعلاه وحضنت بدرجة (٣٧)° م لمدة (٧٢) ساعة) . اضيفت مادة الكولشسين (٠.١) ملتر قبل انتهاء الزرع بـ (٣) ساعات ثم حضنت ووضعت في جهاز المنبذة بسرعة (١٨٠٠) دورة / دقيقة لمدة (١٠) دقائق واخذت الخلايا واهمل الراشح . اجري عليها بعد ذلك الاختبارات الخاصة بالتحليلات الكرموسومية وكالاتي :

a . التبادل الكروماتيدي الشقيقي SCEs : احتسب SCEs في (٥٠) خلية ثم اخذ المعدل مع استخدام الانحراف القياسي عن المعدل .

b . معامل انقسام الخلايا MI = $\frac{\text{عدد الخلايا المنقسمة}}{\text{العدد الكلي للخلايا}} \times ١٠٠$

حسب طريقة (١٦) حيث عدد الخلايا المنقسمة/العدد الكلي للخلايا (٧٥٠ خلية)

c. معامل تضاعف الخلايا RI = $\frac{[(1 \times \% M1) + (2 \times \% M2) + (3 \times \% M3)]}{١٠٠}$

حسبت (١٠٠) خلية مارة في الاطوار الانقسامية الثلاثة M1 ، M2 ، , M3 وتم حساب المعامل حسب المعادلة اعلاه وحسب طريقة (١٧).

٣ . الفحوصات المرضية : – اجري الفحص المرضي العياني والمجهري على أعضاء الجرذان الداخلية في نهاية التجربة (٩٠) يوم ، حيث قتلت الجرذان بتخديرها بالايثر وفحصت كافة الاعضاء الداخلية كالكبد والرئة والكلية والطحال والدماغ لملاحظة التغيرات المرضية العيانية من حيث اللون والموقع والحجم والشفافية والملمس وفي حالة وجود أي تغيير مرضي عياني يؤخذ للفحص النسجي . حفظت الاعضاء الداخلية المذكورة في محلول الفورمالين الدارىء (١٠٪) لفترة لاتقل عن (٤٨) ساعة واتبعت طريقة (١٨) .

٤. التحليل الاحصائي : اجري الفحص الاحصائي (t- test) وتحت احتمال خطأ ($P<0.01$) .

النتائج والمناقشة

A . فحص النوى الصغيرة: يوضح جدول (١) معدلات النوى الصغيرة ، حيث تبين ان مجموعة التعرض (٥٠) راد اظهرت ارتفاعاً معنوياً $P<0.01$ في معدلاتها لممد (٣٠ و ٤٥ و ٩٠) يوماً مقارنة مع السيطرة ، شكل (١). وحينها عكست مجموعة التعرض (١٥٠) راد ارتفاعاً معنوياً كبيراً مقارنةً مع السيطرة ومجموعة (٥٠) راد. وهذا يتفق مع (١٩) حيث ان تاثير الاشعاع على الانسجة الحية يكون حسب حساسية الانسجة نفسها للاشعاع وحسب ما ورد في قانون Law Bergonic & Tibndean في عام (١٩٠٤) على ان الفعل البايولوجي للاشعاع يكون اعظم كلما كانت الفعالية الانقسامية للخلايا كاللمفية اعظم ودرجة تخصصها اقل ، كما وجد (٢٠) ان لهذه التقانة كمؤشر للجرع الاشعاعية عند تعرض الكائن لها حيث ان هناك علاقة خطية بين جرعة الاشعاع وعدد الانوية المستحثة وان تلك الانوية تتكون لدى تعرض الخلايا للاشعاع حيث تسبب في احداث تكسر كروموسومي والشظايا

الصغيرة من الكرموسومات تلتف حول نفسها و لاتندمج مع احدى النواتين اثناء انقسام الخلية لتشكل نوى صغيرة جداً .

