

قياس الجرعات بالفحص الوراثي الخلوي: تطبيقات في التأهب والتصدي للطوارئ الإشعاعية



تاريخ النشر: كانون الأول/ديسمبر ٢٠١٣

معايير الأمان الصادرة عن الوكالة الدولية للطاقة الذرية

معايير الأمان الصادرة عن الوكالة

الوكالة مختصة، بموجب أحكام المادة الثالثة من نظامها الأساسي، بأن تضع أو تعتمد معايير أمان بقصد حماية الصحة والتقليل إلى أدنى حد من الأخطار على الأرواح والممتلكات، وأن تتخذ ترتيبات لتطبيق هذه المعايير.

وتصدر المنشورات التي تضع الوكالة بواسطتها هذه المعايير ضمن سلسلة معايير أمان الوكالة. وتشمل هذه السلسلة الأمان النووي والأمان الإشعاعي وأمان النقل وأمان النفايات. وتصنف المنشورات الصادرة ضمن هذه السلسلة إلى فئات، وهي: أساسيات الأمان، ومتطلبات الأمان وأدلة الأمان.

ويعرض موقع شبكة الإنترنت الخاص بالوكالة، الوارد أدناه، معلومات عن برنامج معايير أمان الوكالة

<http://www-ns.iaea.org/standards/>

ويوفر هذا الموقع نصوص معايير الأمان المنشورة ومسوداتها باللغة الانكليزية. كما تتوافر نصوص معايير الأمان الصادرة باللغات الأسبانية والروسية والصينية والعربية والفرنسية، بالإضافة إلى مسرد مصطلحات الأمان الذي وضعته الوكالة وتقرير قيد الإعداد عن حالة معايير الأمان. وللحصول على مزيد من المعلومات، يُرجى الاتصال بالوكالة على العنوان التالي:

P.O. Box 100, 1400 Vienna, Austria.

والدعوة موجّهة إلى جميع مستخدمي معايير أمان الوكالة لإبلاغها بالخبرة المستفادة من استخدامها (كأساس للنواحي الوطنية واستعراضات الأمان والدورات التدريبية مثلاً)، بما يكفل أن تظل هذه المعايير قادرة على تلبية احتياجات المستخدمين. ويمكن توفير المعلومات عن طريق موقع الوكالة على شبكة الإنترنت أو بالبريد، كما هو مبين أعلاه، أو بواسطة البريد الإلكتروني على العنوان التالي: Official.Mail@iaea.org.

المنشورات ذات الصلة

تتخذ الوكالة ترتيبات لتطبيق معايير الأمان، وبموجب أحكام المادة الثالثة والفقرة جيم من المادة الثامنة من نظامها الأساسي توفر معلومات بشأن الأنشطة النووية السلمية وتيسر تبادلها وتقوم، لهذا الغرض، بدور الوسيط بين دولها الأعضاء.

وتصدر تقارير عن الأمان والوقاية في مجال الأنشطة النووية بوصفها تقارير أمان توفر أمثلة عملية وأساليب تفصيلية يمكن استخدامها دعماً لمعايير الأمان.

وتصدر الوكالة منشورات أخرى متعلقة بالأمان مثل تقارير التقييم الإشعاعي، وتقارير الفريق الدولي للأمان النووي، والتقارير التقنية، والوثائق التقنية. كما تصدر الوكالة تقارير عن الحوادث الإشعاعية، وأدلة خاصة بالتدريب وأدلة عملية، وغير ذلك من المنشورات الخاصة المتعلقة بمجال الأمان.

وتصدر منشورات متعلقة بالأمن ضمن سلسلة الوكالة الخاصة بالأمن النووي.

تتألف سلسلة الطاقة النووية الصادرة عن الوكالة من تقارير مصممة لتشجيع ودعم أنشطة البحث المتعلقة بالاستخدامات السلمية للطاقة النووية وتطويرها وتطبيقها العملي. وترد المعلومات ضمن أدلة وتقارير عن حالة التكنولوجيا وأوجه التقدم المحرز، وأفضل الممارسات للاستخدامات السلمية للطاقة النووية. وتستكمل هذه السلسلة معايير الأمان الصادرة عن الوكالة، وتقدم إرشادات مستفيضة، وخبرة، بالإضافة إلى الممارسات الجيدة وأمثلة في مجالات القوى النووية، ودورة الوقود النووي، والتصرف في النفايات المشعة والإخراج من الخدمة.

قياس الجرعات بالفحص الوراثي الخلوي:
تطبيقات في التأهب والتصدي للطوارئ
الإشعاعية

الدول الأعضاء في الوكالة الدولية للطاقة الذرية

الاتحاد الروسي	الجبل الأسود	كرواتيا
إثيوبيا	الجزائر	كمبوديا
أذربيجان	جزر مارشال	كندا
الأرجنتين	جمهورية أفريقيا الوسطى	كوبا
الأردن	الجمهورية التشيكية	كوت ديفوار
أرمينيا	الجمهورية الدومينيكية	كوستاريكا
إريتريا	الجمهورية العربية السورية	كولومبيا
إسبانيا	جمهورية الكونغو الديمقراطية	الكونغو
أستراليا	جمهورية تنزانيا المتحدة	الكويت
إستونيا	جمهورية كوريا	كينيا
إسرائيل	جمهورية لاو الديمقراطية الشعبية	لاتفيا
أفغانستان (جمهورية-الإسلامية)	جمهورية مقدونيا اليوغوسلافية سابقاً	لبنان
إكوادور	جمهورية مولدوفا	لختنشتاين
ألبانيا	جنوب أفريقيا	لكسمبرغ
ألمانيا	جورجيا	ليبيا
الإمارات العربية المتحدة	الدانمرك	ليبيريا
إندونيسيا	دومينيكا	ليتوانيا
أنغولا	رواندا	ليسوتو
أوروغواي	رومانيا	مالطة
أوزبكستان	زامبيا	مالي
أوغندا	زمبابوي	ماليزيا
أوكرانيا	سري لانكا	مدغشقر
إيران (جمهورية - الإسلامية)	السلفادور	مصر
أيرلندا	سلوفاكيا	المغرب
آيسلندا	سلوفينيا	المكسيك
إيطاليا	سنغافورة	ملاوي
بابوا غينيا الجديدة	السنغال	المملكة العربية السعودية
باراغواي	سوازيلند	المملكة المتحدة لبريطانيا العظمى
باكستان	السودان	وأيرلندا الشمالية
بالاو	السويد	منغوليا
البحرين	سويسرا	موريتانيا (جمهورية- الإسلامية)
البرازيل	سيراليون	موريشيوس
البرتغال	سيشيل	موزامبيق
بلجيكا	شيلي	موناكو
بلغاريا	صربيا	ميانمار
بليز	الصين	ناميبيا
بنغلاديش	طاجيكستان	النرويج
بنما	العراق	النمسا
بنن	عمان	نيبال
بوتسوانا	غابون	النيجر
بوركينا فاسو	غانا	نيجيريا
بوروندي	غواتيمالا	نيكاراغوا
البوسنة والهرسك	فرنسا	نيوزيلندا
بولندا	الفلبين	هايتي
بوليفيا	فنزويلا (جمهورية-البوليفارية)	الهند
بيرو	فنلندا	هندوراس
بيلاروس	فيجي	هنغاريا
تايلند	فييت نام	هولندا
تركيا	قبرص	الولايات المتحدة الأمريكية
ترينيداد وتوباغو	قطر	اليابان
تشاد	قيرغيزستان	اليمن
توغو	كازاخستان	اليونان
تونس	الكاميرون	
جامايكا	الكرسي الرسولي	

وافق المؤتمر الخاص بالنظام الأساسي للوكالة الدولية للطاقة الذرية الذي عقد في المقر الرئيسي للأمم المتحدة بنيويورك في ٢٣ تشرين الأول/أكتوبر ١٩٥٦ على النظام الأساسي للوكالة الذي بدأ نفاذه في ٢٩ تموز/يوليه ١٩٥٧. ويقع المقر الرئيسي للوكالة في فيينا. ويتمثل هدفها الرئيسي في "تعزيز وتوسيع مساهمة الطاقة الذرية في السلام والصحة والازدهار في العالم أجمع".

قياس الجرعات بالفحص الوراثي الخلوي:
تطبيقات في التأهب والتصدي للطوارئ
الإشعاعية



الوكالة الدولية للطاقة الذرية
فيينا، ٢٠١٣

ملاحظة بشأن حقوق النشر

جميع منشورات الوكالة العلمية والتقنية محمية بموجب أحكام الاتفاقية العالمية لحقوق النشر بشأن الملكية الفكرية بصيغتها المعتمدة في عام ١٩٥٢ (برن) والمنقحة في عام ١٩٧٢ (باريس). وقد تم تمديد حق النشر منذ ذلك الحين من جانب المنظمة العالمية للملكية الفكرية (جنيف) ليشمل الملكية الفكرية الإلكترونية والافتراضية. ويجب الحصول على إذن باستخدام النصوص الواردة في منشورات الوكالة بشكل مطبوع أو إلكتروني، استخداماً كلياً أو جزئياً؛ ويخضع هذا الإذن عادةً لاتفاقيات حقوق النشر والإنتاج الأدبي. ويُرحَّب بأي اقتراحات تخصّ عمليات الاستنساخ والترجمة لأغراض غير تجارية، وسيُنظر فيها على أساس كل حالة على حدة. وينبغي توجيه أي استفسارات إلى قسم النشر التابع للوكالة (IAEA Publishing Section) على العنوان التالي:

Marketing and Sales Unit, Publishing Section
International Atomic Energy Agency
Vienna International Centre
P O Box 100
1400 Vienna, Austria
رقم الفاكس: +٤٣ ١ ٢٦٠٠ ٢٩٣٠٢
رقم الهاتف: +٤٣ ١ ٢٦٠٠ ٢٢٤١٧
البريد الإلكتروني: sales.publications@iaea.org
الموقع الشبكي: <http://www.iaea.org/books>

للحصول على مزيد من المعلومات يرجى الاتصال بالعنوان التالي:

Incident and Emergency Centre
Department of Nuclear Safety and Security
International Atomic Energy Agency
Vienna International Centre
PO Box 100
1400 Vienna, Austria
Email: Official.Mail@iaea.org

قياس الجرعات بالفحص الوراثة الخلوي:
تطبيقات في التأهب والتصدي للطوارئ الإشعاعية
الوكالة الدولية للطاقة الذرية، فيينا، ٢٠١٣
IAEA-GRT/Dkqf quko gvt {
© الوكالة الدولية للطاقة الذرية، ٢٠١٣
طُبِعَ من قبل الوكالة الدولية للطاقة الذرية في النمسا
كانون الأول/ديسمبر ٢٠١٣

تمهيد

يمثل قياس الجرعات بالفحص الوراثي الخلوي وسيلة مهمة لتقدير الجرعات، وهو يسد ثغرة في تكنولوجيا قياس الجرعات، لا سيما عندما يتعذر تفسير البيانات في الحالات التي يُعتقد فيها أن الأشخاص الذين لا يحملون أجهزة قياس الجرعات قد تعرّضوا للإشعاع، أو عند المطالبة بتعويضات عن إصابات إشعاعية لا يقوم عليها دليل قاطع، أو في حدوث تعرضات للشخص في أثناء حياته المهنية.

وتواصل الوكالة الدولية للطاقة الذرية منذ عام ١٩٧٨ دورها الذي تسهم به منذ أمد بعيد في القياس البيولوجي للجرعات، وهي تقوم بهذا الدور من خلال تنظيم سلسلة من برامج البحوث المنسّقة والدورات التدريبية الإقليمية والوطنية، ورعاية زمالات تدريب الأفراد، وتوفير المعدات للمختبرات في الدول الأعضاء، وبناء القدرات في مجال القياس البيولوجي للجرعات.

ونبعت من هنا فكرة إسداء المشورة إلى الدول الأعضاء بشأن أفضل محور تركّز عليه البحوث، وتقديم الاقتراحات بشأن أنسب التقنيات التي يمكن ممارستها مستقبلاً في القياس البيولوجي للجرعات.

وكان من نتائج أحد البرامج البحثية المنسّقة أن صدر في عام ١٩٨٦ دليل بعنوان القياس البيولوجي للجرعات: تحليل الانحراف الكروموسومي في تقييم الجرعات (سلسلة التقارير التقنية رقم ٢٦٠) وحلّت محله في عام ٢٠٠١ طبعة ثانية منقّحة تحت رقم ٤٠٥ من سلسلة التقارير التقنية.

ويمثّل المنشور الحالي طبعة ثالثة تحتوي على إضافات موسّعة تعبّر عن التطوّرات الهائلة التي شهدتها مجال قياس الجرعات بيولوجيا من خلال الفحوص الوراثية الخلوية على امتداد العقد الفائت.

وتودّ الوكالة أن توجّه شكرها إلى كل مؤلّف ومراجع هذا المنشور. وتُعرب عن تقديرها الخاص للإسهامات الكبيرة المقدّمة من الدكتور د. لويد (D. Lloyd).

واشترك في رعاية هذا المنشور منظمة الصحة للبلدان الأمريكية ومنظمة الصحة العالمية.

وموظف الوكالة المسؤول عن هذا المنشور هو أ. بوغلوفا (E. Buglova) من إدارة الأمان والأمن النوويين.

ملحوظة تحريرية

استخدام مسميات معينة للبلدان أو للأقاليم لا ينطوي على أي حكم تقديري من جانب الناشر، أي الوكالة، فيما يخص الوضع القانوني لمثل هذه البلدان أو الأقاليم أو لسلطاتها ومؤسساتها أو لترسيم حدودها.

وذكر أسماء شركات أو منتجات معينة (سواء كانت مبنية باعتبارها مسجلة أم لا) لا ينطوي على أية نية للمسّاس بحقوق الملكية، كما لا ينبغي تفسيره على أنه مصادقة أو توصية من جانب الوكالة.

المحتويات

١	مقدمة	- ١
١	١-١ الخلفية	
٤	٢-١ الهدف	
٤	٣-١ نطاق التطورات وتاريخها	
٥	٤-١ الهيكل	
٧	٢- تطبيق مفاهيم الجرعات في القياس البيولوجي	- ٢
٩	٣- الخلفية الفيزيائية الحيوية للضرر الكروموسومي	- ٣
١٥	٤- الكريات اللمفاوية البشرية	- ٤
١٩	٥- هيكل الكروموسومات	- ٥
١٩	١-٥ حشوة الكروماتين	
٢٠	٢-٥ النمط النووي لدى الإنسان ومحتوى الحمض النووي في الكروموسومات	
٢٣	٣-٥ دورة الخلية	
٢٧	٦- الانحرافات الكروموسومية المستحثة بالإشعاع	- ٦
٢٧	١-٦ أضرار الحمض النووي المستحثة بالإشعاع	
٢٦	٢-٦ الانحرافات الكروموسومية	
٣٥	٣-٦ الانحرافات الكروماتيدية	
٣٧	٤-٦ التكثف الكروموسومي المبتر	
٤٠	٥-٦ النُويّات	
٤٣	٧- أخذ عينات الدم	- ٧
٤٣	١-٧ التوقيت	
٤٣	٢-٧ مضادات التجلط	
٤٤	٣-٧ الحاويات	
٤٤	٤-٧ النقل	
٤٧	٨- إعداد منحنى الجرعة والاستجابة داخل المختبر	- ٨
٤٧	١-٨ اعتبارات عامة	
٤٧	٢-٨ اعتبارات فيزيائية	
٤٩	٣-٨ اعتبارات إحصائية	
٥٤	٩- تحليل ثنائيات القُسَم المركزي	- ٩
٥٤	١-٩ الزرع	
٥٨	٢-٩ إجراء التثبيت	
٥٩	٣-٩ التلوين	
٦١	٤-٩ تحليل الشرائح	
٦٢	٥-٩ تسجيل البيانات	
٦٣	٦-٩ تخزين المعلومات والشرائح	
٦٤	٧-٩ تقييم الجرعات	
٨٣	١٠- تحليل الانتقال الكروموسومي	- ١٠

٨٥	١-١٠- زرع الخلايا وإجراءات التثبيت	
٨٦	٢-١٠- تلوين الكروموسومات	
٨٧	٣-١٠- معايير الفحص	
٨٩	٤-١٠- معالجة البيانات	
٩١	٥-١٠- مستوى ضبط الانتقالات الكروموسومية	
٩٥	٦-١٠- استمرار الانتقالات الكروموسومية	
٩٦	٧-١٠- منحنيات المعايرة	
٩٧	٨-١٠- أمثلة لاستخدامات التهجين الموضعي بالفلورسين في القياس البيولوجي الرجعي للجرعات	
١٠٥	١١- تحليل التكثف الكروموسومي المبترس	
١٠٥	١-١١- التكثف الكروموسومي المبترس عن طريق الاندماج الفتيلي	
١١٠	٢-١١- التكثيف الكروموسومي المبترس باستخدام الحث الكيميائي	
١١٣	٣-١١- فحص حادث إشعاعي باستخدام أسلوب حلقات التكثف الكروموسومي المبترس	
١١٥	١٢- فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي	
١١٥	١-١٢- الخلفية	
١١٦	٢-١٢- زرع الكريات اللعابية لاستخدامها في فحوص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي	
١١٦	٣-١٢- معايير فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي	
١١٨	٤-١٢- معالجة بيانات فحص نويات انقسام هيولي الخلية	
١٢٢	٥-١٢- تطبيق فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي في القياس البيولوجي للجرعات	
١٢٧	١٣- أتمتة الفحوص الكروموسومية	
١٢٧	١-١٣- أتمتة تجهيز العينات	
١٢٨	٢-١٣- تحليل الصور آلياً	
١٣٣	٣-١٣- نظام إدارة المعلومات المختبرية	
١٣٥	١٤- أحداث الإصابات الجماعية	
١٣٥	١-١٤- سيناريوهات التعرضات الإشعاعية المحتملة	
١٣٦	٢-١٤- التجربة التاريخية	
١٣٨	٣-١٤- دور القياس البيولوجي	
١٤٠	٤-١٤- الاستراتيجيات القائمة بشأن الإصابات الجماعية	
١٤٣	١٥- برامج الجودة ومعايير المنظمة الدولية لتوحيد المقاييس	
١٤٣	١-١٥- الأساس المنطقي لبرنامج ضمان الجودة ومراقبة الجودة	
١٤٤	٢-١٥- الهيكل الحالي لوثيقة المعيار الموحد ١٩٢٣٨	
١٤٥	٣-١٥- تطبيق الفرز السكاني	
١٤٩	١٦- أمان موظفي المختبرات	
١٤٩	١-١٦- العدوى	
١٤٩	٢-١٦- الجوانب البصرية	
١٥٠	٣-١٦- الجوانب الكيميائية	
١٥٣	المراجع	

١٧١	المرفق الأول: فحص ثنائيات الفُسَيْم المركزي
١٧٥	المرفق الثاني: فحص الانتقالات الكروموسومية باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين
١٧٩	المرفق الثالث: التكتُّف الكروموسومي المبتر
١٨٥	المرفق الرابع: فحص نويات إحصار انقسامات الهَيُولي
١٩١	المرفق الخامس: معايير تحديد الرقم القياسي للانقسام الفتيلي
١٩٣	المرفق السادس: التحليل الإحصائي
٢٠١	المرفق السابع: مثال للمقارنة بين المختبرات لضمان الجودة
٢٠٥	مراجع المرفقات
٢٠٧	المختصرات
٢١١	التعاريف
٢٢٥	المساهمون في الصياغة والمراجعة

١-١ الخلفية

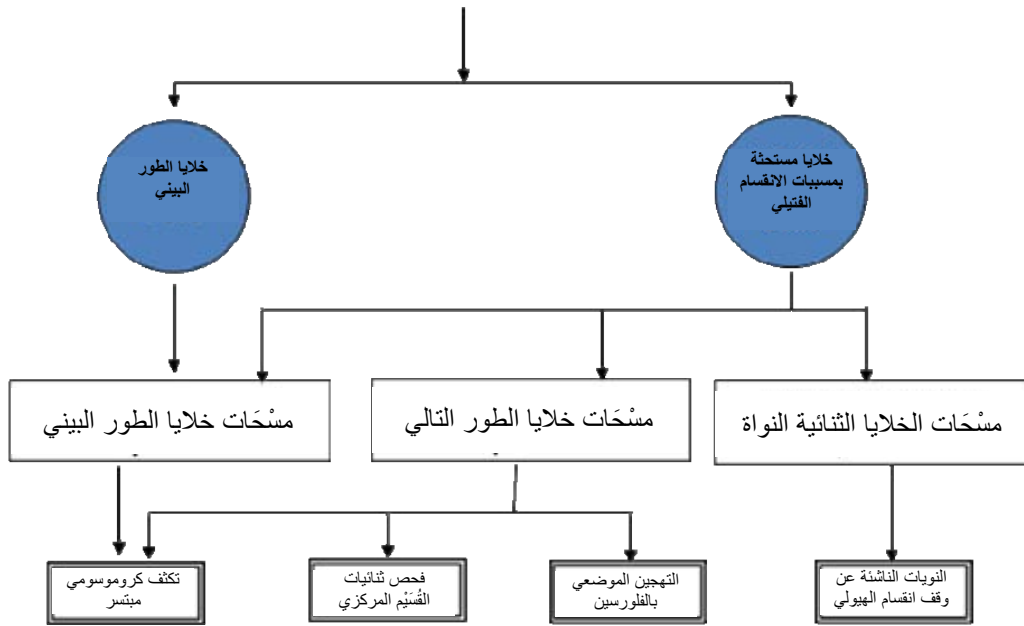
يُستخدَم منذ منتصف ستينيات القرن الماضي القياس البيولوجي للجرعات على أساس تحليل الكروموسومات المصمتة الثنائية القُسَم المركزي. وشهدت السنوات التي أعقبت تلك الحقبة تطورات هائلة جعلت تقنية تحليل ثنائيات القُسَم المركزي عنصراً روتينياً في برامج الوقاية الإشعاعية في الكثير من الدول الأعضاء [١]. وأثبتت تجربة استخدام هذا التطبيق في الآلاف من حالات التعرُّض الزائد الفعلية أو المشتبه بها أهمية هذا الأسلوب وساعدت أيضاً على تحديد القيود أمام استخدامه. ويتسم القياس البيولوجي للجرعات الذي يعتمد على الوسم البيولوجي للأضرار الكروموسومية بأهميته الكبيرة لأنه، خلافاً للقياس الفيزيائي للجرعة، يراعي الفروق بين الأشخاص في درجة الحساسية.

ولابد من تأكيد استخدام الانحرافات الكروموسومية كمقياس للجرعة ومساهمة تلك الانحرافات الكروموسومية بدور بالغ الأهمية في كثير من الأحيان في مجموعة المعلومات المطلوب جمعها والنظر فيها عند تقصي طارئ نووي أو إشعاعي^(١) [٢]. ويمكن استقاء مصادر تشخيصية للمعلومات من العلامات البيولوجية الإشعاعية ذات الأساس البيولوجي، فضلاً عن العلامات والأعراض الإكلينيكية التي قد تظهر على الشخص، وكذلك من القياسات الفيزيائية مثل القياسات التي تظهر على شارات الرصد الشخصية والمقاييس التي تعمل بالوميض الحراري، أو الوميض المستحث بصرياً أو رنين الدوران الإلكتروني في مكوّنات المصفوفات المصمتة من الأشخاص المعرضين للإشعاع (مثل مينا الأسنان أو الأظافر أو العظام أو ما إلى ذلك) أو المتصلة بهم (مثل الساعات أو النظارات أو غيرها). ويمكن أيضاً للمعلومات التي يتم الحصول عليها من المرضى والشهود حول الحقائق الأساسية، مثل الوقت الذي يقع فيه التعرُّض داخل الموقع والمسافة عن المصدر الإشعاعي، أن تساعد في حساب الجرعة. ويمكن الجمع بين كل هذه المصادر وبين بيانات القياس البيولوجي لتكوين صورة أوضح عن الحالة.

وظلّ فحص ثنائيات القُسَم المركزي باستخدام كريات الدم اللمفاوية يمثل لسنوات عديدة الأسلوب الوحيد المتاح لإجراء القياس البيولوجي للجرعات، ولا يزال حتى اليوم أكثر التقنيات استخداماً. ويمكن أيضاً ملاحظة ثنائيات القُسَم المركزي وغيرها من أنواع الانحرافات، مثل الخلايا الليفية الجلدية والخلايا الظهارية الشدقية، وإن كان ذلك يخرج عن نطاق هذا المنشور الذي يقتصر على فحوص الخلايا اللمفاوية في الدم. على أنه يوجد حالياً عدد من نقاط النهايات البيولوجية الأخرى، مثل النُويّات والانتقالات الكروموسومية وانحرافات الكروموسومات المتكثفة المبتسرة (الشكل ١ والجدول ١) التي يمكن توصيفها وفحصها في الخلايا اللمفاوية.

(١) في هذا السياق، يعني 'الطارئ الإشعاعي' نفس المعنى المقصود من عبارة 'طارئ نووي أو إشعاعي'.

الحصول على العينات
(دم طرفي - كريات لمفاوية)



الشكل ١ - رسم تخطيطي يبين الحصول على عينات كريات الدم اللمفاوية الطرفية لتقدير الجرعات باستخدام مختلف الفحوص الوراثية الخلوية للانحرافات الكروموسومية، وهي فحص التكتف الكروموسومي المبسر، وفحص ثنائيات القسم المركزي (والحلقات) في خلايا الطور الاستوائي، وفحص الانتقالات الكروموسومية باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين لخلايا الطور الاستوائي، وفحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهولي.

الجدول ١: مقارنة بين فحوص الانحرافات الوراثية الخلوية المستخدمة في تقييم الجرعات^(١)

فحوص الانحرافات الوراثية الخلوية				
النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي	التجهين الموضعي بالفورسين	ثنائيات القُسَم المركزية (والحلقات)	التكثف الكروموسومي المبترس	
النويات	ثنائيات القُسَم المركزي (ب) (والحلقات)	ثنائيات القُسَم المركزي (ب) (والحلقات)	القطع الكروموسومية الزائدة؛ ثنائيات القُسَم المركزي (ب) والحلقات	الانحرافات النمطية المفحوصة في تطبيقات القياس البيولوجي للجرعات
جسور هيولي النواة	انتقالات كروموسومية (ب)		انتقالات كروموسومية (ب)	
تعرض حديث حاد لمدة طويلة	تعرض قديم حاد لمدة طويلة	تعرض حديث حاد	تعرض حديث حاد	تطبيقات سيناريوهات الإشعاعات النمطية
٠,٣ إلى ٤	٠,٢٥ إلى ٤	٠,١ إلى ٥	٠,٢ إلى ٢٠	نطاق الجرعة الحادة المعادلة بالفوتونات (غراي) في تقييم جرعة الجسم بكامله
غير منطبق	غير منطبق	نعم	نعم	مفيد في تطبيقات تعرض أجزاء من الجسم
نعم	غير منطبق	نعم	نعم	مفيد في تقييم جرعات الفرز
معايير المنظمة الدولية لتوحيد المقاييس - لم يصدر بعد، و [٥]	غير منطبق	معايير المنظمة الدولية لتوحيد المقاييس [٤، ٣]	غير منطبق	الحالة بشأن توحيد الفحوص

(أ) الجدول معدل من دليل فرز ورصد ومعالجة الأشخاص المعرضين لإشعاعات مؤينة بعد عمل إيدائي (TMT Handbook) [٦].

(ب) الانحرافات الصغرية المحددة المكتشفة في العادة عن طريق استخدام مسابير خاصة بتهجين الأحماض النووية ثنائية المركز والكاملة الصبغية.

وتُستخدم في الاختبارات الأخرى التي تخرج عن نطاق هذا المنشور نقاط النهايات الجزيئية التي تقيس انكسار الحمض النووي والتغيرات التي تطرأ على تنظيم بعض الجينات الرئيسية أو وجود علامات البروتين الحيوية التي يمكن اكتشافها داخل الخلايا أو في بلازما/مصل الدم. ويتميز هذا المجال بسرعة ظهور تكنولوجيات يصحبها عدد من الاختبارات في مراحل متباعدة من التطور والتحقق. وأفضت مجموعة خيارات القياس البيولوجي للجرعات المتاحة حالياً إلى اقتراح نهج متعدد البارامترات في فحص الأشخاص الذين يصابون بتعرضات زائدة [٧] ومجموعة من الفحوص المتاحة التي يمكن أن تساعد بشكل خاص المختبرات التي يتعين عليها التعامل مع حدث ينطوي على إصابات كثيرة.

ومن المهم عند تقصي حالات الطوارئ الإشعاعية تقدير الجرعة التي يتلقاها الأشخاص المعرضون لدواع عديدة. وفي حالة التعرضات الكبيرة (الحادة التي تزيد على ١ غراي)، تساعد معلومات الجرعات على تخطيط العلاج وتنبيه الأطباء بالعواقب الصحية (الإصابات النسيجية) القطعية التي يرجح أن تنشأ في الأسابيع والأشهر التالية.

ويحتاج الطبيب إلى معلومات عن قياسات الجرعات الإشعاعية في التعرضات التي تنخفض عن المستوى الذي يقتضي تدخلاً علاجياً عند تقديم استشارات إلى الأشخاص المعرضين لإشعاعات بشأن احتمالات ظهور عواقب عشوائية مثل السرطان، ويمكن للأشخاص الذين يتعرضون لمستويات منخفضة للغاية من الإشعاع الشعور بالكثير من الاطمئنان عندما يعرفون أنه لم تكتشف أي مستويات مرتفعة من الأضرار الكروموسومية. وينطبق ذلك بشكل خاص على الحالات التي لا تعرف فيها تفاصيل كثيرة عن الأحداث ولا تتاح أي قياسات أو حسابات للجرعات المادية. ويمكن للقياس البيولوجي في هذه الحالة أن يكون هو الوسيلة الوحيدة لقياس الجرعة بالرغم من أن ذلك، كما جاء من قبل، ينطوي على مشاكل متصلة بعوامل من قبيل التعرضات غير المتجانسة، وحدوث أخذ داخلي لنويدات مشعة، وتأخر أخذ عينات الدم.

ويساهم القياس البيولوجي أيضاً بدور مهم في المراحل الأولى من الطوارئ الإشعاعية أو الهجمات الإرهابية التي قد تنطوي على تعرض عدد كبير من الأشخاص. ويلزم في هذه الحالة فرز الإصابات باستخدام نقاط النهايات البيولوجية والإكلينيكية التي يمكنها أن تحدّد بصورة أولية وعلى وجه السرعة الأشخاص الذين يُشَنَّبُه بتعرضهم لجرعات تهدّد حياتهم وكذلك إجراء تقييم أولي للجرعات عند الاقتضاء.

٢-١ الهدف

يهدف هذا المنشور بالدرجة الأولى إلى تزويد المستعمل بالمعلومات التقنية التي يحتاج إليها كي يختار وينفّذ بطريقة موحّدة تقنية الفحص الوراثي الخلوي التي تكفل تقدير الجرعة بطريقة قابلة للمقارنة عقب التعرّض العارض لإشعاع مؤيّن. ويتناول المنشور بالوصف أربعاً من وسائل فحوص الوراثة الخلوية الممكنة (الشكل ١ والجدول ١) المتاحة حالياً في القياس البيولوجي للجرعات. ومن الملائم أن تتاح كل هذه التقنيات بسهولة في المناطق الجغرافية الرئيسية، وإن كان يلزم في ظل وجود قدر ما من التعاون والتواصل الدولي وجود كل التقنيات في كل مختبر وطني مختص بالقياس البيولوجي للجرعات.

٣-١ نطاق التطورات وتاريخها

ركّز الدليل الأول الذي صدر في هذه السلسلة [١] حصرياً على فحص ثنائيات القُسَم المركزي. وكان هذا المنشور الذي صدر في حينه يشكّل علامة بارزة مهمة كثرت الإشارة إليها في القياس البيولوجي للجرعات. وكُتِبَ ذلك الدليل بغرض قراءته على مستويين، فهو يشكّل أولاً دليلاً مختبرياً يوفّر مصدر معلومات مريح وشامل تقنياً. وكان الغرض أيضاً من إصدار ذلك الدليل تقديم ملخص موجز للخلفية التقنية للموضوع لاستخدامها في تدريس البيولوجيا الإشعاعية أو لأشخاص مثل الفيزيائيين الصحيين أو المحامين أو مقرري السياسات الذين قد يحتاجون إلى بعض المعرفة المهنية بالقياس البيولوجي للجرعات.

وشمل الدليل في إصداره المنقّح [٨] الذي نُشِرَ قبل ١٥ عاماً فحص التلوين الكروموسومي في التهجين الموضعي بالفلورسين، والتكثف الكروموسومي المبترس، والنويّات.

والآن وبعد انقضاء ١٠ سنوات صدرت هذه الوثيقة. ولا يزال جانب كبير من النصوص الأصلية المتعلقة بفحص انحرافات الكروموسومات الثنائية القُسَم المركزي والكروموسومات الحلقية في الأطوار الاستوائية المستمدة من الإصدارات السابقة صحيحة وأبقى المنشور عليها بالرغم من تحديثها عند الاقتضاء. ودخلت تعديلات كثيرة على فحوص التهجين الموضعي بالفلورسين والتكثف الكروموسومي المبترس والنويّات في ضوء البحوث الأخيرة والخبرة المكتسبة من استخدامها. وكان لا بد بعد انقضاء ٢٥ سنة من صدور الطبعة الثلاث أن يتسع موضوع القياس الوراثي الخلوي للجرعات اتساعاً كبيراً وتزداد تعقيداته التقنية. على أن الإصدار الحالي مرتّب بحيث لا يبدو بالغ الصعوبة لأي مختبر مجهّز بالحد الأدنى من المعدات وحديث عهد بالعمل في هذا الميدان. ويمكن رغم ذلك الاستفادة من الأقسام المتعلقة بأهم فحوص أساسيين ينبغي إجراءهما، وهما فحص الكروموسومات الثنائية القُسَم المركزي وفحص النويّات. وتقدّم مشورة واضحة حول كيفية تطبيق الاختبارين عملياً عن طريق إنشاء منحنيات الجرعة والاستجابة الأساسية وتفسير بيانات تقصي حالات التعرّض الزائد.

ومن التطوّرات الجديدة الرئيسية في السنوات الأخيرة التي شملها هذا التتقيح ترتيبات إجراء الفرز في حالات الإصابات الإشعاعية الجماعية. ويتناول المنشور الطريقة التي يمكن بها لمختبرات القياس البيولوجي أن تستجيب لأي زيادة فجائية في الحالات باستخدام اختبارات الفرز وتسرع بالتالي من وتيرة التحليلات من خلال

الفحص المجهرى بمساعدة الحاسوب والتواصل الشبكي مع المختبرات الأخرى. وتصادف مع ازدياد ترتيبات التعاون في الاستجابة للطوارئ صدور خطوط توجيهية دولية بشأن ضمان ومراقبة الجودة وتمارين المقارنة بين المختبرات. ويغطي هذا التنقيح حالياً تلك المواضيع.

وتفيد الاختبارات الوراثة الخلوية المتعددة في القياس البيولوجي للجرعات، إذ لا يكفي اختبار واحد للحصول على نتائج دقيقة بما يكفي في كل السيناريوهات الإشعاعية المحتملة، بما فيها التعرضات الحادة في الأطوار الأولى، أو تعرض جزء من الجسم، أو التعرض الرجعي، أو التعرض السابق (مثل أخذ عينات بيولوجية بعد سنوات من التعرض) وكذلك التطبيقات التي تشمل الفرز باستخدام الوراثة الخلوية في الأحداث التي تنطوي على إصابات إشعاعية جماعية.

٤-١ الهيكل

ينقسم هذا المنشور بعد المقدمة (القسم ١) إلى القسم ٢ الذي يتناول دلالة 'الجرعة' المحددة بالضرر الكروموسومي وكيفية ارتباط ذلك بقيم الجرعة الشخصية المحسوبة بالأساليب الفيزيائية ومفهوم الجرعة المكافئة حسب تعريف اللجنة الدولية للوقاية من الإشعاعات. ويتناول القسم ٣ بالوصف بعض الخلفية عن الجوانب الفيزيائية الحيوية والقياسات المجهرية للجرعات التي تتسبب في إحداث أعطاب كروموسومية. يلي ذلك في القسم ٤ وصف موجز للخلايا اللعابية البشرية التي تُستخدم منها الأنواع الثائية (T) في القياس البيولوجي للجرعات. ويبين القسم ٥ الهيكل الكروموسومي. ويناقش القسم ٦ أنواع الأضرار التي تصيب الحمض الريبي النووي المنزوع الأوكسجين (الحمض النووي) بسبب الانحرافات الناجمة عن الإشعاعات المؤينة، إلى جانب وصف وتصنيف الانحرافات الكروموسومية التي يمكن ملاحظتها في الخلايا اللعابية بعد التشعيع. ويتناول القسم ٧ متطلبات أخذ عينات الدم، وينظر القسم ٨ في المتطلبات الفيزيائية الحيوية والإحصائية اللازمة لإنشاء منحنيات الجرعة والاستجابة. وتتناول الأقسام ٩، و ١٠ و ١١، و ١٢ بعد ذلك تقنيات إجراء القياس البيولوجي الذي يستخدم، على التوالي، نقاط النهايات الوراثة الخلوية الأربع للكروموسومات ذات القسمين المركزيين، والانتقالات الكروموسومية القائمة على التهجين الموضعي بالفلورسين، والتكثفات الكروموسومية المبتسرة، والنويات. ويعرض القسم ١٣ التطورات الهائلة الأخيرة في مجال التحليل الآلي للفحوص الكروموسومية، ويتناول القسم ١٤ أحد المستجدات الأخرى التي شهدتها السنوات الأخيرة فيما يتصل بالطريقة التي يمكن بها للأوساط المعنية بقياس الجرعات من خلال الفحوص الكروموسومية أن تستجيب لأحداث الإصابات الجماعية بأكبر قدر من الفعالية. ويبين القسم ١٥ توجيهات وإجراءات ضمان الجودة، ويناقش القسم ١٦ والأخير أمان موظفي المختبرات الذين يقومون بإجراء تحليلات الوراثة الخلوية. يلي قائمة المراجع الشاملة والمستوفاة سبعة مرفقات، تتناول الأربعة الأولى منها بروتوكولات العمل القابلة للتكرار في فحوص الانحرافات الناشئة عن ثنائيات القسيم المركزي (والحلقية) والانتقالات الكروموسومية القائمة على التهجين الموضعي بالفلورسين، والتكثف الكروموسومي المبتسر، والنويات. ويبين المرفق الخامس معايير حساب الرقم القياسي للانقسام الفتيلي، ويتضمن المرفق السادس دليلاً لعدد من الاختبارات الإحصائية التي يشيع استخدامها في تحليل بيانات القياسات البيولوجية للجرعات وبحوثها الأساسية. ويعرض المرفق السابع والأخير مثلاً عملياً لتمارين ضمان الجودة بين المختبرات في فحص الكروموسومات الثنائية القسيم المركزي وتقدير الجرعات. ويحتوي المنشور في الختام على قائمة تشمل المختصرات المستخدمة، وقائمة تتضمن المصطلحات التقنية الهامة، وأخيراً قائمة المساهمين في الصياغة واستعراض الأقران لهذا المنشور في إصداره الثالث الذي يتضمن الكثير من التنقيحات.

٢ - تطبيق مفاهيم الجرعات في القياس البيولوجي

يتضمن هذا القسم معلومات موجزة عن مصطلحات قياس الجرعات، والمدلول الفيزيائي للجرعة الممتصة وتفسير التقييم البيولوجي (الوراثي الخلوي) للجرعات الناجمة عن التعرض العارض لمختلف أنواع الإشعاعات المؤينة.

وتُستخدم انحرافات كروموسومات الخلايا اللمفاوية في تقييم الجرعات الممتصة في الأشخاص الذين يتعرضون لإشعاعات زائدة. وتُفسر الانحرافات الكروموسومية في الخلايا اللمفاوية على أساس الجرعة الممتصة بالإشارة إلى منحنى معايرة الاستجابة والجرعة. وينشأ هذا المنحنى عن طريق تعريض الدم في الجسم الحي لجرعات إشعاعية ملائمة من حيث نوعيتها. وينبغي أن تكون الجرعات في العينات قابلة للمقارنة مع معيار أولي أو ثانوي باستخدام وسيلة مادية، مثل غرف التأيين.

وتعتبر في العادة الأجهزة المادية المستخدمة في قياس الفوتونات والنيوترونات من حيث كيرما الهواء، وبالتالي ينبغي استخدام عوامل التصحيح عند النظر في الجرعات التي تدخل إلى النسيج (أو عينات الدم). ويشترك ذلك في الفوتونات من نسبة معاملات امتصاص طاقة الكتلة، ويمكن الحصول على القيم المستخدمة من جداول المعايير [٩]. وفيما يتعلق بالنيوترونات، يمكن أن تتألف الوسائل من مواد مكافئة للأنسجة وتدل بالتالي على الجرعة التي تدخل إلى الأنسجة. ويمكن بدلاً من ذلك أن تجري بعض مختبرات قياسات الجرعات الأولية أو الثانوية عملية المعايرة من حيث التدفق النيوتروني الذي يمكن تحويله إلى الجرعة التي يتلقاها النسيج.

وبالنظر إلى أن نقطة النهاية البيولوجية المستخدمة هي الانحرافات الكروموسومية فإن ذلك يعبر بدقة عن الجرعة التي تتلقاها نواة الخلية. وفيما يتعلق بالفوتونات والنيوترونات فإن الجرعة التي يتلقاها النسيج الرخو تمثل مقارنة مناسبة بدرجة كبيرة للجرعة التي تتلقاها النواة. والسبب في ذلك هو أن قطر نواة الخلية اللمفاوية صغير، إذ يبلغ ٦ ميكرومتر، مقارنة بنطاقات الجسيمات الثانوية التي تنتجها الفوتونات والنيوترونات. وبالتالي يمكن تطبيق نظرية التجويف Bragg-Gray [١٠].

على أن ثمة بعض الاستثناءات. من ذلك مثلاً أن المسافات التي تقطعها جسيمات بيتا في حالة التعرض لماء معالج بالترينيوم تتراوح بين صفر و ٧ ميكرومتر. ولذلك ترجع معظم جرعة نواة الخلية إلى انبعاثات من الترينيوم داخل تلك النواة. وفي هذه الحالة، تشكل الجرعة التي تتلقاها نواة الخلية اللمفاوية أساس المعايرة، ويتوقف ذلك على محتوى الماء في النواة بالنسبة لمحتوى الماء في الدم [١١]. ويمكن أن تشمل الأمثلة الأخرى التعرض لنيوترونات تقل طاقتها عن ١٠٠ كيلو إلكترون فلت تقريباً، حيث ينخفض نطاق البروتونات المرتدة عن ٢ ميكرومتر. وفي هذه الحالة ترتبط جرعة نواة الخلية اللمفاوية بمحتواها الهيدروجيني. ومع ذلك لا يرجح أن ينطوي أي حادث على تعرض لنيوترونات يغلب عليها هذا النطاق.

وتمثل قيمة الجرعة التي يتم الحصول عليها عن طريق إحالة ناتج قياس الانحرافات، مثل ثنائيات القسيم المركزي، إلى منحنى معايرة متوسط الجرعة الممتصة في الخلايا اللمفاوية. ويقترّب ذلك من متوسط جرعة الجسم بكامله لأن الخلايا اللمفاوية تتوزع على مسافات واسعة في الجسم وتكون متنقلة. ويمكن في بعض الأحيان، باستخدام وسائل سيرد بيانها لاحقاً في هذا المنشور، تحسين تقييم جرعة الجسم بكامله في حالات التشيع غير المتماثل أو تعرض جزء من الجسم لإشعاعات من مصادر خارجية.

وتسفر معظم النويدات المشعة التي تدخل الجسم أيضاً عن تشيعات غير متماثلة، ولكن الجرعة في هذه الحالة ليست الجرعة التي تتلقاها الخلايا اللمفاوية، بل الجرعة التي تتلقاها الأعضاء والأنسجة التي يترسب فيها النشاط الإشعاعي. وغالباً ما تكون فائدة التحليل الكروموسومي محدودة نوعاً ما لأن الانحرافات التي تحدث مثلاً بعد أخذ داخلي ليود مشع ستحدث في الخلايا اللمفاوية ولكن لا يمكن تفسيرها على أساس الجرعة التي تتلقاها الغدة الدرقية. وتستثنى من ذلك النويدات التي تتوزع توزيعاً واسعاً في الجسم، مثلما في حالة الماء المعالج بالترينيوم أو السيزيوم المشع، حيث كشفت التجربة عن أن تحليل انحرافات الخلايا اللمفاوية يتيح الحصول على تقديرات ذات مغزى.

وفيما يتعلّق بالقياس البيولوجي الرجعي بعد عقدٍ أو أكثر من التعرّض والذي تقاس فيه الانتقالات الكروموسومية باستخدام أسلوب التهجين الموضعي بالفلورسين، يمثل تقدير الجرعة متوسط الجرعة التي يتلقاها النخاع العظمي النشط. ومَرَدّ ذلك أن التعرّض الأصلي يحدث لسلائف الخلايا الجذعية في الكُريات اللمفاوية المفحوصة. وتلاحظ الانتقالات الكروموسومية خلال الفترات الزمنية الأقصر في خليط الكريات اللمفاوية المعمّرة ونسل الخلايا الجذعية المشعّة.

وغالباً ما تكون نتيجة القياس الروتيني للجرعة المسجّلة في مقياس الجرعات الفردي دافعاً وراء إجراء عمليات التقصّي. وتعاير أجهزة قياس الجرعات الفردية في العادة لقياس مكافئ الجرعة الشخصية عند عمق محدّد. وتتيح هذه الكمية التشغيلية تقديرًا معقولاً للجرعة الفعّالة أو المكافئة في معظم مجالات الإشعاع في الواقع العملي. وتستخدم الجرعة الفعّالة والجرعة المكافئة في الوقاية من الإشعاعات، ولكن من غير المناسب استخدامهما في تحديد تأثير الجرعات الممتصة الكبيرة.

ولذلك توصّى المختبرات التي تُجري قياسات بيولوجية للجرعات بمعايرة إجراءاتها من حيث الجرعة الممتصة (بالغراي)، مع الإشارة عند الاقتضاء إلى ما يكفي من التفاصيل المتعلقة بالخصائص المميزة لنوع الإشعاع ونوعيته [١٢-١٥].

٣ - الخلفية الفيزيائية الحيوية للضرر الكروموسومي

يتضمن هذا القسم معلومات تساعد على فهم وتفسير المبادئ التي تشكل الأساس الذي تستند إليه المنهجية الواردة في الأقسام الأخيرة من هذا المنشور. وينبغي الرجوع إلى المعلومات الإضافية في المرجعين [١٦، ١٧].

وعندما يمر الإشعاع المؤين في جسم فإنه يُصدر إلكترونات من الذرات التي يمر خلالها تاركاً أيونات ذات شحنات موجبة. ويتفاوت توزيع الأحداث الرئيسية والتأثيرات والاستثارات على طول مسار الجسيمة المؤينة تبعاً لنوع الإشعاع. ويتناقص متوسط الفصل بين هذه الأحداث الرئيسية بزيادة شحنة وكتلة الجسيمات (النيوترونات أو جسيمات ألفا). ومن الضروري، كما هو وارد أدناه، تحديد إشعاع معين على أساس مقدار الطاقة المترسبة لكل وحدة من طول المسار لأن هذه الخاصية تغيّر فعالية نوع الإشعاع المعين في إحداث مختلف نقاط النهايات البيولوجية.

ومن المصطلحات المقارنة المفيدة في وصف ترسب الطاقة من مختلف أنواع الإشعاعات الانتقال الخطي للطاقة. ويمكن اشتقاق متوسط الانتقال الخطي للطاقة في الإشعاعات التي يتسع فيها نطاق الانتقال الخطي للطاقة. ويمكن الحصول على ذلك عن طريق قياس الوزن الترجيحي لكل فترة من فترات الانتقال الخطي للطاقة تبعاً للطاقة المنقولة (أو الجرعة) أو تبعاً لطول المسار الذي يقطعه الإشعاع. ويحدّد ذلك على التوالي متوسط الجرعة ومتوسط مسار الانتقال الخطي للطاقة. ويبدو أن متوسط المسار هو الكمية الأفضل لوصف تفاوتات الفعالية البيولوجية النسبية في الضرر الكروموسومي [١٨]. ويبلغ متوسط مسار الانتقال الخطي للطاقة عندما تكون الذروة الفلطية ٢٥٠ كيلو فلط من الأشعة السينية نحو ٢ كيلو إلكترون فلط/ميكرومتر مقارنة بالجسيمات الثقيلة الشحنة التي يتراوح متوسط مسار انتقال طاقتها الخطي بين ١٠٠ و ٢٠٠٠ كيلو إلكترون فلط/ميكرومتر أو أكثر. والنقطة المهمة التي ينبغي النظر فيها هي أن نفس ومختلف أنواع الإشعاعات يمكن أن تتفاوت كثيراً في كمية الطاقة المودعة في كل ميكرومتر من المسار، وهو ما يمكن أن يغيّر بوضوح الفعالية البيولوجية لمختلف أنواع الإشعاعات.

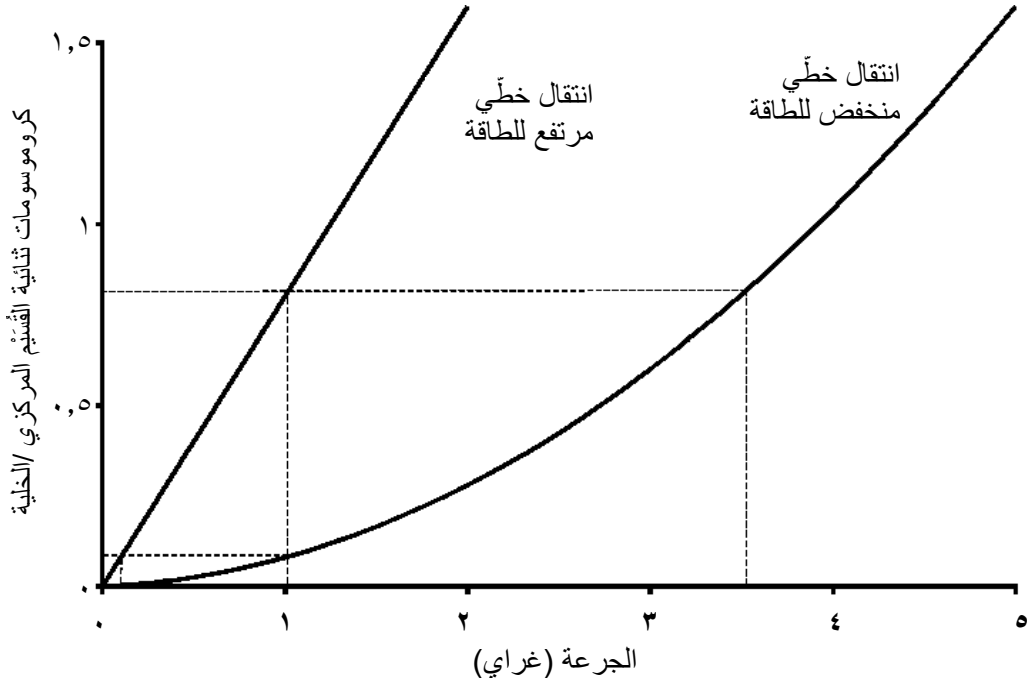
وتتمثل إحدى عواقب توزيع تأيّن الإشعاعات المتباينة في الانتقال الخطي للطاقة توزيع تواتر الانحرافات الكروموسومية بين الخلايا. ويتوزّع تأيّن أي جرعة معينة توزيعاً عشوائياً بين الخلايا في حالة الانتقال الخطي المنخفض للطاقة أو الإشعاعات الخفيفة التأيّن، خاصة عندما تكون المسارات كثيرة بدرجة كبيرة. ويتوزّع ضرر الحمض النووي أيضاً توزيعاً عشوائياً بين الخلايا، وبافتراض وجود احتمالات متساوية بأن يتحوّل أي ضرر إلى انحراف فإن هذه الانحرافات ستوزّع بالتالي هي الأخرى توزيعاً عشوائياً بين الخلايا. وتبين حدوث ذلك بعد التعرض للأشعة السينية أو أشعة غاما، حيث ينطبق توزيع بواسون (Poisson) على الانحرافات الكروموسومية المستحثة. وفي حالة الانتقال الخطي المرتفع للطاقة أو الإشعاع الكثيف التأيّن، تتوزّع مسارات التأيّن توزيعاً غير عشوائي بين الخلايا وتترسب الطاقة في 'الحُزْم المتقطعة'. ويقل كثيراً عدد المسارات مقارنة بعدد مسارات الإشعاع ذي الانتقال الخطي المنخفض للطاقة في الجرعات المكافئة. وبافتراض نفس الشيء في الإشعاع ذي الانتقال الخطي المنخفض للطاقة، ينشأ توزيع غير عشوائي للانحرافات المستحثة بين الخلايا. ويزداد عدد الخلايا ذات الانحرافات المتعددة والتي لا توجد فيها أي انحرافات في أي تردّد ملحوظ للانحرافات المتوسطة مقارنة بما هو متوقّع في توزيع بواسون. ويمكن الاستفادة من تلك الخصائص في القياس البيولوجي للجرعات على نحو ما سيرد في القسم ٩-٧-٤-٣، لاسيما في التعرّضات غير المتماثلة أو عند تعرّض جزء من الجسم.

ويعبّر عموماً مصطلح 'الفعالية البيولوجية النسبية' عن فعالية مختلف أنواع الإشعاعات في إحداث نقطة نهاية بيولوجية معينة. وتُعرّف الفعالية البيولوجية النسبية بأنها نسبة جرعة الإشعاع المرجعي (الذي تصدره في العادة أجهزة توليد الأشعة السينية) إلى جرعة الإشعاع المعين موضوع الدراسة الذي يؤدي إلى نفس الأثر البيولوجي. أي أن :

$$(١) \quad RBM = \frac{\text{dose of 200-250 kVp X rays producing effect Z}}{\text{dose of radiation producing effect Z}}$$

ويلاحظ أن الأشعة السينية تزيد بما يتراوح بين ٢ و ٣ أضعاف في فعاليتها عن أشعة غاما، وبالتالي ينبغي دوماً تحديد الإشعاع المرجعي [١٩].

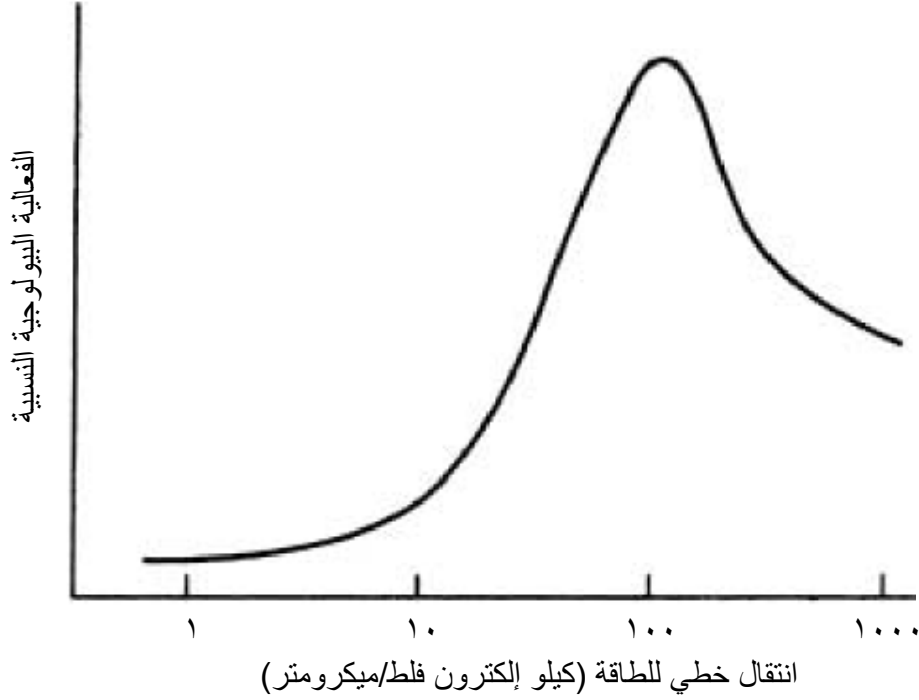
وبيّن الشكل ٢ منحنيات الجرعة والاستجابة الخطية النمطية ومنحنيات الجرعة والاستجابة الخطية التربيعية في حالة الكروموسومات ذات القسيمين باستخدام إشعاعات ذات انتقال خطي مرتفع ومنخفض للطاقة على التوالي.



الشكل ٢: منحنيات الجرعة والاستجابة الخطية النمطية والخطية التربيعية مع بيان كيفية تغيّر النتيجة بتغيّر الفعالية البيولوجية النسبية [١٨]

وتناقش لاحقاً في هذا القسم أسباب هذه الأشكال. ويبين الخط الأفقي العلوي المتقطع والمتقاطع مع المنحنيين عند ١ و ٣,٥ غراي الفعالية البيولوجية النسبية في حالة الناتج الكبير للكروموسومات ذات القسيمين المركزيين المرتبطة بالجرعات الكبيرة. والفعالية البيولوجية النسبية هي نسبة الجرعتين، وهي $1/3,5 = 0,29$. ويتقاطع الخط الأفقي السفلي المتقطع عند ٠,١ و ١ غراي، ويؤدي ذلك إلى زيادة الفعالية البيولوجية النسبية حيث $0,1/1 = 0,1$. وأمّا الفعالية البيولوجية النسبية القصوى التي تصف الحالة عندما تنخفض الجرعات ويشار إليها في العادة بالرمز RBE_m ، فهي نسبة المعاملين الخطيين في معادلتين ناتج المنحنيين.

وثبت أن الفعالية البيولوجية النسبية في الكثير من نقاط النهايات (بما فيها الطفرات، وقتل الخلايا، والانحرافات الكروموسومية) تتفاوت بتفاوت الانتقال الخطي للطاقة، وينشأ عن ذلك منحنى استجابة محدب (الشكل ٣).



الشكل ٣: العلاقة النمطية بين الفعالية البيولوجية النسبية والانتقال الخطي للطاقة [٨]

يبين هذا المنحنى أن الفعالية البيولوجية النسبية تزداد كقيمة مثلى إلى نحو ١٠٠ كيلو إلكترون فلط/ميكرومتر ثم تنخفض بعد ذلك بقيمة أكبر من الانتقال الخطي للطاقة. ومن الأفضل النظر في المنحنى لتفسير حدوث الانحرافات الكروموسومية. ولأغراض التوضيحية يستخدم انحراف الكروموسومات ذات القسمين هنا كمثال وذلك في جانب منه لأنه يشمل بوضوح تفاعلاً (أو تبادلاً) بين كروموسومين ولأنه يمثل أيضاً نوع الانحراف الأكثر استخداماً في القياس البيولوجي للجرعات.

ويجب لكي يتكوّن انحراف كروموسومي ثنائي القسيم المركزي أن يحدث عطب الحمض النووي في الكروموسومين غير المتكررين بحيث يمكن حدوث تبادل بين الكروموسومات المعطوبة. ويمكن أن يحدث هذا التبادل بسبب سوء إصلاح العطب الناتج عن تكسر خيوط الحمض النووي المستحث مباشرة بالإشعاع، أو نتيجة لسوء الإصلاح في أثناء استئصال الضرر القاعدي. ويتبين بالتالي أنه لا بد أن يكون الضرر في الكروموسومين قريبين كل من الآخر في حدود ما يسمى 'مسافة الالتحام' حتى يمكن أن تحدث الطفرات. ويمكن النظر إلى هذه المنطقة المحددة باعتبارها المنطقة المستهدفة. ولا بد من حدوث ضررين يكون أحدهما في اللولب المضاعف للحمض النووي في كل كروموسوم من الكروموسومين غير المتكررين ضمن هذه المنطقة المستهدفة. وهذا الهدف، أو منطقة التفاعل، صغير ويقل قطره عموماً عن ١ ميكرومتر. وينخفض الانتقال الخطي للطاقة في حالة الأشعة السينية وينخفض تردد التأين في كل وحدة من طول المسار. وبالتالي تنخفض احتمالات وقوع حدثين من مسار واحد في نفس الهدف. ويلزم حدوث عمليتي تأين كحد أدنى لإحداث ضرر في الكروموسومين المشتركين في حدوث انحراف كروموسومي ثنائي القسيم المركزي. وتزداد كثيراً احتمالات حدوث الضررين بسبب التأين من مسارين مستقلين. ويتناسب تردد ثنائيات القسيم المركزي التي ينتجها مسار واحد مع دالة خطية للجرعة بينما يتناسب تردد ثنائيات القسيم المركزي المستحثة بمسارين مع مربع الجرعة. وفي حالة الجرعات التي تقل عن ٠,٥ غراي، تنخفض احتمالات مرور مسارين بمنطقة مستهدفة بحيث لا تتكون تقريباً أي كروموسومات محتوية على قسيمين مركزيين إلا من خلال مسار واحد بتردد منخفض. ومع زيادة الجرعة تزداد أيضاً مساهمة ثنائيات القسيم المركزي المستحثة بمسارين. وبالتالي فإن منحنى الاستجابة والجرعة في حالة ثنائيات القسيم المركزي المستحثة بالانتقال الخطي المنخفض للطاقة (الشكل ٢) ستكون خليطاً من أحداث أحادية وثنائية المسار وسيزداد فيها تردد الأحداث الأحادية المسار في حالة الجرعات

الضعيفة، بينما ستزداد الأحداث الثنائية المسار بتردد أكبر في حالة الجرعات القوية. ويُفترض عموماً أن يطابق منحنى الجرعة والاستجابة المعادلة (٢).

$$(٢) \quad Y = C + \alpha D + \beta D^2$$

حيث: Y ناتج ثنائيات القسيم المركزي،

D هي الجرعة،

C هو الضابط (تردد الخلفية)،

α المعامل الخطي،

B معامل تربيع الجرعة

ويمكن الإشارة إلى نسبة B/α باعتبارها الجرعة التبادلية، وهي تساوي الجرعة التي يساهم فيها المكونان الخطيان والتربيعي بالتساوي في تكوين ثنائيات القسيم المركزي.

ومع ازدياد الانتقال الخطي لطاقة الإشعاع إلى حده الأقصى، تزداد احتمالات حدوث ضررين في الهدف بسبب حدثين مؤيين على طول نفس المسار مما يسفر عن نتيجتين. وعندما يكون الانتقال الخطي للطاقة أكثر تقريباً من ٢٠ كيلو إلكترون فلت/ميكرومتر، يكون منحنى الجرعة والاستجابة خطياً (الشكل ٢). وتزداد أيضاً الكفاءة أو الفعالية البيولوجية النسبية للإشعاع الذي ينتقل بطاقة خطية أكبر في إحداث زيادات في ثنائيات القسيم المركزي بازدياد الانتقال الخطي للطاقة نتيجة لازدياد احتمالات حدوث الضررين من خلال مسار واحد. ويتسم إحداث الضررين المطلوبين عن طريق مسار واحد بكفاءة أكثر كثيراً من إحداث ضرر عشوائي بمسار ثانٍ بالقرب من ضرر أحدثه بالفعل مسار آخر، لا سيما بجرعات أقل ومن خلال مسار أقل كثافة. وتصل الفعالية البيولوجية النسبية القصوى إلى قيمة الانتقال الخطي للطاقة عندما يكون التأين على مسافة مُثلى لإحداث الضرر في كل من لولبي الحمض النووي اللذين يشتركان في تكوين ثنائيات القسيم المركزي دون تبديد، للطاقة، أي عندما تودع في الهدف تأينات أكثر من المطلوب. على أنه بزيادة الانتقال الخطي للطاقة إلى ما فوق القيمة المُثلى، تنرّسب في الهدف طاقة أكثر من اللازم، وتنخفض الفعالية البيولوجية النسبية في هذه الظروف نظراً لازدياد الانتقال الخطي للطاقة كما هو مبين في مخطط الفعالية البيولوجية النسبية مقابل الانتقال الخطي للطاقة في الشكل ٣.

والخلاصة أن منحنى الجرعة والاستجابة (الشكل ٢) في حالة الإشعاع ذي الانتقال الخطي المنخفض للطاقة، والبروتونات المرتفعة الطاقة، والنيوترونات السريعة، يكون غير خطي وأنسب لنموذج خطي تربيعي؛ ويكون منحنى الجرعة والاستجابة في حالة الإشعاع ذي الانتقال المرتفع للطاقة (نيوترونات الانشطار وجسيمات ألفا) خطياً أو شبه خطي؛ وتزداد الفعالية البيولوجية النسبية بازدياد الانتقال الخطي للطاقة إلى مستوياته القصوى إلى نحو ١٠٠ كيلو إلكترون فلت/ميكرومتر، وتنخفض عندما تكون قيم الانتقال الخطي للطاقة أعلى (الشكل ٣). والسؤال هو كيف يؤثر معدل الجرعة على ناتج الانحرافات الوراثية الخلوية؟ ولأغراض هذه المناقشة، من الأسهل الإشارة إلى ثنائيات القسيم المركزي بالرغم من أن المبادئ تنطبق أيضاً على النويات والانتقالات الكروموسومية. ومن المعروف أن الأضرار المستحثة في الحمض النووي التي يمكن أن تتحول إلى كروموسومات ثنائية القسيم المركزي يمكن إصلاحها ويستغرق ذلك ما يتراوح بين بضع دقائق وعدة ساعات تبعاً للضرر المعين. وإذا نتج الضرران المطلوبان لإحداث قسيمين مركزيين من خلال مسارين منفصلين وإذا انخفض معدل الجرعة، من المحتمل في هذا الحالة إصلاح الضرر الناجم عن المسار الأول قبل أن يمر بالهدف مسار ثانٍ يشكّل ضرراً ثانياً. وبالرغم من حدوث الضررين داخل الهدف فإنهما لا يمكن أن يتفاعلا لإحداث قسيمين مركزيين. وتقل احتمالات تفاعل الضررين بتناقص معدل الجرعة، وكلما انخفض معدل الجرعة كلما انخفض تردد مسارات التأين لكل وحدة زمنية وبالتالي يزداد الوقت المتاح لإصلاح الضرر الأول قبل تكوين الضرر الثاني. وهكذا فإن الحالة بالنسبة للإشعاع ذي الانتقال المنخفض للطاقة هي على النحو التالي: ينخفض تردد ثنائيات القسيم المركزي في كل وحدة من الجرعة بانخفاض الجرعة. ويكون منحنى الجرعة والاستجابة خطياً في حالة ثنائيات القسيم المركزي عندما تكون معدلات الجرعة شديدة الانخفاض وتكاد تنعدم احتمالات حدوث انحرافات ثنائية المسار، مع وجود انحدار يساوي انحدار الجزء الخطي من المنحنى الخطي التربيعي للتعرضات الحادة. وينطبق الأمر نفسه على الجرعات المجزأة أو المقسمة. وفي حال تلقّي جرعتين أو أكثر،

يمكن للأضرار الناشئة عن الجرعة الأولى أن تتفاعل مع الأضرار الناتجة عن الجرعة الثانية أو ما بعدها، شريطة أن يكون الفاصل الزمني بين الجرعة الأولى وجزء الجرعة اللاحقة أقل من الوقت الذي يستغرقه إصلاح الأضرار المستحثة بالجرعة الأولى أو السابقة. وبالتالي، إذا كانت الجرعات مفصولة بفترات زمنية طويلة بما يكفي للسماح بالإصلاح بين أجزاء الجرعة فإن تردد ثنائيات القسيم المركزي الناجمة عن الجرعة الكلية (حاصل الأجزاء) يقل عن ثنائيات القسيم المركزي الناتجة عن الجرعة الكلية التي تحدث مرة واحدة.

ويمكن أن تختلف الحالة فيما يتصل بالإشعاع ذي الانتقال الخطي المرتفع للطاقة نظراً لأن كلا الضررين اللذين يشتركان في إحداث ثنائيات القسيم المركزي ينشآن عن مسار واحد. وبالتالي فإن تخفيض معدل الجرعة لا يغير تردد ثنائيات القسيم المركزي لأن إصلاح الأضرار في أثناء التعرضات الأطول لن يكون له أث تأثير. وينطبق الأمر نفسه على التعرضات المجزأة؛ ولا يؤثر إصلاح الأضرار بين الأجزاء تأثيراً كبيراً نظراً لحدوثهما معاً من مسار واحد.

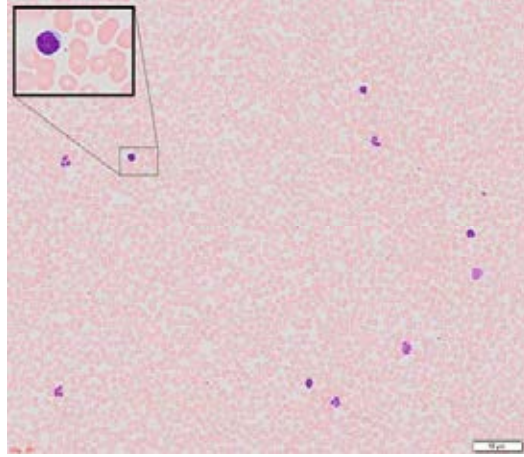
وتشير النقاط التي نوقشت في هذا القسم إلى العوامل التي ينبغي النظر فيها عند إجراء قياس بيولوجي للجرعات. ويتأثر شكل منحنى الجرعة والاستجابة بنوعية الإشعاع (الانتقال الخطي للطاقة). وبالتالي ينبغي عند تقييم الجرعة استخدام منحنى معياري لإشعاع ذي نوعية متطابقة أو متشابهة بدرجة كبيرة مع الإشعاع المنبعث في حالة الطوارئ. ويمثل ذلك أحد الشروط الهامة نظراً لوجود فروق يمكن التنبؤ منها في الفعالية البيولوجية النسبية للأضرار الكروموسومية المستحثة بمختلف الإشعاعات ذات الانتقال الخطي المنخفض للطاقة بالرغم من أنها، لأغراض الوقاية الإشعاعية، متطابقة في الوزن ($I=WR$) [١٩]. وفيما يتعلق بالإشعاع ذي الانتقال الخطي المنخفض للطاقة، يؤدي تخفيض معدل الجرعة أيضاً إلى تخفيض تردد ثنائيات القسيم المركزي لكل وحدة من وحدات الجرعة بحيث يكون المنحنى عند معدلات الجرعة الشديدة الانخفاض خطياً ولا يختلف عن المكون الخطي لمنحنى الجرعة والاستجابة في حالة التعرض الحاد. ويمكن أن ينشأ المنحنى الخطي عن المنحنيات الحادة المعيارية للأشعة السينية و/أو أشعة غاما، ويمكن استخدامه كمنحنى معياري للتعرضات المزمّنة، مع إمكانية إجراء تصحيحات ملائمة لمدة التعرض وعمر الكريات اللمفاوية. وفي حالة الإشعاع ذي الانتقال الخطي المرتفع للطاقة، لا تؤثر تغييرات معدل الجرعة على تردد ثنائيات القسيم المركزي، وبالتالي يمكن استخدام المنحنى الناتج عن التعرضات الحادة في التعرضات المزمّنة أو المجزأة، على أن تراعى مرة أخرى مدة التعرض وعمر الكريات اللمفاوية الطرفية.

٤ - الكريات اللمفاوية البشرية

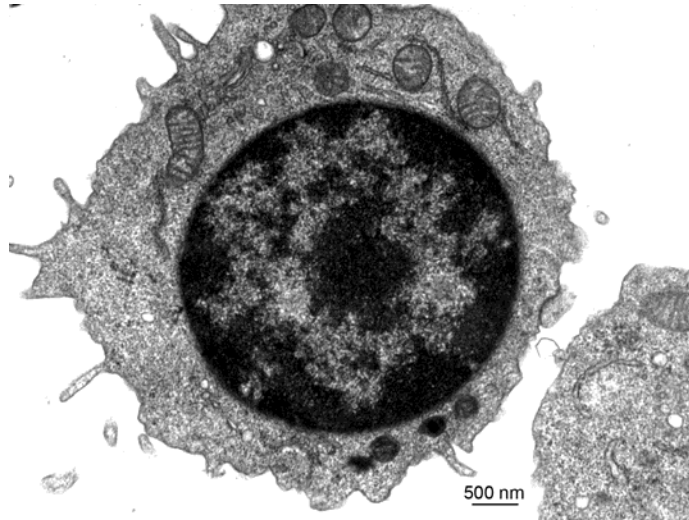
تمثل الكريات اللمفاوية الطرفية البشرية مجموعة من الخلايا التي توجد في أغلبها في المرحلة ما قبل تخليق الحمض النووي في دورة حياة الخلية (أي الطور G_0). وأما الكريات اللمفاوية الطرفية التي توجد في دورة الخلايا الذاتية التوالد فهي مجرد ٠,٢ في المائة أو أقل ولعل مصدرها مجموعة من خلايا لمفاوية تمثل كريات لمفاوية مستحثة أو خلايا بلازمية مبتسرة. وقد تؤدي الخلايا في هذه المجموعة إلى ظهور الانقسامات الفتيلية التي تظهر أحياناً في الدم الطرفي.

وكان نويل (Nowell) [٢٠] أول من كشف عن إمكانية تحفيز 'الكريات البيضاء البشرية' الطرفية لإحداث انقسامات فتيلية في المختبر باستخدام الفيتو هيماغلوتينين (PHA)، وهو بروتين مشتق من نبات اللوبياء، بينما كشف كارستيرز (Carstairs) [٢١] عن أن 'الكريات اللمفاوية الصغيرة' هي الخلايا المستهدفة في الانقسام الفتيلي الذي يحدثه بروتين الفيتو هيماغلوتينين.

وتتميز الكريات اللمفاوية الصغيرة الطرفية عندما تلاحظ في مسحة من الدم بوجود نوى كثيفة كبيرة يحيط به القليل نسبياً من الهيولي (سيتوبلازم) (الشكلان ٤ و ٥). ويبلغ قطرها نحو ٦ ميكرومتر ويقدر حجمها بنحو ١١٠ ميكرومتر مكعب.



الشكل ٤: فحص نمطي للدم باستخدام كرية لمفاوية صغيرة وبعض الخلايا الحمراء التي تبدو في الشكل مكتبة



الشكل ٥: كرية لمفاوية صغيرة تحت مجهر إلكتروني

ويمكن التمييز بين نوعين رئيسيين من الكريات اللفافية، هما الخلايا التائية (T) والبائية (B). وينشأ كلا النوعين عن خلايا جذعية عاجزة مناعياً في الكيس المَحَيّ وتستقر في نهاية المطاف في نخاع العظمي. وتنقل الخلايا الجذعية التي لا يمكن التمييز بينها إلى الغدة الزعترية والأعضاء اللفافية الرئيسية الأخرى وتتكاثر فيها وتمر بتحوّرات جسدية وتؤدي إلى ظهور مجموعة من الكريات اللفافية المعمّرة التي تبدأ في الانتشار. وبالاستناد إلى علاماتها السطحية، تضم الخلايا التائية والبائية خليطاً من الخلايا البدائية وخلايا الذاكرة المتفاوتة في أعمارها وأدوارها في العمليات المناعية [٢٢]. والخلايا التائية التي تكون في معظمها من النميط CD4+ و CD8+ تستحث داخل المختبر عن طريق الفيتوهيماغلوتينين وتستخدم في القياس البيولوجي للجرعات.

وتتفاوت تركيزات الكريات اللفافية في الدم الطرفي كدالة للعمر والأصل العرقي، ومسببات الأمراض والعوامل البيئية (أي التدخين، والبدانة، وتناول المشروبات الكحولية، وما إلى ذلك). ومن ذلك مثلاً أن جماعات إثنية معينة (في شرق أفريقيا على سبيل المثال) تتميز بانخفاض القيم الأساسية لعدد الكريات اللفافية مقارنة بالمستويات المرجعية لمجموع السكان. ويلاحظ انخفاض عدد الكريات اللفافية تبعاً للعمر. ويتضح ذلك بشكل خاص في أثناء مرحلة الطفولة عندما يلاحظ انخفاض عددها باستمرار حتى يصل إلى نحو $2 \times 10^9/L$ في الخامسة عشرة من العمر. ويلاحظ هذا الاتجاه نحو الانخفاض أيضاً لدى البالغين، وإن كان بوتيرة أبطأ، وفي عمر الخامسة والسبعين وما فوقه، ينخفض عدد الكريات اللفافية إلى $2 \times 10^9/L$ [٢٣].

ويبلغ عموماً النطاق الطبيعي للكريات اللفافية في الدم الطرفي لدى الشخص البالغ السليم $1.5-4 \times 10^9/L$ [٢٤]. على أنه في حالة تعرّض أجزاء كبيرة من الجسم لجرعات قوية من الإشعاع الذي يصل إلى بضع غرايات، تتمثل العلامات القطعية المبكرة في حدوث انخفاض سريع في عدد الكريات اللفافية في الدم الطرفي. وينبغي أن تؤخذ هذه العوامل في الاعتبار عند أخذ عينات من الدم في مرحلة مبكرة لإجراء قياس بيولوجي للجرعة في حالات الإصابات إشعاعية [٢٥].

ويقدّر مجموع عدد الكريات اللفافية لدى الشخص البالغ الصغير السليم صحياناً 10×10^9 تقريباً. ويوجد نحو ٢ في المائة فقط من هذه الكريات اللفافية (10×10^9) في الدم الطرفي، وتوجد النسبة الأخرى عموماً في الأنسجة الأخرى، وإن كانت تتركز بشكل خاص في الغدة الزعترية، والعقد اللفافية، واللوزتين، والأنسجة اللفافية في الأمعاء، والطحال، وفي نخاع العظمي. ويتفاوت عمر الكريات اللفافية، ويمكن أن يعني تعريف مدة عمرها أنها تموت أو تنقسم. ويمكن تقسيم الخلايا التائية من النميط CD4+ و CD8+ إلى نميطات أخرى على أساس مختلف الأشكال المناظرة لمولد مضادات CD45. وعند الميلاد يعبر أكثر من ٩٠ في المائة من الخلايا التائية عن الشكل المناظر CD45RA وتسمى الخلايا غير المبرمجة أو الخلايا البدائية. وتهبط هذه النسبة لتصل إلى نحو ٥٠ في المائة في مرحلة البلوغ وذلك بتحوّلها إلى النميط CD45RO من الخلايا المبرمجة أو خلايا الذاكرة.

وأجريت دراسات للأضرار الكروموسومية المستحثة بالعلاج الإشعاعي في الخلايا التائية من الشكّلين RA، و RO المحفزة بالفيتوهيماغلوتينين [٢٦]. وكشف استمرار الضرر غير المستقر عن أن خلايا RA البدائية تنقسم في المتوسط مرة كل ٣,٥ سنة، في حين أن خلايا الذاكرة من الشكل RO تنقسم على فترات أقصر تصل إلى مرة في المتوسط كل ٢٢ أسبوعاً. وقد تعود خلايا الذاكرة أيضاً إلى النمط البدائي الظاهري ولكن ذلك لا يحدث في المتوسط إلا بعد نحو ٣,٥ سنة في فئة خلايا الذاكرة.

ومن الأهمية البالغة عند تفسير الانحرافات الكروموسومية المستحثة في الجسم الحي أن تكون أغلبية الكريات اللفافية الطرفية منتمية إلى 'مجمّع إعادة التوزيع'. أي ينبغي أن تكون الكريات اللفافية قادرة على ترك الدم الطرفي والمرور خلال الطحال والعقد اللفافية والأنسجة الأخرى وتعود إلى الدورة الدموية. ومتوسط الوقت الذي توجد فيه الكرية اللفافية المنتمية إلى المجموعة التي يمكن أن يعاد توزيعها في الدم الطرفي بنحو ٣٠ دقيقة. وتشير التقديرات إلى أن ما يقرب من ٨٠ في المائة، أي 10×10^9 من الكريات اللفافية، ينتمي إلى مجمّع إعادة التوزيع وأن المدة الزمنية الإجمالية التي تستغرقها إعادة الدوران نحو ١٢ ساعة. ويعني ذلك أن الكريات اللفافية ذات الانحرافات الكروموسومية المستحثة في أي مكان آخر من الجسم تتجه في نهاية المطاف إلى الدم الطرفي. وبالتالي لا يمكن فقط اكتشاف الانحرافات الكروموسومية المستحثة في الكريات اللفافية الموجودة في الدم الطرفي ذاته باستخدام نظام فحص الكريات اللفافية البشرية، بل يمكن

أيضاً اكتشاف الانحرافات الكروموسومية المستحثة في الكريات اللمفاوية الموزعة في مختلف أعضاء الجسم [٢٧].

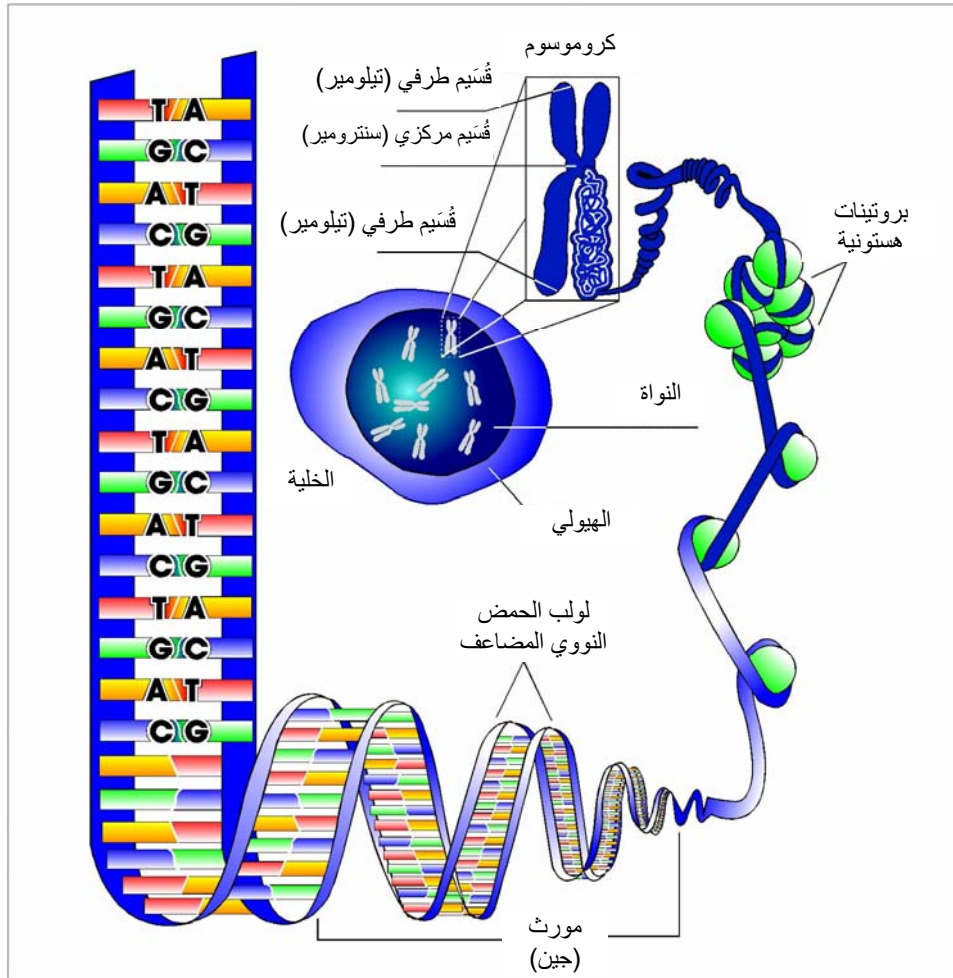
وتوجد معظم الكريات اللمفاوية الطرفية في طور 'الرقود' في دورة حياة الخلية (G_0) ويبلغ محتواها من الحمض النووي الضعفاني نحو ٥,٦ بيكوغرام. ويمكن أن تبدأ الانقسامات الفتيلية في هذه الخلايا داخل المختبر عن طريق إدخال الفيتوهِماغلوتينين. ويُعد الفيتوهِماغلوتينين أحد العوامل المُحدثة للانقسام الفتيلي الشاملة بدرجة كبيرة، وهو يحفز طيفاً واسعاً من الخلايا التائية. وتتحوّل الكريات اللمفاوية تحت تأثير الفيتوهِماغلوتينين إلى خلايا برعية وتزداد أحجام النواة وأحجام الخلايا بكاملها. ويبلغ حجم الخلية اللمفاوية الطرفية بعد ٤٨ ساعة من حفرها ٥٠٠ ميكرومتر مكعب تقريباً مقابل ١١٠ ميكرومتر مكعب قبل التحفيز. ويبلغ حجم الهيولي ٥٠٠ ميكرومتر مكعب قبل التحفيز و ٣٥٠ ميكرومتر مكعب بعد التحفيز. ويزداد الحجم النووي من نحو ٥٠ ميكرومتر مكعب إلى ١٧٠ ميكرومتر مكعب بعد التحفيز.

ويمكن أن يختلف كثيراً تطوّر دورة الخلية اللمفاوية بعد تحفيزها بالفيتوهِماغلوتينين تبعاً لظروف المزرعة التي تستخدم وسائط مختلفة، مثل Ham's F-10، RPMI (معهد روزويل بارك التذكاري، RPMI-1640)، أو الوسط TC-199، أو الوسط الأساسي الأدنى. من ذلك مثلاً أن تخليق الحمض النووي في Ham's F-10 يبدأ بعد ٢٦ ساعة تقريباً من بدء المزرعة وتبدأ أول انقسامات فتيلية بعد نحو ١٠ ساعات أخرى. وتوجد ذروتان لتخليق الحمض النووي تقاسان بالثيميدين المعالج بالتريتيوم، إحداها بعد ٣٤ ساعة والثانية بعد ٤٠ ساعة، وذروتان لنشاط الانقسامات الفتيلية إحداها بعد حوالي ٤٤ ساعة والثانية بعد حوالي ٤٩ ساعة. ويمكن أن يمثل ذلك مجموعتين فرعيتين من الخلايا التي تكشف عن أنماط تحفيزية مختلفة في مزرعة يتم إنشاؤها باستخدام الوسط Ham's F-10 والفيتوهِماغلوتينين [٢٨]. على أن الأطوار البينية الموسومة بالتريتيوم وكذلك الأرقام القياسية للانقسامات الفتيلية في الكريات اللمفاوية التي تنمو في الوسط TC-199 تسير وفق نمط غير منتظم ويتعذر بالتالي استخلاص أي استنتاجات بشأن المجموعات الفرعية.

٥ - هيكل الكروموسومات

١-٥ حشوة الكروماتين

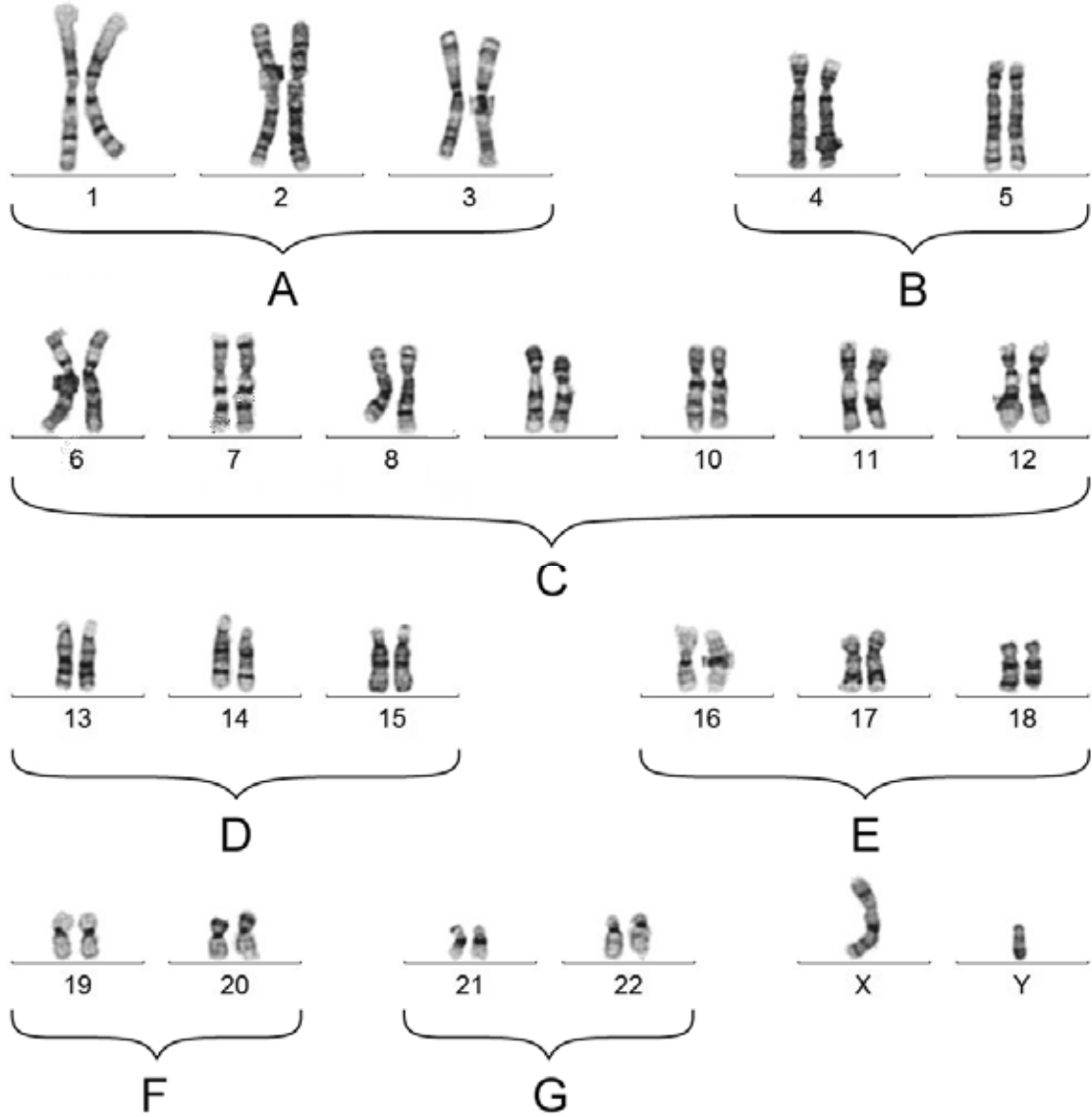
يوجد الكثير من التفاصيل التي تثبت العلاقة بين الحمض النووي والهستونات في هيكل الجسيم النووي بالرغم من أن ارتباط البروتينات غير الهستونية بمجموعة الجسيمات النووية لا يزال غير مفهوم تماماً. وعلاوة على ذلك، من الواضح أن الحمض النووي خارج على نواة هستون الجسيم النووي. وتؤيد بعض الدراسات وجود نواة محورية تكونها البروتينات غير الهستونية أو بروتين غير هستوني أو سقالة بروتينية غير هستونية [٢٩، ٣٠] في كروموسوم الطور الاستوائي. ولم يتضح حتى الآن دور هذه الهياكل في تكوين الانحرافات الكروموسومية. ويمكن أيضاً باستخدام ميكروسكوب خفيف توضيح هيكل النواة الذي يظهر كمناطق مبقعة بلون فضي في الكروموسوم ذي المراحل الانقسامية الفتيلية المختلفة. وبالرغم من أن وجود مصفوفة بروتين نووي منظمة في الطور البيني مسألة موثقة تماماً فإن وجود سقالة في كروموسومات الطور الاستوائي ربما يمثل عيباً. ويبين الشكل ٦ نموذجاً يوضح تنظيم كروموسوم في الطور الاستوائي.



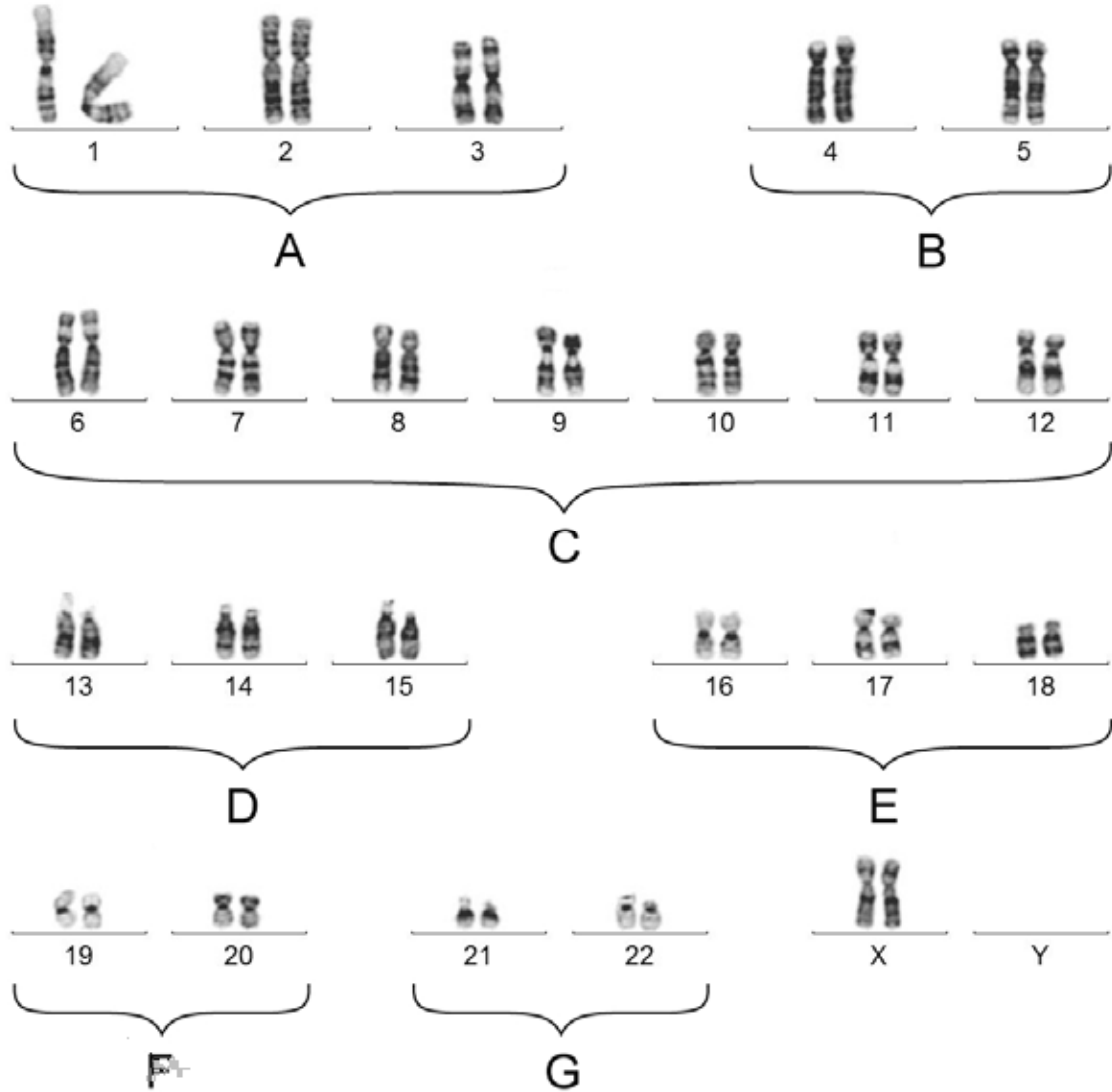
الشكل ٦: شكل توضيحي يبين الترتيبات المختلفة الكثيرة لحشوة الكروماتين التي ينشأ عنها كروموسوم الطور الاستوائي الشديد التكثف (إهداء من موقع التدريب التابع لمركز المساعدة في حالات الطوارئ الإشعاعية، الولايات المتحدة الأمريكية).

