



Effects of occupational exposure to radioactive beams on oxidative DNA damage in Radiography staff in Isfahan's public hospitals

Farhad Forouharmajd, Associate Professor- Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

Azam Salehi, Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

✉ **Karim Ebrahimpour**, (*Corresponding author), Assistant professor Isfahan University of Medical Sciences - Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. ebrahimpour@hlth.mui.ac.ir

Abstract

Background: Although ionizing radiation is very effective in medical science to diagnose and treat diseases, it can also be the cause of cancer. Ionizing radiation produces free radicals which lead to *oxidative DNA damage*. 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine level (8-OHdG), oxidative modification of Guanine excreted in the urine, is one of the most sensitive biomarkers of oxidative DNA cell damage. Formation of 8-OHdG in serum, leukocytes, and urine is often measured to investigate the level of oxidative stress in humans. This compound is a known carcinogenic substance that is conjugated to thymidine, and G: C → T: A conversion occurs. Increasing the base level of DNA oxidation is accompanied by various diseases including diabetes mellitus, cancer, degenerative diseases of the nervous system, and the renal terminal diseases. The level of oxidative DNA lesions depends on several factors, including environmental risks and genotoxic factors, smoking, alcohol consumption, intracellular and extracellular metabolism, and exposure to the ionizing radiation. Oxidative stress is thought to be associated with the tumor formation. Therefore, determining the level of 8-OHdG can determine the individual's susceptibility to develop a tumor and the resulting in emergence of cancer. Various methods have been developed for quantitative measurement of 8-OHdG in human DNA specimens, which include HPLC, GC/MS, the chemistry of immunity texture, and the ELISA test. The most sensitive method is to measure the FPG (the enzyme formamidopyrimidine glycolase DNA) and CG/MS. For some difficulties for determination of 8-hydroxy2-deoxyguanosine by chromatographic methods (such as expensive required instruments and difficult derivatization procedure), most researchers tend to determine 8-hydroxy2-deoxyguanosine with the available commercial ELISA kits. However, it is notable that rate of detection of GC/MS method for determination of 8-hydroxy2-deoxyguanosine is at least 10 times better than ELISA method and there is no possibility for false positive or negative results in GC/MS determination. One of the environmental factors that affect human physiology and DNA oxidative damage is ionizing radiation, which has been investigated and documented sufficiently during the past century and after nuclear incidents and inhalation of or exposure to ionizing radiation. Regardless of environmental exposure, artificial resources of ionizing radiation are used increasingly. Several studies have reported that the concentration of 8-OHdG increases with exposure to low-dose ionizing radiation. The findings of a study showed that levels of 8-OHdG in urine of individuals exposed to ionizing radiation were significantly higher than those who did not have exposure. The increasing use of radiological equipment, the development of radiological treatment strategies, and the increasing availability

Keywords

Radiologists

8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine

Oxidative DNA damage

Received: 2019-08-27

Accepted: 2020-07-14

of ionizing radiation for therapeutic purposes have increased concerns over the dose of radiation received by personnel. Despite the unique benefits of ionizing radiation, radiation protection is a potential source of potential risks such as cancer and genetic abnormalities. The risk of cancer caused by diagnostic radiology is estimated to be about 0.6% to 6%. It is estimated that the dose resulting from the annual diagnostic radiology tests is responsible for 1 and 4 cases of cancer in the population of Japan and the United States, respectively. Although the dose of most diagnostic radiological tests is very low, the rapid increase in the use of radiographic tests in the last two decades has caused a wave of concern about the carcinogenic effects of ionizing radiation. There are more than 3 million radiographic tests and more than 100,000 nuclear medicine tests in the world every day. Staff in the radiology and radiotherapy departments are exposed to the cumulative effects of ionizing radiation. The limit dose varies for radiology staff and the general public. In radiology staff, the effective annual dose is 20 millisieverts. Therefore, it is necessary to study the degree of cancer susceptibility through biological monitoring in radiologists. The purpose of this study was to measure the concentration of 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) in the urine of Radiography staff as a biomarker of oxidative damage and to compare it with the non-radiation workers group.

Methods: In this case-control study, 70 samples were selected in two groups. 35 staffs were various radiologists' groups working in Isfahan's public hospitals (including nuclear medicine, radiology, radiotherapy and CT scans) and 35 employees who had no exposure to radiation. Due to the limited number of radiography staff in the state hospitals of Isfahan, especially the radiotherapy and nuclear medicine groups, and the lack of cooperation between hospitals and private centers, the minimum considered number was 35 radiographers and 35 non-radiation workers. After coordinating with the management of the hospitals, informed consent was obtained from each of the participants. Initially, a checklist of participants' demographic information (gender, age, work experience, and type of occupational group) was prepared. The inclusion criteria to the study were investigated via a checklist for the radiographers and the non-radiation workers. When refusing urine, smoking, drinking tea and coffee during work shifts, drinking alcohol, take medication even a few days before sampling, suffer from acute and chronic diseases (such as cancer, diabetes, renal terminal diseases, degenerative diseases of the nervous system, hypertension, or any other known disease), as well as in the radiologist's group, if employed in a second job facing ionizing radiation, samples were removed from the study and selected personnel at the end of the shift, an urine sample was taken to determine the 8-OHdG concentration. The samples were extracted by SPE (solid-phase extraction) method and then the concentration of the substance was read by GC/MS device. The concentration of creatinine in the urine was measured in an approved medical laboratory using its commercial kit purchased from Sigma Diagnostics. Preparation and clean-up of urine samples were performed according to a previously described method with some modifications. Waters Oasis® HLB Vac cartridges (60 mg of packing material) were used for cleaning-up of urine samples. After each step of the clean-up process, the cartridges were entirely dried under vacuum to avoid cross-contamination and to maximize the required recovery. Each cartridge was only used to clean-up one urine sample. The analysis was performed on a quadruple Agilent GC-MS D: model 7890A (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) coupled to a mass selective detector model 5975C inert, equipped with a split/splitless injector. Quantification was performed at the selected ion monitoring (SIM) mode based on the selection of mass peaks with the highest intensity for 8OHdG to gain the highest possible sensitivity, (m/z 207). Finally, the data from the determination of 8-OHdG concentration were analyzed through SPSS software version 26. For this purpose, chi-square test was used to compare the qualitative data, and the independent t-test was used to determine

the concentration of 8-OHdG in the two groups. Then one-way Anova and tukey post hoc tests were applied to compare the concentration of 8-OHdG in different groups of radiographers.