جدول (١) تاثير الكوبلت في معدلات النوى الصغيرة في الخلايا اللمفية للجرذان

مدد التعرض (يوم)	المجموعة	معدلات توزيع النوى الصغيرة / خلية distribution cells				معدل الخلايا الحاوية على النوى الصغيرة	عدد النوى الصغيرة	معدل عدد الانوية الصغيرة في الخلية
		٠	١	٢	٣			
٣٠	السيطرة	٩٩٧.٥٠٠	٢.٥٠٠	٠	٠	٢.٥٠٠	٢.٥٠٠	٠.٠٠٢
	٥٠ راد	٩٩٢.٥٠٠	٧.٢٥٠	١	٠	٨.٢٥٠	٩.٢٥٠	٠.٠٠٩
	١٥٠ راد	٩٨٨.٧٥٠	٩.٠٠٠	٢.٢٥	٠	١١.٢٥٠	١٣.٥٠٠	٠.٠١٣
٤٥	السيطرة	٩٩٦.٢٥٠	٣.٧٥٠	٠	٠	٣.٧٥٠	٣.٧٥٠	٠.٠٠٣
	٥٠ راد	٩٩٨.٧٥٠	٧.٢٥٠	٢	٢	١١.٢٥٠	١١.٢٥٠	٠.١١٠
	١٥٠ راد	٩٨٩.٧٥٠	٩.٠٠٠	٥	٣	١٧.٠٠٠	١٧.٠٠٠	٠.١٧٠
١٢٠	السيطرة	٩٩٦.٧٥٠	٣.٢٥٠	٠	٠	٣.٢٥٠	٣.٢٥٠	٠.٠٠٣
	٥٠ راد	٩٩١.٧٥٠	٧.٢٥٠	٣	٢	١٢.٢٥٠	١٢.٢٥٠	٠.١٢٠
	١٥٠ راد	٩٨٠.٠٠٠	١٠.٠٠٠	٦	٤	٢٠.٠٠٠	٢٠.٠٠٠	٠.٢٠٠

*عدد الخلايا المفحوصة في ١٠٠٠ خلية ثنائية النواة * عدد حيوانات المجموعة الواحدة ٦ جرذان

B . فحص الانحرافات الكروموسومية: – يوضح جدول رقم (٢) النتائج التفصيلية للانحرافات الكروموسومية لمجاميع التعرض حيث شملت الانكسارات الحاصلة في الكروموسوم والكروموتايد ارتفاعاً معنوياً$P<0.01$ازداد بزيادة جرعة التعرض، كما وجد كرموسومات حلقية وذات مركزين وبلا مركز في الجرعة (١٥٠) راد للمدد (٣٠ و ٤٥ و١٢٠) يوماً من التعرض للكوبلت–٦٠، شكل (٢). أفاد (٢١) إن التعرض للاشعاع يؤدي كسراً في كلا الكروماتيد ثم التحامها في نفس الموقع او يشمل احد الكروماتيدين.

وغالباً ما تحدث الانحرافات في طور تضاعفDNA (S2) او طور ما قبل الانقسام الخيطي للخلية (G2) (٢٢).

جدول (٢): تاثير التعرض للكوبلت –٦٠ في استحثاث الانحرافات الكروموسومية في الخلايا اللمفية للجرذان .

مدة التعرض (يوم)	المجموعة	الانحرافات الكروموسومية				
		كسور breaks	حلقي Ring	ذو مركزين Dicenteric	بلا مركز Acentric	العدد الكلي
٣٠	٥٠ راد	٣.٥٠٠	١.٧٥٠	١.٢٥٠	٢.٠٠٠	٨.٥٠٠
	١٥٠ راد	١٣.٥٠٠	٣.٢٥٠	٣.٢٥٠	٥.٠٠٠	٢٥.٠٠٠
٤٥	٥٠ راد	٥.٠٠٠	١.٢٥٠	١.٢٥٠	٢.٠٠٠	٨.٠٠٠
	١٥٠ راد	١٨.٢٥٠	٣.٠٠٠	٥.٢٥٠	٣.٠٠٠	٢٩.٥٠٠
٩٠	٥٠ راد	٨.٠٠٠	٢.٠٠٠	١.٠٠٠	١.٠٠٠	١٢.٠٠٠
	١٥٠ راد	١٨.٠٠٠	٢.٧٥٠	٣.٢٥٠	٢.٠٠٠	٢٦.٠٠٠