٢-٥ النمط النووي لدى الإنسان ومحتوى الحمض النووي في الكروموسومات

النمط النووي البشري (الشكل ٧) هو مجموعة الكروموسومات المميّزة في الإنسان، وتتألف من ٢٣ زوجاً من الكروموسومات الخطيّة الكبيرة المختلفة الأحجام، ويبلغ مجموعها ٤٦ كروموسوماً في كل خلية ثنائية الكروموسوم. وتنقسم الكروموسومات البشرية في العادة إلى سبع مجموعات تبدأ من A حتى G بالإضافة إلى زوج من الكروموسومات الجنسية X، و Y [٣١]. والمجموعات الكروموسومية هي: A:1-3، B:4، و 5، C:6-12، D:13-15، E:16-18، F:19، و 20، G:21، و 22.



الذكر



الأنثى

الشكل ٧: تحضير الكروموسومات/الأنماط النوويّة المجمعّة في خطوط من ذكر طبيعي، ٤٦، و XY، وأنثى طبيعية ٤٦، XX (إهداء من عيادة مايو، الولايات المتحدة الأمريكية).

وبيّن الجدولان ٢ و ٣ المحتوي النسبي للحمض النووي في كروموسومات الإنسان سواء الذكر أم الأنثى. واشتقت هذه البيانات من مورتون (Morton, 1991) [٣٢].

الجدول ٢: النسبة المئوية لمحتوى الحمض النووي في جينوم ذكر الإنسان الذي يشغله كل زوج من الكروموسومات الجسدية وكل كروموسوم جنسي

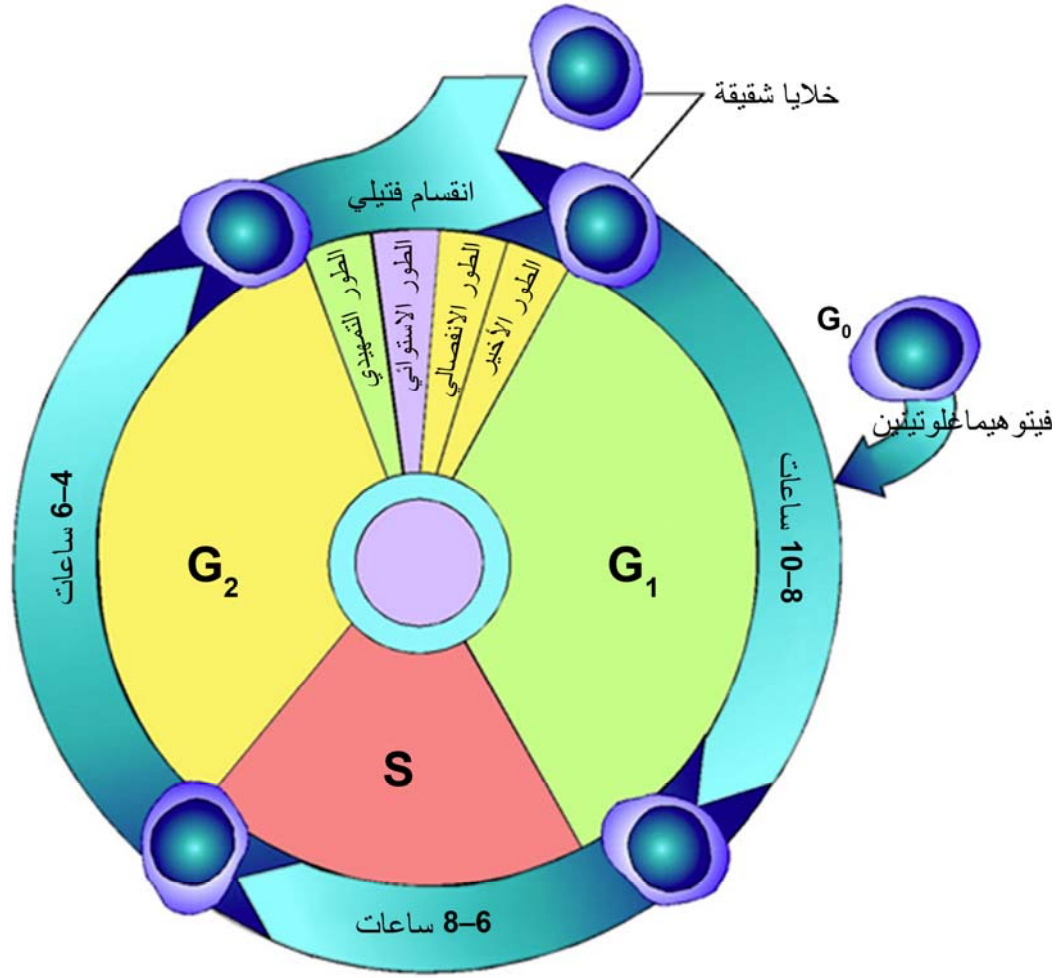
رقم الكروموسوم	الذراع القصيرة	الذراع الطويلة	الذراعان	رقم الكروموسوم	الذراع القصيرة	الذراع الطويلة	الذراعان
١	٤,٠٣	٤,٢٥	٨,٢٨	١٣	٠,٥٠	٣,٠٩	٣,٥٩
٢	٣,١٢	٤,٩٢	٨,٠٤	١٤	٠,٥٠	٢,٩٣	٣,٤٣
٣	٣,١٢	٣,٦٢	٦,٧٤	١٥	٠,٥٤	٢,٨٠	٣,٣٤
٤	١,٧٦	٤,٦٣	٦,٣٩	١٦	١,٢٣	١,٨٦	٣,٠٩
٥	١,٦٤	٤,٤٧	٦,١١	١٧	٠,٨٨	٢,٠٢	٢,٩٠
٦	٢,٠٥	٣,٧٢	٥,٧٧	١٨	٠,٦٣	٢,٠٥	٢,٦٨
٧	٢,٠٥	٣,٣٤	٥,٣٩	١٩	٠,٩٤	١,١٧	٢,١١
٨	١,٥٧	٣,٣١	٤,٨٨	٢٠	٠,٩٨	١,٢٩	٢,٢٧
٩	١,٦١	٢,٩٦	٤,٥٧	٢١	٠,٣٥	١,٢٣	١,٥٨
١٠	١,٣٨	٣,١٥	٤,٥٣	٢٢	٠,٤١	١,٣٥	١,٧٦
١١	١,٨٣	٢,٧١	٤,٥٤	X	٠,٩٧	١,٦١	٢,٥٨
١٢	١,٢٣	٣,٢٧	٤,٥٠	Y	٠,٢٠	٠,٧٣	٠,٩٣
						المجموع	١٠٠

الجدول ٣: النسبة المئوية لمحتوى الحمض النووي في جينوم أنثى الإنسان الذي يشغله كل زوج من الكروموسومات

رقم الكروموسوم	الذراع القصيرة	الذراع الطويلة	الذراعان	رقم الكروموسوم	الذراع القصيرة	الذراع الطويلة	الذراعان
١	٣,٩٧	٤,١٨	٨,١٥	١٣	٠,٤٩	٣,٠٤	٣,٥٣
٢	٣,٠٧	٤,٨٣	٧,٩٠	١٤	٠,٥٠	٢,٨٨	٣,٣٨
٣	٣,٠٧	٣,٥٦	٦,٦٣	١٥	٠,٥٣	٢,٧٦	٣,٢٩
٤	١,٧٤	٤,٥٥	٦,٢٩	١٦	١,٢١	١,٨٣	٣,٠٤
٥	١,٦١	٤,٤٠	٦,٠١	١٧	٠,٨٧	١,٩٨	٢,٨٥
٦	٢,٠٢	٣,٦٦	٥,٦٨	١٨	٠,٦٢	٢,٠١	٢,٦٣
٧	٢,٠١	٣,٢٩	٥,٣٠	١٩	٠,٩٣	١,١٥	٢,٠٨
٨	١,٥٥	٣,٢٥	٤,٨٠	٢٠	٠,٩٦	١,٢٧	٢,٢٣
٩	١,٥٨	٢,٩١	٤,٤٩	٢١	٠,٣٤	١,٢١	١,٥٥
١٠	١,٣٦	٣,١٠	٤,٤٦	٢٢	٠,٤٠	١,٣٤	١,٧٤
١١	١,٨٠	٢,٦٦	٤,٤٦	x	١,٩٢	٣,١٦	٥,٠٨
١٢	١,٢١	٣,٢٢	٤,٤٣		المجموع		١٠٠

٣-٥ دورة الخلية

يمكن الحصول على معلومات هامة عن تأثير العوامل الفيزيائية أو الكيميائية على خلايا الطور البيني عن طريق فحص الكروموسومات المرحلة التي تلي انقسام الخلايا ويكون ذلك بالنسبة للخلايا الجسدية عند حدوث الانقسام الفتيلي. وتتم دورة الخلية بعدد من المراحل التي يمكن التمييز بينها تبعاً لمظهرها ووظيفتها (الشكل ٨).



الشكل ٨: دورة الخلية (إهداء من موقع التدريب التابع لمركز المساعدة في حالات الطوارئ الإشعاعية، الولايات المتحدة الأمريكية)

ويتم التعرف في أثناء الانقسام الفتيلي على مراحل مثل الطور التمهيدي والطور الاستوائي والطور الانفصالي والطور الأخير. وتتضاعف في أثناء الطور البيئي المادة الكروموسومية (أي الحمض النووي والبروتينات المصاحبة له). وهذه تسمى الفترة 'التخليقية' (S) تليها فترة يُطلق عليها اسم G1 (فجوة تخليقية تمهيدية) وتليها الفترة G2 (فجوة تخليقية لاحقة) في الطور البيئي. وتبقى الخلايا التي لا تتابع دورة انقسامها، مثل الكريات اللمفاوية الطرفية، في الطور G0.

ويمثل الطور البيئي أنشط جزء أيضا في دورة الخلية التي تتابع دورة انقسامها، وتحدث في هذه المرحلة معظم التفاعلات التي تحتاج إلى طاقة في النواة. وتختلف مدة كل مرحلة في دورة الخلية بتفاوت نمط الخلية وظروف النمو. ويمكن تحديد أطوال المراحل باستخدام سلائف الحمض النووي الموسومة إشعاعياً، مثل الثيميدين المعالج بالترتييوم. وتترازن تقريباً أول دورة للخلية بعد التحفيز في الكريات اللمفاوية، وهذه الخلايا مناسبة بشكل خاص لدراسات البيولوجيا الإشعاعية. وبطبيعة الحال تكون خلايا الثدييات التي تتابع دورتها في المزرعة غير متزامنة، ولكن يمكن الوصول بها إلى حالة التزامن باستخدام عدة تقنيات. وتختلف مختلف مراحل دورة الخلية في حساسيتها لمفعول المواد الكيميائية أو الإشعاعات، وتختلف أنماط الانحرافات الكروموسومية تبعاً لمرحلة الخلية المعالجة [٣٣]. ولذلك من المهم في تلك الدراسات استخدام مجموعة متزامنة أو على الأقل تقدير نسب خلايا مختلف الأطوار في أثناء المعالجة.

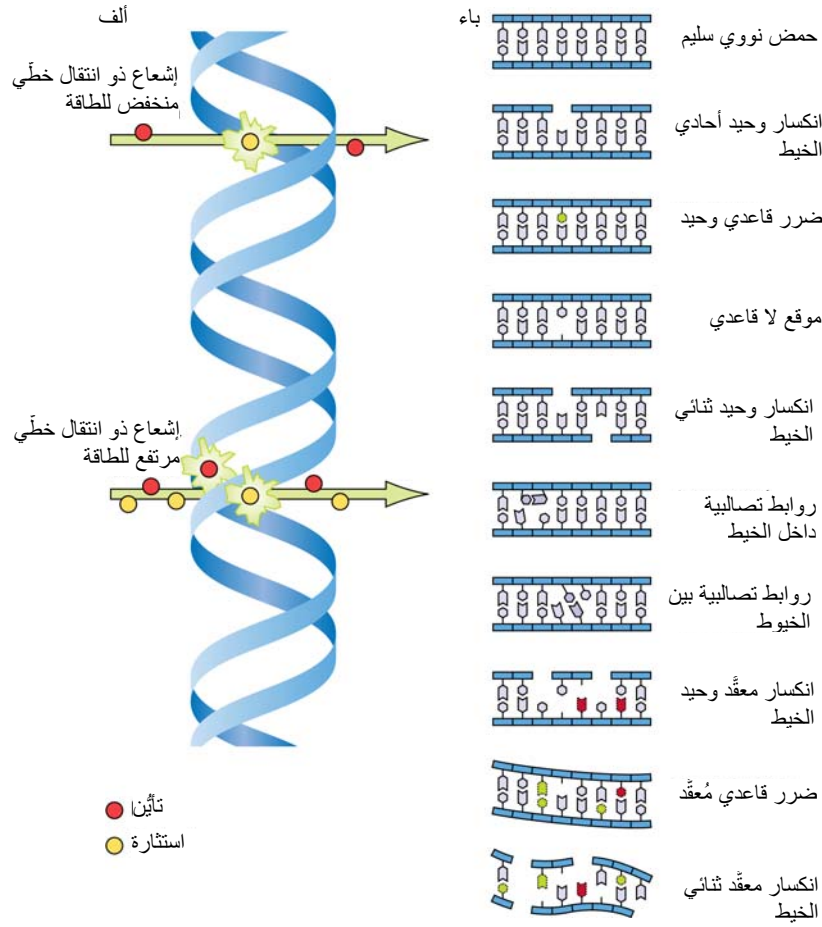
وُتراقَب تطوُّرات الخلية في مختلف مراحل دورتها لضمان أقصى مستوى ممكن من الأمانة في سلامة الحمض النووي وسلامة فصل الكروموسومات في الخلايا الشقيقة. وتعمل نقاط المراقبة الرئيسية في نهاية الطور G1، قبل التمسُّخ، وفي نهاية الطور G2، قبل الانقسام الفتيلي، وعند الانتقال في الطور الاستوائي/الطور الانفصالي قبل فصل الكروموسومات وانقسام الخلية. ويمكن تقييد تطوُّر دورة الخلية في حال اكتشاف ضرر في الحمض النووي أو عدم اكتمال التمسُّخ أو وجود هيكل مغزلي شاذ.

٦ - الانحرافات الكروموسومية المستحثة بالإشعاع

سجّلت الدراسات الوراثية التي أجراها مولر (Muller) [٣٤] لذباب الفاكهة أول أدلة تُثبت أن الأشعة السينية يمكن أن تتسبب في إحداث انحرافات كروموسومية. وتؤكد ذلك من خلال الدراسات الخلوية التي أجراها بينتر ومولر (Painter and Müller) [٣٥]. وقام ساكس (Sax) [٣٦] لاحقاً بوضع فرضية 'الانكسار أولاً' بشأن منشأ الانحرافات الكروموسومية المستحثة بالأشعة السينية، وتلتها دراسة أجراها ريفيل (Revell) [٣٧] اقترح فيها فرضية بديلة بشأن التبادلات. وأشار ساكس [٣٦] أساساً إلى اتصال بين المناطق المتضررة من الكروموسومات المنفصلة بعد حدوث انكسارات كاملة وتحرك النهايات وتجمّعها في نهاية المطاف كي تكون تبادلات. وتصور ريفيل [٣٧] بدلاً من ذلك أن نقاط الضرر ليست منفصلة تماماً ولكنها أماكن غير مستقرة يمكن أن تتفاعل مع مواقع مماثلة وتكون تبادلات تزاوجية. والاحتمال الثالث الذي قدّمه تشادويك ولينهوتس (Chadwick and Leenhouts) [٣٨] هو حدوث تفاعل بين منطقة متضررة ومنطقة غير متضررة يمكن أن يؤدي حسب رأي ريفيل إلى تفاعل بين موقع متضرر وكروموسوم غير متضرر لتكوين تبادل.

٦-١ أضرار الحمض النووي المستحثة بالإشعاع

يتسبب الإشعاع المؤيّن في أحداث ينجم عنها ترسب طاقة منفصلة زمنياً ومكانياً (مثل الخلايا المهبازية، والفقاعية، والمسارات) تصيب الحمض النووي بأعطاب مباشرة وغير مباشرة عن طريق توليد أنواع تفاعلية تنشأ أساساً عن التحلل الإشعاعي للماء [٣٩]. وتكشف الدراسات الفيزيائية الحيوية التي تتناول هيكل المسارات أن الإشعاعات ذات الانتقال الخطّي المنخفض للطاقة يمكن أن تصدر عنها مجموعات موضعية من التآينات داخل مسار إلكترون وحيد. وتنتج الإشعاعات ذات الانتقال الخطّي المرتفع للطاقة عدداً أكبر نسبياً من التآينات القريبة في المدى المكاني [١٧] (الشكل ٩ - ألف). ويتسبب الإشعاع المؤيّن في حدوث مجموعة كبيرة من أعطاب الحمض النووي، ومنها ضرر القاعدة (BD)، والانكسارات الوحيدة الخيط (SSB)، والمواقع غير القاعدية (AS)، والروابط المتصالبة في بروتين الحمض النووي (DPC)، والانكسارات الثنائية الخيط (الشكل ٩ - باء).



الشكل ٩: نمط التأين في الإشعاع ذي الانتقال الخطّي المنخفض والمرتفع للطاقة (ألف) وأضرار الحمض النووي المستحثّة بالإشعاع (باء) [٤٠، ٤١].

وتبلغ الطاقة المطلوبة لتكوين زوج أيوني ($H_2O + e^-$) من التحلل الإشعاعي للماء ~ 20 إلكترون فلت ويرسب الإشعاع المؤيّن طاقة في الأحداث التي تصل طاقتها إلى مئات من الإلكترون فلت، بمتوسط ٦٠ إلكترون فلت. وبالنظر إلى أن هذه الطاقة تكفي لإنتاج ما يقرب من ثلاثة أزواج من الأيونات، تتفاعل الجذور الكيميائية المتكوّنة بالقرب من منطقة محددة. ويمكن أن تشمل أعطاب الحمض النووي الناجمة عن جميع أنواع الإشعاعات أعطاباً وحيدة تشمل الانكسارات الوحيدة الخيط، أو المواقع غير القاعدية، أو الأضرار القاعدية فضلاً عن مواقع الأضرار المتعددة أو الأضرار المجمّعة [٤٢] ويمكن أن تشمل مواقع الأضرار المتعددة في الحمض النووي انكساراً واحداً أو أكثر من الانكسارات الثنائية الخيط، والعديد من الانكسارات الوحيدة الخيط، فضلاً عن أعطاب القاعدة. وقد يكون من الأصعب إصلاح أعطاب الحمض النووي المجمّعة المعقّدة أو يمكن أن تفشل بالفعل محاولات إصلاح تلك الأعطاب وبالتالي يمكن أن تقضي إلى إحداث انحرافات كروموسومية مميتة [٤٣].

ويوجد في الخلية نقل إشاري معقّد ونقطة لمراقبة تطوّرات دورة الخلية ومسارات إصلاحية للاستجابة لأعطاب الحمض النووي. ويتم إصلاح الضرر القاعدي والمواقع غير القاعدية والانكسارات الوحيدة الخيط باستخدام عمليات مختلفة، مثل الإصلاح عن طريق قطع القاعدة، والإصلاح عن طريق قطع النوكليوتيد، وإصلاح الانكسارات الوحيدة الخيط [٤٤، ٤٥]. ويتم إصلاح الروابط التصالبيه في بروتين الحمض النووي عن طريق قطع النوكليوتيد وإعادة اتحاد المادة الوراثية المتماثلة [٤٦]. والانكسارات الثنائية الخيط هي أضرار حرجة يؤثر سوء إصلاحها أو عدم إصلاحها على تكوين انحرافات كروموسومية، مثل ثنائيات القسّم المركزي أو الانتقالات الكروموسومية [٤٧]. ويعتبر الإصلاح عن طريق إعادة اتحاد المادة الوراثية المتماثلة وربط

النهايات غير المتماثلة في الحمض النووي أهم آليتين مستخدمتين في إصلاح الانكسار الثنائي الخيط [٤٨، ٤٩]. وتعمل هاتان الآليتان في مختلف أطوار دورة الخلية. وفي حين أن ربط النهايات غير المتماثلة في الحمض النووي يسهم بدور كبير في إصلاح الانكسار الثنائي الخيط في كل أطوار دورة الخلية فإن الإصلاح عن طريق إعادة اتحاد المادة الوراثية المتماثلة يسهم بدور متواضع في أثناء الطور G_1 ويزداد دوره تدريجياً بينما تنتقل الخلية إلى G_2 في أثناء دورة انقسامها [٥٠]. ونشر ساساكي (Sasaki) [٥١] دراسة شاملة استعرض فيها العمليات الفيزيائية الحيوية والجزيئية المفضية إلى تكوّن انحرافات كروموسومية بسبب الإشعاع.

٦-٢ الانحرافات الكروموسومية

يتضمّن المرجعان [٥٢، و ٥٣] مخططات توضّح تصنيف الانحرافات الكروموسومية.

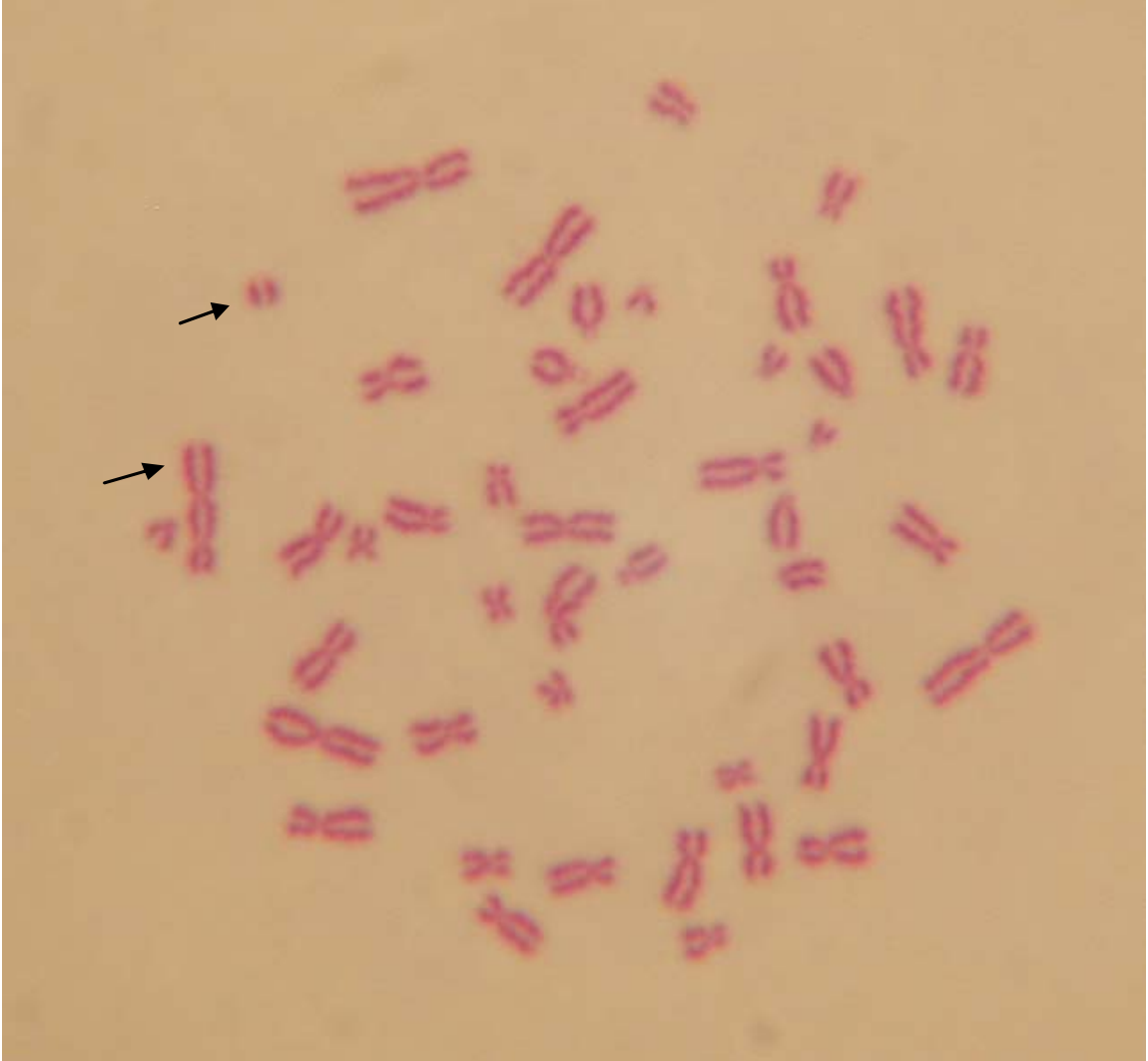
وتخرُج في العادة تجمّعات الكريات اللمفاوية الطرفية المحفزة بالتفّؤل عن مسار الدورة وتستقر في الطور G_0 من دورة الخلية. وتكون الانحرافات الكروموسومية المستحثّة بالإشعاع بعد ذلك من النمط الكروموسومي، أي أنها تشمل شقّي الكروموسوم (الكروماتيدّين). ومن المعروف تماماً أن الإشعاع المؤيّن مادة مستقل مخلق تتسبب في تكسير الكروموسومات (كلاستوجين)، خلافاً للإشعاع فوق البنفسجي والطفرات الكيميائية، وهي عوامل تخلقية تابعة. ولذلك تُستحث الانحرافات الكروموسومية والكروماتيدية بعد علاج خلايا الأطوار G_0/G_1 ، و G_2/S ، على التوالي. على أن الإشعاع فوق البنفسجي والمواد الكيميائية تستحث معظم الانحرافات الكروماتيدية في كل مراحل دورة الخلية. وإذا لوحظت انحرافات كروماتيدية في خلايا الطور G_0/G_1 التي تكون قد تعرّضت لإشعاع مؤيّن، يمكن افتراض عدم وجود إشعاع مستحثّ أو مرور الإشعاع بالفعل خلال دورة خلية ثانية داخل المختبر.

ولذلك لا تحتل الانحرافات الكروماتيدية موقعاً كبيراً في القياس البيولوجي للجرعات لأنها لا تُستحث بتشعيع الكريات اللمفاوية في الطور G_0 . على أنها تحدث كجزء من التردّد العام لخلفية الضرر الكروموسومي وقد توجد بصورة مفرطة إذا كان الشخص المشتبه بتعرضه للإشعاع لديه أيضاً تاريخ في التعرّض لمكسّرات كروموسومية كيميائية. ولذلك من المهم للشخص الذي يجري فحصاً مجهرياً أن يكون على وعي كامل بالأنماط الكروماتيدية وألا يخلط بينها وبين الأنماط الكروموسومية. وعلاوة على ذلك فقد بدأ الاهتمام مجدداً بظاهرتي تأخر عدم الاستقرار الكروموسومي وعدم المشاركة في أحداث الانحرافات الكروماتيدية في ظل ازدياد الاهتمام البحثي. ولذلك يتناول هذا القسم الانحرافات الكروموسومية بينما يناقش القسم ٦-٤ الانحرافات الكروماتيدية.

٦-٢-١ الانحرافات غير المستقرة

ثنائيات القُسَيْم المركزي

الانحراف الرئيسي المُستخدَم في القياس البيولوجي للجرعات هو الكروموسوم المحتوي على قُسَيْمين مركزيين (الشكل ١٠).

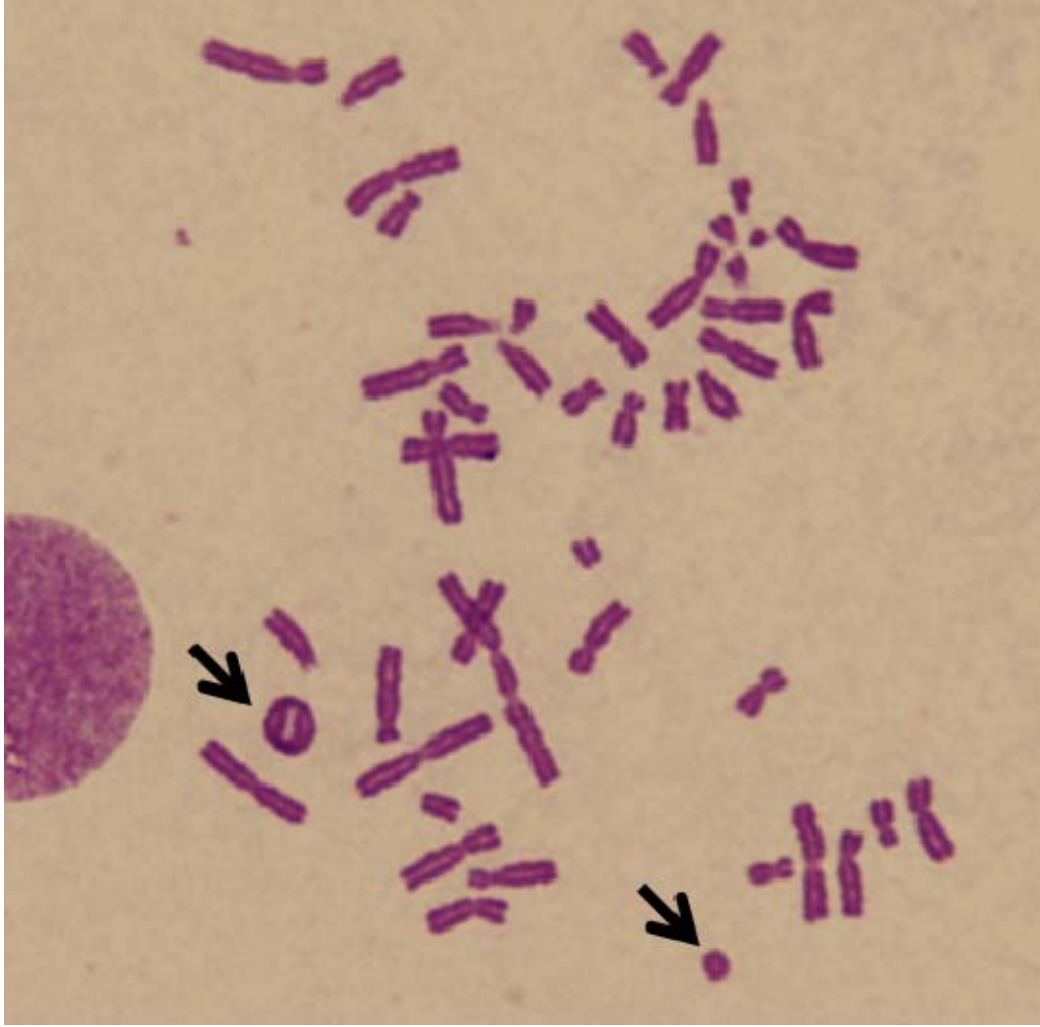


الشكل ١٠: كروموسوم ثنائي القُسَيْم المركزي وجزؤه اللامركزي المصاحب له (استخدمت صبغة غيمزا في التلوين).

والتبادل بين أجزاء القُسَيْم المركزي في كروموسومين منكسرين هو الذي تصحبه في شكله الكامل شظية عديمة القُسَيْم المركزي مؤلفة من أجزاء عديمة القُسَيْم المركزي من هذين الكروموسومين. ويمكن أن تتكوّن تشكيلات متعدّدة القُسَيْمات المركزية، خاصة بعد التعرّض لجرعات كبيرة. ويصحب ثلاثيات القُسَيْمات المركزية شظيتان عديمتا القُسَيْم المركزي، وأما رباعيات القُسَيْمات المركزية فتصحبها ثلاث شظايا عديمة القُسَيْم المركزي، وهكذا. ويتناول القسم ٩ بالتفصيل فحص ثنائيات القُسَيْم المركزي.

الحلقات المركزية

تقل الحلقات المركزية في الكريات اللمفاوية البشرية كثيراً عن ثنائيات القُسَيْم المركزي. ويجمع بعض الباحثين بين الحلقات المركزية وثنائيات القُسَيْم المركزي، بينما يختار آخرون تجاهلها في تقدير الجرعات. ويمثل الكروموسوم الحلقي تبادلاً بين انكسارين على ذراعين منفصلين لنفس الكروموسوم وتصحبه أيضاً شظية عديمة القُسَيْم المركزي (الشكل ١١).



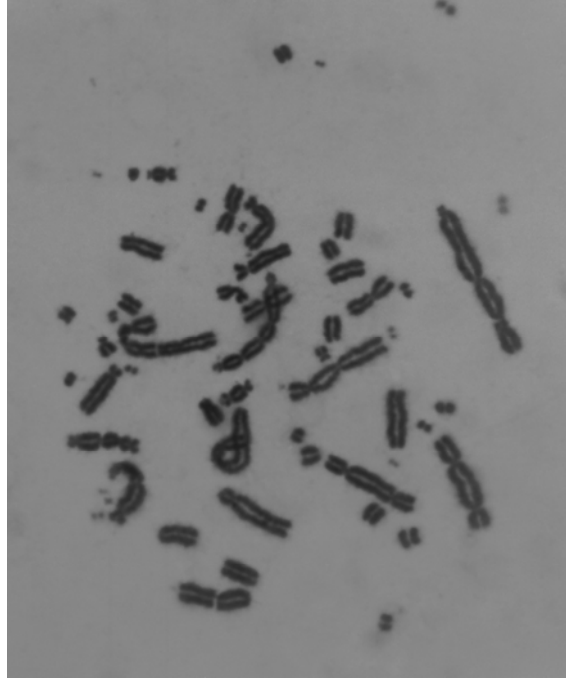
الشكل ١١: طور استوائي مصحوب بحلقتين (مشار إليهما بالسهمين) وكروموسوم يحتوي على قسيمين مركزيين وقطع عديمة القُسَيْم المركزي (استخدمت صبغة غيمزا في التلوين).

الكروموسومات العديمة القُسَيْم المركزي

انحرافات الكروموسومات العديمة القُسَيْم المركزي يمكن أن تتكوّن بصورة مستقلة عن التبادلات المبيّنة أعلاه، ويشار إليها أحياناً باسم الانحرافات اللامركزية المفرطة. وهذه الانحرافات يمكن أن تتخذ شكل شظايا ببنية محذوفة مختلفة الأحجام، ولكن يتعدّر تحديد منشأها في كل الحالات، وبالتالي فهي مجمّعة. وعادة ما تعتبر الحلقات العديمة القُسَيْم المركزي التي يمكن أن تُرى فيها مسافات واضحة بين هياكل دائرية صغيرة حذفاً بينياً، بينما تكون معظم الدقائق التي تظهر في شكل بقع مزدوجة صغيرة معتمة اللون حذفاً طرفياً [٥٤، ٥٥].

الخلايا الشاردة

تُعرَّف الخلايا الشاردة بأنها خلايا طور الاستوائي المعدة من كريات الدم اللمفاوية المستزرعة والتي تكشف عن مستويات شديدة الارتفاع من الضرر الكروموسومي دون وجود سبب واضح. ويعرض الشكل ١٢ أحد الأمثلة التي يتسع فيها بدرجة كبيرة الانكسار الكروموسومي وإعادة الترتيب بحيث يتعذر التعرف على واحد أو اثنين من الكروموسومات الطبيعية الأحادية القسيم المركزي.



الشكل ١٢: خلية شاردة لوحظت بين ٥٠٠ خلية استوائية طبيعية من شخص ضابط سليم وغير مدخن وليس له تاريخ مهني أو طبي يوحى بتعرضه للإشعاع، ويعيش في منطقة منخفضة الرادون. ويكشف الطور الاستوائي عن خصائص مميزة للكثير من الكروموسومات المتعددة القسيمات المركزية والقطع العديمة القسيم المركزي التي تشمل عدداً كبيراً من الدقائق المزوجة.

وتحتوي الخلية في المقابل على العديد من الكروموسومات المتعددة القسيمات المركزية، والقطع اللامركزية، والدقائق المزوجة. والدقائق المزوجة هي جسيمات دقيقة من الكروماتين المحتوي على بضعة ملايين من أزواج الحمض النووي القاعدية ويمكن تعريفها بأنها مكافئات وراثية خلوية لسلاسل مضخمة من الحمض النووي [٥٦].

ولوحظت هذه الخلايا الفريدة في كل العناصر والفئات العرقية في كل أنحاء العالم. من ذلك مثلاً أن الخلايا الشاردة لوحظت لأول مرة في عام ١٩٦٨ في عيّنات دم أُخذت من قبائل اليانومامي الهندية التي تسكن غابات فنزويلا المطيرة [٥٧]. وأشارت التقارير بعد ذلك إلى ملاحظة تلك الخلايا في سكان الكثير من البلدان، ومنها إنكلترا، واليابان، وأوكرانيا، وليتوانيا، والاتحاد الروسي. واستحدث مُصطلح الخلايا 'الشاردة' Awa و Neel [٥٨] اللذان وصفا هذه الخلايا في نسل أفراد المجموعات الضابطة الذين تعرضوا للإشعاع والذين لم يتعرضوا للإشعاع من التفجيرات النووية في هيروشيما. وعلى غرار الدراسات التي تتناول الناجين من القنبلة الذرية، كشفت التقييمات الوراثية الخلوية التي أجريت على السكان المُعرّضين وغير المُعرّضين الذين يعيشون على مقربة من تشرنوبل عن عدم ارتباط الخلايا الحمراء بالتعرض للإشعاع لأنها وُجدت أيضاً في مجموعات ضابطة غير مُعرّضة [٥٩، ٦٠].

وبالرغم من أن ظهور الخلايا الشاردة في البشر على نطاق العالم بات من الأمور المؤكدة بقوة، فإن أهميتها الإكلينيكية، إن وُجدت، غير معروفة. وتبين في الدراسات التي أجريت فيها معاينة متسلسلة أن الخلايا

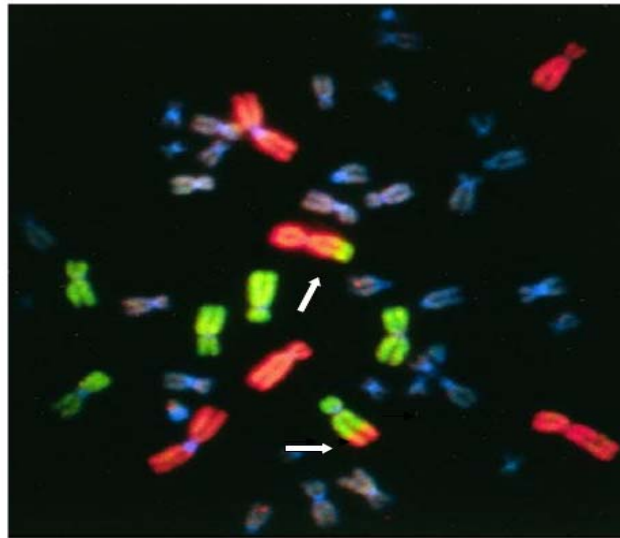
الشاردة تظهر بصورة عابرة متقطعة على دقات قصيرة متزامنة في بعض أفراد من جماعات سكانية منفصلة. وجدير بالملاحظة أن ما كُتب عن الوراثة الخلوية الإكلينيكية لا يتضمن أي إشارة إلى الخلايا الشاردة، ويرجح أن يكون مرد ذلك هو مدة المزرعة التي تستغرق ثلاثة أيام وتسمح بانقسامين أو ثلاثة انقسامات في الخلية ويُحتمل أن تُفقد الخلايا الشاردة في غضون تلك المدة. وعلاوة على ذلك فإن الوراثة الخلوية الإكلينيكية تحلل القليل نسبياً من خلايا الطور الاستوائي (أي ما يتراوح بين ١٥ و ٢٠) للوصول إلى تشخيص للحالة الطبيعية أو الشاذة للنمط النووي لدى الشخص. وفي المقابل يحلل خبراء الوراثة الخلوية الإشعاعية بصورة روتينية المئات، بل الآلاف أو أكثر من خلايا الطور الاستوائي في انقساماتها الأولى لدى الفرد، وهو ما يؤدي إلى زيادة كبيرة في احتمالات اكتشاف خلايا شاردة معروفة بتردداتها المنخفضة. وفي الختام، تظل أسباب الخلايا ظهور الشاردة وأهميتها الطبية في الكريات اللمفاوية البشرية لغزاً بالرغم من وجود بعض الأدلة التي تشير إلى أن فيروسات من قبيل فيروس التورم البشري، قد تلعب دوراً في ظهور تلك الخلايا [٦١].

وفي ضوء ظهور الخلايا الشاردة، يوصى في معظم القياسات البيولوجية للجرعات بأن تُستبعد من تقييم الجرعات الأطوار الاستوائية المنعزلة التي تبدو في شكل خلايا شاردة. ويمكن أن تُستثنى من ذلك الحالات التي يتم فيها الحصول على أدلة إضافية تثبت حدوث تعرض لإشعاعات ذات انتقال خطي مرتفع للطاقة، ومن المثالي حينئذ أن يؤدي العديد منها مضاعفة الخلايا التالفة الموجودة من خلال طيف مستمر من الأضرار.

٦-٢-٢ الانحرافات المستقرة

الانتقالات الكروموسومية المتبادلة

الانتقال الكروموسومي المتبادل هو تبادل الأجزاء الطرفية في كروموسومين منفصلين. ووصفت مختلف أنماط الانتقال الكروموسومي في الأصل باستخدام تقنية التحريم G والتنميط النووي، ولكن هذا الإجراء ينطوي على الكثير من المشقة في القياس البيولوجي الروتيني للجرعات. ولم يعد الانتقال الكروموسومي ملحوظاً بصورة يمكن الاعتماد عليها باستخدام ملون غيمزا. وبات ممكناً الآن تطبيقها على قياس الجرعات في التهجين الموضعي بالفلورسين (انظر القسم ١٠). وتظهر الانتقالات الكروموسومية المتبادلة في التهجين الموضعي بالفلورسين في شكل كروموسومات ملونة أحادية القسيم المركزي (الشكل ١٣).



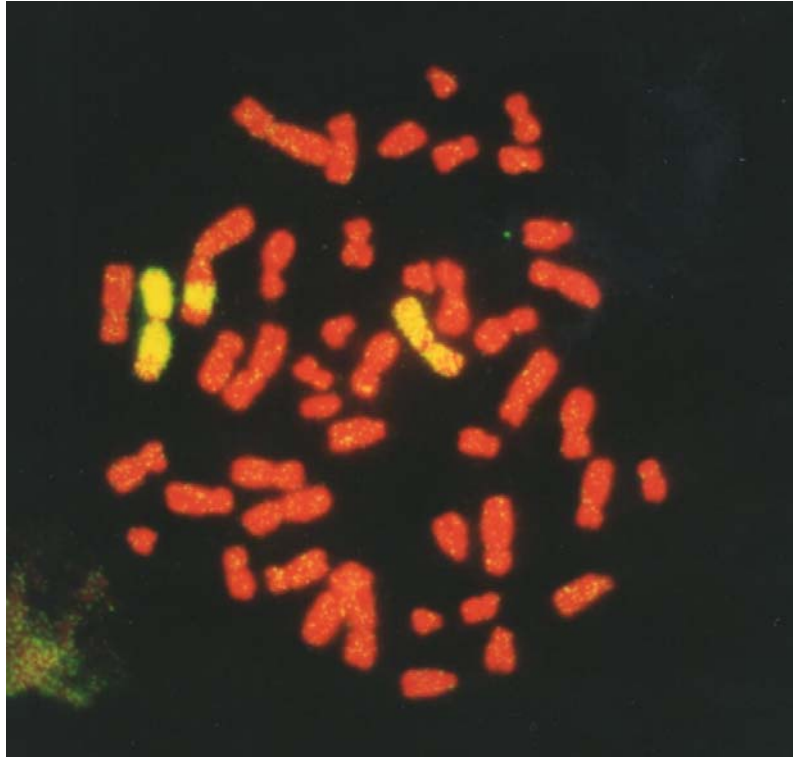
الشكل ١٣: طور استوائي يبين 'تلوين' الكروموسومات باستخدام التهجين الموضعي الفلوري للكشف عن الانتقالات الكروموسومية. و'صُبغت' الأزواج الكروموسومية ١، ٢، ٤ باللون الأحمر والأزواج ٣، ٥، و ٦ باللون الأخضر. ويتضح الانتقال الكروموسومي المتبادل من الكروموسومات الثنائية اللون (٢ و ٥) التي تبادلت أجزاء في نهايات أذرعها الطويلة (إهداء من رامسي وتاكر Ramsey and Taker، مختبر لورانس ليفرمور الوطني، الولايات المتحدة الأمريكية).

الانتقالات الكروموسومية غير المتبادلة

عندما لا يرى سوى كروموسوم واحد ثنائي اللون فإن ذلك يُطْلَق عليه في كثير من الأحيان انتقال كروموسومي طرفي أو غير كامل أو أحادي الاتجاه. على أنه بالجمع بين مجسّات الكروموسوم الكامل والقُسَم المركزي والقُسَم الطرفي، تبيّن أن عدداً من الانتقالات الكروموسومية المعروفة بأنها طرفية أو غير كاملة متبادلة في الواقع. ويرجّح بدرجة كبيرة أن تكون إشارة النظير المفقود دون حدّ الاستبانة البصرية، ولذلك يشار إلى تلك الأنماط بأنها تبادلات أو انتقالات كروموسومية أحادية الاتجاه. وترى وجهة النظر الحالية أن الانتقالات الكروموسومية الطرفية الحقيقية غير موجودة ولكنها تشكّل نسبة صغيرة من المجموع، أي أنها تبلغ مثلاً ٥ في المائة عندما تكون الجرعة ٤ غراي [٦٢].

الانتقال الكروموسومي البيني (الغرز)

هو كروموسوم ثنائي اللون غُرِزَتْ فيه شظية عديمة القُسَم المركزي من كروموسوم واحد داخل ذراع كروموسوم آخر. ومن أمثلة ذلك ما يبيّنه الشكل ١٤.



الشكل ١٤: طور استوائي بشري مصحوب بغرزات. ويظهر الزوج الكروموسومي رقم ١ باللون الأصفر بينما استخدم أيوديد البروبيديوم لتلوين كل الكروموسومات الأخرى بلون مباين.

الخلايا المستقرة وغير المستقرة

يمكن إجراء قياس بيولوجي رجعي للجرعات باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين لأن الانحرافات المستقرة، مثل الانتقالات الكروموسومية المتبادلة، تمر بنجاح خلال الانقسام القُتيلي وتنفذ إلى الخلايا الشقيقة. على أن نجاح ذلك يتطلب استقرار الجينوم الكامل. ومع ذلك يمكن أن تخفّق عملية الانتقال الكروموسومي في التوصل إلى انقسام في حالة وجود هيكل غير مرتبط أو غير مستقر، مثل وجود كروموسوم ذي قسيمين مركزيين أو شظية زائدة عديمة القُسَم المركزي في نفس الخلية. وأفضى ذلك إلى الحاجة ليس فقط إلى النظر في استقرار الأنماط الفردية للانحرافات، بل وكذلك استقرار الخلية ككل. وهذا المفهوم معترف به منذ سنوات

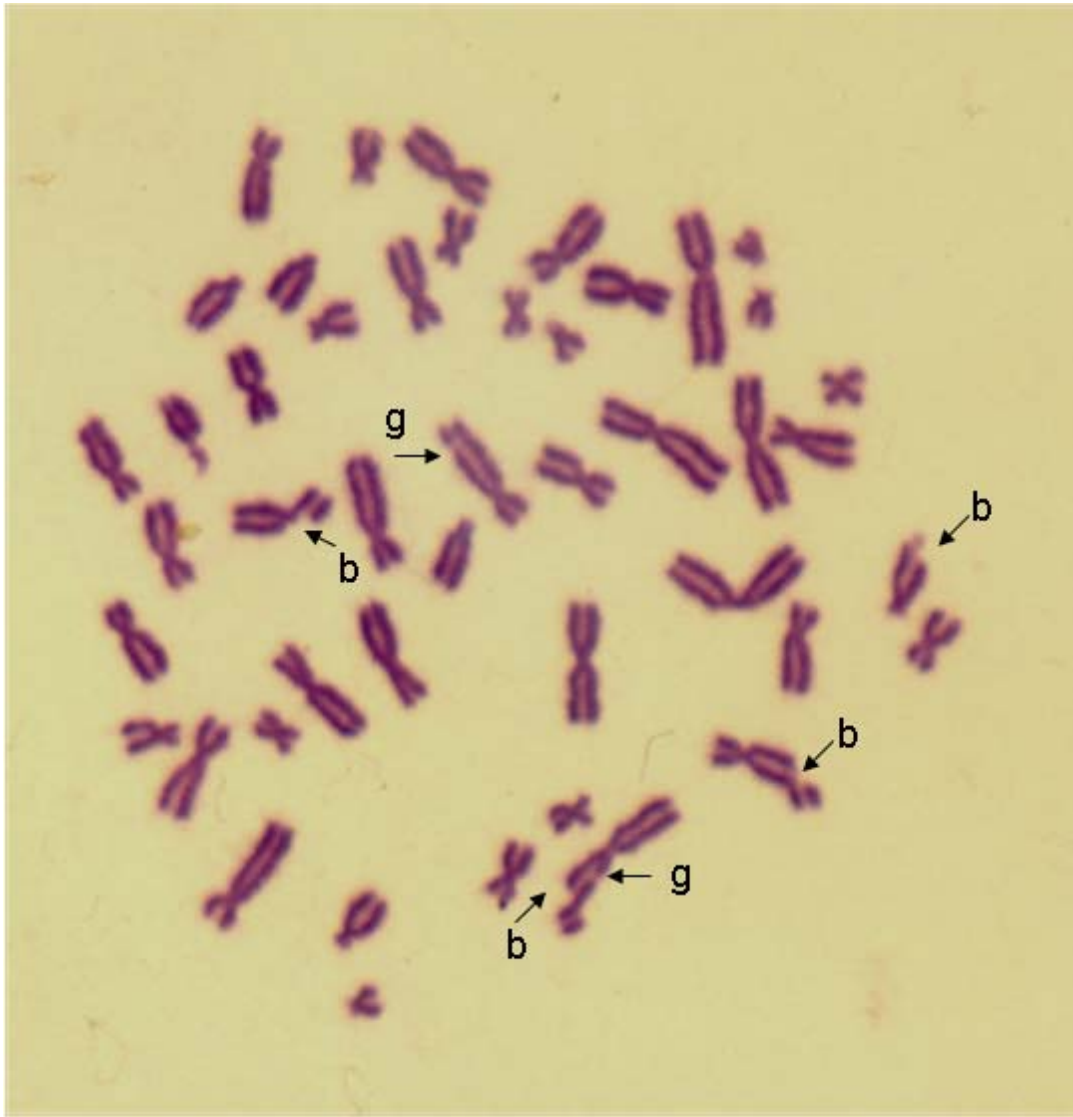
كثيرة لدى باكتون وآخرين (Buckton et al, 1967) [٦٣] الذين أدخلوا مسمّيات السيزيوم والنحاس في الخلايا المستقرة وغير المستقرة على التوالي. وبرز هذا المفهوم مرة أخرى بعد تطوّر القياس البيولوجي الرجعي عن طريق التهجين الموضعي بالفلورسين حيث ثبت أن الانتقالات الكروموسومية المتبادلة (الثنائية الاتجاه) تبدو أكثر استقراراً من الانتقالات الكروموسومية غير الكاملة (الأحادية الاتجاه) [٦٤، ٦٥].

٦-٣ الانحرافات الكروماتيدية

يُصنّف عموماً انحراف الكروماتيد بنفس طريقة تصنيف الانحرافات الكروموسومية؛ والوحدة الظاهرة المشتركة في الانحراف الكروماتيدي هي في معظم الحالات الكروماتيد الوحيد وليست الكروموسوم الكامل مثلما في حالة الانحرافات الكروموسومية.

الحذف الطرفي والبيني

الحذف الطرفي هو إزاحة مميّزة للشظية الكروماتيدية البعيدة عن الضرر (الشكل ١٥).



الشكل ١٥: طور استوائي مصحوب بانكسارات كروماتيدية (b) وفجوات (g).

وفي حال عدم حدوث أي إزاحة يجب أن يكون عرض المنطقة غير الملونة الواقعة بين المنطقتين المركزية واللامركزية أعرض من الكروماتيد حتى يمكن اعتبارها حذفاً طرفياً. ويُستخدَم هذا التعريف الأخير للتمييز بين الحذف الطرفي (الانكسار الكروماتيدي) والتغيّرات العديمة اللون (الفجوات).

ولا يمكن ملاحظة الحذف البيئي الكروماتيدي بنفس سهولة ملاحظة نظيره الكروموسومي وذلك في جانب منه بسبب انفصال القطع المحذوفة الصغيرة في كثير من الأحيان عن الكروموسوم المحذوف وعدم ملاحظتها.

التغيّرات العديمة اللون

التغيّرات العديمة اللون (أو الفجوات)، كما في الشكل ١٥، هي مناطق غير ملونة أو ذات ألوان خفيفة بدرجة كبيرة في الكروموسومات الموجودة في كروماتيد واحدٍ (وحيد) أو في كروماتيدَين شقيقين في موقعين متماثلين (ثنائي). وإذا كانت المنطقة غير الملونة أقل في اتساعها من اتساع كروماتيد معين، يُسجَل الحدث كتغيّر عديم اللون. ومن الواضح أن هذا التعريف مجرد تعريف عملي. ويُقترح عموماً تسجيل التغيّرات العديمة اللون، على أن يتم ذلك دوماً بصورة منفصلة عن الحذف الكروماتيدي. وينبغي عدم إدراج ترددها في مجاميع انحرافات كل خلية نظراً لأن أهميتها وعلاقتها بأنماط الانحرافات 'الحقيقية' الأخرى غير واضحة في الوقت الراهن.

الحذف الكروماتيدي المُناظر

يظهر حذف الكروماتيد المُناظر كحالة استثنائية لفئة الانحرافات الكروماتيديّة، إذ تشمل الكروماتيدات الشقيقة ومن الواضح أن ذلك يتم من خلال 'انكسارات' في نفس الموضع في كلا الشقين. على أن ذلك يبدو في المواد المناسبة مستحثاً بالإشعاع في طور التخليق والمرحلة G_2 من دورة الخلية مثلما في حالة الانحرافات الكروماتيديّة الأخرى.

وهناك العديد من الأنماط الممكنة تبعاً لطبيعة ما يحدث من التحامات بين الكروماتيدات الشقيقة. وإذا حدث التحام بين كروماتيدَين شقيقين، من الممكن التمييز بين الانحرافات الكروماتيديّة المُناظرة وبين الحذف الطرفي الكروموسومي. على أن الالتحام بين كروماتيدَين شقيقين في خلايا الثدييات نادر الحدوث ويكون معظم الحذف الكروماتيدي المُناظر من النمطين القريب والبعيد اللذين لا يحدث فيهما أي التحام. وغالباً لا ترتبط القطع العديمة القُسيم المركزي بالجزء المركزي المحذوف من الكروموسوم. وتنص قواعد التحليل على أنه بالنظر إلى أن الانحرافات المسنّحة بالإشعاع في الكريات اللفافية في المرحلة G_0 تكون كروموسومية فإن كل القطع العديمة القُسيم المركزي المزدوجة تندرج ضمن الحذف الطرفي الكروموسومي. ولما كان تردّد الحذف الكروماتيدي المُناظر في أي حالة منخفضاً في الكريات اللفافية فإن هذا التقليد المتبع غير معقول.

التبادلات غير المتناظرة

التبادلات غير المتناظرة (التبادلات بين الذراعين والتبادلات الكروماتيديّة غير المتناظرة) هي المكافئات الكروماتيديّة للكروموسومات ذات القسمين المركزيين.

التبادلات المُتناظرة

التبادلات المُتناظرة (التبادلات الكروماتيديّة المتناظرة)، كما في الشكل ١٦، هي المكافئات الكروماتيديّة للانتقالات الكروموسومية المتبادلة.



الشكل ١٦: طور استوائي مصحوب بتبادل كروماتيدي متناظر ملون بطريقة غيمزا.

وفي حالة التبادلات الكروماتيدية المتناظرة، تحتفظ الأزواج الجسدية بارتباط بين الكروموسومات المشتركة في التبادل، وبالتالي يمكن ملاحظتها بسهولة في غياب أي إجراءات لتحزيم الكروموسومات.

التبادلات المتناظرة وغير المتناظرة

يوجد شكلان من التبادلات المتناظرة وغير المتناظرة بين الذراعين، ولكن عند تحليل خلايا الطور الاستوائي، لا يُميّز سوى واحد فقط من كل منهما. ويسمح التزاوج الجسدي بملاحظة التبادل المتناظر.

ثلاثيات الأذرع

يمكن وصف ثلاثي الأذرع (التشكيل الثلاثي الأذرع) بأنه تفاعل بين كروموسوم به حذف كروماتيدي مناظر وكروموسوم آخر به حذف كروماتيدي.

ومن الواضح أن هذا النظام التصنيفي ليس شاملاً، إذ توجد أنماط كثيرة من الانحرافات المعقدة التي يمكن إنتاجها. والانحرافات المبيّنة هي الأكثر شيوعاً. ويقدم سافيدج (Savage) [٥٢] تصنيفاً أشمل.

٦-٤ التكتف الكروموسومي المبتر

وعندما يبدأ الانقسام الفتيلي للخلايا في أثناء متابعتها دورة انقسامها، يتكثف الكروماتين في الكروموسومات المعروفة الشكل. واستحدثت تقنيات لتكثيف الكروماتين أيضاً عندما لا يحدث انقسام فتيلي ويسمى ذلك بالتكثف الكروموسومي المبتر. ويمكن إحداث التكتف المبكر عن طريق دمج خلايا الطور البيئي في خلايا مبيض القداد الصيني في أثناء انقسامها الفتيلي أو في خلايا الهيللا باستخدام فيروس سينداي أو الغليكول المتعدد الإيثيلين كعامل إدماج [٦٦]. على أن الإدماج باستخدام فيروس سينداي يتطلب خلايا تستطيع أغشيتها أن تستقبل بشكل خاص الجزيئات الفيروسية، وأشارت التقارير إلى أن الكريات اللمفاوية في الطور G_0 لا يمكن دمجها بصورة مقبولة باستخدام فيروس سينداي. وتم التغلب على هذه الصعوبة في القياس البيولوجي للجرعات باستخدام الغليكول المتعدد الإيثيلين في إحداث التكتف الكروموسومي المبتر [٦٧].

واستُحدثت أيضاً أساليب كيميائية لإحداث التكثف الكروموسومي المبتر باستخدام مثبطات فسفرة الحمض النووي، مثل حمض الأوكاديك أو الكليكولين A. ويُشترط في معظم هذه الأساليب أن تتابع الخلايا أطوار دورتها في المزرعة [٦٨، ٦٩].

وتمثل تقنية التكثف الكروموسومي المبتر التي يتناولها بالتفصيل القسم ١١ أداة بحثية مفيدة للغاية في فحص العمليات التي تحدث مباشرة بعد التشعيع وحركية استرجاع و/أو إساءة إصلاح الانكسارات الكروموسومية لتكوين الانحرافات (أي ثنائيات القسيم المركزي والانتقالات الكروموسومية) [٧٠-٧٢]. وتثبت هذه الدراسات أن ثنائيات القسيم المركزي والانتقالات الكروموسومية الكاملة وغير الكاملة والقطع العديمة القسيم المركزي التي تلاحظ في نهاية المطاف خلال الطور الاستوائي تتكوّن في المرحلة G_0 في أوقات مختلفة تبعاً للجرعة. وفي حالة الكريات المفوية البشرية، تتكوّن ثنائيات القسيم المركزي والانتقالات الكروموسومية بسرعة عند التعرّض لجرعات منخفضة من الأشعة السينية (١-٢ غراي). على أنه عند التعرّض لجرعات أكبر تتراوح بين ٤ و ٦ غراي، تزداد ترددات التبادلات الكروموسومية بالتناسب مع استرجاع الانكسارات الكروموسومية (إصلاحها).



الشكل ١٧: التكثف الكروموسومي المبتر المستحث بالدمج باستخدام الغليكول المتعدد الإيثيلين في كرية لمفاوية بشرية غير مشعّة ملتحمة بخلية قتيالية من مبيض القداد الصيني. ويمكن رؤية ٤٦ تكثفاً كروموسومياً مبكراً مميّزاً أحادي الكروماتيد.

٦-٤-١ تقنيات التكثف الكروموسومي المبتر

يمكن تقسيم مختلف تقنيات التكثف الكروموسومي المبتر على النحو التالي:

فحص الإدماج - التكتف الكروموسومي المبتسر هو أول تقنية وُصِفَت في المؤلفات التي صدرت في عام ١٩٧٤ [٧٣، ٧٤]. وفي هذا الاختبار، تُدمج الكريات للمفاوية مع الخلايا الفتيلية المأخوذة في كثير من الأحيان من مبيض القداد الصيني لإحداث تكتف مبكر في الكروموسومات البشرية [٦٧]. ويمكن باستخدام هذا النهج الحصول على عدد الأجزاء الكروموسومية البشرية وبالتالي عدد القطع الكروموسومية المستحثة بالإشعاع التي تزيد عن تردد الخلفية. واستُخدم هذا النهج في تقدير التعرض غير المتماثل [٧٥]. والميزة الرئيسية لهذا الأسلوب هو إمكانية ملاحظة الضرر بعد فترة وجيزة من أخذ عينة الدم.

الفحص السريع لكروموسومات الطور البيني يسمح برؤية الضرر المستحث بالإشعاع باستخدام مجسّات التهجين الموضعي بالفلورسين. ويتكتف الحمض النووي للكروموسومات اصطناعياً للتعرف على الميادين الكروموسومية وكشف التبادلات بين ميدانين مختلفين [٧٦-٧٨].

فحص ثنائيات القسيم المركزي - التكتف الكروموسومي المبتسر يسمح بملاحظة ثنائيات القسيم المركزي في الأطوار الأخرى من دورة الخلية (الطور G_2 بصورة أساسية) بخلاف الطور M الكلاسيكي، وبالتالي رؤية الخلايا التي لم يكن من الممكن رؤيتها باستخدام الفحص التقليدي لثنائيات القسيم المركزي [٧٩]. وهذا الأسلوب مهم بدرجة كبيرة عندما ينخفض عدد الكريات للمفاوية بعد التعرض وعندما يتعذر الحصول على الانقسامات الفتيلية الكلاسيكية. ويمكن تخفيض المدة الزمنية بين أخذ العينة وتقدير الجرعة باستخدام أسلوب الإدماج والتكتف الكروموسومي المبتسر [٧٩]، على أنه باستخدام التقنيات الكيميائية لإحداث التكتف الكروموسومي المبتسر تقوم معظم المختبرات بإنشاء مزرعة لمدة ٤٨ ساعة وبالتالي لا يحدث أي تقليص في المدة الزمنية.

فحص الحلقات باستخدام التكتف الكروموسومي المبتسر يقابل رؤية الحلقات المستحثة بالإشعاع في خلايا في مختلف أطوار دورة الخلية (الشكل ١٨).

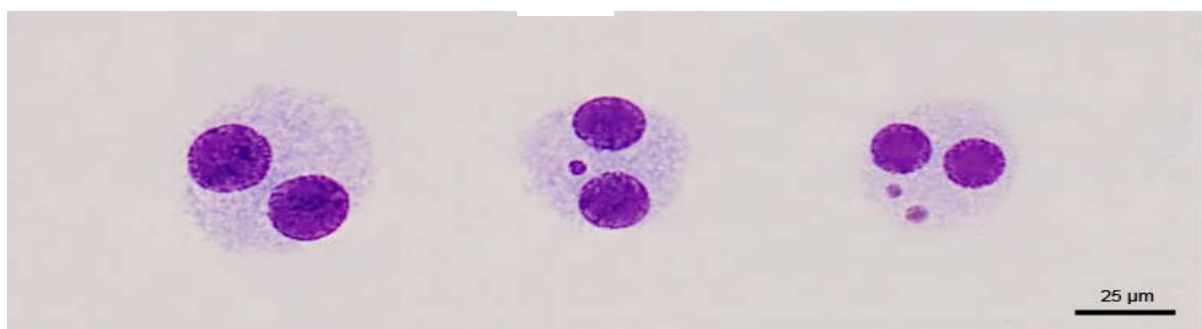
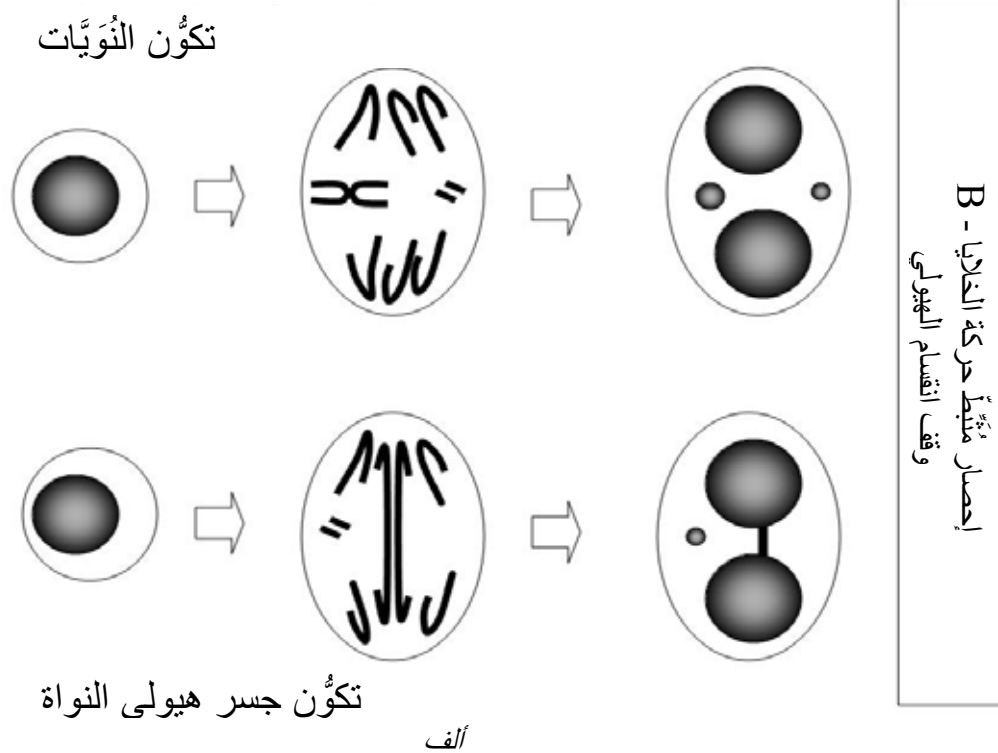


الشكل ١٨: حلقات التكتف الكروموسومي المبتسر (الأسهم) في كريات لمفاوية مأخوذة من المريض 'ألف' في حادث توكاي مورا (انظر القسم ١١-٣).

والميزة الرئيسية لهذا النهج تكمن في قياس جرعات أقوى كثيراً من الفحص الكلاسيكي لثنائيات القسيم المركزي حيث لا يظهر تشبّع عدد الحلقات إلا في الجرعات التي تزيد على ٢٠ غراي عندما يكون الإشعاع ذا انتقال خطي منخفض للطاقة [٧٠، ٨٠، ٨١].

٥-٦ النُويّات

تتكوّن النُويّات من القطع الكروموسومية المتخلّفة أو الكروموسومات الكاملة في الطور الانفصالي التي لا تدخل ضمن نوى الخلايا الشقيقة (الشكل ١٩ - ألف، وباء). ولذلك يمكن رؤيتها بوضوح كأجسام كروية صغيرة لها نفس التركيب المورفولوجي وخصائص تلوّن النوى في هيولي الخلايا الشقيقة [٨٢].



باء



جيم



الشكل ١٩: (A) رسم تخطيطي يبيّن آلية تكوّن النُوَيَّات وجسور هيولي النواة في فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي. (B) أمثلة للخلايا الثنائية النواة المحتوية وغير المحتوية على نوية واحدة ونويتين. (C) أمثلة للخلايا الثنائية النواة المحتوية على جسر هيولي نواة واحد وجسرين اثنين؛ ويصاحب جسر هيولي النواة في كل حالة نُويّة.

وتم التوصل إلى ابتكار تقني رئيسي في أواسط ثمانينات القرن الماضي، وهو أسلوب وقف انقسام الهيولي في الكريات المفاوية المستزرعة عن طريق إضافة مثبّط حركة الخلايا سايتوكالاسين-B إلى الوسط دون تثبيط الانقسام النووي. وينتج عن تثبيط الحركة الخلوية [٨٣، ٨٤] خلايا ثنائية النواة بدلاً من السماح لخليتين شقيقتين بالانفصال. وباستخدام هذا البروتوكول يمكن بالتالي التمييز بين الخلايا المتكاثرة (بعد الانقسام الفتيلى الأول) وغير المتكاثرة، وتحديدًا فحص النويات في الخلايا القادرة على استخراج النويات، أي الخلايا الثنائية النواة. ويسمح الاختبار المعدّل بتحديد وقياس النويات في الخلايا الثنائية النواة التي تحتفظ بالهيولي (الشكل ١٩- باء).

ويمكن زيادة تحسين قياس النُويّات في الخلايا الثنائية النواة عن طريق استخدام مجسّات القُسيم المركزي التي تسمح بالتمييز بين النُويّات الناشئة عن القطع الكروموسومية القديمة القُسيم المركزي وبين النُويّات الناشئة عن الكروموسومات الكاملة [٨٥، ٨٦].

وتفتح التطوّرات الراهنة في مجال أتمتة قياس النُويّات آفاقاً جديدة أمام استخدام هذا الفحص في تقييم الإصابات الإشعاعية الجماعية والرصد البيولوجي الروتينية [٨٧] (القسم ١٣-٣-٣).

وتطوّر أيضاً الآن فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي إلى فحص النظام الخلوي (السايتوم) حيث يمكن تقييم طيف من الأضرار الكروموسومية، بما فيها الانكسارات، وإعادة ترتيب الكروموسومات غير المتناظرة، وفقدان الكروموسومات، وعدم الانفصال، فضلاً عن موت النسيج الحي، والموت المبرمج، والركود الخلوي [٨٦]. ويُستخدم هذا الأسلوب أيضاً على وجه التحديد لقياس جسور الهيولي النووي (الشكل ١٩- ألف، وجيم) وهي علامة بيولوجية بديلة لثنائيات القُسيم المركزي التي تنشأ عن اندماج نهايات الطور النهائي أو سوء إصلاح الانكسارات الثنائية الخيط في الحمض النووي [٨٦]. وبالتالي فإن جسور الهيولي النووي التي تقاس في فحص سايتوم وقف انقسام الهيولي تنطبق على القياس البيولوجي للجرعات الناشئة عن التعرّض للإشعاع المؤيّن [٨٨]. ولوحظ ارتباط قوي وتشابه في منحنيات الجرعة والاستجابة بين جسور الهيولي النووي وثنائيات القُسيم المركزي والحلقات المركزية [٨٩].

ويتضمّن القسم ١٢ معلومات مفصّلة عن تحليل النُويّات وفحص السايتوم.

٧ - أخذ عيّنات الدم

١-٧ التوقيت

يمكن أخذ عيّنة دم من الوريد، ويفضّل أن تكون ١٠ مليلتر، في غضون بضع ساعات من حدوث تعرّض إشعاعي للجسم بكامله. على أنه في حالة تعرّض جزء من الجسم أو التعرّض غير المتماثل، لن تكون الكريات اللمفاوية في التجمّعات داخل الدورة الدموية وخارج الأوعية الدموية قد وصلت إلى حالة التوازن إلا بعد مرور ٢٤ ساعة [٩٠]. ويمكن أن يسفر ذلك عن نسبة لا تمثّل الخلايا المشعّة في العينة، وبالتالي يستصوب تأخير أخذ العيّنة حتى اليوم التالي على الأقل. وينبغي الحرص على الحصول على العيّنة فوراً لأنه حتى إذا ظلت بارامترات دم المريض في الحدود الطبيعية بعد نحو أربعة أسابيع، فإن ناتج الانحرافات يبدأ في الهبوط، وينشأ المزيد من الريبة بشأن أي تقديرات للجرعة الإشعاعية [٩١].

وفي حالة حدوث تعرّض زائد خطير يربّح معه استنفاد شديد لعدد خلايا الدم البيضاء، يمكن أن توجد 'نافذة زمنية' تستغرق بضع ساعات أو أيام فقط قبل هبوط عدد الكريات اللمفاوية إلى مستويات يتعذر معها الحصول على ما يكفي من الخلايا لإجراء التحليل الوراثي الخلوي. وإذا كان العلاج الطبي يشمل نقل دم كامل أو نقل أجزاء من الدم، من المهم الحصول على عيّنة من دم المريض قبل بدء العلاج. ولأغراض المصلحة العلمية، ينبغي للمختبر أن يسعى إلى الحصول على سلسلة عيّنات من الدم على فترات متكررة. وهذا الإجراء مقبول أخلاقياً لأن هذه العيّنات ستساعد على رصد التغيّرات في الفروق بين أعداد خلايا الدم البيضاء.

وقد لا يتعدّر في كل الحالات استزراع الخلايا فوراً إذا أجريت عملية أخذ العيّنة مثلاً في منطقة نائية غير مزودة بوسائل اتصال جيدة. ويمكن الاحتفاظ بعيّنات الدم مُبرّدة ولكن انتهاء صلاحية الكريات اللمفاوية سرعان ما يشكّل مشكلة كبيرة [٩٢]. ويتم التغلّب على المشكلة عن طريق تحفيز الخلايا اللمفاوية باستخدام الفيتوهيماغلوتينين فوراً بعد إجراء البزل الوريدي والاحتفاظ بالعيّنة باردة (أقل من ٢٠ درجة مئوية) حتى لا تتحوّل الكريات اللمفاوية وتتطوّر خلال دورة الخلية لحين تسخين الخلايا إلى درجة ٣٧ مئوية. ومكّن الأسلوب التالي الذي استحدثه ساساكي (رسالة شخصية) من استزراع الخلايا بعد ذلك بنحو أسبوعين:

- (١) تُعدّ مسبقاً أنابيب معقّمة سعتها ١٠ مليلتر تحتوي على ٥ مليلتر من وسط ليبوفيتس (L-15 Leibovitz) ومصل جنين أبقار ٢٠ في المائة و الفيتوهيماغلوتينين المجفف ٤ في المائة (وسط ليبوفيتس L-15 أساسي في حالة النقل لمدة طويلة لأنه معزول بأحماض أمينية تزيد ١٠ أضعاف على أي وسط آخر ويظل أسها الهيدروجيني (pH) ثابتاً لمدة طويلة).
- (٢) تؤخذ عيّنة الدم في أنبوب تقليدي معالج بالهيبارين.
- (٣) يوضع ٥ مليلتر من الدم المعالج بالهيبارين في أنبوب يحتوي على الوسط L-15 ويمزج الخليط.
- (٤) يُحتفظ بالأنابيب باردة (أقل من ٢٠ درجة مئوية)؛ ويمكن في هذه الحالة تخزينها أو إرسالها إلى المختبر دون حدوث انخفاض ملموس في سلامتها.
- (٥) توصل الخلايا بعد ذلك في الوسط التقليدي وتعالج باتباع نفس الخطوات المبينة لاحقاً في القسم ٩-١ لإنشاء المزارع التقليدية.

ويتعين في حال استخدام إجراءات وسط ليبوفيتس التثبيت منه عن طريق منحني للجرعة والاستجابة في نفس الظروف.

٢-٧ مضادات التجلّط

هيبارين الليثيوم الحر هو أكثر المواد الحافظة المانعة للتجلّط استخداماً في مزارع الكريات اللمفاوية بالرغم من إمكانية استخدام هيبارين الصوديوم أو الأمونيوم. وتؤدّي موانع التجلّط المتاحة الشائعة، مثل ثنائي أمين الإيثيلين رباعي حمض الخليك (EDTA) إلى ضعف في نمو الخلايا وينبغي عدم استخدامه. وفي حال الحصول على عيّنة في مضاد تجلّط غير سليم، يفضّل طلب عيّنة طازجة. على أن ذلك قد لا يتسنّى تحقيقه في كل الحالات، وفي هذه الحالة يمكن 'إنقاذ' العيّنة عن طريق غسلها. ويتم إجراء ذلك عن طريق أخذ ٤ مليلتر من الدم وإضافة ٦ مليلتر من محلول هانك (Hank) أو إيرل (Earle) الملحي المتوازن أو وسط استزراعي

وتعريضه لطرد مركزي باستخدام ٦٠٠g لمدة تتراوح بين ٣ و ٥ دقائق. وتنزع المادة الطافية ويضاف ١٠ ملليلترات طازجة من سائل الغسل إلى حبيبة الخلايا وتحرك حركة مغزلية مرة أخرى. وبعد إزالة المادة الطافية يمكن إعادة الخلايا المغسولة إلى حجمها الأصلي عن طريق إضافة وسط استزراع يحتوي على منصل جنين أبقار ١٠ في المائة. ويمكن إنشاء المزارع بعد ذلك حسب ما هو مبين لاحقاً في القسم ٩-١ وتعالج العينة المغسولة كما لو كانت عينة دعم طبيعية.

٣-٧ الحاويات

يمكن الحصول على أنابيب العينات الزجاجية أو البلاستيكية التي يمكن التخلص منها والمحتوية على المقادير الصحيحة من هيبارين الليثيوم من العديد من المصنعين. ويمكن استعمال النوع القديم من الأنابيب ذات الغطاء الحلزوني والأنابيب المفرغة. ويجب أن تكون الأنابيب معقمة، ويقوم الكثير من الشركات المصنعة دورياً بتوفير تلك الأنابيب معقمة، ولكن لا بد من التأكد من ذلك. وينبغي تلافي استخدام الأنابيب المحتوية على حبيبات زجاجية أو بلاستيكية أو المحتوية على مواد جيلاتينية. وإذا استخدم الهيبارين المجفف، من المهم أن يمزج جيداً بالدم عن طريق قلب الأنبوب عدة مرات. ويُفضل أن يوفّر مختبر الوراثة الخلوية أنبوب عيّناته من مخزونه الخاص. وبالمناسبة فإن ذلك يتيح فرصة إدراج مجموعة مفصلة من التعليمات للطبيب ويعالج بشكل صحيح التغليف السليم عند إعادة العينات.

٤-٧ النقل

من المثالي الاحتفاظ بعينات الدم في درجة حرارة تتراوح بين ١٨ و ٢٤ درجة مئوية في أثناء نقلها. وإذا كان من المحتمل أن تخرج درجات الحرارة عن هذا النطاق، يُستصوب استخدام مبرد ومجموعة أدوات الاحتفاظ بدرجة حرارة الغرفة وأجهزة تسجيل درجة الحرارة. وينبغي في كل الحالات تلافي التجميد في أثناء النقل.

وينبغي أن الامتثال في أثناء نقل العينات للوائح الوطنية و/أو الدولية لنقل المواد المعدية السارية حسب ما هو مبين في التوجيهات الحالية الصادرة عن منظمة الصحة العالمية بشأن لوائح نقل المواد المعدية [٩٣]. وتشرح هذه الوثيقة أيضاً للشاحنين كيفية تصنيف وتوثيق وتمييز ووسم وتغليف المواد المعدية أو التي يمكن أن تكون معدية، مثل عينات الدم التشخيصية.

ويمكن استخدام الأنابيب الزجاجية أو البلاستيكية المعيارية المحتوية على هيبارين الليثيوم. وينبغي وضع الأنابيب في حاوية ثانية صلبة ومقاومة للكسر ومانعة للتسرب. وينبغي أن تبطن الحاوية بمادة لتخفيف الصدمات ومادة ماصة كافية لامتصاص كل المحتويات، ولكن يجب ألا تحتوي على أكياس تبريد. وينبغي وضع الحاوية الثانوية بعد ذلك في غلاف خارجي، مثل صناديق الورق المقوى، وتوضع عليها علامات واسمة مناسبة. وتتميز شحنات عينات الدم التي لا يُعرف ما إذا كانت تحتوي على مسببات أمراض، لأغراض التشخيص، بعبارة 'UN 3373. BIOLOGICAL SUBSTANCE, CATEGORY B' (الأمم المتحدة ٣٣٧٣. مادة بيولوجية، الفئة ب). ولذلك ينبغي أن تشمل علامة التوسيم هذه العبارة إلى جانب علامة بيضاء على شكل معين يُكتب داخلها بأحرف سوداء 'UN 3373' (الأمم المتحدة ٣٣٧٣). وعلاوة على ذلك، ينبغي وضع علامة على عبوة التغليف تحمل اسم المرسل وعنوانه ورقم هاتفه؛ واسم المرسل إليه وعنوانه ورقم هاتفه؛ ورقم هاتف شخص مسؤول على علم بالشحنة [٩٣].

وإذا كان هناك ما يدعو إلى الاعتقاد بأن التبريد أو عبوات الاحتفاظ بدرجة حرارة الغرفة مطلوبة، ينبغي وضعها خارج الحاوية الثانوية وينبغي أن يكون التغليف الخارجي من مادة عازلة للحرارة، مثل صناديق البوليستيرين الممدّد. وتتاح تجارياً وسائل التغليف الممتلئة للوائح.

وفيما يتعلق بالشحنات الدولية، يتعيّن على الشاحنين الحصول على تصاريح التصدير أو الاستيراد الضرورية وينبغي إخطار المختبر المتلقّي قبل إرسال شحنة العينات حتى يمكن ترتيب الحصول على ترخيص استيراد عند الاقتضاء. ومن المناسب في كثير من الأحيان استخدام شركات الشحن الدولية التي توفّر خدمة سريعة من الباب إلى الباب، وتتعامّل مع كل الإجراءات الورقية المتعلقة بالجمارك، وما إلى ذلك.

ويمكن قبول مدة عبور تتراوح بين يومين وثلاثة أيام؛ على أن عيّنات الدم تحتاج إلى خدمات تسليم خاصة لتلافي التأخير لمدة طويلة مثلما في حالات العطلات الوطنية.

وينبغي عند نقل عيّنات الدم جواً ألاّ تتعرّض للفحص الأمني بالأشعة السينية. وإذا كان من المرجّح أن يحدث ذلك، ينبغي وضع جزء من فيلم أشعة سينية أو مقياس وميض عادي أو شارة رصد وميضية محفّزة بصرياً داخل العبوة. وينبغي أن تحمل عبوة التغليف عبارة 'DO NOT X-RAY' (لا تُفحص بالأشعة السينية). وينبغي ذكر ذلك أيضاً في المستندات المصاحبة للشحنة.

٨ - إعداد منحنى الجرعة والاستجابة داخل المختبر

٨-١ اعتبارات عامة

بالرغم من تحسُّن التقنيات واستخدام مختلف العمال برامج إحصائية متشابهة لتحليل البيانات لا تزال هناك اختلافات بين منحنيات المعايرة في المختبرات. وقد يؤدي تفسير جرعة باستخدام منحنى معايرة متكوّن في مكان آخر إلى المزيد من عدم التيقُّن، ولذلك يوصى أي مختبر يعتزم إجراء قياس بيولوجي للجرعات أن يحدّد بياناته الخاصة المتعلقة بالجرعة والاستجابة [٩٤].

وتتطوي معظم التعرُّضات الزائدة العارضة على مصادر إشعاعات غاما وإن كان هناك أيضاً عدد لا يستهان به من الأحداث التي تنطوي على أشعة سينية. ومن المعروف بصورة مؤكّدة أن هذين الإشعاعين اللذين ينطويان على انتقال خطّي منخفض للطاقة يعايران بطريقة مختلفة، خاصة عندما تكون الجرعات منخفضة. وبالتالي لا بد لأي مختبر يُقبل على برنامج للقياس البيولوجي للجرعات أن يحدّد أولاً بيانات الجرعة والاستجابة لهذين النوعين الإشعاعيتين. ومن حُسْن الحظ أنه قلما تقع أحداث تنطوي على تعرُّض نيوتروني، وإن كان لا بد من النظر في احتمالات أن يُطلَب من المختبر أن يتصدّى لحادث ينطوي على حرجية. وإذا كان الأمر كذلك، سيلزم تكوين منحنى معايرة لنيوترونات طيف الانشطار.

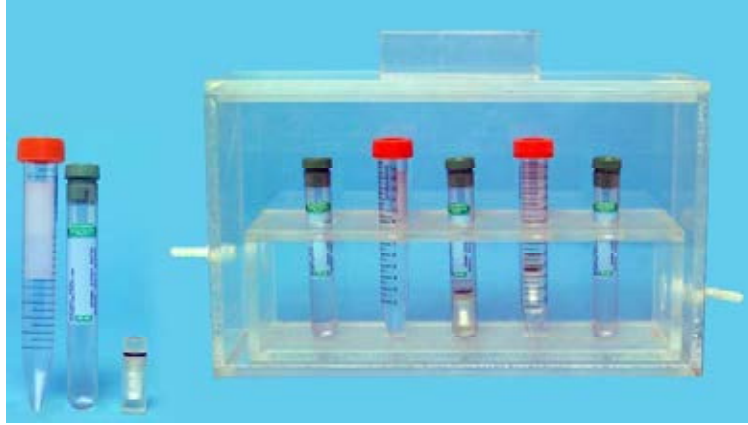
وينبغي تشجيع الكريات اللمفاوية داخل المختبر لتقريبها قدر المستطاع إلى حالة الجسم الحي، وعندما يتم ذلك، تتحقّق نفس العلاقة بين الجرعة والاستجابة [٩٥]. وينبغي استخدام عيّنات الدم الطازجة المحتفظ بها في أنابيب محتوية على هيبارين الليثيوم، وينبغي تشجيعها كدم كامل عند درجة حرارة ٣٧ مئوية. وينبغي بعد تشجيعها الاحتفاظ بها لمدة ساعتين أخريين عند درجة حرارة ٣٧ مئوية ثمّ توضع في مزرعة باستخدام الأسلوب المعياري المماثل للأسلوب المستخدم في فحص ثنائيات القسَم المركزي، أو الانتقالات الكروموسومية، أو النُويّات في العيّنات المأخوذة من المرضى المشتبه بتعرضهم لإشعاعات زائدة.

٨-٢ اعتبارات فيزيائية

ينبغي أن يكون إعداد منحنى الجرعة والاستجابة مدعوماً بقياس فيزيائي موثوق ودقيق للجرعة، ولا بد من مراعاة عدد من الاعتبارات، إذ ينبغي وضع الدم بحيث يمكن استخلاص الجرعة بسهولة، وينبغي عند تعريضه أن يكون على مسافة كافية من المصدر حتى يمكن اعتبار التشعيع متماثلاً. من ذلك مثلاً أنه إذا كان سمك العيّنة ١ سنتيمتر، ينبغي حينئذ أن تكون العينة على مسافة لا تقل عن متر واحد من المصدر حتى يكون الفرق في الجرعة بين المقدمة والخلفية أقل من ٢ في المائة. ولا بد من وجود مادة كافية محيطة بالدم لإيجاد توازن في الجسيمات المشحونة. وفي حالة أشعة غاما المتولّدة باستخدام الكوبالت - ٦٠، يكفي استخدام مادة كثافتها تكافئ ٤ ملليمترات من الماء؛ وفي حالة أشعة إكس بذروة فلطية قدرها ٢٥٠ كيلو فلت، لا يلزم سوى ١ ملليمتر. ويكفي في العادة أيضاً في حالة النيوترونات أن تكون الكثافة ١ ملليمتر.

وينبغي تقليل المواد المحيطة إلى أدنى حد لتلافي مضاعفات تشتت الإشعاع. وينبغي أن يتشابه الترتيب الذري للمواد مع الدم لأن الجرعة التي ستصل إلى الدم القريب من جدار حاوية العيّنة ستنشأ عن الإلكترونات المتولّدة عن التفاعلات داخل الجدار. ويؤدي التناثر الخطير في التركيب الذري إلى تشعيع غير متجانس للخلايا. وفي حالة الأشعة السينية وأشعة غاما، تمثل كثافة الإلكترون أهم عامل عند النظر في التناثر، وأما في حالة النيوترونات فإن المكوّنات الذرية هي العامل الهام لأن النيوترونات تتفاعل مع نوى الذرات المستهدفة.

وينبغي معايرة ترتيبات التعرض عن طريق إجراء قياسات فيزيائية، ويشيع استخدام غرفة تأيين، ويمكن أيضاً استخدام وسائل أخرى. ويبين الشكل ٢٠، على سبيل المثال، القياسات باستخدام الألانيّن.



الشكل ٢٠: مصفوفة التعرض المستخدمة في حمل وتثبيت أنابيب اختبار سعتها ١٥ مليلتر وأنابيب الدم المفرغة بسعة ١٠ مليلتر لتعريضها للإشعاع باستخدام مصادر أشعة غاما. وتصنع حاوية صندوق مصفوفة التعرض من اللدائن الزجاجية (بلكسي جلاس) ويبلغ سمك جدرانها ٦ ملليمتر كجزء من تصميمه لضمان توازن الجسيمات المشحونة. وتزود حاوية الصندوق أيضاً بفتحات في طرفيها للسماح بتدفق الماء باستخدام حمام ماء متجدد (غير ظاهر في الصورة) للحفاظ على درجة حرارة المحتويات عند ٣٧ درجة مئوية في أثناء التشعيع. ويبين الشكل أيضاً أنابيب الاختبار والأنابيب المفرغة المملوءة بالماء أو قوارير الألانين المستخدمة في قياس الجرعات [٩٧] (إهداء من معهد بحوث البيولوجيا الإشعاعية التابع للقوات المسلحة، الولايات المتحدة الأمريكية).

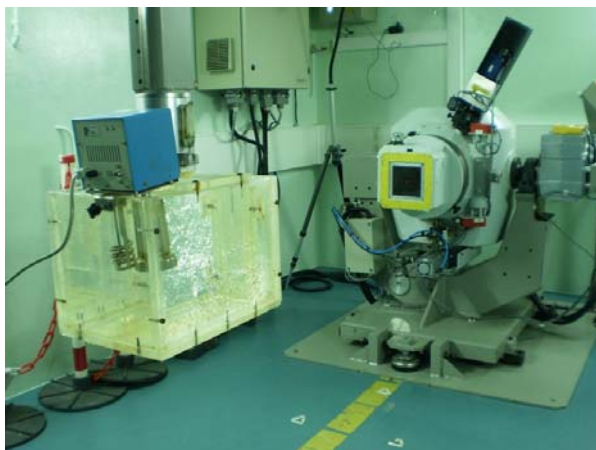
وينبغي أن يكون مكشاف جهاز القياس الفيزيائي للجرعات محاطاً بمادة مكافئة للمادة المحيطة بالدم. وينبغي، إن أمكن، أن يكون متماثلاً في أبعاده مع عينة الدم حتى يمكنه أن يحل محل العينة في أثناء قياس الجرعة. ويُعابير جهاز القياس الفيزيائي في كيرما الهواء باستخدام وحدة الغراي مع إمكانية مقارنته بمعيار وطني. ومعامل التحويل إلى الغراي في النسيج الرخو هو نسبة معاملات امتصاص الطاقة إلى الكتلة. ويتم الحصول على ذلك عددياً عن طريق ضرب كيرما الهواء في ١,٠٩ للأشعة السينية التي تبلغ ذروة فلطيته ٢٥٠ كيلو فلو و ١,١٠ بالنسبة لأشعة غاما باستخدام مصدر الكوبالت - ٦٠. ولذلك فإن العامل يتوقف على الطاقة ويقل بانخفاض الطاقة. وهناك أيضاً فرق بين معاملات التحويل في النسيج الرخو وفي الدم، ويكون الفرق صغيراً بالقدر الذي يدعو إلى تجاهله في الإشعاع ذي الانتقال الخطي المنخفض للطاقة. وأما النيوترونات فقد تقترب من ٥ في المائة. ويشمل معامل المعايرة أي امتصاص في جدار غرفة التأين، ولكن يلزم في كثير من الأحيان تصحيح معدل الجرعة بسبب الامتصاص الذاتي في الدم.

والأسلوب المعتاد لتحديد الجرعات هو تحويل كيرما الهواء المقاس إلى جرعة ممتصة في النسيج أو الدم ثم تحويلها حسب اللزوم لمراعاة المسافة (قانون التربيع العكسي)، والامتصاص وتناثر المادة على المستوى البيني للدم. ويمثل حجم الجهاز وشكله الهندسي العام وسطاً بين هذه العوامل، إذ بقدر ما تكون عينة الدم صغيرة، بقدر ما يكون تصحيح الامتصاص صغيراً هو الآخر ويكون تصحيح التناثر كبيراً. على أنه ينبغي اختيار الشكل الهندسي والمواد المستخدمة على النحو الذي يقلل إلى أدنى حد من التصحيحات الضرورية.

ويتطلب إعداد منحني معايرة مختبري منطبق على حالات التعرض الحادث الحاد اختيار معدل الجرعة الذي يسمح بحساب جميع الجرعات في أقل من ١٥ دقيقة. ويكون الفرق في زمن الحصول على مختلف الجرعات صغيراً بحيث لا تتأثر جسيمات بيتا أو لا يتأثر معامل حاصل مربع الجرعة بأكثر من ٤ في المائة تقريباً. وعلاوة على ذلك، يختار بعض الباحثين معايرة غير حادة لبلورة فهم أفضل للطريقة التي ينبغي بها تعديل معامل بيتا لتفسير حاصل الانحراف الناشئ عن الحوادث التي تنطوي على تشعيع لمدة طويلة. والأهم أن تكون درجة الحرارة في أثناء إجراء المعايرة ٣٧ درجة مئوية. وإذا أجريت المعايرة في درجة حرارة الغرفة، يمكن أن يقل أو يندم الإصحاح في أثناء التعرض وبالتالي لن يختلف منحني الجرعة والاستجابة في هذه الحالة عن منحني الجرعة والاستجابة في التشعيعات الحادة. وينبغي ألا يغيب عن الأذهان أن العامل الحاسم في معايرة التشعيعات الممتدة هو زمن التعرض وليس معدل الجرعة. ولذلك ينبغي الحصول على كل نقاط البيانات من الدم المشع لنفس المدة الزمنية. ويتحقق ذلك عن طريق تغيير المسافة بالنسبة للمصدر، ويتطلب ذلك بطبيعة الحال الكثير من قياسات المعايرة الفيزيائية. والبديل الأسهل هو استخدام معدل ثابت للجرعة وبالتالي وضع واحد

للتشعيع يتطلب اختلافات في زمن الحصول على كل جرعة، ولن تتطابق البيانات الناشئة تطابقاً تاماً مع معادلة الجرعة والاستجابة التربيعية الخطية [٩٦].

وتفضل بعض المختبرات وضع عينة الدم في جهاز محاكاة (شبح) عند إجراء المعايرة بحجة أن ذلك يراعي إلى حد ما تشتت الإشعاع في جسم الإنسان (الشكلان ٢٠ و ٢١).



الشكل ٢١: حمام مائي درجة حرارته ٣٧ درجة مئوية أمام مصدر أشعة غاما باستخدام مصدر كوبالت - ٦٠. ولتحقيق توازن إلكتروني، وُضِعَت عينة الدم داخل حامل من اللدائن الزجاجية.

على أنه لا بد من زيادة الاهتمام بعوامل تصحيح الجرعات المذكورة أعلاه وبما إذا من الممكن وضع غرفة التأيين إلى جانب عينة الدم. ويُستخدم الماء عموماً في جهاز الشبح وينبغي أن تظل درجة حرارته ٣٧ درجة مئوية. وإذا كانت غرفة التأيين بنفس الشكل الهندسي الذي توجد عليه عينة الدم فسوف يراعي ذلك الجرعة الناجمة عن تشتت الإشعاع. وسيطلب استخدام ماء دافئ تصحيحات كبيرة في درجة الحرارة والضغط ويجب بطبيعة الحال أن تكون غرفة التشعيع رطبة. وتتطوي عمليات معايرة النيوترونات داخل أجهزة الشبح على مشاكل كبيرة. وبدلاً من الماء، يفضل استخدام مادة مكافئة للنسيج في حالة استخدام جهاز شبح. ويؤدي ذلك إلى توليد طيف إشعاعي قريب الشبه بالطيف الإشعاعي الموجود داخل الجسم، مع احتمال حدوث زيادة كبيرة في مكون الانتقال الخطي المنخفض للطاقة في الجرعة التي تتلقاها الكريات اللمفاوية. وقد يتعذر كثيراً تحديد طيف المكونات بالنسبة لمجموع الجرعة الممتصة.