Results: The results showed that the average concentration of 8-OHdG in radiologists' urine ($259/4 \pm 31.07$ ng/mg creatinine) has a significant difference with the average concentrations of this material in non-radiologists' urine ($141/1 \pm 21/8$ ng/mg creatinine) ($P=0.003$). Further analysis of the data showed that the mean concentration of 8-hydroxy-2-deoxy-guanosine in urine was also found in different groups of radiographers, as follows: One-way ANOVA showed that there was a significant difference in the mean concentration of 8-hydroxy-2-deoxy-guanosine in urine between different occupations ($P = 0.013$). The tukey post hoc test showed that the mean concentration of urine in people with nuclear medicine occupation was significantly higher than the ones with occupations such as radiotherapy ($P = 0.02$), radiology ($P = 0.014$). However, there were no significant differences between the nuclear medicine and CT scan ($P = 0.09$).

Conclusion: Several studies have reported that the concentration of 8-OHdG increases with exposure to low-dose ionizing radiation. The findings of a study showed that levels of 8-OHdG in urine of individuals exposed to ionizing radiation were significantly higher than those who did not have exposure. The results of this study, which was done for the first time in the country by using solid-phase extraction method for data extraction and then analyzing by GC/MS to determine 8-OHdG level in urine, indicated that Ionizing radiation has been affected in the increase of 8-OHdG level as a potential biomarker of oxidative DNA damage. Increasing the concentration of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in the urine of the nuclear medicine group indicates that with the higher the amount of radiation, the oxidative damage will be more. The dose received by staff working in the nuclear medicine group is higher than other workers due to work in the banned area (little distance of the technician from the source of radiation) than the rest of the staff. The higher the distance with the source, the lower the exposure. Any object between the technician and the source of radiation will reduce the amount of exposure, and as a general rule, if the object or matter between the technician and the source of the beam is denser, the better protection will be provided. Inevitably, compliance with the radiation safety principles by radiologists will reduce their radiation, which includes: reducing the exposure time to radiation, increasing the distance from the source, placing a protective shield between the person and the radiation source and protecting itself against radioactive contamination using appropriate clothing. Given the relation between oxidative stress and cancer, it seems that the consumption of antioxidants, such as vitamin E and C, and Beta-carotene is beneficial in preventing cancer. Also, the effect of exercise on oxidative stress has been investigated in some studies. Oxidative DNA damage in athletes is less than that of non-athletes. This may be due to the history of regular resistance exercises in bodybuilding athletes, and it is possible that antioxidant capacity in athletes may be developed due to regular exercises.

Conflicts of interest: None

Funding: Isfahan University of Medical Sciences

How to cite this article:

Farhad Forouharmajd, Azam Salehi, Karim Ebrahimpour. Effects of occupational exposure to radioactive beams on oxidative DNA damage in Radiography staff in Isfahan's public hospitals. *Iran Occupational Health*. 2020 (12 Dec);17:59.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence



تأثیر مواجهه شغلی با پرتوهای رادیواکتیو بر آسیب اکسیداتیو DNA در پرتوکاران شاغل در بیمارستان‌های دولتی شهر اصفهان

فرهاد فروهرمجد: دانشیار، گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
اعظم صالحی: گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
کریم ابراهیم‌پور: *نویسنده مسئول، استادیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران . ebrahimpour@hlth.mui.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: گرچه پرتو یونیزان در علوم پزشکی برای تشخیص و درمان بیماری‌ها بسیار مؤثر است، می‌تواند عامل سرطان نیز باشد. تابش اشعه یونیزان رادیوکارهای آزاد را تولید می‌کند که موجب آسیب اکسیداتیو سلولی DNA می‌شود. سطح ۸-OHdG - ۲-دئوکسی گوانوزین (8-OHdG)، فرآورده تعدیل اکسیداتیو گوانین که در ادرار دفع می‌شود، یکی از حساس‌ترین بیومارکرهای آسیب اکسیداتیو سلولی DNA است. افزایش فزاینده کاربرد تجهیزات رادیولوژیک، گسترش راهبردهای درمانی رادیولوژیک، و افزایش در دسترس قرار گرفتن استفاده از اشعه یونیزان برای اهداف درمانی، موجب افزایش نگرانی از دز اشعه دریافتی کارکنان شده است. بنابراین بررسی میزان استعداد ابتلا به سرطان از طریق پایش بیولوژیک در پرتوکاران ضرورت بسیاری دارد. مطالعه حاضر با هدف اندازه‌گیری سطح ۸-هیدروکسی ۲-دئوکسی گوانوزین (8-OHdG) در ادرار پرتوکاران، به‌عنوان بیومارکر آسیب اکسیداتیو، و مقایسه آن با گروه غیرپرتوکار انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه، مورد - شاهد ۷۰ نمونه در دو گروه جهت پژوهش انتخاب شدند: ۳۵ نفر از کارکنان گروه‌های مختلف پرتوکار شاغل در بیمارستان‌های دولتی شهر اصفهان (شامل پزشکی هسته‌ای، رادیولوژی، رادیوتراپی و سی تی اسکن) و ۳۵ نفر از کارمندیانی که هیچ گونه مواجهه‌ای با پرتو نداشتند. ابتدا بعد از جمع‌آوری اطلاعات دموگرافیک شرکت‌کنندگان، معیارهای ورود به مطالعه در هر دو گروه پرتوکار و غیرپرتوکار بررسی گردید. در صورت معانیت از دادن ادرار، مصرف سیگار، نوشیدن چای و قهوه در طول شیفت کاری، مصرف الکل، مصرف دارو حتی در چند روز قبل از نمونه‌گیری، ابتلا به بیماری‌های حاد و مزمن (از قبیل سرطان، دیابت، بیماری‌های ترمینال کلیوی، بیماری‌های دژنراتیو سیستم عصبی، فشارخون بالا و یا هر بیماری شناخته‌شده دیگر) و همچنین در گروه پرتوکار در صورت اشتغال در شغل دومی که مواجهه با پرتوهای یونیزان داشته باشند، نمونه‌ها از مطالعه خارج گردیدند و از پرسنلی که انتخاب شدند. سپس در پایان شیفت کاری، از هر دو گروه نمونه ادرار جهت تعیین غلظت 8-OHdG گرفته شد. نمونه‌ها به روش SPE (solid-phase extraction) استخراج شد و بعد از آن غلظت ماده مذکور با دستگاه GC/MS قرائت گردید. در نهایت داده‌های حاصل از تعیین غلظت 8-OHdG از طریق نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۶) تحلیل شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد میانگین غلظت 8-OHdG در ادرار پرتوکاران ($31/07 \pm 259/4$ نانوگرم بر میلی گرم کراتینین) با میانگین غلظت این ماده در ادرار غیرپرتوکاران ($21/8 \pm 141/1$ نانوگرم بر میلی گرم کراتینین) تفاوت معناداری داشت ($P = 0.003$).