* عدد الخلايا المفحوصة :٥٠٠ خلية * عدد حيوانات التجربة :٦ جرذان

C. التبادل الكروماتيدي الشقيقSCE ومعامل تضاعف الخلايا RI ومعامل انقسام الخلايا MI:- نتائج الجدول (٣) تشير لمستوى التبادل الكروماتيدي الشقيق والذي كان معنوياً $P<0.01$ في مجاميع التعرض (٥٠ و ١٥٠) راد مقارنة بمجموعة السيطرة وازداد بزيادة جرعة التعرض للمدد (٣٠ و ٤٥ و ٩٠) يوما من المعروف ان زيادة عدد SCE في الخلية الواحدة عن العدد الاعتيادي الموجود طبيعياً في خلايا انسجة الجسم تعطي مؤشراً ان تلك المادة مطفرة وخصوصاً في التراكيز العالية (٢٣). سجل تدهور في معدلات MI و RI في مجاميع التعرض وخصوصاً العالية حيث تبين ان معدل الخلايا في الحالة الطبيعية التي هي في الدورة الانقسامية الاولى MI بدأت تنخفض وازداد انخفاضها في M2 والمرحلة الانقسامية الثالثة M3 لتصل الى المستويات المذكورة (٢٤).

جدول (٣) تاثير التعرض للكوبلت –٦٠ على التبادل الكروماتيدي الشقيق SCEs ومعامل انقسام الخلايا MI ومعامل تضاعف الخلايا RI في الجرذان .

المدد (يوم)	المجموعة	SCEs	MI	RI
٣٠	السيطرة	٠.١٢٥ ± 0.020	11.700	٢.٦٩٠
	٥٠ راد	0.320 ± 0.050	٢.٩٤٠	١.٧٠٠
	١٥٠ راد	0.700 ± 0.056	٢.٠٠٠	١.٢١٠
٤٥	السيطرة	0.200 ± 0.175	١٠.٠٠٠	١.٩٢٥
	٥٠ راد	0.270 ± 0.030	١.٠٢٤	١.٥٠٠
	١٥٠ راد	0.800 ± 0.040	١.٠٠٠	١.١٠٠
١٢٠	السيطرة	0.183± 0.011	١١.٢٤٠	١.٦٥٠
	٥٠ راد	0.511 ± 0.032	١.٢٠٠	١.٥٣٠
	١٥٠ راد	0.710 ± 0.050	١.٠٠٢	١.٢٠٠

*عدد حيوانات المجموعة ٦ جرذان SCEs: X± SD *

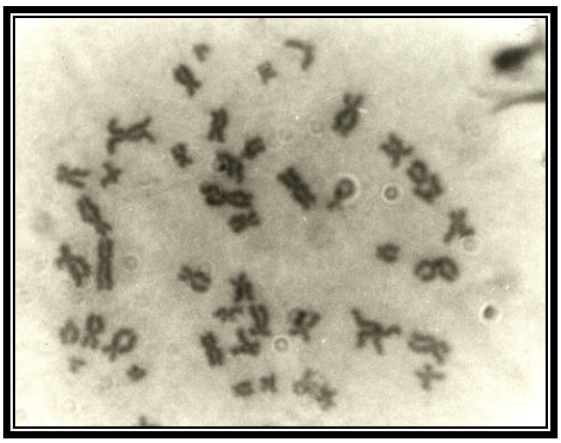
D. الفحص المرضي(العياني والنسجي):

اوضح الفحص العياني للاعضاء الداخلية لمجموعتي التعرض تضخم ملحوظ في الكبد والرئة والكلية ، كما عكست الرئتين والكبد في مجموعة التعرض (١٥٠) راد وجود اورام حبيبية متعددة الاحجام ممزقة المحفظة بيضوية الى دائرية الشكل بارزة على سطح الكبد والرئتين داكنة اللون صلبة الملمس.

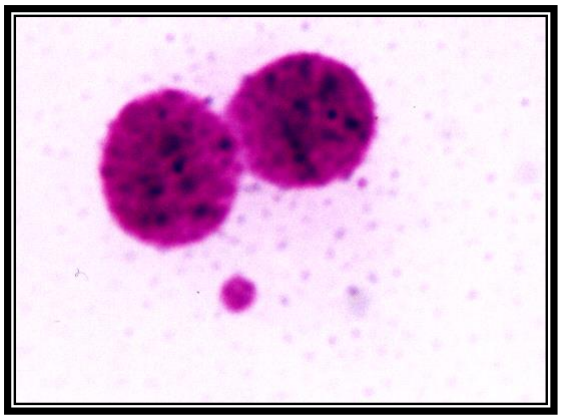
الفحص المجهري للكبد والرئتين لمجموعتي التعرض اظهر تغيرات مرضية زادت شدتها في مجموعة التعرض (١٥٠) راد تميزت بظهور السرطانة الغدية Adenocarcinoma مصدرها في الكبد من قنوات الصفراء Bile ducts ذو خلايا عمودية الشكل مع نواة مستطيلة او بيضوية في نهاية الخلية مع تليف stroma ، شكل (٣ و٤ و ٥).