٨-٣ اعتبارات إحصائية

كما جاء في القسم ٣، توجد أدلة قوية للغاية تثبت أن ناتج الانحرافات الكروموسومية أو النُويّات (Y) يرتبط بالجرعة (D) بمعادلة خطية تربيعية

$$(٣) \quad Y = C + \alpha D + \beta D^2$$

أو، في حالة الإشعاع ذي الانتقال الخطي المرتفع للطاقة، يصبح الحد α كبيراً وتقل في نهاية المطاف أهمية الحد β من الناحية البيولوجية ويتحول أيضاً إلى حد 'مُقنع' إحصائياً وتقرّب العلاقة بين الجرعة والاستجابة بمعادلة خطية

$$(٤) \quad Y = C + \alpha D$$

والهدف من توفير المنحنى هو تحديد قيم المعاملات C، α ، β ، الأكثر توافقاً مع نقاط البيانات. وفيما يتعلق بثنائيات القسيم المركزي، يؤدي التشعيع بالأشعة السينية أو أشعة غاما إلى توزيع الضرر الذي يمثل تماماً توزيع بواسون [٩٨]. وفي المقابل، تنتج النيوترونات والأنواع الأخرى من الإشعاعات ذات الانتقال الخطي المرتفع للطاقة توزيعات مفرطة التشتت حيث التباين (σ^2) يتجاوز الوسط (Y). وسواءً أكانت النسبة بين التباين والوسط (σ^2/y) دالة للجرعة فإن ذلك يظل في الوقت الراهن مسألة مفتوحة للنقاش. وبالنسبة للنُويّات، يغلب على البيانات فرط التشتت في كل الجرعات حتى في حالة التشعيع بالفوتونات.

وبالنظر إلى أن أساليب توفيق المنحنى تستند إلى إحصاءات بواسون، ينبغي اختبار امتثال توزيع الخلايا ذات القسيمين المركزيين لتوزيع بواسون في كل جرعة مستخدمة لإنشاء منحنى المعايرة. والاختبار المستخدم حالياً على أوسع نطاق هو اختبار u [٩٩، ١٠٠]. وإحصاءات اختبار u هي الوحدة الطبيعية للرقم القياسي للتشتت (σ^2/y) الذي ينبغي أن يمثل اتحاداً في توزيع بواسون. وتشير قيم u الأعلى من ١,٩٦ إلى تشتت مفرط (أهمية إحصائية ثنائية الجانب، حيث $\alpha=0,05$)

$$(٥) \quad u = (\sigma^2/y - 1) \sqrt{\frac{N-1}{2(1-1/X)}}$$

حيث:

N عدد الخلايا التي يتم تحليلها،

X عدد ثنائيات القسيم المركزي (أو ثنائيات القسيم المركزي بالإضافة إلى الحلقات) المكتشفة.

وتشير قيم u التي تقل عن -١,٩٦ إلى تشتت ناقص. ومن غير المرجح بدرجة كبيرة من الناحية البيولوجية أن يحدث تشتت ناقص، ولذلك قد تعني قيم u التي تقل عن -١,٩٦ وجود مشكلة في عينات البيانات.

ويتطلب التوفيق الملائم للمنحنيات عدداً كافياً من درجات الحرية للتقليل إلى أدنى حد من الخطأ في المنحنى. ومن المثالي استخدام ١٠ جرعات أو أكثر تتراوح بين ٠,٢٥ و ٥ غراي. وبالنسبة للإشعاع ذي الانتقال الخطي المنخفض للطاقة، لا يلزم الحصول على بيانات لجرعات أعلى من ٥ غراي تقريباً، بل تشير الأدلة إلى أن الجرعة التي تتجاوز ذلك تنطوي على تشبع في ناتج الانحراف، وهو ما سيفضي إلى تشويه معامل بيتا، β [١٠١]. ويُقترح في حالة الإشعاع ذي الانتقال الخطي المرتفع للطاقة ٢ غراي كحد أقصى.

وبالنظر إلى أن معظم الحوادث الإشعاعية تنطوي على جرعات أقل من ١ غراي فإن النهاية الدنيا من المنحنى تنسم بأهمية خاصة في تقدير الجرعات. ولذلك ينبغي بذل جهود ملموسة للحد من الرتبة الإحصائية المرتبطة بمعامل ألفا α . ويُقترح استخدام عدة جرعات معايرة، لا تقل بالتأكيد عن أربعة، بحيث يتراوح نطاقها بين ٠,٢٥ و ١ غراي. ويفضل كثيراً أن يحصل المختبر على بيانات الجرعات التي تنخفض عن ٠,٢٥ غراي. وفي حالة الجرعات الأعلى، ينبغي أن يكون الهدف من القياس هو اكتشاف ١٠٠ من ثنائيات القسيم المركزي في كل جرعة. ومع ذلك يتعذر إجراء ذلك في الجرعات الأقل، وينبغي بدلاً من ذلك قياس عدة آلاف من الخلايا لكل نقطة؛ ويقترح أن يتراوح العدد بين ٣٠٠٠ و ٥٠٠٠ نقطة. وفي كل الحالات، ينبغي أن يعتمد العدد الفعلي للخلايا على عدد نقاط الجرعة في منطقة الجرعة المنخفضة، مع التركيز على التقليل إلى أدنى حد من الخطأ في توفيق المنحنى. ويعرض الجدول ٤ نموذجاً للبيانات المستخدمة في بناء منحنيات الجرعة والتأثير بالنسبة لإشعاعات غاما ذات الانتقال الخطي المنخفض للطاقة وإشعاعات ألفا ذات الانتقال الخطي المرتفع للطاقة.

الجدول ٤: النتائج الوراثية الخلوية المستخلصة من عيّنات دم مشعّة بأشعة غاما وجسيمات الهيليوم - ٤ [١٠٢، ١٠٣]

أشعة غاما (كوبالت - ٦٠)									
الجرعة (بالغراي)	N	X	توزيع خلايا ثنائيات القُسَم المركزي						
			صفر	١	٢	٣	٤	٥	٦
٠,٠٠٠	٥٠٠٠	٨	٤٩٩٢	٨					
٠,١٠٠	٥٠٠٢	١٤	٤٩٨٨	١٤					
٠,٢٥٠	٢٠٠٨	٢٢	١٩٨٧	٢٠	١				
٠,٥٠٠	٢٠٠٢	٥٥	١٩٤٧	٥٥					
٠,٧٥٠	١٨٣٢	١٠٠	١٧٣٦	٩٢	٤				
١,٠٠٠	١١٦٨	١٠٩	١٠٦٤	٩٩	٥				
١,٥٠٠	٥٦٢	١٠٠	٤٧٤	٧٦	١٢				
٢,٠٠٠	٣٣٢	١٠٣	٢٥١	٦٣	١٧	٢			
٣,٠٠٠	١٩٣	١٠٨	١٠٤	٧٢	١٥	٢			
٤,٠٠٠	١٠٣	١٠٣	٣٥	٤١	٢١	٤	٢		
٥,٠٠٠	٥٩	١٠٧	١١	١٩	١١	٩	٦	٣	
المتوسط									١,٠

٢٠ ميغا إلكترون فلت من جُسَمات الهيليوم - ٤									
الجرعة (بالغراي)	N	X	توزيع خلايا ثنائيات القُسَم المركزي						
			صفر	١	٢	٣	٤	٥	٦
٠,٠٠٠	٢٠٠٠	٣	١٩٩٧	٣					
٠,٠٥١	٩٠٠	١٩	٨٨١	١٩					
٠,١٠٤	١٠٢٩	٢٧	١٠٠٤	٢٣	٢				
٠,٥١١	١١٣٦	١٩٩	٩٦٠	١٥٤	٢١	١			
١,٠١٠	٣٠٤	١٠٨	٢١٧	٦٩	١٥	٣			
١,٥٣٦	١٤٢	٩٦	٧٥	٤٠	٢٥	٢			
٢,٠٥٠	١٣٧	١٢٠	٦٣	٤٤	١٦	١٢	٢		
٢,٥٢٦	١٤٤	١٤٨	٦٦	٣٤	٢٥	١٤	٣	٢	
٣,٠٢٩	٩٨	١٠٨	٤٧	١٦	١٧	١٧	٠		١
المتوسط									١,١٩

ويعرض الجدول مجموع عدد الخلايا المسجّلة (N)، ومجموع عدد ثنائيات القُسَم المركزي الملاحظة (X)، وتوزيع خلايا ثنائيات القُسَم المركزي، والرقم القياسي للتشتت (σ^2/y) واختبار (u). وتشير قيم u التي تزيد على ١,٩٦ إلى تشتت مُفرط.

والتقنية المقترحة لتحديد أفضل معاملات التوفيق هي الأرجحية العظمى [١٠٤، ١٠٥]. وباستخدام هذا الأسلوب فإن قيمة أفضل توفيق لكل مكافئ تتحقّق بافتراض توزيع بواسوني وتعظيم أرجحية الملاحظات باستخدام أسلوب المربعات الصغرى المعاد ترجيحها تكرارياً. وفيما يتعلق بالتوزيعات المفرطة التشتت (غير البواسونية)، مثل التوزيعات المتكونة بعد التعرّض لإشعاع ذي انتقال خطّي مرتفع للطاقة، يجب مراعاة فرط التشتت في الأوزان الترجيحية. وإذا كانت البيانات تكشف عن اتجاه ذي أهمية إحصائية من حيث الرقم القياسي للتشتت σ^2/y في الجرعة، ينبغي حينئذ استخدام ذلك الاتجاه. وإذا لم يكن الأمر كذلك، ينبغي في هذه الحالة تقسيم الوزن الترجيحي البواسوني في كل نقطة من نقاط البيانات على متوسط قيمة σ^2/y .

وينبغي بعد ذلك اختبار جودة توفيق المنحنى والدلالة الإحصائية لتوفيق معامل ألفا ومعامل بيتا وذلك على سبيل المثال باستخدام اختبار كا تربيع (χ^2) وشكل ملائم من اختبار F (مثل اختبار F، أو اختبار z أو اختبار t) على التوالي. ويتناول الملحق السادس بالتفصيل هذه الاختبارات. وإذا وُجِدَت أدلة تثبت عدم التوفيق (أي إذا كانت χ^2 أكبر من درجات الحرية df)، ينبغي حينئذ زيادة الخطأ المعياري بقيمة $(\chi^2/df)^{1/2}$. وتحسب

برامج حاسوبية كثيرة قِيم الخطأ المعياري (SE) المستندة إلى حاصل المربعات بدلاً من تقدير بواسون للتباين، وقد يُفضي ذلك إلى تقليل زائف لخطأ بواسون. ولذلك عندما تُحسَب قِيم الخطأ المعياري باستخدام هذا الأسلوب، وعندما تكون قيمة درجة الحرية أكبر من χ^2_2 ، يستصوب زيادة قيمة الخطأ المعياري بمقدار $(df/\chi^2)^{1/2}$.

ويبيّن الجدول ٥ المعاملات الموقّعة عندما تُستخدم بيانات الجدول ٤ وعندما تُحسَب قِيم الخطأ المعياري باستخدام افتراضات بواسون.

الجدول ٥: نتائج توفيق بيانات ثنائيات القُسَم المركزي من الجدول ٤

أشعة غاما (كوبالت - ٦٠)				
C ± SE	α (Gy ⁻¹) ± SE	β (Gy ⁻²) ± SE	χ^2	درجة الحرية، df
٠,٠٠١٢٨ ± ٠,٠٠٠٤٧	٠,٠٢١٠٣ ± ٠,٠٠٥١٦	٠,٠٦٣٠٧ ± ٠,٠٠٤٠١	٦,٦١	٨
	F = ٤,٠٨, p < ٠,٠٣	F = ١٥,٧٣, p < ٠,٠١	p = ٠,٥٨	
٢٠ ميغا إلكترون فلت من جُسَمات الهيليوم - ٤				
C ± SE	α (Gy ⁻¹) ± SE	β (Gy ⁻²) ± SE	χ^2	df
٠,٠٠١٤٣ ± ٠,٠٠٠٩٣	٠,٣٢٧٩٠ ± ٠,٠٢٨٧٥	٠,٠٢٩٣٢ ± ٠,٠١٦٣٦	٧,٤٠	٦
	F = ١١,٤١, p < ٠,٠١	F = ١,٧٩, p = ٠,٢٥	p = ٠,٣٩	
٠,٠٠١٩٣ ± ٠,٠٠٠٩٧	٠,٣٧٢٩٠ ± ٠,٠١٧٨٧		١٠,٩١	٧
	F = ٢٠,٨٧, p < ٠,٠١		p = ٠,١٤	

$$F_{0.05 [7, 7]} = ٣,٧٧$$

وتشير قِيم p في اختبار χ^2 المبينة في الجدول ٥ إلى أن نقاط بيانات التوفيق لا تختلف إحصائياً عن نقاط البيانات الملاحظة، وهو ما يؤكّد جودة التوفيق. وعلاوة على ذلك فقد أكد أيضاً اختبار F أهمية المعاملات الخطية والتربيعية، والنسبة بين كل معامل، وخطئه المعياري؛ وتزيد قيمة F في كل معامل عن ٣,٤٤ (قيمة نهاية الشمول في [8, 8] F.05) وقيمة z أعلى من ١,٩٦ (قيمة نهاية الشمول للتوزيع الطبيعي؛ ويمكن الحصول على كلتا القيمتين من الجداول المعيارية). وأما اختبار F المبين في المرفق السادس فهو النسبة بين توزيعين من توزيعات كا تربيع، وتعني [8, 8] F.05 أن قيمة نهاية الشمول لألفا = ٠,٠٥ عندما تكون درجات الحرية ٨ للسطح و ٨ درجات حرية للمقام. وفيما يتعلّق بجسيمات الهيليوم - ٤، تراجعت الأوزان الترجيحية بمتوسط القيمة σ^2/y ، ١,١٩. ولم يكن معامل بيتا للعلاقة الخطية التربيعية ذا أهمية (قيمة نهاية الشمول بالنسبة إلى [6, 6] F.05 = ٤,٢٨)؛ وقيمة p في اختبار z (٠,١٢) ولهذا السبب يُعرض أيضاً توفيق خطّي.

وتختلف الآراء حول طريقة التعامل مع مستوى خلفية الانحرافات في توفيق بيانات الجرعة والاستجابة. وتوجد عموماً ثلاثة نُهج: تُدرج نقطة جرعة صفرية في إجراء توفيق المنحنى، أو يتم تجاهل نقطة الجرعة الصفرية، أو تمثل نقطة الجرعة الصفرية في كل إجراء من إجراءات التوفيق عن طريق استخدام قيمة خلفية معيارية. وإذا استُخدم الناتج المقاس في جرعة صفرية كإحدى نقاط البيانات في توفيق المنحنى (مثلما في توفيق المنحنى المعروف أعلاه)، تصبح الخلفية حداً متغيّراً. على أنه بالنظر إلى أن ناتج الخلايا غير المشعّة يكون منخفضاً في العادة، لا يلاحظ أي منها في كثير من الأحيان، ولذلك يكون ناتج القياس في الجرعة الصفرية صفراً. وكما جاء من قبل، عندما تكون الجرعات منخفضة، فإن الوضوح الإحصائي للنقاط البيانية يكون منخفضاً بشكل عام، وبالتالي يمكن أن يؤدي إدراج نقطة الجرعة الصفرية في إجراء توفيق المنحنى في بعض الأحيان إلى تقديرات سلبية لقيمة الخلفية (C) ومعاملات خطية سلبية (α) والتي من الواضح أنها لا تستند إلى أي أساس بيولوجي. وبحسب بعض الباحثين هذه المشكلة عن طريق تجاهل نقاط بيانات الجرعات الصفرية وتقيد المنحنى ليمر خلال نقطة الأصل. على أن هناك بيانات كافية منشورة من الدراسات الاستقصائية للأشخاص الذين لم يتعرّضوا إلا لأشعة الخلفية لإثبات أن مستوى الخلفية الإيجابية في الانحرافات محدود. ولذلك يتبع بعض العاملين أسلوباً بديلاً يتمثل في استخدام قيمة خلفية إيجابية صغيرة كنقطة بيانية تحدّد لها نسبة كبيرة من الريبة. ومن المثالي أن يولد المختبر بيانات الخلفية الخاصة به بالرغم من أن ذلك يتطلب تحليل عدة

آلاف من الخلايا. ونشأ توافق في الآراء على أن مستوى الخلفية في ثنائيات الفسيفساء المركزي يتراوح بين ٥٠٠،٥ و ١ لكل ١٠٠٠ خلية [١٠٦] بينما تزيد القيم الضابطة في حالة الانتقالات الكروموسومية [١٠٧] والنويات [١٠٨].

ويوجد العديد من البرامج التي يمكن استخدامها لتوفيق المنحنيات، مثل برنامج بواسون للمربعات الصغرى المعاد ترجيحها تكرارياً لنماذج الإضافة والضرب والقوة والنماذج غير الخطية التي طورها بيترسون (Peterson) [١٠٩]، أو برنامج النمذجة التفاعلية الخطية المعممة، أو الأدوات القائمة على لغة البرمجة الحاسوبية R^(٢). وينبغي الجمع بين ذلك وبين إجراء روتيني مُعدّ تحديداً لتوفيق المنحنيات، وهو متاح في المنشور الوارد في المرفق الثامن - ٣. وعلاوة على ذلك، استحدثت مؤخراً عدة برامج حاسوبية متخصصة في توفيق المنحنيات من داخل الأوساط المعنية بالوراثة الخلوية الإشعاعية [١١٠]. ويستخدم برنامج حساب الانحرافات الكروموسومية (CABAS) [١١١] أسلوب الأرجحية العظمى لتوفيق بيانات المعايرة مع المعادلة الخطية التربيعية. ويمثل تقدير الجرعات [١١٢] أداة مماثلة تسمح بالتوفيق الخطي التربيعي والتوفيق الخطي. وبالإضافة إلى توفيق المنحنيات، يشمل برنامج حساب الانحرافات الكروموسومية وتقدير الجرعات أدوات إضافية تساعد على معالجة بيانات حالات الحوادث الإشعاعية لاشتقاق تقديرات الجرعات عندما تبعد الظروف عن تعرض حديث حادٍ للجسم بكامله. ويغطي ذلك مجموعة من الحسابات المبينة لاحقاً في القسم ٩-٧.

وسواء استخدمت هذه البرامج الحاسوبية أو غيرها، ينبغي أن يتيح البرنامج معلومات كافية عن الأساليب المستخدمة وأن يوفر تفاصيل عن تباينات وتغايرات توفيق المعاملات، إذ تكون مطلوبة لحساب الرتبة في تقديرات الجرعات [القسم ٣-٧-٩].

(٢) بيئة برمجية حرة للحسابات الإحصائية يمكن تنزيلها من هذا الموقع الشبكي: <http://www.r-project.org>.

٩ - تحليل ثنائيات القسيم المركزي

يتعلق النصّ التالي بمزارع الخلايا وتثبيتها وتلوين الشرائح، وقد كُتب في سياق فحص ثنائيات القسيم المركزي، ويرتبط أيضاً الكثير من مادته بالاختبارات الأخرى التي يغطيها هذا المنشور. وعن طريق المناقشة الوافية للإجراءات الواردة هنا فإن الأقسام التي تتناول الفحوص الأخرى تحتاج ببساطة إلى تفصيل كيفية تفرّع العمليات من ذلك إلى ثنائيات القسيم المركزي. وفيما يلي عرض موجز لنقاط الاختلاف الهامة:

- (أ) يُستخدَم في فحص ثنائيات القسيم المركزي مزرعة لمدة يومين بينما تستغرق ٣ أيام في حالة فحص النويات و/أو جسور الهيولي النووي (فحص سايتوم وقف انقسام الهيولي).
- (ب) التكثف الكروموسومي المبترس عن طريق الاندماج الفتيلي لا يتطلب أي زرع للخلايا بينما يلزم ذلك عموماً في الأساليب المستحثة كيميائياً.
- (ج) فحوص ثنائيات القسيم المركزي والفحوص الأخرى في الأطوار الاستوائية تتطلب أسراً فتيلياً باستخدام الكولسيميد بينما لا يلزم ذلك في فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي.
- (د) يتطلب فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي بدلاً من ذلك تثبيط انقسام الهيولي باستخدام مثبط حركة الخلايا، السايوتوكالاسين B.

١-٩ الزرع

ينبغي إجراء عدة مزارع متطابقة بمجرد استلام عينة الدم.

١-١-٩ اختيار وسط المزرعة

يمكن استخدام عدة أوساط محدّدة للمزارع. وكل هذه الأوساط متاحة تجارياً وثبتت ملاءمتها لاستزراع الكريات اللمفاوية. وينبغي ألا تستخدم الأوساط المتكوّنة بدون حمض الفوليك من أجل اكتشاف المواقع الهشة الموروثة في الكروموسومات. وهناك أوساط زرع معيّنة (F-10، و RPMI-1640) يبدو أنها تسرّع النمو أكثر من MEM و TC-199 على سبيل المثال [١١٣]. وبالرغم من أن أعداد خلايا الطور الاستوائي الثاني (M2) المختبرية يمكن أن تتحدّد عن طريق التلوين بالفلورسين المضاف إلى الغيمزا، يُستصوب أن يُستخدَم بصورة روتينية إجراء زرعي يولّد الحد الأدنى من أعداد خلايا الطور الاستوائي بعد ٤٨ ساعة.

وينبغي تكميل الوسط بغلوتامين L، وهيبارين، ومضادات حيوية. ويشيع استخدام البنسلين والسترپتوميسين (ترد التفاصيل في المرفق الأول). وتبعاً للشركة المُصنّعة، تحتوي الكثير من الأوساط الزرعية بالفعل على هذه المضادات الحيوية. على أنه قد يلزم إضافة مضادات حيوية عند تخفيف الوسط إلى درجة القوة المطلوبة للعمل في حالة شراء أوساط مركّزة أو في شكل مسحوق. وتفضّل بعض المختبرات استخدام الأوساط بدون مضادات حيوية، ومن الأساسي في هذه الحالة استخدام إجراءات التعقيم، بما فيها استخدام أنابيب عينات الدم المعقّمة.

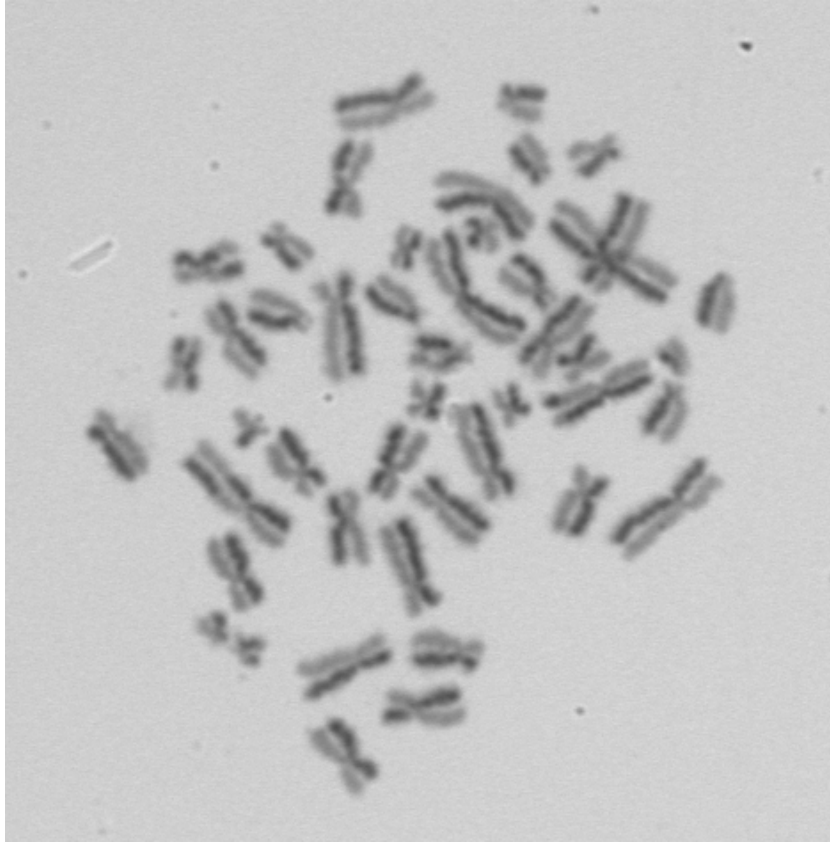
٢-١-٩ اختيار المصل

ينبغي استخدام مصل جنين البقر أو مصل AB البشري. وبالنظر إلى التفاوت الكبير بين مجموعات الأمصال، ينبغي اختبار جودة الشحنات الجديدة للتأكد من قدرتها على دعم نمو الخلايا. وينبغي إبطال مفعول المصل بالحرارة عند درجة حرارة 56 ± 1 درجة مئوية لمدة ٠,٥-١ ساعة في حمام من الماء لأن ذلك يساعد على تقليل تقلّب المجموعة. ويمكن أيضاً زراعة الكريات اللمفاوية في وسط خالٍ من المصل، وهذه الأوساط متاحة تجارياً.

٣-١-٩ برومو ديوكسي يوريدين

ينبغي إدخال برومو ديوكسي يوريدين (BrdU) في المزارع للسماح بالتلوين باستخدام الفلورسين والغيمزا [١١٤]. ويفضّل استخدام شبيه الفايبيدين في استنساخ الحمض النووي. وعندما تكون إحدى الكروماتيدات مزدوجة الخيط وتستبدل الأخرى الأحادية الخيط، يؤدّي التلوين باستخدام الفلورسين والغيمزا إلى

حدوث ظاهرة 'التبرقش' في كروموسومات خلايا الطور الاستوائي في أثناء انقسامها الثاني أو لاحقاً في مرحلة ما بعد الإبدال. (الشكل ٢٢).



الشكل ٢٢: خلايا الطور الاستوائي في انقسامها الثاني ملونة بالفور والغيمزا وتظهر عليها اختلافات في لون الكروماتيدات الشقيقة؛ ظاهرة 'التبرقش'.

ولا يوجد أي تركيز محدد عالمياً لمادة برومو ديوكسي يوريدين. والتركيز الأمثل يتفاوت تبعاً لعوامل من قبيل تركيز النيماتودين في الوسط المعين المستخدم في المزرعة. وينبغي أن يُجرب المختبر تحديد المستوى المرضي. ومن المعتاد إضافة برومو ديوكسي يوريدين إلى الوسط الزرع بتركيز يجعل تركيز المزيغ الزرع النهائي لا يتجاوز ٥٠ ميكرو مولار (١٥,٤ ميكرو غرام - مليلتر). وإذا زاد التركيز عن هذا المستوى يمكن أن يؤدي برومو ديوكسي يوريدين إلى فرط تأخر الانقسام الفتيلي [١١٥]. وباستخدام عينات دم طازجة (أقل من ٢٤ ساعة)، فإن التركيز النهائي للمزرعة الذي يبلغ نحو ١٥ ميكرو مولار يكون مرضياً في كثير من الأحيان. وإذا تأخر نقل عينات الدم عن ٢٤ ساعة، قد يلزم زيادة تركيز برومو ديوكسي يوريدين إلى ٤٠ ميكرو مولار للحصول على تلوين موثوق باستخدام الغيمزا المعززة بالفلور [١١٦]. ويُلاحظ أن برومو ديوكسي يوريدين حساس للضوء ولذلك ينبغي إعداد المزارع في إضاءة منخفضة (مثل الضوء الأصفر المأمون) ويتم بعد ذلك تحضينها في الظلام. وقد يكون من المفيد تغليف أواني المزرعة برقائق الألومينيوم.

وعند استخدام أسلوب برومو ديوكسي يوريدين، ينبغي اختيار وقت التثبيت الأمثل الذي توجد فيه نسبة كبيرة من الخلايا التي يمكن تحليلها في مرحلة الانقسام الأول. ومما يؤسف له أنه قد يتعذر أحياناً التنبؤ بزمان التثبيت الأمثل. وقد تصادف فروق ليس فقط بسبب التفاوتات الفردية، بل وكذلك بسبب التأثيرات الإشعاعية على مدة دورة الخلية. وفي حالة الخلايا المصابة بأضرار كبيرة قد يحدث تأخر الموسم في الاستجابة للتخفيف المحدث للتفتل. وتقوم المختبرات في الواقع العملي بعمل مزرعة لمرة واحدة لمدة تبلغ في العادة ٤٨ ساعة. والبديل عن ذلك هو إنشاء عدد كبير من المزارع وتثبيت نسخ متكررة متغيرة في أثناء التحضين ثم يختار منها المزرعة التي يبلغ فيها تردد الخلايا أعلى مستوياته في الانقسام الفتيلي الأول. ولكن ذلك يستغرق الكثير من الوقت وينطوي على تكاليف باهظة وغير عملي خاصة في الحالات التي قد يحتاج فيها الكثير من المرضى إلى

تقييم سريع. ولذلك تم اقتراح تعديل طفيف على المزرعة. ويمكن إضافة سايتوكالاسين B (Cyt-B) المستخدم في العادة في إعداد النُويّات (القسم ١٢) إلى مزارع الطور الاستوائي، ويساعد ذلك على التمييز بين الخلايا بعد الانقسامات المختلفة، ولأغراض التحليل، لا تُنتقى سوى الخلايا التي تكون في انقسامها الفتيلى الأول. ويضاف السايتوكالاسين B بعد ٢٤ ساعة إلى مدة المزرعة في تركيز نهائي يبلغ ٢ ميكروغرام - مليلتر. واستخدم هذه التقنية للمرة الأولى هياتا وآخرون (Hayata et. al) [١١٧] لتحديد الخلايا في دورة الخلية الأولى، حيث اعتمد التمييز بين الخلايا على عدد الكروموسومات أكثر من اعتماده على تبرقش الكروماتيدات الشقيقة باستخدام برومو ديوكسي يوريدين. ولا تُستخدم تقنية السايتوكالاسين B على نطاق واسع في اختبارات ثنائيات القسّم المركزي، ولكنها استُخدمت بنجاح في بعض عمليات مقارنة تقديرات الجرعات بين المختبرات [١١٨، ١١٩].

٩-١-٤ مُحدثات الانقسام الفتيلى

يتاح تجارياً العديد من مُحدثات الانقسامات الفتيلية، وهي في معظمها ليكتينات نباتية. وفي معظم الحالات، لم تُحدّد بدقّة تجمّعات الكريات للمفاوية المعيّنة التي تحفزها مُحدثات الانقسامات الفتيلية. ويوصى باستخدام الفيتوهِماغلوتينين الذي يُعد أكثر مولات الانقسامات الفتيلية استخداماً. وتسوّق عدة شركات نوعين من الفيتوهِماغلوتينين يُطلق عليهما في بعض الأحيان النوعان M، و P. ولا يلزم استخدام المادة الأكثر تكلفة والأعلى نقاوة (P) في المزارع الروتينية للدم الكامل؛ على أن بعض المختبرات تفضل استخدام هذه المادة في استزراع الكريات للمفاوية المنعزلة.

وهناك مُحدثات انقسامات فتيلية أخرى متاحة، مثل الكونكانافالين A أو ميتوجين الفتلاق الذي يحفّز أنواعاً ثانوية معيّنة من الكريات للمفاوية. وتوجد تطبيقات لها في نظم تجريبية معيّنة ومع الخلايا غير البشرية. ولا يُستخدم أي من هذه المواد على نطاق واسع مثل الفيتوهِماغلوتينين وينبغي عدم استخدامها في القياس البيولوجي للجرعات.

٩-١-٥ المزارع

يمكن استخدام الزجاج القادر على تحمّل التعقيم بالحرارة أو الحاويات البلاستيكية المعقّمة التي يمكن التخلص منها. ويشيع إجراء المزارع في أنابيب كبيرة القاع ويمكن التخلص منها وتبلغ سعتها ١٠ مليلتر. وينبغي الاحتفاظ بها في زاوية قدرها ٤٥ درجة دون إحكام سداداتها في حاضنة تبلغ درجة حرارتها ٣٧ درجة مئوية وتبلغ نسبة ثاني أكسيد الكربون فيها ٥ في المائة. ويمكن أيضاً زرع الخلايا بدون ثاني أكسيد كربون في الحاضنة، على ألا تُعلّق سدادات الأنابيب.

وينبغي وضع الخلايا في حاضنة درجة حرارتها 37 ± 0.5 درجة مئوية. ومن المهم أن تكون درجة حرارة الحاضنة ثابتة ويستصوب رصد أدائها وذلك مثلاً باستخدام مقياس درجة حرارة مزدوج وجهاز تسجيل بياني. وسيؤدّي الانخفاض الشديد في درجة الحرارة إلى حسيطة سيئة للأطوار الاستوائية، إن وُجدت أصلاً، بعد ٤٨ ساعة. وإذا ارتفعت درجة الحرارة (٣٨ درجة مئوية أو أكثر) ستتطوّر الخلايا بسرعة أكبر خلال دورتها وبالتالي قد تزيد الأطوار الاستوائية بصورة غير مقبولة في الانقسام الثاني بعد مرور ٤٨ ساعة [١٢٠]. ويُحتمل في المختبرات المزدحمة التي تُستخدم فيها حاضنة مشتركة أن تُفتَح وتُعلّق الحاضنة مراراً وبالتالي قد تهبط درجة حرارة المزرعة إلى ما دون المستوى الأمثل لفترة غير قصيرة حتى بالاستعانة بمروحة. والبدل هو حضن الخلايا في حمام مائي يمكن التحكم في درجة حرارته. ويتيح ذلك انتقال الحرارة إلى المزرعة بسرعة أكبر من انتقالها عبر الهواء وزيادة الاستقرار الحراري طيلة الساعات الثماني والأربعين. وإذا استخدم هذا الأسلوب، ينبغي ألا يقل الحيز الذي يعلو مزرعة قدرها ٥ مليلتر عن ١٠ مليلترات، ويُمرّر في الهواء غاز ثاني أكسيد كربون مرشّح بنسبة ٥ في المائة. وينبغي بعد ذلك إحكام أغطية الأوعية. ويُغطّى الحمام المائي حتى تظل المزارع المحتوية على برومو ديوكسي يوريدين في الظلام.

وتستند أساليب الاستزراع إلى التقنيات التي نشرها أصلاً مورهد وآخرون (Moorhead et al) [١٢١] و هنغرفورد (Hungerford) [١٢٢] بعد إدخال تعديلات عليها. والخلاصة أنه يمكن إجراء مزارع باستخدام الدم الكامل أو كريات لمفاوية معزولة. وتتعلّق مزايا وعيوب التقنيات بأحجام عيّنات الدم المستخدمة والوقت الذي يستغرقه إعداد المزرعة وعدد الأطوار الاستوائية المسجّلة (ارتفاع الرقم القياسي للانقسام الفتيلى). ويتضمّن المرفق الخامس معايير تحديد الرقم القياسي للانقسام الفتيلى.

يمكن استخدام هذا الأسلوب مع عينات الدم الصغيرة (التي تتراوح بين ١، و ٢ مليلتر) ويمكن، عند اللزوم، استخدامه مع عينات الدم التي يتم الحصول عليها عن طريق وخز الإصبع. ومن المزايا الأخرى سرعة وسهولة إعداد المزرعة. على أن عدد الأطوار الاستوائية الناشئة لكل شريحة مجهرية يقل عموماً عن عدد الأطوار الاستوائية التي تنشأ في حالة استخدام الأساليب الأخرى. ويتمثل الإجراء في إضافة ٠,٣ مليلتر من الدم الكامل و ٠,١ مليلتر من محلول الفيتو هيماغلوتينين في وعاء يحتوي على ٤ مليلتر من الوسط و ١ مليلتر من المصل ثم يوضع الوعاء في حاضنة.

٩-١-٥-٢ الكريات اللمفاوية المنفصلة

في هذا الأسلوب تضاف إلى الوسط لقيحة مخصصة من الكريات اللمفاوية. وهذا الأسلوب يناسب الحالات التي تزيد فيها عينة الدم عن ٣ مليلتر. وتوجد تقنيتان لإنتاج اللقاح المخصصة:

(أ) أولاً، يضاف ٠,١٥ مليلتر من الفيتو هيماغلوتينين إلى ٢ مليلتر من الدم ويُرج المزيج برفق. وسوف يلتصق الدم بجدران الوعاء. ويضاف بعد ذلك ٢ مليلتر من المصل ويُرج المزيج برفق ويعرض لطرْد مركزي لمدة دقيقة واحدة بقوة ٥٠g. وتنزع المادة الطافية التي تبلغ نحو ٣ مليلتر وتتألف من المصل والهيلي والغلالة الشهباء، باستخدام محقن وتترك معظم الخلايا الحمراء الملتصقة بجدران الوعاء. ويساعد ذلك على تحريك الغلالة الشهباء برأس إبرة المحقن في أثناء سحب المادة الطافية. وتُستخدم إبرة واسعة الثقب للتقليل إلى أدنى حد من الإجهاد الواقع على الخلايا. وتكفي ٣ مليلترات من السائل لإنشاء مزرعتين، وتقسّم بالتساوي في وعاءين يحتوي كل منهما على ٤ مليلترات من الوسط الزرع.

(ب) ثانياً، يمكن فصل الكريات اللمفاوية عن الدم الكامل بترقيده على عمود معقّم من فيكول هايباك (Ficoll Hypaque). وتتاح تجارياً أنابيب جاهزة لفصل الكريات اللمفاوية. وتُعرض الأنابيب لطرْد مركزي، وتزال الطبقة الغنية بالكريات اللمفاوية، وتُغسل في محلول ملحي معزول بالفوسفات، وتوضع في مزرعة. ويمكن تحديد تركيز الخلايا القادرة على إكمال دورتها عن طريقة الاستبعاد الصبغي لجزء صغير باستخدام غرفة عداد كريات الدم حتى يمكن تعديل تركيز الخلايا في المزرعة إلى القيمة المثلى. ويرجح أن تتفاوت القيمة من مختبر لآخر، ولذلك ينبغي تحديدها بشكل مستقل، وإن كان من المرجح أن تتراوح بين ٠,٥ - ٢ X ١٠^٦/مليلتر. ويرد بروتوكول مفصّل بشأن ذلك في هياتا وآخرين (Hayata et al) وماكفي وآخرين (McFee et al) [١٢٣، ١٢٤]. ويشير المؤلفون إلى أن هذا الأسلوب مناسب بشكل خاص لتجهيز مستحضرات نظيفة محتوية على أطوار استوائية كثيرة. وتفضل بعض المختبرات استخدام مزارع الكريات اللمفاوية المعزولة في تحليل التهجين الموضعي بالفلورسين وكذلك عند إعداد شرائح المسح باستخدام محدّد الطور الاستوائي التلقائي (القسمان ١٠، و ١٣-٣-١). وقد ينطوي التلوين التقليدي بالغيمزا باستخدام مجهر ضوئي عادي على تعقيدات لا داعي لها بينما يكفي استخدام الأسلوب (أ) أعلاه أو مزرعة الدم الكامل.

٩-١-٦ وقف الانقسام الفتيلي

يمكن استخدام مادة كُولشيسين أو شبيهها التخليقي المعروف باسم ديميكولسين (كولسيميد) حيث الأخير هو العنصر الكايب المفضل لدى معظم الباحثين. ويحتوي المحلول المركز المناسب على ١٠ ميكروغرام/مليلتر من الكولسيميد في محلول ملحي فسيولوجي يمكن الاحتفاظ به لمدة ستة أشهر عند إعدادة بطريقة معقمة وتخزينه في درجة حرارة ٤ مئوية. ويمكن عن طريق إضافة ما يتراوح بين ٢٥ و ٥٠ ميكرو لتر من هذا المحلول إلى كل مزرعة تبلغ ٥ مليلتر (تركيز نهائي: ٠,٠٥-٠,١ ميكروغرام/مليلتر) توفير عدد كافٍ من الأطوار الاستوائية وفي نفس الوقت تلافي مشاكل سُمية الخلايا التي تسببها التركيزات الكبيرة. ويضاف في العادة الكولسيميد قبل ساعتين أو ثلاث ساعات من انتهاء المزرعة. ويفضّل بعض الباحثين [١٢٥] إضافة الكولسيميد في منتصف، أي بعد نحو ٢٤ ساعة أو في بعض الحالات في بداية إجراء المزرعة [١٢٣]. ويتوقع أن يمنع ذلك تطور الخلايا إلى ما بعد الطور الاستوائي الأول، ويوقّر بالتالي وسيلة بديلة لتلافي تحليل خلايا الطور الاستوائي الثاني. وينبغي ملاحظة أن إضافة الكولسيميد مبكراً يمكن أن تسبب انكماشاً مفرطاً في الكروموسومات ما لم يُخفّض التركيز النهائي للمزرعة كثيراً إلى نحو ٠,٥ ميكروغرام/مليلتر [١٢٣]. ويمكن

لإضافة الكولسيميد مبكراً أن يطيل أمد المزرعة إلى أكثر من ٤٨ ساعة ويسمح بإطالة مدة دورة الخلية لدى بعض الأفراد، مثل كبار السن.

٩-٢ إجراء التثبيت

جرى العرف على حضن مزارع الكريات اللمفاوية لمدة ٤٨ ساعة، ولكن المدة الدقيقة متفاوتة من مختبر لآخر ويمكن أن تتراوح بين ٤٦ و ٥٢ ساعة. وينبغي أن تحدّد المختبرات المدة المثلى التي تحقق في العادة حصيلة جيدة من خلايا الطور الاستوائي الأول باتباع الإجراء الروتيني. ويُستصوب أيضاً أن يقتصر التثبيت على بعض المزارع المكررة في المدة الروتينية وتترك بقية المزارع في الحاضنة. ويسمح ذلك بفرصة أمام خلايا بعض المتبرعين التي تستغرق وقتاً أطول في الوصول إلى طورها الاستوائي، ويتيح أيضاً فرصة لفحص الخلايا المتأخرة إذا تسببت جرعة قوية في تأخير الانقسام الفتيلي.

ولم يعد يلزم عند إنهاء المزرعة ملاحظة إجراءات التعقيم ويمكن إجراء المزيد من المعالجة في درجة حرارة الغرفة ما لم يرد ما ينصّ على خلاف ذلك. على أنه من المهم الحفاظ على ممارسات المناولة المأمونة حيث قد تحتوي عيّات الدم على مسببات أمراض بشرية. وينبغي تعريض المزرعة للطرد المركزي وإزالة المواد الطافية واستبدالها بمحلول منخفض التوتر (٥ مليلتر) من كلوريد بوتاسيوم M ٠,٠٧٥، وعند إزالة المادة الطافية عن طريق الشفط، ينبغي أن تكون سرعة الطاردة المركزية ٢٠٠g لمدة ١٠ دقائق. على أنه يلزم استخدام كرية أقوى في حالة كشط المادة الطافية (٦٠٠g لمدة ٣ دقائق) بالرغم من أن ذلك قد يؤدي إلى زيادة عدد الخلايا المتكسرة. وتترك الأنابيب لمدة ١٥ دقيقة تقريباً في درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية، ولكن عندما تُستخدم الكريات اللمفاوية المعزولة، يكفي ترك الأنابيب لمدة تتراوح بين ٣ و ٥ دقائق. ويمكن أيضاً إضافة ما يقرب من ١ مليلتر من المثبت إلى المحلول المنخفض التوتر لمدة تتراوح بين ٥ و ١٠ دقائق للتقليل إلى أدنى حدّ من انحلال الخلايا في أثناء الطرد المركزي. وينبغي تعريض الأنابيب للطرد المركزي مرة أخرى وإزالة المحلول المنخفض التوتر وإعادة تعليق حبيبة الخلايا في ٥ أو ١٠ مليلتر من مثبت جديد (ميثانول/ حمض خليك بنسبة ٣:١). ويضاف المثبت ببطء، ولكن بمعدل ثابت مع تحريك الأنبوب باستخدام خلاط دوامي على سبيل المثال. ومن المهم مراعاة ذلك لأنه يضمن عدم تثبيت الخلايا في مُعلّق متماثل. وتُعَرَض الخلايا بعد ذلك لطرد مركزي مرة أخرى ويعاد تعليقها ثلاث مرات يُغيّر المثبت في كل منها. ويمكن عند الاقتضاء تخزين الخلايا لمدة طويلة في المثبت، ويفضل تخزينها في مجمّد درجة حرارته ٢٠ درجة مئوية تحت الصفر. ويمكن بدلاً من ذلك إعداد الشرائح فوراً أو في اليوم التالي، ويمكن الاحتفاظ بمعلّق الخلايا لمدة قصيرة في درجة حرارة ٤ مئوية.

وتزال آثار الغسيل النهائي للمثبت، وتترك كمية كافية منه (٠,٢٥ مليلتر) للحصول على الحجم المناسب من المعلّق لتوزيعه على الشرائح. على أن الحجم النهائي يتوقّف على كثافة الخلايا، ويمكن تخفيفه بالمزيد من محلول التثبيت عند اللزوم، وينبغي استخدام شرائح نظيفة وخالية من الشحوم. وبينما يدّعي بعض المصنّعون أن الشرائح التي يقومون بتوريدها نظيفة بالقدر الكافي تفضل مختبرات كثيرة، زيادة في التأكد، تخزين الشرائح في سائل مزيل للشحوم. ويمكن استخدام مزيج من الأسيتون والميثانول بنسبة ١:١ أو مزيج من الإيثير والإيثانول بنسبة ١:١، أو حمض الهيدروكلوريك في الميثانول بتركيز ١ في المائة. ويمكن إذا اقتضت الحاجة تجفيف الشرائح وتلميعها بورق شفاف نظيف. ولا بد من الإشارة هنا إلى أن المناديل الورقية العالية الجودة ليست مناسبة بسبب إضافة مادة اللانولين إليها لتنعيمها. ويمكن تحسين فصل الكروموسومات إذا كانت الشرائح باردة ورطبة. ويمكن تحقيق ذلك عن طريق تخزين الشرائح في جهاز تجميد وإخراجها قبل استعمالها بفترة وجيزة وإذابة الثلج المتكوّن عليها بتعريضها لهواء الزفير لبضع لحظات قبل نشر الخلايا عليها. ويمكن بدلاً من ذلك غمس الشرائح لبضع ثوانٍ في ورق يحتوي على ماء مقطّر ومكعبات من الثلج. ويمكن زيادة ترطيب الشرائح بإضافة بعض الإيثانول على الماء البارد دون تقلبيه. وينبغي تحريك السائل السطحي من الشريحة قبل لحظة من توزيع الخلايا عليها. وكشفت التجربة عن أن نشر الكروموسومات يمكن أن يتأثر تأثراً كبيراً بدرجة الحرارة المحيطة والرطوبة النسبية في المختبر. ويمكن التغلب على تفاوت النوعية بسبب تلك العوامل عن طريق توزيع الخلايا على الشرائح داخل مقصورة يمكن التحكم في بيئتها. وتتاح تجارياً المقصورات المصمّمة خصيصاً لمختبرات الوراثة الخلوية.

وينبغي تعليق الخلايا تماماً في الجزء المتبقي من المثبت عن طريق النفخ فيه من خلال ماصة، وتوضع قطرتان أو ثلاث قطرات على الشريحة. وينبغي توزيع خلايا المزرعة على شريحتين على الأقل ويفضل الكثير من الأخصائيين تحضير نحو عشر شرائح من المزرعة الواحدة. ويُفضل قبل توزيع كل خلايا المزرعة على الشرائح وضع قطرة واحدة من المعلق على شريحة اختبار. ويساعد ذلك على الحكم على تركيز الأطوار الاستوائية ويمكن، عند اللزوم، زيادة تركيز المعلق المتبقي أو تخفيفه بالمثبط. وإذا لم يكن مظهر الأطوار الاستوائية على شريحة الاختبار مرضياً، أي إذا كانت مجموعات الكروموسومات الموزعة على الشريحة رديئة مع وجود الكثير من الحطام، قد يساعد في كثير من الأحيان إضافة غسلة أخرى من المثبت ووضع سداة وتخزين الأنابيب طيلة الليل في مبرد ثم تعرض بعد ذلك لطرد مركزي وتوزع الخلايا في اليوم التالي. وتترك الشرائح لتجف في الهواء، ويمكن تسريع ذلك تسخينها تسخيناً خفيفاً فوق طبق ساخن، أو عن طريق وضعها في تيار خفيف من الهواء الدافئ أو المحيط من مروحة، أو عن طريق تمريرها سريعاً خلال لهب مصباح كحولي (يراعى تجنب اشتعال المثبت).

٩-٣ التلوين

يوصى باستخدام الفلورسين المضاف إلى الغيمزا لأن ذلك يجعل التحليل مقصوراً على أطوار الانقسامات الاستوائية الأولى داخل المختبر [١٢٦]. على أن هذا الأسلوب ينطوي على بعض العيوب التي يمكن التغلب عليها باستخدام التلوين التقليدي بصبغة غيمزا، والفلورسين المضاف إلى الغيمزا. ولاحظ الكثير من الأخصائيين أن نوعية التلوين بالفلورسين المضاف إلى الغيمزا تتفاوت كثيراً بين الشرائح المكررة وكذلك بين مختلف المجموعات على نفس الشريحة. وتحقق تقنية التلوين بالفلور المضاف إلى غيمزا أكبر نجاح إذا تأخرت بضعة أيام (تصل إلى خمسة أيام) بعد إعداد الشرائح. ويمكن وضع الشرائح المتبقية في صندوق والاحتفاظ بها عند درجة حرارة ٢٠ درجة مئوية تحت الصفر قبل استخدامها. وتنخفض النوعية إذا استخدمت شرائح جديدة وكذلك إذا كان عمر الشرائح أسبوعين أو ثلاثة أسابيع. ويمكن لتخزين الشرائح الملونة بالفلورسين المضاف إلى غيمزا لمدة تزيد على بضعة أسابيع قبل قياسها أن يؤدي إلى تدهورها. وبالتالي فإن صور الأطوار الاستوائية الملونة بالفلورسين المضاف إلى الغيمزا قد لا تكون واضحة بالقدر الذي يكفي لتمييز كل الانحرافات بدقة. على أن النوعية تكون في العادة كافية لتحديد النسب النسبية لخلايا الطور الاستوائي الأول غير المتباينة الألوان، وخلايا الطور الاستوائي الثاني التي يظهر عليها أثر التبرقش. وينبغي، كشاهد إيجابي على نجاح التلوين، أن تشمل أيضاً مجموعة الشرائح بعض الشرائح المجهزة من مزارع استغرقت مدة أطول (٧٢ ساعة) يُعرف أنها تحتوي على خلايا الطور الاستوائي الثاني.

وبالتالي فإن البروتوكول الموصى به هو تلوين واحدة أو أكثر من النسخ المكررة من شرائح كل مزرعة بالفلورسين المضاف إلى الغيمزا. وإذا كان التلوين جيداً، يمكن استخدام هذه الشرائح في قياس انحرافات خلايا الطور الاستوائي الأول. وإذا لم يكن الأمر كذلك، ينبغي استخدام الشرائح في اختبار النسبة بين الطور الاستوائي الأول والطور الاستوائي الثاني، وينبغي تحليل الانحرافات باستخدام نسخة متطابقة من شرائح نفس المزرعة بحيث تكون قد لُوئت بطريقة غيمزا شريطة أن يقل مستوى خلايا الطور الاستوائي الثاني عن ٥ في المائة وفقاً للتقديرات التي تجري باستخدام الفلورسين والغيمزا. وإذا ارتفع مستوى خلايا الطور الاستوائي الثاني فإن ذلك قد يتطلب تعديل ناتج الانحرافات ويمكن أن يؤدي ذلك إلى حدوث بعض الخطأ الإضافي. ويتطلب ذلك افتراضات معينة تتعلق على سبيل المثال بنسبة ثنائيات القسيم المركزي في خلايا الطور الاستوائي الثاني التي لا تزال مصحوبة بشظية عديمة القسيم المركزي. وكما جاء من قبل، يفضل استخدام أساليب الزرع التي ينشأ عنها في العادة عدد قليل من خلايا الطور الاستوائي الثاني وإن كان من الصعب بطبيعة الحال التنبؤ بذلك في أي شخص بسبب تفاوت تحفيز الكريات اللمفاوية وقدرتها على التكاثر من شخص لآخر [١٢٧].

وربما يمكن عن طريق التكييف مع تقنيات الزرع البديلة، مثل الزرع باستخدام مثبط حركة الخلايا B، أو الكولسيميد، أو الكولسيميد المبكر، بديلاً أسهل وأسرع للتلوين بالفلورسين المضاف إلى الغيمزا [١١٧-١١٩، ١٢٥]. وقد تساعد هذه التقنيات بشكل خاص في سيناريوهات الفرز التي تقتضي تقدير الجرعات بسرعة.

٩-٣-١ المعالجة التمهيدية

يمكن للمعالجة التمهيدية باستخدام إنزيم ريبونوكلياز A (RNase A) قبل التلوين، أن يزيل المادة الهيولية الخلوية الملونة المتبقية [١٢٨]. وهذا إجراء اختياري يمكن أن يتيح صوراً أوضح كثيراً تبين الكروموسومات

لقياس المستحضرات الزرعية المحصورة الألوان، أو المبرقشة، أو شريطية. وعلاوة على ذلك، فقد أثبت هذا الإجراء فائدته في الشرائح التي تقيم باستخدام نظم تحليل الصور المأتممة.

وينفذ البروتوكول على النحو التالي: يُسخّن محلول مركز مؤلف من ١٠ مللي غرام/مليلتر من ريبونوكلياز A في محلول دارئ، Tris-EDTA، لمدة ١٠ دقائق في درجة حرارة ٧٠ مئوية ثم يُترك ليبرد ببطء. ويمكن تخزين الأجزاء لعدة سنوات عند درجة حرارة ٢٠ مئوية تحت الصفر. وتُغسل الشرائح في ماء مقطر وتوضع في ٠,٥ مللي غرام/مليلتر من ريبونوكلياز A (نسبة المحلول المركز إلى الماء المقطر ١: ٢٠) لمدة ١٠ دقائق عند درجة حرارة ٣٧ مئوية. ويمكن إجراء ذلك في قنينة تلوين دافئة، أو يمكن، على سبيل اقتصاد في التكاليف، استخدام حجم أقل من المحلول المركز بعد تخفيفه ووضعه على الشريحة تحت ساترة. وتُغسل الشرائح بعد ذلك في ماء مقطر، وتوضع في مثبت من الميثانول وحمض الخليك بنسبة ٣ إلى ١ لمدة دقيقتين، ثم تجفف وتلَوَّن على النحو المبين أدناه. ويمكن أيضاً استخدام إجراء تنظيف ريبونوكلياز A بعد إزالة الألوان من الشرائح القديمة أو عند تحضير النُويّات. ويمكن أن تتفاوت التركيزات والفترات الزمنية في هذه التطبيقات [١٢٨].

٢-٣-٩ التلوين بالفلورسين المضاف إلى الغيمزا

اشتق هذا الأسلوب من الأسلوب الذي نشره بيرري وولف (Perry and Wolf) [١١٤] بعد إدخال بعض التعديلات عليه. وتوضع نحو ١٠ قطرات من صبغة Hoechst 33258 (٠,٥ ميكرو غرام/مليلتر في دارئ فسوسفاتي أسه الهيدروجيني ٦,٨) على الشريحة تحت الساترة مع ضمان عدم انحباس أي فقاعات هوائية. ويمكن في هذه المرحلة أن يُجري الأخصائيون الذين يستخدمون المجهر الفلوري، إذا رغبوا في ذلك، اختباراً سريعاً لنسبة خلايا الطور الاستوائي الأول/خلايا الطور الاستوائي الثاني باستخدام أسلوب لات (Latt) [١٢٩] الذي يُحدث ظاهرة التبرقش، ولكنه يتلاشى بسرعة كبيرة. ويمكن في غير ذلك من الحالات إضافة الشرائح تحت مصباح من الأشعة فوق البنفسجية بقوة ٢٠ واط (أكثر من ٣١٠ نانومتر) لمدة ٠,٥ ساعة أو يمكن بدلاً من ذلك استخدام مصباح شريط فلوري بقوة ٣٠ واط لمدة ١,٥ ساعة تقريباً. وبعد إزالة السواتر بحرص، تُغسل الشرائح جيداً بالدارئ الفوسفاتي pH6.8. ويقوم بعض الأخصائيين في هذه المرحلة بوضع الشرائح في سترات الصوديوم 2 x SSC (كلوريد صوديوم بتركيز ٠,٣ مولار وسترات ثلاثي الصوديوم بتركيز ٠,٣ مولار) عند درجة حرارة ٦٠ مئوية لمدة تتراوح بين ٢٠ و ٣٠ دقيقة.

وكشفت التجربة عن إمكانية استبعاد مرحلة سترات الصوديوم إذا كانت ستسفر عن تضخم غير مرغوب في الكروماتيدات، وهو ما يزيد من صعوبة التحليل المجهرية. على أن استخدام سترات الصوديوم 2 x SSC يزيل بعض الحطام الخلوي ويؤدي بالتالي إلى الحصول على مستحضرات أنظف. وتُغسل الشرائح بعد ذلك في ماء مقطر، ثم تُغمس في صبغة غيمزا (٠,٥-١٠ في المائة في دارئ أسه الهيدروجيني ٦,٨، Guir R66) لمدة تتراوح بين ٣ و ٥ دقائق. وتُسطف الشرائح بعد ذلك في الدارئ ثم في ماء مقطر وتترك لتجف. ويمكن فحص الشرائح في هذه المرحلة تحت المجهر أو تُنظف وتوضع تحت ساترة.

٣-٣-٩ التلوين التقليدي بصبغة غيمزا

ينبغي غمر الشرائح في صبغة غيمزا ٢% (Guir R66 المحسّن) في دارئ فسوسفاتي أسه الهيدروجيني ٦,٨ لمدة ٥ دقائق ثم تُغسل في الدارئ وتُسطف سريعاً في ماء مقطر ثم تترك لتجف، وأخيراً توضع مع ساترة زجاجية باستخدام وسط إرسائي. ويبين الشكلان ١٠ و ١١ الأطوار الاستوائية الملونة بصبغة غيمزا.

ويمكن تعديل التلوين تحديداً لإبراز القُسميّات المركزية بالرغم من أن ذلك غير ضروري في العادة للفاحصين المتمرسين [١٣٠] ويمكن إبراز تلك القُسميّات المركزية عن طريق استخدام التهجين الموضعي بالفلورسين باستخدام المجس الشامل لكل القُسميّات المركزية (الشكل ٢٧) أو صبغة غيمزا باستخدام التحزيم الكروموسومي C (الشكل ٢٣).



الشكل ٢٣: طور استوائي ملون بصبغة غيمزا باستخدام أسلوب التحزيم الكروموسومي C لإبراز القسيمات المركزية.

وفيما يلي بروتوكول التحزيم C:

- (١) توضيع الشرائح في حمض هيدروكلوريك عياريته ٠,٢ في درجة حرارة الغرفة لمدة ٣٠ دقيقة.
- (٢) تُغسل الشرائح ثلاث مرات في ماء مقطر.
- (٣) توضيع الشرائح في هيدروكسيد باريوم ٥% في درجة حرارة ٦٠ مئوية لمدة دقيقة واحدة.
- (٤) تُغسل في حمض هيدروكلوريك عياريته ٠,٢ لمدة دقيقتين.
- (٥) تُغسل في ماء مقطر لمدة دقيقتين.
- (٦) توضيع في سترات ملح صوديوم بتركيز ٢ في درجة حرارة ٦٠ مئوية لمدة ٤٥ دقيقة.
- (٧) تُغسل في ماء مقطر.
- (٨) تُترك لتجف في الهواء وتلون بصبغة غيمزا ٢% في دارى فوسفاتي أسه الهيدروجيني ٦,٨ لمدة ١٠ دقائق.
- (٩) إذا لم تكن كثافة التلوين كافية، يمكن إعادة غمر الشرائح في صبغة غيمزا لمدة تتراوح بين ٥ و ١٠ دقائق أخرى.

٩-٤ تحليل الشرائح

٩-٤-١ الفحص المجهرى التقليدي

ينبغي ترميز الشرائح لمنع أي تحيز في الفحص، وينبغي مسحها منهجياً لضمان تغطية المساحة بكاملها. وينبغي إجراء المسح بتكبير منخفض (من ١٠٠ إلى ٢٠٠ تقريباً). وبهذا المستوى من التكبير لا يمكن حساب ما إذا كانت كل الكروموسومات موجودة، كما لا يمكن اكتشاف الانحرافات. على أنه يمكن للفاحص بالممارسة أن يحدد المسحات التي تحتوي على نحو ٤٠ جزءاً أو أكثر والمظهر الذي يرجح أن يكون بنوعية قابلة للتحليل.

بمستويات التكبير الأعلى. ومن المهم إجراء هذا المسح الأولي بتكبير منخفض بما يكفي لمنع حدوث تحيز في اختيار الخلايا التي تحتوي على انحرافات. وينبغي للفاحص إذا توصل إلى طور استوائي مرجح أن يتحول إلى زيادة التكبير (١٠٠٠ إلى ٢٠٠٠) وأن يتجاهل، إن أمكن، وجود أي انحرافات، وأن يقرر سريعاً ما إذا كانت الكروموسومات بنوعية مناسبة للتحليل. ويستند ذلك إلى مدى وضوح الصور ومقدار الالتواء والتداخل في الكروموسومات. وباستخدام المواد الملونة بالفلورسين المضاف إلى الغيمزا، ترصد الخلية التي يظهر عليها التبرقش، وهو ما يعني أن الخلايا ليست في الطور الاستوائي الأول.

وإذا تقرر تحليل المسحة، ينبغي عندئذ حساب عدد شظايا الكروموسومات الفردية وملاحظة وجود انحرافات. ويوصى بأن يقتصر الفحص على الأطوار الاستوائية الكاملة، أي الأطوار الاستوائية التي تحتوي على ٤٦ قسيماً مركزياً. وإذا كانت الخلية تحتوي على انحرافات غير مستقرة، ينبغي حينئذ أن تتوازن. من ذلك مثلاً أن المسحة المحتوية على كروموسومات ثنائية القسيم المركزي ينبغي أن يحتوي أيضاً على شظية عديمة القسيم المركزي على أن يظل العدد ٤٦ جزءاً. وفي المقابل ستكون الحلقة المركزية مصحوبة بشظية، ولكن مجموع عدد الأجسام في الخلية سيبلغ ٤٧. ويزداد عدد الأجزاء إلى ما فوق ٤٦ بسبب كل جزء لا مركزي زائد، أي كل جزء غير مرتبط بشظية ثنائية القسيم المركزي أو حلقة مركزية. ويجب عند تسجيل الانحرافات عدم إدراج القطع المرتبطة بالجزء الثنائي القسيم المركزي أو الحلقة في عدد القطع العديمة القسيم المركزي الزائدة. وفي حالات الجرعات الإشعاعية القوية، قد يكون هناك أكثر من انحراف في الانتشار، ولكن الأجزاء تظل متوازنة. وتعادل الانحرافات الثلاثية القسيم المركزي اثنين من ثنائيات القسيم المركزي وينبغي أن تصحبها قطعتان بينما يصاحب رباعيات القسيم المركزي ثلاث شظايا، وهكذا. وينبغي تسجيل كل انحرافات الخلية بالرغم من أن ما يُستخدم في العادة في أثناء قياس الجرعات هو البيانات المتعلقة فقط بثنائيات القسيم المركزي أو ثنائيات القسيم المركزي بالإضافة إلى الحلقات. وينبغي تسجيل الإحداثيات السينية والصادية في كل الخلايا الكاملة التي يتم تحليلها، بما فيها الخلايا الخالية من الانحرافات، للرجوع إليها في المستقبل.

٩-٤-٢ الفحص المجهرى بمساعدة الحاسوب

بدأ استخدام فحص الأطوار الاستوائية بنظم التعرف آلياً على الأنماط في الكثير من المختبرات ويتاح العديد من هذه النظم التجارية حالياً. وتشمل هذه الوسائل أيضاً تحليلاً شبه آلي للصور الرقمية التي تساعد على تحديد أماكن الكروموسومات التي تحتوي على انحرافات. على أنه لا يوجد أي نظام آلي تماماً؛ وتشمل جميع النظم خطوات يلزم فيها تدخل المشغل برأيه وقراره. وينبغي الالتزام بنفس المعايير الموصى بها أعلاه عند استخدام تلك الوسائل، أي ألا يتسبب اختيار الأطوار الاستوائية المراد فحصها في إحداث أي تحيزات يُرجح أن تشوه ناتج الانحرافات، واقتصار التحليل على الكروموسومات الكاملة. وتناقش نظم كشف وتحليل الخلايا الآلية بمزيد من التفصيل في القسم ١٣.

٩-٥ تسجيل البيانات

تتطلب الممارسات المختبرية السليمة نظاماً فريداً لترميز أو توسيم العينات والشرائح وما يصاحب ذلك من أعمال ورقية. وينبغي تسجيل استلام ومعالجة العينات سواءً للتجارب أو لفحص الجرعات الزائدة، في سجل يوميات المختبر، وتتاح نظم إلكترونية لتخزين ومعالجة البيانات (انظر القسم ١٣-٤). على أن الكثير من الباحثين ما زالوا يسجلون ملاحظات الفحص المجهرية في صحيفة تسجيل النتائج، وطوّرت معظم المختبرات طريقتها المفضلة في تسجيل البيانات. ويمكن تخزين وعرض البيانات في النظم الإلكترونية بطرق عديدة تناسب المختبر. ومن المهم أن يتسنى استرجاع البيانات الأولية المحتوية على الملاحظات المتعلقة بكل خلية حتى يتسنى لاحقاً إجراء كل ما يمكن إجراؤه من عمليات تجميع وتوليف البيانات.

وبيّن الجدول ٦ نسقاً بسيطاً لإحدى صحائف البيانات المستخدمة في تغيير الانحرافات.

الجدول ٦: نَسَق صحيفة تسجيل الانحرافات

رقم الشريحة:

الفاحص:

رقم المجهر:

التاريخ:

رقم الخلية	إحداثيات المرحلة		عدد الشظايا الكروموسومية	ثنائيات القُسَيْم المركزي	الحلقات المركزية	الشظايا الزائدة العديمة القُسَيْم المركزي	ملاحظات
	الصادي	السيني					
١	١٠٠,١	١,٢	٤٦				
٢	١٠٣,٤	١,٥	٤٧	١		١	
٣	١٠٥,٤	١,٢	٤٩	٢	١	٢	
٤	١١٢,٤	١,٦	٤٦				
٥	١١٢,٧	١,٨	٤٨			٢	
٦	١٢٠,١	١,٢	٤٦	١			
٧	١٢٢,٧	١,٥	٤٧		١		
٨	١٢٤,١	١,٤	٤٥				تبادل الكروماتيدات
٩	١٢٦,٨	١,٧	٤٦	*٢			* = ثلاثيات القُسَيْمات المركزية

إلى آخره

ويمكن تحديد أي خلية يراد فحصها في المستقبل من خلال المعلومات المسجلة في هذه الصحيفة. وبيانات الانحرافات غير المستقرة عندما تستخدم تقنية التلوين التقليدي بصبغة غيمزا هي الأهم في القياس البيولوجي للجرعات بالرغم من عدم إجراء أي محاولات لتسجيل الدقائق والقطع والحلقات العديمة القُسَيْم المركزي كل على حدة. ويرجع ذلك إلى أن التمييز الدقيق بينها غير ممكن في بعض الأحيان. على أنه يفضل تسجيلها باستخدام M، و F، و AR على التوالي، بدلاً من استخدام أرقام في عمود 'الشظايا الزائدة العديمة القُسَيْم المركزي'. ويمكن استخدام عمود الملاحظات في تسجيل أي شذوذ آخر، مثل الانحرافات العددية، أو الأضرار الكروموسومية المستقرة، أو الانحرافات الكروماتيدية. ويمكن أن تُستخلص بسهولة من الصحيفة أي معلومات عددية أخرى قد تكون مطلوبة، مثل المعلومات المتعلقة بالنسبة المئوية للخلايا المصابة بأضرار، أو توزيع الانحرافات بين الخلايا.

٦-٩ تخزين المعلومات والشرائح

من الواضح أنه لا بد من حفظ وتخزين البيانات البحثية للرجوع إليها في المستقبل. ومن المهم التأكيد على أنه قد يلزم إعادة فحص الملفات المتصلة بحالات الجرعات الزائدة بعد فترة طويلة. وفي حالة الأشخاص الذين يصابون بأورام خبيثة قد يعاد فتح المسألة لحسم مطالبة بالتعويض ربما بعد عشرات السنين.

وقد ترغب معظم المختبرات أو قد تلتزم أيضاً بتخزين الشرائح المجهرية، ويمكن أن يتسبب ذلك في بعض المشاكل. وقد تتلاشى المستحضرات المجهزة بصبغة غيمزا التقليدية، وتتسبب المواد الملونة بالفلورسين

المضاف إلى الغيمزا في صعوبات أكبر لأنها غالباً ما تتلاشى بعد عدة أشهر. ويستصوب الاحتفاظ بالشرائح الملونة في صندوق يوضع في مكان جاف في درجة حرارة الغرفة. على أن الشرائح التي تتلاشى ألوانها يمكن استرجاعها عن طريق إزالة الساترة وإعادة صبغها بالغيمزا التقليدية. ولن يحالف النجاح محاولات إعادة التلوين بالفلورسين المضاف إلى صبغة غيمزا. ويمكن أيضاً تلوين نسخ الشرائح المخزنة في درجة حرارة - ٢٠ مئوية التي لم تلون على الإطلاق وذلك باستخدام صبغة غيمزا التقليدية بعد عدة سنوات.

ومن الممارسات السليمة أيضاً تخزين فائض الخلايا المثبتة من فحوص الجرعات الزائدة. ويمكن لتيسير التخزين، تركيزها في أمبولات صغيرة (٢ مليلتر) والاحتفاظ بها في درجة حرارة ٢٠ درجة مئوية تحت الصفر. ويمكن تلوين الشرائح المصنوعة من هذه المادة بعد سنوات، عند الاقتضاء، بالطريقة التقليدية أو باستخدام الفلورسين المضاف إلى غيمزا أو باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين.

٩-٧ تقييم الجرعات

٩-٧-١ اختيار المنحنى

مصادر الإشعاعات التي يتعرض لها العاملون في العادة هي أشعة غاما، والأشعة السينية، وفي بعض الأحيان النيوترونات المتدهورة. وتبين عموماً وجود فرق بين منحنيات حسيلة الأشعة السينية وأشعة غاما، لا سيما في الجرعات الضعيفة (أقل من ٠,٥ غراي). ولذلك يُنصح بإعداد منحني معايرة لطاقة مناسبة من الأشعة السينية (ذروة فطية تتراوح بين ٢٠٠ و ٢٥٠ كيلو فلت) وكذلك الكوبالت - ٦٠ أو السيزيوم - ١٣٧. ويمكن عموماً لمعظم مختبرات البحوث أن تحصل على مصادر الكوبالت - ٦٠ بسهولة أكبر من السيزيوم - ١٣٧. وفيما يتعلق بالنيوترونات، يشبه طيف الطاقة المتدهورة طيف الانشطار. وتشير الأدلة المتاحة إلى أن منحنيات الجرعة والاستجابة لنيوترونات طيف الانشطار تكون خطية ولا تتغير كثيراً بتغير طاقة النيوترونات. وبالتالي يكفي إعداد منحني معايرة باستخدام طيف الانشطار.

ويشيع في التصوير الإشعاعي الصناعي استخدام الإيريديوم - ١٩٢، ويبلغ متوسط الطاقة الغيمية ٤٠٠ كيلو إلكترون فلت. ويحصل القليل من المختبرات على هذا النظير لإعداد منحني معايرة يقع في نقطة ما بين منحني الأشعة السينية ومنحنى أشعة غاما من الكوبالت - ٦٠ / السيزيوم - ١٣٧. على أنه يُعتقد عموماً أن منحني المعايرة يقترب أكثر من المنحنى الثاني، ولذلك يوصى باستخدام منحني أشعة غاما.

٩-٧-٢ عدد الخلايا المطلوب تحليلها

ينبغي في العادة فحص عدد كبير من الخلايا للتقليل إلى أدنى حد من الريبة الإحصائية حتى يمكن الحصول على تقدير ذي قيمة إحصائية. ويحدد عدد الخلايا المراد تحليلها كحل وسط استناداً إلى أهمية الحالة، والأيدي العاملة المتاحة، ونوعية الاستعدادات. من ذلك مثلاً أن عدد الكريات اللفوية لدى الشخص الذي يتعرض لجرعة تبلغ عدة غرايات أو أكثر قد يُستفد بشدة. وينعكس ذلك في انخفاض عدد الأطوار الاستوائية على الشرائح. على أن عدد الانحرافات في كل خلية لا يكون كبيراً، ويمكن إجراء تقدير معقول عن طريق تحليل بضع عشرات فقط من الخلايا. ومن المهم النظر في عدم التيقن من الجرعة مقابل عدد الخلايا المفحوصة عند إجراء فحص ثنائيات القسيم المركزي كأداة للفرز عند إجراء تقييم سريع في أعقاب الأحداث التي تنطوي على إصابات جماعية. ويعالج هذا الموضوع باستفاضة أكبر لاحقاً (القسم ١٤).

وأما في الجرعات الأقل التي لا يشكل فيها عدد الخلايا المتاحة عاملاً تقييداً فإن تقدير الجرعة يمكن أن يعتمد على نحو ٥٠٠ خلية. وقد يتطلب ذلك ما يتراوح بين يومين وثلاثة عمل باستخدام مجهر تقليدي، ويمكن في حالات الطوارئ أن يتعاون العديد من الأشخاص في فحص الشرائح المكررة. وتكفي في العادة حدود الثقة الناشئة عن فحص ٥٠٠ خلية عندما يكون ناتج ثنائيات القسيم المركزي منخفضاً أو صفراً. ويتوقف قرار زيادة عدد الخلايا المفحوصة من ٥٠٠ إلى ١٠٠٠ خلية أو أكثر على ما إذا كانت هناك أدلة تثبت حدوث تعرض خطير وتبرر توسيع التحليل، أو إذا تعذر الاستمرار في الاستعانة بأخصائي إشعاعي. ومن الواضح أنه لا يوجد عدد وحيد للخلايا يوصى باستخدامه في كل الحالات. على أنه يُقترح كقاعدة عامة استخدام ٥٠٠ خلية أو ١٠٠ كروموسوم من ثنائيات القسيم المركزي حتى يمكن تقدير الجرعة بدقة معقولة.

ويبين الجدول ٧ الحدود المحسوبة باستخدام هذا الأسلوب في العديد من تقديرات الجرعات التي تصل إلى ١ غراي.

الجدول ٧: تأثير زيادة عدد الخلايا المفحوصة على الحدود العليا والدنيا لفترة ثقة نسبتها ٩٥ في المائة في أربعة تقديرات لجرعات حادة من أشعة غاما

(استناداً إلى المنحنى المبين في الشكل ٢٤)

تقدير الجرعة بالمللي غراي	حدود الثقة	عدد الخلايا المفحوصة	
		٥٠٠	١٠٠٠
١٠٠	عليا	٣٢٠	٢٤٥
	دنيا	أقل من صفر	١٦
٢٥٠	عليا	٤٤٨	٣٨٠
	دنيا	١١١	١٤١
٥٠٠	عليا	٦٧٧	٦٢٧
	دنيا	٣٣٣	٣٨٣
١٠٠٠	عليا	١١٧٨	١١٢٧
	دنيا	٨٣٠	٨٨١

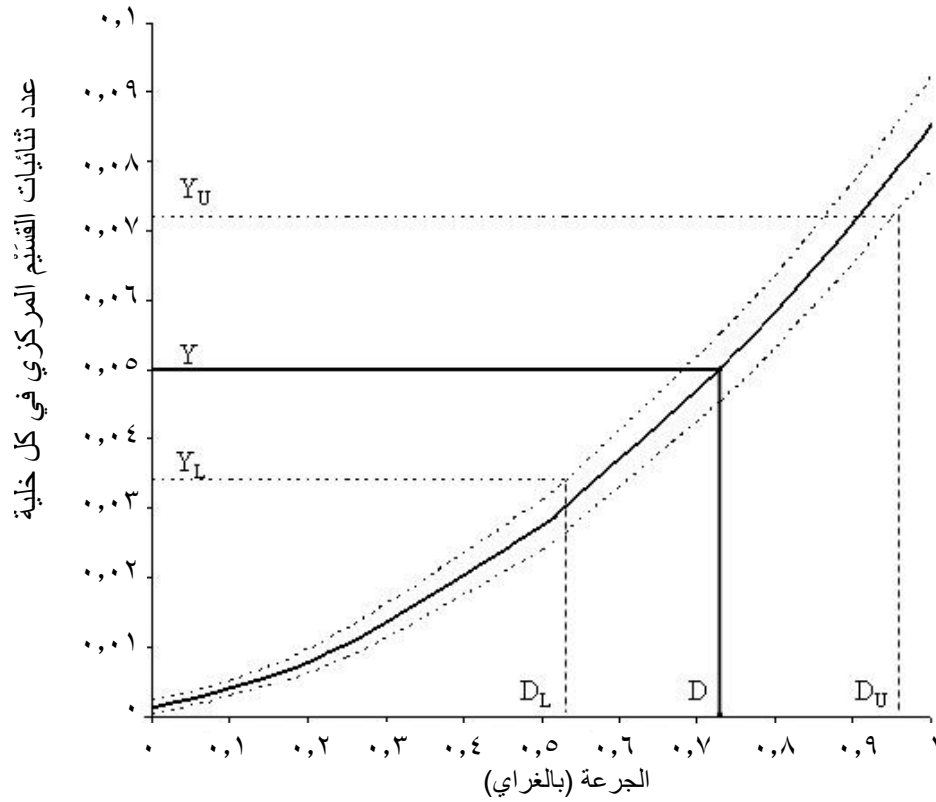
ويتناول القسم ٩-٧-٣ التالي أسلوباً بسيطاً لحساب حدود الثقة في تقديرات الجرعات.

٩-٧-٣ الرتبة في تقديرات الجرعات

بينما لا توجد أي صعوبة في اشتقاق الجرعة من قياسات ناتج ثنائيات القسيم المركزي، يمكن اشتقاق الرتبة التي ينطوي عليها الناتج بعدد من الطرق المختلفة. والهدف من ذلك هو التعبير عن الرتبة بفترة الثقة، ومن الممارسات المعتادة المعمول بها حساب حدود تبلغ نسبتها ٩٥ في المائة. وتحدد حدود الثقة التي تبلغ ٩٥ في المائة فترة تشمل الجرعة الحقيقية في ٩٥ في المائة على الأقل من المناسبات. وتنشأ صعوبة حساب حدود الثقة عن وجود مكونين في الرتبة، أحدهما ناشئ عن الطبيعة البواسونية لناتج الانحرافات الملحوظة في العينة المأخوذة من الشخص موضوع التعرض الزائد، والآخر ناشئ عن جوانب الرتبة المتصلة بمنحنى المعايرة الموزعة تقريباً توزيعاً طبيعياً. ونوقشت هذه المشكلة في مؤلفات سافيدج وآخرين (Savage et al) [١٣١]، وميركل (Merkle) [١٠٥] وكذلك منذ عهد أقرب في زلونيسكا وآخرين (Szluinska et al) [١٣٢]. والحل الأبسط المقترح من ميركل يسمح بأن يؤخذ في الاعتبار كل من الخطأ البواسوني في الناتج والأخطاء في منحنى المعايرة.

ويشمل نهج ميركل المبين في الشكل ٢٤ الخطوات التالية:

- (١) يُفترض توزيع بواسوني وتُحسب على أساسه الناتج المقابل للحدود الدنيا والعليا لثقة تبلغ ٩٥ في المائة في الناتج الملحوظ (Y_U , Y_L).
- (٢) تُحسب الجرعة التي يظهر عندها Y_L بالمنحنى العلوي. ويمثل ذلك حدّ الثقة الأدنى (D_L).
- (٣) تُحسب الجرعة التي يمر عندها Y_U بالمنحنى الأدنى. ويمثل ذلك حدّ الثقة الأعلى (D_U).



الشكل ٢٤: منحنى معايرة الجرعة - الاستجابة بحدود ثقة نسبتها ٩٥ في المائة لتقدير الرتبة.

مثال: أجري تحليل شمل ٥٠٠ خلية، ولوحظت ٢٥ خلية محتوية على كروموسوم واحد ذي قسيمين مركزيين في كل خلية. ويبلغ الناتج (Y) ٠,٥ من ثنائيات القسيم المركزي/خلية، والرقم القياسي للتشتت واختبار u ٠,٩٥ و ٠,٧٨ على التوالي. وفُدرت الجرعة باستخدام منحنى الجرعة والتأثير للكوبلت - ٦٠ المبين في الشكل ٢٤، وترد معاملاته وتبايناته وتغايراته أدناه.

$$\begin{aligned} C &= 1.28E-3 \\ \alpha &= 2.10E-2 \\ \beta &= 6.31E-2 \\ \text{var } C &= 2.22E-07 \\ \text{var } \alpha &= 2.66E-05 \\ \text{var } \beta &= 1.61E-05 \\ \text{covar } (C, \alpha) &= -9.95E-07 \\ \text{covar } (C, \beta) &= 4.38E-07 \\ \text{covar } (\alpha, \beta) &= -1.512E-05 \end{aligned}$$

(١) وبالنظر إلى أن منحنى الجرعة والتأثير هو منحنى خطي تربيعي ($Y = C + \alpha D + \beta D^2$)، يمكن تقدير الجرعة التي تبلغ ٠,٧٣ غراي عن طريق حل المعادلة التالية:

$$(٦) \quad D = \frac{-\alpha + \sqrt{\alpha^2 + 4\beta(Y - C)}}{2\beta}$$

(٢) يتم الحصول على قيم YL و YU من الجداول الإحصائية المعيارية لحدود الثقة توقُّعاً لمتغيّر بواسون [١٣٣]. ويبيّن الجدول ٨ الحدود البالغة ٩٥ في المائة لقيم ثنائيات القُسَم المركزي الملحوظة من صفر إلى ١٠٣. وفيما يتعلّق بثنائيات القُسَم المركزي الخمسة والعشرين الملحوظة في هذا المثال فإن YL تساوي ١٦,٧٦٨/٥٠٠=٠,٣٤، وتكون قيمة YU ٣٦,٠٣/٥٠٠=٠,٧٢.

الجدول ٨: الحدود البواسونية العليا والدنيا لفترة ثقة نسبتها ٩٥ في المائة للأعداد الملحوظة (X) من ثنائيات القُسَم المركزي

(بتصرّف من [١٣٣])

العدد	الدنيا	العليا	العدد	الدنيا	العليا	العدد	الدنيا	العليا	العدد	الدنيا	العليا
٠	٠	٣,٢٨٥	٢٦	١٦,٧٧	٣٧,٦٧	٥٢	٣٨,١٦٥	٦٦,٧٦	٧٨	٦١,٩	٩٦,٠٦
١	٠,٠٥١	٥,٣٢٣	٢٧	١٧,٦٣	٣٨,١٦٥	٥٣	٣٩,٧٦	٦٨,١	٧٩	٦٢,٨١	٩٧,٥٤٥
٢	٠,٣٥٥	٦,٦٨٦	٢٨	١٩,٠٥	٣٩,٧٦	٥٤	٤٠,٩٤	٦٩,٦٢	٨٠	٦٢,٨١	٩٩,١٧
٣	٠,٨١٨	٨,١٠٢	٢٩	١٩,٠٥	٤٠,٩٤	٥٥	٤٠,٩٤	٧١,٠٩	٨١	٦٣,٤٩	٩٩,١٧
٤	١,٣٦٦	٩,٥٩٨	٣٠	٢٠,٣٣٥	٤١,٧٥	٥٦	٤١,٧٥	٧١,٢٨	٨٢	٦٤,٩٥	١٠٠,٣٢
٥	١,٩٧	١١,١٧٧	٣١	٢١,٣٦	٤٣,٤٥	٥٧	٤٣,٤٥	٧٢,٦٦	٨٣	٦٦,٧٦	١٠١,٧١
٦	٢,٦١٣	١٢,٨١٧	٣٢	٢١,٣٦	٤٤,٢٦	٥٨	٤٤,٢٦	٧٤,٢٢	٨٤	٦٦,٧٦	١٠٣,٣١٥
٧	٣,٢٨٥	١٣,٧٦٥	٣٣	٢٢,٩٤٥	٤٥,٢٨	٥٩	٤٤,٢٦	٧٥,٤٩	٨٥	٦٦,٧٦	١٠٤,٤
٨	٣,٢٨٥	١٤,٩٢١	٣٤	٢٣,٧٦	٤٧,٠٢٥	٦٠	٤٥,٢٨	٧٥,٧٨٥	٨٦	٦٨,١	١٠٤,٥٨
٩	٤,٤٦	١٦,٧٦٨	٣٥	٢٣,٧٦	٤٧,٦٩	٦١	٤٧,٠٢٥	٧٧,١٦	٨٧	٦٩,٦٢	١٠٥,٩٠٥
١٠	٥,٣٢٣	١٧,٦٣٣	٣٦	٢٥,٤	٤٨,٧٤	٦٢	٤٧,٦٩	٧٨,٧٣	٨٨	٧١,٠٢	١٠٧,٣٢
١١	٥,٣٢٣	١٩,٠٥	٣٧	٢٦,٣١	٥٠,٤٢	٦٣	٤٧,٦٩	٧٩,٩٨	٨٩	٧١,٠٩	١٠٩,١١
١٢	٦,٦٨٦	٢٠,٣٣٥	٣٨	٢٦,٣١	٥١,٢٩	٦٤	٤٨,٧٤	٨٠,٢٥	٩٠	٧١,٢٨	١٠٩,٦١
١٣	٦,٦٨٦	٢١,٣٦٤	٣٩	٢٧,٧٣٥	٥٢,١٥	٦٥	٥٠,٤٢	٨١,٦١	٩١	٧٢,٦٦	١١٠,١١
١٤	٨,١٠٢	٢٢,٩٤٥	٤٠	٢٨,٩٧	٥٣,٧٢	٦٦	٥١,٢٩	٨٣,١٤	٩٢	٧٤,٢٢	١١١,٤٤
١٥	٨,١٠٢	٢٣,٧٦٢	٤١	٢٨,٩٧	٥٤,٩٩	٦٧	٥١,٢٩	٨٤,٥٧	٩٣	٧٥,٤٩	١١٢,٨٧
١٦	٩,٥٩٨	٢٥,٤	٤٢	٣٠,٠٢	٥٥,٥١	٦٨	٥٢,١٥	٨٤,٦٧	٩٤	٧٥,٤٩	١١٤,٨٤
١٧	٩,٥٩٨	٢٦,٣٠٦	٤٣	٣١,٦٧٥	٥٦,٩٩	٦٩	٥٣,٧٢	٨٦,٠١	٩٥	٧٥,٧٨٥	١١٤,٨٤
١٨	١١,١٧٧	٢٧,٧٣٥	٤٤	٣١,٦٧٥	٥٨,٧٢	٧٠	٥٤,٩٩	٨٧,٤٨	٩٦	٧٧,١٦	١١٥,٦٠٥
١٩	١١,١٧٧	٢٨,٩٦٦	٤٥	٣٢,٢٨	٥٨,٨٤	٧١	٥٤,٩٩	٨٩,٢٣	٩٧	٧٨,٧٣	١١٦,٩٣
٢٠	١٢,٨١٧	٣٠,٠١٧	٤٦	٣٤,٠٥	٦٠,٢٤	٧٢	٥٥,٥١	٨٩,٢٣	٩٨	٧٩,٩٨	١١٨,٣٥
٢١	١٢,٨١٧	٣١,٦٧٥	٤٧	٣٤,٦٦٥	٦١,٩	٧٣	٥٦,٩٩	٩٠,٣٧	٩٩	٧٩,٩٨	١٢٠,٣٦
٢٢	١٣,٧٦٥	٣٢,٢٧٧	٤٨	٣٤,٦٦٥	٦٢,٨١	٧٤	٥٨,٧٢	٩١,٧٨	١٠٠	٨٠,٢٥	١٢٠,٣٦
٢٣	١٤,٩٢١	٣٤,٠٤٨	٤٩	٣٦,٠٣	٦٣,٤٩	٧٥	٥٨,٧٢	٩٣,٤٨	١٠١	٨١,٦١	١٢١,٠٦
٢٤	١٤,٩٢١	٣٤,٦٦٥	٥٠	٣٧,٦٧	٦٤,٩٥	٧٦	٥٨,٨٤	٩٤,٢٣	١٠٢	٨٣,١٤	١٢٢,٥٧
٢٥	١٦,٧٦٨	٣٦,٠٣	٥١	٣٧,٦٧	٦٦,٧٦	٧٧	٦٠,٢٤	٩٤,٧٠٥	١٠٣	٨٤,٥٧	١٢٣,٧٧

(٣) ويمكن حساب حدود الثقة الدنيا والعليا البالغة ٩٥ في المائة للمنحنى باستخدام المعادلة التالية:

$$(٧) \quad Y = C + \alpha D + \beta D^2 \pm R \sqrt{\text{var}C + \text{var}\alpha D^2 + \text{var}\beta D^4 + 2\text{covar}(C, \alpha)D + 2\text{covar}(C, \beta)D^2 + 2\text{covar}(\alpha, \beta)D^3}$$

حيث:

R^2 هو عامل ثقة الانحدار، وهو حدّ الثقة البالغ ٩٥ في المائة لتوزيع كاي^٢، χ^2 (df, 95%)، بدرجتين أو ٣ درجات من الحرية (df).

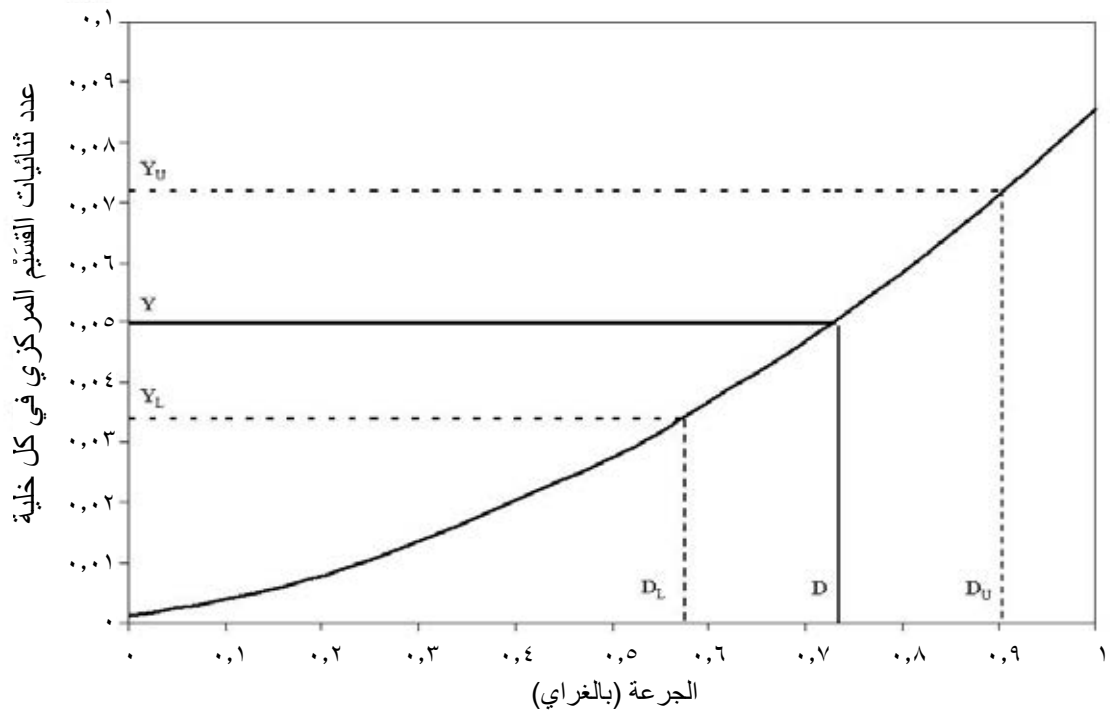
وفيما يتعلّق بالمنحنى الخطّي التربيعي (df=٣)، فإن R^2 تساوي ٧,٨١، وبالنسبة للمنحنى الخطّي فإنها تبلغ ٥,٩٩. وينبغي أن تكون القيمة ٢,٩٧ في المعادلة (٧)، وفي حالة المنحنى الخطّي، ينبغي أن تكون القيمة المستخدمة ٢,٤٥. ونظراً لوجود حدود ثقة بنسبة ٩٥ في المائة في كل من ملاحظة ناتج ثنائيات القسّم المركزي ومنحنى المعايرة فقد اقترح بعض المؤلفين استخدام حدّ ثقة بنسبة ٨٣ في المائة في منحنى الانحدار بدلاً من ٩٥ في المائة للتقليل من أي مغالاة محتملة في تقدير الرتبة [١٣٤، ١٣٥]. وفي هذه الحالة فإن R^2 ستكون ٥,٠٢ في المنحنى الخطّي التربيعي وستبلغ ٣,٥٤ في المنحنى الخطّي.

(٤) يمكن حساب النقطة التي يتقاطع عندها Y_L مع منحنى الثقة العلوي، وهو حدّ الثقة الأدنى البالغ ٩٥ في المائة للجرعة المقدّرة (D_L) عن طريق التكرار. ويحتوي برنامج إكسيل (Excel) على أداة 'حلّ' (Solver) يمكن استخدامها. وبهذه الطريقة يمكن الحصول على قيمة النقطة التي يتقاطع عندها (Y_U) مع منحنى الثقة الأدنى (D_U). وباستخدام هذا المثال فإن (D_L) و (D_U)، يساويان ٠,٥١ و ٠,٩٧ غراي على التوالي.

وإذا تعدّر الحصول على التغيرات، يمكن تقريب حدود الثقة باستخدام المعادلة (٨). ويمكن استخدام هذه المعادلة ما دام أثر الرتبة الناتجة عن التغيرات صغيراً نسبياً.

$$(٨) \quad Y = C + \alpha D + \beta D^2 \pm R \sqrt{\text{var}C + \text{var}\alpha D^2 + \text{var}\beta D^4}$$

ويكون التباين الناشئ عن المنحنى صغيراً مقارنة بتباين الناتج الملحوظ في الشخص المعرّض ويمكن تجاهله إذا استخدمت منحنيات المعايرة الراسخة المعتمّدة على قدر كبير من التحليل. ويمكن الحصول على تقدير تقريبي أبسط لقيمة (D_L) و (D_U) مباشرة من منحنى المعايرة عن طريق النظر في النقطتين اللتين يجتاز فيهما Y_U و Y_L الخط المتصل في الشكل ٢٥.



الشكل ٢٥: منحنى معايرة الجرعة - الاستجابة المستخدم في تقدير الرتبة، مع تجاهل الخطأ الناشئ عن المنحنى

في هذا المثال عندما تكون الجرعة ٠,٧٣ غراي فإن الخطأ المرتبط بالمنحنى يساوي ٠,٠٠٢؛ وتحسب هذه القيمة بتحديد ٠,٧٣ غراي لقيمة D في الحد الأخير من المعادلة (٧). وتقل هذه القيمة عن قيمة الخطأ المعياري المرتبط بالناتج الملحوظ في ثنائيات القسيم المركزي (٢٥) $500/\sqrt{2}$ التي تساوي ٠,٠١. وباتباع هذا النهج فإن D_U و D_L تساويان ٠,٥٧ و ٠,٩١.

وإذا كان اختبار u أعلى إحصائياً من ١,٩٦، ينبغي تصحيح Y_L و Y_U لمراعاة فرق التشتت عن طريق ضرب العامل المشار إليه أدناه، حيث CL هي حد ثقة بواسون المشار إليه في الجداول المعيارية، و X هي عدد ثنائيات القسيم المركزي الملحوظة، و σ^2/y هي الرقم القياسي للتشتت الملحوظ:

$$(٩) \quad Factor = \left(\frac{CL}{X} \right)^{\sqrt{\sigma^2/y}}$$

وباستخدام المثال الوارد أعلاه، عندما تلاحظ ١٩ خلية محتوية على كروموسوم واحد ذو قسيمين مركزيين وثلاث خلايا محتوية على كروموسومين من ثنائيات القسيم المركزي بدلاً من ٢٥ خلية محتوية على كروموسوم واحد ذي قسيمين مركزيين، فإن σ^2/y ستكون ١,١٩، وتبلغ قيمة u ٣,١٩. وفي هذه الحالة تكون Y_L و Y_U على النحو التالي:

$$(١٠) \quad Y_U = \frac{36.03}{500} \times \left(\frac{36.03}{25} \right)^{\sqrt{1.19}} = 0.1074$$

$$(١١) \quad Y_L = \frac{16.77}{500} \times \left(\frac{16.77}{25} \right)^{\sqrt{1.19}} = 0.0217$$

وباستخدام هذه القيم فإن D_U و D_L تساويان ٠,٣٩، و ١,١٩ غراي على التوالي.