نتیجه‌گیری: پرتو یونیزان برافزایش سطح 8-OHdG به‌عنوان بیومارکر بالقوه آسیب اکسیداتیو DNA تأثیر داشته است. بدیهی است رعایت اصول حفاظت پرتویی از سوی پرتوکاران که عبارت‌اند از: کاهش زمان مواجهه با پرتو، افزایش فاصله از منبع، قرار دادن سپر حفاظتی بین شخص و منبع پرتو و محافظت از خود در برابر آلودگی رادیواکتیو با استفاده از لباس و پوشش مناسب منجر به کاهش پرتوگیری آن‌ها خواهد شد. با توجه به ارتباط استرس اکسیداتیو و سرطان، به‌نظر می‌رسد مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها، مانند ویتامین E و C و بتاکاروتن، در پیشگیری از سرطان مفید است.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

شیوه استناد به این مقاله:

Farhad Forouharmajd, Azam Salehi, Karim Ebrahimpour. Effects of occupational exposure to radioactive beams on oxidative DNA damage in Radiography staff in Isfahan's public hospitals. Iran Occupational Health. 2020 (12 Dec);17:59.

مقدمه

استرس اکسیداتیو به عنوان مکانیسم سمیتی تعریف می شود که در آن گونه های اکسیژن فعال (ROS) به طور فعال تولید می شوند. سطح بیش از حد ROS باعث اختلال در ماکرومول های سلولی و آسیب های اساسی در عملکرد بیولوژیکی می شود. (۱) این ماده می تواند مستقیماً با DNA وارد واکنش شود و ضایعات مختلفی در ملکول DNA ایجاد کند. یکی از ضایعات DNA که زیاد بررسی شده است، ۸-هیدروکسی ۲-دئوکسی گوانوزین (8-OHdG) است. این ماده به مقدار نسبتاً زیاد در بدن انسان تولید می شود. (۲) سطح ضایعات اکسیداتیو DNA به عوامل متعددی از جمله ریسک های محیطی و عوامل ژنوتوکسیک، کشیدن سیگار، مصرف الکل، متابولیسم داخل و خارج سلولی و قرار گرفتن در معرض اشعه یونیزان وابسته است. (۳)

اشعه یونیزان اشکال مختلفی دارد: آلفا، بتا، ذرات نوترون، گاما و اشعه ایکس. همه این اشعه ها موجب ناپایداری اتم ها می شود و انرژی جرم ذره را تغییر می دهد و تا زمان رسیدن به ثبات، رفتار متفاوتی از خود نشان می دهد. (۴)

تابش اشعه یونیزان می تواند رادیکال های آزاد را تولید کند که موجب آسیب اکسیداتیو سلولی DNA و همیاری با وقوع سرطان می شود. (۵) همچنین مطالعات سیتوتونیک نشان داده اند قرار گرفتن در معرض سطح پایین تشعشعات یونیزان به مدت طولانی، فراوانی ناهنجاری های کروموزومی را افزایش می دهد. (۶-۷)

۸-هیدروکسی ۲-دئوکسی گوانوزین (8-OHdG) یکی از اصلی ترین محصولات بازی تعدیل شده DNA است. تشکیل 8-OHdG در سرم، لکوسیت ها و ادرار غالباً برای بررسی سطح استرس اکسیداتیو در انسان اندازه گیری می شود. این ترکیب یک ماده سرطان زای شناخته شده است که با تیمدین جفت می شود و تبدیل $G:C \rightarrow T:A$ رخ می دهد. تصور بر این است که افزایش استرس اکسیداتیو با تشکیل تومور همراه است. (۸) افزایش سطح پایه اکسیداسیون DNA با بیماری های مختلفی از جمله دیابت ملیتوس، سرطان، بیماری دژنراتیو سیستم عصبی و بیماری های ترمینال کلیوی همراه است. روش های گوناگونی برای اندازه گیری کمی 8-OHdG در نمونه های DNA انسانی ایجاد شده که شامل GC/MS، HPLC، بافت شیمی ایمنی و تست ELISA است. (۳) حساس ترین روش