لوحظ في الكلى توسع الكبيبات الكلوية وامتلائها بمواد بروتينية زجاجية مع زيادة خلوية للمة الشعيرية لتكاثر خلاياها. واظهرت المقاطع النسجية للطحال الشكل الانموذجي للاورام الحبيبية granuloma المتعددة وتميزت بمركز نخري محاط بانواع الخلايا وحيدة النواة معظمها اللمفية والبلاعم الكبيرة مع احاطتها بمحفظة، وعانى باقي نسيج الطحال من زيادة في اعداد الخلايا المفية الغير ناضجة والتي تميزت بكبر احجامها وذات الوان داكنة مع زيادة الاشكال الانشطارية Mitotic Figures، شكل (٦).

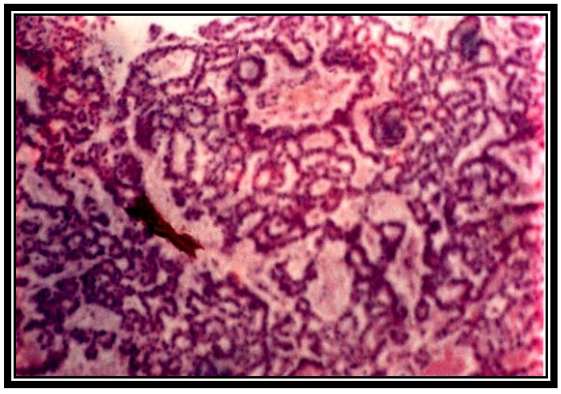
اما انسجة الدماغ فقد عكست زيادة في سمك اغشية السحايا واحتقان اوعيتها الدموية اضافة الى نخر الدماغ الشاملة المتميز بزيادة حمضة الهيولي وتفجية مع تغلظ النواة واختفاءها اضافة الى التكفف اللمفي الشديد حول الاوعية الدموية مع الخزب. هناك تاثيران للاشعة في الانسجة الحية احدهما مباشر خلال احداث تغيرات في المادة الوراثية في الخلايا أي الضرر بها مما يؤدي الى مردودات وراثية وهذا ما سجل لدينا في الدراسة الوراثية لجرع التعرض وبالاخص (١٥) راد. اما التاثير الاخر غير المباشر بتكون نواتج وسطية تتفاعل مع مكونات الخلية مما يؤدي الى تثبيطها بصورة غير مباشرة (٢٥) وحدوث الضرر الوظيفي والنسجي ومن ثم موت الكائن الحي ولكونها تسبب تأيناً للذرات الاخرى عند جعلها ذو تاثير كبيراً على الخلايا وانسجة الجسم (٢٦). كما سجل (٢٧) التعرض المتكرر وبجرع عالية لاشعة كاما المؤنة يؤدي الى طفرات وراثية متمثلة بالاورام السرطانية لنفوذها العميق في الانسجة والتي تسبب تاينها امتصاصها للطاقة .



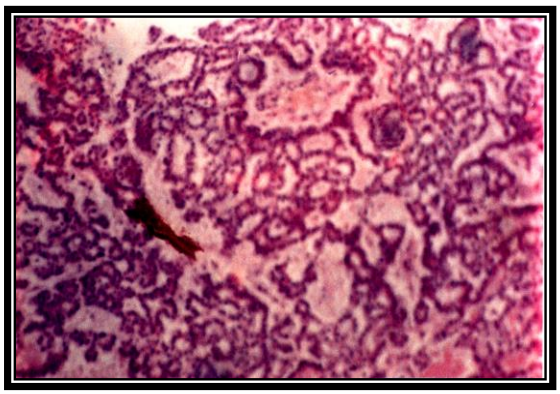
شكل(٢): مقطع في كروموسومات احدى جرذان التعرض (١٥٠) راد للمدة (٩٠) يوماً – توضح الانحرافات الكروموسومية نوع كسور.
(صبغة الكمزا ×١٠٠).