٩-٧-٤ توسيع حسابات الجرعات في سيناريوهات التعرض الأكثر تعقيداً

ينطبق القسم السابق على الحالات التي يتوزع فيها التعرض الزائد العارض الحاد الكبير لإشعاع ذي انتقال خطي منخفض نسبياً للطاقة توزيعاً متجانساً في الجسم بكامله وتكون عينة الدم متاحة فوراً. ويتيح تردد ثنائيات القسيم المركزي في كل خلية يتم تقييمها على أساس منحنى حاد للجرعة والاستجابة في الظروف المختبرية تقديراً موثقاً لمتوسط الجرعة الممتصة في الجسم بكامله. على أن هذه الظروف المثالية نادرة الحدوث في الواقع العملي، وتشيع الإشعاعات الممتدة أو المجزأة. والمعتاد أكثر أن يكون التعرض الحاد غير متجانس، وربما يصيب جزءاً واحداً فقط من الجسم. وقد يحدث أيضاً تأخر زمني كبير قبل أخذ عينة الدم لدراساتها كروموسومياً. وسوف تُسفر هذه العوامل عن تجمعات غير متجانسة من الكريات اللمفاوية التي تؤخذ عينات منها، وسوف يؤدي ناتج ثنائيات القسيم المركزي الناشئة عند مقارنتها بمنحنى الجرعة - الاستجابة المعيارية في المختبر إلى تقدير غير واقعي للجرعة. ويولد عدم التجانس ناتجاً من ثنائيات القسيم المركزي التي لا تلتزم بالتوزيع البواسوني، ولكنها تتسم عموماً بفرط التشتت. ومن الواضح أن ذلك ينشأ في حالة تعرض جزء من الجسم بسبب عدم تأثير الكريات اللمفاوية في الخلايا الواقعة خارج مجال الإشعاع. وفي حالات التعرض الموضعي الشديد، قد يحتوي عدد الخلايا المعطوبة الأقل من المتوقع في كل منها على عدة انحرافات. وحتى عندما تكون الجرعة الإشعاعية متجانسة في الجلد فإن انخفاضها بوتيرة واحدة كلما ازداد عمق النسيج سيسفر عن مجموعة متباينة من الجرعات في الكريات اللمفاوية. ويتضح هذا التأثير بشكل خاص في الإشعاع الضعيف الاختراق، وأما التأثير الناتج عن الإشعاعات الأقوى اختراقاً مثل الأشعة السينية التي تبلغ ذروتها الفلطية ٢٥٠ كيلو فلت أو أشعة غاما من الكوبالت - ٦٠ والإيريديوم - ١٩٢ والسيزيوم - ١٣٧ يكون ضعيفاً بالقدر الذي يكفي لحدوث توزيع شبه بواسوني في ثنائيات القسيم المركزي.

ويؤدي أيضاً التعرض العارض لإشعاعات ذات انتقال خطي مرتفع للطاقة، مثل النيوترونات، إلى فرط تشتت التوزيع بسبب الطريقة التي تودع بها الجرعة في الخلية (انظر القسم ٣).

ويؤثر التأخر في أخذ عينات الدم على حصيللة الانحرافات لأن الخلايا المحتوية على انحرافات غير مستقرة تُفقد نتيجة دورانها وتحل محلها خلايا جديدة لا تحتوي على أي كروموسومات ذات قسيمين مركزيين.

ويهدف هذا القسم إلى مناقشة الطريقة التي تتأثر بها انحرافات الكروموسومات بعدم تجانس التعرض، وتأخر أخذ العينات، والتعرض لمدة طويلة، والطريقة التي يمكن بها رغم ذلك الاستفادة من البيانات في تقدير الجرعة بطريقة يمكن الوثوق بها. ويتناول هذا القسم أيضاً الإبلاغ عن حالات الطوارئ التي تنطوي على جرعات شديدة الانخفاض ويتعذر، بسبب القيود الإحصائية، تمييزها عن الجرعات الصفرية.

ويتضمن القسم التالي بعد ذلك أمثلة عملية لكل حالة من حالات التعرض في حالات الطوارئ.

٩-٧-٤-١ حوادث الحرجية

يتعرض الجسم في حوادث الحرجية إلى إشعاعات من النيوترونات وأشعة غاما. وإذا كانت نسبة جرعات النيوترونات إلى جرعات أشعة غاما معلومة وكانت هذه المعلومات متاحة في العادة من قياسات فيزيائية، يمكن في هذه الحالة تقدير جرعات النيوترونات وأشعة غاما المنفصلة عن طريق التكرارات. وتنفذ عملية التكرار على النحو التالي:

- (١) يُفترض أن كل الانحرافات راجعة إلى النيوترونات، وتقدر جرعة من منحنى النيوترونات باستخدام ناتج ثنائيات القسيم المركزي المقاس؛
- (٢) تُستخدم الجرعة النيوترونية المقدرة والنسبة المحسوبة بين الأشعة النيوترونية وأشعة غاما لتقدير جرعة أشعة غاما؛
- (٣) تُستخدم جرعة أشعة غاما لتقدير ناتج ثنائيات القسيم المركزي الناجمة عن أشعة غاما؛
- (٤) يُطرح الناتج المحسوب لثنائيات القسيم المركزي الناشئة عن أشعة غاما من الناتج المقاس للحصول على القيمة الجديدة للناتج النيوتروني؛

(٥) تكرر الخطوات من ١ إلى ٤ لحين التوصل إلى تقديرات متسقة ذاتياً.

وإذا تعدد الحصول على تقدير فيزيائي للنسبة بين الجرعة النيوترونية وجرعة أشعة غاما فلن يتسنى استخدام الأسلوب المذكور أعلاه. ويمكن التعبير عن الجرعة بمكافئ الغراي على غرار ما حدث لضحايا حادث توكاي مورا. على أن بريم وغروير (Brame and Groer) [١٣٦] تناولوا بالوصف نهجاً إحصائياً في تقدير الجرعات في حوادث الحرجية، ويسمح هذا النهج بتقدير الجرعة عندما لا يوجد تقدير للنسبة. وتبين أن هذا الأسلوب يعطي نتائج مماثلة بدرجة كبيرة للنهج التكراري الكلاسيكي المتبع في محاكاة الحوادث [١٣٧].

٩-١-٤-٢ حالات التعرض الزائد لجرعات ضعيفة

يشار في كثير من الأحيان إلى أن الحد الأدنى لكشف الجرعة عن طريق ثنائيات القسيم المركزي في حالات الإشعاعات ذات الانتقال الخطي المنخفض للطاقة يتراوح بين ٠,١ و ٠,٢ غراي. وتعتبر الحساسية للجرعات المنخفضة دالة لمستوى الخلفية في ثنائيات القسيم المركزي (التي تبلغ في حالة التجمعات العامة ~ ٠,٥ - ١/١٠٠٠ خلية) وحدود عدد الأطوار الاستوائية التي يمكن فحصها واقعياً. ولذلك فإن تقديرات الجرعات الضعيفة تنطوي على ريبة إحصائية كبيرة. وكما جاء من قبل فإن هذه الريبة تنشأ أساساً عن الخطأ البواسوني في الناتج، كما يؤثر الانحراف المعياري (SE) تأثيراً طفيفاً على المعاملات في منحني الجرعة - الاستجابة حيث α هي الأهم في الجرعات الضعيفة. وللأغراض العملية فإن هذه القيمة يمكن تجاهلها ما لم تكن بيانات المعايرة شحيحة في الجرعات الضعيفة.

وبينما لا تمثل الجرعات التي تتراوح بين ١٠٠ و ٢٠٠ مللي غراي مصدر قلق بالغ عند النظر في العواقب الصحية الناجمة عن التعرض فإن هذه الجرعات من الناحية القانونية تمثل جرعة قوية مقارنة بحدود الجرعة المهنية السنوية التي أوصت بها اللجنة الدولية للوقاية من الإشعاعات، وهي ٢٠ مللي سيفرت. وغالباً ما تقع ضغوط على الوراثة الخلوية لمحاولة حسم الجرعات الزائدة المنخفضة المشتبه بها، وربما يحمل هذا الأسلوب أكثر مما تسمح به إمكانياته.

وكشفت التجربة أنه عند الإبلاغ عن النتائج قلما يدرك الشخص العادي مفهوم الريبة. وهناك عدد من النهج التي يمكن استخدامها للمساعدة في تفسير النتائج. ويمكن في الطريقة الأولى، رغم أنها ليست دقيقة تماماً من الناحية الإحصائية، الإشارة إلى وجود فرصة نسبتها ٢,٥ في المائة فقط لأن تزيد الجرعة عن حد الثقة الأعلى البالغ ٩٥ في المائة. وإضافة إلى ذلك فإن حد الثقة الأدنى يمكن استخدامه لتحديد 'حد الكشف' في الفحص. وباستخدام الأرقام الواردة في الجدول ٩ فإن الجرعة التي تزيد إحصائياً على صفر من الغراي في الجرعة لن يشير إليها إلا ٤ أو أكثر من ثنائيات القسيم المركزي في كل ١٠٠٠ خلية، أي عندما يكون حد الثقة الأدنى أكبر من صفر غراي.

الجدول ٩: حدود الثقة في الجرعة بنسبة ٩٥ في المائة في مختلف النواتج المنخفضة للكروموسومات ذات القسيمين المركزيين في ١٠٠٠ خلية ونسب الأرجحية التي تكشف عن احتمالات جرعة صفرية أو جرعة قدرها ٠,٢٥ غراي

(حُسِبَت الجرعة على أساس أن $\gamma = 0,0010 + 0,0164D + 0,0492D^2$)

الملاحظة (ثنائيات القسيم المركزي)	الجرعة (غراي)			نسبة الأرجحية
	حد الثقة الأدنى	المتوسط	حد الثقة الأعلى	
صفر	—	صفر	٠,١٢	١ : ١٣٠٦
١	صفر	صفر	٠,١٨	١ : ١٦٠
٢	صفر	٠,٠٥	٠,٢٣	١ : ٢٠
٣	صفر	٠,٠٩	٠,٢٦	١ : ٢

الملاحظة (ثنائيات القُسَم المركزي)	الجرعة (غراي)			نسبة الأرجحية P (صفر غراي): p (صفر ٠,٢٥ غراي)
	حدّ الثقة الأدنى	المتوسط	حدّ الثقة الأعلى	
٤	٠,٠١	٠,١٣	٠,٣٠	١ : ٣
٥	٠,٠٣	٠,١٦	٠,٣٣	١ : ٢٨
٦	٠,٠٦	٠,١٩	٠,٣٦	١ : ٢٢٩
٧	٠,٠٩	٠,٢٢	٠,٣٨	١ : ١٨٦٨

ومن الناحية الأخرى، يمكن حساب نسبة أرجحية الجرعتين باستخدام الاحتمالات النسبية لكل جرعة في اثنين من السيناريوهات المحتملة، هما سيناريو الجرعة الصفرية وسيناريو الجرعة المشتبّه بها (مثل الشارة). وتُشتق الفرص من التوزيع البواسوني على النحو التالي. فالجرعة إذا كانت صفراً، يُتوقع من منحني الجرعة - الاستجابة أن يكون تردّد الخلفية كروموسوماً واحداً ذا قسيمين مركزيين في كل ١٠٠٠ خلية. وإذا كانت الجرعة ٠,٢٥ غراي، يُتوقع أن يكون الناتج ١,٢/٨٠٠٠. والفرصة النسبية لعدم وجود أي كروموسومات ذات قسيمين مركزيين عندما يكون الناتجين المتوقعين ١ و ٨,٢ من التوزيع البواسوني تكون $e^{-1}/e^{-8.2}$ أي ٠,٣٦٧٨٨/٠,٠٠٠٢٧. وتبلغ تقريباً ٣٠٠. وترد في السطر الأعلى من الجدول ٩ قيم فترات الثقة المتوسطة والدنيا والعليا في الجرعة بالإضافة إلى نسبة الأرجحية، جرعة الشارة، وترد أدناه القيم الأخرى التي كان يمكن الإشارة إليها إذا لوحظت أعداد مختلفة من ثنائيات المركز في ١٠٠٠ خلية.

ويمكن للمختبر الذي يقدّم التقرير أن يستخدم أحد النهجين أو كليهما عند عرض نتائج التحليل، ويتوقّف القرار بشأن ذلك على ملابسات الحالة.

٩-١٧-٤-٣ تعرّض جزء من الجسم

تمثّل الإشارة الوراثية الخلوية إلى حدوث تعرّض في جزء من الجسم توزيعاً غير بواسوني للكروموسومات ذات القسيمين المركزيين بين الأطوار الاستوائية المفحوصة في المريض. ولذلك تبدأ الخطوة الأولى بحساب نسبة التباين إلى المتوسط (σ^2/y) ثم يُستخدم بعد ذلك اختبار χ^2 لتحديد ما إذا كان النسبة تحيد كثيراً عن الاتحاد (انظر القسم ٨-٣). وإذا كانت البيانات متفقة مع توزيع بواسون، يوصى بالإبلاغ عن تقدير متوسط الجرعة في الجسم بكامله. وإذا لم تكن البيانات بواسونية، يُقترح استخدام أسلوبين على النحو الوارد أدناه، حيث يمكن اشتقاق تقدير لجرعة جزء من الجسم بدلاً من مجرد اقتباس متوسط قيمة جرعة الجسم بكامله. وقد يستند الحافز الذي يدفع إلى تقدير جرعة جزء من الجسم إلى معلومات عن ظروف حدث الجرعة الزائدة. ويوصى باستخدام اختبار χ^2 لتقييم التوزيع البواسوني للبيانات، وإن كان كثيرون يعتقدون أن هذا الاختبار ليس دقيقاً بدرجة كبيرة، خاصة في الحالات التي تُسجّل فيها أعداد قليلة من مسحات الطور الاستوائي. وبالتالي من الممارسات الروتينية المتبعة في الكثير من المختبرات مقارنة تقديرات جرعة الجسم بكامله وتقديرات جرعة جزء من الجسم باستخدام أي من الأسلوبين المبيّنين أدناه مع البيانات. وإذا كان تقدير جرعة الجسم بكامله مختلفاً اختلافاً كبيراً عن تقدير جرعة جزء من الجسم، ينبغي أن ينظر المختبر حينئذٍ إلى الحالة باعتبارها سيناريو ينطوي على تعرّض محتمل في جزء من الجسم. وفي حالة عدم التيقن من وجود اختلافات كبيرة بين تقدير جرعة الجسم بكامله وتقدير جرعة جزء من الجسم (القسم ٩-٧-٣) يوصى حينئذٍ باستخدام الأسلوبين المبيّنين هنا فقط عندما تبتعد البيانات كثيراً عن توزيع بواسون.

١ الأسلوب

هذا الأسلوب الذي اقترحه لأول مرة دولفن (Dolphin) [١٣٨] يسمّى أسلوب بواسون الملوّث. ويراعى في هذا الأسلوب فرط التشبّع في توزيع ثنائيات القُسَم المركزي بين كل الخلايا المفحوصة. ويعتبر التوزيع الملحوظ حاصل ما يلي: (أ) توزيع بواسون الذي يمثّل الجزء المشع من الجسم، و (ب) الجزء غير المعرض المتبقّي. ومن الواضح أن الخلايا المحتوية على انحرافات ستتركز في الجزء المشع من الجسم. وأما الخلايا

غير المعطوبة فسوف تتألف من مجموعتين فرعيتين، هما مجموعة خلايا الجزء غير المعرض، ومجموعة الخلايا المشعة التي لم تصب بأي عطب (وتمثل الحد الأول (e^{-Y}) من سلسلة بواسون). وتبين المعادلة (١٢) توزيع الضرر في الخلايا.

$$(١٢) \quad \frac{Y_F}{1 - e^{-Y}} = \frac{X}{N - n_0}$$

حيث:

Y_F	متوسط حصيلة ثنائيات القسيم المركزي في الجزء المشع،
e^{-Y}	يمثل عدد الخلايا غير المعطوبة في الجزء المشع،
X	عدد الخلايا الملحوظة،
N	مجموع عدد الخلايا،
n_0	عدد الخلايا الخالية من ثنائيات القسيم المركزي.

ويمكن حل المعادلة (١٢) عن طريق التكرار لتقدير الأرجحية العظمى للناتج، ويمكن بعد ذلك استخدام Y_F لحساب جزء الخلايا المفحوصة، f ، التي تعرضت للإشعاع باستخدام المعادلة (١٣):

$$(١٣) \quad Y_F f = \frac{X}{N}$$

ويمكن بعد ذلك حساب جرعة الجزء المشع باستخدام Y_F ومنحنى المعايرة الملائم. ويمكن اشتقاق حجم جزء الجسم المشع من f بعد تصحيحه لمراعاة تأثيرات الموت البيئي وتأخر الانقسام الفتيلي. وسوف تتسبب هذه العوامل في تقليل احتمالات وصول الخلايا المشعة إلى طور الاستوائي بعد مرور ٤٨ ساعة في المزرعة حتى لو كانت خالية من الانحرافات مقارنة بالخلايا غير المعرضة. وإذا كان جزء الخلايا المشعة التي تصل إلى طور الاستوائي يساوي p ، فإن جزء الجسم المشع، F ، يعبر عنه بالمعادلة التالية:

$$(١٤) \quad F = \frac{f / p}{1 - f + f / p}$$

وتقدر قيمة p للمعادلة:

$$(١٥) \quad P = \exp(-D/D_0)$$

حيث:

D الجرعة المقدرة،

وتوجد أدلة تجريبية على أن قيم D_0 تتراوح بين ٢,٧ و ٣,٥ [١٣٩، ١٤٠].

على أن هناك عدداً من القيود على هذا النهج:

- (١) يفترض الأسلوب أن تعرض الجزء المشع متجانس.
- (٢) يُشتق جزء الكريات اللمفاوية المشع الذي لا يمكن أن يرتبط إلا بجزء الجسم المشع عن طريق تبسيط افتراض توزيع الكريات اللمفاوية توزيعاً متجانساً في كل الجسم.
- (٣) يتطلب هذا النهج جرعة موضعية قوية بما يكفي لإيجاد عدد من الخلايا التي يلاحظ فيها وجود كروموسومين أو أكثر من ثنائيات القسيم المركزي. ويلزم ذلك لحساب أفضل توفيق للخلايا المشعة ولكن غير المعطوبة.

(٤) يفترض الأسلوب أن التأخر بين التشعيع وأخذ عينة الدم لا يخرج عن حدوده الدنيا، وبالتالي فإن ناتج ثنائيات القسيم المركزي لا ينخفض كثيراً بسبب دخول الخلايا الجديدة غير المعطوبة إلى الدورة الدموية. وإذا حدث تميع فسوف يقل على الأرجح الجزء المشع المشتق بهذا الأسلوب [١٤١].

الأسلوب ٢

اقترح هذا النهج ساساكي ومياتا (Sasaki and Miyata) [١٤٢] ويسمى أسلوب حاصل ثنائيات القسيم المركزي والحلقات (Qdr). ويراعي هذا الأسلوب ناتج ثنائيات القسيم المركزي والحلقات الناشئة عن الخلايا المحتوية على انحرافات غير مستقرة، ويفترض أن هذه الخلايا كانت موجودة وقت وقوع الحادث. ولذلك فإن هذا الأسلوب يتحايل على التميع الناجم عن خلايا غير معطوبة في جزء غير معرض من الجسم أو بسبب تجدد الخلايا بعد التشعيع من تجمع الخلايا الجذعية. ولا يتطلب هذا السلوب أيضاً وجود خلايا مصابة بأضرار كبيرة محتوية على انحرافين أو أكثر. وحاصل ثنائيات القسيم المركزي والحلقات هو الناتج المتوقع للكروموسومات ذات القسيمين المركزيين والحلقات بين الخلايا المعطوبة، N_U ، ويعبر عنه بالصيغة التالية:

$$Qdr = \frac{X}{N_U} = \frac{Y_1}{1 - e^{Y_1 - Y_2}} \quad (١٦)$$

حيث

X عدد حاصل ثنائيات القسيم المركزي والحلقات،
 Y_1 و Y_2 ناتج ثنائيات القسيم المركزي بالإضافة إلى الحلقات والقسيمات الزائدة العديمة القسيم المركزي، على التوالي.

ولما كانت Y_1 و Y_2 دالتين معلومتين للجرعة ويمكن اشتقاقهما من منحنيات الجرعة - الاستجابة داخل المختبر، يكون حاصل ثنائيات القسيم المركزي والحلقات دالة للجرعة وحدها ويسمح بالتالي بتقدير الجرعة في الجزء المشع من الجسم.

وهناك أيضاً عدة قيود مرتبطة بهذا الأسلوب:

(١) يفترض هذا الأسلوب، أسوة بالأسلوب ١، أن التعرض في الجزء المشع متجانس، ولكن ساساكي ومياتا [١٤٢] يرون أنه لا يوفر أي معلومات عن حجم هذا الجزء. على أن ذلك يمكن اشتقاقه تقريباً بنفس الإجراء المتبع في الأسلوب ١ عن طريق تحويل الجرعة إلى ناتج ثم تستخدم المعادلتان (١٣) و (١٤).

(٢) يفترض الأسلوب أن الانحرافات اللامركزية الزائدة تتبع أيضاً توزيعاً بواسونياً، ولكن البيانات المستقاة من التجارب المخبرية لا تؤيد ذلك. وإذا كان يُعتقد أن هذا القيد مهم فإن بالإمكان تلافيه عن طريق النظر في ناتج ثنائيات القسيم المركزي والحلقات في تلك الخلايا المعطوبة المحتوية فقط على كروموسومات ذات قسيمين مركزيين وحلقات. وبالتالي تُختزل المعادلة (١٦) إلى ما يلي:

$$Qdr = \frac{X}{N_U} = \frac{Y_1}{1 - e^{Y_1}} \quad (١٧)$$

وتتطابق هذه الصيغة مع المعادلة (١٢). وينشأ عن هذا الشكل المبسط تقدير للجرعة مطابق للتقدير المشتق باستخدام الأسلوب ١ أعلاه.

(٣) يفترض الأسلوب أن كل الخلايا المحتوية على انحرافات غير مستقرة كانت موجودة وقت حدوث التشعيع وأنه لم يحدث أي تحفيز للخلايا المحتوية على انحرافات كروموسومية مشتقة بسبب أضرار الكروماتيد في الخلايا الجذعية.

تأكد بما لا يدع مجالاً للشك أن بعض الكريات اللمفاوية المحتوية على انحرافات تظل موجودة في الدورة الدموية الطرفية لسنوات كثيرة بعد التشعيع. ومع ذلك فقد تبين أن تأخر أخذ عيّنة الدم لمدة تزيد على بضعة أسابيع بعد التشعيع يقلل ناتج الانحرافات. ويتجلى ذلك بوضوح بعد الجرعات الكبيرة التي تكون قوية بما يكفي لإحداث ردود فعل قطعية مبكرة، مثل انخفاض عدد خلايا الدم البيضاء. وفي حالة الجرعات الضعيفة التي تقل عن عتبة التأثير القطعي، تزداد إمكانية تأخر معرفة الجرعة الزائدة. ولذلك يتعين إجراء بعض التعديلات حتى يتسنى تقدير الجرعة بطريقة أكثر واقعية. ومما يؤسف له أنه لا يوجد سوى نزر يسر من البيانات التي يمكن أن تساعد على استخلاص معامل تصحيح يمكن الوثوق به. والواقع أنه بالنظر إلى وجود تفاوت فردي ملحوظ تبعاً لعوامل من قبيل حالات العدوى، فإن تضال ناتج الانحرافات ربما لا يمكن التعبير عنه ببساطة كدالة للزمن وحده. ومع ذلك فقد اقترحت معدلات اختفاء أسية مصحوبة بعمر نصفي مدته ثلاث سنوات تقريباً [١٠٦]. ويبدو، على سبيل التقريب العام، أن ذلك مناسب عندما يتأخر أخذ العيّنة لمدة طويلة تصل إلى خمس سنوات أو أكثر. على أنه قلماً يتأخر أخذ العينات كل هذه المدة في حالة فحص التعرضات العارضة التي تستغرق مدة قصيرة. ويتراوح التأخير في العادة بين بضعة أيام وبضعة أسابيع. ويرجح تأخر أخذ العيّنة بضعة أسابيع إذا لم يدرك التعرض إلا عند تجهيز مقياس الجرعة الشخصية الروتينية وظهور التشعيع في مرحلة مبكرة من فترة الإصدار. وقد يتأخر أخذ العيّنة أكثر من سنة على أقصى تقدير، ولذلك من غير الملائم أن يكون العمر النصفى للاختفاء الأسّي ثلاث سنوات تقريباً خلال تلك الفترة.

ولعل أشمل مجموعة من البيانات هي البيانات التي نشرها بكتون وآخرون (Buckton et al) [١٤٣، ٦٣، ١٤٤] الذين قاموا على امتداد ٣٠ سنة بأخذ عيّنات متكررة من مجموعة من المرضى الذين كانوا يعالجون من التهاب الفقار الروماتويدي باستخدام الأشعة السينية المجزأة. وكشفت هذه الدراسات عن توقّف أولي في ناتج الانحرافات واستمر هذا التوقف مدة طويلة استغرقت نحو ٢٠ أسبوعاً وتلتها فترة هبوط حاد لأكثر من أربع سنوات. وخلال السنوات الأربع الأولى، توصل الباحثون إلى أن حصيلة ثنائيات المركز قد انخفضت إلى معدل بلغ نحو ٤٣ في المائة سنوياً، ووصل الهبوط بعد ذلك إلى نحو ١٤ في المائة سنوياً. وبالنظر إلى التقلب الكبير في البيانات المحدودة، تعذر تقديم أي توجيهات مؤكدة، خاصة فيما يتصل بحالات التأخير التي زادت على بضعة أسابيع. ولذلك ربما أدى عدم تصحيح ناتج ثنائيات القسيم المركزي إلى تقدير الجرعة بقيمة أقل من الواقع، ولكن حجم هذا التقليل يتوقف على عوامل ترتبط بكل فرد على حدة ويتعذر عموماً قياسها كمياً.

ولوحظ في مناقشة تشعيع جزء من الجسم (القسم ٩-٧-٤-٣ أعلاه) أن أسلوب حاصل ثنائيات القسيم المركزي والحلقات لا يُعنى إلا بناتج ثنائيات القسيم المركزي والحلقات في الخلايا المعطوبة. ولذلك يمكن أيضاً عن طريق الأخذ بهذا النهج عند الحصول على عيّنات الدم تلافي مشكلة التميع الذي يحدث بمرور الوقت بسبب الخلايا غير المعطوبة التي تدخل الدورة الدموية شريطة استمرار ملاحظة أعداد كافية من الخلايا المحتوية على انحرافات غير مستقرة. ومن الواضح أن ذلك غير ممكن عملياً في حالات التأخير لمدة طويلة. على أنه قد يكون من الممكن في تلك الحالات النظر في استمرار الخلايا المحتوية على انحرافات مستقرة. ولم يكن ذلك ممكناً طيلة سنوات كثيرة إلا عن طريق التتميط النووي للكثير من المستحضرات المحصورة الألوان والشريطية. وبهذه الأساليب كشفت دراسة التهاب الفقار الروماتويدي عن أن مستوى هذه الخلايا ظل ثابتاً تقريباً على امتداد السنوات الثلاثين التي شملتها المتابعة. وأشار أوا (Awa) [١٤٥] إلى وجود ارتباط قوي بين تردد الانحرافات المستقرة وتقديرات DS86 للجرعة لدى الناجين من القنبلة الذرية. وتُسبّغ انتقائياً الخلايا المنقسمة المحتوية على انحرافات غير مستقرة عن طريق الانقسام الفتيلي غير الانفصالي. وتُفسّر زيادة الانحرافات المستقرة بمرور الوقت على أساس افتراض أن الخلايا المحتوية على أضرار مستقرة وغير مستقرة تختفي بنفس المعدل، ولكن اختفاء الضرر المستقر يقابله انقسامات دون عائق من تجمع الخلايا الجذعية. ويُستبدل حالياً التتميط النووي المجمّع في شكل شرائط التهجين الموضعي بالفلورسسين باعتبار أن ذلك هو الأسلوب الأمثل للتحقق من وجود انقلاات كروموسومية مستقرة نادرة وعشوائية وغير بنوية بأعداد كبيرة في أثناء القياس البيولوجي الرجعي. ويرد بيان ذلك في القسم ١٠.

يمكن أيضاً لتمديد أو تجزئة التعريض أن يسفر عن تخفيض ناتج الانحرافات الكروموسومية أكثر مما في حالات الجرعات الحادة. وفيما يتعلق بالإشعاع ذي الانتقال الخطي المرتفع للطاقة، حيث العلاقة بين الجرعة والاستجابة قريبة من خطية، لا يتوقع أي معدل للجرعة أو أي تأثير للتجزئة. وأما في حالة الإشعاعات ذات الانتقال الخطي المنخفض للطاقة فإن تأثير تمديد الجرعة يخفض معامل تربيع الجرعة، β ، في معادلة الناتج (٢). وهذا الحد يمثل الانحرافات، ربما الثنائية المنشأ، التي يمكن تعديلها عن طريق آليات الإصلاح التي لا يزال أمامها وقت للعمل في أثناء التعرض الممتد أو في الفترات الواقعة بين التعرضات الحادة المتقطعة. وكشف عدد من الدراسات عن أن تناقص تردد الانحرافات يتبع فيما يبدو دالة أسية وحيدة متوسط مدتها ساعتان تقريباً. وتكون أغلبية الأضرار المتحوّلة إلى انحرافات كروموسومية قد تم إصلاحها أو لا تحتاج في غير ذلك من الحالات للتفاعل في غضون ما يتراوح بين خمس وست ساعات بعد التعرض.

واقترح لي و كاتشسايد (Lea and Catchside) [١٤٦] معاملاً زمنياً تابعاً يُعرف بالدالة G للتمكين من تعديل معامل تربيع الجرعة وبالتالي السماح بحدوث تأثيرات تمديد الجرعة. ويمكن تعديل المعادلة الخطية التربيعية (٢) كما هو مبين في المعادلة (١٨):

$$Y = C + \alpha D + \beta G(x) D^2 \quad (18)$$

حيث:

$$G(x) = \frac{2}{x^2} [x - 1 + e^{-x}] \quad (19)$$

و

$$x = \frac{t}{t_0} \quad (20)$$

حيث:

t مدة حدوث التشعيع،

t_0 متوسط عمر الانقسامات التي تبين أنها تبلغ ~٢ ساعة [٩٦، ١٤٧]

ولذلك يلزم في حالة التشعيع المستمر معرفة طول المدة التي استغرقها التعرض وكذلك، على سبيل التبسيط، افتراض بقاء معدل الجرعة في أثناء التعرض على حاله دون تغيير يذكر. وهذا الإجراء لا يستحق التجربة ما لم تكن الجرعة الكلية كبيرة بما يكفي وما لم تكن مدة التعرض ساعات أو بضعة أيام. ومن الواضح أنه في حالة التعرضات الصغيرة (أقل من ٠,٣ غراي) للإشعاع ذي الانتقال الخطي المنخفض للطاقة، حتى وإن تلقاه الشخص في جرعات حادة، تحدث أغلبية الانحرافات بسبب مرور مسارات تأيينية وحيدة بحيث يقترب الناتج من $Y = \alpha D$ على أية حال. وعندما يتلقى الشخص جرعة على امتداد فترة طويلة، تتضاءل قيمة $G(x)$ تقريباً إلى الصفر. ولذلك حتى إذا كانت الجرعة قوية (أكثر من ١ غراي) فإن الناتج يصبح فعلياً $Y = \alpha D$ ، والخلاصة أنه يمكن في حالة التعرضات المتقطعة التي تستمر لفترات تزيد على ست ساعات بين أجزاء التعرضات النظر إلى التعرضات باعتبارها تمثل عدداً من التشعيعات الحادة المعزولة التي يضاف إلى كل منها نواتج الانحرافات المستحثة. وإذا كانت المدة قصيرة بين أجزاء التعرضات يمكن الاستعاضة عن $G(x)$ في المعادلة (١٨) بالأس $(-t_1/t_0)$ حيث t_1 هي المدة بين الأجزاء. وعرض لويدي وآخرون (Llodyd et al) [٩٦] وبوشنغر وآخرون (Bauchinger et al) [١٤٧] أدلة تجريبية تؤيد فرضية الدالة G.

٩-٧-٤-٦ الترسيب الداخلي للنويدات المشعة

يشكل ذلك نوعاً خاصاً من التشعيع الممتد المصحوب في العادة بمضاعفات عدم التجانس الشديد في تعرض الجسم. ويرجع ذلك إلى وجود عدد كبير من العوامل التي تؤثر على مواقع ترسيب النويدات المشعة ومدة بقائها. وتشمل هذه العوامل مسار الدخول إلى الجسم، والشكل الفيزيائي - الكيميائي، ونوعية الإشعاع المنبعث، والمسارات الأيضية التي قد تلتحم من خلالها النويدات، وحالة وظائف الجسم في الشخص.

ويمكن ملاحظة الانحرافات الكروموسومية التي تزيد عن مستويات الخلفية في الأشخاص المصابين بتلوث داخلي. على أنه بالنظر إلى وجود الكثير من عوامل الإرباك، يتعذر استخدام ناتج الانحرافات لاشتقاق تقدير معقول للجرعة الإشعاعية التي يتلقاها الجسم بكامله أو التي تتلقاها أعضاء معينة في الجسم. ويمكن إحالة ناتج الانحرافات إلى منحني جرعة - استجابة تشعّع فيه الكريات اللمفاوية داخل المختبر باستخدام النويدات المشعّة المعيّنة، وقد يساعد ذلك على تقدير جرعة الجسم الحيّ في الكريات اللمفاوية المنتشرة في الدورة الدموية للمريض. ومن أمثلة ذلك ما عرضه دوفرين وآخرون (DuFrain et al) [١٤٨] بخصوص حادث أصيب فيه رجل بتلوث واسع النطاق نتيجة التعرّض لمصدر أميريشيوم-٢٤١. على أن الجرعة التي تتلقاها الكريات اللمفاوية، خاصة في حالة مبعثات ألفا، ربما لا تعبر بشكل صحيح عن الجرعة التي تتلقاها الخلايا والأنسجة الأخرى في الجسم.

وبالتالي تظل عموماً دراسات الوراثة الخلوية محدودة القيمة في حالات النويدات المشعّة المترسبة داخلياً. وتوجد استثناءات عندما تشعّت النويدات المشعّة بانتظام إلى حد ما في الجسم. وتشمل أمثلة ذلك نظائر السيزيوم والماء المعالج بالترينيتيوم. ويغلب على السيزيوم تركّزه في العضلات ويتوزّع تقريباً في كل أجزاء الجسم ويستخلص على طورين ويبلغ معدّل التخلص منه ١٠ في المائة بعمر نصف قدره يومان، و ٩٠ في المائة بعمر نصف قدره ١٠٠ يوم. وكانت النويدات التي انطلقت في حادث جوانيا [١٤٩، ١٥٠] هي السيزيوم-١٣٧، وساهمت بدور كبير في الجرعة الناجمة عن التلوث البيئي في تشرنوبل [١٥١]. وأما التريتيوم الذي يدخل إلى الجسم في شكل ماء أو غاز معالج بالترينيتيوم فيتحد مع ماء الجسم وبالتالي ينتج تشعيعات متماثلة تقريباً. ويبلغ عمره النصف البيولوجي ١٠ أيام تقريباً، وبالتالي يمكن النظر إلى التعرّض، مثلما في حالة السيزيوم، باعتباره مزمناً ويتوقّع عملياً أن تكون العلاقة بين الجرعة والاستجابة خطيّة. وإذا لم يوجد منحني الجرعة والتأثير في حالة التريتيوم داخل المختبر فإن منحني الأشعة السينية الذي تتراوح ذروته الفلطية بين ٢٠٠ و ٣٠٠ كيلو فلت سيكون كافياً. وأثبت بروسية وآخرون (Prosser et al) [١٥٢] فعالية بيولوجية نسبية قدرها ١,١٣ عندما تكون الجرعة ضعيفة أو معدلات جرعة التريتيوم عندما تبلغ الذروة الفلطية للأشعة السينية ٢٥٠ كيلو فلت.

٩-٧-٥ أمثلة لتقديرات الجرعة

٩-٧-٥-١ التعرّض الحاد في الجسم بكامله

وصف بروين وآخرون (Brewen et al) [٩١]، وبرستون وآخرون (Preston et al) [١٥٣] حادثاً انطوت على مصدر كوبالت - ٦٠ توزّعت فيها جرعة قوية بتجانس نسبي في مقدّمة الجسم. وكان متوسط الجرعة التي تلقاها الظهر أقل، ولكنه تعرّض هو الآخر عندما استدار الرجل وسار بعيداً عن المصدر. واستغرق زمن التعرّض الإجمالي أقل من دقيقة واحدة. وأخذت عدة عيّينات من الدم على فترات تراوحت بين ست ساعات وثلاث سنوات بعد الحدث. وظلّ ناتج الانحراف ثابتاً نوعاً ما خلال الفترة الممتدة من الست ساعات حتى ٣٢ يوماً، وأخذت خلال تلك الفترة ٧ عيّينات من الدم وتم تحليل ٣٠٠ طور استوائي من كل عيّنة. وبعد تجميع بيانات العيّينات السبع لوحظ وجود ٤٧٨ كروموسوما ذا قسيمين مركزيين وحلقات في ١٠٠ ٢ خلية. واستخدم الأخصائيون منحني جرعة واستجابة مختبري لأشعة غاما عبروا فيه عن الجرعة، D، بالرونغن (R):

$$Y = 3.93 \times 10^{-4} D + 8.16 \times 10^{-6} D^2 \quad (٢١)$$

لتقدير متوسط جرعة بلغت ١٤٤ رونتغن (١ رونتغن = ٠,٠٠٩٥ غراي) في الجسم بكامله. ويتفق ذلك تماماً مع التقدير المادي الذي بلغ ١٢٧ رونتغن من مقياس الوميض الحراري الذي كان يحمله الرجل وبعد إعادة الحدث باستخدام جهاز شبح. واتسقت أيضاً التغييرات العامة التي لوحظت في الدم مع تعرّض بلغ ١٥٠ رونتغن.

٩-٧-٥-٢ حادث حرجية

نتناول في هذا القسم حادث حرجية فُحصت فيه ١٠٠ خلية ولوحظ فيه ١٢٠ كروموسوما ذا قسيمين مركزيين، أي ١,٢ كروموسوما لكل خلية. وبلغت نسبة النيوترونات إلى غاما وفقاً للقياسات الفيزيائية ٣:٢ في الجرعة الممتصة. وحددت التقديرات الوراثة الخلوية للجرعة باستخدام منحنيات معايرة لنيوترونات طيف

انشطاري بلغ ٠,٧ ميغا إلكترون فلت وأشعة غاما من مصدر كوبالت - ٦. واستخدمت المعادلتان التاليتان لتحديد ناتج هذه المنحنيات:

$$Y = 0.0005 + 8.32 \times 10^{-1} D \text{ النيوترونات:}$$

$$Y = 0.0005 + 1.64 \times 10^{-2} D + 4.92 \times 10^{-2} D^2 \text{ أشعة غاما:}$$

وباتباع الخطوات المبينة في القسم ٩-٧-٤-١:

(١) يعادل ١,٢٠ من ثنائيات القسيم المركزي لكل خلية ١,٤٤ غراي من النيوترونات؛

(٢) ١,٤٤ = ٢/٣ x ٢,١٦ غراي من أشعة غاما؛

(٣) ٢,١٦ غراي من أشعة غاما يعادل ٠,٢٦٦ من ثنائيات القسيم المركزي لكل خلية؛

(٤) ١,٢٠ - ٠,٢٦٦ = ٠,٩٣٤، أي حصيلة ثنائيات القسيم المركزي الناجمة عن النيوترونات؛

(٥) ٠,٩٣٤ من ثنائيات القسيم المركزي لكل خلية يعادل ١,١٢ غراي من النيوترونات.

وبتكرار الخطوة ٢، فإن ١,١٢ x ٢/٣ = ١,٦٨٣ غراي من أشعة غاما وهكذا. وبعد بضعة تكرارات، تم الحصول على جرعتين قدرهما ١,٢١ غراي من النيوترونات، و ١,٨٢ غراي من أشعة غاما. ويرد التسلسل الكامل في الجدول ١٠.

وتم التثبت مختبريا من هذا النهج حيث وأسفر ذلك عن تقديرات جيدة بدرجة كبيرة للجرعة النيوترونية والجرعة الغيمية الفعلية في التمارين الدولية لمقارنة قياسات الجرعات في حوادث الحرجية [١٣٧، ١٥٤]

الجدول ١٠: تسلسل خطوات تقدير جرعات خليط أشعة غاما والإشعاع النيوتروني

الخطوتان ١ و ٥	الخطوة ٢	الخطوة ٣	الخطوة ٤
جرعة النيوترونات	جرعة أشعة غاما	ناتج أشعة غاما	ناتج النيوترونات
(غراي)	(غراي)	(ثنائيات القسيم المركزي في كل خلية)	(ثنائيات القسيم المركزي في كل خلية)
١,٤٤	٢,١٦	٠,٢٦٦	٠,٩٣٤
١,١٢	١,٦٨	٠,١٦٧	١,٠٣٢
١,٢٤	١,٨٦	٠,٢٠١	٠,٩٩٩
١,٢٠	١,٨٠	٠,١٨٩	١,٠١١
١,٢١	١,٨٢	٠,١٩٤	١,٠٠٦

٩-٧-٥-٣ التعرض الزائد لجرعات ضعيفة

قام مصور إشعاعي يعمل في الاختبارات غير المتلفة باستخدام مصادر الإيريديوم - ١٩٢ بإعادة مقياس يعمل بالموميض الحراري، وكان المقياس قد سجل تعرضاً إشعاعياً مخترقاً بقوة ٢٥٠ مللي سيفرت. ولم تسجل أجهزة قياس الجرعات التي كان يحملها زملاؤه الذين كانوا يعملون معه بانتظام أي تعرضات. ولم يكن هناك أي دليل يثبت حدوث أي خلل في النظم أو أي تفسير آخر لشارة الجرعة الزائدة. وأحيلت الحالة إلى التحليل

الوراثي الخلوي الذي فحص ١٠٠٠ خلية في الطور الاستوائي وكشف عن عدم حدوث أي أضرار في تلك الخلايا. وأشار التقرير إلى أن ذلك هو أفضل تقدير لجرعة صفرية، ولكن باستخدام المنحنى $y = 0.001 + 0.0164D + 0.0492D^2$ ، بلغ حد الثقة الأعلى للصفر ٩٥ في المائة في جرعة قدرها ٠,١٢ غراي. وانتابت الباحثون شكوك حول ما إذا كان الرُّجُل قد تعرَّض بالفعل للإشعاع وبالتالي فقد كان مفيداً في هذه الحالة تقديم النتائج بطريقة مختلفة. وباستخدام نهج نسبة الأرجحية المبين في القسم ٩-٧-٤-٢، فإن أرجحية الصفر = ١:٣٠٠ تقريباً.

٩-٧-٥-٤: التعرُّض الحاد غير المتجانس

حدث تشعيع غير متجانس أسفر عن تعرُّض موضعي قوي يكفي لإحداث حروق في الجلد عندما قام عامل لا يعمل في مجال الإشعاع بالتقاط مصدر إيريدיום - ١٩٢ قوته ٢٥٠ جيجا بكريل (٦,٧ كوري) ووضعه في جيبه [١٥٥]. وأُخذت عيّنة من دم العامل فوراً وفُحصت ١٠٠٠ كريات لمفاوية في طورها الاستوائي؛ وتبيّن أن ٩٩ من هذه الكريات اللمفاوية كانت تحتوي على الانحرافات غير المستقرة التالية: ٨٦ من ثنائيات القُسَم المركزي، و ٢ حلقة مركزية، و ٦٠ قُسَماً مركزياً زائداً. وفيما يلي توزيع ثنائيات القُسَم المركزي:

الجدول ١١: توزيع ثنائيات القُسَم المركزي بعد تعرُّض حاد غير متجانس

عدد ثنائيات القُسَم المركزي في كل خلية					
٠	١	٢	٣	٤	٥
٩٣٢	٥٦	٩	١	١	١
عدد الخلايا					

وفيما يلي منحنيات الجرعة والاستجابة المختبرية في مختبر الفحص:

$$(٢٤) \quad Y_{dicentric} = 1.57 \times 10^{-2} D + 5.00 \times 10^{-2} D^2$$

$$(٢٥) \quad Y_{acentric} = 2.30 \times 10^{-2} D + 3.90 \times 10^{-2} D^2$$

وباستخدام الأسلوب البواسوني الملوّث، (القسم ٩-٧-٤-٣، الأسلوب ١) يُشتق تقدير الأرجحية العظمى لنتائج ثنائيات القُسَم المركزي، YF، في الخلايا المشعّة عن طريق الاستعاضة عن بيانات المثال بالمعادلة (١٢). وعن طريق التكرار، فإن $YF = 0.489$ من ثنائيات القُسَم المركزي في كل خلية مشعّة، وتقابل هذه القيمة ٢,٩٧ غراي في منحنى الجرعة والاستجابة.

ويُحسب حجم الجزء المشعّ، YF، عن طريق حل المعادلة (١٣) التي ينتج عنها في هذا المثال $f = 0.176$. ولما كانت هذه القيمة تمثل مجموعة الخلايا التي تشعّعت وبقيت على قيد الحياة، يتعيّن تعديل هذه القيمة حسب ما هو مبين في المعادلة (١٤) لمراعاة اختيار الخلايا المشعّة تبعاً لعوامل من قبيل موت خلايا الطور البيني وتأخر الانقسام الفتيلي. وهناك بعض الأدلة التجريبية [١٤٧] التي تشير إلى أن هذا الاختيار دالة أسية للجرعة، حيث $D_0 = 2.70$ غراي. وفي هذا المثال، يعني تقدير الجرعة التي تبلغ نحو ٣ غراي أن ما يقرب من ٣٣ في المائة فقط من الخلايا المشعّة (k في المعادلة (١٤)) بقيت حية حتى تم تحليلها. ويساوي الجزء المعرّض في الأصل، وهو F، ٠,٣٩٣، ويتم الحصول على هذه القيمة عن طريق حل المعادلة (١٤). ولذلك فإن الجزء المشع من الجسم، بالأرقام التقريبية، يبلغ نحو ٤٠ في المائة بجرعة متوسطة قدرها ٣ غراي تقريباً.

وعند استخدام أسلوب حاصل ثنائيات القُسَم المركزي والحلقات (القسم ٩-٧-٤-٣)، ينبغي ملاحظة أن المختبر القائم بالفحص لم يكن في العادة يستخدم ناتج ثنائيات القُسَم المركزي والحلقات بالإضافة إلى القسيمات

الحلقية في تقدير الجرعة، ولكنه استخدم بدلاً من ذلك ثنائيات القسيم المركزي وحدها، أي حاصل ثنائيات القسيم المركزي. بالنظر إلى أن الحلقات تمثل انحرافات لا تلاحظ إلا في حالات نادرة مقارنة بثنائيات القسيم المركزي والقسيمات الزائدة العديمة القسيم المركزي فإن هذا التعديل لا ينطوي إلا على تأثير طفيف. ولذلك ينتج عن استبدال القيم بالمعادلة (١٦) وحذف الحلقات المركزية ما يلي:

$$(٢٦) \quad Qd = \frac{86}{99} = \frac{1.57 \times 10^{-2} D + 5.00 \times 10 \times 10^{-2} D^2}{1 - e^{-3.87 \times 10^{-2} D - 8.90 \times 10^{-2} D^2}}$$

ويمكن أن نحصل من المعادلة على قيمة D عن طريق التكرار وتقدير للجرعة قدره ٣,١٩ غراي. ويتفق ذلك تماماً مع القيمة ٢,٩٧ غراي المشتقة باستخدام أسلوب بواسون الملوّث.

٥-٥-٧-٩ تأخر أخذ عيّات الدم

فيما يلي مثالان لحسابات الجرعة في الحالات التي يتأخر فيها أخذ عيّات الدم.

تعديل حصيلة ثنائيات القسيم المركزي

أشار ستيفان وآخرون (Stephan et al) [١٥٦] إلى وقوع حادث تعرّض فيه رجلان بانتظام تقريباً لأشعة غاما من مصدر كوبالت - ٦٠ لمدة خمس دقائق. وكان الرجلان يحملان شارة قياس سجلت ٤٧٠، و ١٧٠ مللي سيفرت، واتفقت هاتان القيمتان بدرجة كبيرة مع الحسابات الفيزيائية للجرعتين. ومما يؤسف له أن عيّات الدم تأخرت لمدة ٢١٥ يوماً في حالة الرجل الذي تلقى جرعة قوية وبنحو ١٠٣ أيام في حالة زميله. وتم فحص ما يقرب من ١٥٠٠ طور استوائي من كل رجل وكانت النواتج شبه متطابقة، إذ بلغت ٠,٤٧ و ٠,٤٦ من ثنائيات القسيم المركزي لكل ١٠٠ خلية. وتقابل هذه القيمة ٠,١٣ غراي في منحنى الجرعة - الاستجابة:

$$(٢٧) \quad Y = 3.00 \times 10^{-4} D + 5.00 \times 10^{-6} D^2$$

واختار المؤلفون تعديل ناتج ثنائيات القسيم المركزي بمقدار ٣× و ٢× على التوالي لمراعاة التأخير. واستند هذا القرار إلى بيانات بروين وآخرين [٩١] وبريستون وآخرين [١٥٣] من التشيع العارض للجسم بكامله حسب ما جاء في القسم ١-٥-٧-٩. وبلغ تقدير الجرعة بعد تعديل ناتج ثنائيات القسيم المركزي ٠,٣١ و ٠,٢٢ غراي. وبالرغم من أن ذلك يجعل التقدير البيولوجي للجرعة التي تلقاها الرجل الذي تعرّض لإشعاع أقوى أقرب إلى التقدير الفيزيائي، لا يزال هناك بعض التضارب. ولو اختار المؤلفون استخدام بيانات التأخير من دراسة التهاب الفقار الروماتويدي [١٤٣]، لربما أمكن تطبيق عامل تصحيح بحد أقصى قدره ١,٤ بحيث يزداد التضارب بين التقديرين البيولوجي والفيزيائي لجرعة الرجل الأول. وبالنظر إلى تأثير الالتهاب الفقري الذي استغرق نحو ٢٠ أسبوعاً، لم يتطلب التأخير لمدة ١٠٣ أيام أي تصحيح.

استعمال أسلوب حاصل ثنائيات القسيم المركزي والحلقات

وصف إيشيهارا وآخرون (Ishihara et al) [١٥٧] حادثاً خطيراً نُقل فيه مصدر تصوير إشعاعي صناعي من الإيريديوم - ١٩٢ إلى مسكن مما أسفر عن تشيع ستة أشخاص. وتشيعت أجزاء من الجسم لدى الشخصين اللذين تلقيا أخطر جرعتين وكان ذلك واضحاً من خلال الحروق التي ظهرت في الجلد. وانعكس ذلك أيضاً في بيانات الانحرافات حيث بلغت الجرعتان المقدّرتان باستخدام أسلوب حاصل ثنائيات القسيم المركزي والحلقات ١,٩٥ و ١,٥٠ غراي. وهاتان القيمتان أعلى بكثير من قيمتي جرعة الجسم بكامله، وهما ١,٥٢ و ٠,٥٤ غراي على التوالي، المحسوبتين من ناتج ثنائيات القسيم المركزي والحلقات في كل خلية. وتفاوتت قيم ثنائيات القسيم المركزي والحلقات لكل خلية نوعاً ما خلال أول شهرين بعد التعرض، وأصبحت القيم أكثر استقراراً بعد ستة أشهر. وفي المقابل، ظلت قيم حاصل ثنائيات القسيم المركزي والحلقات ثابتة نسبياً منذ البداية حتى ٤٠٠ و ٢٠٠ يوماً، على التوالي، عندما توقفت الفحوص الأخرى.

٦-٥-٧-٩ التعرّض الممتد والمجرأ

وقع حادث خطير في كانون الأول/ديسمبر ١٩٩٨ في مدينة إسطنبول عندما كُسر مصدر سابق من الكوبالت - ٦٠ كان يستخدم في العلاج الإشعاعي وفتح المصدر في فناء لتجميع الخردة المعدنية [١٥٨]. وأدى ذلك إلى تشيع عشرة أشخاص، معظمهم في يوم واحد، وتراوح زمن التعرّض بين ساعتين وسبع ساعات

[١٥٩]. واستخدم هنا أحد الأشخاص المعرّضين كمثال، إذ بلغت مدة تعرّضه ٧ ساعات، وبلغ تردّد ثنائيات القُسَم المركزي من النتائج المجمّعة من أربعة مختبرات ١٥٧ في ٦٨٨ خلية = 0.228 ± 0.18 في كل خلية. ومن منحى الجرعة الحادة والاستجابة

$$(٢٨) \quad Y = 0.001 + 0.003D + 0.060D^2$$

اشتُقّت تقديرات الجرعة الحادة (\pm انحراف معياري) = 1.7 ± 0.1 غراي. وجرى تبسيط الرتبة قليلاً بتجاهل أي أخطاء في منحى الجرعة والاستجابة. وبتطبيق الدالة G، حيث

$$(٢٩) \quad x = \frac{t}{t_0} = \frac{7}{2} = 3.5$$

حيث $G(x) = 0.413$ ، يُصبح منحى الجرعة والاستجابة الآن

$$(٣٠) \quad Y = 0.001 + 0.003D + 0.025D^2$$

ويقابل تردّد ثنائيات القُسَم المركزي الآن ٧ ساعات من التعرّض لجرعة بلغت 2.5 ± 0.1 غراي.

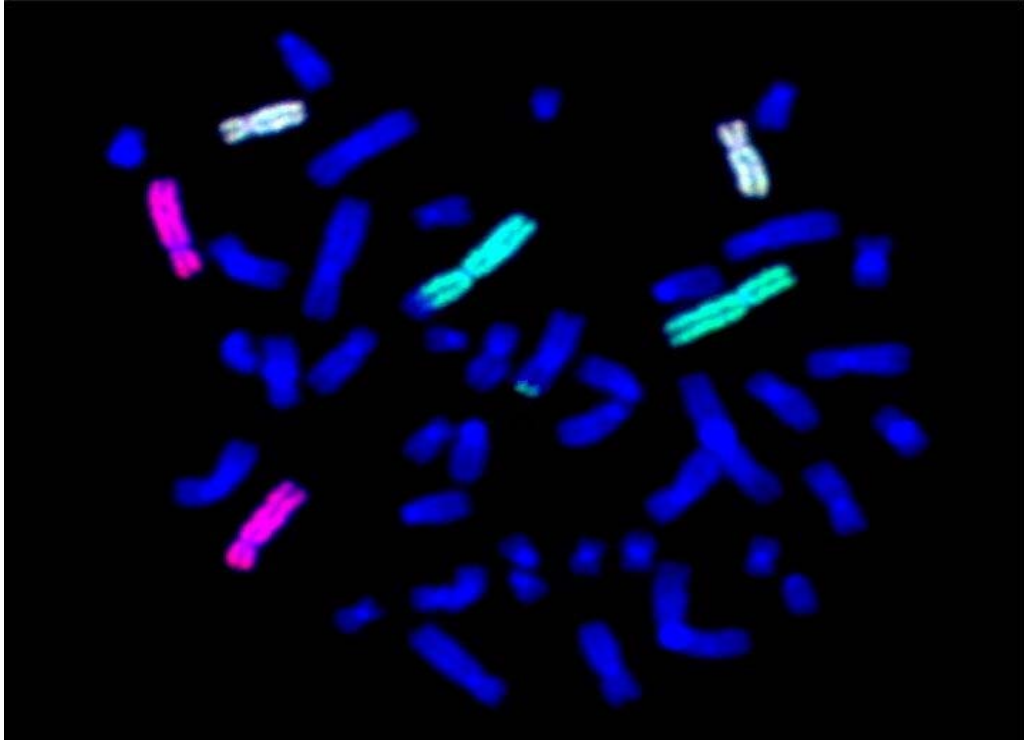
٩-٥-٧- الترسيب الداخلي للنويدات المشعّة

يصف لويد وآخرون (Lloyd et al) [١٦٠] حادثاً استنشقت فيه عاملة في مصنع إشعاعاً عارضياً بلغ نحو ٣٥ جيجا بكريل (~ ١ كوري) من قطرات ماء معالج بالتريتيوم. ومما سرّع بإزالة التريتيوم من جسمها استخدام الإدرار القسري للبول. وحددت جرعة مودعة في النسيج الرخو عن طريق قياس تركيز ومعدل إفراز التريتيوم في البول. وقيس ناتج ثنائيات القُسَم المركزي في عيّات الدم التي أخذت على فترات مختلفة بعد الحدث، واستُخدمت البيانات التي تراوحت بين ٤٠ و ٥٠ يوماً في القياس البيولوجي للجرعة حيث كانت قد تلقت كل الجرعة المودعة في ذلك الوقت. وأحيل ناتج ثنائيات القُسَم المركزي إلى معامل معايرة بلغ 5.37×10^{-2} للعلاقة الخطية المختبرية بين الجرعة والاستجابة، ونَتَج عن ذلك تقدير لجرعة متوسطة بلغت 0.58 غراي في الكريات اللمفاوية. وتعيّن ضرب هذه القيمة في 0.66 . ويراعى في اشتقاق هذا العامل اختلاف محتويات الماء في الجسم بكامله والنسيج الرخو والكريات اللمفاوية. ويعاير ناتج الانحرافات على أساس جرعة الكريات اللمفاوية حيث ينقل الماء المعالج بالتريتيوم الجرعة أساساً إلى الأنسجة الرخوة في الجسم. ونَتَج عن هذا التصحيح تقدير بيولوجي للجرعة بلغ 0.38 غراي في حدود ثقة نسبتها ٩٥ في المائة 0.48×0.028 ، و 0.28 غراي، ومقارنة أكثر واقعية مع جرعة بلغت 0.47 غراي $\pm 20\%$ من قياسات البول. وسمح تحويل تركيز التريتيوم في البول إلى جرعة في النسيج الرخو أيضاً بحساب محتوى الماء في النسيج الرخو [١٦٠].

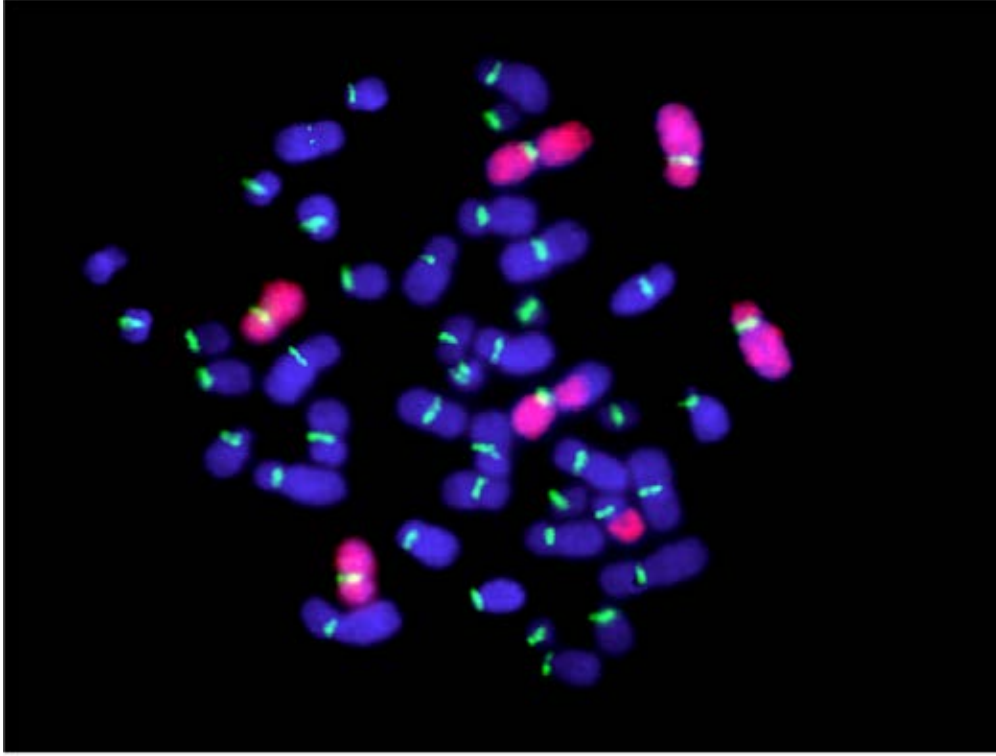
١٠ - تحليل الانتقال الكروموسومي

من العيوب المعروفة في فحوص ثنائيات القُسَم المركزي والنويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي عدم استقرار الضرر، ولذلك فإنه يزول من تجمع الكريات اللمفاوية في الدم الطرفي بنفس المعدل الذي تتجدد به الخلايا (انظر القسم ٤). ومن المعروف أنه يلزم تحليل أنواع الأضرار الأشد، مثل الانتقالات الكروموسومية المستقرة، لمعالجة القياس البيولوجي للجرعات في التعرضات القديمة أو الطويلة الأجل. وتُكتشف الانتقالات الكروموسومية عن طريق التنميط النووي الذي ينطوي على الرغم من ذلك على مشقة كبيرة تجعل من الصعب استخدامه روتينياً في القياسات البيولوجية للجرعات. وأتاح إدخال التهجين الموضعي بالفلورسين [١٦١] إمكانية كشف الانتقالات الكروموسومية بوسائل بديلة.

وتعتمد هذه التقنية على سلاسل محدّدة من الحمض النووي يمكن استخدامها كمجسّات لجزء معيّن من الجينوم وتنبّت فيها بعد ذلك ملونات فلورية مختلفة لإبراز أو 'تلوين' المناطق بألوان مختلفة. وتظهر الانتقالات الكروموسومية في شكل تكوينات ملونة يعاد ترتيبها تحت الميكروسكوب الفلوري (كما هو مبين في الشكلين ٢٦ و ٢٧).

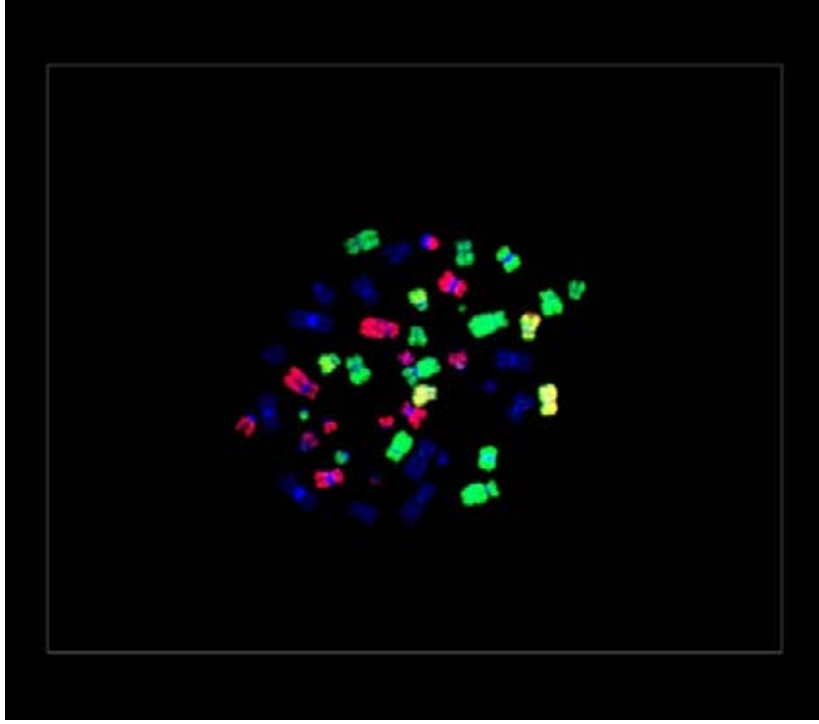


الشكل ٢٦: طور استوائي بشري يحتوي على الكروموسوم رقم ٢ الملون (إيزوثيوسيانات الفلورسين، باللون الأخضر)، والكروموسوم رقم ٤ (الأحمر الفلوري) ورقم ٨ (إيزوثيوسيانات الفلورسين + أحمر فلوري، وأصفر)، وتظهر بقية الكروموسومات ملونة بطريقة دابي لإظهار التباين. ويلاحظ حدوث انتقال كروموسومي بسيط، أو انتقال ثنائي الاتجاه $[t(Ba), t(Ab)]$ في الكروموسوم رقم ٢.

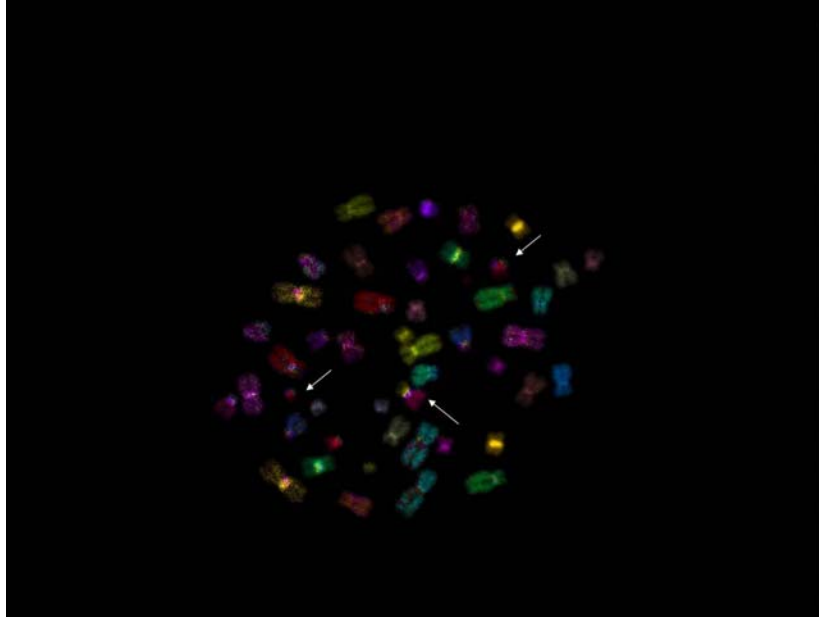


الشكل ٢٧: طور استوائي تظهر فيه الكروموسومات رقم ١، و ٤ و ١١ أحادية اللون وموسومة بصبغة Cy3 (أحمر)، وتبرز القسّمات المركزية باستخدام مجس بانستومير ممّيز بايزوثيوسيانات الفلورسين (أخضر)، ولوّنت سائر الكروموسومات بطريقة دابي. ويلاحظ انتقال كروموسومي يبدو بسيطاً، أو انتقال كروموسومي ثنائي الاتجاه $[t(Ba), t(Ab)]$ في الكروموسوم رقم ١.

ويستخدم في الطب والوراثة الخلوية الأساسية الكثير من تطبيقات التهجين الموضعي بالفلورسين. غير أن هذا المنشور يقتصر على تطبيقها في القياس البيولوجي للجرعات. وتوجد مجموعة كبيرة من المجسات المتاحة حالياً التي يمكن عن طريقها اختيار تلوين مناطق كاملة أو محدودة من كل كروموسوم بشري. ويمكن عن طريق تثبيت ملوّنات فلورية بنسب متباينة في مواقع محدّدة إبراز مختلف المناطق بصورة متزامنة باستخدام مجموعة واسعة من الألوان. ومن عيوب استخدام ألوان كثيرة، مثل التهجين الموضعي بالفلورسين المتعدد الألوان (mFISH) أن الفروق بين درجات الألوان قد تكون طفيفة بالقدر الذي يتعذر معه تمييزها بعين الإنسان. ولذلك يلزم استخدام نظم إلكترونية لرصد الصور وإظهارها باستخدام ألوان كاذبة (الشكلان ٢٨ و ٢٩).



الشكل ٢٨: منظر طور استوائي ملّون بطريقة التهجين الموضعي بالفلورسين المتعدد الألوان. ألف: بألوان الضوء الأساسية التي التقطتها آلة التصوير.



الشكل ٢٩: منظر طور استوائي ملّون بطريقة التهجين الموضعي بالفلورسين المتعدد الألوان. باء: نفس الطور الاستوائي ولكن باستخدام لون كاذب في كل زوج من الكروموسومات.

١٠-١- زرع الخلايا وإجراءات التنشيط

لا تختلف إجراءات الحصول على الدم وزراعة الكريات اللمفاوية وجمع الخلايا المثبطة عن الإجراءات المبينة في اختبار ثنائيات المركز (القسمان ٩-١ و ٩-٢). وبالرغم من استقرار الانتقالات الكروموسومية في أثناء الانقسام الفتيلي، من الممارسة السليمة تحليل الأطوار الاستوائية الأولى. ويتسم ذلك بأهمية خاصة لأن فقدان الخلايا المحتوية على انحرافات غير مستقرة في أثناء الانقسام الفتيلي يمكن أن يشوه متوسط تردد الانتقالات الكروموسومية. وعلاوة على ذلك فإن الانتقال الكروموسومي المستقر وترددات ثنائيات القسيم

المركزي غير المستقرة قد تكون مطلوبة أحياناً من نفس العينة. وفي حالة تحليل التهجين الموضعي بالفلورسين، من الأفضل تخزين معلق الخلايا المثبتة المبردة. ويمكن تخزين مسحات الخلايا الموزعة على الشرائح المجهرية. وينبغي الاحتفاظ بها عند درجة حرارة ٢٠ مئوية بالرغم من ملاحظة تدهورها في بعض الأحيان. ومن الأنسب نقل معلقات الخلايا المثبتة إلى مختبرات أخرى.

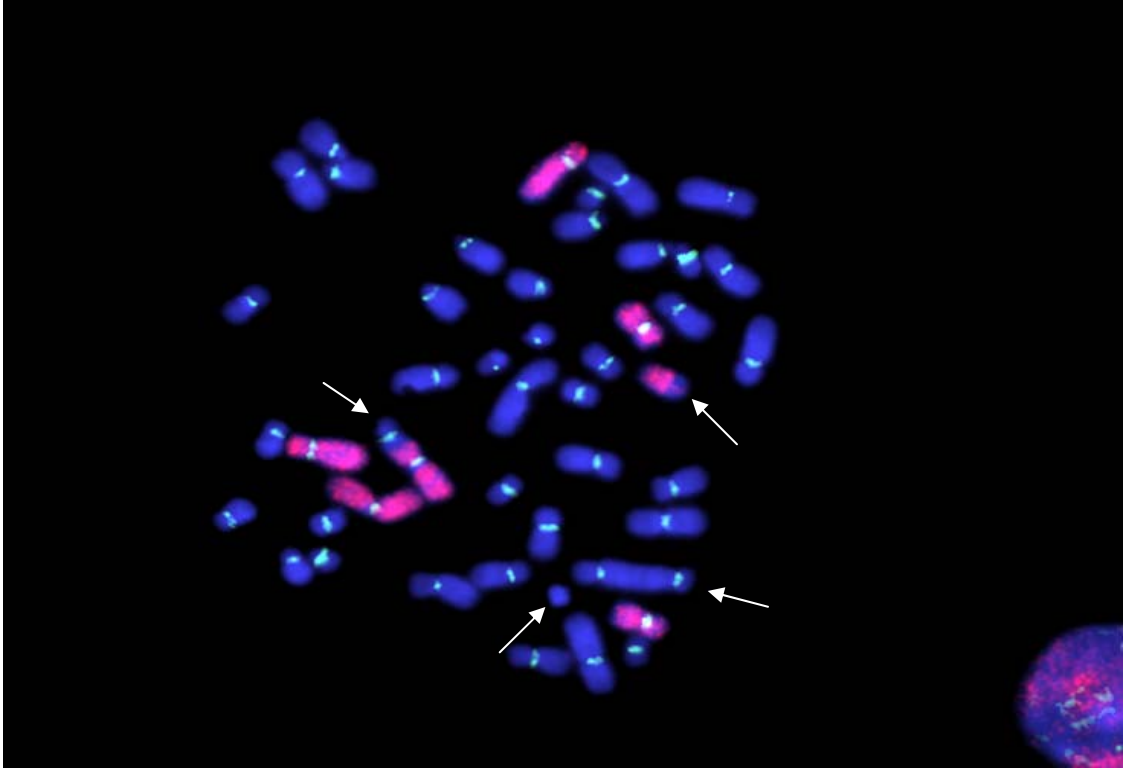
ولا يلون عموماً في حالة القياس البيولوجي للجرعات سوى جزء من الجينوم (مثل ثلاثة أزواج من الكروموسومات). ويتطلب ذلك فحص عدد أكبر من الأطوار الاستوائية مقارنة بفحص ثنائيات القسيم المركزي. ولذلك من المفيد والأقل تكلفة إعداد شرائح يحتوي كل منها على عدد كبير من الأطوار الاستوائية بنوعية قابلة للفحص.

١٠-٢- تلوين الكروموسومات

يمكن باستخدام مجموعة المجسات والألوان الفلورية المتاحة تجارياً إبراز كل الكروموسومات بالأسلوب المعروف باسم التهجين الموضعي بالفلورسين المتعدد الألوان (mFISH) [١٦٢]. ويسمح ذلك بإجراء تنميط نووي كامل وبالتالي فحص كل الانتقالات التي تتم بين الكروموسومات. ويمكن أيضاً إبراز القسيمات المركزية والطرفية في كل الكروموسومات بصورة منفصلة.

ويمكن كشف الانتقالات داخل الكروموسوم، مثل الانقلابات الطرفية المركزية عن طريق تلوين الأذرع القصيرة والطويلة في الكروموسوم تلويحاً انتقائياً بالألوان مختلفة [١٦٣]، ويمكن كشف حالات إعادة الترتيب داخل الذراع الواحدة باستخدام أسلوب mBAND حيث يتم إجراء تحزيم متعدد الألوان على طول الكروموسوم [١٦٤، ١٦٥]. ويشار إلى أن زيادة تردد التبادلات داخل الكروموسومات بالنسبة للتبادلات بينها تمثل 'بصمة' أثر الإشعاعات ذات الانتقال الخطي المرتفع للطاقة [١٦٦] وبالتالي فإن هذه الأساليب لها تطبيقات معينة في بحث تأثيرات النوعية الإشعاعية.

ولا يكفي في معظم تطبيقات القياس البيولوجي للجرعات بأثر رجعي الكشف فقط عن الانتقالات بين الكروموسومات، ومن المثالي أن يوفر أسلوب التهجين الموضعي بالفلورسين المتعدد الألوان الحد الأقصى من المعلومات من كل طور استوائي. ويمكن أيضاً توسيع ذلك حتى يمكن إبراز الأذرع الكروموسومية الفردية بألوان مختلفة (pq-Mfish) [١٦٧] ولكن هذا الإجراء يحتاج إلى نفقات كبيرة ويستغرق وقتاً طويلاً ويتطلب جهوداً كبيرة في نظم رصد وتداول الصور المتطورة. ولذلك تطورت ممارسة تلوين عدد محدود من الأزواج الكروموسومية سواء باستخدام نفس الألوان أو باستخدام ألوان منفصلة وتلوين الكروموسومات المتبقية بألوان مغايرة. ويوصى باستخدام مجس شامل لكل القسيمات المركزية [١٦٨] بالتزامن مع ألوان الكروموسومات الكاملة للتمييز بين ثنائيات القسيم المركزي والانتقالات الكروموسومية بدقة أكبر (الشكل ٣٠).



الشكل ٣٠: طور استوائي بشري يحتوي على الكروموسومات رقم ١، ٤، و ١١ أحادية اللون وموسومة بصبغة Cyt3 (حمراء)، وتظهر الجسيمات المركزية باستخدام مجس شامل موسوم بمادة إيزوثيوسيانات الفلورسين (أخضر)، ولونت سائر الكروموسومات بلون مباين باستخدام أسلوب دابي. ويلاحظ قُسَمُ مركزي بسيط فيما يبدو [dic(BA), ace(ab)] يحتوي على الكروموسوم رقم ١. ويوجد أيضاً قُسَمُ مركزي بالإضافة إلى قُسَمُ لا مركزي في الكروموسومات الملونة بلون مباين.

وعموماً فإن تلوين ثلاثة من أكبر الكروموسومات (من رقم ١ حتى رقم ١٢ - انظر الشكل ٧)، أي نحو ٢٠ في المائة من الجينوم (انظر الجدولين ٢ و ٣)، يفضي إلى كفاءة بنحو ٣٣ في المائة في كشف الانتقالات الكروموسومية عند استخدام لون وحيد. وتقدر نسبة الجينوم التي 'يلونها' كل خليط بالنسبة لمجموع الجينوم من خلال الأطوال الفيزيائية للكروموسومات [١٦٩]. ويمكن تقدير مجموع ترددات انتقالات الجينوم وفقاً لصيغة معيارية اقترحها لوкас وآخرون (Lucas et al) [١٧٠]، وتنطبق هذه الصيغة على افتراض تبادلات بسيطة بين الأزواج الثنائية. ويستصوب عدم إدراج الكروموسوم ٧ أو الكروموسوم ١٤ في مجموعة المجس كانتقالات، ويمكن أن تنشأ الانحرافات الأخرى الناشئة عن تلك الكروموسومات في الجسم الحي في أثناء التطورات المناعية وقد تربك بالتالي قياس التأثير الإشعاعي [١٧١، ١٧٢].

وفي القياس البيولوجي للجرعات بآثر رجعي، يكفي، فيما يبدو، تهجين موضعي فلوري وحيد اللون في الخليط الثلاثي للكروموسومات المستهدفة. ويؤدي تلوين الثلاثية بألوان متعددة إلى زيادة كفاءة الكشف (إذا كانت الكروموسومات ١، ٤، و ١٢ بارزة من نحو ٣١ في المائة إلى ٣٤ في المائة) وتحسين كشف الانتقالات الكروموسومية المعقدة التي يمكن مواجهتها بعد وقوع تعرضات حديثة لجرعات قوية. ويمكن تطبيق المعدلات الواردة أدناه في القسم ١٠-٤ للتحويل إلى مكافئ الجينوم الكامل على التلوين الوحيد اللون والمتعدد الألوان.

١٠-٣- معايير الفحص

١٠-٣-١- اختيار الخلايا القابلة للفحص

بالرغم من عدم وجود توافق قوي في الآراء حول الأطوار الاستوائية التي ينبغي فحصها، تعتبر خلايا طور الاستوائي الجيدة المسحة مناسبة للفحص إذا كانت تبدو سليمة، وإذا كان شكل القُسَمُ المركزية يسمح

بكشفها، وإذا كانت موجودة في كل الكروموسومات الملونة، وإذا كان الوسم بالملونات الفلورية متألقاً بما يكفي لكشف التبادلات بين الكروموسومات الموسومة بألوان مختلفة [١٠٧].

ولا يُنظر روتينياً في اكتمال الكروموسومات الملونة بألوان مغايرة، ولكن معظم الباحثين يرفضون الطور الاستوائي إذا كان من الواضح أنه يقتقد عدة كروموسومات، كأن يقل مثلاً عن ٤٠ جسيماً.

ويرى بعض الباحثين أنه ينبغي فحص كل المادة الملونة الموجودة بالرغم من أن ذلك ينطوي على درجة معينة من التقدير لأن حدود الوضوح باستخدام تكنولوجيا التهجين الموضعي بالفلورسين الحالية تتراوح بين ١١ و ١٥ مليون زوج قاعدي [١٧٣]. وبالتالي فإن بعض الانتقالات الكروموسومية المتناظرة تبدو في ظاهرها ناقصة ولكن الفحوص التي أجريت باستخدام مجسّات القسّيمات الطرفية كشفت عن أن نسبة كبيرة من الانتقالات الكروموسومية التي تبدو ناقصة هي في الواقع انتقالات كروموسومية كاملة [٦٢]. وينبغي أن تستبعد من الفحص الخلايا التي من الواضح أنها تقتقر إلى نسبة كبيرة من المادة الملونة أو القسّيمات المركزية الموسومة.

وتبيّن في قياس الجرعات بأثر رجعي أن ترددات الانتقالات الكروموسومية في الخلايا المستقرة التي تعرّف بأنها لا تحتوي على كروموسومات ذات قسيمين مركزيين أو حلقات مركزية أو قسّيمات لامركزية تكون مستقرة بمرور الوقت [٦٤، ١٧٤]. ولذلك يوصى بتسجيل ما إذا كانت الخلية التي يحدث فيها الانتقال الكروموسومي مستقرة أم غير مستقرة.

١٠-٣-٢- التسميات وبيانات التسجيل

تم استحداث نظامين مستقلين لتوصيف الانحرافات الكروموسومية المكتشفة بالتلوين، واستخدمت أيضاً توصيفات المصطلحات التقليدية المتبعة في الفحص الوراثي الخلوي الروتيني [١٧٥، ١٧٥ - ١٧٨]. وأدخلت نُظم تصنيف الأسماء، إذا ثبت بعد التحليل الجزئي للجينوم أن المصطلحات التقليدية غير كافية، إذ يبدو أن الكثير من الأنماط التي كشفت عنها طريقة التهجين الموضعي بالفلورسين تنطوي على تعقيدات أكثر من المتوقع.

١' استحدث نظام أطلق عليه اسم PAINT يقتصر على توصيف كل جُسيم ملون منحرف في الطور الاستوائي [١٧٥]. ولذلك يوصف كل جُسيم على حدة دون الإشارة إلى الجسيمات المنحرفة الأخرى في الخلية. ويُطلق حرف من حروف الأبجدية على كل لون وتبدأ التسمية أبجدياً بالألوان المغايرة. ويشير الحرف الكبير إلى المكون الذي يحمل القسّم المركزي. وبالتالي، عند استخدام التلوين الوحيد اللون، يشير الرمز t(Ab) إلى جُسيم ثنائي اللون مؤلف من جزء من القسّم المركزي في الكروموسوم الملون بلون مباين، وجزء من غير القسّم المركزي في كروموسوم ملون. وفي المقابل فإن t(Ba) هو جسم يكون فيه الجسيم المركزي على المكون الملون. ويتم استيعاب التلوين المتعدد الألوان عن طريق إدراج المزيد من الأحرف في التسميات. ويحال القارئ إلى تاكر وآخرين (Tucker et al) [١٧٥] للاطلاع على التوصيفات الكاملة لكل المختصرات المستخدمة في النظام. ويتضمن البحث اقتراحاً آخر يدعو إلى احتساب التقاطعات اللونية مؤشراً للضرر الذي يمكن أن يتصل بالجرعة، ولكن ذلك لا ينطبق عملياً على قياس الجرعات بأثر رجعي.

٢' اقترح سافيدج وسيمبسون (Savage and Simpson) [١٧٦، ١٧٧] مصطلحات تتألف من أرقام وحروف أبجدية تصف كل تبادل بكامله. وتشير الأرقام إلى عدد الجسيمات المحتوية على مادة ملونة، ويعبّر الترتيب الأبجدي للحروف عن مدى توقع شيوع الأنماط. ولا ينطبق هذا النظام المعروف باسم S&S إلا على أنماط الألوان الوحيدة. على أنه يمكن استخدام هذا النظام مع الأنماط ذات الألوان الثنائية والثلاثية، وإن كان لا بد من فحص كل كروموسوم ملون بمعزل عن الكروموسومات الأخرى بغض النظر عن ألوان الأنماط [١٣١]. وهذه التسمية لها استخدامات كثيرة في الدراسات الميكانيكية، لا سيما، على سبيل المثال، في فهم التعديلات المعقدة.

ويمكن استخدام مصطلحات تقليدية تصف الانتقالات الكروموسومية بأنها متبادلة أو طرفية أو بينية [١٧٩]. وأطلق أيضاً على المصطلحين الأولين اسم الانتقالات الكروموسومية الكاملة أو الثنائية الاتجاه والناقصة أو وحيدة الاتجاه على التوالي. والتسمية الثالثة تشمل الانقلابات والغرزات. وينطوي الانتقال

الكروموسومي الكامل/الناقص أو المتبادل/الطرفي على مفاهيم ميكانيكية. ولأغراض القياس البيولوجي للجرعات، تفضل الإشارة إليها كانتقالات ثنائية أو وحيدة الاتجاه اعتماداً فقط على مظهرها البصري دون أن تنطوي على أي معان ميكانيكية. والواقع أن الدراسات الميكانيكية قد أظهرت أن الأنماط الوحيدة الاتجاه لا توفر تقديراً موثقاً فيما يتعلق بعدم اكتمال التبادل [١٨٠]. ويمثل الغرز أحد الأنواع الكثيرة للتعديلات المركبة التي تعرّف رسمياً بأنها تنشأ عن ثلاثة انكسارات أو أكثر في كروموسومين أو أكثر [١٧٧].

ولا يوجد تعارض بين التسميات المبينة أعلاه، بل يكمل كل منها الآخر، وطُبقت مقارنات بين التسميات على مجموعة مشتركة من البيانات [١٧٥].

والوسيلة الأكثر استخداماً لتسجيل البيانات في هذه الأيام هي وصف كل طور استوائي شاذ كوحدة باستخدام تسميات نظام PAINT [١٧٥] بعد إدخال تعديلات طفيفة عليها [١٧٨] تراعي الآليات الكامنة وراء تكوين الانحرافات. وتستخدم مختصرات نظام PAINT ولكن يشار إلى وجود ارتباطات بين الجسيمات في الطور الاستوائي وتشمل بالتالي جوانب المصطلحات التقليدية هي الأخرى. وتصنف انحرافات الكروموسومات كانحرافات بسيطة أو معقدة، ويُنظر في النوع الثاني عندما يتطلب إحداث الشذوذ الملحوظ ثلاثة انكسارات أو أكثر في كروموسومين أو أكثر. وتعتبر الانحرافات كاملة عندما تعود كل الأجزاء المكسورة إلى الالتحام، وتعتبر غير كاملة عندما يبدو أن جزءاً واحداً أو أكثر من جزء لم يلتحم مرة أخرى.

من ذلك مثلاً أن $t(Ba)$ مع $t(Ab)$ تعتبر انتقالاً كاملاً بسيطاً أو ثنائي الاتجاه، ويعتبر كل نمط بمفرده انتقالاً غير كامل بسيط أو وحيد الاتجاه عندما يرى بمفرده في طور استوائي ويصحبه في بعض الأحيان كروموسوم ملون ذي قسيمين مركزيين، $t(Ba)$ ، بالإضافة إلى $ace(b)$. وتسجل الانتقالات الكروموسومية المعقدة على هذا النحو وتوصف بأنها غرزات (أي $ins(Aba)$)، أو باعتبارها تعديلات أكثر تعقيداً مثل $t(Ba)$ مع $ace(ab)$ أو $dic(BA)$ مع $t(Ab)$.

ويلاحظ أنه عند تلوين عدد محدود من الكروموسومات فإن انحرافات مثل $t(Ba)$ بالإضافة إلى $t(Ab)$ تعتبر بسيطة 'ظاهرياً'. واستخدمت عبارة 'ظاهرياً' لأن هذه الانحرافات تبدو بسيطة ولكنها يمكن أن تكون قد نشأت عن انحرافات معقدة وهو ما لا يمكن تحديده إلا بتلوين الكروموسوم الكامل بطريقة التهجين الموضعي بالفلورسين المتعدد الألوان [١٨٢، ١٨٢].

١٠-٤- معالجة البيانات

اشتق لوكاس وآخرون (Lucas et al) [١٧٠] معدلات حساب مكافئ الجينوم وقام لوكاس ودنغ (Lucas and Deng) [١٨٣] بتلخيصها.

ويحسب في العادة تردد انتقال الجينوم باستخدام معادلة الأجزاء الملونة في الجينوم [٣٢] على النحو التالي:

$$F_G = \frac{F_p}{2.05 f_p (1 - f_p)} \quad (٣١)$$

حيث:

F_G تردد انحراف الجينوم الكامل،

F_p تردد الانتقالات الكروموسومية المكتشفة بطريقة التهجين الموضعي بالفلورسين،

f_p جزء الجينوم المهجن [١٧٠] مع مراعاة نوع جنس الشخص.

ويعالج ذلك باستفاضة كاملة في القسم ١٠-٤-١ أدناه.

ويوصى باستخدام إجراء تحويل البيانات إلى مكافئ الجينوم الكامل عند الجمع بين البيانات أو عند إجراء مقارنات بين النتائج التي تتوصل إليها مختلف المختبرات في الحالات التي تستخدم فيها مجموعات مختلفة من مجسات تلوين الكروموسومات الكاملة. وتتمثل الفرضية المشار إليها في بعض الأحيان باسم صيغة

لوكاس، في أن احتمال اشتراك كروموسوم ملون معيّن في إحداث انحراف يتناسب مع محتواه من الحمض النووي. وبُحِثت هذه المسألة بحثاً مستفيضاً [١٨٤-١٨٦]، ومن المقبول، من حيث الجوهر، أن هذا الافتراض يتيح تقريباً معقولاً. ومع ذلك يسود توافق عام في أنه باستخدام (محتوى الحمض النووي) في صيغة لوكاس يمكن المبالغة في تقدير دور الكروموسومات الأكبر في انحرافات التبادلات البسيطة مقارنة بالكروموسومات الأصغر [١٨٧، ١٨٨]. ولذلك فإن استخدام (محتوى الحمض النووي) $3/2$ في صيغة لوكاس بدلاً من استخدام (محتوى الحمض النووي) يسمح بالتوصل إلى نتائج أدق. ويرى بعض المؤلفين أن هذا النوع من التناسب يمكن أن يكون دليلاً على حدوث تبادلات تشمل أساساً الكروماتين القريب من حدود مناطق الكروموسومات [١٨٦-١٨٨]. وترد في مورتون (Morton) [٣٢] أفضل البيانات المتعلقة بالمحتويات النسبية للحمض النووي في كروموسومات الإنسان، وحُسبت القيم الواردة في الجدولين ٢ و ٣ باستخدام البيانات الواردة في جدول رقم ٤، العمود ٢.

١٠-٤-١- التلوين الوحيد اللون

يلون جزء، f ، من الجينوم (باللون الأخضر) ويلون الجزء المتبقي، $1-f$ ، بلون مباين (الأزرق).

ملحوظة: اختصرت f_p في المعادلة (٣١) أعلاه، للتبسيط، إلى f .

وسوف تكون هناك	f^2	تبادلات بين الأخضر والأخضر
	$(1-f)^2$	تبادلات بين الأزرق والأزرق
	$2f(1-f)$	تبادلات بين الأزرق والأخضر
المجموع ١		

على أن هذا المجموع يشمل تبادلات في نفس الكروموسوم، مثل الانقلابات. ويبلغ مجموع عدد التبادلات بين الكروموسومات ٠,٩٧٤ باستخدام نفس فرضيه تناسب الحمض النووي (انظر الحسابات في لوكاس وآخرين (Lucas et al) [١٧٠]). ومن هنا فإن جزء الانتقالات الكروموسومية بين الأزرق والأخضر يرد في المعادلة (٣٢):

$$(32) \quad \frac{F_p}{F_G} = \frac{2f(1-f)}{0.974} = 2.05f(1-f)$$

حيث:

F_G و F_p هما على التوالي تردد الانتقال الكروموسومي مقاساً بالتهجين الموضعي بالفلورسين وتردد انتقالات الجينوم الكامل.

وتنطبق نفس المعادلة على الكروموسومات ذات القسمين المركزيين الزرقاء-الخضراء.

مثال

يفترض أن الأزواج الكروموسومية ١، ٢، و ٤ ملونة. ومحتوى الحمض النووي لكل منها (الذكر) استناداً إلى الجدول ٢ هي ٠,٠٨٢٨، و ٠,٠٨٠٤، و ٠,٠٦٣٩.

ولذلك فإن $f = 0.2271$ ، و $F_p/F_G = 0.360$.

وتبلغ كفاءة هذه المجموعة من الكروموسومات ٣٦ في المائة عند قياس الانتقالات الكروموسومية الثنائية اللون. ولذلك يقسم الناتج الملحوظ على ٠,٣٦ للحصول على ناتج انتقال الجينوم الكامل.

١٠-٤-٢- التلوين الثنائي اللون

يفترض أن جزءاً، f_1 ، ملون باللون الأحمر، وجزءاً آخر، f_2 ملون باللون الأخضر، و $f_3 = (1 - f_1 - f_2)$ ملون بلون أزرق مباين.

تبادلات بين الأحمر والأحمر	f_1^2	وسوف يكون هناك:
تبادلات بين الأخضر والأخضر	f_2^2	
تبادلات بين الأزرق والأزرق	f_3^2	
تبادلات بين الأحمر والأخضر	$2f_1f_2$	
تبادلات بين الأحمر والأزرق	$2f_1f_3$	
تبادلات بين الأخضر والأزرق	$2f_2f_3$	

ومرة أخرى فإن مجموع التبادلات بين الكروموسومات يبلغ ٠,٩٧٤ وبالتالي فإن جزء كل الانتقالات الكروموسومية الثنائية اللون يحدّد بالمعادلة التالية:

$$(33) \quad \frac{2(f_1f_2 + f_1f_3 + f_2f_3)}{0.974} - 2.05[f_1(1 - f_1) + f_2(1 - f_2) + f_3(1 - f_3)]$$

مثال

يفترض أن الأزواج الكروموسومية ١، ٢، و ٤ ملونة باللون الأحمر، والأزواج ٣، ٥، و ٦ باللون الأخضر، وبقية الأزواج الكروموسومية ملونة باللون الأزرق المغاير. والأجزاء المأخوذة من الجدول ٢ هي $f_1 = ٠,٢٢٧$ و $f_2 = ٠,١٨٦$:

$$(34) \quad \frac{F_P}{F_G} = 2.05(0.175 + 0.151 - 0.042) = 2.05(0.284) = 0.582$$

وتبلغ نسبة كفاءة هذه المجموعة ٨٥ في المائة في كشف الانتقالات الكروموسومية. وينبغي ملاحظة أنه عندما يحدث تبادل ثنائي الاتجاه بين كروموسومين ملونين بلونين مختلفين فإن ذلك لا يحتسب إلا كحدث منفرد.

١٠-٤-٣- التلوين بأكثر من لونين

يمكن توسيع الحسابات لتشمل التلوين بالتهجين الموضعي بالفلورسين المتعدد الألوان. وفي حالة استخدام ألوان كثيرة، تصبح المعادلة كالتالي:

$$(35) \quad \frac{F_P}{F_G} = 2.05 \left[\sum_i f_i(1 - f_i) - \sum_{i < j} f_i f_j \right]$$

وتتاح كل الحسابات المفصلة في هذا القسم كجزء من برنامج تقدير الجرعات الوارد ذكره في القسم ٣-٨.