اندازه گیری FPG (آنزیم فورمامیدوپیریمیدین گلیکولاز DNA) و GC/MS است. (۹) هرچند روش های دیگری برای اندازه گیری سطح 8-OHdG در مایعات زیستی انسان از قبیل ادرار، سرم، پلاسما و خون وجود دارد. اسپکترومتری جرمی (MS)، تشخیص الکتروشیمیایی (EC) و روش های مبتنی بر ELISA برای تجزیه ضایعات ناشی از تخریب DNA از ادرار استفاده می شود. (۱۰) به دلیل برخی مشکلات در تعیین ۸-هیدروکسی ۲-دئوکسی گوانوزین با روش های کروماتوگرافی (مانند ابزارهای گران قیمت مورد نیاز و روش مشتق سازی دشوار)، اکثر محققان به تعیین ۸-هیدروکسی ۲-دئوکسی گوانوزین با کیت های تجاری ELISA تمایل دارند. اما قابل توجه است که میزان تشخیص روش GC/MS برای تعیین ۸-هیدروکسی ۲-دئوکسی گوانوزین حداقل ده برابر بهتر از روش ELISA است و امکان تعیین نتایج مثبت یا منفی کاذب در تعیین GC/MS وجود ندارد. (۱۱)

با وجود منافع منحصر به فرد پرتوهای یونیزان، از دیدگاه حفاظت در برابر پرتو، منشأ خطرات بالقوه ای مانند سرطان و ناهنجاری های ژنتیکی هستند. ریسک سرطان ناشی از رادیولوژی تشخیصی در حدود ۰/۶٪ تا ۳/۳٪ برآورد می شود. تخمین زده می شود که دز ناشی از آزمون های رادیولوژی تشخیصی سالیانه مسئول ۷۵۸۷ و ۵۶۹۵ مورد سرطان به ترتیب در جمعیت ژاپن و ایالات متحده امریکا است. اگرچه دز بیشتر آزمون های رادیولوژیکی تشخیصی بسیار پایین است، افزایش سریع استفاده از آزمون های پرتونگاری در دو دهه گذشته موجی از نگرانی ها را درباره اثرات سرطان زای پرتوهای یونیزان ایجاد کرده است. روزانه بیش از ۱۰۰،۰۰۰،۰۰۰ آزمون پرتونگاری و بیش از ۱۰۰،۰۰۰،۰۰۰ آزمون پزشکی هسته ای در دنیا انجام می شود. (۱۲) کارکنان بخش های رادیولوژی و پرتودرمانی در معرض اثر جمعی اشعه یونیزان هستند. (۱۳)

دز مجاز برای کارکنان رادیولوژی و عموم مردم متفاوت است. در کارکنان رادیولوژی دز مؤثر سالیانه ۲۰ میلی سیورت است. (۱۴) از آنجایی که پرتوکاران به خصوص کارکنان شاغل در بخش های رادیولوژی تشخیصی و پرتودرمانی بیشترین تماس و دوز جمعی اشعه یونیزان را دارند، بررسی میزان استعداد ابتلا به سرطان شغلی آن ها موجبات برآورد ریسک شغلی این افراد را فراهم می آورد که از اهمیت زیادی، به ویژه به جهت بهداشت شغلی در کشور، برخوردار است.

بنابراین مطالعه حاضر با هدف اندازه‌گیری سطح 8-OHdG ادرار کارکنان پرتوکاران به‌عنوان بیومارکر آسیب اکسیداتیو به‌وسیله روش GC / MS برای اولین بار در کشور و مقایسه آن با گروه غیرپرتوکار انجام شد.

روش بررسی

در این پژوهش، مورد - شاهد تعداد ۷۰ نمونه در دو گروه انتخاب شدند: ۳۵ نفر از کارکنان گروه‌های مختلف پرتوکار شاغل در ۴ بیمارستان دولتی شهر اصفهان شامل گروه پزشکی هسته‌ای (۶ نفر)، رادیوتراپی (۸ نفر)، رادیولوژی (۱۰ نفر) و سی تی اسکن (۱۱ نفر) به‌عنوان گروه مورد (گروهی که در معرض انواع پرتوهای یونیزان قرار داشتند) و ۳۵ نفر کارکنان غیرپرتوکار از بین کارمندان دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به‌عنوان گروه کنترل (گروهی که هیچ گونه مواجهه‌ای با پرتو یونیزان نداشتند) انتخاب شدند. ابتدا با مراجعه به معاونت درمان دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، از بین کل بیمارستان‌های موجود در اصفهان، بیمارستان‌ها و مراکز درمانی که دارای واحدهای پرتونگاری بودند، انتخاب شدند. سپس با مراجعه به مراکز منتخب، براساس چک‌لیست مربوط به معیارهای ورود، افراد مورد نظر از هر دو گروه غیرپرتوکار (کارکنان عادی که هیچ گونه مواجهه‌ای با پرتو یونیزان نداشتند) و پرتوکار انتخاب گردیدند. درمورد گروه غیرپرتوکار، افرادی در نظر گرفته شدند که بیشترین تطابق را با گروه پرتوکار داشتند (از نظر سن، جنس و...). پس از انتخاب افراد، زمان نمونه‌گیری با آن‌ها از لحاظ شیفت کاری هماهنگ شد و جلسه آموزشی برای هر گروه، قبل از اقدام به نمونه‌گیری، برگزار گردید. حجم نمونه نیز با توجه به فرمول زیر (تعیین حداقل حجم نمونه) و رفرنس موجود محاسبه شد. (۱۵)

$$n = \frac{(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 (\sigma_1^2 + \sigma_2^2)}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

پس از هماهنگی با مدیریت بیمارستان‌ها، رضایت‌نامه آگاهانه با کد اخلاق IR.MUI.REC.1396.3.293 از هر یک از شرکت‌کنندگان گرفته شد. ابتدا توسط یک چک‌لیست اطلاعات دموگرافیک شرکت‌کنندگان شامل (جنس، سن، سابقه کار و نوع گروه شغلی) جمع‌آوری گردید. همچنین معیارهای ورود به مطالعه در هر دو گروه پرتوکار و غیرپرتوکار بررسی شد. در صورت ممانعت از