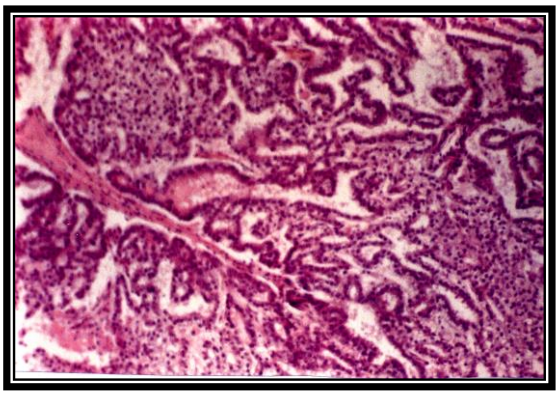
شكل (١) خلية لمفية في احدى الجرذان المعرضة للكوبلت-٦٠ للجرعة (٥٠)راد للمدة (٤٥) يوماً (صبغة الكمزا : ١٠٠ ×)



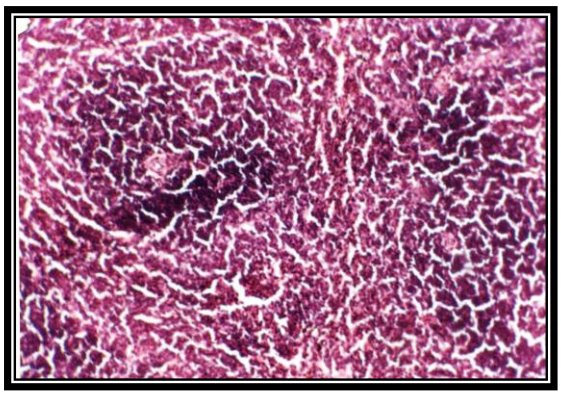
شكل(٣): مقطع نسجي في كبد جرذ للمجموعة (١٥٠) راد للمدة (٩٠) يوماً من التعرض للكوبلت- ٦٠ لاحظ السرطانة الغدية liveradenocarcinoma (صبغةH&E×١٠٠).



شكل(٤): مقطع نسجي في رئة جرذ للمجموعة (١٥٠) راد للمدة (٩٠) يوماً من التعرض للكوبلت- ٦٠ لاحظ اورام حبيبية متعددة بارزة على سطح الكبد لاحظ السرطانة الغدية Lung adeno carcinoma (صبغةH&E×١٠٠)



شكل(٥): مقطع نسجي في رئة جرذ للمجموعة (١٥٠) راد للمدة (٩٠) يوماً من التعرض للكوبلت- ٦٠ لاحظ السرطانة الغدية Lung adeno carcinoma (صبغةH&E×١٠٠)



شكل(٦): مقطع نسجي في طحال جرذ للمجموعة (١٥٠) راد للمدة (٩٠) يوماً من التعرض للكوبلت- ٦٠ لاحظ الشكل الانموذجي للورم الحبيبي المتعدد (صبغةH&E×١٠٠)