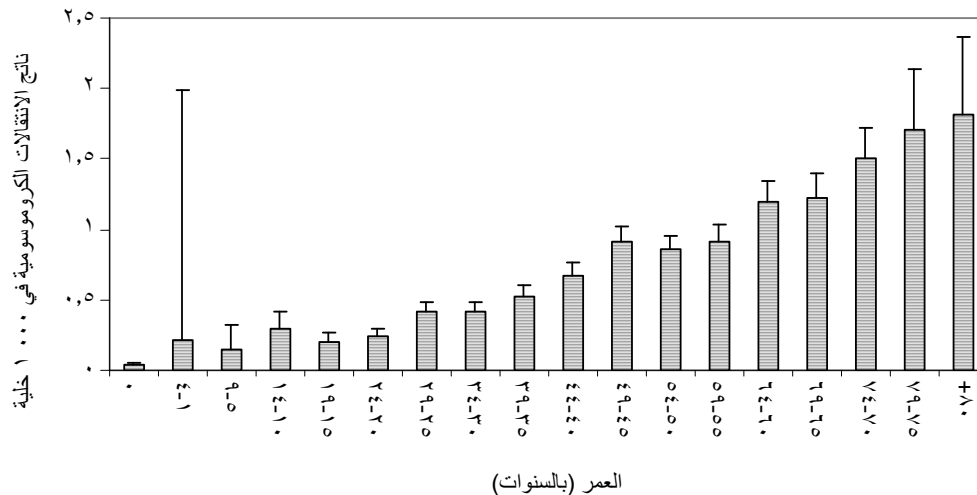
١٠-٥- مستوى ضبط الانتقالات الكروموسومية

تزيد المستويات الضابطة للانتقالات عن المستويات الضابطة لثنائيات القسيم المركزي، ومرد ذلك إلى حد ما هو أن الانتقالات الكروموسومية تمثل نوعاً مستمراً من الانحرافات. ولذلك من المهم مراعاة خلفية الانتقال الكروموسومي، لا سيما بعد التعرض لجرعات ضعيفة عند محاولة إجراء قياس بيولوجي للجرعة بأثر رجعي.

وبطبيعة الحال لا تتاح عينة دم ضابطة من الشخص قبل تعرضه لإشعاعات عارضة أو من المجموعة موضوع الدراسة، ولذلك يتعين استخدام قيمة مفترضة على أساس البيانات الاستقصائية النوعية. ومن المثالي أن يجهز المختبر قاعدة بياناته الضابطة الخاصة به، وإن كان ذلك يتطلب جهوداً موسّعة نظراً لما يتطلبه ذلك من تناول عدد من عوامل الإرباك، خاصة وجود مجموعة واسعة من الفئات العمرية. ويتيح التحليل الإحصائي

الشامل الذي نشره سيغوردسون وآخرون (Sigurdson et al) [١٠٧] حالياً أفضل مجموعة بيانات دولية مصنفة حسب العمر ونوع الجنس والعنصر وعادات التدخين. ويشمل التحليل بيانات من دراسة سابقة جمعت بين نتائج بعض المختبرات الأوروبية [١٨٩].

ويبدو واضحاً من كلتا الدراستين أن العمر عامل رئيسي يحدد ترددات الخلفية الخاصة بالانتقالات الكروموسومية التي تزيد كثيراً لدى من يتجاوزن ٦٠ عاماً (الشكل ٣١).



الشكل ٣١: عدد الانتقالات الكروموسومية كدالة للعمر [١٠٧].

ومن المهم مراعاة الخلفية وطرح معدل الانتقال الكروموسومي المتوقع تبعاً للعمر من عدد الانتقالات الكروموسومية الملحوظة في الكريات اللعابية للشخص. وعلاوة على التأثير المختبري المؤكد، كشفت الدراسة التي أجراها سيغوردسون وآخرون [١٠٧] عن تفاوت ملموس بين المناطق الجغرافية الرئيسية الأربع. ومن الناحية الأخرى، لم يلاحظ أي تأثير للأصل العرقي أو نوع الجنس. وبذلك يبدو من الجوهري أن تقارن فقط البيانات المستمدة من نفس المختبر عند دراسة العوامل المؤثرة على معدل الانتقال الكروموسومي.

ومن بين الدراسات القليلة التي تتناول تأثير نوع الجنس على معدل الانتقال [١٠٧، ١٨٩، ١٩٠]، تعتبر الدراسة التي أجراها وايتهاوس وآخرون (Whitehouse) [١٨٩] الوحيدة التي تكشف عن ارتفاع معدل الانتقال في الرجال مقارنة بالنساء في الفئات العمرية التي تتراوح بين ٢٠ و ٢٩ عاماً، بفارق كبير عن الفئات العمرية التي تتراوح بين ٣٠ و ٣٩ عاماً ($p < 0.05$). وفيما يتعلق بالفئات العمرية الأخرى، يرتفع معدل الانتقال لدى النساء عنه بين الرجال بالرغم من أن الفرق ليس ملموساً. ولم تتوصل الدراسات الأخرى التي تناولت تأثير نوع الجنس إلى أي دليل يثبت وجود أي فروق [١٠٧، ١٩٠، ١٩١] ولو حتى حسب الفئات العمرية.

وبينما تتفق الدراسات بالإجماع على أن معدل الانتقال يزداد بتقدم العمر فإن النتائج التي توصل إليها استعراض هذه الدراسات تبين أن هذا الاتجاه ليس بهذا القدر من الوضوح بسبب بعض العوامل الأخرى (الجدول ١٢).

الجدول ١٢: ملخص تأثيرات عوامل موضوع الدراسة على إحداث الانتقالات وثنائيات القسّم المركزي

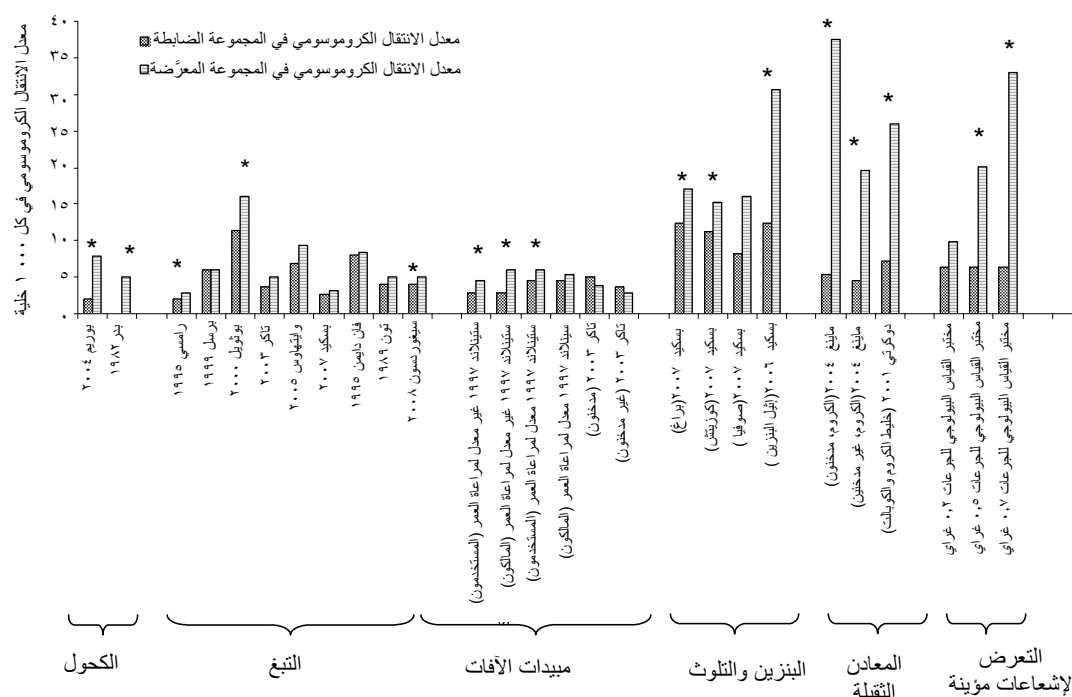
عامل الإرباك	الدراسات الهامة والمراجع المتصلة بها	مراجع إضافية
الكحول	Badr and Hussain [١٩٢] Burim et al [١٩٣]	
التبغ	Ramsey et al [١٩١] Bothwell et al [١٩٤] Sigurdson et al [١٠٧]	Tawn and Cartmel [١٩٥] Van Diemen et al [١٩٦] Pressl et al. [١٩٠] Tucker et al [١٧٩] Whitehouse et al [١٨٩] Maeng et al [١٩٨] Beskid et al [١٩٩] Pluth et al [٢٠٠]
مبيدات الآفات	Steenland et al (المطبقون) [٢٠١]	Tucker [١٩٧]
البنزين	Smith et al (أكثر من ٣١ جزءاً في المليون) [٢٠٣]	Kim et al [٢٠٢] Smith et al (أقل من ٣١ جزءاً في المليون) [٢٠٣] Zhang et al [٢٠٤]
التلوث الصناعي	Beskid et al [١٩٩] Sram et al [٢٠٦]	Beskid et al [٢٠٥]
المعادن الثقيلة	Maeng et al. (الكروم، المدخنون فقط) [١٩٨] Doherty et al. (الكروم) [٢٠٧]	Dulout et al. (الزرنخ) [٢٠٨] Maeng et al. (الكروم، غير المدخنين فقط) [١٩٨]

والكحول هو المادة الوحيدة التي تتسبب في إحداث زيادة في الانتقالات حسب ما جاء في الدراستين اللتين تناولتا ذلك الموضوع. ولم يلاحظ هذا الاتجاه في حالات التدخين (١١/٨ دراسة) أو مبيدات الآفات (٢/١ دراسة). وأما البنزين فهو حالة خاصة لأن التحليلات أجريت على الكروموسومات في حالات الأمراض المرتبطة تحديداً بالتعرض. ويعني ذلك أن التبادلات تحدث في كروموسومين اثنين فقط (رقم ٨ ورقم ٢١ أو رقم ١٤ ورقم ١٨) سُجلت في بعض الدراسات [٢٠٢-٢٠٤]. وأشارت الدراسات الثلاث إلى وجود تأثير ملموس عندما اقتصر الفحص على t (٨؛ ٢١) و t (١٤؛ ١٨) من حيث معدلات الانتقال. ومع ذلك فقد حُدِّدت ثلاث دراسات فُحصت فيها الانتقالات بين هذه الكروموسومات وكل الكروموسومات الأخرى، ولم يكشف أي منها عن نتائج ملموسة.

ولا تؤثر المواد التي تستعمل ويساء استعمالها بإرادة الشخص، مثل التبغ والعقاقير والكحول، على الانتقالات الكروموسومية إلا في حالة استهلاكها الشره والمزمن. على أنها تتسبب في كثير من الأحيان في زيادة ملموسة في معدلات الانتقال الكروموسومي عندما تجتمع مع أنواع أخرى من العناصر أو عندما ترتبط بها (مثل الفلزات والمواد الكيميائية التي تتسبب في إحداث طفرات وراثية) [١٩٢]. وتوحي التأثيرات المتأثرة الناجمة عن المواد التي يساء استعمالها التي أشارت إليها بعض الدراسات إلى أن التدخين يزيد من معدل الانتقال الكروموسومي الناجم عن التعرض المهني. وينطبق ذلك على الأشخاص الذين يتعرضون لإشعاعات مؤيَّنة [١٩٤] والآفات [١٩٧]، والكروم [١٩٨]. والتأثير المتأزر للتدخين هو الأكثر وضوحاً حيث لم تكشف معظم الدراسات التي تناولت تأثيرات التدخين وحده عن أي زيادة ملموسة في معدلات الانتقال الكروموسومي. ومن الناحية الأخرى تزداد صعوبة إثبات التأثير المتأزر في حالة إدمان الكحول لأن مدمني الكحول قلما

يقتصر على إدمان مادة واحدة أو على الأقل لأن عدد من لا يدمنون مواد أخرى أقل من أن يساعد على إجراء تحليل مقارن باستخدام مجموعة ضابطة. ولذلك من المفيد دراسة أثر الكحول وحده على معدل الانتقال الكروموسومي. وغالباً ما يتناسب تأثير المواد السامة المستخدمة في أماكن العمل (مبيدات الآفات، البنزين، والفلات) على عدد الانتقالات الكروموسومية مع الجرعة ومدة التعرض. وتبين أيضاً أن التعرض لخليط من المنتجات يتسبب في إحداث ضرر أكبر من التعرض لعنصر كيميائي وحيد. وأخيراً فقد ثبتت فعالية الوقاية الفردية (القفازات والكمامات وبدلات التدريب/بدلات العمل) في أقوى معدل للانتقال الكروموسومي في مجموعات الأفراد المعرضين لهذه الأنواع من المواد المطفرة.

ويبين الشكل ٣٢ أثر العوامل التي تناولتها الدراسات على معدل الانتقالات الكروموسومية كدالة لنوع العامل وكدالة للتعرض وكدالة للدراسة.



مختبر القياس البيولوجي للجرعات: معدل الانتقال الكروموسومي المحدد في مختبر القياس البيولوجي للجرعات (Laboratoire de Dosimetrie Biologique) في حالات التعرض لجرعة إشعاعية معينة (التعرض للكوبالت، معدل الجرعة ٥/٠ غراي/دقيقة) * الدراسات التي يتسع فيها الفرق بين المجموعة المعرضة والمجموعة الضابطة

الشكل ٣٢: مقارنة بين معدلات الانتقال الكروموسومي الناجمة عن عناصر مختلفة ومعدل الانتقال الكروموسومي الناجم عن التشعيع داخل المختبر.

وتشير كل دراسة إلى معدل الانتقال الكروموسومي في كل ١٠٠٠ خلية في المجموعة الضابطة وفي المجموعة المعرضة. وعلاوة على ذلك، يعرض الشكل أيضاً معدل الانتقال الكروموسومي بعد تعريض عينات دم لإشعاعات داخل بيئة المختبر بجرعات تبلغ ٠,٢، ٠,٥، ٠,٧، ٠,٩ غراي لمقارنة معدلات الحث. على أنه من الضروري الإشارة إلى حدوث التشعيعات في مدة زمنية قصيرة ومن خلال تعرضات حادة في حين أن التعرضات للكحول أو التدخين أو مبيدات الآفات أو البنزين تكون مزمنة. وتكون التعرضات مزمنة عندما يتعرض الشخص لمواد سامة جينياً طيلة عمره أو في جزء كبير منه (أسلوب الحياة أو التعرض المهني).

ويبين الشكل ٣٢ أيضاً أن معدلات الانتقالات الكروموسومية في المجموعات المعرضة للكحول والتدخين ومبيدات الآفات أقل كثيراً منها في حالة البنزين، وخاصة في حالة التعرض للكروم. وعلاوة على ذلك

فإن قيم الجماعات الضابطة مشابهة نسبياً للقيم الملحوظة في المجموعات المعرضة للكحول والتدخين ومبيدات الآفات. وبالمقارنة مع المجموعة المعرضة للإشعاع المؤين بجرعة تبلغ ٥,٠ غراي، فإن معدل الانتقال الكروموسومي في الأشخاص المعرضين للكحول والتدخين ومبيدات الآفات يكون منخفضاً. ويمكننا أن نستخلص من ذلك أنه إذا لوحظ ارتفاع معدل الانتقال الكروموسومي فإن ذلك يمكن أن يكون راجعاً إلى التشعيع. ومن الناحية الأخرى، في أثناء إجراء دراسة بأثر رجعي للتعرض لإشعاعات مؤينة بين الأشخاص المعرضين بقوة للكروم أو البنزين، لن يتسنى التمييز بين معدلات الانتقال الكروموسومي الإشعاعي والبيئي. على أنه من غير الشائع حدوث تعرض للبنزين أو الكروم. ويمكن تحديده عن طريق إجراء استبيان ملائم يغطي الأنشطة المهنية السابقة والراهنة.

١٠-٦- استمرار الانتقالات الكروموسومية

من أهم عيوب أسلوب فحص ثنائيات القسيم المركزي تناقص ناتج الانحرافات في الأشخاص المعرضين بمرور الوقت بعد التعرض. وتزول ثنائيات القسيم المركزي المستحثة في تجمع الكريات اللمفاوية في الدورة الدموية الطرفية بموت الخلايا ويتميع بتجدد خلايا الدم، وهي عبارة عن انحرافات غير مستقرة في أثناء الانقسام الفتيلي ولا تستطيع النفاذ خلال الانقسامات المتكررة في الخلايا. وفي المقابل فإن الانتقالات الكروموسومية مستقرة عموماً في أثناء الانقسامات الفتيلية وعندما تكون الخلية ككل مستقرة (C_s)، يمكن للانتقالات الكروموسومية المستحثة في الخلايا الجذعية أن تمر خلال الكريات اللمفاوية الناضجة في الدورة الدموية. وتستحث الانتقالات الكروموسومية في البداية بمعدل تردد يشبه معدل تردد ثنائيات القسيم المركزي، ولكن استقرارها بعد التشعيع هو الذي يجعلها أنسب للقياس البيولوجي للجرعة بأثر رجعي.

وظل استمرار تردد الانتقالات الكروموسومية موضوع نقاش لفترة طويلة. وبعد عدة سنوات من وقوع حادث جوانيا في البرازيل، تبين أن تردد الانتقالات الكروموسومية أقل من تردد ثنائيات القسيم المركزي الملحوظة بعد التعرض مباشرة [٢٠٩، ٢١٠]. على أن ناتج الانتقالات الكروموسومية الأولية لم يكن متاحاً في أي من هاتين الدراستين. وتبين في دراسة أجريت بأثر رجعي للعاملين في المجال الصناعي النووي في مياك (جنوب الأورال) أن الجرعات التقديرية كانت أساساً أقل من تنبؤات منحنى المعايرة بالنسبة للانتقالات الكروموسومية السارية البسيطة في ظاهرها [٢١١]. وكشفت دراسات المتابعة الأخرى التي تناولت الأشخاص المعرضين لإشعاعات عارضة أن تردد الانتقالات الكروموسومية ظل ثابتاً نسبياً بمرور الوقت. ولم يلاحظ أي تغيير كبير في ترددات الانتقالات الكروموسومية في الأشخاص الذين تعرضوا للإشعاع في تشرنوبل بعد ٥ أو ٨ سنوات من وقوع الحادث [٢١٢]. وظلت ترددات الانتقالات الكروموسومية في الأشخاص الذين تعرضوا لإشعاعات في الجسم بكامله نتيجة حادث وقع في إستونيا مستقرة نوعاً ما لمدة سنتين فيما عدا شخص واحد تعرض لإشعاعات ممتدة في الجسم بكامله وكذلك إشعاعات غير متجانسة [٢١٣]. على أن تردد كل الانتقالات الكروموسومية في الخلايا المحتوية فقط على تعديلات بسيطة بعد مرور أربع سنوات من وقوع نفس الحادث تراجعت في المتوسط إلى ٦٥ في المائة من قيمتها الأولية، ولكن الانتقالات الكروموسومية الثنائية الاتجاه ظلت أقوى قليلاً في إصرارها مقارنة بمجموع الانتقالات الكروموسومية [٢١٤]. ويرجع تناقص تردد الانتقالات الكروموسومية بمرور الوقت إلى تشعيع جزء من الجسم، ويتفق ذلك مع فكرة التوزيع المتوافق لثنائيات القسيم المركزي والانتقالات الكروموسومية في تلك التعرضات [٢١٥، ٢١٦] ويستخلص من ذلك أن تقدير جرعة الجسم بكامله بعد مرور مدة زمنية طويلة من حدوث تعرضات في أجزاء من الجسم ويتجه نحو الانخفاض مع ازدياد الجرعة [٢١٥].

ووصفت في حالات أخرى من التعرضات العارضة في الإنسان حالات تناقصت فيها بدرجة ملحوظة مع مرور الوقت بعد التشعيع ترددات الانتقالات الكروموسومية في ظل ازدياد الجرعة؛ واستمر تردد الانتقالات بمرور الوقت في حالة الجرعات التي كانت تقل عن ١-٣ غراي، ولوحظ تراجع بعد الجرعات الأقوى [٢١٧، ٢١٨]. ولوحظ لدى مرضى السرطان الذين يعالجون بالإشعاع تناقص واضح في ناتج الانتقالات الكروموسومية بمرور الوقت بعد التشعيع، وازداد هذا التناقص وضوحاً في الأشخاص الذين ازدادت لديهم الترددات الأولية للانتقالات الكروموسومية. [٢١٩-٢٢٢]. ويمكن تفسير هذه الملاحظات في المرضى الذين يعالجون بالإشعاع بسبب تلقيهم جرعات مميّنة في الخلايا الجذعية وإعادة تجديد هذه المنطقة بخلايا غير مشعة من خارج الجزء المشع في الجسم. وتشير هذه النتائج إجمالاً إلى أن الناتج الأولي للانتقالات الكروموسومية في الجرعات القوية قد لا يكون ثابتاً في كل الحالات بمرور الوقت بعد التشعيع.

ويمثل الاكتمال والتعقد عاملين يمكنهما المساهمة في اختفاء الانتقالات الكروموسومية بمرور الوقت بعد التشعيع. وأغلبية الانحرافات المعقدة غير قابلة لانتقال ولذلك فإن الخلايا التي تحمل تلك الانحرافات ستختفي بمرور الوقت بعد التشعيع [٢١٣، ٢١٥، ٢٢٣-٢٢٦].

ومن العوامل الأخرى التي تساهم في استمرار الانتقالات الكروموسومية تزامن حدوث الانتقالات والانحرافات غير المستقرة في نفس الخلية. ولذلك اقترح تناول الخلايا المستقرة بدلاً من مجموع الخلايا في تقدير الجرعة بأثر رجعي، ويجري النظر في هذا الاقتراح. وتناقض الناتج الأولي للانتقالات الكروموسومية، حسب ما جاء في إحدى دراسات المتابعة التي تناولت ضحايا حادث إستونيا، عند النظر في كل الخلايا، إلى نحو ٧٠ في المائة بعد انقضاء سنتين [٢١٤]. ومع ذلك فقد أشارت دراسة أخرى أجريت في نفس المجموعة وأعيد فيها تحليل الصور الرقمية للخلايا التالفة لاختيار الخلايا التي لا تحتوي على انحرافات غير مستقرة إلى أن ناتج الانتقالات الكروموسومية بعد ٧ سنوات لم يختلف عن الناتج في أول سنتين. على أن هذه الدراسة كانت محدودة، إذ كان عليها أن تعتمد على صور الخلايا التي تم الاحتفاظ بها لأنها كانت تحتوي على أضرار في الكروموسومات الملونة. وتعذر إجراء أي تصحيح للخلايا التي اعتبرت في البداية 'طبيعية' فيما يتعلق بالمادة الملونة لأنها لم تخزن في صورة رقمية. على أن هذه الدراسة، إلى جانب الاحتمالات النظرية التي ترى أنه بعد مرور فترة زمنية طويلة لن يتبقى سوى الخلايا المستقرة، ترى أن الأنسب هو النظر في ناتج الانتقالات الكروموسومية في الخلايا المستقرة بدلاً من النظر في ناتج الانتقالات الكروموسومية في كل الخلايا. ولا يمكن حسم ذلك نهائياً إلا من خلال دراسات المتابعة السليمة بالتوازي مع التهجين الموضعي بالفلورسين وتحليلات الانحرافات غير المستقرة في ضحايا حوادث التشعيع فوراً بعد حدوث التعرض.

١٠-٧- منحنيات المعايرة

يحتاج كل مختبر عند تقدير الجرعات المصحوبة بانتقالات كروموسومية مكتشفة باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين، إلى إنشاء منحنياته الخاصة به. والرياضيات المستخدمة في توفيق المنحنيات هي نفسها المستخدمة مع ثنائيات القسيم المركزي والتي سبق وصفها (القسم ٨-٣). وينبغي إنشاء المنحنى باستخدام نفس خليط مجسات التهجين الموضعي بالفلورسين المستخدمة روتينياً في تقصي الحالات. وبحول ذلك دون الحاجة إلى التحويل إلى مكافئ الجينوم الذي يمكن أن تنشأ عنه بعض الريبة الإضافية.

وعندما أنشئت منحنيات معايرة الانتقالات الكروموسومية، مع مراعاة الخلايا المستقرة أو الخلايا الكلية، لم تنشأ أي فروق في توفيق المعاملات عند النظر فقط في الانتقالات الكروموسومية البسيطة ظاهرياً في حالات الإشعاعات ذات الانتقال الخطي المنخفض للطاقة [٢٢٧، ٢٢٨]. على أنه في أثناء التحليل المجهرى، يوصى بفحص كل الانحرافات المكتشفة في كل مجموعة الكروموسومات وعدم الاقتصار على الانحرافات المؤثرة على المادة الملونة [٦٤]. وسوف يتيح ذلك فرصة للتأكد مما إذا كان الاقتصار على الخلايا المستقرة يتيح تقدير الجرعات بطريقة أكثر واقعية.

وتقدّر الجرعات باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين عموماً في حالة الجرعات القوية ولكن الممتدة أو بعد التعرض لإشعاعات ضعيفة على امتداد فترة زمنية طويلة دون ظهور أي أعراض طبية. وعلى النقيض من قياس الجرعات في حالات التعرضات الحادة التي تستخدم فيها منحنيات خطية تربيعية، يتسم الحد α الخطي في منحنى الجرعة والاستجابة بأهميته الحاسمة. ويمكن استخدام الاختبار F المشار إليه في القسم ٨-٣ لتأكيد موثوقية المعامل الخطي. ولا يحتوي سوى القليل من منحنيات المعايرة المنشورة، إن وجدت، على ما يكفي من القياسات في نطاق الجرعة الضعيفة بما يسمح بالحصول على معامل خطي موثوق بالقدر الكافي وبنطاق ثقة صغير [٦٤]. ويتطلب تكوين علاقات خطية للجرعة تسجيل عدة نقاط للجرعات التي تنخفض عن ١ غراي باستخدام عدد كبير من الخلايا، وهو ما يتطلب جهداً كبيراً. ويمكن مؤقتاً طرح عدد من الافتراضات المعقولة لحسم هذه المشكلة. وتبلغ نسبة تكوين ثنائيات القسيم المركزي والانتقالات الكروموسومية ١: ١ تقريباً [٢٢٩، ٢٣٠] ولذلك يمكن توقع معاملات مماثلة للجرعة والاستجابة. وتشير الأدلة المستمدة من مختلف البيانات المنشورة بشأن ثنائيات القسيم المركزي إلى أن معامل المعايرة الخطي يتراوح تقريباً بين ١٥ و ٢٠ انتقالاً كروموسومياً في كل ١٠٠٠ خلية من مكافئات الجينوم لكل غراي من أشعة غاما القوية الطاقة [٥١]. ومن المعروف كذلك أن الحد الخطي لمنحنيات الجرعة والتأثير يتأثر أساساً بالنوعية الإشعاعية التي يحددها الانتقال الخطي للطاقة، بينما ينشأ التقوس عن المعامل β الذي يتوقف على معدل الجرعة (كما هو مبين في تصحيح الحد

G في القسم ٥-٤-٧-٩). وثمة أدلة تشير إلى أن المعامل الخطي المشتق باستخدام التعرض المزمن للبيئة المختبرية لا يختلف في حالة الحد الخطي للاستجابة للجرعة الحادة شريطة أن يكون في درجة حرارة الجسم [٢٣٣]. وبالتالي من المعقول استخدام الحد الخطي الذي يتم الحصول عليه باستخدام نفس النوعية الإشعاعية المستخدمة في منحنيات معايرة ثنائيات القسّم المركزي الحادة لحين الحصول على معاملات خطية موثوقة للانتقالات الكروموسومية باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين في تجارب معايرة الجرعة والاستجابة المنخفضة في الظروف المختبرية.

وسوف يعتمد تقدير الجرعة في حالة إعادة إنشاء الجرعة بعد وقت طويل من حدوث التعرض إلى افتراض أن الكريات اللمفاوية المشعة في بيئة المختبر وخلايا الدم الجذعية المشعة في الجسم الحي ستظهر ترددات مماثلة في الانتقالات الكروموسومية. ومن غير المؤكد ما إذا كانت الحساسية الإشعاعية للخلايا الجذعية والكريات اللمفاوية الناضجة متطابقة أو ما إذا من المحتمل حدوث تأثير من انقسامات الخلايا المتداخلة حيث سيجري التخلص من الخلايا المحتوية على انحرافات غير مستقرة. ويفترض قياس الجرعات بأثر رجعي أن هذه لا تشكل عوامل إرباك رئيسية، وتشير آخر الدراسات إلى أن ذلك لا ينطوي على أي أهمية في الواقع العملي [٦٤].

والخلاصة أن إعادة إنشاء الجرعة على أساس الانتقالات الكروموسومية في الخلايا المستقرة أسلوب يستند إلى أسس راسخة [١٧٤] ولكنه ينطوي على قيود. ويبدو أنه أداة جيدة بعد التعرض لجرعات ممتدة ومنخفضة يهيمن عليها الحد الخطي لمنحى المعايرة. وكتدبير مؤقت يمكن افتراض قيمة الحد المشتق من منحنيات جرعة- استجابة ثنائيات القسّم المركزي. وبعد التعرض لجرعات قوية، خاصة الجرعات الحادة، قد يؤدي الاقتصاد على الخلايا المستقرة إلى تقدير الجرعة بقيمة أقل من الواقع لأن عدد الخلايا التي تحتوي على انتقالات كروموسومية في الخلايا غير المستقرة سيزداد جنباً إلى جنب مع عدد الانحرافات المعقدة. وعلاوة على ذلك فإن هناك حداً للجرعة العليا التي يمكن إجراء المعايرة على أساسها نظراً لزيادة ندرة الخلايا التي لا تحتوي على ضرر غير مستقر.

١٠-٨- أمثلة لاستخدامات التهجين الموضعي بالفلورسين في القياس البيولوجي الرجعي للجرعات

صُممت هذه الدراسات لبحث جدوى فحص الانتقالات الكروموسومية باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين في القياس الرجعي للجرعات في الآتي: (١) المجموعات التي لم تخضع جرعاتها لأي قياسات بيولوجية أو فيزيائية سابقة؛ (٢) المجموعات التي لديها تقديرات فيزيائية معلومة للجرعات؛ (٣) المجموعات التي لديها تقديرات بيولوجية معلومة للجرعات باستخدام التحليل التقليدي للكروموسومات ذات القسّمين المركزيين بعد التعرض مباشرة. وتعتبر بيانات المجموعة الأخيرة هي الأكثر موثوقية لمقارنتها مع ترددات الانتقالات الكروموسومية من أجل تحديد استقرار الانتقالات.

وتألّفت أربع مجموعات من مجموعات الدراسة من الآتي: (١) عمال محطات القوى النووية؛ (٢) المجموعات التي تعيش في مناطق ملوثة؛ (٣) عمال التنظيف في تشرنوبل؛ (٤) الأفراد أو مجموعات الأفراد المعرضين لإشعاعات عارضة.

١٠-٨-١٠ القياس البيولوجي الرجعي للجرعات في المجموعات السكانية التي لم تخضع من قبل لقياسات شخصية للجرعات

تطلب إجراء تقديرات رجعية للجرعات الإشعاعية تحديد تردد الانحرافات الكروموسومية في ١٥ فرداً من المعروف أنهم تعرضوا لإشعاعات شديدة نتيجة لحادث تشرنوبل، وعولجوا جميعاً من أعراض المرحلة المتأخرة لمتلازمة الإشعاع الجلدي.

وبدأت هذه الدراسات في عام ١٩٩١ وأجريت متابعة لها حتى عام ١٩٩٤ [٢٣٤، ٢٣٣، ٢١٢]. وفي عام ١٩٩١، حُدّدت تقديرات مكافآت الجرعة البيولوجية سواءً عن طريق قياس تردد ثنائيات القسّم المركزي والحلقات باستخدام أسلوب حاصل ثنائيات القسّم المركزي والحلقات أو عن طريق قياس تردد الانتقالات الكروموسومية المستقرة باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين من خلال مكتبات الحمض النووي المحددة الكروموسومات الكاملة المرغّبة، ومجس الحمض النووي الشامل للقسّمات المركزية. وباستخدام هذين

الأسلوبين، تم الحصول على تقديرات فردية متماثلة تراوحت بين ١,١ و ٥,٨ غراي في ١٢ من بين ١٥ فرداً، بينما لم يظهر أي ارتفاع في ترددات الانحرافات في ثلاثة منهم [٢٣٤]. وبحثت دراسات المتابعة ترددات الانتقالات الكروموسومية لدى نفس المتبرعين خلال مدة زمنية بلغت ثلاث سنوات من أيلول/سبتمبر ١٩٩١ حتى تموز/يوليه ١٩٩٤ حيث ظلت الترددات ثابتة نوعاً في ١١ من بين ١٢ حالة. وسمح ذلك بتقديرات قابلة للمقارنة من مختلف فترات أخذ العينات [٢١٢].

ولا يمكن أن تستخلص من هذه الدراسات نتيجة مباشرة بشأن استقرار الانتقالات الكروموسومية بسبب عدم وجود أي بيانات مرجعية مباشرة بعد التعرض (أي القياس البيولوجي والفيزيائي للجرعة). على أن دراسات المتابعة تشير إلى أن الانتقالات الكروموسومية يمكن أن تظل ثابتة بعد خمس سنوات من زمن التعرض وبمستويات مختلفة للجرعات.

١٠-٨-٢- القياس البيولوجي الرجعي في المجموعات السكانية أو المجموعات المعرضة لإشعاعات مهنية مصحوبة بتقديرات فيزيائية للجرعات

أُجريت عدة دراسات صُممت أساساً لتقدير الجرعات الممتصة، وتناولت هذه الدراسات ترددات الانحرافات الكروموسومية في الكريات اللمفاوية، مثل الانحرافات الكروموسومية لدى ضحايا القنبلة الذرية في هيروشيما وناغازاكي (اليابان) أو لدى عمال تنظيف تشرونوبل. واقتربت فيما يبدو ترددات الانتقالات الكروموسومية المسجلة لدى الناجين من القنبلة الذرية من القيم المتوقعة المستمدة من الجرعات التقديرية المحددة بنظام قياس الجرعات ١٩٨٦ (DS86) مقارنة بمنحنى الجرعة والاستجابة داخل المختبر [١٤٥]. ولذلك فقد أيدت هذه الدراسات فكرة استمرار الانتقالات الكروموسومية لمدة طويلة. على أنه تبين في المقابل وجود فرق ملموس في العمال الأربعة المشععين خلال حادث ١٢-٧ في أوك ريدج (الولايات المتحدة الأمريكية) في عام ١٩٥٩ حيث انخفضت بعد عدة سنوات ترددات الانتقالات الكروموسومية انخفاضاً كبيراً إلى ما دون المستويات المتوقعة [١٧٠].

وأُجريت في عام ١٩٩٤ دراسة تجريبية لنحو ٦٠ عاملاً متطوعاً من إستونيا للعمل في تنظيف تشرونوبل في عام ١٩٨٦ أو ١٩٨٧ بجرعات مسجلة تراوحت بين صفر و ٣٠٠ مللي سيفرت لتحديد ما إذا كانت تحليلات ثنائيات القُسَم المركزي والانتقالات الكروموسومية يمكن أن تؤكد جرعتهم المسجلة [٢٣٥]. وفي مجموعة أخرى من الفحوص، أُجريت دراسة تناولت ٥٢ من عمال التنظيف واستخدمت فيها عملية التلوين بالتهجين الموضعي بالفلورسين [٢٣٦]. ولم تعد تقديرات ثنائيات القُسَم المركزي صالحة، ولكن الانتقالات الكروموسومية يمكن استخدامها للتحقق من القياس المبكر للجرعات في الأشخاص الذين تعرضوا لإشعاعات أقوى. وتبين في الأغلبية الواسعة من الأشخاص الذي تلقوا جرعات أقل أن التهجين الموضعي بالفلورسين غير عملي في قياس الجرعات الفردية. ومع ذلك فقد اقترح استخدام هذه الطريقة باعتبار أنها تتسم ببعض الأهمية في التمييز بين مجموعات الأشخاص المعرضين لجرعات مختلفة [٢٣٥] وهو ما أيدته دراسة تناولت عمال التنظيف في إستونيا [٩٢، ٢٣٧].

وهناك مجموعة أخرى من البيانات عن ٧٥ من عمال ماياك أتيحت بخصوصهم قياسات الجرعات الفيزيائية وتحديثت تعرضاتهم الرئيسية فيما بين عامي ١٩٤٨ و ١٩٦٣ [٢٣٨]. وأشارت التقارير إلى أن الجرعات الخارجية التراكمية تراوحت بين ٠,٠٢ و ٩,٩١ سيفرت وتراوحت أحمال البلوتونيوم بين ٠,٢٦ و ١٨,٥ كيلو بكريل. وتحدد ترددات الانتقالات الكروموسومية بعد ٣٥ أو ٤٠ سنة من التعرض الممتد باستخدام مسابير تلوين الكروموسومات ١، و ٤، و ١٢ بالاقتران مع مجس شامل لكل القُسَمات المركزية. وكشفت النتائج عن ارتفاع تردد الانتقالات الكروموسومية لدى عمال ماياك مقارنة بالمجموعة الضابطة. على أن نطاق ناتج الانتقالات الكروموسومية انخفض عموماً عن المتوقع من الجرعات الشخصية المسجلة ومنحنيات المعايرة [٢٣٨، ٢٣٥].

وأجري تلوين باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين في تحضيرات الطور الاستوائي التي تم الحصول عليها من ٧٣ شخصاً من السكان المقيمين المعرضين للإشعاع في المستوطنات الممتدة على طول ضفاف نهر نيشا. وتألفت مجموعة الدراسة من مجموعتين فرعيتين تعيشان في مستوطنات على مسافة ٧ أو ٦٠ كيلومتراً أو على بُعد ٧٨ أو ١٤٨ كيلومتراً من المرفق في اتجاه مصب النهر. وجرى التمييز بين

المجموعتين الفرعيتين وبين المجموعتين الضابطين ولاحظ ارتفاع كبير في متوسط ترددات الانتقال الكروموسومي [٢٣٩].

وأجريت في الفترة من ١٩٩١ حتى ١٩٩٤ دراسات تناولت القياس البيولوجي لجرعات العاملين الإشعاعيين في موقع سيلافيلد النووي حيث بلغت جرعات مدى العمر التراكمية في الجسم بكامله بين ١٧٣ و ١١٠٨ مللي سيفرت، وزادت جرعاتهم جميعاً، باستثناء ثلاثة منهم، على ٥٠٠ مللي سيفرت. وعندما قسّم العاملون إلى مجموعات حسب نطاقات الجرعات، كشف متوسط ترددات الانتقالات الكروموسومية عن زيادة ملموسة في فئات الجرعات. على أن جرعات مدى العمر التراكمية في المقابل لم تكن مرتبطة بترددات ثنائيات القسيم المركزي المركزية [٢٤٠].

وتبيّن وجود ارتباط قوي بين قياس رنين الدوران الإلكتروني والقياس الوراثي الخلوي للجرعات باستخدام ترددات الانتقالات الكروموسومية في ٤٠ من الناجين من القنبلة الذرية في هيروشيما الذين كانوا يعيشون على مسافة قريبة (بلغت ٢ كيلومتر تقريباً) من مركز الانفجار النووي وكان عمرهم وقت الانفجار ١٠ سنوات على الأقل [٢٤١]. وتشير الدراسات التي تناولت الناجين من القنبلة الذرية في هيروشيما إلى استمرار الانتقالات الكروموسومية المستقرة. ومع ذلك يمكن أن نستنتج من الدراسات الأخرى المذكورة أعلاه أن جزءاً ما من الانتقالات الكروموسومية قد تراجع، فيما يبدو، بمرور الوقت بعد التعرض.

١٠-٨-٣- قياس الجرعات بيولوجياً بأثر رجعي في الأشخاص الذين أجريت تقديرات بيولوجية معلومة لجرعاتهم باستخدام تحليلات ثنائيات القسيم المركزي التقليدية بعد فترة وجيزة من تعرضهم لحوادث

حادث التريتيوم

فُحصت أيضاً بأثر رجعي التعرضات الزائدة العارضة للماء المعالج بالتريتيوم التي سبق بيانها (القسم ٧-٥-٧-٩) وذلك باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين [٢٤٢]. واتضح في البداية من خلال ثنائيات القسيم المركزي أن متوسط الجرعة بلغ ٠,٣٨ غراي وتشابهت هذه الجرعة كثيراً مع جرعة بلغت ٠,٤٧ غراي بعد قياس التريتيوم في البول. وتمثل هذه القيم متوسطات الجرعات في الأنسجة الرخوة في الجسم حيث يندمج التريتيوم مع ماء الجسم ويتسبب في تعرض متجانس تقريباً في كل الأنسجة الرخوة. وكشفت عينات الدم التي أخذت لاحقاً عن انخفاض متوقع في ناتج ثنائيات القسيم المركزي بما يتفق مع العمر النصفى للاختفاء الذي بلغ ٣,٣ سنة.

وبعد مُضي ست سنوات وإحدى عشرة سنة بعد الحادث، أُجري قياس للجرعة من خلال التهجين الموضعي بالفلورسين باستخدام نواتج مجمعة لانتقالات كروموسومية أحادي الاتجاه وثنائية الاتجاه. وأُجرى أحد المختبرات تحليله في المرة الأولى باستخدام الكروموسومات ١، ٢، و ٤ الوحيدة اللون، وأُجري التحليل في المرة الثانية بالاشتراك مع مختبر آخر قام بصبغ الكروموسومات ٢، ٣، و ٥. وأُجريت تقديرات الجرعة بالإشارة إلى المعايرة المخبرية التي أُجريت باستخدام التريتيوم في أحد المختبرين وأسفر ذلك عن منحنى خطي للجرعة والاستجابة في الانتقالات الكروموسومية الكلية المصححة في الجينوم الكامل حيث $Y = C + (5.26 \pm 0.49) \times 10^{-2}D$. ونتج عن البيانات المجمعة من كل الفحوص التي أُجريت باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين تقدير للجرعة بلغ ٠,٤٨ غراي.

حادث جوانيا

تعرض في الحادث الإشعاعي الذي وقع في جوانيا (البرازيل، ١٩٨٧) عدد كبير من الأشخاص للإشعاع عندما انكسر مصدر علاج إشعاعي كان يتألف من السيزيوم-١٣٧ [١٤٩، ١٥٠]. وشكّل هؤلاء الأشخاص مجموعة جيدة لموضوع دراسة متابعة. وحُلّلت فوراً بعد اكتشاف الحادث الكريات اللمفاوية من ١٢٩ شخصاً مصاباً لتحديد ترددات ثنائيات القسيم المركزي والحلقات. وقُدّرت الجرعة في تسعة وعشرين شخصاً بنحو ٣ أو ٥,٩ غراي [٢٤٣]. وبالرغم من أن معظم الأفراد تلقوا تعرضاً غير متجانس وهو ما أشار إليه وجود إصابات موضعية في الجلد، فقد ظهر في كل الحالات، باستثناء ستة منها، توزيع بواسوني للانحرافات. وتوبع بعض هؤلاء الضحايا على مر السنوات عن طريق فحص ترددات ثنائيات القسيم المركزي (فوراً) فضلاً

عن الانتقالات الكروموسومية باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين (بعد خمس سنوات) لقياس الجرعة الإشعاعية بأثر رجعي [٢٠٩].

ويمكن مقارنة بيانات ترددات الانتقالات الكروموسومية (باستخدام مختلف مجموعات المجسات التي تغطي نحو ٨٠ في المائة من الجينوم) من خلال التهجين الموضعي بالفلورسين مباشرة بالمقارنة مع الترددات الأصلية الأساسية للكروموسومات ذات القسيمين المركزيين من نفس الأشخاص [٢٠٩]. وانخفضت ترددات الانتقالات الكروموسومية الملحوظة بعد سنوات من التعرض الإشعاعي (من عام ١٩٩٢ فما بعده) في حالة الجرعات الأقوى (أكثر من ١ غراي) بمقدار مرتين أو ثلاث مرات مقارنة بالكروموسومات الأولية ذات القسيمين المركزيين المحددة في عام ١٩٨٧. وفيما يتعلق بمستويات التعرض التي قُدرت بأنها أقل من ٠,٩ غراي، تبين وجود كروموسومات صغيرة محتوية على قسيمين مركزيين بين ترددات الانتقالات الكروموسومية والنواتج الأولية للكروموسومات ذات القسيمين المركزيين. ويمكن زيادة دقة هذه التقديرات عن طريق فحص عدد أكبر من الخلايا. على أن عوامل من قبيل استمرار الكريات اللفافية الحاملة للانتقالات الكروموسومية وعدم تناسب مستويات الانتقال الكروموسومي مع حجم الكروموسوم والتفاوتات بين الأفراد، تؤدي إلى تقليص دقة هذه التقديرات. ولم يتبين أي تراجع في الانتقالات الكروموسومية الوحيدة الاتجاه والثنائية الاتجاه في أثناء المتابعة [٢٠٩]، ولا يختلف ذلك عن الدراسات المتعلقة بتشرنوبل. وقام ستروم وآخرون (Straume et al) [٢٤٤] أيضاً بتقييم ضحيتين من ضحايا حادث جوانيا بعد سنة من التعرض باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين. وعندما قورنت البيانات مع ترددات ثنائيات القسيم المركزي التي تم الحصول عليها مباشرة بعد الحادث، لوحظ انخفاض ترددات الانتقالات الكروموسومية.

حادثان في ألمانيا وإستونيا

في المقابل، كشفت دراسة أخرى [٢٤٥] أجريت بعد ١١ سنة من وقوع حادث تعرض له ثلاثة عمال إشعاعيين، عن استقرار ترددات الانتقالات الكروموسومية بعد استخدام التهجين الموضعي بالفلورسين مع الكروموسومات ٢، ٤، و ٨، والمجس الشامل للقسيمات المركزية ولم تظهر فروق ملموسة عن متوسط ترددات ثنائيات القسيم المركزي التي حددتها طريقة التلوين التقليدية باستخدام الفلورسين المضاف إلى الغيمزا بعد فترة وجيزة من اكتشاف الحادث. وتم تحديد نحو ٧٥ في المائة من الانتقالات الكروموسومية باعتبارها ثنائية الاتجاه. وبعد وقوع حادث إشعاعي في إستونيا في عام ١٩٩٤، أجريت تحليلات كروموسومية بعد شهر واحد ثم بعد شهرين، و ٦، و ١٠، و ١٢، و ١٧، و ٢٢، و ٢٤ شهراً من تعرض خمسة أشخاص أشارت التقديرات إلى أنهم تلقوا جرعات تراوحت تقريباً بين ١ و ٣ غراي [٢١٣، ٢٤٦]. وظلت الانتقالات الكروموسومية الثنائية الاتجاه في دراسات المتابعة مستقرة نسبياً في كل الأشخاص الخمسة ولوحظ تناقص ملموس في الانتقالات الكروموسومية الوحيدة الاتجاه في شخص واحد. وانخفضت ثنائيات القسيم المركزي في كل الأشخاص إلى نحو ٥٠ في المائة من تردداتها الأولية بعد سنة من التعرض [٢٤٦]. وأشارت دراسة متابعة أخرى شملت السنوات السبع التي أعقبت الحادث إلى أن فحص الانتقالات الكروموسومية في الخلايا المستقرة ألغى فيما يبدو هبوط الانتقالات الكروموسومية الملحوظة في كل الخلايا. وكان ناتج الانتقالات الكروموسومية في الخلايا المستقرة مستقلاً عن الزمن خلال السنوات الأولى من المتابعة [١٧٤].

حادث إسطنبول

يتناول القسم ٩-٧-٥-٦ بالوصف حالة تعرض فيها عدد من الأشخاص للإشعاع من مصدر كوبالت-٦٠ غير مدّرع ومختلط بخرقة معدنية. وانقضى شهر قبل أن تكتشف السلطات حدوث تعرضات إشعاعية. وأصيب المرضى بانخفاض شديد في عدد خلايا الدم. وأشار تحليل ثنائيات القسيم المركزي في الأشخاص الخمسة الذين أصيبوا بأخطر مستويات التعرض إلى أن الجرعات تراوحت بين ٢,٢ و ٣,١ غراي. ويشمل ذلك تكييف الدالة G مع منحنى الجرعة - الاستجابة لمراعاة التعرضات الممتدة لعدة ساعات. ويلاحظ في القسم ٩-٧-٤-٤ أنه عند حدوث تعرضات كبيرة بدرجة كافية لإحداث آثار قطعية، من قبيل انخفاض عدد خلايا الدم، فإن ناتج ثنائيات القسيم المركزي قد يهبط بدرجة ملحوظة خلال بضعة أسابيع.

وأجري أيضاً قياس للجرعة عن طريق التهجين الموضعي بالفلورسين باستخدام نفس عينات الدم التي استخدمت في فحص ثنائيات القسيم المركزي. وأجريت التحاليل في ثلاثة مختبرات [١٥٨] واستندت نتائج تقديرات الجرعات إلى مجموع نواتج الانتقالات الكروموسومية الوحيدة الاتجاه والثنائية الاتجاه المأخوذة من

المختبرات. وارتفعت تقديرات الجرعة التي أجريت عن طريق التهجين الموضعي بالفلورسين والتي شملت أيضاً تعديل الدالة G بنسبة تراوحت بين ٢٠ و ٣٠ في المائة عن القيم المشتقة من ثنائيات القُسْم المركزي.

وعادة ما يُنظر في استخدام التهجين الموضعي بالفلورسين كمقياس للجرعة بأثر رجعي عندما تؤخذ عينات الدم على امتداد سنوات بعد وقوع التشعيع أو في الحالات التي تحدث فيها تعرضات طويلة الأجل نتيجة مثلاً لتلوث البيئة بنويدات مشعة. على أن هذه الحالة بَيَّنَتْ بوضوح أن التهجين الموضعي بالفلورسين يساهم أيضاً بدور في الحالات التي يتلقى فيها الشخص جرعات قوية ويتأخر فيها أخذ العينات نوعاً ما خلال مدة زمنية عادة ما يعتبر فيها فحص ثنائيات القُسْم المركزي في الجرعات الأقل كافياً إلى حد ما.

حادث جورجيا

تعرض أحد عشر من حراس الحدود الشباب لإشعاعات عارضة من مصدر واحد أو عدة مصادر من السيزيوم - ١٣٧ التي لم يتجاوز نشاطها الإشعاعي ١٥٠ جيجا بكريل في مركز ليلو للتدريب العسكري. وكان الغرض من هذه المصادر هو التدريب ومعايرة الأجهزة. وتعرض الضحايا للإشعاع لمدة تقترب من السنة من منتصف عام ١٩٩٦ حتى نيسان/أبريل ١٩٩٧ [٢٤٧].

ونقل أربعة من أكثر الأشخاص تعرضاً إلى المستشفى في فرنسا حيث أجريت لهم فحوص وراثية خلوية في تشرين الثاني/نوفمبر ١٩٩٧ [٢٤٨] (الجدول ١٣).

الجدول ١٣: أعداد الانحرافات الكروموسومية غير المستقرة وتردداتها الواردة بين قوسين لكل خلية^١

المريض	الخلايا المفحوصة	ثنائيات القُسْم المركزي	الحلقات	القُسِمات اللامركزية	اختبار u	الجرعة، ثنائيات القُسْم المركزي	الجرعة، التهجين الموضعي بالفلورسين
						غراي [فترة ثقة ٩٥%]	غراي [فترة ثقة ٩٥%]
١	٥٠٠	١٤ (٠,٠٣)	٠ (٠,٠٠٠)	١١ (٠,٠٢٢)	٠,٤٣-	٠,٤ [٠,٦-٠,٢]	٠,٧ [١,٠-٠,٤]
٢	٥٠٠	١٩ (٠,٠٤)	١ (٠,٠٠٢)	١٥ (٠,٠٣٠)	٠,٥٩-	٠,٥ [٠,٧-٠,٤]	٠,٤ [٠,٧-٠,١]
٣	٥٠٢	٥٥ (٠,١١)	٤ (٠,٠٠٨)	٢٤ (٠,٠٤٨)	٤,٦٨	١,١ [١,٣-٠,٩]	٠,٨ [١,١-٠,٦]
٤	٥١٨	٨٠ (٠,١٥)	٤ (٠,٠٠٨)	٢٥ (٠,٠٤٨)	٣,٦١	١,٣ [١,٥-١,١]	١,٧ [١,٩-١,٤]

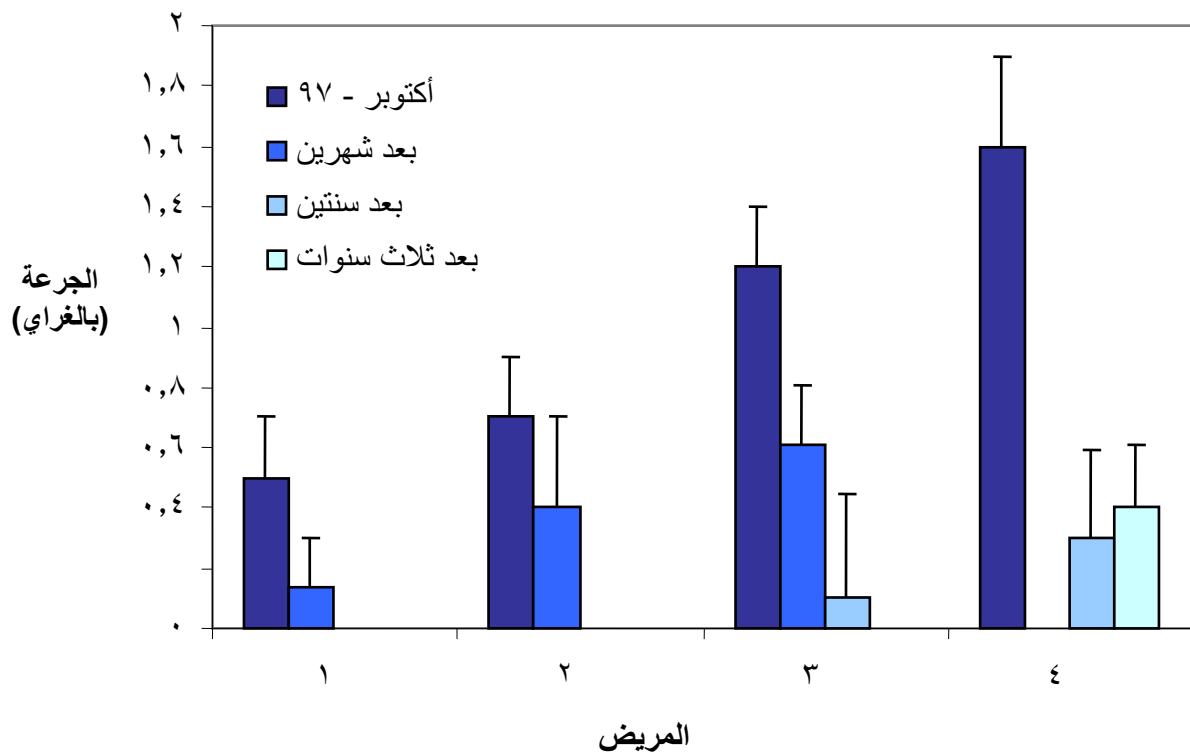
^١ يشير الاختبار u إلى تشتت زائد ملموس، حيث $u < ١,٩٦$ ؛ أو نقص في التشتت، حيث $u > ١,٩٦$. واشتقت تقديرات الجرعات من ثنائيات القُسْم المركزي والانتقالات الكروموسومية الثنائية الاتجاه.

وقد استخدم منحني معايرة في ظروف مختبرية لجرعة حادة (٠,٥ غراي، دقيقة^١) من مصدر كوبالت - ٦٠ للكروموسومات ذات القُسِمين المركزيين والحلقات في تقدير الجرعات. وأشارت عملية إعادة بناء الجرعة فيزيائياً إلى أن الشخصين ١ و ٢ تعرضا لإشعاع موضعي قوي، وهو ما لم يؤكد توزيع ثنائيات القُسْم المركزي في كل خلية ($u > ١,٩٦$ ، الجدول ١٣). ولذلك فإن الجرعات التي حُسبت بافتراض تعرض متجانس حاد تقل كثيراً عن تقديرات الجرعة الشخصين ٣ و ٤ التي تميَّزت توزيعات انحرافات بفراط تشتتها ($u < ١,٩٦$)، وهو ما يوحي بحدوث تعرض في جزء من الجسم. ويتفق ذلك مع ظروف التعرض التي أعيد إنشاؤها من خلال القياس الفيزيائي للجرعة.

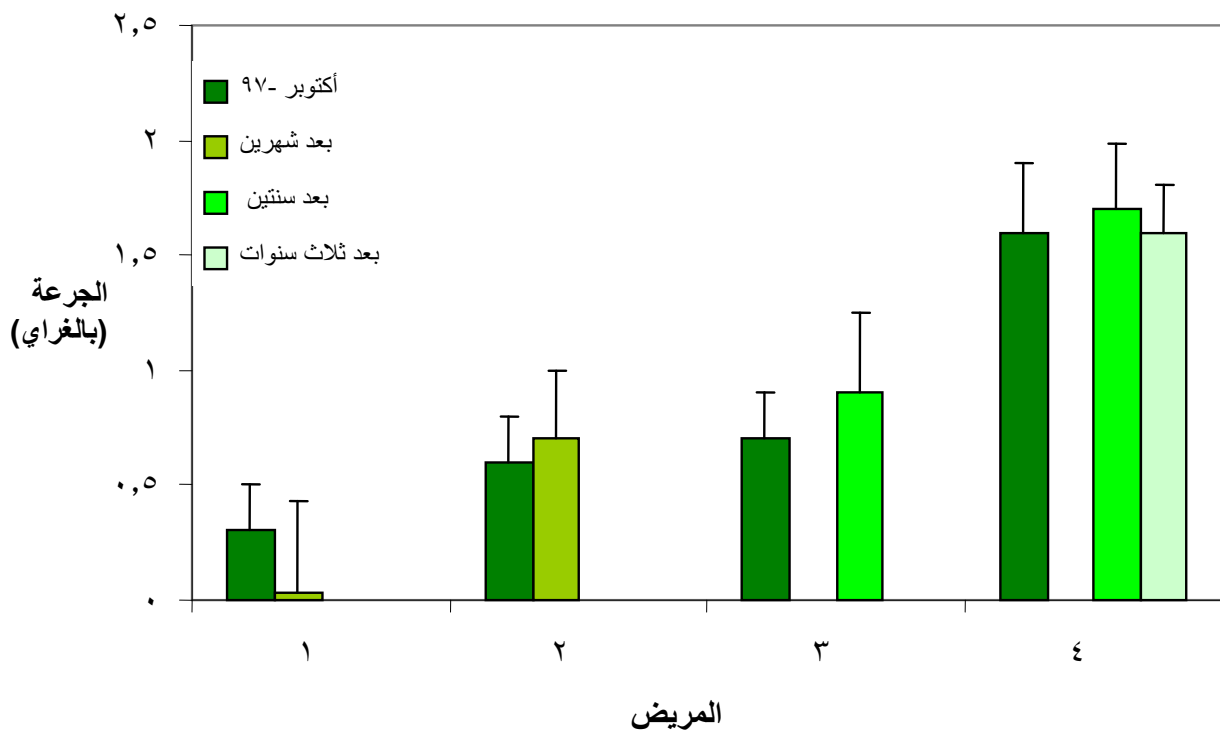
وربما كان كل المرضى الأربعة يعانون هبوطاً في عدد الخلايا اللمفاوية في الدم قُبيل وصولهم إلى فرنسا وبالتالي يمكن أن تكون تقديرات متوسط جرعة الجسم بكامله أقل من التقديرات استناداً إلى الانحرافات غير المستقرة (القسم ٩-٧-٤). ولذلك أجريت أيضاً فحوص شملت الانتقالات الكروموسومية باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين، وشمل الفحص كل الخلايا ولم يقتصر على الخلايا المستقرة. وصُغت ثلاثة أزواج من الكروموسومات (٢، ٤، و ١٢) معاً بمجس شامل لكل القُسِمات المركزية. ولم تلاحظ في الشخص رقم ٢ أي اختلافات في الجرعات المقدَّرة باستخدام ثنائيات القُسْم المركزي أو ناتج الانتقالات الكروموسومية (الجدول ١٣). وفيما يتعلق بالشخصين ١ و ٤، ازدادت قيم التهجين الموضعي بالفلورسين عن قيم ثنائيات القُسْم المركزي، ولكن الفروق لم تكن ذات أهمية إحصائية. ومع ذلك فقد أشارت التقديرات إلى أن جرعة الشخص رقم ٣ كانت أعلى في فحص ثنائيات القُسْم المركزي. وربما ترجع هذه الفروق إلى تجزؤ وعدم تجانس التعرضات التي اختلفت بدرجة ملحوظة من مريض إلى آخر، وعدلت بالتالي من توزيعات الانتقالات

الكروموسومية في الخلايا غير المستقرة، وكذلك بالتالي الاختفاء النسبي للكروموسومات ذات القُسيمين المركزيين مقارنة بالانتقالات الكروموسومية.

وأُجريت متابعة أخرى للوراثة الخلوية (الشكلان ٣٣ و ٣٤) بالرغم من أن العينات لم تكن متاحة من كل شخص في كل مناسبة.



الشكل ٣٣: التغيرات في تقديرات الجرعة المشتقة من ثنائيات القسم المركزي بمرور الوقت بعد التشعيع



الشكل ٣٤: التغيرات في تقديرات الجرعة المشتقة من الانتقالات الكروموسومية الثنائية الاتجاه بمرور الوقت بعد التشعيع

وكما كان متوقعاً، لوحظ هبوط في ناتج ثنائيات الفُسِّيم المركزي بمرور الوقت في كل المرضى. وفي المقابل، لم يحدث أي هبوط في تردد الانتقالات الكروموسومية الثنائية الاتجاه لدى ثلاثة من المرضى الأربعة. وتناقص تردد الانتقالات الكروموسومية في الشخص رقم ١ بعد شهرين من أخذ عينة الدم الأولى، ولكن نظراً لجوانب الريبة، فإن ذلك لا ينطوي على أي أهمية إحصائية. وربما يعبر الاستقرار العام للانتقالات الكروموسومية اللاحقة عن سرعة تجدد الكريات اللمفاوية المرتبط بهبوط عدد الخلايا اللمفاوية في الدم وسرعة التخلص من الانحرافات غير المستقرة. ويمكن أن تشير بيانات التهجين الموضعي بالفلورسين الأخيرة إلى الجرعة التي تلقتها الخلايا الجذعية في النخاع العظمي.

١١ - تحليل التكثف الكروموسومي المبترس

تقاس عموماً الجرعات ببولوجياً عن طريق تحليل ثنائيات القُسَم المركزي و/أو الانتقالات الكروموسومية في أول انقسام فتيلي بعد التحول البلاستي في الفيتوهِماغلوتينين داخل المختبر. وتتطوي هذه الاختبارات على العديد من المشاكل المعروفة، وهي تتمثل تحديداً في تأخر الانقسام الفتيلي المستحث بالإشعاع وموت الخلايا في أثناء الزرع الذي يستغرق يومين و يتم إجراؤه على وجه الخصوص بعد الجرعات القوية، وهو ما يمكن أن يتسبب في انخفاض كبير في تقدير جرعة التعرض الإشعاعي [٢٥٠]. ويبين هذا القسم تقنيات حث الكروموسومات على التكثف المبترس، أي قبل حدوث أول انقسام فتيلي، وبذلك يمكن تقليص أو إلغاء مدة الزرع وبالتالي فرصة تأخر الانقسام الفتيلي أو موت الخلايا.

١١-١-١ التكثف الكروموسومي المبترس عن طريق الاندماج الفتيلي

يمكن عن طريق حث التكثف الكروموسومي المبترس من خلال إدماج الكريات اللمفاوية البشرية مع الخلايا الفتيلية في مبيض القداد الصيني في وجود عامل إدماج، مثل الغليكول المتعدد الإيثيلين، قياس الانحرافات الكروموسومية مباشرة بعد التشجيع دون الحاجة إلى تحفيز الانقسام أو الزرع [٦٦]. وباستخدام هذا الأسلوب بالاقتران مع التقنيات التقليدية، مثل التحزيم الكروموسومي أو التهجين الموضعي بالفلورسين مع مكتبات الحمض النووي الخاصة بالكروموسومات باستخدام مجس شامل لكل القُسَم المركزية أو بدونه يمكن كشف الانقسامات وثنائيات القُسَم المركزي والحلقات فضلاً عن الانتقالات الكروموسومية. واقترح هذا الاختبار كأداة لقياس الجرعات عن طريق تحليل ترددات الانحرافات الكروموسومية، أي زيادة الانقسامات وثنائيات القُسَم المركزي والانتقالات الكروموسومية [٦٧، ٧٢، ٧٥، ٢٥٠]. ويفيد هذا الفحص في تحديد التعرض للجرعات الضعيفة، فضلاً عن الجرعات الحادة القوية التي تشكل تهديداً للحياة نتيجة للإشعاعات ذات الانتقال الخطي المنخفض والمرتفع للطاقة. وعلاوة على ذلك، يمكن لهذا الفحص أن يميز بدقة بين تعرض الجسم بكامله وتعرض أجزاء من الجسم [٧٥]. وبالنظر إلى أن عدد الخلايا الطبيعية يعبر في هذا الفحص بدقة أكبر عن نسبة الكريات اللمفاوية غير المشعة فإن هذا الأسلوب يتسم بكفاءته في كشف حتى الأجزاء الصغيرة غير المشعة (التي تصل إلى ٥ في المائة). ويمكن بالمثل من خلال هذا الفحص إجراء قياس كمي للحروق الموضعية الصغيرة الناشئة عن التعرضات في أجزاء من الجسم بدقة أكبر.

١١-١-١ زرع الخلايا وظروف اندماج الخلايا

١١-١-١-١ استخدام خلايا مبيض القداد الصيني الفتيلية

ينبغي إعداد خلايا مبيض القداد الصيني الفتيلية قبل تحليل التكثف الكروموسومي المبترس. وتجهز في العادة مزارع خلايا مبيض القداد الصيني من السلالات الأصلية، وهي متاحة ومن السهل بدرجة كبيرة التعامل معها كما أن دورة حياة الخلية قصيرة، إذا تبلغ نحو ١٢ ساعة. ويمكن زراعة خلايا مبيض القداد الصيني في دورق أو زجاجة استزراع دَوَّارة سعتها ٧٥٠ مليلتر في وسط زرعي كامل (مؤلف من F-10، ومصل أبقار حديثة الولادة بتركيز ١٥٪، ومضادات حيوية). ويمكن الحصول على الخلايا المنقسمة فتيلياً عن طريق إضافة الكولسيميد (بتركيز نهائي قدره ٠,١ ميكروغرام/مليلتر) لمدة تتراوح بين ٤ و ٦ ساعات عندما تكون المزرعة نصف ممتلئة وتفصل بعد ذلك الخلايا المنقسمة داخلياً. ويمكن عزل الخلايا الفتيلية من الدورق أو الزجاجة الدوارة عدة مرات يومياً؛ ولذلك ينبغي بعد كل مرة يتم فيها عزل الخلايا الفتيلية تغيير الوسط بوسط جديد يتم تكميله بالكولسيميد في الدورق المحتوي على الخلايا المتبقية. ويمكن تحضير الخلايا الفتيلية بكميات كبيرة مسبقاً والاحتفاظ بها في جهاز تجميد عند درجة حرارة تتراوح بين ٨٠ و ١١٠ درجة مئوية تحت الصفر قبل استخدامها.

١١-١-١-٢ عزل الكريات اللمفاوية

ينبغي عموماً استخدام الفيكول هايباك لعزل الكريات اللمفاوية على النحو المبين من قبل في القسم ١-٥-٢. ومن مزايا هذه التقنية إمكانية استخدام جزء من الكريات اللمفاوية فوراً عندما يعزل عدد كاف منها،

ويمكن تجميد الجزء المتبقي في درجة حرارة تتراوح بين - ٨٠ و ١٢٠ درجة مئوية تحت الصفر لاستخدامها في المستقبل عند اللزوم.

١١-١-٣- عامل الإدماج

ينبغي عموماً استخدام الغليكول المتعدد الإيثيلين الذي يبلغ وزنه الجزيئي ١٤٥٠، ويفضل أن تتراوح نسبة تركيزه الحجمي بين ٤٠ و ٥٠ في المائة (في وسط F-10 بدون مصل، أو محلول ملحي معزول بالفوسفات، أو يفضل في RPMI-1640 مضافاً إليه دارئ HEPES بدون مصل).

١١-١-٤- عمليات الإدماج والتكثيف الكروموسومي

يتطلب إحداث التكثيف الكروموسومي المبترس إدماج الكريات اللمفاوية مع خلايا مبيض القداد الصيني الفتيلية (بنسبة ٥ : ١) على أن تحتوي على محفز الانقسام الفتيلي في وجود الغليكول المتعدد الإيثيلين. وتستغرق عملية الإدماج أربع دقائق فقط (دقيقة في الغليكول المتعدد الإيثيلين وحده، ثم يضاف الوسط F-10 تدريجياً)، ويحض لمدة ساعة واحدة في وسط كامل مع الكولسيميد في درجة حرارة ٣٧ مئوية [٦٧، ٧٢، ٢٥١].

١١-١-٥- إجراءات التثبيت

يشبه ذلك من حيث المبدأ الأسلوب المستخدم في حالات الأطوار الاستوائية (القسم ٩-٢) مع وجود اختلافات طفيفة في التوقيتات والتركيزات المثلى. وينبغي معالجة الكريات اللمفاوية بمحلول كلوريد البوتاسيوم المنخفض التوتر (0.075M) والاحتفاظ به في حمام مائي دافئ (عند درجة حرارة ٣٧ مئوية) لمدة ٣ أو ٤ دقائق، ويمكن بعد ذلك تثبيت الخلايا بعد إجراء طرد مركزي في خليط من حمض الخليك والميثانول (١ : ٣).

وتجهز الشرائح باستخدام التقنية المعيارية التي لا تختلف عن الطريقة المستخدمة في الفحوص الأخرى التي سبق بيانها (انظر القسم ٩-٢).

١١-١-٦- إجراءات التلوين

يتوقف اختيار تقنية التلوين على نقطة النهاية البيولوجية المراد تحليلها على النحو التالي:

(١) تحليل الانكسارات الكروموسومية المعيارية.

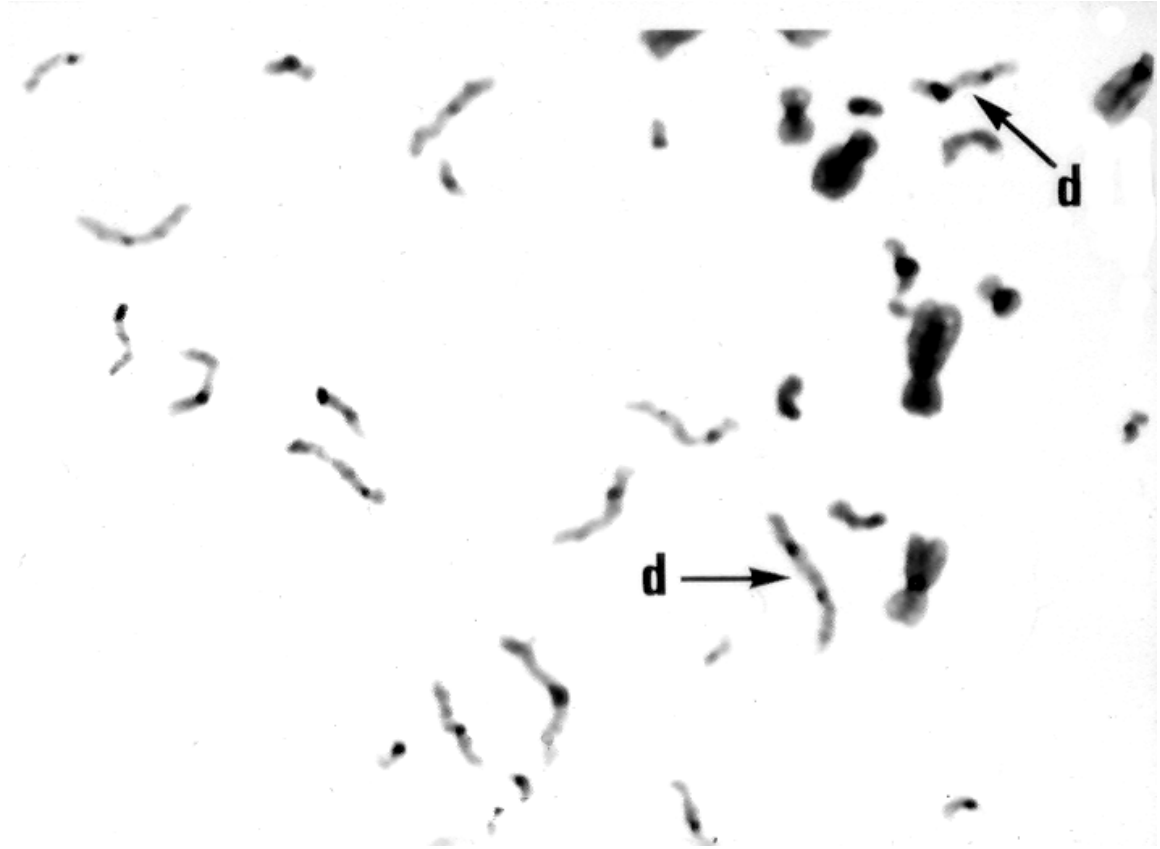
لأغراض تحليل الانحرافات الكروموسومية كانكسارات كروموسومية مستحثة بالإشعاع، يمكن صبغ الشرائح بالغميز التقليدية (Gurr R66 المحسنة) أو تقنية الفلورسين المضاف إلى الغيمزا على النحو المبين من قبل في القسم ٩-٣-٢ (الشكل ٣٥) [٦٧، ٢٥٢]. واستحدث بروتوكول الفلورسين المضاف إلى الغيمزا لاستخدامه في التكثيف الكروموسومي المبترس في الخلايا التي يتداخل فيها تماماً المتممان الكروموسوميان المندمجان. وربما لا يلزم ذلك في تقنية الكريات اللمفاوية المبينة هنا لأن مجموعتي الكروموسومات تبقيان في مجموعتين كما هو مبين في الشكل ٣٥ حيث يمكن ملاحظة إمكانية التمييز بوضوح بين الكروموسومات البشرية الوحيدة الخيط. ومن عيوب التلوين بالفلورسين المضاف إلى الغيمزا أن الكروموسومات تميل إلى الانتفاخ وقد يعرقل ذلك فحص أجزاء التكثيف الكروموسومي المبترس بدقة حيث يمكن للجسيمات المنتفخة الصغيرة المتجاورة أن تتلامس وتبدو كهيكل واحد.



الشكل ٣٥: كروموسومات بشرية متكثفة قبل الألوان في الطور G_0 ومصحوبة ببعض القطع (المشار إليها بالأسهم) المتكونة بأسلوب الاندماج الفتيلى.

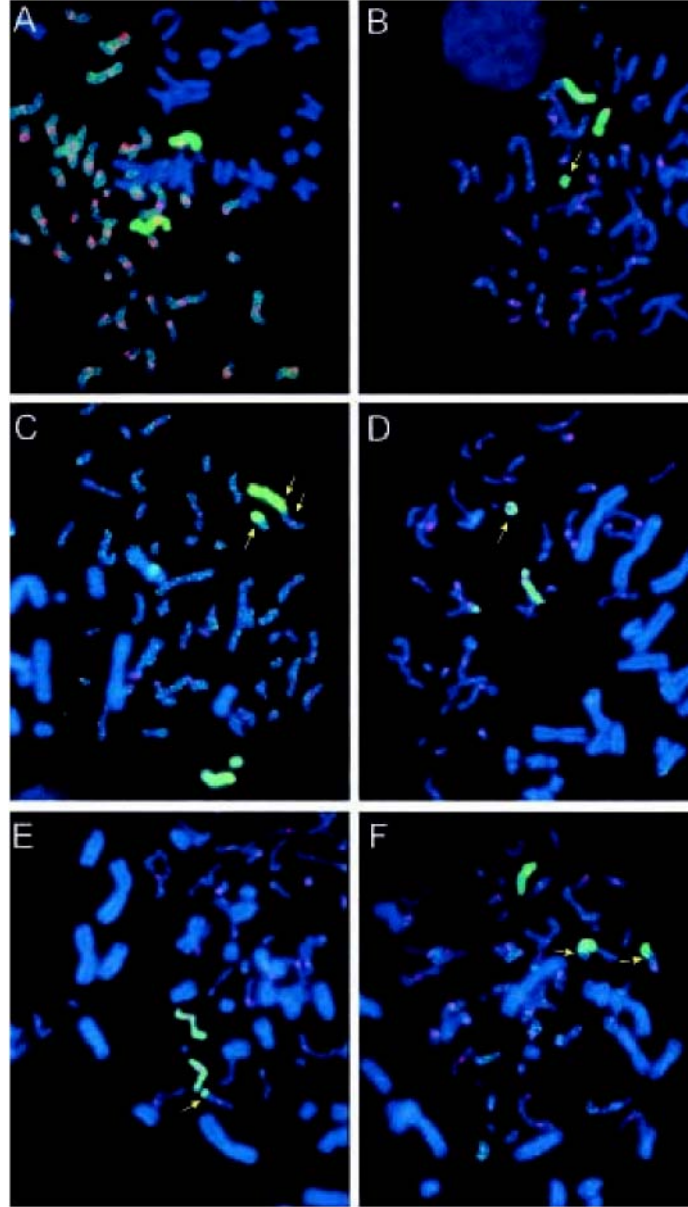
(٢) تحليل ثنائيات القُسَيْم المركزي باستخدام التحزيم الكروموسومي.

بالإضافة إلى الانقسامات الكروموسومية، يمكن أيضاً رؤية ثنائيات القُسَيْم المركزي. ويتطلب ذلك معالجة الشرائح مسبقاً بهيدروكسيد الباريوم ومحلول ملحي (القسم ٩-٣-٣) وتلَوْن بعد ذلك بصبغة غيمزا التي تبرز منطقة القُسَيْمات المركزية في كل الكروموسومات حتى يمكن التمييز بسهولة بين ثنائيات القُسَيْم المركزي وبين الكروموسومات المحتوية على قُسَيْم مركزي واحد (الشكل ٣٦) [٧٩، ٧٠].



الشكل ٣٦: كروموسومات متكثفة قبل الألوان ملونة بأسلوب التحزيم الكروموسومي ويظهر فيها قسيمان مركزيان (d).

(٣) تحليل الانتقال الكروموسومي وثنائيات القسيم المركزي باستخدام فحص التلوين الكروموسومي. يمكن أيضاً تحديد تردد الانتقالات الكروموسومية وثنائيات القسيم المركزي المستحثة بالإشعاع عن طريق التكثيف الكروموسومي المبسر باستخدام تقنية التهجين الموضعي بالفلورسين التي تستخدم فيها مجسّات التلوين الكروموسومي وحدها أو بالاقتران مع المجس الشامل للقسيمات المركزية (الشكل ٣٧). ويتيح هذا المجس الثاني دقة أكبر في التمييز بين الانتقالات الكروموسومية وثنائيات القسيم المركزي [٧٢].



الشكل ٣٧: كروموسومات متكثفة قبل الأوان باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين الثنائي اللون عن طريق الجمع بين التلوين الكروموسومي (رقم ٨) والمجس الشامل لكل القسّمات المركزية في كل الجينوم. وفي المجموعة الضابطة غير المشعة (A) تكثف كروموسومي مبتسر طبيعي. وفي الخلايا المشعة، تشير الأقواس (B) إلى زيادة الانكسارات في الكروموسومات المتكثفة قبل الأوان $ace(b)$ ؛ و (C) ثنائيات القسّم المركزي dic (BA)، وشظية ثنائية اللون، $ace(ba)$ ؛ و (D) حلقة، $r(B)$ ؛ و (E)، و (F) انتقال كروموسومي طرفي، $t(BA)$ و $t(AB)$. [٨]

١١-١-٢- التحليل

معايير تحليل الشرائح تتشابه في جانب منها مع المعايير المبينة في القسم ٩-٤ (أي ترميز الشرائح، ومسح البارامترات، وما إلى ذلك). ويمكن تحديد مكان مسحات الكروموسومات المتكثفة قبل الأوان سواء بالطرق اليدوية أو باستخدام نظم إيجاد الأطوار الاستوائية الآلية التي يشيع استخدامها (القسم ١٣-٣) [٧٥]. ويستصوب تيسير الفحص عن طريق استخدام نظام تسجيل يسمح بتوسيم كل جزء كروموسومي على رسم أو صورة التكثف الكروموسومي المبتسر. ويمكن استخدام أداة ملحقة بالمجهر (كاميرا) لتصوير مسحات التكثفات

الكروموسومية المبتسرة بمقياس رسم أكبر كثيراً وتسجيل العلامات في رسم تصويري. وتجهز بعض نظم إيجاد الأطوار الاستوائية بتطبيقات متخصصة تسمح بوضع شروح على الصور الرقمية. وينبغي تسجيل إحداثيات مرحلة المجهر التي توضع فيها مسحات الكروموسومات المكثفة المبتسرة على الشرائح، وينبغي ألا ينشأ عن أسلوب اختيار مسحات الكروموسومات المكثفة المبتسرة أي تحيزات تشوه ناتج الانحرافات.

ويشمل التحليل تحديد عدد العناصر الكروموسومية التي تبدو كروماتيدات وحيدة يمكن تمييزها بسهولة عن كروموسومات الخلايا الفتيلية لمبيض القداد الصيني في مسحات الكروموسومات المكثفة قبل الألوان في الطور البيني البشري بعد التلوين بصبغة غيمزا. وعندما تستخدم تقنية الفلورسين المضاف إلى غيمزا، تظهر الكروموسومات البشرية مصبوغة بلون داكن بينما يبدو على خلايا مبيض القداد الصيني التي تكون قد نمت في أكثر من دورتين من دورات الخلية في وسط مكمل بصبغة برومو ديوكسي يوريدين تبرقش وتبدو مصبوغة بلون فاتح بدرجة كبيرة (انظر الشكل ٢٢). وعندما يستخدم اختبار التهجين الموضعي بالفلورسين، يمكن استخدام الحمض النووي للقداد cot-1 لإخفاء كل الإشارات في كروموسومات مبيض القداد الصيني حتى تظهر فقط الكروموسومات البشرية الملائمة المكثفة قبل الألوان (الشكل ٣٧).

١١-١-٣- معايير الفحص

يمكن تحديد حالة دورة الخلية بسهولة في الكريات اللفافية وقت معالجتها من خلال مظهرها. وتبدو الخلايا في الأطوار G_1 ، S، و G_2 ككروماتيد وحيد، وككروموسومات مسحوفة وثنائية الكروماتيد على التوالي. ولا تفحص في القياس البيولوجي للجراجات باستخدام المستحضرات الملونة بصبغة غيمزا سوى الخلايا المحتوية على كروماتيدات وحيدة، أي الكريات اللفافية البشرية التي عولجت في الطور G_0/G_1 ، ويمثل كل عنصر كروموسوماً بشرياً واحداً (الشكل ٣٥).

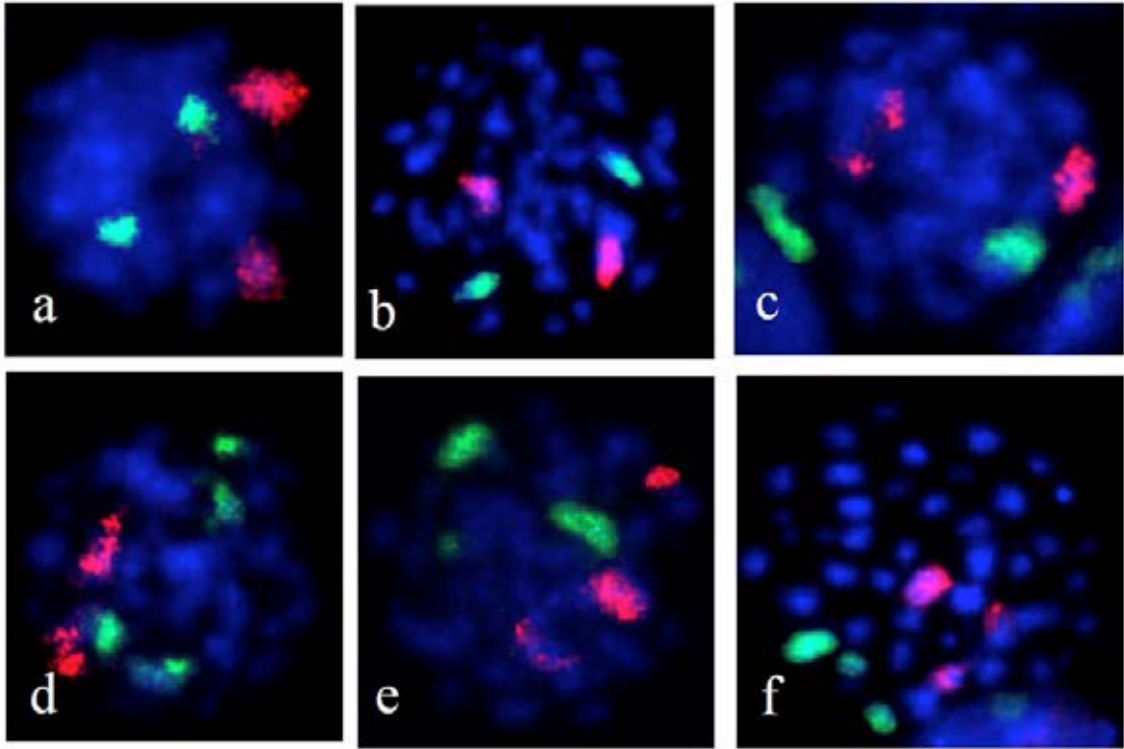
ولذلك يفحص في الكريات اللفافية غير المشعة ٤٦ عنصراً. ويسجل عدد عناصر الكروموسومات في العينات المعرضة، ويقدر التردد المستحث وذلك ببساطة عن طريق طرح القيمة التي يتم الحصول عليها من العينات غير المعالجة. وفي حالات الاشتباه بوقوع تعرضات في أجزاء من الجسم، استحدث أسلوب تحليلي بديل هو أسلوب حاصل التكتفات الكروموسومية المبتسرة، الذي يشمل تحليل ناتج زيادة شظايا التكتفات الكروموسومية المبتسرة في الخلايا المعطوبة (المحتوية على شظايا زائدة من التكتفات الكروموسومية المبتسرة) [٧٥] ويتطابق هذا الأسلوب مع مفهومه مع أسلوب حاصل ثنائيات القسيم المركزي والحلقات الذي استحدثه ساساكي ومياتا (Sasaki and Miyata) [١٤٢] (انظر القسم ٩-٧-٤-٣). وبعد التحزيم الكروموسومي أو استخدام المجس الشامل لكل القسيمات المركزية ومكتبات الحمض النووي المحددة كروموسومياً باستخدام تقنية التهجين الموضعي بالفلورسين، يمكن فحص الشرائح للتأكد من وجود ثنائيات القسيم المركزي و/أو الانتقالات الكروموسومية (انظر الشكل ٣٧) وتسجيلها وتحليلها على النحو المبين في القسمين ٩-٤ و ١٠-٤.

١١-٢-٢- التكتيف الكروموسومي المبتسر باستخدام الحث الكيميائي

١١-٢-١- الفحص السريع لكروموسومات الطور البيني

بهذا الفحص تنتفي الحاجة أيضاً إلى الزرع لمدة طويلة. وتوضع الكريات اللفافية المعزولة عن الدم باستخدام أسلوب الفيكول هايباك (القسم ٩-١-٥-٢) في وسط زرعي يحتوي على دارئ فسفاتازي، مثل حمض الأوكاديك أو الكالسيوم A، وثلاثي فوسفات الأدينوزين ومحلل $p34^{cdc2}$ /كيناز السيكلين B ويوضع في حاضنة درجة حرارتها ٣٧ درجة مئوية لمدة لا تزيد على ٣ ساعات. ويصف براسانا وآخرون (Prasanna et al) [٧٦] البروتوكول الكامل. وتتبع الإجراءات العادية المستخدمة في الأطوار الاستوائية عند التثبيت وإعداد المسحات (كلوريد البوتاسيوم المنخفض التوتر؛ وخليط من الميثانول وحمض الخليك بنسبة ٣: ١؛ ويوضع على شرائح نظيفة).

ويحلل الضرر المستحث بالإشعاع بعد التهجين الموضعي وتلوين الكروموسومات باستخدام الفحص المجهر الفلوري (الشكل ٣٨).



الشكل ٣٨: صور مجهرية تبين الكروموسوم البشري رقم ١ (الأحمر) ورقم ٢ (الأخضر) الملونين بطريقة التهجين الموضعي بالفلورسين في كريات لمفاوية ببنية مشعة بأشعة غاما من مصدر كوبالت - ٦٠ ومصورة باستخدام الفحص السريع لكروموسومات الطور البيني [٧٨]. وتظهر في الصورة خلية طبيعية أنتجت بقعتين حمراوين وبقعتين خضراوين (a و b)، والكروموسوم المنحرف رقم ١ وقد أنتج أكثر من بقعتين حمراوين (c)، والكروموسوم ٢ المنحرف الذي أنتج أكثر من بقعتين خضراوين (d)، وخلايا تحتوي على أكثر من بقعة خضراء وأكثر من بقعة حمراء (e و f) (إهداء من باثك وبراسانا، معهد بحوث البيولوجيا الإشعاعية التابع للقوات المسلحة، الولايات المتحدة الأمريكية).

وتظهر في الخلايا الطبيعية بقعتان متألفتان في كل كروموسوم، بينما يمكن أن تظهر أكثر من بقعتين في الخلايا المحتوية على انحرافات هيكلية (انكسارات وتبادلات) في كروموسوم محدد (كروموسومات محددة) تقابل مجس ملون (مجسات ملونة). ويكفي استخدام مجس كروموسومي كبير وحيد في القياس البيولوجي للجرعات [٧٦]. على أن استخدام أكثر من مجس كروموسومي يحسن الحساسية [٧٨].

١١-٢-٢- اختبار حلقات التكتف الكروموسومي المبتر

تشمل أساليب التكتف الكروموسومي المبتر المستحث كيميائياً في القياس البيولوجي للجرعات إجراءً بسيطاً ومفيداً يتمثل في فحص الحلقات في كروموسومات الملونة بالغيمزا. على أن هذه التقنية تتطلب زرع الكريات اللمفاوية، ويوصي الأسلوب الذي بينه كاندا وآخرون (Kanda et al) [٦٨] إجراء مزارع تستغرق ٤٨ ساعة. ولذلك فإن هذا الأسلوب لا يوفر وقتاً، ولكن فحص حلقات التكتف الكروموسومي المبتر تنطبق بشكل خاص على الجرعات الزائدة القوية في النطاقات التي تكشف فيها الجرعة والاستجابة في الفحص التقليدي لثنائيات القسيم المركزي عن علامات تشبع. وجرت معايرته واستخدامه مع الجرعات التي تصل إلى ٢٠ غراي من مكافئ الأشعة السينية. وتزداد في هذه الجرعات ثنائيات القسيم المركزي والقطع المستحثة بالقدر الذي يتعذر معه إجراء فحص يمكن الوثوق به. على أن الحلقات في الكريات اللمفاوية تستحث عند ترددات أقل كثيراً تصل في كثير من الأحيان إلى ١٠ في المائة من تردد ثنائيات القسيم المركزي، وهو ما يجعل فحص الحلقات نقطة نهاية ممكنة عملياً بعد التعرض لجرعات قوية للغاية.

١١-٢-١- زرع الخلايا والمعالجة الكيميائية وإعداد الشرائح

يتضمن المرفق الثالث بروتوكولاً مفصلاً يتناول ذلك بالوصف التفصيلي.

إعداد المواد الكيميائية

ينبغي إعداد مثبطات فسفرة الحمض النووي، من قبيل حمض الأوكاديك أو الكالسيوم A. وتتسبب هذه المواد الكيميائية في الإصابة بالسرطان، ولذلك ينبغي اتخاذ احتياطات الأمان الملائمة عند التعامل معها. ويمكن أن يستحث الكالسيوم A التكثف الكروموسومي المبتسر بفعالية تزيد ٢٠ مرة على حمض الأوكاديك بالرغم من احتمال تشابههما في آليات حث التكثف الكروموسومي المبتسر نظراً لتبعية الجرعة والتشكل الكروموسومي الناشئ. ويذاب حمض الأوكاديك أو الكالسيوم A في ثنائي ميثيل أكسيد الكبريت (DMSO) بعد تخفيفه بمحلول الوسط وتخزينه في درجة حرارة ٢٠ درجة مئوية كمحلول مركز (يتراوح مثلاً بين ٥ و ١٠ ميكرو مولار).

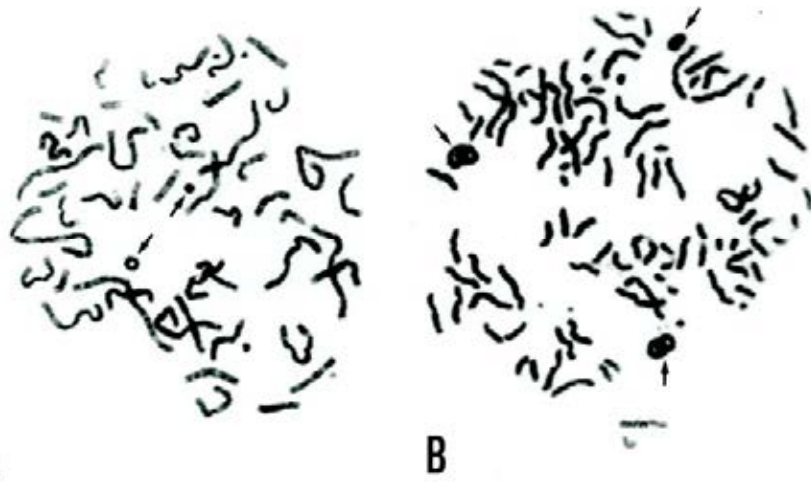
المزرعة

يتطلب التكثف الكروموسومي المبتسر المستحث كيميائياً في الكريات للمفاوية عموماً تدوير الخلايا. ولذلك فإن الإجراء يبدأ بتحفيز الفيتوهيماغلوتينين وزراعة الخلايا لمدة ٤٨ ساعة باستخدام أسلوب مماثل للأسلوب المبين في القسم ٩-١ للحصول على الأطوار الاستوائية. وبالرغم من أن التكثف الكروموسومي المبتسر يمكن حثه في مزارع الدم الكامل فإن عزل الكريات للمفاوية يساعد على تجهيز مستحضرات أنظف والحصول على الكثير من الخلايا (حسب ما هو مبين في القسم ٩-١-٥-٢). وبالتالي يستصوب كثيراً عزل الكريات للمفاوية، خاصة في حالة التعرض لجرعات قوية للغاية.

والبروتوكول المعياري لحث التكثف الكروموسومي المبتسر يبدأ بإضافة حمض الأوكاديك (٥٠٠ نانو مولار) أو الكالسيوم A (٢٠-٥٠ نانو مولار) إلى المزرعة في الساعة الأخيرة، وسوف ينشأ عن ذلك خليط من خلايا التكثف الكروموسومي المبتسر في كل مراحل دورة حياة الخلية الأولى. على أن فعالية المواد الكيميائية قد تتوقف على ظروف المزرعة ونوعية العقاقير. وينبغي تحديد التركيز وفترة المعالجة المثلى على أساس ما تبديه الخلايا من تكثف كروموسومي ميكروموسومي التشكل الكروموسومي في كل مختبر. ويسفر عدم كفاية المعالجة عن نقص الخلايا القابلة للتحليل بينما تؤدي المعالجة الزائدة إلى كروموسومات غير واضحة وشديدة التكثف. ولا تختلف إجراءات التثبيت وإعداد الشرائح والتلوين بصبغة غيمزا عن الإجراءات المتبعة في الأساليب المستخدمة مع الأطوار الاستوائية.

١١-٢-٢- معايير الفحص

تتراوح معظم الخلايا القابلة للتحليل في مزرعة كريات لمفاوية معرضة لإشعاعات قوية بين الطور G_2 المتأخر والطور الاستوائي عندما تكون مدة المزرعة ٤٨ ساعة. وقد يحدث تلوث في خلايا الطور الاستوائي في حالات التعرض لجرعات ضعيفة. ومقارنة بمظهر الكروموسومات الحلقية في مسحات خلايا الطور الاستوائي (الشكل ١١)، تكون حلقات التكثف الكروموسومي المبتسر في الطور G_2 المتأخر والطور الاستوائي (الشكل ٣٩ A) ضيقة ويسهل ذلك بالتالي التعرف عليها. ولذلك تفضل هذه الخلايا في فحص حلقات التكثف الكروموسومي المبتسر. ويمكن تمييز خلايا الطور G_2 المتأخر وخلايا الطور الاستوائي عن طريق إضافة أو فصل الكروماتيدات الشقيقة على التوالي (الشكل ٣٩ B).