دادن ادرار، مصرف سیگار، نوشیدن چای و قهوه در طول شیفت کاری، مصرف الکل، مصرف دارو حتی در چند روز قبل از نمونه‌گیری، ابتلا به بیماری‌های حاد و مزمن (از قبیل سرطان، دیابت، بیماری‌های ترمینال کلیوی، بیماری‌های دژنراتیو سیستم عصبی، فشارخون بالا و یا هر بیماری شناخته‌شده دیگر) و همچنین در گروه پرتوکار در صورت اشتغال در شغل دومی که مواجهه با پرتوهای یونیزان داشته باشند، نمونه‌ها از مطالعه خارج گردیدند و از پرسنلی که انتخاب شدند. در پایان شیفت کاری، نمونه‌گیری ادرار انجام شد. نمونه‌های ادرار، بر روی یخ، به آزمایشگاه انتقال داده شد. ۲ سی‌سی از هر نمونه جهت تعیین غلظت کراتینین جدا گردید و به آزمایشگاه مورد نظر فرستاده شد (مرحله ۲-۲) و بقیه برای انجام مراحل آزمایش داخل فریزر (-۸۰ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد (مراحل ۲-۳ و ۲-۴).

از محدودیت‌ها و مشکلات اجرای این پژوهش می‌توان به این موارد اشاره کرد: محدودیت در تعداد پرتوکاران موجود در بیمارستان‌های دولتی شهر اصفهان به‌خصوص گروه‌های رادیوتراپی و پزشکی هسته‌ای، عدم همکاری بیمارستان‌ها و مراکز خصوصی، نبود برخی دستگاه‌های لازم از جمله منیفلد برای روش استخراج فاز جامد و دستگاه فریز درایر جهت خشک کردن نمونه‌ها در دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و زمان‌بر بودن و اتلاف وقت پژوهش جهت تهیه مواد شیمیایی و کارتریج‌های لازم به‌دلیل تحریم‌های موجود در کشور.

مواد

استاندارد 8-hydroxy-2-deoxyguanosine و مشتق‌ساز (N-methyl-N-(trimethylsilyl) (trifluoroacetamide, MSTFA) از شرکت سیگما Sigma Co. (St. Louis, MO, USA) خریداری شد. محلول‌های مخصوص HPLC و GC شامل متانول و اسید فرمیک (۹۸٪) از شرکت MERC تهیه گردید.

سنجش کراتینین ادرار

غلظت کراتینین ادرار با استفاده از کیت تجاری خریداری‌شده از سیگما (St. Louis, MO, USA) در یک آزمایشگاه طبی مورد تأیید طبق روش Slot اندازه‌گیری شد. (۱۶)

آماده‌سازی نمونه‌ها

آماده‌سازی و تمیز کردن نمونه‌های ادرار براساس روشی که قبلاً اجرا شده است، با اندک تغییرات انجام شد. (۱۷) ابتدا نمونه‌های ادرار با اسید فرمیک (v/v, ۱:۱۰) اسیدی‌شده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شدند و بعد با سرعت ۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. کارتریج‌های Waters Oasis® HLB (بسته ۶۰ میلی گرم) برای جداسازی و تصفیه استفاده شدند. کارتریج ابتدا با ۵ میلی لیتر متانول و سپس ۸ میلی لیتر اسید فرمیک ۲۰ mM (PH=۲/۷۵) تیمار شد. ۵ میلی لیتر از هر نمونه ادراری که سانتریفیوژ گردید، داخل هر کارتریج ریخته شد و نمونه با دبی ml/min ۱ از داخل کارتریج عبور کرد. بعد از آن ۵ میلی لیتر از اسید فرمیک ۲۰ mM به هر کارتریج اضافه گردید و با همان سرعت عبور داده شد. سپس در پایان محلول نهایی شامل ۵ میلی لیتر متانول ۱۷/۵٪ (v/v) در اسید فرمیک برای جداسازی 8-OHdG به هر کارتریج اضافه گردید.

بعد از مراحل جداسازی و تصفیه برای جلوگیری از آلودگی هم‌زمان و بهینه‌سازی، کارتریج‌ها تحت خلأ کاملاً خشک شدند. بدین منظور ابتدا مقادیر جمع‌آوری‌شده 8-OHdG در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منجمد و با دستگاه خشک‌کن منجمدساز (operon Spanish, FDU_8612, company) خشک شدند. هر کارتریج برای جداسازی و تصفیه یک نمونه ادرار مورد استفاده قرار گرفت. در ادامه به هریک از نمونه‌های خشک‌شده ۵۰ μl مشتق‌ساز (Acetonitrile/MSTFA, 1:1, v/v) اضافه شد و نمونه‌ها داخل گرم‌خانه به مدت ۱ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. ۲ μl نمونه جداسازی‌شده برای تزریق به دستگاه GC-MS آماده گردید.

آنالیز با GC-MS

آنالیز 8-OHdG با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) مجهز به آشکارساز طیف‌سنج جرمی مدل 7890A و اینجکتور مدل 5975C انجام شد. هلیوم با درصد خلوص ۹۹/۹۹٪ به عنوان گاز حامل با دبی ۲ ml/min استفاده شد. همچنین از ستون مدل DB-5MS جهت آنالیزها استفاده گردید که مشخصات آن بدین شرح است طول ستون ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر. شرایط دمایی دستگاه GC/MS نیز از این قرار است:

دمای آون نگهداری دمای ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه و در نهایت افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد با ۱۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه به مدت ۴ دقیقه، دمای اینجکتور ۳۲۰ درجه سانتی‌گراد و روش تزریق Split (Split ratio: 2:1) بود. به منظور افزایش حساسیت و دقت روش آنالیز، از مد SIM (Selected Ion Monitoring) براساس انتخاب جرم با فراوانی بیشتر (۲۰۷ m/z) استفاده شد. (۱۸)