References

1. Jones and Hunt (1983). Veterinary Pathology , Lea and Febiger Philadelphia .
2. AL-Sultan and AL-Sadi(1999). Animal Pathology , College of Veterinary Medicine.
3. McEntee ,M.C.; Page, R.L.; Heidnner,G.L; Line,. M. and Thrall, D.E. (1991). Vet. Radiol. Raleigh, N.C.: American College of Veterinary Radiology. May June ,32 (3): 135 –139 .
4. Bateman,K.E.; Catton,P.A.; Pennock,P.W. and Kurth,S.A. (1994). Radiation therapy for the treatment of canine oral melonoma J. Vet. Intern. Med. Philadelphia,Pa:W.B. Saunders Company. July/ Aug. 8(4): 267 – 272.
5. Heidner, G.L.; Page,R.L.; McEntee,M.C.; Dodge,R.K. and Throll,D.E. (1991). Osteosarcoma in dogs treated with Co-60. American College of Veterinary Medicine. Nov./ Dec. 5 (6): 313 – 316.
6. Movesesijan,M.; Sokolic,A. and Mladenovic,Z.(1986). Studies on the Immunological Potentiality of Irradiated Echinococcous granulosus worms. Immnuization expirments in dog. Br. Vet.J. , 124 : 425-432.
7. Schillent,D.J.(2000).A comparative study of radiation in rodents. J. Nat. Cancer Inst.,15 ;1125.
8. King,A.; Sauer,K. and Keshmiri,U.J. (1999). A nalysis invivo of SCEs in bone marrow and lymphocyte. Mutat.Res., 90: 120-132.
9. Ghosh,B.;Taluke,K. and Shorma,A.(1991).Effect of culture media on spontaneous incidence of mitotic index , Chromosomal aberration,SCE and cell cycle in peripheral blood lymphocyte of male and female donors Res. Mutat.12:402-423.
10. Hung.C.C.; Tan,J.C.; Siriann,S. R. ; Pachole.P.D. and Chapman,V.M. (1990). Comparsion of base line sister chromotid exchange SCEs cyclo-phosphamid ethylnitrosourea induced SCE ,ENU, chromosomal aberration between peru and laboratory mice. Mut.Res. , 230: 93-100.
11. Lamberi,L. ; Ponzett,P.B. and Arditis,G. (1983). Cell Kinetic and sister chromatid exchange frequency in human lymphocyte. Mut.Res., 120: 193-199.
12. Boyes,B.G.; Rogers,C.G. ; Karpinsky,K. and Stapley ,R.(1990). A statistical evaluation of the reproducibility of micronucleus, sister chromatid exchange, thioguannine- vesistance assay in V79 cells exposed to ethyl methane sulfonate and 7,12- dimethly- benzen (a) anthracene. Mut.Res., 234: 81-89.
13. Obe,G.; Vogt,M. ; Madel,S. and Meller,W.(1982). Double blind study on the effect of Cigarette smoking. Mut.Res. ,22: 309-319.

14. Fenech,M. and Morley,A. (1985). Measurment of micronuclei in lymphocytes.Mut.Res., 147: 29-36.
15. Crossen,P.E.(1982). SCE in lymphocytes in "Sister chromatid exchange " Ed. Sandberg A.A. Alan,R.Liss Inc. New York USA. P. 175.
16. King,M.;Wild, K. and Eckardt,K.(1982). 5- Brdurd tablets with improved depot effect for analysis in vivo in bone marrow. Mut. Res. ,197: 117-129.
17. Schneider,E.L. and Lewis, J.(1982). Comparison of invivo and in vitro SCE induction .Mut.Res.,:85-90.
18. Luna,L.G. Manual of histological staining method of the Armed Forces institute of the pathology. 3rd .USA. Mcgrew Hill Book
19. Walter,J.; Miller,H. and Bonford,K. (1979). A short handbook of radiotherapy 4th ed. Churchill living stone.
20. Balasem,A.N. and Ali,A. S. (1991). Establishment of dose-response relationships between dose of Cs-137 x- rays and frequencies of micronuclei in human peripheral blood lymphocytes. Mut.Res.; 259: 133-138.
21. Mustafa,G.Natal,A.R. and Ali ,K.R. (1999). Induction of chromosomal aberration and sister chromatid exchanges in rat lymphocyte with oraganophosphorous insecticides.Mut.Res., 67: 280-292.
22. Wolff,S.(1982). Chromosomae aberrations sister chromatid exchanges and the lesions that produce them. In "sister " chromatid exchange, (S. Wolff Ed.)John Wiley & Sons , New York: 41-57.
23. Latt,S.A.; Allen,J.; Bloon,S.E.; Carrano,A.; Falke,E.; Kram,D.; Schneide, E.; Schreck,R.; Tice,R. Whitfield, B. and Wolff,S.(1987). Sister-chromatid exchange: A report of the gene-tox program. Mut.Res.;87: 17-62.
24. Wolff,R.D.(2003). Effect of radation on the genetic material of human periphral lymphocyte. Hum. Gent.; 60: 230- 248.
25. Thompson, R.C.A. and Kumaratilake ,L.M. (2002). Intraspecific variation in response to radiation.Mut.Res.; 90: 17-30.
26. Coggle,J.E.(1983). Biological effect of radiation International publication service Tayler and Francis. Inc. N.K.
27. .Zimmerman,A.Y.; Kern,R. and Yakodar,M.(2001). Carcinogenicity and toxicity of radiation in rats . Toxicol Appl. Pharmacol., 74: 225- 236.