الشكل ٣٩: أمثلة تبين التكتف الكروموسومي المبتسر المستحث بحمض الأوكاديك في كريات لمفاوية مشعة في أطوار مختلفة من دورة حياة الخلية. ويظهر في الصورة (A) خلايا التكتف الكروموسومي المبتسر في الطورين G2/الاستوائي، و (B) خلايا التكتف الكروموسومي المبتسر في الطورين الاستوائي/الانفصالي وتظهر عليها كروماتيدات شقيقة منفصلة. وتشير الأقواس إلى الكروموسومات الحلقية [٦٨].

ولا تختلف ترددات حلقات التكتف الكروموسومي المبتسر اختلافاً كبيراً عن خلايا الطور G₂ المتأخر وخلايا الطور الاستوائي ويمكن تجميع هذه البيانات.

وبفحص كروموسوم دائري الشكل باعتباره حلقة من حلقات التكتف الكروموسومي المبتسر. ولا يمكن رؤية القسّمات المركزية بوضوح في خلايا التكتف الكروموسومي المبتسر الملونة بالغيمزا فقط وبالتالي لا تصنف حلقات التكتف الكروموسومي المبتسر إلى أشكال مركزية أو لا مركزية.

ومثلما في حالة ثنائيات القسّم المركزي (القسم ٩-٧-٤-٣)، يتيح توزيع حلقات التكتف الكروموسومي المبتسر بين الخلايا بالمقارنة مع التوزيع البواسوني بعض المعلومات المتعلقة بتجانس التعرض لإشعاع ذي انتقال خطي منخفض للطاقة أو نوعية الإشعاع الذي ينطوي عليه الحادث. وفي حالات من قبيل تأخر الكشف عندما توجد فجوة زمنية بين التشعيع وأخذ عينات الدم، ينبغي استخدام حسابات العمر النصفى لتعديل الناتج الملحوظ حتى يمكن الحصول على تقدير وتردد الحلقات الأصلية. ولا يوجد حالياً سوى نزر يسير من البيانات المؤكدة التي تؤيد ذلك. على أن دراسات متابعة الوراثة الخلوية في أحد الناجين من حادث توكاي - ميورا أشارت إلى أن العمر النصفى بلغ نحو ٨,٧ من الأشهر [٢٥٣].

١١-٣- فحص حادث إشعاعي باستخدام أسلوب حلقات التكتف الكروموسومي المبتسر

سرعان ما بات ممكناً عقب نشر تقنيات حلقات التكتف الكروموسومي المبتسر [٦٨] إجراء معايرة داخل المختبر بأشعة سينية فلطينها ٢٠٠ كيلو فلت لفحص حادث إشعاعي خطير باستخدام أسلوب إحداث التكتفات الكروموسومية المبتسرة بحمض الأوكاديك. وأجري القياس البيولوجي للجرعة لدى ثلاثة من الضحايا المعرضين لإشعاعات خطيرة في حادث حرجية توكاي - ميورا الذي وقع في اليابان في عام ١٩٩٩ [٢٥٤].

وتم الحصول على ترددات الحلقات في كل ١٠٠ خلية من العينات بعد تسع ساعات من وقوع الحادث، وبلغت الترددات ١٥٠، ٧٧، و ٢٤، وأفضت هذه الترددات على التوالي إلى تقديرات للجرعات بلغت أكثر من ٢٠، و ٧,٤ (حد ثقة ٩٥ في المائة)، و (٦,٥ - ٨,٢) و ٢,٣ (٨,١ - ٢,٨) مكافئ الغراي. وينبغي ألا يغيب عن الأذهان أن التعرضات نجمت عن مزيج من مجال غاما وإشعاعات نيوترونية، ومن غير الملائم قياس الجرعة المكافئة بالسيفرت (القسم ٢) في تلك الجرعات القوية لأنها تستند إلى تقديرات مخاطر التأثيرات العشوائية للجرعات الضعيفة. وحُدّدت على وجه الخصوص جرعة العضو المرجحة بالفعالية البيولوجية النسبية لتمييز

التعرض لجرعات قوية باعتباره ناتجاً عن جرعة ممتصة في العضو والفعالية البيولوجية النسبية من أجل تقييم بداية حدوث تأثيرات صحية قطعية [١٥]. وتصل الفعالية البيولوجية النسبية في ٢٠٠ كيلو سيفرت من الأشعة السينية إلى ١، ووحدة الجرعة المرجحة بالفعالية البيولوجية النسبية هي جول لكل كيلو غرام^١ ويطلق عليها في المرجع [١٥] مكافئ الغراي (Gy-Eq). وتسنى في حالة الشخص المعرض لأقوى جرعة إجراء تقريب إلى أكثر من ٢٠ من مكافئات الغراي لأن المعايير المنشورة [٦٨] التي أجريت داخل المختبر كشفت عن انحسار (تشبع) في منحنى الجرعة - الاستجابة الخطي التربيعي في جرعات الجسم بكامله المرجحة بالفعالية البيولوجية النسبية بما يقترب من ٢٠ من مكافئات الغراي في ٢٠٠ كيلو سيفرت من الأشعة السينية (أو ٢٠ غراي من الجرعة الممتصة في الجسم بكامله حيث الفعالية البيولوجية النسبية = ١).

وأجريت أيضاً تحليلات موازية لعينات الدم باستخدام الفحص التقليدي للكروموسومات ذات القسيمين المركزيين والحلقات المركزية (dic+rc) في الأطوار الاستوائية. وبالنظر إلى وقوع تلك التعرضات القوية وما أعقبها من هبوط سريع في عدد الكريات اللمفاوية الطرفية، فقد زُرعت الخلايا باستخدام أسلوب يحقق يزيد إلى أقصى حد أرجحية الحصول على أطوار استوائية [١٢٣]. ويتم في هذا الأسلوب تركيز الكريات اللمفاوية باستخدام عمود الفيكول هابيك، وهو يشبه الأسلوب المبين في القسم ٩-١-٥-٢. ونتج عن ذلك في المريض الأكثر تشععاً، ٧١٥ من ثنائيات القسيم المركزي و١٨٨ حلقة مركزية + حلقات عديمة القسيم المركزي في ٧٨ خلية في الحالات التي تعرض فيها كل طور استوائي للضرر. وبلغت النواتج المقابلة في الشخصين الآخرين ٤٧٩ ثنائياً من ثنائيات القسيم المركزي، و٥٥ حلقة في ١٧٥ خلية و ١٩١ من الكروموسومات ذات القسيمين المركزيين والحلقات في ٣٠٠ خلية. ويلخص الجدول ١٤ المأخوذ عن المرجع [٢٥٥] التقديرات الناتجة باستخدام الأساليب الوراثة الخلوية وكذلك عن طريق القياسات الفيزيائية التي استخدمت فيها تحليلات تنشيط الصوديوم.

الجدول ١٤: مقارنة الجرعات المقدرة بمختلف المؤشرات

المريض	الحلقات، تكثفات كروموسومية مبتسرة	ثنائيات القسيم المركزي	ثنائيات القسيم المركزي + الحلقات/الحلقات المركزية	الجرعة المقدرة في الجسم بكامله والمرجحة بالفعالية البيولوجية النسبية (مكافئ الغراي) ^١ عن طريق ما يلي ^{٢٤} Na
A	أكبر من ٢٠	٢٢,٦	٢٤,٥	٢٤-١٧
B	٧,٤ (٨,٢-٦,٥)	٨,٣	٨,٣	١٣-٨,٧
C	٢,٣ (٢,٨-١,٨)	-	٣,٠ (٣,٢-٢,٨)	٣,٦-٢,٥

^١ حددت القيمة ١ للفعالية البيولوجية النسبية في حالة الأشعة السينية (المريض ألف وباء) أو أشعة غاما (المريض جيم).

^٢ إشيغور وآخرون (Ishigure et al.) [٢٥٥]، حيث تقدر الفعالية البيولوجية النسبية للنيوترونات بما يتراوح بين ١,٥ و ٢.

١٢ - فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي

١٢-١- الخلفية

يتسبب الإشعاع المؤين في تكوين شظايا كروموسومية عديمة القسيم المركزي (غير محتوية على قسيمات مركزية) وكذلك، بدرجة محدودة، سوء فصل الكروموسومات الكاملة. وتتأخر القطع الكروموسومية العديمة القسيم المركزي والكروموسومات غير الكاملة القادرة على التفاعل مع المغزل عن الطور الانفصالي، ونتيجة لذلك فإنها لا تُدرج ضمن النوى الوليدة الرئيسية وتشكل القطع الكروموسومية المتأخرة أو الكروموسوم الكامل نواة منفصلة صغيرة، ومن هنا جاءت تسمية المصطلح بالنوية.

وكان كنتريمان وهدل (Countryman and Heddle) [٨٢] أول من تناولوا بالوصف فحص نويات الكريات اللمفاوية في الدم الطرفي عن طريق استخلاص النويات في مزارع الكريات اللمفاوية التي تستغرق فترات قصيرة. على أن هذا الأسلوب الأصلي لم يحاول تحديد ما إذا كانت الخلايا المفحوصة قد أتمت بالفعل انقسامها النووي في ظروف المختبر وبالتالي أصبح هذا الاختبار غير موثوق لأن الضرر الكروموسومي في الخلايا لا يمكن استخلاصه إلا كنويات إذا انقسمت الخلايا. واستحدث في نهاية المطاف نهج أكثر موثوقية على أساس استخدام مثبط حركة الخلايا سايتوكالاسين B. وتمكن فينيس ومورلي (Fenech and Morley) باستخدام مثبط حركة الخلايا B أن يثبتا في عام ١٩٨٥ [٨٣، ٨٤] أن الخلايا التي تكمل انقساماً واحداً يمكن مراكمتها والتعرف عليها كخلايا ثنائية النواة. ويمكن بعد ذلك فحص النويات تحديداً وبكفاءة في هذه الخلايا الثنائية النواة في نفس الوقت الذي تستبعد فيه الخلايا الأحادية النواة غير المنقسمة التي تعذر استخراج نوياتها داخل المختبر (الشكل ١٩). وبالتالي فإن النتائج التي يتم التوصل إليها باستخدام هذا الاختبار لا تتأثر بتفاوت ترددات الخلايا المنقسمة من فرد لآخر ومن تجربة لأخرى، وهو ما تبين أنه يؤثر تأثيراً قوياً على التردد الملحوظ في النويات [٨٤، ٢٥٦، ٢٥٨]. وأصبح فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي الأسلوب المعياري المتبع في قياس النويات في الكريات اللمفاوية المستزرعة.

والكريات اللمفاوية التي تجمع من عينة الدم هي نفسها ناتجة عن انقسامات خلوية في الجسم الحي. ولذلك يمكن توقع احتواء بعضها بالفعل على نويات. وتبين بالتالي أن فحص النويات في الكريات اللمفاوية الأحادية النواة من خلال فحوص الدم التقليدية يمكن أن يساعد بشكل خاص في رصد الضرر الوراثي لدى المجموعات المعرضة بصورة مزمنة [٢٥٩-٢٦٣]. وعلاوة على ذلك يمكن أيضاً استخدام فحص نويات الخلايا الأحادية النواة كبارامتر في فحص نويات النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي [٢٦٢، ٢٦٣].

واستحدث في تسعينات القرن الماضي فحص القسيمات المركزية في النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي باستخدام التجهيز الموضعي بالفلورسين والمجس الشامل لكل القسيمات المركزية لتصوير القسيمات المركزية. ويسمح هذا الأسلوب بالتمييز بين النويات المحتوية على شظايا عديمة القسيم المركزي وكروموسومات كاملة [٢٦٣-٢٦٧، ٨٥، ٦٩]. وتطبيق هذا الأسلوب فإن حساسية فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي يمكن زيادتها زيادة كبيرة في نطاق الجرعات المنخفضة [٨٥، ٢٦٦، ٢٦٧] (انظر القسم ١٢-٤-٢).

واستحدثت مؤخراً نسخة أشمل من هذا الفحص تعرف باسم فحص سايتوم النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي وتم التحقق منها [٨٦]، ويشمل هذا الفحص، إلى جانب نويات الخلايا الثنائية والأحادية النواة، قياس جسور هيولي النواة (الشكل ١٩ C) والبراعم النووية في الخلايا الثنائية النواة التي تعتبر علامات بيولوجية لثنائيات القسيم المركزي [٨٩] وتضخم الجينات [٨٦] على التوالي. وعلاوة على ذلك، يشمل فحص سايتوم النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي نسبة الخلايا الأحادية النواة والثنائية النواة والمتعددة النوى فضلاً عن الخلايا النخرية وخلايا الموت الميرمج، ويتيح ذلك قياس الانتشار الخلوي وموت الخلايا الذي يمكن أن يساعد أيضاً في قياس الجرعات بيولوجياً [٨٨، ٢٦٨].

ويمكن أيضاً فحص النويات في الكريات الحمراء كعلامة بيولوجية تدل على حدوث عطب كروموسومي، مع ملاحظة أن هذا الأسلوب ينطوي على حد أعلى للكشف قدره ١ غراي، ويتعين جمع العينات في أقرب وقت ممكن بعد التعرض بسبب تثبيط تكون الكريات الحمراء. وأدخلت مؤخراً تعديلات على اختبار

نويات الجسم الحي في قياس الكريات الحمراء لدى الفئران الناضجة لاستخدامها في البشر عن طريق تقييم فحص النويات كي يقتصر على تحويل الخلايا الشبكية الموجبة المستقبلية (Tf-Ret; CD71) [٢٦٩]. ويكشف تقييم اختبار الخلايا الشبكية لدى المرضى الذين يعالجون باليود المشع من سرطان الغدة الدرقية عن أن هذا الأسلوب يمكن أن يفيد في رصد الأفراد بعد الاشتباه في تعرضهم لإشعاع عارض [٢٧٠، ٢٧١].

١٢-٢- زرع الكريات اللمفاوية لاستخدامها في فحوص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي

يشبه أسلوب زرع الكريات اللمفاوية الأسلوب المبيّن في القسم ٩-١ للحصول على الأطوار الاستوائية. على أن الفروق الرئيسية بين الأسلوبين تكمن في الآتي: (١) 'يضاف الساييتوكالاسين B إلى المزرعة بعد ٢٤ أو ٤٤ ساعة (يفضل بعد ٢٤ ساعة عند إجراء قياس بيولوجي للجرات الإشعاعية من أجل ضمان الاقتصاد على خلايا الانقسامات الأولى)'، (٢) 'لا يستخدم برومو ديوكسي يوريدين، والكولسيميد، (٣) تمديد فترة المزرعة إلى ٧٢ ساعة وتعديل المعالجة المنخفضة التوتر وعمليات التثبيت والطرز المركزي للحفاظ على هيولي الخلية حتى يمكن التعرف بسهولة على الخلايا الثنائية النواة. وتستخدم تقليدياً صبغة غيمزا في حالات الفحص المجهرى الخفيف أو تستخدم صبغة فلورية مثل الأكريدين البرتقالي في الفحص المجهرى الفلوري. ويمكن أيضاً زيادة تحسين المستحضرات لإبراز القسيمات المركزية باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين والمجس الشامل لكل القسيمات المركزية. وترد البروتوكولات المفصلة في المرفق الرابع.

١٢-٣- معايير فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي

نُشرت معايير الفحص المفصلة المتعلقة بكل العلامات البيولوجية في فحص الساييتوم [٨٦]. ويقتصر هذا القسم على معايير فحص النويات وجسور هيولي النواة في الخلايا الثنائية النواة لأنها أفضل العلامات البيولوجية التي يمكن استخدامها في القياس البيولوجي لجرات الإشعاعات المؤينة.

١٢-٣-١- معايير اختيار الخلايا الثنائية النواة التي يمكن فحصها لقياس تردد نوياتها

ينبغي أن تتسم خلايا التي يتوقف فيها انقسام هيولي النواة التي يراد فحصها لقياس تردد النويات بالخصائص التالية (الشكل ١٩):

- (أ) ينبغي أن تكون ثنائية النواة (BN).
- (ب) ينبغي أن يكون للنواتين في الخلية الثنائية النواة غشاءان نوويان سليمان داخل نفس حدود هيولي الخلية.
- (ج) ينبغي أن تكون النواتان في الخلية الثنائية النواة متساويتين تقريباً في الحجم ونمط التلوين وشدة التلوين.
- (د) يجوز أن تكون النواتان في الخلية الثنائية النواة منفصلتين ويمكن أن تكونا متصلتين بواحد أو أكثر من جسور الهيولي النووي الدقيق، بحيث لا يزيد عرضها عن ربع قطر النواة.
- (هـ) يمكن أن تكون النواتان الرئيسيتان في الخلية الثنائية النواة متلامستين، وإن كان من المثالي ألا يحدث تداخل بينهما. ويمكن فحص الخلية المحتوية على نواتين متداخلتين فقط إذا تعذر التمييز بين حدود النواة في أي من النواتين.
- (و) ينبغي أن يكون حد الهيولي الخلوي أو غشاء الخلية الثنائية النواة سليماً ويمكن تمييزه بوضوح عن حدود الهيولي الخلوي في الخلايا المجاورة.

١٢-٣-٢- معايير فحص النويات

تتطابق النويات من حيث الشكل مع النوى الرئيسية ولكنها أصغر منها (الشكل ١٩). وتتميز أيضاً بالخصائص التالية:

- (أ) يتراوح في العادة قطر النوية في الكريات اللمفاوية البشرية بين ١/١٦ و ١/٣ من متوسط قطر النواة الرئيسية، ويقابل ذلك ١/٢٥ و ١/٩ من مساحة نواة رئيسية واحدة في خلية ثنائية النواة على التوالي.
- (ب) النويات غير قابلة للكسر وبالتالي يمكن تمييزها بسهولة عن الجسيمات الاصطناعية، مثل جسيمات التلوين.

- (ج) النُويَّات غير مرتبطة أو متصلة بالنوى الرئيسية.
- (د) النُويَّات يمكن أن تلمس النوى الرئيسية ولكنها لا تتداخل معها، ويمكن التمييز بين حدود النويات وحدود النوى.
- (هـ) لا تختلف في العادة كثافة تلوين النُويَّات عن كثافة تلوين النوى الرئيسية ولكن التلوين قد يكون أكثر كثافة في بعض الأحيان.
- ويبين الجدول ١٥ نسقاً بسيطاً لإحدى صحائف بيانات تسجيل النُويَّات.
- الجدول ١٥: نسق صحيفة تسجيل نتائج فحص النُويَّات في المزارع المزودة (١ و ٢) من عينة دم وحيدة
- رقم العينة:
الفاحص:
التاريخ:

رقم الشريحة	توزيع نويات في الخلايا الثنائية النواة							مجموع عدد الخلايا الثنائية النواة	مجموع عدد النُويَّات
	لا توجد نويات	نُويَّة واحدة	نويتان	٣ نويات	٤ نويات	٥ نويات	أكثر من ٥ نويات		
١								٥٠٠	
٢								٥٠٠	
٢ + ١								١٠٠٠	
ملاحظات:									

١٢-٣-٣- معايير فحص جسور هيولي نواة الخلية

جسر هيولي نواة الخلية (NPB) هو هيكل مستمر يحتوي على الحمض النووي ويربط بين النوى في الخلية الثنائية النواة. وينشأ جسر هيولي النواة عن ثنائيات القسيم المركزي (الناجمة عن سوء إصلاح انكسارات الحمض النووي أو اندماج نهايات القسيمات الطرفية) وتتجه فيها القسيمات المركزية نحو الأقطاب العكسية في أثناء الطور الانفصالي (الشكل ١٩ ألف وجيم). وتتميز هذه الجسور بالخصائص التالية:

- (أ) قد يتفاوت اتساع جسر هيولي نواة الخلية تفاوتاً كبيراً ولكنه لا يتجاوز في العادة ٤/١ قطر النوى داخل الخلية.
- (ب) ينبغي أن يكون لجسر هيولي نواة الخلية نفس خصائص التلوين التي تتميز بها النوى الرئيسية.
- (ج) يمكن أن يلاحظ في حالة نادرة أكثر من جسر من جسور هيولي النواة داخل خلية واحدة ثنائية النواة.
- (د) يمكن أن تحتوي الخلية الثنائية النواة التي يوجد بها جسر من جسور هيولي نواة الخلية نُويَّة واحدة أو أكثر.
- (هـ) يمكن أيضاً ملاحظة خلايا ثنائية النواة بها جسر واحد أو أكثر ولا توجد بها أي نويات.
- ويبين الشكل ١٦ نسقاً بسيطاً لإحدى صحائف بيانات تسجيل جسور هيولي نواة الخلية.

الجدول ١٦: نسق صحيفة تسجيل نتائج فحص جسور هيولي نواة الخلية في المزارع المزدوجة (١ و ٢) من عينة دم وحيدة

رقم العينة:
الفاحص:
التاريخ:

رقم الشريحة	توزيع جسور هيولي نواة الخلية في الخلايا الثنائية النواة							مجموع عدد الخلايا الثنائية النواة	مجموع عدد جسور هيولي نواة الخلية
	لا توجد أي جسور	جسر واحد	جسران	٣ جسور	٤ جسور	٥ جسور	أكثر من ٥ جسور		
١								٥٠٠	
٢								٥٠٠	
٢ + ١								١٠٠٠	

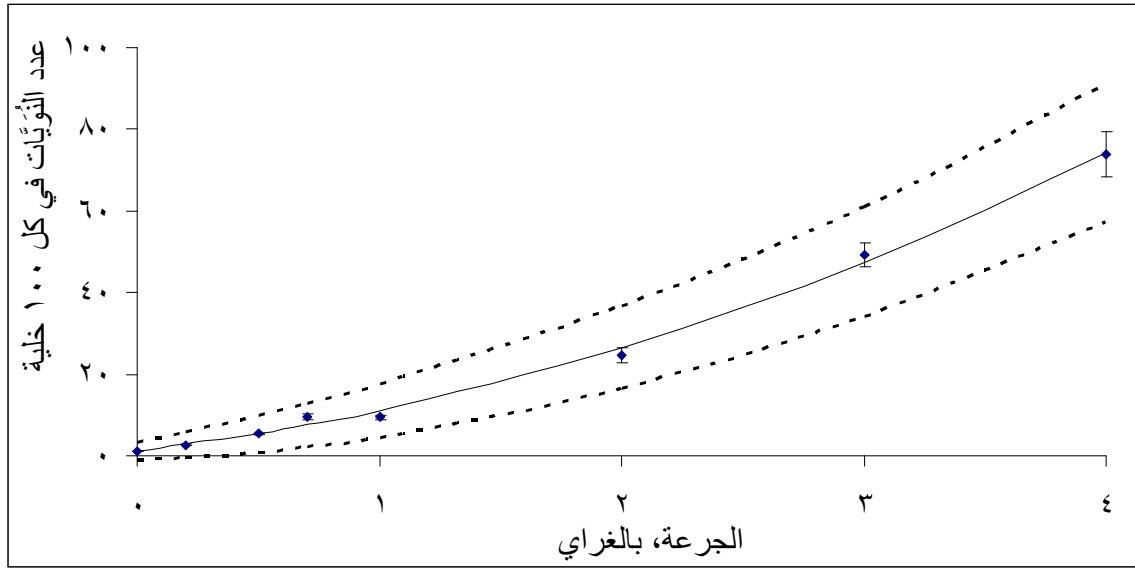
ملاحظات:

وقد يكون من الأصعب فحص جسور الهيولي في الخلايا الثنائية النواة التي تحتوي على نوى متماسة، ولذلك من المعقول تحديد ما إذا كان جسر الهيولي قد فحص في كل الخلايا الثنائية النواة بغض النظر عن قرب النوى داخل الخلية الثنائية النواة أو ما إذا كانت النوى قد فُحصت على حدة في تلك الخلايا الثنائية النواة التي يوجد فيها انفصال واضح بين النوى والخلايا الثنائية التي تحتوي على نوى متماسة. ولا توجد حتى الآن أدلة كافية تثبت استصواب فحص جسور الهيولي وحدها في الخلايا الثنائية النواة التي لا يحدث فيها تلامس بين النوى.

١٢-٤- معالجة بيانات فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي

١٢-٤-١- الجرعة - الاستجابة

لا تختلف إجراءات إعداد منحنيات معايرة الجرعة والاستجابة داخل المختبر عما جاء بيانه في القسم ٨. وكشفت دراسات كثيرة عن أن عدد النويات المستحثة بالإشعاع يرتبط ارتباطاً قوياً بالجرعة الإشعاعية ونوعية الإشعاع [٨٧، ٢٧٢ - ٢٧٥]. على أنه بالنظر إلى وجود اختلافات بين المختبرات في عدد النويات المرتبطة بالجرعة والاستجابة بسبب اختلاف البروتوكولات ومعايير الفحص وما إلى ذلك، ينبغي لأي مختبر يعتزم إجراء قياس بيولوجي للجرعات، مثلما في الفحوص الأخرى المبيّنة في هذا المنشور، أن يعد منحنيات معايرة الجرعة والاستجابة المختبرية الخاصة به. ومن المثالي استخدام ما لا يقل على ٨ جرعات في نطاق ٥ غراي. وتستخدم الإجراءات المبيّنة في القسم ٨ لتوفيق المنحنيات اعتماداً على النماذج الخطية (الإشعاع ذو الانتقاد الخطي المرتفع للطاقة) والخطية - التربيعية (الإشعاع ذو الانتقال الخطي المنخفض للطاقة). ويبين الشكل ٤٠ أحد الأمثلة النمطية لمنحنى الجرعة والاستجابة للنويات في الإشعاعات ذات الانتقال الخطي المنخفض للطاقة (أشعة غاما من مصدر كوبالت - ٦٠ بمعدل جرعة ٠,٥ غراي/دقيقة).

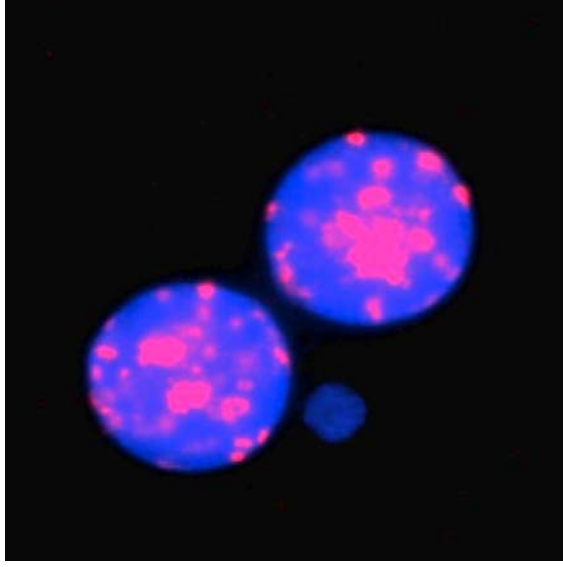


الشكل ٤٠: منحنى الجرعة والاستجابة النمطي الخطي التربيعي الخاص بالنويات في أشعة غاما من مصدر كوبالت - ٦٠. المنحنى المتصل: بيانات مجمعة من ٤٧ متبرعاً المنحنيات المتقطعة: حدود الثقة العليا والدنيا ٩٥ في المائة.

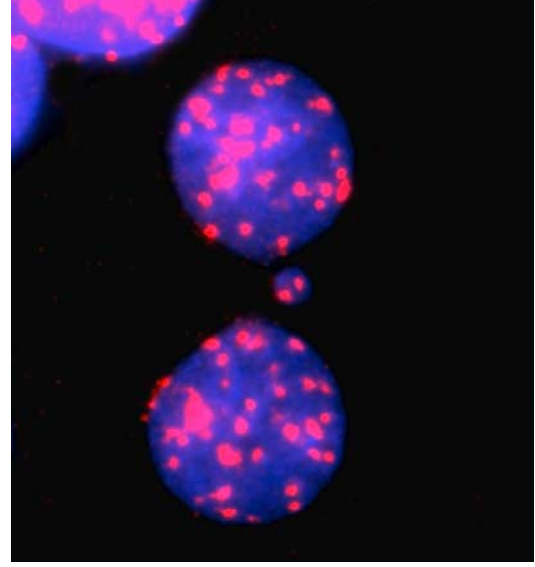
١٢-٤-٢- تردد الخلفية

يشار إلى أن تردد خلفية النويات متغير بدرجة كبيرة؛ وسجلت قيم تراوحت بين صفر و ٤٠ في كل ١٠٠٠ خلية ثنائية النواة [٢٥٧-٢٨٦]. ويمثل العمر ونوع الجنس [٨٤، ٢٧٧] أهم عاملين مؤثرين على تردد خلفية النويات إلى جانب العوامل الغذائية [٢٧٦] والتعرض لنطاق واسع من العوامل البيئية التي تؤدي إلى تكسير الكروموسومات (كلاستوجين) والعوامل التي تؤدي إلى اختلال الصيغة الكروموسومية (أنيوجين).

وكشفت دراسات الرصد البيولوجي الواسعة النطاق عن أن نواتج النويات الآلية تزداد بانتظام مع تقدم العمر. وسُجلت في مجموعة ضابطة من الذكور قيم تراوحت بين ٠,٣٥ نُويّة في كل ١٠٠٠ خلية ثنائية النواة سنوياً، و ٠,٤٤ نُويّة في كل ١٠٠٠ خلية سنوياً على التوالي في دراسة شملت عاملين في محطة قوى نووية ومستشفى [٢٧٨-٢٨٠]. وتتفق هذه القيم مع الدراسة الواسعة النطاق التي أجراها فينيش (Fenech) [١٠٨] للمتغيرات المؤثرة على ترددات النويات الأساسية حيث بلغت ٠,٣١ نُويّة في كل ١٠٠٠ سنوياً. وسُجلت في مجموعة ضابطة من الإناث زيادة أكبر بلغت ٠,٥٨ نُويّة في سنوياً [٢٧٩]، وتتفق هذه الزيادة مرة أخرى مع دراسة فينيش [١٠٨] التي سُجلت ٠,٥٢ نُويّة في كل ١٠٠٠ سنوياً. وكشف التحليل الذي أجري للنويات للتعرف على وجود فُسَيْمات مركزية عن طريق استخدام المجس الشامل لكل الفُسَيْمات المركزية من خلال التهجين الموضعي بالفلورسين (الشكل ٤١) عن أن زيادة ترددات النويات الأساسية بزيادة العمر يمكن أن ترجع كلياً تقريباً إلى النويات الموجبة من حيث الفُسَيْمات المركزية، وهو ما يعبر عن زيادة فقدان الكروموسومات بتقدم العمر [٢٦٦، ٢٧٩، ٢٨٠].



(a)



(b)

الشكل ٤١: خلايا ثنائية النواة تظهر فيها نوية سلبية القسيم المركزي (a) ونوية موجبة القسيم المركزي (b). وصبغت القسيمات المركزية بمجس شامل (الطيف البرتقالي) وصبغت النوى والنويات بلون مابين باستخدام طريقة دابي.

والكروموسوم X هو المسؤول وحدة تقريباً عن فقدان الكروموسومات تلقائياً [٢٨١، ٢٨٢]. ويفسر ذلك أيضاً اختلاف ترددات النويات التلقائية بسبب نوع الجنس حيث وجد في مجموعة يبلغ متوسط عمرها ٤١،٤، و٤١،٨ سنة أن متوسط الترددات التلقائية للنويات هو ١٦،٤ بين الذكور و٢٣،٥ لكل ١٠٠٠ خلية ثنائية النواة بين الإناث على التوالي؛ وفي المقابل فإن الفرق في النويات ذات القسيم المركزي السالب ليست ملموسة، إذ بلغت ٦،٧ مقابل ٧،٧ [٢٧٩].

ومن الواضح أن هذا التفاوت في الخلفية يفرض قيوداً على استخدام النويات كمقياس بيولوجي للجرعات الضعيفة في الحالات التي لا تعرف فيها ترددات الخلفية الفردية. وأجريت تقديرات كشفت عن أن فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي في صورته الأساسية لا يمكنه أن يكتشف إلا التعرضات المختبرية التي تزيد على ٠،٣-٠،٢ غراي من الأشعة السينية [٨٧، ٢٦٦، ٢٨٣].

وتبين أن معظم النويات المستحثة إشعاعياً تنشأ بالدرجة الأولى عن شظايا عديمة القسيم المركزي بينما تحتوي النويات التلقائية بشكل خاص على كروموسومات كاملة [٨٥، ٢٦٤-٢٦٧] ولذلك فإن استخدام فحص نويات انقسام الهيولي في القسيمات المركزية يزيد كثيراً من حساسية الفحص عندما تكون نطاقات الجرعات ضعيفة [٨٥، ٢٦٦]. وباستخدام المجس الشامل في كلتا الدراستين [٨٥، ٢٦٦] كانت أغلبية النويات التلقائية موجبة القسيم المركزي ($MNCM^{+ve}$) (٧٣ و ٧١ في المائة على التوالي) بينما كانت معظم النويات المستحثة إشعاعياً سالبة القسيم المركزي ($MNCM^{-ve}$) ولم يكشف عدد $MNCM^{+ve}$ إلا عن زيادة طفيفة للغاية في الجرعة (٣،٧ و ٥،٣ $MNCM^{-ve}$ لكل غراي في كل ١٠٠٠ خلية ثنائية النواة على التوالي). وعن طريق الفحص اليدوي الذي شمل $MNCM^{-ve}$ في ٢٠٠٠ خلية ثنائية النواة، يمكن تحقيق مستوى كشف بحد ثقة نسبته ٩٥ في المائة لجرعة نطاقها ٠،١ غراي [٢٦٦، ٢٦٧].

١٢-٤-٣- الرقم القياس للانقسام النووي

يلاحظ عند فحص مستحضرات الكريات اللمفاوية التي يحصر فيها انقسام الهيولي وجود خلايا تحتوي على ١، ٢، و ٣، إلخ، من النوى الرئيسية. ويمكن استخدام الترددات النسبية للخلايا لتحديد تطور دورة حياة الخلية في الكريات اللمفاوية بعد تحفيز الانقسام الفتيلي.

ويشار إلى ذلك باسم الرقم القياسي للانقسام النووي [٢٨٤]. وهذا الرقم القياسي في حد ذاته ليس قوياً بما يكفي لاستخدامه مباشرة كمقياس بيولوجي للجرعات. على أن الاختبار يستخدم في كثير من الأحيان كأداة بحثية مفيدة

لفهم حركية دورة الخلية في أثناء الزرع. وسوف يشير إلى اضطرابات قد تحدث بسبب التعرض لأحد مسببات الطفرات الوراثية، مثل الإشعاع. وتنشأ البيانات مباشرة من فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي دون أي جهود مختبرية إضافية، وهو ما دعا إلى تناول هذا الأسلوب في هذا المنشور.

١٢-٤-٣-١ - معايير فحص الخلايا الأحادية النواة والثنائية النواة والمتعددة النوى القادرة على إكمال دورة حياتها

تتميز هذه الأنواع من الخلايا بالخصائص التالية:

- الخلايا الأحادية النواة والثنائية النواة والمتعددة النوى هي خلايا قادرة على إتمام دورة حياتها وتحتوي على هيولي سليم وشكل نووي طبيعي يحتوي على نواة واحدة أو نواتين أو ثلاث نوى أو أكثر على التوالي.
- يمكن لهذه الخلايا أن تحتوي، أو لا تحتوي، على واحدة أو أكثر من النوى أو البراعم النووية (NBUD) ويمكن للخلايا الثنائية والمتعددة النوى أن تحتوي، أو لا تحتوي، على برعم نووي واحد أو أكثر.

وينبغي ألا تُدرج ضمن الخلايا المفحوصة القادرة على إكمال دورة حياتها الخلايا النخرية وخلايا الموت المبرمج.

ويلاحظ في حالات نادرة وجود خلايا متعددة النوى تحتوي على أكثر من أربع نوى إذا كانت مدة دورة حياة الخلية أكثر كثيراً من المعتاد أو إذا استغرق وقف انقسام الهيولي وقتاً أطول من اللازم.

١٢-٤-٣-٢ - حساب الرقم القياسي للانقسام النووي

تفحص خمسمائة خلية قادرة على إتمام دورة حياتها لتحديد تردد الخلايا المحتوية على نواة واحدة أو نواتين أو ثلاث أو أربع نوى ويحسب الرقم القياسي للانقسام النووي باستخدام المعادلة (٣٦):

$$NDI = \frac{M_1 + 2M_2 + 3M_3 + 4M_4}{N} \quad (36)$$

حيث:

M_1 إلى M_4 عدد الخلايا المحتوية على ما يتراوح بين ١ و ٤ نوى،

N مجموع عدد الخلايا المفحوصة القادرة على إتمام دورة حياتها.

ولم تؤخذ الريبة بعين الاعتبار فيما نُشر من أساليب حساب الرقم القياسي للانقسام النووي [٢٨٤]. والواقع أنه لم يُنشر بعد فيما يبدو أسلوب لاشتقاق الريبة. ولذلك فقد تناوله هذا المنشور بالوصف، ونظراً لتعقده، يرد مثال كامل في المرفق الرابع - ٤.

ونظراً لوجود ارتباط بين القيم M_1 حتى M_4 ، لا يمكن حساب جوانب الريبة في الرقم القياسي للانقسام النووي باستخدام تحليل الخطأ المعياري. وبدلاً من ذلك، يجب أن يؤخذ بعين الاعتبار التغيرات الذي يقيس كيفية اعتماد المتغيرات كل على الآخر. ويمكن افتراض أن القيم من M_1 حتى M_4 في الرقم القياسي للانقسام النووي تشكل توزيعاً متعدد الحدود، ويعني ذلك وجود عدد ثابت (ثلاث أو أكثر) من النتائج الممكنة لعدد النوى في الخلية، أي ١، ٢، ٣، أو ٤، في هذه الحالة. ويمكن بعد ذلك حساب التباين (var) والتغاير (covar) لكل متغير، M_1 حتى M_4 ، باستخدام المعادلات من (٣٧) حتى (٣٩):

$$\text{var}(M_i) = np_i(1 - p_i) \quad (37)$$

$$\text{covar}(M_i, M_j) = -np_i p_j \quad (38)$$

في حالة $i = 1$ أو 2 أو 3 أو 4

حيث:

$$M_1', M_2', M_3', \text{ أو } M_4'$$

هي قيم $1 \times M_1$ ، و $2 \times M_2$ ، و $3 \times M_3$ ، و $4 \times M_4$ ،

n هو حاصل جمع عدد الخلايا مضروباً في أعداد نويات كل منها (ما يكافئ بسط معادلة الرقم القياسي للانقسام النووي)،

p_i و p_j هما احتمالي M_i' و M_j' المساويان للقيمتين M_i' أو M_j' مقسومين على n .

وباستخدام تعريف التباين، يمكن بعد ذلك إثبات أن تباين الرقم القياسي للانقسام النووي يعتمد على التباينات والتغايرات المحسوبة باستخدام المعادلتين ٣٧ و ٣٨:

$$\text{var}(NDI) = \sum_{i=1}^4 M_i'^2 \text{var}(M_i') + 2 \sum_{i=1}^4 \sum_{j=i+1}^4 M_i' M_j' \text{cov}(M_i' M_j') \quad (39)$$

وهذا الحساب معقد نسبياً، ولكن يمكن إجراؤه بسهولة باستخدام أحد مجموعات الأدوات الإحصائية المتاحة على نطاق واسع أو برنامج تقدير الجرعات الذي ورد ذكره في القسم ٨-٣.

١٢-٥- تطبيق فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي في القياس البيولوجي للجرعات

١٢-٥-١- دراسات المرضى

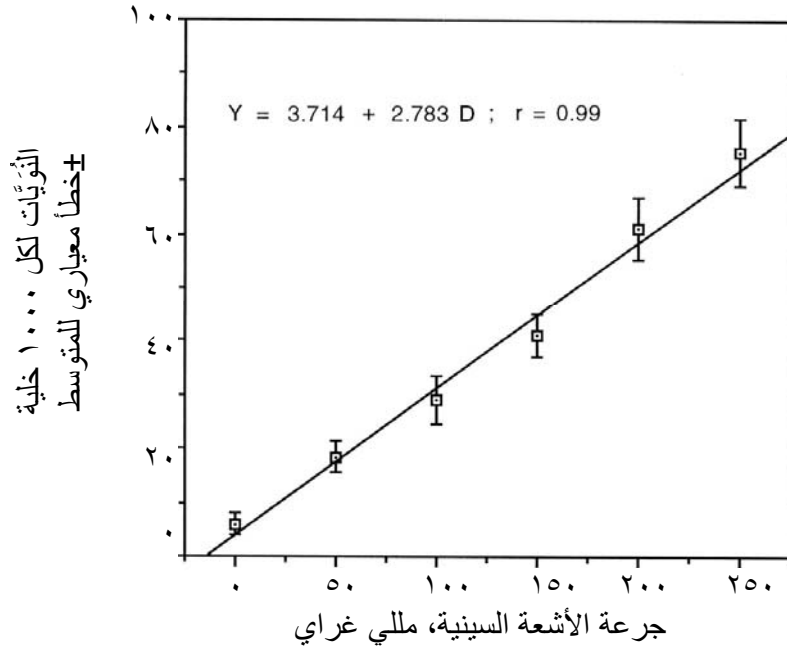
للتحقق من إمكانية استخدام فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي في القياس البيولوجي للجرعات، قيس نواتج النويات في الكريات اللمفاوية في الدم الطرفي لدى كل من: (١) مجموعات مختلفة من مرضى السرطان الذين يتلقون علاجاً إشعاعياً مجزئاً في أجزاء من الجسم، مثل البروستاتا وعنق الرحم، ومرض هودجكين [٢٨٥-٢٨٨]، و (٢) مرضى سرطان الغدة الدرقية الذين يعالجون باليود المشع [٢٨٩-٢٩١].

وكشفت هذه الدراسات عن أن الجرعات المقدرة باستخدام النويات تتفق تماماً مع متوسط جرعات الجسم بكاملة التي حُسبت باستخدام خطط العلاج الإشعاعي بالإضافة إلى مخططات الجرعات - الأحجام التراكمية [٢٨٥-٢٨٧، ٢٩٢].

وكشف التحليل الإحصائي الذي ركز على مرضى سرطان الغدة الدرقية [٢٨٩] عن أن حث النويات بعد الإشعاع ازداد بأكثر من ثلاثة أضعاف مقارنة بالتردد السابق للتشعيع، وهو ما يثبت أن فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي حساس بما يكفي لكشف الضرر الوراثي في الخلايا اللمفاوية في الدورة الدموية نتيجة للتعرض لجرعة إشعاعية ضعيفة في الجسم بكامله من مصادر إشعاعية داخلية.

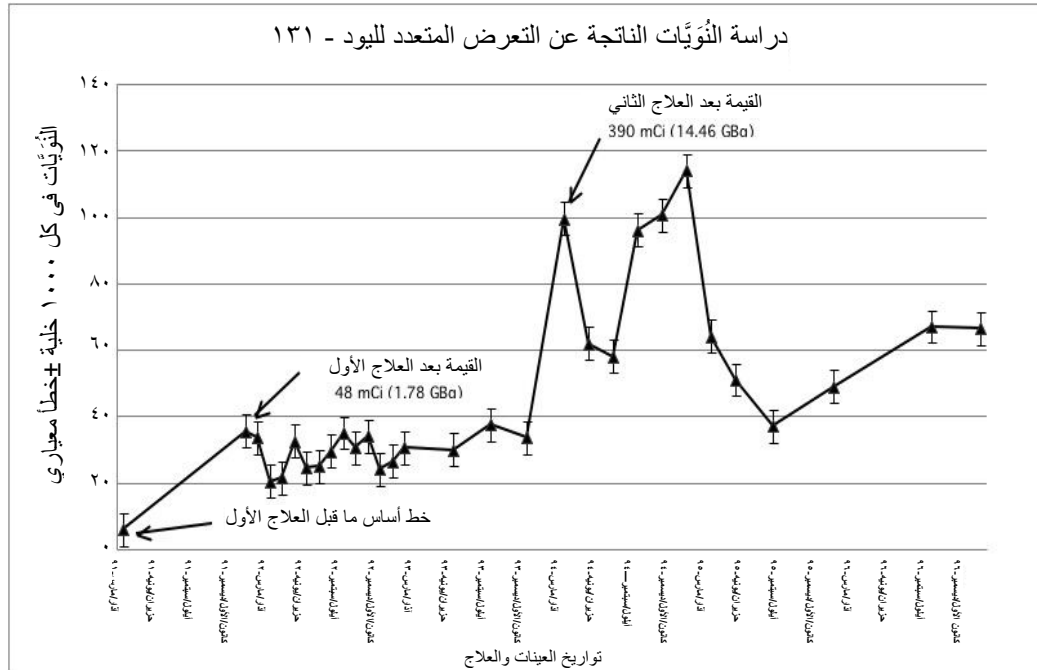
١٢-٥-١-١- دراسة حالة اليود المشع

استُخدم فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي لدراسة استجابة الكريات اللمفاوية لدى رجل يبلغ من العمر ٣٤ عاماً بعد معالجته بالإشعاع التدميري باستخدام اليود - ١٣١ إثر استئصال كل الغدة الدرقية بسبب إصابتها بالسرطان [٢٩١]. وكان هذا المريض قد تبرع مصادفة قبل عدة أشهر من تشخيص حالته بعينة دم لدراسة مختبرية لاستخلاص النويات بعد تعرض خارجي لجرعات متدرجة من أشعة سينية (١٩٨ مللي غراي/دقيقة). وكشف تردد الخلفية (خط أساس ما قبل العلاج) في المزرعة غير المعرضة عن تردد متوسطه ٦ نُويّة لكل ١٠٠٠ خلية ثنائية النواة، بينما بلغ متوسط القيم ١٨،٥، و ٢٩، و ٤١، و ٦١، و ٧٥،٥ نُويّة لكل ١٠٠٠ خلية ثنائية النواة بعد جرعات من الأشعة السينية بلغت ٥٠، و ١٠٠، و ١٥٠، و ٢٠٠، و ٢٥٠ مللي غراي على التوالي. وتبيّن أن هذه البيانات متطابقة مع دالة خطية غير عتبية للجرعة والاستجابة ($Y = 3.714 + 2.783D$; $r=0.99$) كما هو مبين في الشكل (٤٢).



الشكل ٤٢: منحنى الجرعة والاستجابة للنويات داخل المختبر في جرعات منخفضة من الأشعة السينية في الكريات اللمفاوية لدى المريض قبل التشخيص وبعد علاجه باليود - ١٣١ (إهداء من ليفينغستون، مركز المساعدة في حالات الطوارئ الإشعاعية/موقع التدريب، الولايات المتحدة الأمريكية).

وأخذت عينة دم بعد ١١ يوماً من أول جلسة علاج باليود - ١٣١ في الجسم الحي باستخدام ٤٨ مللي كوري (١,٧٨ جيجا بكريل) شهرياً بعد ذلك، وفي نهاية المطاف كل ثلاثة أشهر ثم كل خمس سنوات. وكشفت عينة ما بعد المعالجة عن ٣٥,٥ نوية في كل ١٠٠٠ خلية ثنائية النواة، وتشير الزيادة التي تجاوزت خط الأساس السابق للعلاج بمقدار ستة أضعاف عن جرعة في الدم الطرفي بلغت نحو ١١٠ مللي غراي. وبعد ستة أشهر من أول علاج باليود - ١٣١، تلقى المريض علاجاً ثانياً بلغ ٣٩٠ مللي كوري (١٤,٤٦ جيجا بكريل)، وأسفر ذلك عن زيادة أخرى في عدد النويات. وتذبذبت أعداد النويات تذبذباً كبيراً بمرور الوقت وازدادت بمقدار ١٠ أضعاف عن خط الأساس السابق للعلاج بعد ٥ سنوات من المتابعة (الشكل ٤٣).



الشكل ٤٣: متابعة النُويَّات لمدة خمس سنوات لدى المريض قبل معالجته باليود - ١٣١ وفي أثنائه وبعده (إهداء من ليفينغستون، مركز المساعدة في حالات الطوارئ/موقع التدريب، الولايات المتحدة الأمريكية).

وبعد أكثر من ١٥ سنة من تلقي العلاج الثاني شُفيَ المريض من السرطان وبات يتمتع بصحة جيدة. وتؤيد نتائج هذه الدراسة الاستنتاج الذي يذهب إلى أن فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي يمثل واسماً بيولوجياً سريعاً وحساساً وكمياً للتعرض الإشعاعي. على أن تلك الدراسات غير قادرة على تحديد الجرعة الموضوعية التي يتلقاها النسيج المستهدف، وهو في هذه الحالة أي خلايا درقية متبقية بالإضافة إلى الأطوار الاستوائية الناشئة عن الغدة الدرقية.

١٢-٥-٢- دراسات الرصد البيولوجي

بعد التحقق من المقياس البيولوجي في الجسم الحي في العديد من دراسات المرضى، بدأ تطبيق فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي فضلاً عن فحص القُسيمات المركزية في النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي في الرصد البيولوجي على نطاق واسع بين العاملين المُعرّضين لإشعاعات مهنية، مثل عمال محطات القوى النووية وموظفي المستشفيات [٢٦٦، ٢٧٨ - ٢٨٠، ٢٩٣-٢٩٥]. وكشفت هذه الدراسات عن اعتماد النُويَّات على الجرعة التراكمية التي يتلقاها الشخص على مر السنوات قبل بزل الوريد. وكشفت الدراسة التي أجراها ثيرينز وآخرون (Thierens et al) [٢٨٠] عن انحدار خطي لترددات النُويَّات الفردية المصححة لمراعاة تأثير العمر (انظر القسم ١٢-٤-٢)، وكشف ذلك عن زيادة بلغت ٠,٠١٧٥ نُويَّة لكل ١٠٠٠ خلية ثنائية النواة/مللي سيفرت عندما تكون قيمة معامل ارتباط بيرسون ٠,١٠. وأسفر تطبيق فحص القُسيمات المركزية في النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي في دراسة أجراها ثيرينز وآخرون [٢٩٥] على عمال إشعاعيين عن نفس الزيادة تقريباً في النُويَّات باستخدام جرعة بلغت ٠,٠٢٥ نُويَّة لكل ١٠٠٠ خلية ثنائية النواة/مللي غراي، وأثبت المؤلفون أن تبعية هذه الجرعة راجعة تماماً إلى $MNCM^{ve}$ التي تشير إلى تأثير الإشعاع المؤيّن في تكسير الكروموسومات. وتبيّن أيضاً توقف النُويَّات على الجرعة في التعرض المهني من خلال دراسة أجراها فاغلينوف وآخرون (Vaglenov et al) [٢٩٦]. وأشار المؤلفون إلى حدوث زيادة بلغت ٠,٠٣ نُويَّة في كل ١٠٠٠ خلية ثنائية النواة/مللي غراي. وتبيّن دراسات الرصد البيولوجي الواسعة النطاق أن فحص النُويَّات قادر على إثبات الضرر الوراثي على مستوى مجموعات الأفراد الذين يتلقون جرعات تراكمية مهنية تتجاوز ٥٠ مللي غراي.

١٢-٥-٣- دراسات الحوادث

١٢-٥-٣-١- حادث تشرنوبل

استخدم أيضاً اختبار النويات الناشئة عن وقف انقسام هيولي نواة الخلية بنجاح في تقييم التعرض الممتد الناجم عن اندماج نويدات مشعة معمّرة لدى سكان إحدى المناطق القريبة من محطة تشرنوبل للقوى النووية. وأجريت فحوص لثمانين شخصاً كانوا يقيمون على مسافة تراوحت بين ١٠٠ و ٢٠٠ كيلومتر من تشرنوبل وقت وقوع الحادث في عام ١٩٨٦ لمعرفة تردد النُويّات في الخلايا للمفاوية الثنائية النواة في الفترة من عام ١٩٨٩ حتى عام ١٩٩١ [٢٩٧]. وشملت هذه الفحوص جرعات السيزيوم - ١٣٤ والسيزيوم - ١٣٧ في الجسم بكامله حتى يمكن الربط بين تردد النُويّات وجرعة الجسم. وكشف تحليل البيانات المتعدد الانحدارات لدى ٨٠ شخصاً عن الآتي: (أ) ترددات النُويّات ارتبطت ارتباطاً قوياً بمستوى نشاط السيزيوم المشع ($p = 0.004$) و(ب) الجرعة الممتصة الداخلية التقديرية (التي تراوحت بين ٠,٦ و ٩,٢ مللي غراي) ارتبطت ارتباطاً قوياً وموجباً بتردد النُويّات ($R = 0.71$).

١٢-٥-٣-٢- حادث إسطنبول

تختار معظم المختبرات استخدام فحص ثنائيات القُسيم المركزي في الحوادث التي تمس عدداً قليلاً من الأفراد ولا تمثل فيها سرعة الحصول على النتائج عاملاً بالغ الأهمية. وبالتالي لم يُنشر الكثير عن استخدام النُويّات كمقياس بيولوجي للجرعة بعد وقت قصير من وقوع حادث. على أن أمثلة ذلك تشمل الحادث الذي وقع في إسطنبول [١٥٨، ١٥٩] الذي سبقت الإشارة إليه في القسمين ٩-٧-٥-٦، و ١٠-٩-٣ عندما تعرض عشرة من عمال الخردة المعدنية للإشعاع من جهاز علاج إشعاعي سابق غير مدرّج كان يحتوي على مصدر كوبالت - ٦٠. وفحصت عينة الكريات للمفاوية التي أخذت بعد ١ شهر من التعرضات للكشف عن النُويّات عن طريق فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام هيولي نواة الخلية فضلاً عن ثنائيات القُسيم المركزي والانتقالات الكروموسومية باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين. وأجريت تقديرات الجرعات المشتقة من النُويّات باستخدام البيانات المجمّعة من مختبرين والتي كانت تتعلق بثمانية أشخاص وتراوحت قيمها بين ٠,٧ و ٢,٧ غراي وكانت بذلك متفقة إلى حد بعيد مع الجرعات التي تم الحصول من ثنائيات القُسيم المركزي. ولوحظ في القسم ١٠-٩-٣ أن تقديرات الجرعات التي تم الحصول عليها من التهجين الموضعي بالفلورسين كانت تزيد بنسبة تراوحت بين ٢٠ و ٣٠ في المائة عن تقديرات الجرعات التي استندت إلى نواتج ثنائيات القُسيم المركزي، وربما كان ذلك راجعاً إلى الهبوط الشديد في عدد خلايا الدم لدى هؤلاء الأشخاص. وهذا الميل نحو تقدير الجرعات بقيمة أقل من الواقع في تلك الحالات ينطبق أيضاً على فحص النُويّات وأنها هي الأخرى تمثل فئة من الأضرار المحدودة في استمرارها داخل ظروف المختبر، خاصة بعد الجرعات القوية.

١٢-٥-٣-٣- موقع الاختبارات في سيميبيالاتينسك

تعرض موقع الاختبارات سيميبيالاتينسك لتلوث كبير بسبب غبار إشعاعي متساقط على امتداد ٤٠ سنة من الاختبار المستمر للأسلحة (١٩٤٩ - ١٩٨٩). وتعرض الأفراد الذين كانوا يعيشون بالقرب من الموقع لإشعاعات داخلية وخارجية. وأجري تحليل للكروموسومات ذات القُسيم المركزي والنويات لدى الأشخاص الذين يعيشون في مختلف القرى الملوثة وفي قرية ضابطة واحدة. وتبيّن ارتفاع نسبة ثنائيات القُسيم المركزي والنويات لدى المقيمين في المناطق الملوثة ونجمت هذه الإصابات الكبيرة أساساً، فيما يبدو، عن نويدات مشعة داخلية [٢٩٨].

١٢-٥-٣-٤- حادث جهاز علاج إشعاعي تلامسي يعمل بأشعة سينية جهدها ٥٠ كيلو فلت

استخدم فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام هيولي الخلية في عام ٢٠٠٣ في تقييم رجعي لجرعة تلقاها عامل في إحدى المستشفيات كان قد تعرض بصورة عارضة لإشعاع من جهاز علاج إشعاعي تلامسي يعمل بأشعة سينية جهدها ٥٠ كيلو فلت في أثناء صيانة الجهاز [٢٩٩]. وقُدّرت الجرعة بأنها ٠,٧٣ غراي بحدود ثقة نسبتها ٩٥ في المائة لجرعة تراوحت بين ٠,٥٤ و ٠,٩٦ غراي. وكشف فحص ثنائيات القُسيم المركزي عن جرعة قُدّرت بأنها ٠,٦٢ غراي (في نطاق تراوح بين ٠,٥٤ و ٠,٩٠ غراي) وتتفق ذلك بدرجة كبيرة مع الجرعة المقدّرة باستخدام اختبار النويات الناشئة عن وقف انقسام هيولي نواة الخلية. وتبيّن من إصابة جلدية في ظهر العامل أنه تعرض لإشعاع زائد في جزء من جسمه. واستنتج من التششت الزائد في بيانات

ثنائيات القسيم المركزي تعرض ٤٩ في المائة من الجسم للإشعاع. ولم يكن ممكناً تطبيق هذا النوع من التحليل على بيانات النويات لأن النويات تكشف باستمرار عن تشتت مفرط حتى في حالة تشعيع الجسم بكامله. وتبين من عينة دم ثانية أخذت بعد سنة واحدة أن ناتج النويات تناقص بمرور الوقت بعد التعرض. وبلغ العمر النصفى للاختفاء ٣٤٢ يوماً؛ ويقترب هذا العمر النصفى كثيراً من القيمة التي بلغت ٣٧٧ يوماً في حالة ثنائيات القسيم المركزي. وتتفق هذه النتيجة مع انخفاض تردد النويات بمرور الوقت بعد التشعيع إلى نحو ٦٠ في المائة بعد سنة من العلاج، وهو ما يلاحظ في مرضى العلاج الإشعاعي [٢٩٢].

١٢-٥-٣-٥ - الحوادث الإشعاعية الواسعة النطاق

من المهم في حالات الحوادث الإشعاعية الواسعة النطاق التي قد يتعرض فيها المئات من الأشخاص للإشعاع أن نميز بين الأفراد المعرضين تعرضاً شديداً (≤ ١ غراي) الذين يحتاجون إلى علاج طبي مبكر وبين الأشخاص الأقل تعرضاً. ولهذا الغرض، يلزم إجراء قياس بيولوجي سريع للجرعة. وفي دراسة أجريت مؤخراً [٨٧]، تأكدت فعالية الفحص الآلي للنويات في حالة الفرز السكاني السريع في الأماكن المتعددة المراكز. ويرد المزيد من المعلومات المفصلة في القسم ٣-٣-١٣.

١٣ - أتمتة الفحوص الكروموسومية

بات من الحتمي من أجل كفاءة التأهب والتصدي للأحداث الإشعاعية التي تنطوي على إصابات جماعية أتمتة أساليب التقييم الوراثي الخلوي للجرعات من أجل تحسين الإنتاجية نظراً لما تستغرقه هذه الفحوص من وقت وما تتطلبه من مشقة. وعلاوة على ذلك تحسن الأتمتة أيضاً مراقبة وضمان الجودة. وهي بالإضافة إلى ذلك تزيد من أمان العاملين في المختبرات، إذ يشمل البروتوكول معالجة الدم الذي يمثل خطراً بيولوجياً مهنيًا. وتشمل الأتمتة الوراثية الخلوية في المختبرات ما يلي: (١) أتمتة المستحضرات البسيطة، (٢) أتمتة التحليل، (٣) وضع نظام لإدارة معلومات المختبر لتتبع العينات ومعالجة البيانات [٣٠٠].

١-١٣ - أتمتة تجهيز العينات

التجهيز الآلي للعينات في مختبرات الوراثة الخلوية قد يتألف من أي من محطات المعدات التالية أو كلها: '١' مناوِل دم آلي، '٢' غطاء للسلامة البيولوجية، '٣' حاضنات، '٤' حاصدة أطوار استوائية، '٥' فارشة أطوار استوائية، '٦' ملون شرائح.

١-١-١٣ - مناوِل الدم الآلي

يمكن عن طريق استخدام جهاز آلي مخصص لمناولة السوائل عند التجهيز المرتفع الإنتاجية لعينات الدم وعزل الكريات اللمفاوية من الدم الكامل الطرفي أن يساعد على استبعاد أحد العوامل الهامة المقيدة للمعدلات في تجهيز العينات المستخدمة في التقييم الوراثي الخلوي للجرعات [٣٠٠]. ويمكن تخصيص أجهزة مناولة السوائل المتاحة تجارياً والقادرة على توزيع وتخفيف وشطف عينات الدم، وهي أجهزة تستخدم خصيصاً في بنوك الدم [٣٠١] واستخدامها في الأغراض المرجوة. وهذه الأنظم مضبوطة ودقيقة ولا تؤثر على العينات الملوثة [٣٠٢]. ويمكن تجهيز محطة مناولة الدم الآلية المخصصة بطاولة عمل كبيرة مصممة خصيصاً لهذا الغرض وجهاز لقراءة الشفرة الخيطية (باركود) للحفاظ على تسلسل المسؤوليات عن العينات، وأذرع آلية لمناولة السوائل ونقل الحاويات المفرغة من الهواء، وأنباب طرد مركزي، ومحطة لغسل أطراف الماصات. ويمكن أيضاً دمج الجهاز الآلي مع جهاز تحليل قدرة الخلية على إتمام دورة حياتها لتصحيح كثافة الكريات اللمفاوية في أثناء إنشاء المزارع وإجراء الطرد المركزي الآلي في الدلو المتأرجح لعزل الكريات اللمفاوية باستخدام مدرج الكثافة عند إنشاء مزارع للكريات اللمفاوية المعزولة. ومع ذلك، يجب وضع كل الأجهزة داخل بيئة يراعي تصميمها الهندسي المستوى الثاني من مستويات الأمان البيولوجي من أجل ضمان تعقيم العينات والحفاظ على الأمان المهني للعاملين في المختبر. ويجب أن يتيح النظام سلسلة إيجابية من المسؤوليات [٣٠١].

١-١-٢ - حاصدة الأطوار الاستوائية

للحصول باستمرار وبطريقة موثوقة على أطوار استوائية بجودة فائقة، يمكن استخدام حاصدات الأطوار الاستوائية المتاحة تجارياً والمصممة بمواصفات خاصة لجمع المسحات من مزرعة الدم. ويمكن بهذه الأجهزة التخلص من العمليات التي تتطلب أيد عاملة كثيفة عن طريق إجراء المهام المتكررة التي يتطلبها جمع الأطوار الاستوائية من المزرعة، من قبيل الطرد المركزي لمعلقات الخلايا، وشطف المواد الطافية والتخلص منها بطريقة مأمونة، والمعالجة بالمحاليل المنخفضة التوتر، وتثبيت الخلايا بخليط حمض الخليك والميثانول. وتجري هذه الخطوات في ظروف بيئية مراقبة باستخدام بروتوكول من خطوة واحدة دون تدخل من المستعمل، وبالتالي تعزيز جودة العملية ونتائجها [٣٠٠].

١-١-٣ - فارشة الأطوار الاستوائية

يتأثر توزيع الأطوار الاستوائية على الشرائح الزجاجية بدرجة الحرارة والرطوبة [٣٠٣]. ويتيح النظام الآلي ظروفًا بيئية مثلى فيما يتعلق بدرجات الحرارة ونسبة الرطوبة في أثناء توزيع معلق الخلايا على الشرائح الزجاجية مع تحقيق خرج أكبر مما يمكن تحقيقه يدوياً. ويمكن تثبيت الفارشة على معالج مجهرى لموازنة درجة الحرارة والرطوبة ومدة التجفيف والتحكم فيها بدقة. وهذه الضوابط بالاقتران مع شكلها الذي يناسب وظيفتها، تتيح لمختلف المستعملين الحصول على نتائج متسقة بشأن الخلايا البشرية والحيوانية على السواء. وتتيح ماصة

مبيّنة في الفارشة ويمكن أغلاقها بإحكام توزيع العينات توزيعاً متجانساً والمساعدة على منع حدوث أي تبادل بين العينات.

١٣-١-٤- ملون الشرائح الآلي

يُتيح ذلك أسلوباً سريعاً ومتسقاً لتلوين الشرائح بصبغة غيمزا دون تدخل يُذكر من المشغلين. وتسمح الملونات التلقائية المتاحة حالياً بتخطيط ذكي ومرن لتلوين ما يتراوح بين شريحة واحدة و ٥٢٠ شريحة وغسلها دون تدخل من المشغل وباستخدام نفس البروتوكول أو باستخدام بروتوكولات مختلفة. ويمكن من خلال خاصية تحديد أولويات العينات ترتيب وتحضير مجموعات محددة من العينات قبل مجموعات أخرى دون أي تدخل من المستعمل. ويمكن للبطارية الاحتياطية الثابتة التي تسمح بتشغيل الجهاز لمدة ٤٠ دقيقة أن تكفل استمرار تحضير العينات في حال انقطاع التيار الكهربائي.

١٣-٢- تحليل الصور آلياً

لا يستخدم حالياً التحليل الآلي للصور التي يلتقطها المجهر بصورة روتينية في الكثير من المختبرات عند إجراء قياس بيولوجي للجرعات بالرغم من أن استخدامها سيزداد على الأرجح في ظل تحسن النظم. وبُذلت جهود لأتمتة عمليات التحليل في كل الفحوص الأربعة المبيّنة في هذا المنشور.

١٣-٢-١- إيجاد الأطوار الاستوائية وتسجيل الصور

بينما لا يزال العمل جارياً في تطوير محطات التحليل الآلية التي يمكن الاعتماد عليها بالكامل في فحص الضرر الوراثي الخلوي فإن أجهزة تعيين الأطوار الاستوائية العالية الإنتاجية ومحطات الفحص التابعة المستخدمة في التحليل اليدوي بمساعدة الحاسوب يمكن أن تحسّن كثيراً من إنتاجية الشخص الفني. وتساعد أجهزة تعيين الأطوار الاستوائية على تحديد مسّحات الأطوار الاستوائية على الشرائح وعرضها بوضوح داخل البؤرة بدرجة تكبير عالية حتى تكون جاهزة للتحليل [٣٠٤، ٣٠٥].

ويمكن أن يتألف نظام تعيين الأطوار الاستوائية القائم على التحليل التقليدي للصور من جهاز حاسوبي وآلة تصوير رقمية عالية الدقة، ومجهر فائق الجودة، ومنصة آلية مزوّدة ببؤرة تلقائية وجهاز آلي لتلقي الشرائح. ويحمّل في جهاز الحاسوب برنامج تعيين الأطوار الاستوائية تلقائياً والفحص التلقائي التفاعلي، وبرنامج شرح تحليل الانحرافات الكروموسومية. ويمكن لأجهزة تعيين الأطوار الاستوائية أن تفحص الأطوار الاستوائية الموزعة على ١٥٠ شريحة في الدورة الواحدة [٣٠٠]. وتخزّن النتائج في أثناء الفحص (الصور وأماكن المسّحات المحتملة) في الحاسوب المركزي لنقلها تلقائياً بعد ذلك في محطات الفحص التابعة المتعددة لتحليلها كروموسومياً. ويمكن بدلاً من ذلك تشفير الصور الافتراضية العالية الدقة التي سُجلت فيها مسّحات الأطوار الاستوائية التي تم الحصول عليها باستخدام أجهزة تعيين الأطوار الاستوائية رقمياً ونقلها عن طريق شبكة خاصة افتراضية لتحليلها وتقييمها عن بُعد. ويحتاج هذا النوع من 'الفحص عن بُعد' إلى معايير منسقة لضمان التوصل إلى نتائج قابلة للمقارنة.

١٣-٢-٢- أتمتة فحص ثنائيات القسّم المركزي

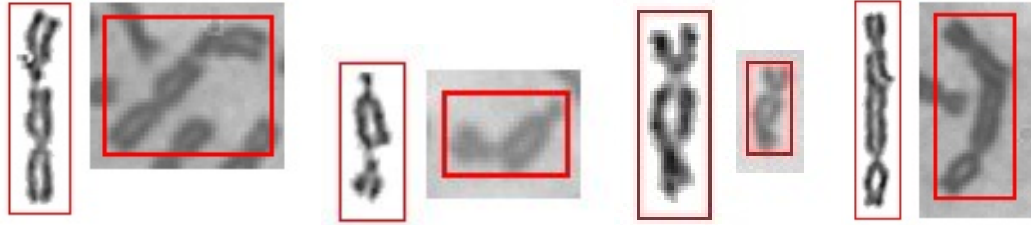
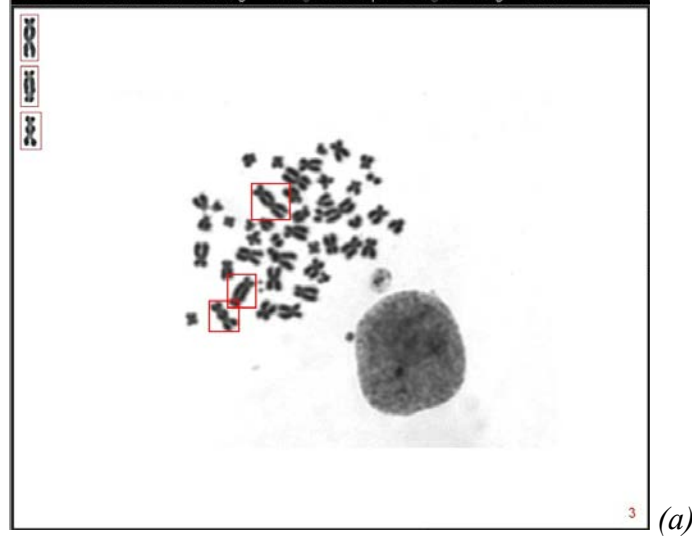
يستغرق التحليل المجهرى للكروموسومات ذات القسيمين المركزيين وقتاً طويلاً ويجريه فاحصون مدّربون تدريباً جيداً ومتمرسون على إجراء القياس البيولوجي للجرعات في المختبرات بصورة روتينية، ويتعيّن عليهم تحليل بضع مئات من الخلايا يومياً. ويجب في حالة الجرعات الضعيفة تحليل عدد كبير من الأطوار الاستوائية وبالتالي تكمن الاستراتيجية الرئيسية في تحسين أسلوب أتمتة فحص ثنائيات القسّم المركزي توفيراً للوقت، خاصة عند تقييم التعرض للجرعات الإشعاعية المنخفضة.

وبدأت عدة محاولات في ثمانينات القرن الماضي لتطوير نظم لفحص الآلي [٣٠٦-٣٠٨]. وأصبحت في غضون ذلك عدة نظم تجارية متاحة وتقبلها وحدات حاسوبية راسخة لإيجاد الأطوار الاستوائية والتنميط النووي في الكثير من مختبرات الوراثة الخلوية. وهذا النوع من الفحص المجهرى بمساعدة الحاسوب يسهّل كثيراً هذا النوع من العمل. وتفحص الشريحة في البداية بمعدل تكبير منخفض، وتكشف الأطوار الاستوائية وتخزّن إحدائياتها في عملية غير مراقبة. ويمكن في أثناء هذا الإجراء توليد مجموعة من صور الأطوار الاستوائية المكتشفة. وبينما يحدّد مكان الخلايا وتحلل يدوياً من السهل الاحتفاظ بصحائف الفحص الإلكتروني

في كل حالة على حدة وطبعها وحفظها كملفات. ويمكن في حالة الاستجابة السريعة للطوارئ الإشعاعية أن تسجل يدوياً الخلايا المنحرفة الملحوظة وتحوّل إلى صور رقمية وتحفظ فوراً. وإجمالاً فإن استخدام جهاز تعيين الأطوار الاستوائية يمكن أن يقلل مدة الفحص بمقدار النصف [٣٠٤].

ومن المعروف منذ عهد بعيد أن عمليات تعيين الأطوار الاستوائية والتقاط الصور وغيرها من العمليات ينبغي أن يعقبها تحليل إلكتروني للصور حتى يمكن إجراء تحليل ألي للكروموسومات، بما في ذلك فحص ثنائيات القسيم المركزي. وهناك عدة خطوات لا بد من اتخاذها عند إجراء فحص إلكتروني للكروموسومات ذات القسيمين المركزيين. ففي البداية، تفحص الشريحة باستخدام جهاز تعيين الأطوار الاستوائية. وفي الخطوة الثانية، تلتقط الأطوار الاستوائية المكتشفة تلقائياً وتحوّل إلى صور رقمية بدقة عالية. وتقسّم بعد ذلك صور الأطوار الاستوائية إلى مقاطع لتحديد الكروموسومات وثنائيات القسيم المركزي المرشحة. ولم تكن تخزّن في تسعينات القرن الماضي سوى صور ثنائيات القسيم المركزي المرشحة وإحداثياتها. وأما الآن في ظل ما تحقق من تقدم في التصوير الرقمي بات هذا الإجراء أسرع كثيراً وأكثر كفاءة. وعلاوة على ذلك فإن التطور في تكنولوجيا الأقراص الصلبة يجعل من الممكن الآن تخزين كل خلايا شريحة واحدة بدقة عالية.

وتظهر تجربة استخدام برامج فحص ثنائيات القسيم المركزي مدى الصعوبة البالغة التي ينطوي عليها إيجاد خوارزميات هرمية متعددة الخطوات تسمح بتقسيم الخلية الكاملة إلى مقاطع ينتج عنها ٤٦ كروموسوماً [٣٠٨، ٣٠٩]. ولن تُكشف عموماً بعض الكروموسومات بسبب تداخلها أو بسبب تقاربها كمجموعات كروموسومية. ولذلك تفقد بعض ثنائيات القسيم المركزي (السالبة الكاذبة). ويمكن أيضاً تجاهل بعض ثنائيات القسيم المركزي منهجياً لأنها تكون أصغر من الكروموسوم X، وهو ما يمكن أن ينطبق على أقل من ٨ في المائة. وينبغي أن يقوم فاحص مدرب بالتثبت من ثنائيات القسيم المركزي المكتشفة تلقائياً المرشحة للفحص، وهذه العملية تكون أسرع كثيراً وأسهل من الفحص اليدوي. وتظهر ثنائيات القسيم المركزي المرشحة موسومة بعلامة على الشاشة (الشكل ٤٤ أ) ويسمح ذلك بسرعة التقييم. ويمكن بسهولة رفض معظم الصور الموجبة الكاذبة (مثل العيوب، والكروموسومات المتداخلة، انظر الشكل ٤٤ ب).



الشكل ٤٤ أ: ثنائيات القُسيم المركزي المرشحة المكتشفة تلقائياً تجعل التقييم أسهل وأسرع. ب) ثنائيات القُسيم المركزي المرشحة الموجبة الكاذبة يمكن التعرف عليها بسهولة (مثل الكروموسومات المتداخلة والكروماتيدات المتوتية أو الأجسام غير المقسمة إلى مقاطع) ويمكن رفضها.

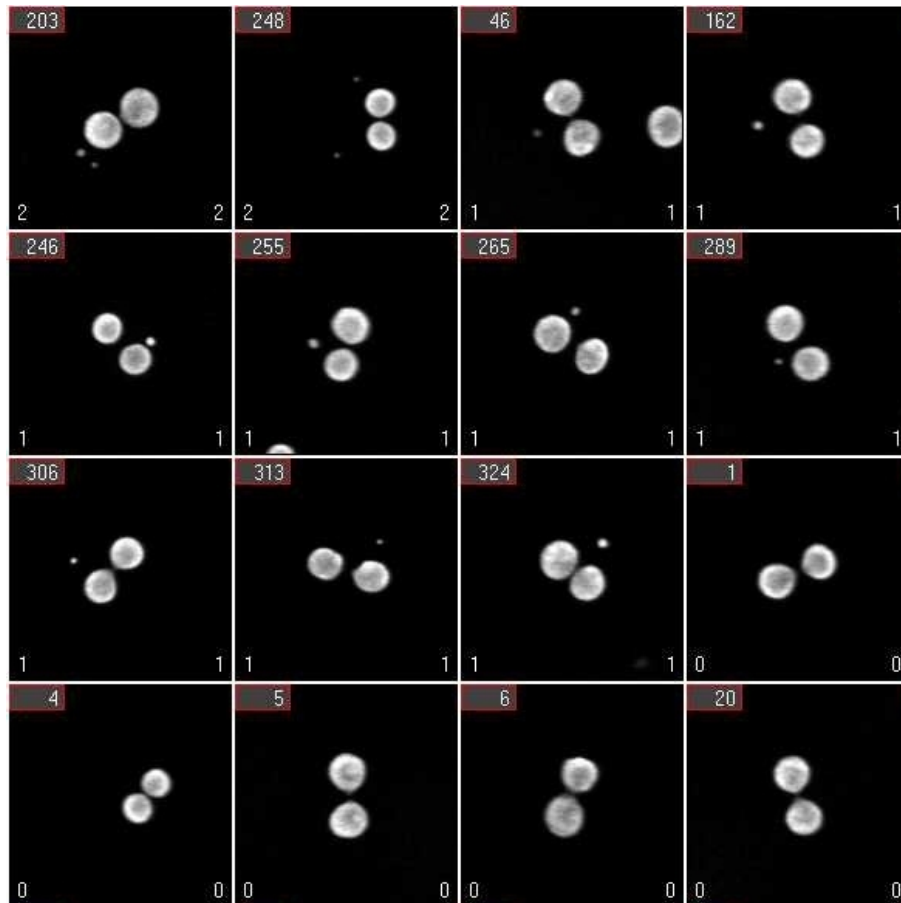
ونظراً لعدم تحليل الخلايا بالكامل (يقضي معيار الفحص اليدوي بالاقصرار على فحص الخلايا الكاملة التي تحتوي على ٤٦ قسيماً مركزياً) وما ينشأ عن ذلك من ريبة، لم يترسّخ حتى الآن استخدام الفحص الآلي للكروموسومات ذات القُسيم المركزيين كإسلوب روتيني. ولا بد بالإضافة إلى ذلك من الحصول على بيانات لتحديد ما إذا كان التردد المكتشف في ثنائيات القُسيم المركزي مرتبط بعدد الكروموسومات المكتشفة أو ما إذا كان يمكن احتسابها كروموسومات ذات قسيمين مركزيين في كل خلية، مع ملاحظة تغير عدد الكروموسومات المقيمة في كل خلية. ويطرح ذلك تساؤلات بشأن استخدام الرقم القياسي للتشتت المفرط في ثنائيات القُسيم المركزي (القسم ٩-٧-٤-٣) وبالتالي إمكانية استخدام هذا الأسلوب في كشف التشيعات التي تتعرض لها أجزاء من الجسم. ومن الجوانب الأخرى المثيرة للاهتمام تأثير نوعية تحضير الشرائح. ويزداد عدد الكروموسومات المكتشفة بزيادة مسحات الأطوار الاستوائية. ويلزم هنا المزيد من الفحص ويمكن الوصول إلى الوضع الأمثل عن طريق ضبط إعدادات مصنف ثنائيات القُسيم المركزي في البرنامج الحاسوبي.

وتتيح أتمتة كشف ثنائيات القُسيم المركزي التوصل إلى نتائج تنسم بدرجة كبيرة من التكرارية. وتثبت المقارنات بين منحنيات الجرعة والتأثير التي يتم إجراؤها باستخدام الفحص اليدوي وشبه الآلي وجود ارتباط قوي بدرجة كبيرة بين الأسلوبين. وتشير التقارير إلى أن كفاءة كشف ثنائيات القُسيم المركزي باستخدام النظم الآلية تتراوح بين ٥٠ و ٧٠ في المائة [٣١١، ٣١٠].

ويمكن لأتمتة فحص ثنائيات القُسيم المركزي أن تحسّنه كأداة مفيدة لفحص أعداد كبيرة من عينات الدم في حالات الطوارئ الإشعاعية الواسعة النطاق. ويمكن تكميل مركز عمل واحد بمراكز تابعة له تقيم فيها الخلايا ثنائيات القُسيم المركزي، وهو ما يزيد من قدرة وإنتاجية النظام. ويمكن باستخدام نمط الفرز أن تساعد أتمتة فحص ثنائيات القُسيم المركزي بدرجة كبيرة في تقليص مدة التحليل وتضاهي النتائج تماماً نتائج الفحص اليدوي [٣١١، ٣١٠، ٣٠٠].

١٣-٢-٣- فحص النُويَّات آلياً

استحدثت بالفعل عدة خوارزميات لتحليل الصور الآلية في فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي في تسعينات القرن الماضي [٣١٢، ٣١٣]. ومع ذلك فقد كشف هذان النظامان عن قيود مثل عدم الدقة الكبيرة نسبياً في تصنيف الخلايا الثنائية النواة. واستحدثت في السنوات الأقرب عهداً نُظِم جديدة ومحسّنة لتحليل الصور آلياً في اختبارات النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي. ويحدّد البرنامج الحاسوبي في نظام تعيين الأطوار الاستوائية المعروف باسم MSearch والذي طوّره وسوقته تجارياً شركة ميتاسيستمز Metasystems (إحدى شركات تصنيع نُظُم التصوير المجهرية) الخلايا الثنائية النواة آلياً باستخدام المعايير المورفولوجية من خلال ظهور نواتين متجاورتين ملونتين بنفس طريقة نظام دابي. وفي خطوة ثانية، يُحسب عدد النُويَّات آلياً في منطقة دائرية محدّدة حول النواتين في الخلية الثنائية النواة [٣١٤، ٣١٥] (انظر مجموعة صور الخلايا الثنائية النواة المحتوية على نويات، الشكل ٤٥). ولا يلزم من الفحص إجراء تقييم آخر لنوات النُويَّات المكتشفة. ومن المهم ملاحظة أن برنامج Metasystem خلافاً لمعايير الفحص البصري المستخدمة في فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي، لا يستخدم حدود هيولي الخلية لتحديد الخلايا الثنائية النواة، ولكنه يفترض ببساطة أن اقتراب نويتين من بعضهما (وفقاً لبارامترات محددة في مصنفات التعرف على الأنماط) يكفي لتحديد الخلية الثنائية النواة بدقة؛ ويمكن عند الاقتضاء تصوير حدود هيولي الخلية باستخدام الفحص المجهرية المتباين الأطوار حسب ما أوصى به إيستموند وتاكر (Eastmond and Tucker) (١٩٨٩) [٢٨٤] للتحقق من دقة كشف الخلايا الثنائية النواة.



الشكل ٤٥: خلايا ثنائية النواة بنويات وبدونها التُقِطت بنظام آلي.

وتستخدم محطة لالتقاط الصور ومحطتين لتحليل النُويَّات في نظام استحدثته ديكوردييه وآخرون (Decordier et al) [٣١٦] لاستخدامه في الرصد البيولوجي لتعرض الجسم الحي للعوامل المسببة لطفرات وراثية. ويحدّد هذا النظام أولاً الهيولي في الخلايا الملونة بصيغة غيمزا ثم يكشف عدد النُويَّات في الخلية، ويحدد بعد ذلك الخلايا الثنائية النواة ويفحص النُويَّة في خطوة ثالثة.

وأثبتت دراسة أجراها ويليامز وآخرون (Willemis et al) [٨٧] ملائمة وميزة الفحص الآلي للنويات عند فرز مجموعات سكانية في حالات الطوارئ الإشعاعية الواسعة النطاق حيث من المهم التمييز بين الأفراد المعرضين بشدة (≤ 1 غراي) الذين يحتاجون إلى متابعة طبية وعلاج في مرحلة مبكرة وبين الأشخاص الأقل تعرضاً.

وارتبطت نتائج فحص النويات التي تجري بطريقة آلية تماماً في الدراسة الأخيرة ارتباطاً قوياً بنتائج الفحص اليدوي ($r^2 = 0.917$) وأثبتت أن التثبت البصري غير مطلوب [٨٧]. وكشف منحنى الجرعة والاستجابة المرجعي باستخدام الفحص الآلي على أساس بيانات النويات لدى عشرة أفراد عن أن الرتبة المرتبطة بتحديد جرعة قدرها ١ غراي تبلغ ٠,٢ غراي. ولم يحدث تداخل بين حدود الثقة البالغة ٩٥ في المائة في الجرعتين البالغتين صفراً من الغراي و ١ غراي. وتحققت أيضاً تقديرات دقيقة للجرعة في حالات الجرعات الأقوى التي بلغت ٢ و ٣ غراي. ولذلك يستطيع نظام فحص النويات تمييز التعرضات لجرعات تبلغ ١، أو ٢، أو ٣ غراي. وأشارت التقديرات في هذه الدراسة إلى إمكانية قيام فاحصين بتجهيز ما لا يقل عن ٦٠ عينة دم (١٢٠ شريحة) في نوبة عمل مدتها ١٢ ساعة.

ويمكن عموماً زيادة عينات الدم زيادة كبيرة باستخدام المزيد من وحدات العمل الآلية. ويمكن الحصول على نتائج قابلة للمقارنة من خلال شبكة من المختبرات المدربة المزودة بنفس المعدات ونفس أجهزة تصنيف النويات. وبهذا الأسلوب يمكن زيادة إنتاجية فحص النويات آلياً للسماح بالتصدي السريع لحالات الطوارئ الإشعاعية الواسعة النطاق.

١٣-٢-٤- فحص التكثف الكروموسومي المبترس

لا يختلف هذا النهج أساساً عن تحليل ثنائيات القسيم المركزي باستخدام طريقة تعيين الأطوار الاستوائية آلياً في التحضيرات الملونة بصبغة غيمزا [٧٥]. وتكرر الصور بعد ذلك على المشغل لفحصها بالعين المجردة. وتزيد سرعة التحليل بمقدار ثلاثة أضعاف تقريباً عن التحليلات التي تجري بطريقة آلية تماماً.

١٣-٢-٥- فحص الانتقالات الكروموسومية باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين

تحقق نجاح هائل باستخدام التلوين بالتهجين الموضعي بالفلورسين في ٣ أو ٤ أزواج من الكروموسومات [٧٥]. واستحدث نظام مؤلف من جهاز حاسوبي وآلة تصوير مبردة مقارنة الشحن. ويستند ذلك النهج إلى خطوتين، حيث يتم أولاً تعيين الأطوار الاستوائية باستخدام ملون فلوري مباين، ويعقب ذلك كشف الانتقالات في الكروموسومات الموسومة بملونات الكروموسومات الكاملة. وقيست من قائمة الانتقالات المرشحة معدلات موجبة كاذبة ومعدلات سالبة كاذبة في مستحضرات الكريات اللفافوية المتفلورة (١٠ في المائة تقريباً) مثلما في حالة ثنائيات القسيم المركزي المناسبة على الشرائح الملونة بالغيمزا [٣١٧]. ويتطلب التألق الفلوري مدة زمنية أطول في الفحص تبلغ ساعة لكل شريحة، ومنها ٢٥ دقيقة لضبط البؤرة آلياً مقارنة مع بضع دقائق في كل شريحة باستخدام الفحص المجهرى بالساحة الساطعة. ولذلك تستخدم شريحة أكبر مع آلة التصوير المتقارنة الشحن لزيادة سرعة الفحص. وعند كشف ألوان الكروموسومات، يكفي فيما يبدو استخدام عتبة بسيطة نسبياً على أساس مخطط توزيع القيم الرمادية بالاقتران مع بعض العمليات المورفولوجية لكشف الكروموسومات أو أجزاء الكروموسومات الموسومة بمجس التلوين الكامل [٣١٨]. واختبرت ملائمة هذا النظام لفحص الانتقالات الكروموسومية في دراسة لكشف الانتقالات المستحثة بالأشعة السينية في الكروموسوم رقم ٤. وأجريت مقارنة بين الفحص الآلي والفحص اليدوي، وتبين أن كفاءة الفحص الآلي تبلغ تقريباً ٩٠ في المائة مقارنة بالفحص اليدوي.

ويمكن زيادة حساسية هذا الأسلوب عن طريق زيادة عدد الكروموسومات المهجنة بلون واحد. على أنه عند زيادة عدد الكروموسومات الملونة فإن إجراءات فصل التلامس الذي يحدث في نهاية المطاف و/أو التداخل بين الكروموسومات تكون أساسية [٣١٩]. وأشار بايبر وآخرون (Piper et al) [٣٢٠] إلى إنشاء جهاز إيجاد أطوار استوائية متفلورة باستخدام معدات متاحة تجارياً ومحطة عمل معيارية تعمل بنظام يونيكس. واستخدمت مجموعة من الكروموسومات الثلاثة رقم ١ ورقم ٢ ورقم ٤ وأجريت مقارنة مع الفحص اليدوي. وكشفت النتائج عن أن المدة الزمنية المطلوبة للتحليل قد تقلصت بمقدار الثلث. وعلاوة على ذلك كشف جهاز تعيين الأطوار الاستوائية عن عدد أكبر من المسحات القابلة للفحص مقارنة بالمسح البصري. ويتميز الفحص الآلي بمزايا إضافية، من أبرزها أن صور الأطوار الاستوائية الرقمية تساعد أحياناً على تحليل التعديلات

الكروموسومية، إذ يمكن إعادة النظر بسهولة في الخلايا لإعادة فحصها وزيادة تحليلها. ويعَدُّ هذا النظام كذلك باستخدام شجرة قرارات ثنائية لتصنيف الأطوار الاستوائية الملحوظة ولتحسين دقة المسح [٣٢١]. ومن المزايا الأخرى للصور الرقمية الملونة المحتفظ بها في الحاسوب إمكانية تحسينها إلكترونياً، ويمكن أن يسمح ذلك في بعض الأحيان بتمييز الانتقالات الكروموسومية البالغة الصغر بصورة أفضل مما يمكن تحقيقه بالعين.

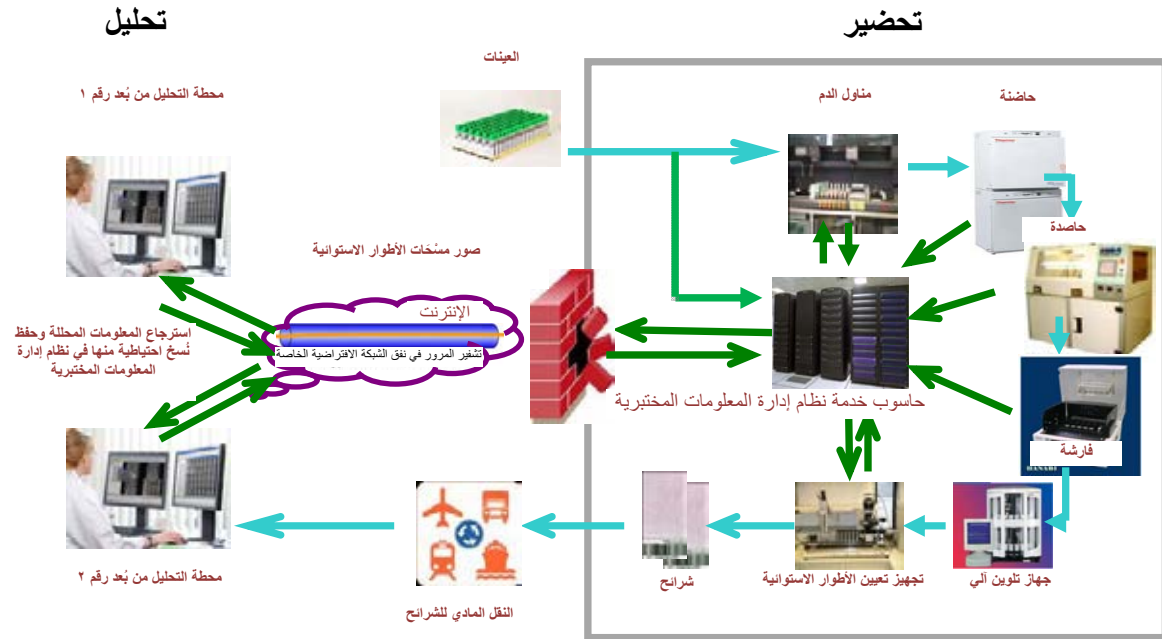
والتوسع الواضح الذي يجري بحثه هو تحليل مستحضرات التهجين الموضعي بالفلورسين المتعدد الألوان عن طريق الجمع بين مكتبات الحمض النووي المحددة الكروموسومات والقُسُيَمَات المركزية في التحليل الآلي للانتقالات الكروموسومية وثنائيات القُسُيَم المركزية في آن واحد.

١٣-٣- نظام إدارة المعلومات المختبرية

يمكن لنظام إدارة المعلومات المختبرية المتاح تجارياً والمصمم حسب الطلب أن يشكل أداة لا يمكن الاستغناء عنها في التغلب على التحديات الناشئة عن زيادة إنتاجية إعداد/تحليل العينات. وبالإضافة إلى ذلك، يمكن لهذا النظام أن يساعد على الحفاظ على السجلات المختبرية العامة المتعلقة بتدريب الأفراد ومعايرة الأجهزة والجرد الكيميائي، وما إلى ذلك. وتتيح إدارة البيانات الإلكترونية من خلال نظام إدارة المعلومات المختبرية فوائد تشمل القدرة على الربط والبحث واسترجاع البيانات والإبلاغ بسرعة عن النتائج بعد الكوارث الإشعاعية. ويوجد العديد من الوحدات وفيما يلي وصف موجز لكل منها:

- **تحديد العينات** - يَعيَّن محدّد الشفرة الخيطي الفريد للعينات.
- **نقل العينات** - قالب منظمة لقيد بيانات ظروف العينات في أثناء نقلها وعند وصولها (مثل بيانات مسجل درجة الحرارة).
- **تحديد الفحوص** - تعيين فحوص المعالجة والفحوص الوراثة الخلوية المناسبة لأي عينة معيّنة (مثل مزرعة الدم الكامل أو عزل الكريات اللمفاوية؛ واختبارات ثنائيات القُسُيَم المركزية أو اختبارات النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي).
- **جدولة العينات** - تحديد أولويات تحليل العينات تبعاً لمدى الاستعجال وإسناد الحالات لعاملين محددين في المختبر.
- **الأمن** - اشتراط التحقق من هوية المستعملين من خلال الكلمات السرية. ويجوز منح المستعملين مزايا مختلفة داخل النظام الفرعي.
- **المراجعة** - تتبع السجلات والتعديلات.
- **الحفظ** - الحفاظ على كفاءة عمل قاعدة البيانات والمساعدة على الحفاظ على سلامة السجلات وضمان الاحتفاظ بنسخ احتياطية للبيانات العلمية في أماكن آمنة.
- **الإبلاغ** - توليد تقارير الحالة الفردية المنسّقة التي يمكن إبلاغها إلى الطبيب المعالج.
- **تكامل الأدوات** - يمكن جمع الأدوات آلياً وترتيبها مباشرة من الوحدات للحد من احتمالات وقوع أخطاء في أثناء النسخ. ويساعد ذلك على تحسين دقة البيانات واتساقها، وهما عاملان حاسمان في أثناء التصدي لحدث ينطوي على إصابات جماعية.

ويرد في الشكل ٤٦ [٣٠١، ٣٠٢] رسم تخطيطي لمختبر قابل للتوسع وغزير الإنتاجية متخصص في الفحوص الوراثة الخلوية الآلية.



الشكل ٤٦: رسم تخطيطي لمختبر فحوص وراثية خلوية غزير الإنتاجية يعمل بطريقة آلية باستخدام شبكة نظام إدارة المعلومات المخبرية. ويمكن نقل الشرائح المجهزة في المختبر المركزي مادياً إلى محطات/مختبرات الفحص أو نقل الصور الملتقطة إلكترونياً إلى المختبرات المستلمة لتحليلها (إهداء من رامكوما وبراسانا، بعهد بحوث البيولوجيا الإشعاعية التابع للقوات المسلحة، الولايات المتحدة الأمريكية).