تحلیل داده‌ها

داده‌های حاصل از چک‌لیست دموگرافیک و همچنین نتایج غلظت 8-OHdG در ادرار هر دو گروه از طریق نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۶) مورد تحلیل قرار گرفت. داده‌های کیفی براساس تعداد و درصد بیان شد و داده‌های کمی از نظر میانگین، انحراف استاندارد و رنج بیان شد. رنج جهت داده‌های سن و سابقه کاری مورد استفاده قرار گرفت. نرمالیتی داده‌های کمی (اطلاعات مربوط به سن، سابقه کاری و میانگین غلظت 8-OHdG) با آزمون Kolmogorov-Smirnov بررسی شد که نشان داد توزیع (سن، سابقه کار و غلظت 8-OHdG) نرمال است. به همین جهت از آزمون کای اسکور برای مقایسه داده‌های کیفی بین دو گروه استفاده شد. و از آزمون تی مستقل برای مقایسه میانگین غلظت 8-OHdG در دو گروه و مقایسه داده‌های کمی (سن و سابقه کار) بین دو گروه به کار گرفته شد.

سپس به منظور مقایسه میانگین غلظت در گروه‌های مختلف پرتوکار، آزمون‌های one-way Anova و tukey post hoc استفاده شد.

یافته‌ها

دامنه سنی در گروه پرتوکار از ۲۶ تا ۵۶ و در گروه غیرپرتوکار از ۲۹ تا ۵۵ سال بود. آزمون کای اسکور نشان داد توزیع فراوانی جنس بین دو گروه تفاوت معنادار نداشت (P = ۰/۴۷). آزمون تی مستقل نشانگر آن بود که میانگین سن (P = ۰/۵۹) و سابقه کار (P = ۰/۸۶) بین دو گروه اختلاف معنادار نداشت. نتایج حاصل از بررسی داده‌های دموگرافیک هر دو گروه پرتوکار و غیرپرتوکار شامل (جنس، سن و سابقه کار افراد) در جدول ۱ آمده است.

با بررسی داده‌های حاصل از آنالیز نمونه‌های ادرار، نتایج

جدول ۱- داده‌های دموگرافیک مورد بررسی در دو گروه پرتوکار و غیرپرتوکار

متغیر	گروه پرتوکار (تعداد = ۳۵)	گروه غیرپرتوکار (تعداد = ۳۵)
سن (سال)		
میانگین $\pm$ انحراف معیار	۴۰/۶ $\pm$ ۸/۶	۴۱/۶ $\pm$ ۶/۷
رنج	۵۶-۲۶	۵۵-۲۹
جنس		
مرد	۱۹ (۵۴/۳٪)	۲۲ (۶۲/۹٪)
زن	۱۶ (۴۵/۷٪)	۱۳ (۳۷/۱٪)
سابقه کاری		
میانگین $\pm$ انحراف معیار	۱۵/۸ $\pm$ ۸/۶	۱۶/۱ $\pm$ ۷/۵
رنج	۲۹-۳	۳۰-۲

جدول ۲- میانگین غلظت ۸- هیدروکسی ۲- دئوکسی گوانوزین در ادرار در دو گروه پرتوکار و غیرپرتوکار

گروه	میانگین $\pm$ انحراف معیار (نانوگرم بر میلی گرم کراتینین)	P-value
گروه پرتوکار	۲۵۹/۴ $\pm$ ۳۱/۰۷	۰.۰۰۳*
گروه غیرپرتوکار	۱۴۱/۱ $\pm$ ۲۱/۸	

*: ارتباط معنادار است.

زیر برای دو گروه پرتوکار و غیرپرتوکار به دست آمد: همان‌طور که در جدول ۲ آمده است، آزمون تی مستقل نشان داد میانگین غلظت ۸- هیدروکسی ۲- دئوکسی گوانوزین در ادرار در گروه پرتوکار به‌طور معناداری بیشتر از گروه غیرپرتوکار بود ($P = ۰/۰۰۳$).

با تحلیل بیشتر داده‌ها میانگین غلظت ۸- هیدروکسی ۲- دئوکسی گوانوزین در ادرار گروه‌های مختلف پرتوکار نیز به دست آمد:

آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه مشخص کرد در پرتوکاران میانگین غلظت ۸- هیدروکسی ۲- دئوکسی گوانوزین در ادرار بین مشاغل مختلف تفاوت معنادار داشت ($P = ۰/۰۱۳$). با بررسی بیشتر توسط آزمون *tukey post hoc* نتایج حاکی از آن بود که بین میانگین غلظت ۸- هیدروکسی ۲- دئوکسی گوانوزین در ادرار گروه

پزشکی هسته‌ای با گروه رادیوتراپی ($P = ۰/۰۲$) و رادیولوژی ($P = ۰/۰۱۴$) اختلاف معناداری داشت؛ اما با

گروه

سی تی اسکن اختلاف معنادار نداشت ($P = ۰/۰۹$). نتایج در جدول ۳ آمده است.

بحث

مطالعات سیتوتونیک نشان داده‌اند قرار گرفتن در معرض سطح پایین تشعشعات یونیزان به مدت طولانی فراوانی ناهنجاری‌های کروموزومی را افزایش می‌دهد. (۶) کارکنان پرتوکار بیمارستان‌ها در معرض دزهای پایین اشعه یونیزان قرار دارند. (۱۹) 8-OHdG یکی از اشکال غالب ضایعات اکسیداتیو ناشی از رادیکال آزاد است که برای تخمین آسیب DNA استفاده می‌شود. چندین مطالعه گزارش کرده‌اند که غلظت 8-OHdG بر اثر مواجهه با پرتوهای یونیزان با دز پایین افزایش می‌یابد. یافته‌های یک پژوهش نشان داد سطح 8-OHdG در ادرار افرادی که با پرتوهای یونیزان مواجهه داشته‌اند، به‌طور معناداری بیشتر از افرادی است که با این پرتوها مواجهه نداشتند. (۲۰)

جدول ۳- میانگین غلظت 8-OHdG، هیدروکسی ۲- دئوکسی گوانوزین در ادرار گروه‌های مختلف پرتوکار (پزشکی هسته‌ای، رادیوتراپی، رادیولوژی و سی تی اسکن)

پزشکی هسته‌ای (تعداد = ۶)	رادیوتراپی (تعداد = ۸)	رادیولوژی (تعداد = ۱۰)	سی تی اسکن (تعداد = ۱۱)
8-OHdG غلظت (نانوگرم بر میلی گرم کراتینین) میانگین ± انحراف معیار			
۴۶۲/۱۵ ± ۹۱/۶	۱۸۹/۹ ± ۳۹/۷	۱۹۰/۳۷ ± ۴۲/۵	۲۶۲/۰۴ ± ۵۳/۴
P ₁	۰/۰۲*	۰/۰۱۴*	۰/۰۹
P ₂	۱/۰۰۰		

P-value: P₁ جهت مقایسه غلظت بین گروه پزشکی هسته‌ای با رادیولوژی، رادیوتراپی و سی تی اسکنP-value: P₂ جهت مقایسه غلظت بین گروه رادیولوژی و رادیوتراپی

*P < 0.05، ارتباط معنادار است.

به‌عنوان یکی از بیومارکرهای اکسیداتیو در بدن پرتوکاران، تأثیر داشته است. همچنین در این مطالعه مشخص گردید که غلظت ادراری 8-OHdG در گروه پزشکی هسته‌ای از گروه رادیوتراپی و رادیولوژی بالاتر است. در پژوهشی که یوگائو و همکاران انجام دادند، نیز اختلاف سطح سرمی 8-OHdG بین گروه پزشکی هسته‌ای و رادیولوژی تشخیصی معنادار بود؛ اما اختلاف معناداری بین گروه رادیوتراپی و رادیولوژی تشخیصی و همچنین گروه رادیوتراپی و پزشکی هسته‌ای مشاهده نشد. (۲۲)

دز دریافتی کارکنان در گروه پزشکی هسته‌ای، به‌علت کار در منطقه ممنوعه (فاصله کم تکنسین با منبع پرتو) بیشتر از سایر کارکنان است. (۲۳)

برطبق اصل ALARA، رابطه بین دز و مخاطره به‌شدت خطی و بدون آستانه است؛ لذا هیچ دز اشعه‌ای که بتوان آن را مطلقاً بی‌خطر نامید، وجود ندارد که حاکی از اهمیت حفاظت در برابر پرتوهای یونیزان است. (۱۲)

بدیهی است رعایت اصول حفاظت پرتویی از سوی پرتوکاران که عبارت‌اند از: ۱. کاهش زمان مواجهه با پرتو، ۲. افزایش فاصله از منبع، ۳. قرار دادن سپر حفاظتی بین شخص و منبع پرتو، ۴. محافظت از خود در برابر آلودگی رادیواکتیو با استفاده از لباس و پوشش مناسب، منجر به کاهش پرتوگیری آن‌ها خواهد شد. (۲۴) با توجه به ارتباط استرس اکسیداتیو و سرطان، به‌نظر می‌رسد مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها مانند ویتامین E و C و بتاکاروتن در پیشگیری از سرطان مفید است. (۲۵)

درمورد تأثیر پرتوهای یونیزان در سطح 8-OHdG، کاتو و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای به بررسی استفاده از 8-OHdG، به‌عنوان بیومارکر حساس آسیب سلولی ناشی از اشعه، در کودکان تحت کاتتریزاسیون قلبی پرداختند. آن‌ها ۱۰ بچه سالم و ۹ بچه بیمار را بررسی کردند. میانگین 8-OHdG ادرار این بچه‌ها در طی ۲۴ تا ۴۸ ساعت پس از دوره درمانی اندازه‌گیری شد. آن‌ها ابراز کردند که سطح 8-OHdG ادرار می‌تواند یک بیومارکر مفید برای تعیین میزان آسیب سلولی DNA بر اثر اشعه در بچه‌ها باشد. (۵) درمطالعه‌ای که شهیدی و همکارانش جهت تعیین غلظت 8-OHdG در ادرار گروه پرتوکار و غیرپرتوکار با استفاده از متد ELISA انجام دادند، مشخص گردید که سطح 8-OHdG در ادرار گروه پرتوکار به‌طور معناداری بالاتر از سطح این ماده در ادرار گروه غیرپرتوکار است. (۲۱) نتایج این مطالعه که با استفاده از روش GC/MS انجام شد، نیز حاکی از آن بود که غلظت 8-OHdG در ادرار گروه پرتوکار (۳۱/۰۷ ± ۲۵۹/۴ نانوگرم بر میلی‌گرم کراتینین) با غلظت این ماده در ادرار گروه غیرپرتوکار (۲۱/۸ ± ۱۴۱/۱ نانوگرم بر میلی‌گرم کراتینین) تفاوت معناداری دارد (P = ۰/۰۰۳). براساس نتایج به‌دست‌آمده از این روش و با توجه به مشابهت دو گروه پرتوکار و غیرپرتوکار از نظر جنس، سن، سابقه کاری و حذف هر گونه عامل در هر دو گروه که مغایرت با معیارهای ورود به مطالعه داشته است، می‌توان گفت نتیجه به‌دست‌آمده مؤید آن است که پرتو یونیزان بر افزایش سطح 8-OHdG،