١٤ - أحداث الإصابات الجماعية

يعرّف حدث الإصابات الجماعية بأنه الحدث الذي يتعرض فيه عدد كافٍ من الأفراد لإصابات تتجاوز قدرة المتصددين المحليين على التصدي [٣٢٢، ٣٢٣]. وعندما ينطوي هذا النوع من الأحداث على إشعاعات فإن النتيجة يمكن أن تمس مجموعة كبيرة من السكان الذين ربما يتلقون نطاقاً من الجرعات الإشعاعية التي تتراوح بين مستويات الخلفية والجرعات الكبيرة التي يمكن أن تنجم عنها عواقب طبية. ويحتاج هؤلاء الأفراد إلى تقييم سريع لمستويات التعرض من أجل تحديد ما إذا كان التدخل الطبي مطلوباً [٤، ٣٢٢، ٣٢٤-٣٢٦].

ويمكن أن تنشأ الأحداث التي تنطوي على إشعاعات عن حادث أو عمل إيدائي، وإذا وقع أي منهما فإنه يمكن أن يتسبب في إصابات بين الجمهور العام. ويمكن أن تكون هناك أيضاً عوامل إرباك، من قبيل الإصابات البدنية التقليدية، ويكون للتعامل مع الإصابات التي تهدد الحياة أسبقية على أنشطة قياس الجرعات وغيرها من الأنشطة [٣٢٧].

ويتسم التخطيط والتأهب بأهمية حاسمة في التصدي الفعال لأحداث الإصابات الجماعية. وفي حالة وقوع طارئ إشعاعي، تشمل الخطوط التوجيهية العامة المقبولة ما يلي: (أ) إنشاء وتدريب فرق تصد محلية ووطنية مجهزة بالمعدات والإمدادات الحاسمة، (ب) معرفة وتطبيق النهج التشخيصي الملائم والمتاح لتقييم الإصابات والجرعات الإشعاعية. (ج) إمكانية الرجوع إلى المختبرات المرجعية، بما فيها المختبرات المتخصصة في تقييم الجرعات عن طريق القياس الوراثي الخلوي والبيولوجي [٣٢٢، ٣٢٨، ٣٢٩]. ومن المكونات الحاسمة في 'مفهوم عمليات' قياس الجرعات بيولوجياً تحديد أوليات اختيار العينات التي ستستخدم في التقييم الوراثي الخلوي السريع لجرعات الفرز والذي يقتضي توالفاً دينامياً بين المتصددين الطبيين وموظفي المختبرات المرجعيين المختصين بالقياس الوراثي الخلوي البيولوجي للجرعات.

١٤-١-١ سيناريوهات التعرضات الإشعاعية المحتملة

١٤-١-١-١ الأحداث الإيدائية

حددت عدة سيناريوهات ممكنة للتعرض الإشعاعي الذي ينطوي على نية إجرامية ويصنّف هنا في ثلاث فئات عريضة [٣٢٢، ٣٢٤، ٣٢٦].

(أ) أجهزة التعرض الإشعاعي تشمل المصادر المختومة الموزعة في بيئة ما ولكنها لا تشكل تهديداً بحدوث تلوث، وإن كان من المتوقع أن ينخفض عدد الأفراد الذين يتعرضون لجرعات قوية.

(ب) أجهزة نشر الإشعاعات تستخدم أجهزة متفجرة أو ميكانيكية لتوزيع المادة الإشعاعية، مما يسفر عن تلوث مشع. ويمكن أن تتأثر منطقة صغيرة نسبياً ويمكن أن تتخذ التعرضات الإشعاعية شكل تلوث داخلي وخارجي وإن كان من المتوقع أن تنخفض الجرعات عن المستويات الهامة طبيياً.

(ج) الأجهزة النووية الارتجالية الصنع تشمل مادة نووية يمكن أن تحدث انفجارات نووية. ويمكن أن يتسبب ذلك في إشعاعات واسعة النطاق وإصابات حرارية ينتج عنها عدد كبير من الوفيات والضحايا الذين يتلقون جرعات إشعاعية قوية. وتتسبب هذه الأحداث في عواقب كارثية.

١٤-١-٢ الأحداث العارضة

يمكن أن تسفر التعرضات الإشعاعية عن عدة سيناريوهات تشمل، ولكن لا تقتصر على ما يلي [٣٢٦]:

(أ) طوارئ المفاعلات المصحوبة بتصدع في عناصر الوقود المشعة في أثناء فقد المبرّد ويمكن أن تسفر عن جرعات قوية يتلقاها العاملون وعامة الجمهور بالقرب من الموقع، ويمكن أن تؤدي إلى تلوث يفضي إلى جرعات منخفضة بين عامة الجمهور على مقربة من مكان الحادث (مثل تشرنوبل).

(ب) يمكن أن تنشأ حوادث الحرجية عندما تسمح عن غير قصد بحدوث انشطار في كميات كافية من مادة نووية خاصة. ويسفر ذلك عن مستويات مرتفعة من التعرض في الأشخاص الذين يوجدون على مسافة قريبة من الحادث (مثلما في توكاي مورا).

(ج) يمكن أن تسفر حالات الطوارئ التي تنطوي على مصادر 'يتيمة' مفقودة أو مسروقة عن العديد من سيناريوهات التعرض تبعاً لقوة النشاط وطول مدة التعرض وتوزيع المصدر. ويمكن أن يؤدي هذا النوع من حالات الطوارئ إلى تلقي جرعات قوية في الجسم بكامله أو في أجزاء منه فضلاً عن تلوث داخلي أو خارجي (مثل جوانيا).

١٤-٢- التجربة التاريخية

هناك العديد من الأمثلة في الماضي القريب استخدمت فيها القياسات البيولوجية الوراثة الخلوية لتقييم التعرضات الإشعاعية عقب الحوادث العارضة التي انطوت على إصابات متعددة (الشكل ١٧).

الجدول ١٧: أمثلة مختارة استخدمت فيها القياسات البيولوجية الوراثة الخلوية في الحوادث الإشعاعية المنطوية على إصابات متعددة

سنة وقوع الحادث	موقع الحادث	عدد الأشخاص الذين شملهم الحادث	ثنائيات القُسَم المركزي	التكثف الكروموسومي المبتسر	التهجين الموضعي بالفلورسين	النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي	المراجع
		١٠٠ ٠٠٠ <	٤٣٦				[٣٤٤، ٣٤٣، ٣٤٢]
١٩٨٦	تشرنوبل، أوكرانيا		١٧٥٥		٩٧		[٣٤٧، ٢٣٦، ٢٣٥]
					١٤٠		[٢٩٧، ٢٦٠، ٢٥٩]
١٩٨٧-١٩٨٦	ليلو، جورجيا	١١	١١				[٢٤٧]
					٤		[٢٤٨]
١٩٩٧	جوانيا، البرازيل	٢٥٠	١٢٩				[٣٥٠]
١٩٩٥	إسطنبول، تركيا	٢١	٢١	١٠		١٠	[٣٤٩]
					٥		[١٥٨]
١٩٩٨	ماتخوجي، جورجيا	متعددون	٨٥				[٣٣٣]
		٤٣	٤٣				[٣٥١]
١٩٩٩	توكاي - ميورا، اليابان			٣			[٢٥٣]
							[٢٥٤]
٢٠٠٠	بانكوك، تايلند	متعددون	٢٨	٢٨			[٣٥٢]
٢٠٠٥	كونسبسيون، شيلي	٢٣٣	٤٥		١		[٣٥٣]
٢٠٠٦	داكار، السنغال	٦٣	٣٣				[٣٥٤]

^١ باثر رجعي.

ويمكن أن تتميز الحوادث بخصائص مختلفة، كأن تكون مثلاً حدثاً فجائياً معروفاً تقع فيه إصابات كثيرة محددة في مدة زمنية قصيرة (مثل تشرنوبل)، أو حالة تتطور ببطء أكثر ويتأخر فيها اكتشاف الأفراد المعرضين (مثل جوانيا). ويمكن أيضاً للحادث أن يقتصر على بضع حالات حقيقية مصحوبة بضغوط عامة هائلة لتوسيع قياس الجرعات بيولوجياً ليشمل المجتمعات المجاورة حتى وإن لم يكن هناك سوى القليل من الأدلة المادية، إن وجدت أصلاً، لتبرير ذلك الإجراء (مثل توكاي مورا). وفي هذه الحالة، تمكّن مختبر القياسات البيولوجية الوراثة الخلوية التابع للمعهد الوطني للعلوم الإشعاعية من تحديد الجرعات التي تلقاها ٢٦٥ شخصاً من خلال مسح أماكنهم في أثناء الحدث وطمأنتهم بعدم تلقي أي جرعات ملموسة [٣٣٠]. وخضعت أيضاً مجموعة من ٤٣ شخصاً في أحد مرافق تجهيز اليورانيوم تؤكد تعرضهم لجرعات طفيفة على أساس قياسات الصوديوم - ٢٤ في الجسم بكامله عن طريق تحليل الانحرافات الكروموسومية.

واستخدمت على مر التاريخ القياسات البيولوجية الوراثة الخلوية للجرعات من خلال تحليل ثنائيات القُسَم المركزي، إلى جانب التعداد الروتيني لخلايا الدم البيضاء كفحص أولي لتقدير الجرعات بعد التعرضات العارضة التي تنطوي على إصابات متعددة (انظر الجدول ١٧). ومع ذلك فقد استخدمت الفحوص الوراثة الخلوية الأخرى (التهجين الموضعي بالفلورسين، والتكثف الكروموسومي المبتسر، والنويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي) لتأكيد تلك التقديرات، وغالباً ما أجريت تلك الفحوص بعد شهور أو سنوات من وقوع الحادث.

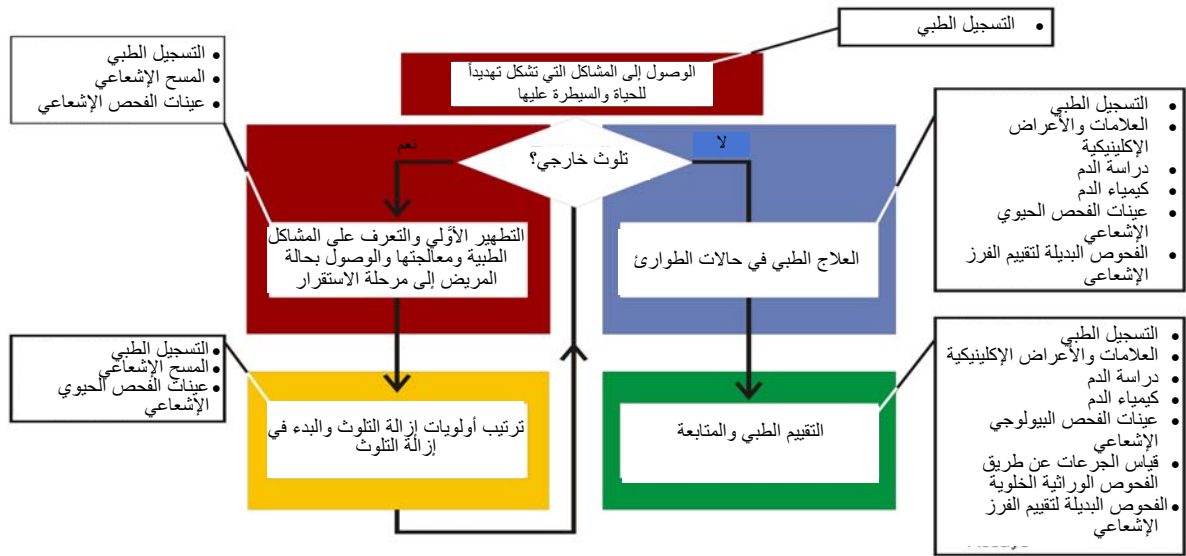
١٤-٣- دور القياس البيولوجي

١٤-٣-١ أساليب تقييم التعرض الإشعاعي

في أعقاب الأحداث الإشعاعية التي تنطوي على إصابات جماعية يعنى الفيزيائيون أساساً بالحفاظ على الحياة وتقييم العلامات والأعراض الطبية للتعجيل باتخاذ قرارات العلاج. وينطبق على الإشعاعات الحادة في الأطوار الأولى [٦، ٢٥، ٣٢٢، ٣٢٥ - ٣٢٧، ٣٢٩] العديد من تقييمات التعرضات الإشعاعية التي قيّمت بناءً على توافق دولي في الآراء بين الخبراء. وتبعاً للسيناريو الإشعاعي والموارد المتاحة ينبغي تنفيذ أساليب التقييم الإشعاعي الملائمة في حالات الطوارئ الإشعاعية التي تنطوي على إصابات جماعية.

١٤-٣-٢ مفهوم عمليات القياس البيولوجي

يتناول المرجعان اللذان أصدرتهما الوكالة الدولية للطاقة الذرية [٣٢٢، ٣٢٣] وكذلك الموقع الشبكي لوزارة الصحة في الولايات المتحدة الأمريكية [٣٣١] بالوصف الدقيق الخطوط التوجيهية العامة فيما يخص 'مفهوم العمليات' لطلّاع المتصدّين في الحادّثات الإشعاعية التي تنطوي على إصابات جماعية. على أن تنفيذ نهج تقييم الجرعات بيولوجياً باستخدام مجموعة متعددة من البارامترات في حالات الطوارئ الإشعاعية المنطوية على إصابات جماعية يمكن أن يشكّل عامل إرباك كبير ما لم تتم الاستعانة بفرق من الخبراء المتخصصين [٣٢٢، ٣٢٣]. ويبين الشكل ٤٧ مكونات استراتيجية المساعدة في موقع التدريب التابع لمركز المساعدة في حالات الطوارئ الإشعاعية واستراتيجية المعالجة في معهد بحوث البيولوجيا الإشعاعية التابع للقوات المسلحة في الولايات المتحدة الأمريكية إلى جانب مفهوم العمليات المتعلق باستعمال القياس البيولوجي المتعدد البارامترات [٣٢٩].



الشكل ٤٧: مفهوم عمليات القياس البيولوجي للجرعات في أثناء إدارة الطوارئ الإشعاعية المصحوبة بإصابات رضية أو أمراض. ويبين الشكل وظائف القياس البيولوجي في خطوات الإجراءات الفردية في خوارزمية موقع التدريب التابع لمركز المساعدة في حالات الطوارئ الإشعاعية ومعهد بحوث البيولوجيا الإشعاعية التابع للقوات المسلحة الأمريكية بشأن 'علاج المرضى من الإشعاع' [٣٢٩].

ويمكن للأساليب الحالية المتبعة في تقييم التعرضات الإشعاعية والتكنولوجيات الناشئة أن تساهم في تقييم الإصابات والجرعات الإشعاعية. ولا بد من البحث والتطوير لترسيخ مفهوم الفرز التشخيصي من أجل تيسير بلورة مفهوم وظيفي لعمليات القياس البيولوجي للجرعات في حالات الطوارئ الإشعاعية التي تنطوي على إصابات جماعية [٣٢٩]. ويجب أن يكون الفحص الأولي لأعراض الفرز الإشعاعي سريعاً (فحص واحد في كل دقيقة أو أقل) ويجب أن تستخدم أجهزة محمولة باليد، ومن المثالي أن تشمل اختبار الاستخدام الذاتي. وقد تتطلب فحوص الإشعاعات من الدرجة الثانية والدرجة الثالثة خبرات أكبر وقد تستغرق وقتاً أطول (أكثر من يوم واحد) لاستخدامها ولكنها تنسم بخصوصية إشعاعية أكبر.

وحالما يتم التعرف على المرضى الذين يمكن أن يكونوا قد تعرضوا للإشعاع، يوصى بإجراء قياس بيولوجي لجرعاتهم لتأكيد الاشتباه بتعرضهم وتحديد مستوى الجرعة. ويهدف الفرز الوراثي الخلوي أساساً في مرحلة التصدي الأولى لحالة الطوارئ الإشعاعية إلى إجراء تقدير سريع لجرعة كل مريض محال لتكميل التقييم الإكلينيكي المبكر. وبالرغم من أن هذه التقديرات الأولى قد لا تكون دقيقة بدرجة كبيرة فإن الهدف منها تصنيف المريض ضمن واحدة من أربعة نطاقات للجرعات (١ غراي إلى ٢ غراي، و٢ غراي إلى ٤ غراي، و٤ غراي إلى ٦ غراي، وأكثر من ٦ غراي) لتقديم معلومات في الوقت المناسب إلى الأوساط الطبية التي يمكن الاستعانة بها في معالجة المريض [٤]. ويمكن أيضاً في هذه المرحلة رفض العينات الموجبة الكاذبة بسبب أعراض من قبيل القيء الناشئ عن أسباب أخرى. ويمكن أيضاً في هذه المرحلة تحديد التعرضات التي تصيب جزءاً من الجسم.

وبمجرد أن تزول الحاجة الملحة الأولية إلى القياس التقييمي السريع يمكن مواصلة تحليل المرضى الذين يحددون بأنهم تلقوا جرعات ملموسة للحصول على تقديرات أدق.

وبعد انتهاء حالة الطوارئ وإجراء قياس أدق لجرعات من يحددون بأنهم قد تعرضوا للإشعاع، تستمر متابعة الأشخاص الذين تلقوا جرعات منخفضة بدرجة كبيرة أو الذين لم يتلقوا أي جرعات ولكنهم في حاجة إلى طمأنة. وسوف يلزم أيضاً إجراء دراسات متابعة وبائية باستخدام تقنيات أخرى مثل التهجين الموضعي بالفلورسين.

١٤-٣-٣- التواصل مع الأوساط الطبية

التواصل بين الأوساط الطبية ومختبرات القياس البيولوجي للجرعات مسألة جوهرية. وينبغي أن يتم ذلك في كنف من السرية الطبية [٣، ٤]. ويمكن الاستفادة كثيراً من أي معلومات تقدمها الأوساط الطبية لمساعدة أخصائي القياسات البيولوجية في تحديد أولويات العينات. ومن الأساسي بنفس القدر اتصال مختبرات القياس البيولوجي بالأوساط الطبية في الوقت المناسب لمساعدتها في اتخاذ قراراتها بشأن معالجة المرضى. وهذه الحاجة إلى التواصل المستمر تُبرز أهمية دقة متابعة العينات في أثناء التصدي للحدث. ومن الأساسي وجود نظام فريد ويقوم على أسس راسخة وموثقة لترميز العينات (مثل نظام إدارة المعلومات المختبرية المبني في القسم ١٣-٣) حتى يمكن تتبع العينات منذ جمعها حتى تجهيزها وتحليلها وإبلاغ نتائجها إلى الأوساط الطبية. وتتعامل مختبرات الفحوص الوراثة الخلوية مع عينات عمياء بينما يتعامل المهنيون الطبيون مع أسماء. ويحتاج المختبر إلى تحديد الأفراد الذين سيحصلون على المعلومات من نظام إدارة المعلومات المختبرية أو الوثائق المماثلة لإبلاغها إلى المهنيين الطبيين. وسوف يتعين على هؤلاء الأفراد فك شفرة الترميز حتى يمكنهم الاتصال بالأطباء الفيزيائيين وبالتالي ربما يفضل عدم اشتراكهم في فحص العينات.

١٤-٤- الاستراتيجيات القائمة بشأن الإصابات الجماعية

١٤-٤-١- الفحص التقييمي

يمكن تطبيق الفحص التقييمي السريع على العديد من الاختبارات الوراثة الخلوية المستخدمة في القياس البيولوجي للجرعات. وثبت أنه عن طريق فحص ٥٠ خلية (أو ٣٠ من ثنائيات القسيم المركزي) في فحص ثنائيات القسيم المركزي، يمكن تقدير الجرعات بدقة كافية لتزويد الأوساط الطبية بتقديرات مفيدة. وتبين أيضاً أنه يمكن بهذا الأسلوب في الفحص الحصول على تقديرات لجرعات في حدود ١ غراي [٣٣٢، ٣٣٣]. ومقارنة بالفحص الكامل لثنائيات القسيم المركزي في عدد يتراوح بين ٥٠٠ و ١٠٠٠ خلية، يزيد هذا الأسلوب التقييمي من الإنتاجية بعشرين ضعفاً. وسعيًا إلى زيادة سرعة الفحص، قام فليغال وآخرون (Flegal et al) بإدخال أسلوب المسح السريع (QuickScan) الذي لا يُفحص فيه سوى الضرر الذي يصيب كل خلية دون اشتراط وجود ٤٦ قسيماً مركزيًا، ولا يفحص في هذا الأسلوب سوى الخلايا التي تبدو كاملة. ويقلل هذا الأسلوب مدة الفحص المجهرية بمقدار سدس آخر [٣٣٤].

ومن المفيد بشكل خاص استخدام التكثف الكروموسومي المبتر لتقدير التعرض لجرعات قوية في حالات الإصابات الجماعية. وتبين أن أسلوب حلقات التكثف الكروموسومي المبتر مفيد في القياس التقييمي للجرعات التي تزيد على ٦ غراي، حيث يقيس ٣٠٠ خلية من خلايا التكثف الكروموسومي المبتر أو ٥٠ حلقة [٣٣٥]. على أن هذا الفحص له قيوده بالنسبة لمنطقة الجرعات الضعيفة.

ويمكن أيضاً تطبيق الفحص التقييمي على اختبارات النويات الناشئة عن وقف انقسام هيولي. ويوصى في القياس البيولوجي المعياري فحص ١٠٠٠ خلية ثنائية النواة. على أنه ثبت مؤخراً أن فحص ٢٠٠ خلية ثنائية النواة يسمح بتحديد الجرعات التي تزيد على ١ غراي [٣٣٥] ويبلغ الوقت المطلوب لفحص ٢٠٠ خلية ثنائية النواة ١٥ دقيقة تقريباً وبالتالي فهو أسرع كثيراً من الفحص التقييمي لثنائيات القسيم المركزي ولا يزال أسرع قليلاً من أسلوب المسح السريع. ومن المزايا الأخرى لهذا الأسلوب أنه يتطلب خبرة وتدريباً أقل من الخبرة والتدريب المطلوبين في فحوصات ثنائيات القسيم المركزي وبالتالي يمكن تدريب الفاحصين عليه بسرعة في حالات الإصابات الجماعية.

١٤-٤-٢- الأتمتة

نوقشت الأتمتة بالتفصيل في القسم ١٣. ومن الواضح أن الأتمتة تزيد الإنتاجية وتوفر الموارد البشرية لإجراء مهام أخرى مطلوبة في أثناء أحداث الإصابات الجماعية. ويمكن أن يشمل ذلك أتمتة تجهيز الدم وحصد الأطوار الاستوائية، وتعيين الأطوار الاستوائية، وفحص ثنائيات المركز أو النويات.

١٤-٤-٣- الشبكات

أنشأت عدة دول مختبرات مرجعية متخصصة في قياس الجرعات عن طريق الفحوص البيولوجية الوراثة الخلوية. وقامت مؤخراً بعض هذه المختبرات بإنشاء شبكات وطنية وإقليمية لتعزيز قدراتها [١١٨،

٣٣٧، ٣٣٨]. واستعرضت مختبرات أخرى مواردها وقدراتها الوطنية بغرض تكوين شبكة إقليمية [٣٣٩]. وأنشأت أيضاً وكالات الأمم المتحدة (الوكالة الدولية للطاقة الذرية، ومنظمة الصحة العالمية) التي تقدّم تعاوناً دولياً في مجال القياس البيولوجي للجرعات شبكات للفحوص الوراثة الخلوية [٣٤٠، ٣٤١] (الجدول ١٨). ويوجد عدد قليل جداً من البلدان التي لديها أكثر من مختبر للفحوص الوراثة الخلوية، وتتولى هذه المختبرات أساساً وظيفة إجراء القياس البيولوجي للجرعات. على أنه قد يوجد الكثير من الخبرة الفنية في مجال الوراثة الخلوية في معاهد بحثية أخرى، خاصة في أقسام الوراثة الإكلينيكية في المستشفيات. ونفذت الشبكات الوطنية (في بلدان مثل فرنسا وكوريا واليابان وكندا) ترتيبات شملت التدريب الذي يمكن من خلاله تعبئة الخبرة الفنية فوراً تحت قيادة مختبر مرجعي متخصص في القياس البيولوجي للجرعات. ويتطلب التواصل بين هذه الشبكات، سواءً على المستوى الوطني أو الدولي، تنسيق البنية الأساسية اللوجستية، وإدارة البيانات، والاتصالات. وتتيح أيضاً هذه الشبكات منطلقاً متميزاً للتمرين والدراسات المقارنة لضمان تحقيق الأداء المناسب في كل مختبر وشبكات القياس البيولوجي للجرعات باستخدام فحوص الوراثة الخلوية. ويعزز استخدام شبكات الفحوص الوراثة الخلوية القدرة على استخدام تقديرات الجرعات التقييمية والمرجعية عن طريق التحليل الوراثي الخلوي في الأحداث الإشعاعية التي تنطوي على إصابات جماعية.

الجدول ١٨ : ملخص الشبكات القائمة المختصة بالقياس البيولوجي للجرعات

الموقع	الاسم	القيادة	المشاركون (العدد أو الاسم)	الفحوص المستخدمة ^١
شبكات دولية	على نطاق العالم	شبكة التصدي والمساعدة	الوكالة الدولية للطاقة الذرية	متغير باستمرار ^٢
	على نطاق العالم	شبكة الجرعات البيولوجية	منظمة الصحة العالمية	٦٣
	أوروبا	الشبكة الثلاثية	تبعاً لموقع الحدث	المملكة المتحدة، وفرنسا، وألمانيا ^١
أمريكا اللاتينية	أمريكا اللاتينية للقياس البيولوجي للجرعات	شبكة أمريكا اللاتينية للقياس البيولوجي للجرعات	الارجنتين - ٢، والبرازيل، وتشيلي، وكوبا، والمكسيك، وبيرو، وأوروغواي	ثلاثيات القسّم المركزي، والنويات الناشئة عن وقف انقسام اليهولي ^٣
وطنية	كندا	شبكة طوارئ الوراثة الخلوية	إدارة الصحة الكندية	ثلاثيات القسّم المركزي، والنويات الناشئة عن وقف انقسام اليهولي ^٤
	فرنسا	شبكة القياس البيولوجي للجرعات	مختبران من لجنة الطاقة الذرية ومختبر واحد من المتحف الوطني للتاريخ الطبي	ثلاثيات القسّم المركزي، والنويات الناشئة عن وقف انقسام اليهولي ^٧
	اليابان	شبكة الكروموسومات	المعهد الوطني للعلوم الإشعاعية	ثلاثيات القسّم المركزي، والنويات الناشئة عن وقف انقسام اليهولي ^٦
	كوريا الجنوبية	الشبكة الكورية لقياس الجرعات الإشعاعية بالبحر	المعهد الكوري للعلوم الإشعاعية والطبية	ثلاثيات القسّم المركزي، والنويات الناشئة عن وقف انقسام اليهولي ^٦

١ - يتم تداول القيادة بين البلدان المشاركة كل سنتين.

٢ - فحص ثلاثيات القسّم المركزي هو التقنية المستخدمة لأغراض التعاون المتبادل، وتستخدم تقنيات التكثف الكروموسومي المتبسر، والنهجين الموضوعي بالفلورسين، وفحص النويات الناشئة عن وقف انقسام اليهولي على الأقل لدى بعض شركاء الشبكة.

٣ - مشاركون في القيادة.

٤ - جزء من الشبكة الأوسع للمساعدة والتصدي.

١٥ - برامج الجودة ومعايير المنظمة الدولية لتوحيد المقاييس

١٥-١ - الأساس المنطقي لبرنامج ضمان ومراقبة الجودة

يثبت هذا المنشور عدم وجود أي إجراءات متبعة عالمياً في الفحوص الوراثية الخلوية المستخدمة في قياس الجرعات بيولوجياً. وتتشابه عموماً الأساليب التي تنتهجها المختبرات، ولكن عند النظر في التفاصيل الدقيقة لهذه الأساليب يتبين وجود بعض التفاوتات التي يمكن أن تؤثر على جودة النتائج. وبالتالي من المعقول توقع قيام كل مختبر من المختبرات التي تقدم هذه الخدمة بتطوير برنامج للجودة يضمن قوة ودقة إجراءاته وإمكانية تكرارها.

و ضماناً لجودة مخرجات مختبرات القياس البيولوجي للجرعات على امتداد فترات زمنية طويلة، يجب أن تركز عملياتها بقوة إلى المبادئ العلمية والتحقق من الأساليب والتثبت من المنتجات. ويتيح برنامج الجودة الكامل استراتيجية لضمان جودة منتجات المختبر سواءً أكانت قياسات أم خدمات. وعلاوة على ذلك فإن هذه القدرات تقتضي مقارنة دورية مع قدرات المختبرات المعنية بقياس الجرعات بيولوجياً من خلال فحوص الوراثة الخلوية المؤهلة، وينبغي أن تتمتع هذه المختبرات بمؤهلات مناسبة، وأن تتسم عملياتها بالاستقرار، وينبغي تقييم منتجاتها النهائية دورياً لتأكيد وفائها بالمواصفات المحددة سلفاً.

وتؤكد تقييمات الأقران الدورية وإجراءات الجودة الموثقة استقرار التشغيل في الفترات الواقعة بين تقييمات الكفاءة الرسمية على أساس المعايير الموثقة في إطار برنامج داخلي لضمان الجودة.

ويجب أن يوفر برنامج ضمان الجودة الداخلي تقييمات للبرامج، ويجب أن يهيئ بيئة العمل الملائمة، ومؤهلات العاملين، والأجهزة، والمعايرة، واختزال البيانات، ونظام السجلات، والإبلاغ عن البيانات. وتوفر مراقبة عمليات الفحوص الوراثية الخلوية في الفترات الواقعة بين تقييمات الكفاءة وسيلة أخرى لضمان الحصول على منتجات نهائية بجودة يمكن تكرارها. ويكفل الأخذ بنهج كلي في إدارة الجودة استمرار تحسين العمليات من.

وتقيم اختبارات الكفاءة دورياً اتساق القياسات عن طريق مقارنتها بمختبرات القياسات البيولوجية الوراثة الخلوية المشهود لها بالكفاءة والمتمتعة بالمؤهلات المناسبة (انظر المرفق السابع) وتختبر المختبر وقدراته للتحقق من أنه يستطيع تقديم منتجات و/أو خدمات، أي تقديرات للجرعات، بمستوى رفيع من الجودة. ومن العناصر الأساسية إجراء الاختبارات بنجاح ضمن حدود الدقة المحددة. وعلاوة على ذلك، يمكن استخدام عملية القياس للتثبت من جودة المخرجات التي تحققها خدمات/منتجات المختبر. ويمكن في المجال المحدد لقياس الجرعات بيولوجياً استخدام استراتيجيتين لاختبار كفاءة القياس: (١) ترسل إلى مختبر الخدمة العينات المعرّضة لجرعة إشعاعية معلومة داخل المختبر، ومعدل الجرعة، ونوعية الإشعاع لتحليلها، (٢) يشترك المختبر في دراسة مقارنة بين المختبرات تشمل العينات المرسلّة إلى مختبرات مشهود لها بالكفاءة أو مختبرات تتمتع بالمؤهلات المناسبة لتحليلها. وفي كلتا الحالتين، تُجرى التحليلات وتعد المقارنات بين القيمة التي يقدمها مختبر ما والقيمة المقدمة من المختبر القائم باختباره. ويرسل بعد ذلك تقرير إلى المختبر لإبلاغه بنسبة الفرق. ويقتصر الاختبار المباشر على قدرات القياس في المختبر. ومن الناحية الأخرى، عندما يفحص المختبر منتجاته ويرسلها أيضاً إلى المختبر القائم بالاختبار للحصول على قياسات تأكيدية وتتبعية صريحة فإن ذلك يعني اختبار العمليات التحليلية وقدرات القياس في كلا المختبرين.

ويمكن ضمان جودة وسلامة قياسات أو خدمات المختبرات من خلال الجمع بين كل هذه الاستراتيجيات في ضمان الجودة. وتتمثل إحدى الاستراتيجيات الرئيسية في التركيز على برامج ضمان الجودة القوية الداخلية وتقييمات الخبراء النشطة والشاملة داخل الموقع، والتفقد الصارم بمعايير التشغيل الموثقة، وتقييم المختبرات من خلال الفحوص 'العمياء'. وسوف تضمن هذه الفحوص بقاء العمليات التحليلية تحت السيطرة في حدود أهداف الدقة المحددة. وبالرغم من اشتراط تقييم المنتج النهائي دورياً (كل سنة أو ثلاث سنوات) يمكن إجراء ذلك التقييم على فترات أطول قدر المستطاع عندما تبقى العمليات التحليلية تحت السيطرة.

وينبغي أن تشمل خطط ضمان جودة مختبرات خدمة القياس البيولوجي للجرعات العناصر التالية:

- تحديد وإعداد العينات
- التثبت من سلامة الإجراءات أو الأساليب
- القياس
- اختزال المعطيات
- التوثيق

وينبغي أن تشمل خطة ضمان الجودة إجراءات منهجية لضمان الثقة الكافية في أن القياس أو الإجراء سينفذ بطريقة مرضية.

وكان من الواضح أن المنظمة الدولية لتوحيد المقاييس هي الجهة المناسبة لتحديد وصياغة تلك المجموعة من القواعد المشتركة. وتوضع المعايير في المنظمة الدولية لتوحيد المقاييس على أساس مبادئ عامة طوعية وتوافقية وتغطي المجال برمته. وعلاوة على ذلك يخضع مشروع كل معيار لاستعراض من الأقران في فريق عامل متخصص، ثم البلدان المشاركة من خلال ممثليها في المنظمة. ويجوز بعد نشر المعيار استخدامه مباشرة أو تنفيذه ضمن المعايير الوطنية. واقتُرح في عام ١٩٩٨ إنشاء فريق عامل معني بتوحيد القياس البيولوجي للجرعات ووافقت عليه المنظمة الدولية لتوحيد المقاييس في عام ١٩٩٩ ضمن اللجنة التقنية رقم ٨٥، الطاقة النووية، على مستوى اللجنة الفرعية رقم ٢ المعنية بالوقاية من الإشعاعات. ويشمل الفريق العامل ١٣ أخصائياً من ١١ بلداً بالإضافة إلى ممثل عن الوكالة الدولية للطاقة الذرية. ويقدم المعيار رقم ١٩٢٣٨ الذي نُشر في عام ٢٠٠٤ المعايير الموحدة للمختبرات الخدمية التي تجري قياسات الجرعة الحيوية باستخدام علم الوراثة الخلوي [٣].

١٥-٢- الهيكل الحالي لوثيقة المعيار الموحد ١٩٢٣٨ [٣]

تنقسم الوثيقة في شكلها الراهن إلى ١١ فصلاً وهي حافلة بالمعلومات.

وتتناول السمات الرئيسية الميَّنة في هذه الوثيقة ما يلي:

(أ) سرية المعلومات الشخصية المتعلقة بما يلي:

١' نقل البيانات السرية المتعلقة بالمريض أو ظروف التعرض الزائد من الطبيب الذي يمثل المريض (أو المريض نفسه) إلى المختبر.

٢' عدم الإفصاح عن هوية صاحب عينة الدم والحفاظ على سرية نتائج التقرير.

٣' التزام السرية داخل المختبر.

(ب) المخاطر المحتملة التي يتكبدها موظفو المختبر في أثناء تجهيز عينات الدم التي يمكن أن تكون مُعدية. وبينما لا تقتصر هذه المشكلة على قياس الجرعات بيولوجياً في حد ذاته فإنها أساسية، فيما يبدو، لتأكيد الحد الأدنى من متطلبات الأمان الميكروبيولوجي والكيميائي والبصري.

(ج) يمثل إنشاء منحنى معايرة ملائم واحد على الأقل داخل المختبر الخدمي شرطاً أساسياً لتقدير الجرعة. ويتعيَّن بصفة خاصة إعداد هذا المنحنى باستخدام نفس البروتوكولات المختبرية التي يستخدمها المختبر في كل تقديرات الجرعات. ويجب أن يشمل التقرير ظروف تجربة توفيق منحنى المعايرة، مثل طبيعة المصدر، ومعايرة المصدر فيزيائياً، ونطاقات الجرعة، ومستويات الكشف الدنيا.

(د) بينما لا يسيطر المختبر الخدمي على بعض الظروف، مثل جودة عينة الدم المأخوذة وطريقة إرسالها، فإن عليه فور تلقيه العينة تجهيزها بطريقة سليمة وإجراء تقدير للجرعة، وأخيراً إعداد تقرير يراجع به ويعتمده خبير مؤهل.

(هـ) ينبغي أن يتضمن تقرير المختبر روتينياً أي معلومات ذات صلة يقدمها العميل لأن هذه المعلومات قد تؤثر على تفسير الاستنتاجات. ويجب أن يشمل التقرير كل الانحرافات الكروموسومية الملحوظة ويجب تفسيرها وفقاً للفهم السائد بشأن آليات تكوين الانحرافات الكروموسومية المستحثة بالإشعاع.

(و) ينبغي أن تشمل خطط ضمان جودة المختبرات الخدمية إجراءات داخلية لضمان دقة واستقرار الأداء على الأجل الطويل بالإضافة إلى تقييمات الأقران الدورية/المعايير المقارنة مع برنامج مرجعي خارجي. وتعالج العناصر العامة التالية: تحديد وإعداد العينات، والتثبت من سلامة الإجراءات أو الأساليب، والقياسات والأجهزة، وتفسير البيانات، وحفظ السجلات، والوثائق.

٣-١٥- تطبيق الفرز السكاني

كما جاء من قبل في القسم ١٤ فإن إمكانية وقوع طوارئ نووية وإشعاعية تنطوي على إصابات جماعية بسبب الحوادث أو الأعمال الإذائية حاضرة باستمرار. وسوف يقيّم الأفراد في أعقاب تلك الحوادث إكلينيكيًا ويصنفون على أساس أي علامات وأعراض أولية تشير إلى حدوث تعرض زائد بالإضافة إلى المعلومات المتاحة عن تأثير الطوارئ عليهم. ومن المناسب أيضاً في هذه المرحلة المبكرة من التصدي للطوارئ الإشعاعية إجراء فرز وراثي خلوي، أي استخدام الضرر الكروموسومي لتقييم الجرعات الإشعاعية التي يتلقاها الأفراد تقييماً تقريبياً وسريعاً من أجل تكميل التصنيف الإكلينيكي الأولي للضحايا.

على أن الأخصائيين الإكلينكيين يحتاجون بمرور الوقت إلى تقديرات أدق سواء للجرعات الضعيفة أو المخاطر المتصلة بحدوث آثار عشوائية متأخرة وكذلك بالنسبة للجرعات الأقوى تحسباً لأي تفاعلات شديدة في الأنسجة. ويتوقع أن يحقق الفحص الوراثي الخلوي الثاني تقديراً أدق كميّاً وأن يبحث أيضاً عن أي أدلة تثبت عدم تجانس التعرض.

على أن هذا الحدث يمكن أن يتجاوز أيضاً موارد مختبرات قياسات الجرعات البيولوجية المحلية، ويتطلب تدخلاً من مختبرات أخرى في إطار شبكة من مختبرات القياس البيولوجي للجرعات (انظر القسم ١٤-٣). وأجرى العديد من مختبرات القياس البيولوجي للجرعات تقديرات سريعة مستقلة وناجحة في حالات الطوارئ أو التمرين التي تنطوي على إصابات جماعية. وشمل هذا النهج القائم أساساً على فحص ثنائيات القُسَم المركزي، تخطيطاً مسبقاً، وتكديساً للكواشف، وتجهيزاً بسيطاً للعينات، وأتمتة، ومعايير فحص، وتواصل عبر الشبكات مع المختبرات المتخصصة الأخرى. وبالرغم من أن المختبرات تلتزم بمبادئ المعيار الموحد ١٩٢٣٨ [٣] فإن الخروج أحياناً عن البروتوكول الدقيق مطلوب للوفاء بشرط سرعة التصدي وتقدير الجرعات.

واستناداً إلى هذه الخبرة، عرّف معيار موحد جديد صدر عن المنظمة الدولية لتوحيد المقاييس تحت رقم ٢١٢٤٣ ونُشر في عام ٢٠٠٨ "معايير الأداء للمختبرات التي تجري فرزاً باستخدام علم الوراثة الخلوي لتقييم الإصابات الجماعية في حالة الطوارئ الإشعاعية أو النووية. المبادئ العامة وتطبيقاتها على فحص ثنائيات القُسَم المركزي" [٤].

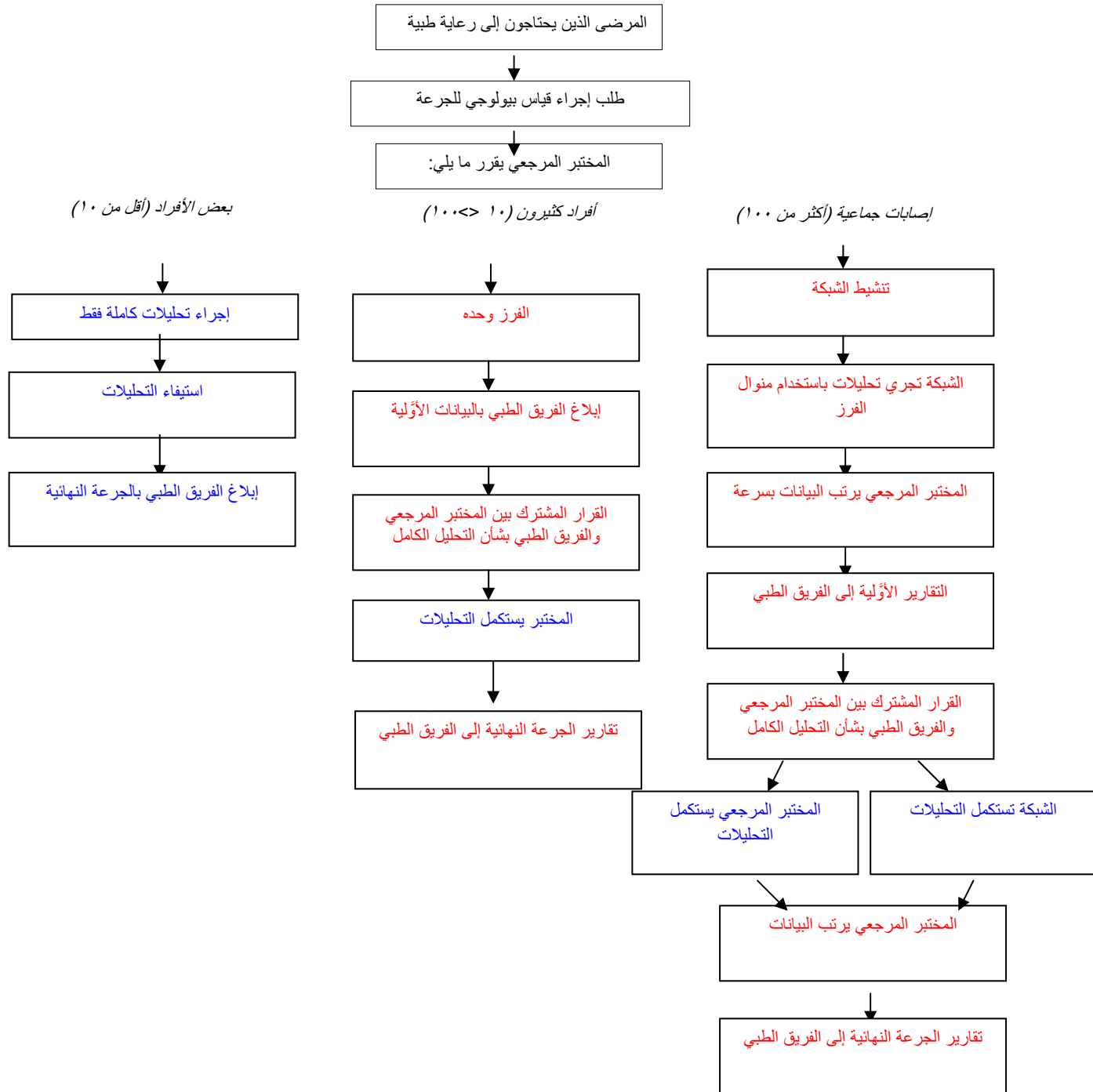
وكتب هذا المعيار في شكل إجراءات يتم اتباعها عند إجراء قياس بيولوجي للجرعات في حالات الفرز عندما تكون المعايير المطلوبة لتلك القياسات متوفرة في العدة على تطبيق النتائج: الإدارة الطبية عند الاقتضاء، وإدارة الوقاية الإشعاعية، والاحتفاظ بالسجلات، والمتطلبات الطبية/القانونية. من ذلك مثلاً إجراء تحليل لمجموعة مختارة من الحالات للحصول على تقييم أدق لتعرض جزء من الجسم لجرعة قوية؛ وثانياً، تقدّر الجرعات في الأشخاص المعرضين تحت عتبة الآثار القطعية باستخدام المعيار الموحد ١٩٢٣٨.

فيما يلي ملخص محتوى المعيار الموحد ٢١٢٤٣:

(١) قبل الحدث، تقع على كل مختبر المسؤولية عن الآتي:

- (أ) الاحتفاظ بمخزون من الكواشف المطلوبة والمواد المختبرية المستهلكة الأخرى أو يجب أن يكون قادراً على الحصول عليها فوراً من المخزون المحلي أو الحكومي أو الوطني أو من مورد تجاري.
- (ب) الاحتفاظ بخطط اتصالات ثابتة مع مرافق الرعاية الصحية المحلية/الحكومية/الاتحادية.
- (ج) تحديد وتوثيق المسؤوليات والأدوار والعلاقات المتشابكة بين كل العاملين في المختبر الذين تؤثر على وظائفهم على جودة القياس البيولوجي للجرعات في حالات الطوارئ.
- (د) معرفة قدرات الإنتاج القصوى فيما يتعلق بتجهيز العينات (الوقت مقابل العدد).

- (هـ) الاحتفاظ ببرنامج خاص لمراقبة وضمان الجودة.
- (و) المشاركة، حسب الاقتضاء، في برامج التعليم والتدريب والتمرين ذات الصلة
- (ز) المشاركة في دراسات المقارنة الدورية بين المختبرات.
- (٢) في أثناء الحدث:**
- (أ) يطلب المختبر المرجعي المسؤول عن تقدير الجرعة تعاون مختبرات الشبكة عندما يتجاوز عدد الحالات المطلوب فحصها قدراته.
- (ب) عندما يصدر قرار تنشيط الشبكة، يصبح المختبر المرجعي محور تركيز الاتصالات بين الشبكة. ويقوم المختبر المرجعي بإبلاغ الشركاء بظروف الحادثة ويحددون معاً مدى التعاون المطلوب.
- (ج) يتم إجراء فحص وراثي خلوي لأغراض تقدير الجرعة بناءً على طلب من الأطباء. وتختار الحالات التي سيجري فحصها بعد مناقشة بين خبراء تقدير الجرعات بالفحوص الوراثة الخلوية، ومديري مسرح الأحداث، والأطباء.
- (د) يناقش المختبر المرجعي ومختبرات الشبكة تفاصيل تقاسم العمل في قياس الجرعات من خلال الفحوص البيولوجية.
- (هـ) تقدّم موافقة خطية عن علم من كل شخص أو من الطبيب المعالج، حسب الاقتضاء، قبل أخذ عينات الدم. وينبغي إيلاء اهتمام خاص لحماية الخصوصية طوال فترة إجراء هذه المهمة.
- (و) ينظّم المختبر المرجعي أخذ عينات الدم وإرسالها إلى الشركاء أو يكلف وكالة أخرى مناسبة بتولي هذه المسؤولية.
- (ز) تُراجع نتائج الفحص (وتقديرات الجرعة في بعض الأحيان) في أكثر من مختبر وتقدر جرعة كل شخص على أساس نتائج المراجعة.
- (ح) ترسل المختبرات المعاونة إلى المختبر المرجعي البيانات الأولية شاملة بيانات توزيع الانحرافات الكروموسومية. وترسل المختبرات أيضاً تقديرات الجرعات التي تحصل عليها من منحنى المعايرة الأنسب لنوع الإشعاع ذي الصلة بعد تعديل تلك الجرعات عند اللزوم لمراعاة طول مدة الجرعة أو عدم تجانسها.
- (ط) يتلقى المختبر المرجعي نتائج شركاء الشبكة ويقوم بدور همزة الوصل/مركز الاتصال مع الأطباء.
- (ي) يجوز اختيار بعض المرضى، بعد استعراض ذلك مع الموظفين الطبيين، لإجراء المزيد من الفحوص الخلوية اللازمة لتحسين الرتبة الإحصائية فيما يتصل بتقديرات الجرعات وتحسين تمييز التعرضات الزائدة غير المتجانسة. وتُتبع معايير الأداء المبيّنة في المعيار الموحد ١٩٢٣٨ عند إجراء تلك الفحوص الأخرى.
- ويبين الشكل البياني الانسيابي (الشكل ٤٨) التفاعلات بين المختبر المرجعي والشبكة والفريق الطبي تبعاً لترتيب مختلف العناصر.



الشكل ٤٨: مخطط بياني انسيابي يبين التفاعلات بين المختبر المرجعي القائم بإجراء قياس بيولوجي للجرعات والشبكة والفريق الطبي في سياق تقدير جرعات عدد قليل من الأفراد (المعيار الموحد ١٩٢٣٨ (باللون الأزرق) [٣] أو إصابات جماعية (المعيار الموحد ٢١٢٤٣ (بالأحمر) [٤]) (نقلًا عن المعيار الموحد للمنظمة الدولية لتوحيد المعايير رقم ٢١٢٤٣: ٢٠٠٨ بتصريح من الرابطة الفرنسية لتوحيد المقاييس بالنيابة عن المنظمة الدولية لتوحيد المقاييس. وتحفظ المنظمة الدولية لتوحيد المقاييس بحقوق التأليف والنشر).

١٦ - أمان موظفي المختبرات

يستخدم مصطلح 'الأمان البيولوجي المختبري' لوصف مبادئ وتكنولوجيات وممارسات الاحتواء المنفذة لمنع التعرض عن غير قصد لمسببات الأمراض والسموم أو انطلاقها العارض. وأبرزت الأحداث العالمية التي وقعت في الماضي القريب ضرورة حماية المختبرات والمواد التي تحتوي عليها تلك المختبرات من المساس بها عمداً بطرق يمكن أن تضر بالأشخاص أو الحيوانات أو الزراعة أو البيئة. ولذلك بات من اللازم توسيع الأمان البيولوجي من خلال إدخال تدابير الأمان البيولوجي المختبري.

ويصف 'الأمان البيولوجي المختبري' حماية المواد البيولوجية المهمة والسيطرة عليها والمساءلة عنها في المختبرات من أجل منع الوصول إليها دون إذن أو فقدانها أو سرقتها أو إساءة استعمالها أو تحويل مسارها أو إطلاقها عمداً. [٣٥٥].

ويرد عرض شامل للأمان البيولوجي والأمان البيولوجي في مختبرات فحوص الوراثة الخلوية في دليل السلامة البيولوجية في المختبرات الصادر عن منظمة الصحة العالمية، والوثيقة المصاحبة له بعنوان إدارة المخاطر البيولوجية: توجيهات بشأن الأمان البيولوجي في المختبرات، من قبيل تصميم المختبرات ومرافق ومعدات المختبرات (أي مقصورات الأمان البيولوجي) وممارسات العمل المأمونة، والصحة المهنية والمراقبة الطبية، والتطهير والتعقيم، ومعالجة النفايات، والتعرضات الكيميائية، والحرائق، والأمان الكهربائي والإشعاعي وأمان المعدات. وهذه المعلومات منطبقة تماماً على تشغيل مختبرات الفحوص الوراثة الخلوية ومفيدة لها بشكل خاص [٣٥٥، ٣٥٦].

وعلاوة على الوثائق التوجيهية، ينبغي للموظفين الالتزام بالتشريعات أو الأنظمة الوطنية والمؤسسية المتعلقة بممارسات العمل المأمونة والأمنة في المختبرات.

وفيما يلي بعض السمات الخاصة المتعلقة بأمان مختبرات فحوص الوراثة الخلوية الجديرة بتسليط الضوء عليها.

١٦-١ - العدوى

ينبغي استخدام وتطبيق الاحتياطات العالمية في كل الحالات عند التعامل مع الدم البشري، وينبغي النظر إلى كل العينات باعتبارها مصادر محتملة للعدوى. وينبغي تفريغ العينات ومناولتها في مقصورات أمان بيولوجي مستخدمة استخداماً ملائماً وخاضعة للصيانة ومعتمدة.

وينبغي أن يكون استخدام الأدوات ذات الأطراف الحادة، مثل إبر الحقن تحت الجلد، محدوداً للتقليل من مخاطر الإصابات الناشئة عن وخذ الإبر. وينبغي دوماً جمع الأدوات الحادة الملوثة في أوعية غير قابلة للثقب مزودة بأغطية وتعامل كنفايات معدية. وينبغي أن تتاح مطهرات مناسبة للتعامل مع المواد المنسكبة وتطهير الأسطح المستخدمة في العمل والمعدات بعد تجهيز العينات. وينبغي تعقيم كل النفايات البيولوجية والأواني البلاستيكية التي لا تستعمل إلا مرة واحدة، وذلك مثلاً باستخدام التعقيم قبل التخلص منها. وإذا كان لا بد من نقل نفايات معدية من المختبرات لتطهيرها والتخلص منها، يجب نقلها في حاويات مختومة ومائعة للتسرب وفقاً للأنظمة الوطنية و/أو الدولية، حسب الاقتضاء [٣٥٦].

ولا تقدم اللقاحات أو السموم معطلة المرخصة والمتاحة محلياً إلا بعد إجراء تقييم ملائم لمخاطر التعرض المحتمل وإجراء تقييم صحي إكلينيكي للشخص [٣٥٦].

١٦-٢ - الجوانب البصرية

قد يلزم استخدام مصابيح الأشعة فوق البنفسجية في إجراءات معيّنة.

ولا يلزم استخدام مصابيح الأشعة فوق البنفسجية في مقصورات الأمان البيولوجي. وإذا استُخدمت هذه المصابيح، يجب تنظيفها من أن لآخر لإزالة أي أتربة أو أي اتساخ يمكن أن تؤثر على فعاليتها في إبادة الجراثيم. ويجب في الحالات التي تستخدم فيها مصابيح الأشعة فوق البنفسجية أن تطفأ عندما يوجد أشخاص داخل الغرفة لحماية الأعين والجلد من أي تعرض غير مقصود [٣٥٦].

وعندما تستخدم مصابيح الأشعة فوق البنفسجية في تعريض الشرائح في أثناء استخدام إجراء التلوين بالفور والغيمزا، ينبغي اتباع إجراءات التدريب والعمل لحماية موظفي المختبر من أي تشعيع مباشر للجلد أو العين.

ويصمّم عموماً المجهر الفلوري بحيث يكون مأمونا ذاتياً في أثناء استعماله المعتاد.

١٦-٣- الجوانب الكيميائية

تستخدم مواد كيميائية وصيدلانية دقيقة معيّنة بصورة روتينية في الإجراءات التي يتناولها هذا المنشور. وللمزيد من المعلومات عن المواد الكيميائية الخطرة والأمان الكيميائي، انظر الجزء التاسع من دليل منظمة الصحة العالمية للأمان البيولوجي في المختبرات [٣٥٦، الجزء التاسع] الذي يتضمن قائمة شاملة بتفاصيل المواد الكيميائية وأخطارها والاحتياطات الواجب اتباعها.

وعندما توجد المواد الكيميائية والصيدلانية في المزارع أو عندما تستخدم في إجراءات التلوين فإنها تستخدم في معظمها بكميات ضئيلة ومخففة بحيث لا تشكل عموماً خطراً على الصحة. على أنها تتكون من محاليل مركزة وتخزن فيها. ويتضمن الجدول ١٩ قائمة بالكواشف الرئيسية المثيرة للقلق وتوصيفات المخاطر المتفق عليها دولياً (أرقام المخاطر).

وينبغي أن يقتصر تخزين المواد الكيميائية في المختبرات على المقادير اللازمة للاستعمال اليومي. وينبغي الاحتفاظ بالمخزونات السائبة في غرف أو مبانٍ مخصصة لهذا الغرض.

وينبغي ألا تخزن المواد الكيميائية وفق ترتيبها الأبجدي! [٣٥٦].

الجدول ١٩: الكواشف الرئيسية المثيرة للقلق في مختبرات القياس البيولوجي للجرعات وتوصيفات مخاطرها المتفق عليها دولياً.

الكاشف	توصيفات المخاطر (أرقام المخاطر، R)
حمض الخليك	٢٥ ؛ ١٠
برتقالية الأكردين	٣٨ ؛ ٣٧ ؛ ٣٦
هيدروكسيد الباريوم	٣٤ ؛ ٢٢ ؛ ٢٠
بنزيل بنسولين	٤٣ ؛ ٤٢
برومو ديوكسي يوريد	٦١ ؛ ٢٠ ؛ ٢١ ؛ ٢٢ ؛ ٤٦ ؛ ٦١
كالسيوم A	٣٨ ؛ ٢٥ ؛ ٢٤ ؛ ٢٣
كولسيميد A	٦٣ ؛ ٢٥
مثبط حركة الخلايا B (سايتوكالاسين B)	٦٣ ؛ ٢٨ ؛ ٢٧ ؛ ٢٦
تلوين دابي (٤ ، ٦ - ثنائي الأميد - ٢ فينيل إندول)	٣٨ ؛ ٣٧ ؛ ٣٦
ثنائي ميثيل أكسيد الكبريت (DMSO)	٣٨ ؛ ٣٧ ؛ ٣٦
فورمالدهيد	٤٣ ؛ ٢٤ ؛ ٢٥ ؛ ٣٤ ؛ ٤٠ ؛ ٤٣
فورماميد	٦١ ؛ ٤١ ؛ ٣٨ ؛ ٣٧
ملون غيمزا	٤١ ؛ ٤٠ ؛ ٢٢ ؛ ٢١ ؛ ٢٠
هيبارين	٣٨ ؛ ٣٧ ؛ ٣٦
ملون هويشست	٣٨ ؛ ٣٧ ؛ ٣٦ ؛ ٢٥ ؛ ٢٤ ؛ ٢٣

الكاشف	توصيفات المخاطر (أرقام المخاطر، R ^أ)
حمض هيدروكلوريك	٣٧ ؛ ٣٤
هايباك	٤٣ ؛ ٤٢
ميثانول	٣٩ ؛ ٢٥ ؛ ٢٤ ؛ ٢٣ ؛ ١١
حمض الأوكاديك	٣٨ ؛ ٢٥ ؛ ٢٤ ؛ ٢٣
بييسين	٤٢ ؛ ٣٨ ؛ ٣٧ ؛ ٣٦
فيتوهيماغلوتينين	٤٣ ؛ ٢٢ ؛ ٢١ ؛ ٢٠
ريبونوكلياز A	٣٨ ؛ ٢٢ ؛ ٢١ ؛ ٢٠
هيدروكسيد صوديوم	٣٥
سلفات ستربتوميسين	٦١ ؛ ٢٢ ؛ ٢١ ؛ ٢٠
زايلين	٣٨ ؛ ٢١ ؛ ٢٠ ؛ ١٠

10 R :	سريع الاشتعال
11 R :	سريع الاشتعال بشكل كبير
20 R :	مضر عند استنشاقه
21 R :	مضر عند تلامسه مع الجلد
22 R :	مضر عند ابتلاعه
23 R :	سام عند استنشاقه
24 R :	سام عند تلامسه مع الجلد
25 R :	سام عند ابتلاعه
26 R :	سام جداً عند استنشاقه
27 R :	سام جداً عند تلامسه مع الجلد
28 R :	سام جداً عند ابتلاعه
34 R :	يسبب حروقاً
35 R :	يسبب حروقاً شديدة
36 R :	مهيج للعيون
37 R :	مهيج للجهاز التنفسي
38 R :	مهيج للجلد
39 R :	خطر حدوث تأثيرات شديدة الخطوة غير قابلة للشفاء
40 R :	دلائل محدودة على وجود تأثير مسرطن
41 R :	خطر حدوث ضرر شديد للعين
42 R :	قد يسبب حساسية عند الاستنشاق
43 R :	قد يسبب حساسية عند تلامسه مع الجلد
46 R :	قد يسبب ضرراً جينياً ينتقل بالوراثة
61 R :	قد يسبب ضرراً للجنين
63 R :	خطر محتمل بحدوث ضرر للجنين

المراجع

- [1] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Biological Dosimetry: Chromosomal Aberration Analysis for Dose Assessment, Technical Reports Series No. 260, IAEA, Vienna (1986).
- [2] TURAI, I., The IAEA's co-ordinated research project on biodosimetry, 1998–2000, *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **52** (2000) 1113–1116.
- [3] INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, Radiation Protection-Performance Criteria for Service Laboratories Performing Biological Dosimetry by Cytogenetics, ISO 19238, ISO, Geneva (2004).
- [4] INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, Radiation Protection-Performance Criteria for Laboratories Performing Cytogenetic Triage for Assessment of Mass Casualties in Radiological or Nuclear Emergencies-General Principles and Application to Dicentric Assay, ISO 21243, ISO, Geneva (2008).
- [5] FENECH, M., et al., HUMN Project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures, *Mutat. Res.* **534** (2003) 65–75.
- [6] ROJAS-PALMA, C., et al. (Eds) TMT Handbook, Triage, Monitoring and Treatment of People Exposed to Ionizing Radiation Following a Malevolent Act, Lobo Media AS, Norway (2009).
- [7] BERTHO, J.M., et al., New biological indicators to evaluate and monitor radiation-induced damage: an accident case report, *Radiat. Res.* **169** (2008). 543–550
- [8] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment. A Manual, Technical Reports Series No. 405, IAEA, Vienna (2001).
- [9] HUBBLE, J.H., Photon mass attenuation and energy — Absorption coefficients from 1 keV to 20 MeV, *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **33** (1982) 1269–1290.
- [10] GRAY, L.H., An ionization method for the absolute measurement of gamma-ray energy, *Proc. Soc. Lond.*, **A156** (1936) 578–596.
- [11] DENG, W., MORRISON, D.P., GALE, K.L., LUCAS, J.N., Biological dosimetry of beta-ray exposure from tritium using chromosome translocations in human lymphocytes analyzed by fluorescence in situ hybridization, *Radiat. Res.* **150** (1998) 400–405.
- [12] INTERNATIONAL COMMISSION ON RADIATION UNITS AND MEASUREMENTS, Quantities and Units in Radiation Protection Dosimetry, ICRU Rep. **51** (1993).
- [13] STRAUME, T., High-energy gamma rays in Hiroshima and Nagasaki: Implications for risk and W_R , *Health Phys.* **69** (1995) 954–956.
- [14] SCHMID, E., BAUCHINGER, M., LET dependence of dicentric yields in human lymphocytes induced by low doses of sparsely ionizing radiations and its implication for risk assessments, *Health Phys.* **74** (1998) 719–721.
- [15] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, WORLD HEALTH ORGANIZATION, Generic procedures for medical response during a nuclear or radiological emergency, EPR-MEDICAL, IAEA, Vienna (2005).
- [16] LEA, D.E., Actions of Radiation on Living Cells, 2nd edn, Cambridge University Press, Cambridge, UK (1956).
- [17] GOODHEAD, D.T., The initial physical damage produced by ionizing radiations, *Int. J. Radiat. Biol.* **56** (1989) 623–634.
- [18] EDWARDS, A.A., LLOYD, D.C., PURROTT, R.J., “Dicentric chromosome aberration yield in human lymphocytes and radiation quality. A resume including recent results using alpha particles”, *Microdosimetry* (Proc. 7th Symp. Harwood Academic, Oxford, 1980), Vol. 2 (BOOZ, J., EBERT, H.G., HARTFIEL, H.D., Eds), Harwood Academic Publishers, Brussels and Luxembourg (1981) 1263–1273.
- [19] INTERNATIONAL COMMISSION ON RADIOLOGICAL PROTECTION, The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection, (Publication 103) *Ann. ICRP* Vol. 37, (2007).

- [20] NOWELL, P.C., Phytohemagglutinin — An initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes, *Cancer Res.* **20** (1960) 462–466.
- [21] CARSTAIRS, K., The human small lymphocyte — its possible pluripotential quality, *Lancet* (1962) 829–832.
- [22] WUESTERMANN, P.R., CRONKITE, E.P., Physiological and pathophysiological aspects of the immune system contributing to a biomathematical model of lymphocytes, *Stem Cells* **13** Suppl. 1 (1995) S268–S275.
- [23] CHENG, C. K-W., CHAN, J., CEMBROWSKI, G.S., VAN ASSENDELFT, O.W., Complete blood count reference interval diagrams derived from NHANES III: Stratification by age, sex, and race, *Lab. Haematol.* **10** (2004) 42–53.
- [24] DAINIAK, N., WASELENKO, J.K., ARMITAGE, J.O., MacVITTEE, T.J., FARESE, A.M., The hematologist and radiation casualties, *Hematology*, **2003** (2003) 473–496.
- [25] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, WORLD HEALTH ORGANIZATION, Diagnosis and Treatment of Radiation Injuries, Safety Report Series No. 2, IAEA, Vienna (1998).
- [26] McLEAN, A.R., MICHIE, C.A., In vivo estimates of division and death rates of human T lymphocytes, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **92** (1995) 3707–3711.
- [27] BOGEN, K.T., Reassessment of human peripheral T-lymphocyte life span deduced from cytogenetic and cytotoxic effects of radiation, *Int. J. Radiat. Biol.* **64** (1993) 195–204.
- [28] OBE, G., BEEK, B., DUDIN, G., The human leukocyte test system: V. DNA synthesis and mitoses in PHA-stimulated 3-day cultures, *Humangenetik* **28** (1975) 295–302.
- [29] PAULSON, J.R., LAEMMLI, U.K., The structure of histone-depleted metaphase chromosomes, *Cell* **12** (1977) 817–828.
- [30] CREMER, C., et al., Nuclear architecture and the induction of chromosomal aberrations, *Mutat. Res.* **366** (1996) 97–116.
- [31] SCHAFFER, L.G., TOMMERUP, N. (Eds), Recommendations of the International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature, ISCN, Karger, Basel (2005).
- [32] MORTON, N.E., Parameters of the human genome, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **88** (1991) 7474–7476.
- [33] CARRANO, A.V., Induction of chromosomal aberrations in human lymphocytes by X rays and fission neutrons: Dependence on cell cycle stage, *Radiat. Res.* **63** (1975) 403–421.
- [34] MÜLLER, H.J., Artificial transmutation of the gene, *Science* **66** (1927) 84–87.
- [35] PAINTER, T.S., MÜLLER, H.J., Parallel cytology and genetics of induced translocations and deletions in *Drosophila*, *J. Hered.* **20** (1929) 287–298.
- [36] SAX, K., Types and frequencies of chromosomal aberrations induced by X-rays, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **9** (1941) 93–103.
- [37] REVELL, S.H., “A new hypothesis for chromatid exchanges”, *Radiobiology (Proc. Symp. Liège, 1954)*, Butterworths, London (1955) 243–253.
- [38] CHADWICK, K.H., LEENHOUTS, H.P., The rejoining of DNA double-strand breaks and a model for the formation of chromosomal rearrangements, *Int. J. Radiat. Biol.* **33** (1978) 517–529.
- [39] MOZUMDER, A., MAGEE J.L., Model of tracks of ionizing radiations for radical reaction mechanisms, *Radiat Res.* **28** (1966) 203–14.
- [40] GEORGAKILAS, A.G., Processing of DNA damage clusters in human cells: current status of knowledge, *Mol. BioSyst.*, **4** (2008) 30–35.
- [41] JAEA R&D REVIEW, Dependency of yield of DNA damage refractory to enzymatic repair on ionization and excitation density of radiation – Exploring the induction mechanism of clustered DNA damage, (2007), http://jolisfukyu.tokai-sc.jaea.go.jp/fukyu/mirai-en/2007/6_5.html
- [42] WARD, J.F., DNA damage produced by ionizing radiation in mammalian cells: Identities, mechanisms of formation and repairability, *Prog. Nucleic Acids Res. Mol. Biol.* **35** (1988) 95–135.
- [43] RYDBERG, B., Radiation-induced DNA damage and chromatin structure, *Acta Oncol.* **40** (2001) 682–685.

- [44] FORTINI, P., DOGLIOTTI, E., Base damage and single-strand break repair: mechanisms and functional significance of short and long-patch repair subpathways, *DNA Repair* **6** (2007) 398–409.
- [45] CALDECOTT, K.W., Mammalian single-strand break repair: mechanisms and links with chromatin, *DNA Repair* **6** (2007) 443–453.
- [46] IDE, H., et al., Repair of DNA-protein crosslink damage: Coordinated actions of nucleotide excision repair and homologous recombination, *Nucleic Acids Symp. Ser. (Oxf.)* **52** (2008) 57–58.
- [47] JEGGO, P.A., LÖBRICH, M., Contribution of DNA repair and cell cycle checkpoint arrest to the maintenance of genomic stability, *DNA Repair* **5** (2006) 1192–1198.
- [48] WYMAN, C., KANAAR, R., Homologous recombination: down to the wire, *Curr. Biol.* **14** (2004) R629–R631;
- [49] HEFFERIN, M.L., TOMKINSON, A.E., Mechanism of DNA double-strand break repair by non-homologous end joining, *DNA Repair* **4** (2005) 639–648.
- [50] ROTHKAMM, K., KRÜGER, I., THOMPSON, L.H., LÖBRICH, M., Pathways of DNA double-strand break repair during the mammalian cell cycle, *Mol. Cell. Biol.* **23** (2003) 5706–5715.
- [51] SASAKI, M.S., Advances in the biophysical and molecular bases of radiation cytogenetics, *Int. J. Radiat. Biol.* **85** (2009) 26–47.
- [52] SAVAGE, J.R.K., Annotation: Classification and relationships of induced chromosomal structural changes, *J. Med. Genet.* **13** (1976) 103–122.
- [53] EVANS, H.J., Chromosome aberrations induced by ionizing radiations, *Int. Rev. Cytol.* **13** (1962) 221–321.
- [54] MESTRES, M., et al., Analysis of alpha-particle induced chromosome aberrations in human lymphocytes, using pan-centromeric and pan-telomeric probes, *Int. J. Radiat. Biol.* **80** (2004) 737–744.
- [55] BENKHALED, L., et al., Analysis of gamma-rays induced chromosome aberrations: a fingerprint evaluation with a combination of pan-centromeric and pan-telomeric probes, *Int. J. Radiat. Biol.* **82** (2006) 869–875.
- [56] GEBHART, E., Double minutes, cytogenetic equivalents of gene amplification in human neoplasia: a review, *Clinical and Translational Oncology* **7** (2005) 477–485.
- [57] BLOOM, A.D., NEEL, J.V., CHOI, K.W., IDA, S., CHAGNON, N., Chromosome aberrations among the Yanomama Indians, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **66** (1970) 920–927.
- [58] AWA, A.A., NEEL, J.V., Cytogenetic “rogue” cells: what is their frequency, origin and evolutionary significance? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83** (1986) 1021–1025.
- [59] SEVAN’KAEV, A.V., et al., Rogue cells observed in children exposed to radiation from the Chernobyl accident, *Int. J. Radiat. Biol.* **63** (1993) 361–367.
- [60] NEEL, J.V., AWA, A.A., KODAMA, Y., NAKANO, M., MABUCHI K., Rogue lymphocytes among Ukrainians not exposed to radioactive fall-out from the Chernobyl accident: the possible role of this phenomenon in oncogenesis, teratogenesis and mutagenesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89** (1992) 6973–6977.
- [61] NEEL, J.V., et al., Hypothesis: “rogue cell”-type chromosomal damage in lymphocytes is associated with infection with the JC human polyoma virus and has implications for oncopenesis, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **93** (1996) 2690–2695.
- [62] FOMINA, J., DARROUDI, F., BOEI, J. J., NATARAJAN, A.T., Discrimination between complete and incomplete chromosome exchanges in X-irradiated human lymphocytes using FISH with pan-centromeric and chromosome specific DNA probes in combination with telomeric PNA probe, *Int. J. Radiat. Biol.* **76** (2000) 807–813.
- [63] BUCKTON, K.E., SMITH, P.G., COURT BROWN, W.M., “The estimation of lymphocyte lifespan from studies on males treated with X-rays for ankylosing spondylitis”, *Human Radiation Cytogenetics (Proc. Conf. Edinburgh, 1966)* (EVANS, H.J., COURT BROWN, W.M., McLEAN, A.S., Eds), North-Holland, Amsterdam (1967) 106–114.
- [64] EDWARDS, A.A., et al., Review of translocations detected by FISH for retrospective biological dosimetry applications, *Radiat. Prot. Dosim.* **113** (2005) 396–402.

- [65] DURAN, M., BARQUINERO, J.F., CABALLIN, M.R, RIBAS, M., BARRIOS, L., Persistence of radiation-induced chromosome aberrations in a long-term cell culture, *Radiat. Res.* **171** (2009) 425–437.
- [66] PANTELIS, G.E., MAILLIE, H.D., A simple method for premature chromosome condensation induction in primary human and rodent cells using polyethylene glycol, *Somat. Cell. Genet.* **9** (1983) 533–547.
- [67] PANTELIS, G.E., MAILLIE, H.D., The use of peripheral blood mononuclear cell prematurely condensed chromosomes for biological dosimetry, *Radiat. Res.* **99** (1984) 140–150.
- [68] KANDA, R., HAYATA, I., LLOYD, D.C., Easy biodosimetry for high-dose radiation exposure using drug-induced, prematurely condensed chromosomes, *Int. J. Radiat. Biol.* **75** (1999) 441–446.
- [69] DURANTE, M., FURUSAWA, Y., GOTOH, E., A simple method for simultaneous interphase-metaphase chromosome analysis in biodosimetry, *Int. J. Radiat. Biol.* **74** (1998) 457–462.
- [70] VYAS, R.C., DARROUDI, F., NATARAJAN, A.T., Radiation-induced chromosomal breakage and rejoining in interphase-metaphase chromosomes of human lymphocytes, *Mutat. Res.* **249** (1991) 29–35.
- [71] PANTELIS, G.E., MAILLIE, H.D., Direct analysis of radiation induced chromosome fragments and rings in unstimulated human peripheral blood lymphocytes by means of the premature chromosome condensation technique, *Mutat. Res.* **149** (1985) 67–72.
- [72] DARROUDI, F., FOMINA, J., MEIJERS, M., NATARAJAN, A.T., Kinetics of formation of chromosome aberrations in X-irradiated human lymphocytes, using PCC and FISH, *Mutat. Res.* **404** (1998) 55–65.
- [73] WALDREN, C.A., JOHNSON, R.T., Analysis of interphase chromosome damage by means of premature chromosome condensation after X and UV irradiation, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **71** (1974) 1137–1141.
- [74] GOTOH, E., DURANTE, M., Chromosome condensation outside of mitosis: mechanisms and new tools, *J. Cell Physiol.* **209** (2006) 297–304.
- [75] BLAKELY, W.F., PRASANNA, P.G.S., KOLANKO, C.J., PYLE, M.D., MOSBROOK, D.M., LOATS, A.S., RIPPEON, T.L., LOATS, H., Application of the premature chromosome condensation assay in simulated partial-body radiation exposures: evaluation of the use of an automated metaphase-finder, *Stem Cells Suppl.* **1** (1995) S223–S230.
- [76] PRASANNA, P.G.S., ESCALADA, N.D., BLAKELY, W.F., Induction of premature chromosome condensation by a phosphatase inhibitor and a protein kinase in unstimulated human peripheral blood lymphocytes: a simple and rapid technique to study chromosome aberrations using specific whole-chromosome DNA hybridization probes for biological dosimetry, *Mutat. Res.* **466** (2000) 131–141.
- [77] PRASANNA, P.G.S., BLAKELY, W.F., “Premature chromosome condensation in human resting peripheral blood lymphocytes for chromosome aberration analysis using specific whole-chromosome DNA hybridization probes”, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 291 *Methods in Molecular Biology* (KEOHAVONG, P., GRANT, S.G., Eds), Humana Press, Totowa, NJ (2004) 49–57.
- [78] PATHAK, R., RAMAKUMAR, A., SUBRAMANIAN, U., and PRASANNA, P.G.S., Differential radio-sensitivities of human chromosomes 1 and 2 in interphase- and metaphase-spreads after ⁶⁰Co γ -irradiation in one human donor, *BMC Med. Phys.* **9** (2009) 1–8.
- [79] PANTELIS, G.E., ILIAKIS, G.E., SAMBANI, C.D., POLITIS, G., Biological dosimetry of absorbed radiation by C-banding of interphase chromosomes in peripheral blood lymphocytes, *Int. J. Radiat. Biol.* **63** (1993) 349–354.
- [80] LAMADRID, A.I., GARCIA, O., DELBOS, M., VOISIN, P., ROY L., PCC-ring induction in human lymphocytes exposed to gamma and neutron irradiation, *J. Radiat. Res.* **48** (2007) 1–6.
- [81] GOTOH, E., TANNO, Y., TAKAKURA, K., Simple biodosimetry method for use in cases of high-dose radiation exposure that scores the chromosome number of Giemsa-stained drug-induced prematurely condensed chromosomes (PCC), *Int. J. Radiat. Biol.* **81** (2005) 33–40.

- [82] COUNTRYMAN, P.I., HEDDLE, J.A., The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes, *Mutat. Res.* **41** (1976) 321–331.
- [83] FENECH, J., MORLEY, A.A., Measurement of micronuclei in lymphocytes, *Mutat. Res.* **147** (1985) 29–36.
- [84] FENECH, J., MORLEY, A.A., Cytokinesis-block micronucleus method in human lymphocytes: Effect of *in vivo* ageing and low-dose X-irradiation, *Mutat. Res.* **161** (1986) 193–198.
- [85] VRAL, A., THIERENS, H., DE RIDDER, L., *In vitro* micronucleus-centromere assay to detect radiation-damage induced by low doses in human lymphocytes, *Int. J. Radiat. Biol.* **71** (1997) 61–68.
- [86] FENECH, M., Cytokinesis-block micronucleus cytome assay, *Nat. Protoc.* **2** (2007) 1084–1104.
- [87] WILLEMS, P., et al., Automated micronucleus (MN) scoring for population triage in case of large scale radiation events, *Int. J. Radiat. Biol.* **86** (2010) 2–11.
- [88] FENECH, M., The cytokinesis-block micronucleus cytome assay and its application in radiation biodosimetry, *Health Phys.* **98** (2009) 234–243.
- [89] THOMAS, P., UMEKAGI, K., FENECH, M., Nucleoplasmic bridges are a sensitive measure of chromosome rearrangement in the cytokinesis-block micronucleus assay, *Mutagenesis*. **18** (2003) 187–94.
- [90] TAMURA, H., SUGIYAMA, Y., SUGAHARA, T., Changes in the number of circulating lymphocytes with chromosomal aberrations following a single exposure of the pelvis to γ -irradiation in cancer patients, *Radiat. Res.* **59** (1974) 653–657.
- [91] BREWEN, L.G., PRESTON, R.J., LITTLEFIELD, L.G., Radiation-induced human chromosome aberration yields following an accidental whole-body exposure to ^{60}Co γ -rays, *Radiat. Res.* **49** (1972) 647–656.
- [92] GRANATH, F., et al., Retrospective dose estimates in Estonian Chernobyl clean-up workers by means of FISH, *Mutat. Res.* **369** (1996) 7–12.
- [93] WORLD HEALTH ORGANISATION, Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances, 009-2010 WHO/HSE/EPR/2008.10, WHO, Geneva (2008).
- [94] WILKINS, R.C., et al., Interlaboratory comparison of the dicentric chromosome assay for radiation biodosimetry in mass casualty events, *Radiat. Res.* **169** (2008) 551–560.
- [95] FABRY, L., LEMAIRE, M., Dose response relationships for radiation induced chromosome aberrations in human lymphocytes *in vivo* and *in vitro*, *Strahlentherapie* **162** (1986) 63–67.
- [96] LLOYD, D.C., EDWARDS, A.A., PROSSER, J.S., CORP, M.J., The dose response relationship obtained at constant irradiation times for the induction of chromosome aberrations in human lymphocytes by cobalt-60 gamma rays, *Radiat. Environ. Biophys.* **23** (1984) 179–189.
- [97] MYSKA, J.C., et al., Arrays for Use at the Cobalt Irradiation Facility, TR97-2, Armed Forces Radiobiology Research Institute (1997), <http://www.usuhs.mil/afri/outreach/reports/pdf/TR97-2.pdf>
- [98] EDWARDS, A.A., LLOYD, D.C., PURROT, R.J., Radiation induced chromosome aberrations and the Poisson distribution, *Radiat. Environ. Biophys.* **16** (1979) 89–100.
- [99] RAO, C.R., CHAKRAVARTI, I.M., Some small sample tests of significance for a Poisson distribution, *Biometrics* **12** (1956) 264–282.
- [100] SAVAGE, J.R.K., Sites of radiation induced chromosome exchanges, *Curr. Top. Radiat. Res.* **6** (1970) 129–194.
- [101] LLOYD, D.C., EDWARDS, A.A., “Chromosome aberrations in human lymphocytes: effect of radiation quality, dose and dose rate”, *Radiation-Induced Chromosome Damage in Man* (ISHIHARA, T., SASAKI, M.S., Eds), Alan R. Liss, New York (1983) 23–49.
- [102] BARQUINERO, J.F., et al., Establishment and validation of a dose-effect curve for gamma-rays by cytogenetic analysis, *Mutat. Res.* **326** (1995) 65–69.
- [103] DI GIORGIO, M., et al., Chromosome aberrations induced in human lymphocytes by heavy charged particles in track segment mode, *Radiat. Prot. Dosim.* **108** (2004) 47–53.
- [104] PAPWORTH, D.G., Curve fitting by maximum likelihood, *Radiat. Bot.* **15** (1975) 127–140.

- [105] MERKLE, W., Statistical methods in regression and calibration analysis of chromosome aberration data, *Radiat. Environ. Biophys.* **21** (1983) 217–233.
- [106] LLOYD, D.C., PURROTT, R.J., REEDER, E.J., The incidence of unstable chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes from unirradiated and occupationally exposed people, *Mutat. Res.* **72** (1980) 523–532.
- [107] SIGURDSON, A.J., et al., International study of factors affecting human chromosome translocations, *Mutat. Res.* **652** (2008) 112–121.
- [108] FENECH, M., The cytokinesis-block micronucleus technique: a detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations, *Mutat. Res.* **285** (1993) 35–44.
- [109] PETERSON, L.E., PIRLS, Poisson iteratively reweighted least squares computer program for additive, multiplicative, power, and non-linear models, *J. Stat. Soft.* **2** (1997) 1–28.
- [110] AINSBURY, E.A., BARQUINERO J.F., Biodosimetric tools for a fast triage of people accidentally exposed to ionising radiation: statistical and computational aspects, *Ann. Ist Super Sanita*, **45** (2009) 307–12.
- [111] DEPERAS, J., et al., CABAS: a freely available PC program for fitting calibration curves in chromosome aberration dosimetry, *Radiat. Prot. Dosim.* **124** (2007) 115–123.
- [112] AINSBURY, E.A., LLOYD, D.C., Dose estimation software for radiation biodosimetry, *Hlth Phys.* **98** (2010) 290–295.
- [113] PURROTT, R.J., VULPIS, N., LLOYD, D.C., Chromosome dosimetry: The influence of culture media on the proliferation of irradiated and unirradiated human lymphocytes, *Radiat. Prot. Dosim.* **1** (1981) 203–208.
- [114] PERRY, P., WOLFF, S., New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids, *Nature* **251** (1974) 156–158.
- [115] LAMBERT, B., HANSSON, K., LINDSTEN, J., STEN, M., WERELIUS, B., Bromodeoxyuridine-induced sister chromatid exchanges in human lymphocytes, *Hereditas* **93** (1976) 163–174.
- [116] PROSSER, J.S., MOQUET, J.E., The effect of blood storage on differential chromosome staining of human lymphocytes, *Experientia* **39** (1983) 778–780.
- [117] HAYATA, I., KAJIMA, J., OKABE, N., Distribution of metaphases in the 1st cell-cycle for automated-system in radiation-dosimetry, *Radiat. Phys. Chem.* **39** (1992) 517–520.
- [118] WILKINSON, D.T., et al., Canadian biodosimetry capacity for response to radiation emergencies, *Radiat. Meas.* **42** (2007) 1128–1132.
- [119] STRICKLIN, D., et al., An initial limited biodosimetry inter-comparison exercise: FOI and DRDC Ottawa, *Radiat. Meas.* **42** (2007) 1133–1137.
- [120] PURROTT, R.J., VULPIS, N., LLOYD, D.C., The influence of incubation temperature on the rate of human lymphocyte proliferation *in vitro*, *Experientia* **37** (1981) 407–408.
- [121] MOORHEAD, P.S., NOWELL, P.C., MELLMANN, W.J., BATTIPS, D.M., HUNGERFORD, D.A., Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood, *Exp. Cell Res.* **20** (1960) 613–616.
- [122] HUNGERFORD, D.A., Leukocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl, *Stain Technol.* **40** (1965) 333–338.
- [123] HAYATA, I., et al., Robot system for preparing lymphocyte chromosomes, *J. Radiat. Res.* **33** Suppl. (1992) S231–S241.
- [124] McFEE, A.F., SAYER, A.M., SALOMAA, S.I., LINDHOLM, C., LITTLEFIELD, L.G., Methods for improving the yield and quality of metaphase preparations for FISH probing of human lymphocyte chromosomes, *Environ. Molecul. Mutagen.* **29** (1997) 98–104.
- [125] SASAKI, M.S., “Radiation damage and its repair in the formation of chromosome aberrations in human lymphocytes”, *Mutagen-Induced Chromosome Damage in Man* (EVANS, H.J., LLOYD, D.C., Eds), Edinburgh University Press, Edinburgh 62–76 (1978).
- [126] SCOTT, D., LYONS, C.Y., Homogeneous sensitivity of human peripheral blood lymphocytes to radiation-induced chromosome damage, *Nature* **279** (1979) 756–758.

- [127] KOLIN-GERRESHEIM, J., BAUCHINGER, M., Dependence of the frequency of harlequin-stained cells on BrdU concentration in human lymphocyte cultures, *Mutat. Res.* **91** (1981) 251–254.
- [128] HAYATA, I., Removal of stainable cytoplasmic substances from cytogenetic slide preparations, *Biotechn. Histochem.* **68** (1993) 150–152.
- [129] LATT, S.A., Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosomes, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **70** (1973) 3395–3399.
- [130] FERNANDES, T.S., LLOYD, D., AMARAL, A., A comparison of different cytological stains for biological dosimetry, *Int. J. Radiat. Biol.* **84** (2008) 703–711.
- [131] SAVAGE, J.R.K., PAPWORTH, D.G., Constructing a 2B calibration curve for retrospective dose reconstruction, *Radiat. Prot. Dosim.* **88** (2000) 69–76.
- [132] SZLUIŃSKA, M., EDWARDS, A., LLOYD, D., Presenting statistical uncertainty on cytogenetic dose estimates, *Radiat. Prot. Dosim.* **123** (2007) 443–449.
- [133] CROW, E.L., GARDNER, R.S., Confidence intervals for the expectation of a Poisson variable, *Biometrika* **46** (1959) 441–453.
- [134] SCHENKER, N., GENTLEMAN, J.F., On judging the significance of differences by examining the overlap between confidence intervals, *Am. Stat.* **55** (2001) 182–182.
- [135] AUSTIN, P.C., HUX, J.E., A brief note on overlapping confidence intervals, *J. Vas. Surg.* (2002) 194–195.
- [136] BRAME, R.S., GROER, P.G., Bayesian methods for chromosome dosimetry following a criticality accident, *Radiat. Prot. Dosim.* **104** (2003) 61–63.
- [137] VOISIN P., et al., Criticality accident dosimetry by chromosomal analysis, *Radiat. Prot. Dosim.* **110** (2004) 443–447.
- [138] DOLPHIN, G.W., “Biological dosimetry with particular reference to chromosome aberration analysis. A review of methods”, *Handling of Radiation Accidents (Proc. Int. Symp. Vienna, 1969)*, IAEA, Vienna (1969) 215–224
- [139] LLOYD, D.C., PURROTT, R.J., DOLPHIN, G.W., Chromosome aberration dosimetry using human lymphocytes in simulated partial body irradiation, *Phys. Med. Biol.* **18** (1973) 421–431.
- [140] BARQUINERO, J.F., et al., Biological dosimetry in simulated in vitro partial irradiations, *Int. J. Radiat. Biol.* **71** (1997) 435–440.
- [141] VOISIN, P., et al., Mathematical methods in biological dosimetry: the 1996 Iranian accident, *Int. J. Radiat. Biol.* **76** (2000) 1545–1554.
- [142] SASAKI, M.S., MIYATA, H., Biological dosimetry in atom bomb survivors, *Nature* **220** (1968) 1189–1193.
- [143] BUCKTON, K.E., HAMILTON, G.E., PATON, L., LANGLANDS, A.O., “Chromosome aberrations in irradiated ankylosing spondylitis patients”, *Mutagen-Induced Chromosome Damage in Man*, Edinburgh University Press, Edinburgh (1978) 142–150.
- [144] BUCKTON, K.E., Chromosome aberrations in patients treated with X-irradiation for ankylosing spondylitis, *Radiation-Induced Chromosome Damage in Man*, Alan R. Liss, New York (1983) 491–511.
- [145] AWA, A., Analysis of chromosome aberrations in atom bomb survivors for dose assessment: studies at the Radiation Effects Research Foundation from 1968–1993, *Stem Cells* **15** Suppl. 2 (1997) S163–S173.
- [146] LEA, D.E., CATCHESIDE, D.G., The mechanism of the induction by radiation of chromosome aberrations in *Tradescantia*, *J. Genet.* **44** (1942) 216–245.
- [147] BAUCHINGER, M., SCHMID, E., DRESP, J., Calculation of the dose-rate dependence of the dicentric yield after ⁶⁰Co-irradiation of human lymphocytes, *Int. J. Radiat. Biol.* **35** (1979) 229–233.
- [148] DUFRAIN, R.J., LITTLEFIELD, L.G., JOINER, E.E., FROME, E.L., “*In vitro* human cytogenetic dose-response systems”, *The Medical Basis for Radiation Accident Preparedness*, Elsevier North-Holland, Amsterdam (1980) 358–374.
- [149] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, The Radiological Accident in Goiânia, IAEA, Vienna (1988).

- [150] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Dosimetric and Medical Aspects of the Radiological Accident in Goiânia in 1987, IAEA-TECDOC-1009, IAEA, Vienna (1998).
- [151] EUROPEAN COMMISSION, INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, WORLD HEALTH ORGANIZATION, One Decade after Chernobyl — Summing up the Consequences of the Accident (Proc. Int. Conf. Vienna, 1996), IAEA, Vienna (1996).
- [152] PROSSER, J.S., LLOYD, D.C., EDWARDS, A.A., STATHER, J.W., The induction of chromosome aberrations in human lymphocytes by exposure to tritiated water in vitro, *Radiat. Prot. Dosim.* **4** (1983) 21–26.
- [153] PRESTON, R.J., BREWEN, J.G., GENGOZIAN, N., Persistence of radiation-induced chromosome aberrations in marmoset and man, *Radiat. Res.* **60** (1974) 516–524.
- [154] VOISIN, P., LLOYD, D., EDWARDS, A., Chromosome aberrations scoring for biological dosimetry in a criticality accident, *Radiat. Prot. Dosim.* **70** (1997) 467–470.
- [155] BASSON, J.K., HANEKOM, A.P., COETZEE, F.C., LLOYD, D.C., Health Physics Evaluation of an Accident Involving Acute Overexposure to a Radiography Source, Rep. PEL-279, Pelindaba, South Africa (1981).
- [156] STEPHAN, G., HADNAGY, W., HAMMERMAIER, C., IMHOF, U., Biologically and physically recorded doses after an accidental exposure to ^{60}Co γ -rays, *Hlth Phys.* **44** (1983) 409–411.
- [157] ISHIHARA, T., et al., Chromosome aberrations in persons accidentally exposed to ^{192}Ir gamma rays, *J. Radiat. Res.* **14** (1973) 328–335.
- [158] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, The Radiological Accident in Istanbul, IAEA, Vienna (2000).
- [159] TURAI, I., GÜNALP, B., LLOYD, D., COSSET, J.M., “Medical aspects of the radiological accident in Istanbul”, (Proc. 8th WHO/REMPAN Conf., NRPB), Oxford (2000).
- [160] LLOYD, D.C., EDWARDS, A.A., PROSSER, J.S., Accidental intake of tritiated water: a report of two cases, *Radiat. Prot. Dosim.* **15** (1986) 191–196.
- [161] PINKEL, D., STRAUME, T., GRAY, J.W., Cytogenetic analysis using quantitative high-sensitivity fluorescence hybridisation, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **83** (1986) 2934–2938.
- [162] GREULICH, K.M., et al., Rapid detection of radiation-induced chromosomal aberrations in lymphocytes and hematopoietic progenitor cells by mFISH, *Mutat. Res.* **452** (2000) 73–81.
- [163] MANTI, L., et al., Rearrangements in human chromosome 1 visualized by arm-specific probes in the progeny of blood lymphocytes exposed to iron ions, *Adv. Space Res.* **39** (2007) 1066–1069.
- [164] CHUDOKA, I., et al., High resolution multicolor-banding: a new technique for refined FISH analysis of human chromosomes, *Cytogenet. Cell Genet.* **84** (1999) 156–160.
- [165] HORSTMANN, M., DURANTE, M., JOHANNES, C., OBE, G., Chromosomal intrachanges induced by swift iron ions, *Adv. Space Res.* (2005) **35** 276–279.
- [166] BRENNER, D.J., et al., Biomarkers specific to densely-ionising (high LET) radiations, *Radiat. Prot. Dosim.* **97** (2001) 69–73.
- [167] DARROUDI, F., et al., A new tool to characterize primary cervical carcinomas: to assess hallmarks and stage specificity, *Cancer Lett.* **287** (2010) 67–74.
- [168] PRIEUR, M., et al., Acquired chromosome rearrangements in human lymphocytes: effect of ageing, *Human Genet.* **79** (1988) 147–150.
- [169] DARROUDI, F., Use of FISH translocations analyses for retrospective biological dosimetry: how stable are stable chromosome aberrations?, *Radiat. Prot. Dosim.* **88** (2000) 101–109.
- [170] LUCAS, J.N., et al., Rapid translocation frequency analysis in human decades after exposure to ionizing radiation, *Int. J. Radiat. Biol.* **62** (1992) 53–63.
- [171] TAWN, E.J., The non-random occurrence of exchanges involving chromosomes 7 and 14 in human lymphocytes: a prospective study of control individuals, *Mutat. Res.* **199** (1988) 215–220.
- [172] KODAMA, Y., et al., Estimation of minimal size of translocated chromosome segments detectable by fluorescence in situ hybridisation, *Int. J. Radiat. Biol.* **71** (1997) 35–39.
- [173] SAVAGE, J.R., TUCKER, J.D., Nomenclature systems for FISH-painted chromosome aberrations, *Mutat. Res.* **366** (1996) 153–161.