7. Nowak B, Jankowski J. Occupational exposure in operational radiology. *Pol J Occup Med Environ Health* 1991; 4(2): 169-174
8. Hallberg LM, Ward JB, Hernandez C, Ameredes BT, Wickliffe JK, Committee HHR. Part Assessment of genotoxicity and oxidative damage in rats after chronic exposure to new-technology diesel exhaust in the ACES bioassay. *Res Rep Health Eff Inst* 2015; 184: 87-105.
9. Collins AR, Oscoz AA, Brunborg G, Gaivao I, Giovannelli L, Kruszewski M, et al. The comet assay: topical issues. *Mutagenesis* 2008; 23(3): 143-51.
10. Evans MD, Olinski R, Loft S, Cooke MS. Toward consensus in the analysis of urinary 8-oxo-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine as a noninvasive biomarker of oxidative stress. *The FASEB J* 2010; 24(4): 1249-60.
11. Mei S, Yao Q, Wu C, Xu G. Determination of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine by two approaches-capillary electrophoresis and GC/MS: an assay for in vivo oxidative DNA damage in cancer patients. *J Chromatogr B* 2005; 827(1): 83-7.
12. Karami V, Zabihzadeh M. Radiation protection in diagnostic X-ray imaging departments in Iran: a systematic review of published articles. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2016; 26(135): 175-88.
13. Betlazar C, Middleton RJ, Banati RB, Liu G-J. The impact of high and low dose ionising radiation on the central nervous system. *Redox Biol* 2016; 9: 144-56.
14. Euronuclear. Radiation exposure, dose limits, Germany. Geneva: EU, European nuclear society; 2017.
15. H. A. Jeng, M. R. Chao, R. N. Li and et al, "Measurement of 8-Oxo-7,8-Dihydro-2'-Deoxyguanosine in Human Semen and Urine by Isotope-Dilution Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry with On-Line Solid-Phase Extraction: Comparison with a Commercial Available Enzyme-Linked Immunosorbent Assay," *Andrology*, vol. S1, no. 100, pp. 1-7, 2015.
16. Slot C. Plasma creatinine determination a new and specific Jaffe reaction method. *Scand J Clin Lab Invest* 1965; 17(4): 381-7.
17. Hai-Shu L, Jenner AM, Ong CN, Huang SH, Whiteman M, Halliwell B. A high-throughput and sensitive methodology for the quantification of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine: measurement with gas chromatography-mass spectrometry after single solid-phase extraction. *Biochem J* 2004; 380(2): 541-8.
18. Lim KS, Jenner A, Halliwell B. Quantitative gas chromatography mass spectrometric analysis of 2'-deoxyinosine in tissue DNA. *Nat Protoc* 2006; 1(4): 1995.
19. Maffei F, Angelini S, Forti GC, Violante FS, Lodi V, Mattioli S, et al. Spectrum of chromosomal aberrations

نتیجه گیری

در این مطالعه، با توجه به اینکه عوامل مداخله گر حذف شده بودند، نتایج نشان داد پرتو یونیزان بر افزایش سطح 8-OHdG، به عنوان بیومارکر بالقوه آسیب اکسیداتیو DNA تأثیر داشته است. رعایت اصول حفاظت پرتویی از سوی پرتوکاران منجر به کاهش پرتوگیری و موجب کاهش سطح استرس اکسیداتیو و در نتیجه کاهش اثرات احتمالی پرتو می شود.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر قسمتی از نتایج پایان نامه دانشجویی دوره کارشناسی ارشد به شماره ۳۹۶۲۹۳ و با حمایت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بوده است. بدین وسیله از مدیریت محترم بیمارستان های شهید چمران، الزهرا، آیت الله کاشانی و امید و تمام پرسنل محترم پرتوکار شاغل در بیمارستان های مذکور که با نویسندگان این مطالعه همکاری کردند، قدردانی می شود.

References

1. Zendehelel R, Shetab-Boushehri SV, Azari MR, Hosseini V, Mohammadi H. Chemometrics models for assessment of oxidative stress risk in chrome-electroplating workers. *Drug and chemical toxicology*. 2015; 38(2): 174-9
2. L G. ROS-induced DNA adducts in the rodents after exposure to superfund hazardous chemicals. PhD thesis 2011.
3. Jacob KD, Hooten NN, Trzeciak AR, Evans MK. Markers of oxidant stress that are clinically relevant in aging and age-related disease. *Mech Ageing Dev* 2013; 134(3-4): 139-57.
4. Cancer organization. [Online].; 2017 [cited 2017 April 31. Available from: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/radiation/science-behind-radiation-therapy/types-of-radiation.html>
5. Kato S, Yoshimura K, Kimata T, Mine K, Uchiyama T, Kaneko K. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine: a biomarker for radiation-induced oxidative DNA damage in pediatric cardiac catheterization. *J Pediatr* 2015; 167(6): 1369-74. e1.
6. Barquinero J, Barrios L, Caballin M, Miro R, Ribas M, Subias A, et al. Cytogenetic analysis of lymphocytes from hospital workers occupationally exposed to low levels of ionizing radiation. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 1993; 286(2): 275-9.

- F, Wang J, Zhao F, Zhang Q, Lyu Y (2019) Serum 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine Level as a Potential Biomarker of Oxidative DNA Damage Induced by Ionizing Radiation in Human Peripheral Blood. *Dose-Response*, 17(1): 1559325818820649.
23. Sackett G. Radiation safety issues for radiologic technologies .Presentation NewYork: Integrated Science Support, Radiology safety. 2017.
24. Radiation Protection Guidance For Hospital Staff. Prepared for Stanford Health Care, Stanford Children's Health and Veterans Affairs Palo Alto Health Care System 2017.
25. Noda N, Wakasugi H. Cancer and Oxidative Stress. *JMAJ* 2011; 44(12): 535-9.
- in peripheral lymphocytes of hospital workers occupationally exposed to low doses of ionizing radiation. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2004; 547(1-2): 91-9.
20. Silva R, Folgosa F, Soares P, Pereira AS, Garcia R, Gestal-Otero JJ, Tavares P, Gomes da Silva MDR (2013) Occupational cosmic radiation exposure in Portuguese airline pilots: study of a possible correlation with oxidative biological markers. *Radiat Environ Biophys*, 52(2): 211-20.
21. Rahimipour S, Javadi I. DNA damage in radiology staff. 14 th Congress of Toxicology 2017.
22. Gao Y, Wang P, Wang Z, Han L, Li J, Tian C, Zhao1