- [174] LINDHOLM, C., EDWARDS A.A., Long-term persistence of translocations in stable lymphocytes from victims of a radiological accident, *Int. J. Radiat. Biol.* **80** (2004) 559–566.
- [175] TUCKER, J.D., et al., PAINT: A proposed nomenclature for structural aberrations detected by whole chromosome painting, *Mutat. Res.* **347** (1995) 21–24.
- [176] SAVAGE, J.R.K., SIMPSON, P., On the scoring of FISH painted chromosome exchange aberrations, *Mutat. Res.* **307** (1994) 345–353.
- [177] SAVAGE, J.R.K., SIMPSON, P., FISH ‘painting’ patterns resulting from complex exchanges, *Mutat. Res.* **312** (1994) 51–60.
- [178] KNEHR, S., ZITZELSBERGER, H., BAUCHINGER, M., FISH-based analysis of radiation-induced chromosomal aberrations using different nomenclature systems, *Int. J. Radiat. Biol.* **73** (1998) 135–141.
- [179] NATARAJAN, A.T., VYAS, R.C., DARROUDI, F., VERMEULEN, S., Frequencies of x-ray induced chromosome translocations in human peripheral lymphocytes as detected by in situ hybridization using chromosome-specific DNA libraries, *Int. J. Radiat. Biol.* **61** (1992) 199–203.
- [180] SIMPSON, P.J., SAVAGE, J.R.K., Dose–response curves for simple and complex chromosome aberrations induced by X-rays and detected using fluorescence in situ hybridisation, *Int. J. Radiat. Biol.* **69** (1996) 429–436.
- [181] SIMPSON, P.J., PAPWORTH, D.G., SAVAGE, J.R., X-ray-induced simple, pseudosimple and complex exchanges involving two distinctly painted chromosomes, *Int. J. Radiat. Biol.* **75** (1999) 11–18.
- [182] CORNFORTH, M.N., Analyzing radiation-induced complex chromosome rearrangements by combinatorial painting, *Radiat. Res.* **155** (2001) 643–659.
- [183] LUCAS, J.N., DENG, W., Views on issues in radiation biodosimetry based on chromosome translocations measured by FISH, *Radiat. Prot. Dosim.* **88** (2000) 77–86.
- [184] KNEHR, S., ZITZELSBERGER, H., BRASELMANN, H., NAHRSTEDT, U., BAUCHINGER, M., Chromosome analysis by fluorescence in situ hybridization: further indications for a non-DNA-proportional involvement of single chromosomes in radiation-induced structural aberrations, *Int. J. Radiat. Biol.* **70** (1996) 385–392.
- [185] BARQUINERO, J.F., KNEHR, S., BRASELMANN, H., FIGELI, M., BAUCHINGER, M., DNA-proportional distribution of radiation-induced chromosome aberrations analysed by fluorescence in situ hybridization painting of all chromosomes of a human female karyotype, *Int. J. Radiat. Biol.* **74** (1998) 315–323.
- [186] CIGARRAN, S., et al., Relationship between the DNA content of human chromosomes and their involvement in radiation-induced structural aberrations analysed by painting, *Int. J. Radiat. Biol.* **74** (1998) 449–455.
- [187] WU, H., DURANTE, M., LUCAS, J.N., Relationship between radiation-induced aberrations in individual chromosomes and their DNA content: effects of interaction distance, *Int. J. Radiat. Biol.* **77** (2001) 781–786.
- [188] CORNFORTH, M.N., et al., Chromosomes are predominantly located randomly with respect to each other in interphase human cells, *J. Cell. Biol.* **159** (2002) 237–244.
- [189] WHITEHOUSE, et al., Translocation yields in peripheral blood lymphocytes from control populations, *Int. J. Radiat. Biol.* **81** (2005) 139–145.
- [190] PRESSL, S., EDWARDS, A. STEPHAN, G., The influence of age, sex and smoking habits on the background level of FISH-detected translocations, *Mutat. Res.* **442** (1999) 89–95.
- [191] RAMSEY, M.J., et al., The effects of age and lifestyle factors on the accumulation of cytogenetic damage as measured by chromosome painting, *Mutat. Res.* **338** (1995) 95–106.
- [192] BADR, F.M., HUSSAIN, F.H., Chromosomal aberrations in chronic male alcoholics, *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **6** (1982) 122–129.
- [193] BURIM, R.V., et al., Clastogenic effect of ethanol in chronic and abstinent alcoholics, *Mutat. Res.* **560** (2004) 187–198.
- [194] BOTHWELL, A.M., WHITEHOUSE, C.A., TAWN, E.J., The application of FISH for chromosome aberration analysis in relation to radiation exposure, *Radiat. Prot. Dosim.* **88** (2000) 7–14.

- [195] TAWN, E.J., CARTMELL, C.L., The effect of smoking on the frequencies of asymmetrical and symmetrical chromosome exchanges in human lymphocytes, *Mutat. Res.* **224** (1989) 151–156.
- [196] VAN DIEMEN, P.C.M., MAASDAM, D., VERMEULEN, S., DARROUDI, F., NATARAJAN, A.T., Influence of smoking habits on the frequencies of structural and numerical chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes using the fluorescence in situ hybridization (FISH) technique, *Mutagenesis* **10** (1995) 487–495.
- [197] TUCKER, J.D., et al., Multi-endpoint biological monitoring of phosphine workers, *Mutat. Res.* **536** (2003) 7–14.
- [198] MAENG, S.H., et al., Chromosome aberration and lipid peroxidation in chromium-exposed workers, *Biomarkers* **9** (2004) 418–434.
- [199] BESKID, O., et al., Chromosomal aberrations by fluorescence in situ hybridization (FISH) — Biomarker of exposure to carcinogenic PAHs, *Mutat. Res.* **620** (2007) 62–70.
- [200] PLUTH, J.M., RAMSEY, M.J., TUCKER, J.D., Role of maternal exposures and newborn genotypes on newborn chromosome aberration frequencies, *Mutat. Res.* **465** (2000) 101–111.
- [201] STEENLAND, K., et al., Thyroid hormones and cytogenetic outcomes in backpack sprayers using ethylenebis (dithiocarbamate) (EBDC) fungicides in Mexico, *Environ. Hlth Perspect.* **105** (1997) 1126–1130.
- [202] KIM Y. K., et al., Chromosomal aberrations in workers exposed to low levels of benzene: association with genetic polymorphisms, *Pharmacogenetics* **14** (2004) 453–463.
- [203] SMITH, M. T., et al., Increased translocations and aneusomy in chromosomes 8 and 21 among workers exposed to benzene, *Cancer Res.* **58** (1998) 2176–2181.
- [204] ZHANG, L., et al., Aberrations in chromosomes associated with lymphoma and therapy-related leukemia in benzene-exposed workers, *Environ. Mol. Mutagen.* **48** (2007) 467–474.
- [205] BESKID, O., DUSEK, Z., SOLANKSY, I., SRAM, R.J., The effects of exposure to different clastogens on the pattern of chromosomal aberrations detected by FISH whole chromosome painting in occupationally exposed individuals, *Mutat. Res.* **594** (2006) 20–29.
- [206] SRAM R.J., et al., Environmental exposure to carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons-The interpretation of cytogenetic analysis by FISH, *Toxicol. Lett.* **172** (2007) 12–20.
- [207] DOHERTY, A.T., et al., Increased chromosome translocations and aneuploidy in peripheral blood lymphocytes of patients having revision arthroplasty of the hip, *J. Bone Joint Surg.* **83** (2001) 1075–1081.
- [208] DULOUT, F.N., et al., Chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes from native Andean women and children from northwestern Argentina exposed to arsenic in drinking water, *Mutat. Res.* **370** (1996) 151–158.
- [209] NATARAJAN, A. T., et al., ¹³⁷Cs-induced chromosome aberrations analyzed by fluorescence in situ hybridization: eight years follow up of the Goiânia radiation accident victims, *Mutat. Res.* **400** (1998) 299–312.
- [210] SAKAMOTO-HOJO, E.T., NATARAJAN, A.T., CURADO, M.P., Chromosome translocations in lymphocytes from individuals exposed to ¹³⁷Cs 7.5 years after the accident in Goiânia (Brazil), *Radiat. Prot. Dosim.* **86** (1999) 25–32.
- [211] BAUCHINGER, M., et al., Collaborative exercise on the use of FISH chromosome painting for retrospective biodosimetry of Mayak nuclear-industrial personnel, *Int. J. Radiat. Biol.* **77** (2001) 259–267.
- [212] SALASSIDIS, K., et al., Chromosome painting in highly irradiated Chernobyl victims: a follow-up study to evaluate the stability of symmetrical translocations and the influence of clonal aberrations for retrospective dose estimation, *Int. J. Radiat. Biol.* **68** (1995) 257–262.
- [213] LINDHOLM, C., TEKKEL, M., VEIDEBAUM, T., ILUS, T. SALOMAA, S., Persistence of translocations after accidental exposure to ionizing radiation, *Int. J. Radiat. Biol.* **74** (1998) 565–571.
- [214] LINDHOLM, C., et al., Intercomparison of translocation and dicentric frequencies between laboratories in a follow-up of the radiological accident in Estonia, *Int. J. Radiat. Biol.* **78** (2002) 883–890.
- [215] DURAN, A., et al., Suitability of FISH painting techniques for the detection of partial-body irradiations for biological dosimetry, *Radiat. Res.* **157** (2002) 461–468.

- [216] GUERRERO-CARBAJAL, Y.C., MOQUET, J.E., EDWARDS, A.A., LLOYD, D.C., The persistence of FISH translocations for retrospective biological dosimetry after simulated whole or partial body irradiation, *Radiat. Prot. Dosim.* **76** (1998) 159–168.
- [217] SEVAN'KAEV, A.V., et al., A cytogenetic follow-up of some highly irradiated victims of the Chernobyl accident, *Radiat. Prot. Dosim.* **113** (2005) 152–161.
- [218] LINDHOLM, C., SALOMAA, S., Dose assessment of past accidental or chronic exposure using FISH chromosome painting, *Radiat. Prot. Dosim.* **88** (2000) 21–25.
- [219] MULLER, I., et al., Time-course of radiation-induced chromosomal aberrations in tumor patients after radiotherapy, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **63** (2005) 1214–1220.
- [220] XUNCLA, M., et al., Cytogenetic damage induced by radiotherapy. Evaluation of protection by amifostine and analysis of chromosome aberrations persistence, *Int. J. Radiat. Biol.* **84** (2008) 243–251.
- [221] SCHMIDBERGER, H., et al., Reciprocal translocations in patients with testicular seminoma before and after radiotherapy, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **50** (2001) 857–864.
- [222] GEBHART, E., NEUBAUER, S., SCHMITT, G., BIRKENHAKKE, S. and DUNST, J., Use of a three-colour chromosome in situ suppression technique for the detection of past radiation exposure, *Radiat. Res.* **145** (1996) 47–52.
- [223] PALA, F.S., MOQUET, J.E., EDWARDS, A.A., LLOYD, D.C., *In vitro* transmission of chromosomal aberrations through mitosis in human lymphocytes, *Mutat. Res.* **474** (2001) 139–146.
- [224] GARDNER, S.N., TUCKER, J. D., The cellular lethality of radiation-induced radiation-induced chromosome translocations in human lymphocytes, *Radiat. Res.* **157** (2002) 539–552.
- [225] HANDE, M.P., NATARAJAN, A.T., Induction and persistence of cytogenetic damage in mouse splenocytes following whole-body X irradiation analysed by fluorescence in situ hybridization. IV. Dose response, *Int. J. Radiat. Biol.* **74** (1998) 441–448.
- [226] XIAO, Y., DARROUDI, F., GRIGOROVA, M., NATARAJAN, A.T., Induction and persistence of chromosomal exchanges in mouse bone marrow cells following whole-body exposure to X-rays, *Int. J. Radiat. Biol.* **75** (1999) 1119–1128.
- [227] ROMM, H., STEPHAN, G., Dose dependency of FISH-detected translocations in stable and unstable cells after Cs gamma irradiation of human lymphocytes *in vitro*, *Cytogenet. Genome Res.* **104** (2004) 162–167.
- [228] RODRIGUEZ, P., et al., Analysis of translocations in stable cells and their implications in retrospective biological dosimetry, *Radiat. Res.* **162** (2004) 31–38.
- [229] BAUCHINGER, M., SCHMID, E., ZITZELBERGER, H., BRASELMANN, H., AHRSTEDT, U., Radiation-induced chromosomal aberrations analyzed by two colour fluorescence in situ hybridization with composite whole chromosome-specific DNA probes and a pancentromeric DNA probe, *Int. J. Radiat. Biol.* **64** (1993) 179–84.
- [230] FERNANDEZ, J. L., et al., X-ray biological dosimetry performed by selective painting of human chromosomes 1 and 2, *Int. J. Radiat. Biol.* **67** (1995) 295–302.
- [231] FINNON, P., LLOYD, D.C., EDWARDS, A.A., Fluorescence in situ hybridization detection of chromosomal aberrations in human lymphocytes: applicability to biological dosimetry, *Int. J. Radiat. Biol.* (1995) **68** 429–435.
- [232] HSIEH, W.A., et al., Alpha coefficient of dose-response for chromosome translocations measured by FISH in human lymphocytes exposed to chronic ⁶⁰Co gamma rays at body temperature, *Int. J. Radiat. Biol.* **75** (1999) 435–439.
- [233] DARROUDI, F., NATARAJAN, A.T., Application of FISH chromosome painting assay for dose reconstruction: State of the art and current views, *Radiat. Prot. Dosim.* **88** (2000) 51–58.
- [234] SALISSIDIS, K., SCHMID, E., PETER, R.U., BRASELMANN, H., BAUCHINGER, M., Dicentric and translocation analysis for retrospective dose estimation in humans exposed to ionising radiation during the Chernobyl power plant accident, *Mutat. Res.* **311** (1994) 39–48.
- [235] LLOYD, D.C., et al., “Retrospective dosimetry by chromosomal analysis”, *The Radiological Consequences of the Chernobyl Accident (Proc. Mtg Minsk, 1996)*, Rep. Eur 16544 EN, (1996) 965–973.

- [236] SNIGIRYOVA, G., BRASELMANN, H., SALASSIDIS, K., SHEVCHENKO, V., BAUCHINGER, M., Retrospective biodosimetry of Chernobyl clean-up workers using chromosome painting and conventional chromosome analysis, *Int. J. Radiat. Biol.* **71** (1997) 119–127.
- [237] DARROUDI, F., NATARAJAN, A.T., “Biological dosimetric studies in the Chernobyl radiation accident, on populations living in the contaminated areas (Gomel regions) and in Estonian clean-up workers, using FISH technique”, *The Radiological Consequences of the Chernobyl Accident (Proc. Mtg Minsk, 1996)* Eur 16544 EN, (1996) 1067–1072.
- [238] SALISSIDIS, K., et al., Analysis of symmetrical translocations for retrospective biodosimetry in radiation workers of the Mayak nuclear-industrial complex (Southern Urals) using FISH-chromosome painting, *Int. J. Radiat. Biol.* **74** (1999) 431–439.
- [239] BAUCHINGER, M., et al., FISH-based analysis of stable translocations in a Techa river population, *Int. J. Radiat. Biol.* **73** (1998) 605–612.
- [240] TUCKER, J.D., et al., Biological dosimetry of radiation workers at the Sellafield nuclear facility, *Radiat. Res.* **148** (1997) 216–226.
- [241] NAKAMURA, N., MIYAZAWA, C., SAWADA, S., AKIYAMA, M., AWA, A.A., A close correlation between spin resonance (ESR) dosimetry from tooth enamel and cytogenetic dosimetry from lymphocytes of Hiroshima atomic-bomb survivors, *Int. J. Radiat. Biol.* **73** (1998) 619–627.
- [242] LLOYD, D.C., MOQUET, J.E., ORAM, S., EDWARDS, A.A., LUCAS, J.N., Accidental intake of tritiated water: A cytogenetic follow-up case on translocation stability and dose reconstruction, *Int. J. Radiat. Biol.* **73** (1998) 543–547.
- [243] RAMALHO, A.T., NASCIMENTO, A.C.H., NATARAJAN, A.T., Dose assessments by cytogenetic analysis in the Goiânia (Brazil) radiation accident, *Radiat. Prot. Dosim.* **25** (1988) 97–100.
- [244] STRAUME, T., et al., Novel biodosimetry methods applied to victims of the Goiânia accident, *Hlth Phys.* **60** (1991) 71–76.
- [245] STEPHAN, G., PRESSL, S., Chromosome aberrations in human lymphocytes analysed by fluorescence in situ hybridization after *in vitro* irradiation, and in radiation workers, 11 years after an accidental radiation exposure, *Int. J. Radiat. Biol.* **71** (1997) 293–299.
- [246] LINDHOLM, C., et al., Biodosimetry after accidental radiation exposure by conventional chromosome analysis and FISH, *Int. J. Radiat. Biol.* **70** (1996) 647–656.
- [247] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, *The Radiological Accident in Lilo*, IAEA, Vienna (2000).
- [248] ROY, L., et al., Study of the tools available in biological dosimetry to estimate the dose in cases of accidental complex overexposure to ionizing radiation: the Lilo accident, *Int. J. Radiat. Biol.* **82** (2006) 39–48.
- [249] DARROUDI, F., et al., Detection of total and partial body irradiation in a monkey model: a comparative study of chromosomal aberration, micronuclei and premature chromosome condensation assays, *Int. J. Radiat. Biol.* **74** (1998) 207–215.
- [250] PRASANNA, P.G.S., KOLANKO, C.J., GERSTENBERG, H.M., BLAKELY, W.F., Premature chromosome condensation assay for biodosimetry: Studies with fission neutrons, *Hlth Phys.* **72** (1997) 594–600.
- [251] TERZOUDI, G.I., PANTELIS G.E., Cytogenetic methods for biodosimetry and risk individualization after exposure to ionizing radiation, *Radiat. Prot. Dosim.* **122** (2006) 513–520.
- [252] DARROUDI, F., NATARAJAN, A.T., “Premature chromosome condensation, a novel method for biological dosimetry”, *High Levels of Natural Radiation (Proc. 10th Int. Congr. Vienna, 1993)*, IAEA, Vienna (1993) 479–485.
- [253] KANDA, R., MINAMIHISAMATSU, M., HAYATA, I., Dynamic analysis of chromosome aberrations in three victims of the Tokai-mura criticality accident, *Int. J. Radiat. Biol.* **78** (2002) 857–862.
- [254] HAYATA, I., KANDA, R., MINAMIHISAMATSU, M., FURUKAWA, A., SASAKI, M.S., Cytogenetical dose estimation for 3 severely exposed cases in the JCO criticality accident in Tokai-mura, *J. Radiat. Res.* **42** Suppl. (2001) S149–S155.

- [255] ISHIGURE, N., ENDO, A., YAMAGUCHI, Y., KAWACHI, K., Calculation of the absorbed dose for the overexposed patients at the JCO criticality accident in Tokai-mura, J. Rad. Res. **42** Suppl. (2000) S137–S148.
- [256] BAUCHINGER, M., BRASELMANN, H., “Use of micronuclei in biological dosimetry of absorbed radiation dose”, Chromosome Aberrations — Basic and Applied Aspects, Springer-Verlag, Berlin (1989) 202–211.
- [257] KOTELES, G.J., The human lymphocyte micronucleus assay. A review on its applicabilities in occupational and environmental medicine, Centr. Europ. J. Occup. Environ. Med. **2** (1996) 12–30.
- [258] FENECH, M., The *in vitro* micronucleus technique, Mutat. Res. **455** (2000) 81–95.
- [259] FENECH, M., PEREPETSKAYA, G., MIKHALEVICH, L., A more comprehensive application of the micronucleus technique for biomonitoring of genetic damage rates in human populations — Experiences from the Chernobyl catastrophe, Environ. Mol. Mutagen. **30** (1997) 112–118.
- [260] MIKHALEVICH, L.S., et al., Radiation effects in lymphocytes of children living in a Chernobyl contaminated region of Belarus, Int. J. Radiat. Biol. **76** (2000) 1377–1385.
- [261] FUCIC, A., et al., Genomic damage in children accidentally exposed to ionizing radiation: A review of the literature, Mutat. Res. **658** (2008) 111–123.
- [262] KIRSCH-VOLDERS, M., FENECH, M., Inclusion of micronuclei in non-divided mononuclear lymphocytes and necrosis/apoptosis may provide a more comprehensive cytokinesis block micronucleus assay for biomonitoring purposes, Mutagenesis **16** (2001) 51–58.
- [263] ROSEFORT, C., FAUTH, E., ZANKL, H., Micronuclei induced by aneugens and clastogens in mononucleate and binucleate cells using the cytokinesis block assay, Mutagenesis **19** (2004) 277–284.
- [264] NORPPA, H., RENZI, L., LINDHOLM, C., Detection of whole chromosomes in micronuclei of cytokinesis-block human lymphocytes by antikinetochore staining and in situ hybridization, Mutagenesis **8** (1993) 519–525.
- [265] HUBER, R., et al., Detection of centromeres in vinblastine- and radiation-induced micronuclei of human lymphocytes using FISH with an alpha satellite pancentromeric DNA probe, Environ. Mol. Mutagen. **27** (1996) 105–109.
- [266] THIERENS, H., et al., Scoring of different cytogenetic endpoints after *in vitro* low dose γ -exposure: interlaboratory comparison for biomonitoring of radiological workers, Int. J. Radiat. Biol. **75** (1999) 23–34.
- [267] PALA, F.S., et al., The effects of micronuclei with whole chromosomes on biological dose estimation, Turk. J. Biol. **32** (2008) 283–290.
- [268] MUELLER, W.U., RODE, A., The micronucleus assay in human lymphocytes after high radiation doses (5–15 Gy), Mutat. Res. **502** (2002) 47–51.
- [269] ABRAMSSON-ZETTERBERG, L., ZETTERBERG, G., BERGQVIST, M., GRAWE, J., Human cytogenetic biomonitoring using flow-cytometric analysis of micronuclei in transferring-positive immature peripheral blood reticulocytes, Environ. Mol. Mutagen. **36** (2000) 22–31.
- [270] STOPPER, H., et al., Pilot study for comparison of reticulocyte-micronuclei with lymphocyte-micronuclei in human biomonitoring, Toxicol. Lett. **156** (2005) 351–360.
- [271] GRAWE, J., Evaluation of the reticulocyte micronucleus assay in patients treated with radioiodine for thyroid cancer, Mutat. Res. **583** (2005) 12–25.
- [272] VRAL, A., Micronuclei induced by fast neutrons versus ^{60}Co γ -rays in human peripheral blood lymphocytes, Int. J. Radiat. Biol. **65** (1994) 321–328.
- [273] VERHAEGEN, F., VRAL, A., Sensitivity of micronucleus induction in human lymphocytes to low LET radiation qualities: RBE and correlation of RBE and LET, Radiat. Res. **139** (1994) 208–213.
- [274] WUTTKE, K., MULLER, W.U., STREFFER, C., The sensitivity of the *in vitro* cytokinesis-block micronucleus assay in lymphocytes for different and combined radiation qualities, Strahlentherapie Onkol. **174** (1998) 262–268.
- [275] GERSEY, B., et al., Micronuclei induction in human fibroblasts exposed *in vitro* to Los Alamos high-energy neutrons, Adv. Space Res. **40** (2007) 1754–1757.
- [276] FENECH, M., AITKEN, C., RINALDI, J., Folate, vitamin B12, homocysteine status and DNA damage in young Australian adults, Carcinogenesis **19** (1998) 1163–1171.

- [277] FENECH, M., HOLLAND, N., CHANG, W.P., ZEIGER, E., BONASSI, S., The HUMN Project - An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans, *Mutat. Res.* **428** (1999) 271–283.
- [278] THIERENS, H., VRAL, A., DE RIDDER, L., A cytogenetic study of radiological workers : effect of age, smoking and radiation burden on the micronucleus frequency, *Mutat. Res.* **360** (1996) 75–82.
- [279] THIERENS, H., et al., Cytogenetic monitoring of hospital workers occupationally exposed to ionizing radiation using the micronucleus-centromere assay, *Mutagenesis* **15** (2000) 245–249.
- [280] THIERENS, H., et al., A cytogenetic study of nuclear power plant workers using the micronucleus-centromere assay, *Mutat. Res.* **445** (1999) 105–111.
- [281] CATALAN, J., et al., Age-dependent inclusion of sex chromosomes in lymphocyte micronuclei of man, *Am. J. Hum. Genet.* **63** (1998) 1464–1472.
- [282] CARERE, A., ANTOCCIA, A., CIMINI, D., et al., Analysis of chromosome loss and non-disjunction in cytokinesis-block lymphocytes of 24 male subjects, *Mutagenesis* **14** (1999) 491–496.
- [283] THIERENS, H., VRAL, A., DERIDDER, L., Biological dosimetry using the micronucleus assay for lymphocytes: interindividual differences in dose-response, *Hlth Phys.* **61** (1991) 623–630.
- [284] EASTMOND, D.A., TUCKER, J.D., Identification of aneuploidy-inducing agents using cytokinesis-block human lymphocytes and an antikinetochore antibody, *Environ. Mol. Mutagen.* **13** (1989) 34–43.
- [285] LEE, T.K., et al., Micronuclei in lymphocytes of prostate cancer patients undergoing radiation therapy, *Mutat. Res.* **469** (2000) 63–70.
- [286] THIERENS, H., VRAL, A., VAN EIJKEREN, M., SPELEMAN, F., DE RIDDER, L., Micronucleus induction in peripheral blood lymphocytes of patients under radiotherapy treatment for cervical cancer or Hodgkin's disease, *Int. J. Radiat. Biol.*, **67** (1995) 529–539.
- [287] SILVA-BARBOSA, I., PEREIRA-MAGNATA, S., AMARAL, A., SOTERO, G., MELO, H.C., Dose assessment by quantification of chromosome aberrations and micronuclei in peripheral blood lymphocytes from patients exposed to gamma radiation, *Genet. Mol. Biol.* **28** (2005) 452–457.
- [288] LE ROUX, J., SLABBERT, J., SMIT, B., BLEKKENHORST, G., Assessment of the micronucleus assay as a biological dosimeter using cytokinesis-block lymphocytes from cancer patients receiving fractionated partial-body radiotherapy, *Strahlenther. Onkol.* **174** (1998) 75–81.
- [289] IARMARCOVAI, G., et al., Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes of cancer patients: a meta-analysis, *Mutat. Res.* **659** (2008) 274–283.
- [290] MONSIEURS, M., et al., Patient dosimetry after ¹³¹I lipiodol therapy, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* **30** (2003) 554–561.
- [291] LIVINGSTON, G.K., FOSTER, A.E., ELSON, H.R., Effect of in vivo exposure to iodine-131 on the frequency and persistence of micronuclei in human lymphocytes, *J. Toxicol. Environ. Hlth* **40** (1993) 367–375.
- [292] FENECH, M., et al., Micronuclei in cytokinesis-block lymphocytes of cancer patients following fractionated partial-body radiotherapy, *Int. J. Radiat. Biol.* **57** (1990) 373–383.
- [293] DIAS, F.L., et al., Cytogenetic analysis in lymphocytes from workers occupationally exposed to low levels of ionizing radiation, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **23** (2007) 228–233.
- [294] SARI-MINODIER, I., et al., Cytogenetic monitoring by use of the micronucleus assay among hospital workers exposed to low doses of ionizing radiation, *Mutat. Res.* **629** (2007) 111–121.
- [295] THIERENS, H., et al., Micronucleus assay reveals no radiation effects among nuclear power plant workers, *Hlth Phys.* **83** (2002) 178–182.
- [296] VAGLENOV, A., et al., Cytogenetic monitoring of workers from a nuclear power plant, *Centr. Eur. J. Occupation. Environ. Med.* **3** (1997) 40–47.
- [297] LIVINGSTON, G.K., et al., Radiobiological evaluation of immigrants from the vicinity of Chernobyl, *Int. J. Radiat. Biol.* **72** (1997) 703–713.
- [298] TANAKA, K., et al., Unstable-type chromosome aberrations in lymphocytes from individuals living near Semipalatinsk Test Site, *J. Radiat. Res.* **47** (2006) Suppl. A159–A164.

- [299] THIERENS, H., et al., Cytogenetic biodosimetry of an accidental exposure of a radiological worker using multiple assays, *Radiat. Prot. Dosim.* **113** (2005) 408–414.
- [300] MARTIN, P.R., BERDYCHEVSKI, R.E., SUBRAMANIAN, U., BLAKELY, W.F., PRASANNA, P.G.S., Sample tracking in an automated cytogenetic biodosimetry laboratory for radiation mass casualties, *Radiat. Meas.* **42** (2007) 1119–1124.
- [301] FRIEDMAN, L.I., SEVERNS, M.L., Application of robotics in blood banking, *Vox Sang* **51** Suppl. 1 (1986) S57–S62.
- [302] HANSON, K.L., CARTWRIGHT, C.P., Evaluation of an automated liquid-handling system (Tecan Genesis RSP 100) in the Abbott LCx assay for *Chlamydia trachomatis*, *J. Clin. Microbiol.* **39** (2001) 1975–1977.
- [303] DENG, W., TSAO, S.W., LUCAS, J.N., LEUNG, C.S., CHANG, A.L., A new method for improving metaphase chromosome spreading, *Cytometry* **51** (2003) 46–51.
- [304] WEBER, J., SCHEID, W., TRAUT, H., Time saving in biological dosimetry by using the automatic metaphase finder, *Metafer2. Mutat. Res.* **272** (1992) 31–34.
- [305] LLOYD, D.C., “Advances in cytogenetic dosimetry”, *The Medical Basis of Radiation Accident Preparedness II: Clinical Experience and Follow Ups since 1979*, (RICKS, R. E., FRY, S. S. E., Eds), Elsevier, New York, NY (1990) 479–487.
- [306] FINNON, P., LLOYD, D.C., EDWARDS, A.A., An assessment of the metaphase finding capability of the Cytoscan 110, *Mutation Res.* **164** (1986) 101–108.
- [307] LLOYD, D.C., “Automated aberration scoring: the requirements of an end-user”, *Automation of Cytogenetics* (LUNDSTEEN, C., PIPER, J., Eds), Springer-Verlag, Heidelberg (1989). 9–17.
- [308] LORCH, T., WITTLER, C., STEPHAN, G., BILLE, J., “An automated chromosome aberration scoring system”, *Automation of Cytogenetics* (LUNDSTEEN, C., PIPER, J., Eds), Springer-Verlag, Heidelberg (1989) 19–30.
- [309] FINNON, P., LLOYD, D.C., EDWARDS, A.A., “Progress in automatic dicentric hunting”, *Chromosome Alterations, Origin and Significance* (OBE, G., NATARAJAN, A.T., Eds), Springer-Verlag, Heidelberg (1994) 192–202.
- [310] STEPHAN, G., “Automatische Analyse dizentrischer Chromosomen”, *Methodische Fragen beim Human Population Monitoring in der Zytogenetik* (ARNDT, D., OBE, G., Eds), MMV Verlag, München (1996).
- [311] VAURIJOUX, A., et al., Strategy for Population Triage Based on Dicentric Analysis, *Radiat. Res.* **171** (2009) 541–548.
- [312] CASTELAIN, P., et al., Automated detection of cytochalasin-B blocked binucleated lymphocytes for scoring micronuclei, *Mutagenesis* **8** (1993) 285–293.
- [313] VERHAEGEN, F., et al., Scoring of radiation-induced micronuclei in cytokinesis-block human lymphocytes by automated image analysis, *Cytometry* **17** (1994) 119–127.
- [314] SCHUNK, C., et al., New developments in automated cytogenetic imaging: unattended scoring of dicentric chromosomes, micronuclei, single cell gel electrophoresis, and fluorescence signals, *Cytogenet. Genome Res.* **104** (2004) 383–389.
- [315] VARGA, D., et al., An automated scoring procedure for the micronucleus test by image analysis, *Mutagenesis* **19** (2004) 391–397.
- [316] DECORDIER, I., et al., Automated image analysis of cytokinesis-block micronuclei: an adapted protocol and a validated scoring procedure for biomonitoring, *Mutagenesis* **24** (2009) 85–93.
- [317] KORTHOFF, K., CAROTHERS, A.D., Test of performance of four semi-automatic metaphase-finding and karyotyping systems, *Clin. Gen.* **40** (1991) 441–451.
- [318] VROLIK, J., SLOOS, W.C., DARROUDI, F., NATARAJAN, A.T., TANKE, H.J., A system for fluorescence metaphase finding and scoring of chromosomal translocations visualized by in situ hybridisation, *Int. J. Radiat. Biol.* **66** (1994) 287–295.
- [319] WU, Q., SNELLINGS, J., AMORY, L., SUETENS, P., OOSTERIJNCK, A., “Model-based contour analysis in a chromosome segmentation system”, *Automation of Cytogenetics*, Springer, Heidelberg (1989) 217–229.
- [320] PIPER, J., et al., Automated fluorescence metaphase finder speeds translocation scoring in FISH painted chromosomes, *Cytometry* **16** (1994) 7–16.

- [321] MASCILO, L.N., et al., Advances in the automated detection of metaphase chromosomes labelled with fluorescence dyes, *Cytometry* **33** (1998) 10–18.
- [322] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Generic procedures for medical response during a nuclear or radiological emergency, EPR-MEDICAL IAEA, Vienna (2005).
- [323] الوكالة الدولية للطاقة الذرية، كتيب المستجيبين الأولين للطوارئ الإشعاعي، الاستعداد والاستجابة لحالات الطوارئ – المستجيبون الأولون، الوكالة الدولية للطاقة الذرية، فيينا، (٢٠٠٧).
- [324] NATIONAL COUNCIL OF RADIATION PROTECTION AND MEASUREMENTS , Key elements of preparing emergency responders for nuclear and radiological terrorism, Commentary No. 19, Bethesda, MD (2005).
- [325] WASELENKO, J.K., et al., Medical management of the acute radiation syndrome: Recommendations of the Strategic National Stockpile Working Group, *Ann. Intern. Med.* **140** (2004) 1037–1051.
- [326] ALEXANDER, G.A., et al., BiodosEPR-2006 Meeting: Acute dosimetry consensus committee recommendations on biodosimetry applications in events involving uses of radiation by terrorists and radiation accidents, *Radiat. Meas.* **42** (2007) 972–996.
- [327] FLYNN, D.F., GOANS, R.E., Nuclear terrorism: triage and medical management of radiation and combined-injury casualties, *Surg. Clin. N. Am.* **86** (2006) 601–636.
- [328] BLAKELY, W.F., WALTER, C.A., PRASANNA, P.G.S., Early-response biological dosimetry—recommended countermeasure enhancements for mass casualty radiological incidents and terrorism, *Hlth Phys.* **89** (2005) 494–504.
- [329] BLAKELY, W.F., Early Biodosimetry Response: Recommendations for Mass-Casualty Radiation Accidents and Terrorism (Refresher Course for the 12th International Congress of the International Radiation Protection Association, Buenos Aires, 19–24 October 2008), http://www.irpa12.org.ar/PDF/RC/RC_12_fullpaper.pdf
- [330] MURATA, H., AKASHI, M., The report of the criticality accident in a uranium conversion test plant in Tokai-mura, NIRS-M-154, National Institute of Radiation Sciences, Japan (2002).
- [331] US DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, Radiation Event Medical Management, <http://www.remm.nlm.gov/>
- [332] LLOYD, D.C., EDWARDS, A.A., MOQUET, J.E., GUERRERO-CARBAJAL, Y.C., The role of cytogenetics in early triage of radiation casualties, *Appl. Radiat. Isot.* **52** (2000) 1107–1112.
- [333] VOISIN, P., et al., The cytogenetic dosimetry of recent accidental overexposure, *Cell. Mol. Biol. (Noisy-Le-Grand)* **47** (2001) 557–564.
- [334] FLEGAL, F.N., DEVANTIER, Y., MCNAMEE, J.P., WILKINS, R.C., QuickScan dicentric chromosome analysis for radiation biodosimetry, *Hlth Phys.* **98** (2010) 276–281.
- [335] LINDHOLM, C., et al., Premature chromosome condensation (PCC) assay for dose assessment in mass casualty accidents, *Radiat. Res.* **173** (2010) 71–78.
- [336] MCNAMEE, J.P., FLEGAL, F.N., BOULAY GREENE, H., MARRO, L., WILKINS R.C., Validation of the Cytokinesis-Block Micronucleus (CBMN) assay for use as a triage biological dosimetry tool, *Radiat. Prot. Dosim.* **135** (2009) 232–242.
- [337] YOSHIDA, M.A., et al., The Chromosome Network for biodosimetry in Japan, *Radiat. Meas.* **42** (2007) 1125–1127.
- [338] MILLER, S. M., et al., Canadian Cytogenetic Emergency Network (CEN) for biological dosimetry following radiological/nuclear accidents, *Int. J. Radiat. Biol.* **83** (2007) 471–477.
- [339] WOJCIK, A., LLOYD, D., ROMM, H., ROY, L., Biological dosimetry for triage of casualties in a large-scale radiological emergency: Capacity of the EU member states, *Radiat. Prot. Dosim.* **138** (2010) 397–401.
- [340] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, RANET Assistance Action Plan – Arrangements for Providing International Assistance and Sample of Assistance Action Plan, IAEA, Vienna, Austria, 2006.
- [341] BLAKELY, W.F., et al., WHO 1st consultation on the development of a global biodosimetry laboratories network for radiation emergencies (BioDoseNet), *Radiat. Res.* **171** (2009) 127–39.
- [342] SEVAN'KAEV, A.V., Results of cytogenetic studies of the consequences of the Chernobyl accident, *Radiat. Biol. Radioecol.* **40** (2000) 589–595.

- [343] MAZNIK, N.A., VINNIKOV, V.A., LLOYD, D.C., EDWARDS, A.A., Chromosomal dosimetry for some groups of evacuees from Prypiat and Ukrainian liquidators, *Radiat. Prot. Dosim.* **74** (1997) 5–11.
- [344] SHEVCHENKO, V.A., SNIGIRYOVA, G.P., “Cytogenetic effects of the action of ionizing radiations on human population”, Research Activities about the Radiological Consequences of the Chernobyl NPS Accident and Social Activities to Assist the Sufferers by the Accident (IMANAKA, T., Ed.), Research Reactor Institute, Kyoto University (1998) 203–215.
- [345] SEVAN'KAEV, A.V., et al., A survey of chromosomal aberrations in lymphocytes of Chernobyl liquidators, *Radiat. Prot. Dosim.* **58** (1995) 85–91.
- [346] MAZNIK, N.A., VINNIKOV, V.A., The retrospective cytogenetic dosimetry using the results of conventional chromosomal analysis in Chernobyl clean-up workers, *Radiat. Biol. Radioecol.* **45** (2005) 700–708.
- [347] SEVAN'KAEV, A.V., et al., Novel data set for retrospective biodosimetry using both conventional and FISH chromosome analysis after high accidental overexposure, *Appl. Radiat. Isot.* **52** (2000) 1149–1152.
- [348] EDWARDS, A., et al., Biological estimates of dose to inhabitants of Belarus and Ukraine following the Chernobyl accident, *Radiat. Prot. Dosim.* **111** (2004) 211–219.
- [349] KOKSAL, G., PALA, F.S., DALCI, D.O., *In vitro* dose-response curve for chromosome aberrations induced in human lymphocytes by ^{60}Co gamma-radiation, *Mutat. Res.* **329** (1995) 57–61.
- [350] RAMALHO, A.T., NASCIMENTO, A.C., The fate of chromosomal aberrations in ^{137}Cs -exposed individuals in the Goiânia radiation accident, *Health Phys.* **60** (1991) 67–70.
- [351] SASAKI, M.S., HAYATA, I., KAMADA, N., KODAMA, Y., KODAMA, S., Chromosome aberration analysis in persons exposed to low-level radiation from the JCO criticality accident in Tokaimura, *J. Radiat. Res.* **42** Suppl. (2001) S107–S116.
- [352] JINARATANA, V., The Radiological Accident in Thailand, Parthenon Publishing, (2002) 283–301.
- [353] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, The Radiological Accident in Nueva Aldea, IAEA, Vienna (2009).
- [354] BERTHO, J.M., ROY, L., A rapid multiparametric method for victim triage in cases of accidental protracted irradiation or delayed analysis, *Br. J. Rad.* **82** (2009) 764–770.
- [355] WORLD HEALTH ORGANIZATION, Biorisk Management: Laboratory Biosecurity Guidance, WHO, Geneva (2006).
- [356] WORLD HEALTH ORGANIZATION, Laboratory Biosafety Manual, 3rd edn, WHO, Geneva (2004).
- [٣٥٧] الوكالة الدولية للطاقة الذرية، *مسرد مصطلحات الأمان الصادر عن الوكالة الدولية للطاقة الذرية، المصطلحات المستخدمة في مجالي الأمان النووي والوقاية من الإشعاعات، طبعة ٢٠٠٧، الوكالة الدولية للطاقة الذرية، فيينا (٢٠٠٧).*

المرفق الأول

فحص ثنائيات القسّم المركزي

وصفت ونوقشت مختلف أنواع المواد والأساليب المستخدمة في إجراء وتجهيز مزارع الكريات اللمفاوية الشائعة في المختبرات في كل أنحاء العالم، وربما لا يوجد مختبران يتبعان بالضبط نفس التقنية. ويتضمن هذا المرفق وصفاً مفصلاً لأسلوب موثوق يمكن أن يساعد بعض المختبرات.

المرفق الأول-١- مزرعة الكريات اللمفاوية

المرفق الأول-١-١- المواد

- (١) دم كامل معالج بالهيبارين.
- (٢) فيتوهيماغلوتينين، وهو متاح تجارياً. وإذا كان يورّد مجمّداً، ينبغي إعادة تكوينه باستخدام ماء معقم من الرتبة التحليلية.
- (٣) وسط إيجل الأساسي الأدنى، وهو متاح تجارياً ويكون جاهزاً للاستعمال بتركيز ١٠ أو في شكل مسحوق. وينبغي إعداد تركيزات العمل باستخدام الماء المعقم من الرتبة التحليلية. وقد يتعيّن إضافة غلوتامين L وفقاً لتعليمات الشركة المصنعة. وسيُتعيّن تعديل تركيز الأس الهيدروجيني كي يناسب بيكرينات الصوديوم المعقمة.
- (٤) '١' قد تلزم إضافة مضادات حيوية إلى الوسط المصنوع من مركّزات. ويضاف ١ مليلتر من محلول مركز من المضادات الحيوية في محلول محلي إلى ١٠٠ مليلتر من الوسط. وينبغي أن يحتوي المحلول المركز على ١٠٠ وحدة دولية/مليلتر من بينزيل البنسلين و ١٠٠ ميكروغرام/مليلتر من سلفات الاستربتوميسين ويمكن تخزينها مجمّدة.
- (٤) برومو ديوكسي يوريد (BedU): يضاف ١ مليلتر من محلول مركز إلى ١٠٠ مليلتر من الوسط. ويحتوي المحلول المركز على ٦,٤ مللي غرام من برومو ديوكسي يوريد المذاب في ١٠ مليلتر من الوسط ويرشّح باستخدام مرشحة غشائية. ويعطي ذلك التركيز النهائي في مزرعة من ١٥ ميكرو مولار. ويمكن تخزين المحلول المركز لمدة شهر في الظلام في درجة حرارة ٤ مئوية أو لعدة أشهر في درجة حرارة ٢٠ درجة مئوية تحت الصفر.
- (٥) يسخّن مصل جنين الأبقار المعطّل (٥٦ درجة مئوية لمدة ٠,٥ ساعة)، ويتاح هذا المصل تجارياً ويخزّن مجمّداً.
- (٦) كولسيميد: محلول مركز من ١٠ ميكروغرام/مليلتر في محلول محلي فيسيولوجي. ويمكن تخزينه في درجة حرارة ٤ مئوية لمدة ٦ أشهر.
- (٧) أوعية مزارع معقمة. ويوجد العديد من الخيارات، مثل زجاجات البكتريا أو الأواني البلاستيكية التي تستعمل مرة واحدة. وينبغي أن يتراوح الحجم بين ١٥ و ٢٠ مليلتر.
- (٨) ينبغي إنشاء المزارع في مقصورة أمان ميكروبيولوجي من الطبقة الثانية في إضاءة خافتة. ويمكن نقل السوائل بين الأوعية بسرّجة أو ماصة لا تستخدم إلا مرة واحدة. وإذا تعيّن تمرير الدم باستخدام إبرة حقن تحت الجلد ينبغي إجراء ذلك ببطء باستخدام إبرة واسعة الثقب (عيار ١٩) للتقليل إلى أدنى حد من قوة القص الواقعة على الخلايا.

المرفق الأول-٢- الأسلوب

- (١) يوضع ٠,٣ مليلتر من الدم المعالج بالهيبارين في وعاء زرع.
- (٢) يضاف ٤ مليلتر من الوسط الزرع المحتوي على المضادات الحيوية و برومو ديوكسي يوريد.
- (٣) يضاف ٠,١ مليلتر من الفيتوهيماغلوتينين المعاد تكوينه.

- (٤) يضاف ٠,٥ مليلتر من مصل جنين الأبقار.
- (٥) يغلق الغطاء بأحكام.
- (٦) تمزج محتويات الوعاء عن طريق رجها برفق.
- (٧) يحضن الوعاء في درجة حرارة ٣٧ مئوية \pm ٠,٥ درجة مئوية في الظلام لمدة ٤٥ ساعة.
- (٨) يضاف ٥٠ ميكرو لتر من محلول الكولسيميد المركز إلى المزرعة ويرج برفق.
- (٩) يعاد المحلول إلى الحاضنة ويترك فيها لمدة ثلاث ساعات أخرى.

المرفق الأول-٢- التثبيت وإعداد الشرائح

المرفق الأول-٢-١- الأسلوب

- (١) توضع محتويات وعاء المزرعة في أنبوب طرد مركزي.
- (٢) يدار الأنبوب بسرعة ٢٠٠ g لمدة ١٠ دقائق (لتحويل g إلى دورة/دقيقة، تستخدم القيمة $g = r\omega^2/981$ ، حيث $r =$ نصف القطر بالسنتيمتر و $\omega = 2\pi \times$ دورة/دقيقة/٦٠).
- (٣) تنزع المادة الطافية بالشفط ويعاد تعليق حبيبة الخلية في ٥ أو ١٠ مليلتر من محلول كلوريد البوتاسيوم ٠,٠٧٥ مولار.
- (٤) يترك في درجة حرارة الغرفة لمدة تتراوح بين ١٥ و ٢٠ دقيقة.
- (٥) يطرد المحلول مركزياً بعد ذلك بسرعة ٢٠٠ g لمدة ١٠ دقائق.
- (٦) تنزع المادة الطافية ويعاد تعليق الخلايا في ٥ أو ١٠ مليلتر من مثبت يتألف من الميثانول وحمض الخليك بنسبة ٣: ١. ويجب إضافة المثبت ببطء ولكن بمعدل ثابت مع التقليب بقوة، ويفضل استخدام خلاط دوامي لمنع تكتل حبيبات الخلايا. ومما يساعد أيضاً على منع تكتل الخلايا استخدام بصيلة لاتيكنس المطاطية على ماصة بسترة لمزج حبيبات الخلايا برفق قبل إضافة المثبت.
- (٧) يدار الخليط مرة أخرى.
- (٨) تنزع المادة الطافية ويعاد التعليق في ٥ أو ١٠ مليلتر من المثبت.
- (٩) يدار مرة أخرى.
- (١٠) تنزع المادة الطافية ويعاد التعليق في ٥ إلى ١٠ مليلتر من المثبت.
- (١١) يدار مرة أخرى.
- (١٢) تنزع كل المادة الطافية باستثناء ٠,٢٥ مليلتر منها ويعاد تعليق حبيبة الخلية في السائل المتبقي.
- (١٣) يسحب معلّق الخلايا في ماصة بَسْتَرَة.
- (١٤) تؤخذ شريحة نظيفة خالية من أي شحوم بعد تخزينها في جهاز تجميد. ويذاب الثلج من على الشريحة بتعريضها للهواء من الفم.
- (١٥) توضع قطرة أو قطرتان من معلّق الخلايا على الشريحة من ارتفاع لا يقل عن ١٠ سنتيمترات.
- (١٦) يجهز ما لا يقل عن شريحتين من هذه الشرائح من كل مزرعة.
- (١٧) توضع الشرائح لتجف في حرارة خفيفة في طبق ساخن.

المرفق الأول-٣- التلوين

المرفق الأول-٣-١- المواد

- (١) ملون هويشست ٣٣٢٥٨. يمكن تخزين محلول بتركيز ١٠٠٠ من ٥٠ ميكروغرام/مليلتر في دارئ فوسفات أسه الهيدروجيني ٦,٨ في درجة حرارة ٤ مئوية في الظلام.
- (٢) ملون غيمزا.
- (٣) دارئ فوسفات (أسه الهيدروجيني ٦,٨) مصنوع في شكل أقراص متاحة تجارياً.
- (٤) كلوريد الصوديوم وسترات ثلاثي الصوديوم (SSC x 2): ١٧,٥٣ غرام من كلوريد الصوديوم، و ٨,٨٢ غرام من سترات الصوديوم، وماء مقطر لإعداد ١ لتر.
- (٥) زايلين والوسط الإرسائي DPX.
- (٦) مصباح أشعة فوق البنفسجية (< ٣١٠ نانومتر) أو مصباح شرائط فلورية.

المرفق الأول-٣-٢- الأساليب

ينبغي أن تمر بضعة أيام (تصل إلى خمسة) في درجة حرارة الغرفة بين إعداد الشرائح وبدء التلوين بالفلورسين المضاف إليه ملون غيمزا، بينما يمكن استخدام ملون غيمزا التقليدي بمجرد أن تجف الشرائح. ويمكن بدلاً من ذلك تجفيف الشرائح عند درجة حرارة ٣٧ مئوية وتلوينها بالفلورسين المضاف إلى غيمزا في اليوم التالي.

الفلورسين المضاف إلى غيمزا

- (١) توضع ١٠ قطرات تقريباً من ملون هويشست بعد تخفيفه من المحلول المركز إلى ٠,٥ ميكروغرام/مليلتر) على شريحة وتغطي الشريحة بساترة.
- (٢) توضع الشريحة على صحيفة من رقائق الألومنيوم تحت مصباح أشعة فوق البنفسجية لمدة ٠,٥ ساعة.
- (٣) تنزع الساترة بحرص.
- (٤) يغسل جيداً باستخدام دارئ أسه الهيدروجيني ٦,٨.
- (٥) يوضع في SSC x 2 عند درجة حرارة ٦٠ درجة مئوية لمدة تتراوح بين ٢٠ و ٣٠ دقيقة.
- (٦) يغسل في ماء مقطر.
- (٧) توضع الشرائح في ملون غيمزا بتركيز ٥ إلى ١٠ في المائة في دارئ أسه الهيدروجيني ٦,٨ لمدة ٣ دقائق.
- (٨) يشطف لمدة قصيرة في الدارئ.
- (٩) يشطف لمدة قصيرة في ماء مقطر.
- (١٠) يجفف بالهواء.
- (١١) ينظف ويوضع تحت ساترة.

غيمزا /التقليدية

- (١) توضع الشريحة في ملون غيمزا بتركيز ٢ في المائة في دارئ أسه الهيدروجيني ٦,٨ لمدة ٥ دقائق.
- (٢) تغسل في محلول دارئ.
- (٣) تشطف لمدة قصيرة في ماء مقطر.
- (٤) تجفف بالهواء.
- (٥) تنظف وتوضع تحت ساترة.

المرفق الثاني

فحص الانتقالات الكروموسومية باستخدام التهجين الموضعي بالفلورسين

يستخدم في الإجراء المبين هنا مجسّات موسومة بطريقة مباشرة أو غير مباشرة (متاحة تجارياً) ويصف الإجراء طريقة تلوين ثلاثة أزواج من الكروموسومات بألوان مختلفة وتلوين كل الجسيمات المركزية بلون رابع وتلوين الكروموسومات المتبقية بلون مباين. وتطبق الشركات المصنّعة بروتوكولات يمكن قراءتها بالاقتران مع الأسلوب الوارد أدناه.

المرفق الثاني- ١-١- المعالجة التمهيدية

تغسل الشرائح بمحلول ملحي معزول بالفوسفات لمدة ٥ دقائق في درجة حرارة الغرفة. وتجفف الشرائح في سلسلة إيثانول (٧٠، ٩٠، ١٠٠ في المائة) لمدة تتراوح بين دقيقتين و٥ دقائق في كل خطوة في درجة حرارة الغرفة ثم تجفف بتعريضها للهواء.

المرفق الثاني- ٢-١- المعالجة بالريونوكلياز والبييسين

يمزج ٤٤٥ ميكرو لتر من الماء، و ٥٠ ميكرو لتر من سترات ملح الصوديوم بتركيز ٢٠ و ٥ ميكرو لتر من الريونوكلياز A (١٠ ميكرو غرام/ميكرو لتر) (يمكن إعداد الخليط مسبقاً ويحفظ في درجة حرارة ٢٠ درجة مئوية تحت الصفر). يوضع على كل شريحة ١٠٠ ميكرو لتر من الريونوكلياز باستخدام ماصة، وتغطى بساترة. تحضن الشريحة في غرفة رطبة لمدة ٦٠ دقيقة في درجة حرارة ٣٧ مئوية.

تغسل ثلاث مرات باستخدام سترات ملح الصوديوم 2×5 (٥ دقائق في كل مرة في درجة حرارة الغرفة). وتنزع الساترة في المرة الأولى. تغسل بعد ذلك باستخدام المحلول الملحي المعزول بالفوسفات لمدة ٥ دقائق في درجة حرارة الغرفة. وفي حالة المعالجة بالبييسين (٠,٠٠٥ في المائة في ١٠ مللي مولار من حمض الهيدروكلوريك)، يجهز سلفاً خليط مكوّن من ٥٠ ميكرو لتر من البييسين (١٠ في المائة)، و ٩٩ ملليلتر من الماء، و ١ ملليلتر من حمض هيدروكلوريك بتركيز ١. ويمكن الاحتفاظ بهذا الخليط في درجة حرارة ٢٠ مئوية تحت الصفر قبل استخدامه. ويوضع الخليط في حمام مائي دافئ في درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية ثم يوزع ١٠٠ ميكرو لتر على كل شريحة لمدة دقيقة أو دقيقتين. وتغسل بمحلول ملحي معزول بالفوسفات لمدة ٥ دقائق في درجة حرارة الغرفة.

تغسل الشريحة باستخدام ٥٠ مللي مولار من كلوريد المغنسيوم ومحلول ملحي معزول بالفوسفات (٥ ملليلتر من كلوريد المغنسيوم و ٩٥ ملليلتر من المحلول الملحي المعزول بالفوسفات) لمدة ٥ دقائق في درجة حرارة الغرفة. وتغسل باستخدام مادة الفورمالدهايد بتركيز ١ في المائة في خليط من كلوريد المغنسيوم ومحلول ملحي معزول بالفوسفات لمدة ١٠ دقائق في درجة حرارة الغرفة. وتنشطف في المحلول الملحي المعزول بالفوسفات لمدة ٥ دقائق في درجة حرارة الغرفة. وتجفف بالهواء في سلسلة إيثانول (٧٠، ٩٠، و ١٠٠ في المائة) لمدة تتراوح بين دقيقتين و٥ دقائق في كل مرة في درجة حرارة الغرفة.

المرفق الثاني- ٣-١- بروتوكول التهجين الموضعي بالفلورسين لمجسّات تلوين الكروموسومات بالاقتران مع مجسّ شامل لكل الجسيمات المركزية

تسخّن مجسّات تلوين الكروموسومات حتى تصل درجة حرارتها إلى ٤٢ درجة مئوية وترج جيداً قبل استخدامها. وتوضع كمية كافية من كل ملون كروموسومي في أنبوب إيبندورف (Eppendorf) مع دارئ تهجين؛ ويرج جيداً مع الدوران السريع.

(أ) التسخين

يمكن تسخين ملونات الكروموسومات عن طريق حضنها في درجة حرارة ٦٥ مئوية لمدة ١٠ دقائق في حمام مائي. وتوضع بعد ذلك على ثلج لمدة تتراوح بين دقيقتين و٣ دقائق، ثم تنقل إلى حمام مائي (٣٧ درجة مئوية) وتحضن لمدة ٦٠ دقيقة.

وعند استخدام ملونات الكروموسومات بالاقتران مع مجسّ كل الجسيمات المركزية (CP)، تبدأ تدفئة المجسّ ودارئ التهجين عند درجة حرارة ٣٧ مئوية لمدة ٣٠ دقيقة قبل منافسة المجسّ. ويُسخّن المجسّ عن

طريق حضنة في درجة حرارة ٨٥ مئوية لمدة ١٠ دقائق في حمام مائي ثم يوضع فوراً على الثلج لمدة تتراوح بين دقيقتين وثلاث دقائق.

وفي حالة التهجين الموضعي بالفلورسين الثلاثي الألوان باستخدام مجس كامل الجسيمات المركزية، ينبغي استخدام حجم نهائي يتراوح بين ١٨ و ٢٠ ميكرو لتر من خليط التهجين لكل شريحة (أي لكل ٣ ميكرو لتر من كل مجس من مجسات التلوين المركزة الثلاثة يضاف ١,٦ ميكرو لتر من دارئ ملائم ويضاف إلى ٢ أو ٣ ميكرو لتر من المجس المركز).

من ذلك مثلاً أنه عند تلوين الكروموسومات الثلاثة رقم ١، ورقم ٤، ورقم ٨: الكروموسوم رقم ١ (بيوتين)، ورقم ٤ بيوتين/إيزوثيوسيانات فلورسين، ورقم ٨ إيزوثيوسيانات، ومجس كل الجسيمات المركزية إيزوثيوسيانات فلورسين، فإنها تولد إشارات لونية حمراء، وصفراء، وخضراء وخضراء، على التوالي.

(ب) التهجين التمهيدي

ينبغي البدء في التهجين التمهيدي للشرائح قبل ٣٠ دقيقة تقريباً من نهاية تنافس المجسات. ويوضع ١٠٠ ميكرو لتر من الفورماميد بتركيز ٧٠ في المائة في سترات ملح صوديوم بتركيز ٢ و ٥٠ مللي مولار من محلول ملحي معزول بالفوسفات لكل شريحة وتغطي بساترة (٣٥٠ ميكرو لتر من الفورماميد ١٠٠% المنزوع الأيونات) (يخزن في درجة حرارة ٢٠ مئوية تحت الصفر)، و ٥٠ ميكرو لتر من محلول ملحي معزول بالفوسفات بتركيز ٠,٥ مولار (يخزن في درجة حرارة ٢٠ مئوية تحت الصفر) و ٥٠ ميكرو لتر من سترات ملح الصوديوم بتركيز ٢٠). وينبغي نزع أيونات الفورماميد قبل وقت قصير من استخدامه.

تُمسَخ الشرائح عند درجة حرارة ٧٠ مئوية لمدة ٢,٥ دقيقة باستخدام طبق ساخن. وتجفف الشرائح بالهواء في سلسلة إيثانول (تخزن عند درجة حرارة ٢٠ مئوية تحت الصفر) بتركيز ٧٠ في المائة لمدة ٥ دقائق، و ٩٠، و ١٠٠ في المائة لمدة تتراوح بين ٢ و ٥ دقائق في كل مرة في درجة حرارة الغرفة. وتترك الشرائح لتجف في الهواء.

(ج) التهجين

تمزج جيداً كل ملونات الكروموسومات ومجس كل الجسيمات المركزية في أنبوب إيندورف. ويدار الأنبوب بعد ذلك بسرعة لبضع ثوان ثم يوضع ٢٠ ميكرو لتر من الخليط على كل شريحة ويغطي بساترة ويختم بغراء مطاطي ويترك ليحجف في الهواء. وينبغي بعد ذلك حضن الشرائح طيلة الليل في غرفة رطبة تبلغ درجة حرارتها ٤٢ درجة مئوية. ويمكن تمديد هذه المدة إلى يومين.

الكشف:

(١) تجهز محلول غسل (WS) من سترات ملح الصوديوم بتركيز ٤ يحتوي على توين (Tween) ٢٠ بتركيز ٠,٥ في المائة.

(٢) يخفف البروتين الواقي (BP) إلى ١٥ في المائة (من الحجم) في محلول الغسل.

(٣) يستخدم البروتين الواقي المخفف في تخفيف المضادات الحيوية على النحو التالي:

٣-١-١ الطبقة الأولى (B3) (١: ٥٠٠)، أفيدين تكساس الأحمر.

٣-١-٢ الطبقة الثانية (B4) (١: ٢٥٠) مضاد أفيدين المعالج بالبايوتين

٣-١-٣ F1 (١: ٢٠٠) مضاد إيزوثيوسيانات فلورسين الأرانب.

٣-١-٤ الطبقة الثالثة B3 (١: ٥٠٠) F2-FITC (إيزوثيوسيانات فلورسين)، البلوبين المناعي G الماعزي المضاد للأرانب.

٣-١-٥ F2 (١: ١٠٠).

(٤) يحضن في الظلام لمدة ١٠ دقائق في درجة حرارة الغرفة، وينبذ مركزياً بسرعة ١١ g لمدة ١٠ دقائق وتستخدم المادة الطافية.

- (٥) تسخن المحاليل التالية إلى درجة حرارة ٤٢ مئوية:
- ١' محلول الغسل.
- ٢' بعض سترات ملح الصوديوم بتركيز ٢
- ٣' فورماميد بتركيز ٥٠ في المائة في سترات ملح صوديوم بتركيز ٢.
- ٤' سترات ملح صوديوم بتركيز ٠,١ في المائة.
- (٦) تنزع الساترات بحرص في إناء زجاجي دافئ يحتوي على سترات ملح صوديوم بتركيز ٢.
- (٧) تغسل الشرائح في المحاليل الدافئة على النحو التالي:
- ١' محلول الغسل.
- ٢' بعض سترات ملح الصوديوم بتركيز ٢.
- ٣' فورماميد بتركيز ٥٠ في المائة في سترات ملح الصوديوم بتركيز ٢.
- (٨) يوضع ١٠٠ ميكرو لتر من البروتين الواقي المخفف على كل شريحة ويغطي بساترة ويحضن في غرفة رطبة لمدة تتراوح بين ١٥ و ٢٠ دقيقة في درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية.
- (٩) تغسل الشرائح باستخدام توين ٢٠ تركيزه ٠,٠٥ في المائة في سترات ملح صوديوم بتركيز ٤ لمدة تتراوح بين دقيقتين و ٥ دقائق عند درجة حرارة ٤٢ مئوية.
- (١٠) يوضع ١٠٠ ميكرو لتر من الطبقة الأولى من الأجسام المضادة على كل شريحة وتغطي بساترة وتحضن في غرفة رطبة لمدة تتراوح بين ٢٠ و ٣٠ دقيقة في درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية.
- (١١) تغسل الشرائح في توين ٢٠ بتركيز ٠,٥ في المائة في سترات ملح صوديوم بتركيز ٤ ثلاث مرات لمدة ٥ دقائق في كل مرة عند درجة حرارة ٤٢ درجة مئوية.
- (١٢) يوضع ١٠٠ ميكرو لتر من الطبقة الثانية من الأجسام المضادة على كل شريحة وتغطي بساترة وتحضن في غرفة رطبة لمدة تتراوح بين ٢٠ و ٣٠ دقيقة عند درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية.
- (١٣) تغسل الشرائح في توين ٢٠ بتركيز ٠,٥ في المائة في سترات ملح الصوديوم بتركيز ٤ ثلاث مرات لمدة ٥ دقائق في كل مرة عند درجة حرارة ٤٢ مئوية.
- (١٤) يوضع ١٠٠ ميكرو لتر من الطبقة الثالثة من الأجسام المضادة على كل شريحة وتغطي بساترة وتحضن في غرفة رطبة لمدة تتراوح بين ٢٠ و ٣٠ دقيقة عند درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية.
- (١٥) تغسل الشرائح في توين ٢٠ بتركيز ٠,٥ في المائة في سترات ملح صوديوم بتركيز ٤ ثلاث مرات لمدة ٥ دقائق في كل مرة عند درجة حرارة ٤٢ درجة مئوية.
- (١٦) تُكرر الخطوات من ١١ إلى ١٤ مرة واحدة.
- (١٧) تجفف الشرائح في سلسلة إيثانول ٧٠، ٩٠، و ١٠٠ في المائة لمدة تتراوح بين دقيقتين و ٥ دقائق في كل مرة عند درجة حرارة الغرفة.
- (١٨) تترك الشرائح لتجف في الهواء.
- (١٩) تلون الشرائح بلون مباين باستخدام طريقة دابي (٠,١٥ ميكرو غرام/مليلتر وفي وسط إرساء فيكتا شيلد (Vectashield)، ٢٥ ميكرو لتر لكل شريحة تحت الساترة.
- وإذا لم تكن إشارات التلوين متألقة بالقدر الكافي، يمكن إعادة الطبقتين الثانية والثالثة بعد الخطوة ١٤ بتكرار الخطوات من ١٢ حتى ١٥. ويمكن بدلاً من ذلك، إذا كان لون واحد فقط باهت، تكرار الخطوات B3/الغسل/B4 بالنسبة لأحمر تكساس أو F1/الغسل/F2 بالنسبة لإيزوثيوسيانات الفلورسين.

المرفق الثالث

التكثف الكروموسومي المبسر

المرفق الثالث-١- التكثف الكروموسومي المبسر بالاندماج الفتيلي

تندمج خلايا الدم الطافية البشرية الوحيدة النواة مع خلايا مبيض القداد الصيني الفتيلية في وجود الغليكول المتعدد الإيثيلين. ونتيجة لاندماج الخلايا في ساعة واحدة فقط، يتكثف الكروماتين في خلايا الدم الوحيدة النواة وسرعان ما يعقبها تحلل لغشائها النووي ويستمر تكثف الكروماتين في $46 = 2n$ من الكروموسومات الوحيدة الكروماتيد.

المرفق الثالث-١-١- عزل الكريات اللمفاوية في الدم الطرفي لدى الإنسان

يمكن عند فصل الخلايا الأحادية النواة من الدم الكامل المعالج بمضادات التخثر باستخدام أنبوب عزل الكريات اللمفاوية (ليوكو بريب LeucoPREP) أو أنبوب فيكول هايباك لفصل الخلايا.

ألف- ليوكو بريب

منتج ليوكو بريب هو نظام من الأنابيب المحتوية على وسط فصل الخلايا، وهو، على غرار فيكول هايباك، يستفيد من الكثافة الأقل للخلايا والصفائح الوحيدة النواة لفصلها عن المكونات المتبقية في الدم الكامل المعالج بمضادات التخثر. ويحدث الفصل عندما يوضع الدم في الأنبوب فوق طبقة جيلاتينية ويخضع الأنبوب لطرد مركزي محدد لمدة معينة. وتقلل عمليات الغسل والطرد المركزي اللاحقة كمية الصفيحات الموجودة. ويمكن استخدام مستحضرات الخلايا الوحيدة النواة القادرة على الحياة التي تنشأ عن هذه العمليات في التكثف الكروموسومي المبسر.

(١) تخزن أنابيب ليوكو بريب (١٠ مليلتر) في وضع عمودي في درجة حرارة الغرفة (١٨ - ٢٥ درجة مئوية).

(٢) يجمع الدم عن طريق سحبه بإبرة من الوريد ويوضع في أنبوب معالج بالهيبارين.

(٣) يفصل الدم المعالج بالهيبارين في غضون ساعتين من أخذ عينة الدم.

(٤) يضاف الدم غير المخفف (٨ إلى ١٠ مليلتر) إلى كل أنبوب من أنابيب ليوكو بريب، ثم يخضع لطرد مركزي لمدة ١٥ دقيقة بسرعة تتراوح بين ٤٠٠-٦٠٠g في درجة حرارة الغرفة.

(٥) تتجمع الخلايا الوحيدة النواة والصفائح بعد الطرد المركزي في طبقة بيضاء رقيقة تحت طبقة الهولي مباشرة. ويشطف الهولي مع الحرص قدر الإمكان على عدم شطف الخلايا. وتجمع طبقة الخلايا باستخدام ماصة بستيرون وتنقل إلى أنبوب طرد مركزي مخروطي بغطاء سعة ١٠ مليلتر.

(٦) يعاد تعليق حبيبة الخلايا عن طريق تدويرها برفق في جهاز فصل دوامي. ويضاف الوسط F10 (١٠ مليلتر) وتمزج الخلايا عن طريق قلب الأنابيب ٣ أو ٤ مرات ثم تعرض لطرد مركزي لمدة ١٠ دقائق بسرعة ١٠٠g.

(٧) تكرر الخطوة ٥ مرة أخرى.

باء- نظام تدرج الفيكول - هايباك

الفيكول هايباك هو محلول مائي تبلغ كثافته $1,077 \pm 0,001$ غرام/مليلتر ويحتوي على ٥,٧ غرام من الفيكول ٤٠٠ و ٩ غرامات من دياتريزوات الصوديوم في كل ١٠٠ مليلتر.

(١) يجمع الدم عن طريق بزل الوريد في أنبوب معالج بالهيبارين.

(٢) تخفف عينات الدم بحجم متساو من محلول محلي متوازن.

- (٣) يوضع نحو ٥ مليلتر من الدم المخفف (قطرة قطرة) فوق الفيكول هايباك (٣ مليلتر) دون تقليب.
- (٤) تطرد الأنابيب مركزياً لمدة ٣٠ دقيقة بسرعة ٤٠٠ g في درجة حرارة تتراوح بين ٨ و ١٠ مئوية.
- (٥) تُجمع الكريات اللمفاوية (الطبقة الوسطى) وتغسل ثلاث مرات (تطرد مركزياً بسرعة ١٠٠ g لمدة ١٠ دقائق) باستخدام ٥ مليلتر من وسط الزرع F10 بالإضافة إلى مصل جنين الأبقار بتركيز ٥ في المائة.
- ويمكن استعمال الكريات اللمفاوية المعزولة فوراً لإجراء تجارب التكثف الكروموسومي المبسر أو تجميدها لاستخدامها في المستقبل.

المرفق الثالث-١-٢- تجميد الكريات اللمفاوية المعزولة

بعد الغسلة الثانية باستخدام F10 وإجراء الطرد المركزي، يعاد تعليق حبيبة الخلايا عن طريق فصلها دوامياً برفق وإعداد معلق خلوي في ١: ١، F10 + مصل جنين أبقار بتركيز ٤٠ في المائة: F10 + مصل جنين أبقار بتركيز ٤٠ في المائة + ثنائي ميثيل أكسيد كبريت بتركيز ٢٠ في المائة. وتعد معلقات الخلايا بحيث يحتوي كل أمبول (١,٥ مليلتر) على نحو 8×10^6 من الكريات اللمفاوية المعزولة. والأفضل أن يستخدم جهاز تجميد يخفض درجة الحرارة تدريجياً. وتخزن الأمبولات المجمدة في نهاية المطاف في درجة حرارة ١١٠ درجات تحت الصفر أو في نيتروجين سائل.

المرفق الثالث-١-٣- إسالة الكريات اللمفاوية المعزولة

تؤخذ أمبولات الكريات اللمفاوية من جهاز التجميد وتوضع مباشرة في حمام مائي (٣٧ درجة مئوية). وعندما تذوب قليلاً، ينقل المعلق بكاملة إلى أنبوب طرد مركزي (١٠ مليلتر). ويضاف ١٠ مليلتر من وسط RPMI البارد (٤ درجات مئوية) + مصل جنين الأبقار بتركيز ٤٠ في المائة إلى معلقات الكريات اللمفاوية، قطرة قطرة ببطء (في نحو ٣٠ دقيقة) ثم يعرض لطر مركزي لمدة ١٠ دقائق بسرعة ١٠٠ g. ويعاد تعليق حبيبة الخلايا في ٥ مليلتر من وسط RPMI + مصل جنين أبقار بتركيز ٥ في المائة. ويمكن استخدام هذه الكريات اللمفاوية الوحيدة النواة في تجارب التكثف الكروموسومي المبسر.

المرفق الثالث-١-٤- جمع وإعداد خلايا مبيض القداد الصيني الفتيلية

تنمو خلايا مبيض القداد الصيني في زجاجات أو قنينات (٧٥٠ مليلتر) في وسط كامل (F-10 + مصل الأبقار الوليدة الجديدة بتركيز ١٥ في المائة ومضادات حيوية (بنسلين ١٠٠ وحدة دولية/مليلتر وستربتوميسين ١٠٠ ميكرو غرام/مليلتر)). ويضاف الكولسيميد (٠,١ ميكرو غرام/مليلتر) إلى الخلايا النامية أسياً، وتجمع الخلايا الفتيلية باستخدام إجراء الفصل (النزع) الانتقائي المعياري بعد ٤ أو ٥ ساعات. ويمكن أيضاً أن تنمو خلايا مبيض القداد الصيني في أكثر من دورتين من دورات حياة الخلية (~ ٣٢ ساعة) في وسط كامل يكمل بمادة برومو ديوكسي يوريد (تركيز نهائي ٥ ميكرو مولار). وتختلف ألوان كل الخلايا الفتيلية التي يتم الحصول عليها من مبيض القداد الصيني وتبدو شاحبة في لونها بعد تلويئها بالفلورسين والغيمزا. ولذلك فإن لتكثف الكروموسومي المبسر للكريات اللمفاوية سيميز بطريقة أفضل بين الخلايا الفتيلية لمبيض القداد الصيني.

(١) تجميد خلايا مبيض القداد الصيني الفتيلية

يمكن إعداد الخلايا الفتيلية من مبيض القداد الصيني واستخدامها فوراً في الاندماج أو تؤخذ من مخزون مجمد في وسط كامل يستكمل بثنائي ميثيل أكسيد الكبريت بتركيز ٨ في المائة. وتقسّم الخلايا إلى أجزاء صغيرة (٢,٥ x ١٠^٦ أمبول في ١,٥ مليلتر) وتخزن في درجة حرارة ١١٠ درجات مئوية تحت الصفر.

(٢) إسالة خلايا مبيض القداد الصيني الفتيلية

تؤخذ أمبولات الخلايا الفتيلية من جهاز التجميد وتوضع في حمام مائي درجة حرارته ٣٧ درجة مئوية، ثم ينقل معلق الخلايا إلى أنبوب طرد مركزي ويضاف إليه ١٠ مليلتر من محلول الوسط. ويطرد مركزياً بعد ذلك لمدة ١٠ دقائق بسرعة ١٠٠ g. وتنزع المادة الطافية، ويضاف الوسط (٥ مليلتر) ويحتفظ به على الثلج لحين استخدامه.

المرفق الثالث- ١-٥- إعداد محلول الغليكول المتعدد الإيثيلين (PEG)

يوضع ٤٠٠ مللي غرام من الغليكول المتعدد الإيثيلين (M.W. ١٤٥٠، سيغما، ٤٠ في المائة وزن/حجم) في أنبوب طرد مركزي صغير مستدير القاعدة (١٠ مليلتر) ويضاف ٦٠٠ ميكرو لتر من محلول هانك الملحي المتوازن (HBSS) أو محلول ملحي معزول بالفوسفات أو وسط F-10، وتترك الأنابيب في حمام مائي درجة حرارته ٣٧ درجة مئوية لمدة ١٥ دقيقة. ويمكن أيضاً إذابة الغليكول المتعدد الإيثيلين أولاً في فرن ثم يمزج مع محلول هانك الملحي المتوازن أو المحلول الملحي المعزول بالفوسفات أو محلول F-10.

المرفق الثالث- ١-٦- إدماج الخلايا

- (١) تغسل الكريات اللمفاوية البينية وخلايا مبيض القداد الصيني الفتيلية مرة واحدة باستخدام محلول هانك الملحي المتوازن أو F-10 (٥ مليلتر) كل على حدة، وتطرد مركزياً لمدة ٥ دقائق بسرعة ١٠٠ g ثم تنزع المادة الطافية. وفي أنبوب زرع مستدير القاعدة تمزج الخلايا البينية مع خلايا مبيض القداد الصيني الفتيلية (٥: ١) في ١٠ مليلتر من الوسط F-10 وتطرد مركزياً لمدة ٥ دقائق بسرعة ١٠٠ g (السرعات الأعلى قد تتسبب في تكتل حبيبة الخلايا أكثر من اللازم).
- (٢) تصب المادة الطافية ويترك الأنبوب مقلوباً. تجفف القطرات المتبقية من الوسط عن طريق وضع الأنابيب رأساً على عقب في حامل أنابيب اختبار على منشفة ورقية.
- (٣) إذا تكوّنت فقاعات هوائية فوق الكرية في الأنبوب، ينبغي إزالتها باستخدام ماصة بـسّرة.
- (٤) يؤخذ ٠,١٥ مليلتر من الغليكول المتعدد الإيثيلين باستخدام ماصة مجهرية (٢٠٠ ميكرو لتر) ويوضع مباشرة في حبيبة الخلايا ثم يوضع بعد ذلك في حامل أنابيب اختبار لمدة ١,٥ دقيقة. ويرج الأنبوب برفق شديد، ثلاث مرات فقط (كل ٣٠ ثانية). وتبدو حبيبة الخلايا عند هذه النقطة مفصولة عن قاعدة الأنبوب لتكوّن كتلاً كبيرة في محلول الغليكول المتعدد الإيثيلين.
- (٥) يضاف ما يتراوح بين ١,٥ و ٢ مليلتر من F-10 أو المحلول المحلي المعزول بالفوسفات ببطء شديد في مدة تستغرق ٣ دقائق (٠,٥ مليلتر في الدقيقة). ويخلط معلّق الخلايا برفق عن طريق النقر على الأنبوب.
- (٦) يطرد الأنبوب مركزياً لمدة ٥ دقائق بسرعة ١٠٠ g.
- (٧) تصب المادة الطافية بالكامل ويضاف ٠,٥ مليلتر من الوسط الزرعي (F-10 مضافاً إليه مصل جنين الأبقار بتركيز ١٥ في المائة). وأخيراً يضاف ٥٠ ميكرو لتر من الكولسيميد (بتركيز نهائي قدره ١ ميكرو غرام/مليلتر) مع النقر برفق على الأنبوب حتى تتكون كتل صغيرة. ويحضن أنبوب الاختبار في درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية لمدة ساعة واحدة يكون قد تم بعدها حدوث اندماج الخلايا والتكثف الكروموسومي المبسر.

ثالثاً - ١-٧- بروتوكول التثبيت

- (١) يضاف ما يتراوح بين ٧ و ٨ مليلتر من محلول منخفض التوتر (كلوريد البوتاسيوم، ٥,٦ غرام/لتر) في كل أنبوب ويحضن لمدة ١٠ دقائق في درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية.
- (٢) يطرد الأنبوب مركزياً لمدة ٥ دقائق بسرعة ١٠٠ g.
- (٣) تنزع المادة الطافية حتى ٠,٥ مليلتر فوق الحبيبة. وتثبت الخلايا في ٥ مليلتر من الميثانول: حمض الخليك (٣: ١).
- (٤) يطرد الأنبوب مركزياً لمدة ٥ دقائق بسرعة ١٠٠ g.
- (٥) تكرر الخطوات ٣ و ٤ مرتين أخريين.

(٦) تنزع المادة الطافية بعد آخر طرد مركزي ويترك نحو ٠,٣ مليلتر من المحلول المثبت فوق الكرية. ثم تكسر الكرية بعد ذلك برفق ويضاف نحو ٠,٥ أو ١ مليلتر من المثبت عن طريق النقر على الأنبوب نفراً خفيفاً.

المرفق الثالث-٨-١- إعداد الشرائح

تقطر الخلايا باستخدام ماصة بَسْتَرَة على الشرائح التي سبق تنظيفها. وبملاحظة حلقات نيوتن، ينفخ الهواء برفق تحت مصباح أشعة تحت حمراء.

المرفق الثالث-٩-١- بروتوكولات التلوين

عندما لا تكون خلايا مبيض القداد الصيني الفتيلية غير موسومة مسبقاً باستخدام برومو ديوكسي يوريدين، يمكن تلوين الشرائح بنسبة ٣ % من محلول سائل غيمزا (داري غور محسن R66) لمدة ٥ دقائق.

عندما لا تكون خلايا مبيض القداد الصيني الفتيلية غير موسومة مسبقاً باستخدام برومو ديوكسي يوريدين، يمكن تلوين الشرائح وفقاً لتقنية الفلورسين المضاف إلى الغيمزا. (القسم ٩-٣). وفي النهاية تشطف الشرائح في ماء مقطر وتترك لتجف ثم توضع تحت ساترة ٢٤ × ٦٠ ملليمتر. على أنه يلاحظ التخوف في القسم ١١-٢-١ من أن ذلك في كثير من الأحيان ليس هو أسلوب التلوين المفضل ويكفي استخدام التلوين البسيط باستخدام صبغة غيمزا.

وعند إجراء تحريم من النوع C للتكتفات الكروموسومية المبسترة (في تحليل ثنائيات القسيم المركزي)، ينبغي معالجة الشرائح الجديدة المجهزة باستخدام حمض هيدروكلوريك بتركيز 1 لمدة ٥ دقائق ثم تغسل في حمض هيدروكلوريك بتركيز ٠,٢ لمدة ٥ دقائق. وتجفف الشرائح بعد ذلك باستخدام منشفة ورقية وتعالج بمحلول هيدروكسيد الباريوم (بتركيز ٥ في المائة) لمدة ٣ دقائق في درجة حرارة الغرفة. وتغسل الشرائح بعد ذلك في حمض هيدروكلوريك تركيزه ٠,٢ لمدة ٥ دقائق. وتحضن الشرائح بعد ذلك في سترات ملح صوديوم بتركيز ٢ في درجة حرارة ٦٠ مئوية لمدة ٣٠ دقيقة. وتغسل بعد ذلك باستخدام داري غور (Gurr) (الأس الهيدروجيني ٦,٨) وتلون باستخدام محلول غيمزا بتركيز ٦ في المائة لمدة ٣٠ دقيقة. وأخيراً، تشطف الشرائح بماء الصنبور وتترك لتجف وتغطي بساترة. ويلاحظ أن هذا الأسلوب يختلف قليلاً عن الأسلوب المبين في القسم ٩-٣-٣، ولكنهما يحققان نفس النتيجة.

ويمكن عند الكشف عن الانتقالات الكروموسومية استخدام مجسات محددة للكروموسومات الكاملة بالإضافة إلى مجس لكل الجسيمات المركزية باستخدام نفس البروتوكول المستخدم في الأطوار الاستوائية (انظر المرفق الثاني والشكل ٣٧). ويمكن بعد ذلك كشف ثنائيات القسيم المركزي والانتقالات الكروموسومية في آن واحد.

المرفق الثالث-٢- التكتف الكروموسومي المبستر المستحث كيميائياً

المرفق الثالث-١-٢- استخدام الكريات للمفاوية المعزولة

- (١) يوضع ٣ مليلتر من الدم الكامل المعالج بالهيبارين في أنبوب ليوكو بريب أو أنبوب فيكول هايباك.
- (٢) يعرض الأنبوب لطرد مركزي g٧٠٠ لمدة ١٥ دقيقة في درجة حرارة الغرفة.
- (٣) تنقل الكريات للمفاوية المعزولة في أنبوب اختبار سعته ١٥ مليلتر يحتوي على ٥ مليلتر من الوسط ويستكمل بمصل جنين الأبقار بتركيز ٢٠ في المائة لغسله.
- (٤) يعرض لقوة طرد مركزي تتراوح بين g٢٠٠ و g٤٠٠ لمدة ١٠ دقائق في درجة حرارة ٤ درجات مئوية.
- (٥) يعاد تعليق الكريات للمفاوية في ٦ مليلتر من الوسط الزراعي ويستكمل بمصل جنين الأبقار بتركيز ٢٠ في المائة والفيتو هماغلوتينين.
- (٦) يحضن في درجة حرارة ٣٧ مئوية لمدة ٤٧ ساعة (من الخطوات الاختيارية إضافة ٤٠ نانو غرام/مليلتر من الكولسيميد بعد ٢٤ ساعة من الزرع).

- (٧) يضاف كالسيوم A تركيزه النهائي ٥٠ نانو مولار في المزرعة ويحضن في درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية لمدة ساعة واحدة.
- (٨) يجهز محلول هيدروكسيد بوتاسيوم دافئ (٣٧ درجة مئوية) ومنخفض التوتر وتركيز ٠,٧٥.
- (٩) تعرض الخلايا لطرد مركزي بقوة تتراوح بين ٢٠٠g و ٤٠٠g لمدة تتراوح بين ٥ و ١٠ دقائق وتنزع المادة الطافية.
- (١٠) يضاف ٢ مليلتر من كلوريد البوتاسيوم بتركيز ٠,٠٧٥ إلى حبيبة الخلايا وتحضن في درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية لمدة ٢٠ دقيقة.
- (١١) يضاف ٣٠ ميكرو لتر من الميثانول/حمض الخليك (٣: ١) وينقر على الأنبوب.
- (١٢) يعرض لطرد مركزي بقوة تتراوح بين ٢٠٠g و ٤٠٠g لمدة تتراوح بين ٥ و ١٠ دقائق في درجة حرارة الغرفة.
- (١٣) يضاف ١,٨ مليلتر من الميثانول: حمض الخليك بعد إزالة المادة الطافية وينقل في أنبوب سعته ٢ مليلتر.
- (١٤) يخزن الأنبوب في درجة حرارة ٢٠ درجة مئوية تحت الصفر لحين تجهيز الشرائح.
- المرفق الثالث-٢-٢. استخدام الدم الكامل**
- (١) يوضع ٠,٧٥ مليلتر من الدم الكامل المعالج بالهيبارين في أنبوب اختبار سعته ١٥ مليلتر.
- (٢) يضاف وسط زرع مستكمل بمصل جنين أبقار ٢٠ في المائة وفيتو هيموغلوبين ليصبح الحجم الكلي ١٠ مليلتر.
- (٣) يحضن في درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية لمدة ٤٧ ساعة (من الخطوات الاختيارية إضافة ٤٠ نانو غرام/مليلتر من الكولسيميد بعد ٢٤ ساعة من الزرع).
- (٤) يضاف كالسيوم A تركيزه النهائي ٣٠ نانو مولار في المزرعة ويحضن في درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية لمدة ساعة واحدة.
- (٥) يعرض لطرد مركزي بقوة تتراوح بين ٢٠٠g و ٤٠٠g لمدة تتراوح بين ٥ و ١٠ دقائق في درجة حرارة الغرفة.
- (٦) يضاف ٥ مليلتر من كلوريد البوتاسيوم بتركيز ٠,٠٧٥ بعد إزالة المادة الطافية، ويحضن في ٣٧ درجة حرارة مئوية لمدة ٢٥ دقيقة.
- (٧) يضاف ٣٠ ميكرو لتر من الميثانول وحمض الخليك وينقر على الأنبوب.
- (٨) يعرض لطرد مركزي يتراوح بين ٢٠٠g و ٤٠٠g لمدة تتراوح بين ٥ و ٢٠ دقيقة في درجة حرارة الغرفة.
- (٩) يضاف ٢ مليلتر من الميثانول وحمض الخليك بنسبة ٣: ١.
- (١٠) تكرر الخطوات ٨ و ٩ حتى تصبح حبيبة الخلايا شفافة.
- (١١) ينقل معلق الخلايا في أنبوب سعته ٢ مليلتر.
- (١٢) يخزن الأنبوب في درجة حرارة ٢٠ درجة مئوية تحت الصفر لحين تجهيز الشرائح.

المرفق الرابع

فحص نويات إحصار انقسام الهيولي

فيما يلي بروتوكول قياسي بسيط مناسب تماماً. وهناك أساليب أخرى تشمل خطوات إجرائية أكثر وتستخدم فيها مزارع الكريات اللمفاوية المعزولة [١] وإن كان يكفي استخدام مزارع الدم الكامل لأغراض القياس البيولوجي الروتيني للجرعات.

رابعاً-١- البرتوكول الموحد لفحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي

- (١) تُجمع عينة الدم باستخدام الليثيوم هيبارين لمنع تجلط الدم.
- (٢) يضاف عموماً ٠,٥ مليلتر من الدم الكامل إلى ٤,٥ مليلتر من وسط الزرع (RPMI-1640) ويستكمل بمصل جنين الأبقار المعطل حرارياً بتركيز يتراوح بين ١٠ و ١٥ في المائة، وغلوتامين - L ومضادات حيوية. ويضاف ١٠٠ ميكرو لتر من الفيتو هيماغلوطينين (مثل PHA-M، وسيغما، و ٢٥ مللي غرام/مليلتر من الماء) إلى المزعة للحصول على تركيز نهائي قدره ٢٠ ميكرو غرام/مليلتر.
- (٣) ويزرع الدم في دورق زراعة أنسجة عند درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية في جو رطب يبلغ فيه ثاني أكسيد كربون ٥ في المائة.
- (٤) يضاف ٢٠ ميكرو لتر من مثبت حركة الخلايا B (Cyt-B) إلى المزعة بعد ٢٤ ساعة من التحفيز بالفيتو هيماغلوطينين للحصول على تركيز نهائية قدره ٦ ميكرو غرام/مليلتر. وهذا هو التركيز الأمثل لمراكمة الخلايا الثنائية النواة في مزارع الدم الكامل. وبالنظر إلى صعوبة انحلال مثبت حركة الخلايا B في المحلول المائي، ينبغي إعداد محلول مركز من مثبت حركة الخلايا B في ثنائي ميثيل أكسيد الكبريت (٥ مللي غرام من مثبت حركة الخلايا في ٣,٣ مللي غرام من ثنائي ميثيل أكسيد الكبريت) ويقسم إلى كميات متساوية ويخزن في درجة حرارة ٢٠ درجة مئوية تحت الصفر لحين الحاجة إليه.
- (٥) تنتهي المزعة بين ٦٨ و ٧٢ ساعة من التحفيز بالفيتو هيماغلوطينين. ويتوقع أن يزيد وقت الحصد المختار عدد الخلايا الثنائية النواة إلى أقصى حد ويقلل إلى أدنى حد عدد الخلايا الأحادية النواة والخلايا المتعددة النوى.
- (٦) وتعرض الخلايا لطرد مركزي خفيف بسرعة ١٨٠ g لمدة ١٠ دقائق وتنزع المادة الطافية من سطح المزعة.
- (٧) تعالج الخلايا تحت توتر منخفض باستخدام ٧ مليلتر من كلوريد بوتاسيوم بارد (٤ درجات مئوية) بتركيز ٠,٧٥ لحل خلايا الدم الحمراء وتعرض لطرد مركزي فوراً بقوة ١٨٠ g لمدة ١٠ دقائق.
- (٨) تنزع المادة الطافية ويستعاض عنها بخمسة مليلترات من مثبت جديد مؤلف من ميثانول وحمض خليك (١٠:١) مخفف بمحلول رينغر (Ringer) بنسبة ١:١ (٤,٥ غرام من كلوريد الصوديوم، و ٠,٢١ غرام من كلوريد البوتاسيوم، و ٠,١٢ غرام من كلوريد الكالسيوم في ٥٠٠ مللي غرام من الماء). ويضاف المثبت في أثناء التقليب لمنع تكتل الخلايا. وتعرض الخلايا بعد ذلك لطرد مركزي مرة أخرى بقوة ١٨٠ g لمدة ١٠ دقائق.
- (٩) تغسل الخلايا ويغير المثبت الجديد المؤلف من ميثانول وحمض خليك (١٠:١) مرتين أو ثلاث مرات ولكن بدون استخدام محلول رينغر إلى أن يصبح المعلق الخلوي صافياً.
- (١٠) بعد إزالة المادة الطافية بعمق سنتيمتر واحد أو أقل فوق الكرية الخلوية (تبعاً لحجمها) يعاد تعليق الخلايا برفق ويقطر المعلق على شرائح زجاجية نظيفة ويترك ليحفظ في الهواء.
- (١١) يمكن عند إجراء تحليل مجهري ضوئي لتلوين الخلايا بصبغة غيمزا يتراوح تركيزها بين ٢,٦ في المائة (مثل محلول أزور اليوزين الميثيلين الأزرق من إنتاج شركة ميرك Merck) في داري HEPES (تركيزه ٠,٠٣ مولار؛ وأسه الهيدروجيني ٦,٥) لمدة تتراوح بين ١٠ و ٢٠ دقيقة في الظلام، ثم يشطف

بسرعة في ماء مقطر ويترك ليحفظ في الهواء. وفي حالات الفحص المجهرى الفلورى، يمكن تلوين الخلايا بدلاً من ذلك في برتقالية الأكردين (١٠ ميكروغرام/مليلتر في محلول ملحي معزول بالفوسفات أسه الهيدروجيني ٦,٩) لمدة تتراوح بين ثانيتين وثلاث ثوانٍ.

المرفق الرابع-٢- بروتوكول تلوين القُسيّمات المركزية للنويات

عند تحليل القُسيّمات المركزية في النُويّات، يمكن استخدام مجس متاح تجارياً للتهجين الموضعي الفلورى في كل القُسيّمات المركزية. ويمكن أيضاً عمل المجس الشامل لكل القُسيّمات المركزية عن طريق تكبير تفاعل البوليميراز المتسلسل (البادئ الأمامي: 5'-GAA GCT TAA CTC ACA GAG TTG AA-3' البادئ العكسي: 3'-GCT GCA GAT CAC AAA GAA GTT TC-5') [٢].

وفيما يلي أدناه بروتوكول التهجين الموضعي باستخدام المجس التجاري:

(١) تجهّز الشرائح وفقاً للبروتوكول الموحد المستخدم في فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي الوارد أعلاه (حتى الخطوة ١٠).

(٢) تجفف الخلايا بتمرير الشرائح في سلسلة من إيثانول بتركيزات ٧٠، و٩٠، و١٠٠ في المائة، لمدة دقيقتين في كل خطوة وتجفف في الهواء.

(٣) تُمسّخ الشرائح.

'١' يُمسّخ الكروماتين على الشريحة في فورماميد بتركيز ٧٠ في المائة في ملح سترات ملح صوديوم بتركيز ٢ لمدة دقيقتين عند درجة حرارة ٧٠ درجة مئوية؛

'٢' تغمس الشرائح في إيثانول شديد البرودة بتركيز ٧٠ في المائة وتجفف بتمريرها في إيثانول تركيزه ٧٠، و٩٠، و١٠٠ في المائة لمدة ٥ دقائق لكل خطوة وتهز الشرائح في أثناء ذلك.

(٤) يُمسّخ المجس قبل استخدامه مباشرة:

'١' يسخن المجس حتى درجة حرارة ٣٧ مئوية لمدة ٥ دقائق؛

'٢' يُمسّخ المجس عند درجة ٨٥ مئوية لمدة ١٠ دقائق (١٠ ميكرو لتر/شريحة)؛

'٣' يقلب بالتدوير والتلفيف السريع؛

'٤' يبرّد فوراً على ثلج ويحتفظ به في الظلام.

(٥) التهجين:

'١' يوضع ١٠ ميكرو لتر من المجس على الشريحة ويغطى بساترة ويختتم بإسمنت مطاطي؛

'٢' يهجن طيلة الليل عند درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية في الظلام في غرفة رطبة.

(٦) الغسل بعد التهجين:

'١' ينزع الإسمنت المطاطي وتغمس الشرائح لفترة وجيزة في فورماميد تركيزه ٥٠ في المائة وترفع الساترة؛

'٢' تغسل الشرائح في سترات ملح الصوديوم بتركيز ٢ لمدة ٥ دقائق عند درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية؛

'٣' تغسل الشرائح مرتين في فورماميد بتركيز ٥٠ في المائة عند درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية لمدة ٥ دقائق في كل مرة؛

'٤' تغسل الشرائح في سترات ملح الصوديوم بتركيز ٢ لمدة ٥ دقائق عند درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية؛

٥' تغسل في محلول توين (تركيزه ٠,٠٥ في المائة في سترات ملح الصوديوم بتركيز ٢) لمدة ٥ دقائق عند درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية؛

٦' تضاف قطرة من دابي/وسط إرساء ثابت اللون على سائرة وتوضع على الشريحة.

(٧) يمكن تخزين الشرائح في درجة حرارة الغرفة في الظلام أو تفحص فوراً باستخدام مجهر فلوري.

المرفق الرابع-٣- فحص سايتوم النويات الناشئة عن وقف انقسام هيولي الكريات للمفاوية المعزولة

نُشر البرتوكول المفصّل لهذا الفحص مؤخراً [١]. ويمكن الرجوع إلى فينيش وآخريين (Fenech et al) [٣] للاطلاع على مجموعة شاملة من الصور الفوتوغرافية التي تضم مختلف أنواع الصور التي جرى تحليلها باستخدام هذا الفحص.

المرفق الرابع-٤- حساب خطأ الرقم القياسي للانقسام النووي في فحص النويات الناشئة عن وقف انقسامات الهيولي

فيما يلي الصيغة المستخدمة في حساب الرقم القياسي للانقسام النووي وتباين الرقم القياسي للانحراف النووي (في فحص النُويّات) حسب ما هو وارد في القسم ١٢-٤-٣:

$$NDI = \frac{(M_1 + 2M_2 + 3M_3 + 4M_4)}{N} \quad \text{(رابعاً - ١)}$$

$$\text{var}(NDI) = \sum_{i=1}^4 M_i^2 \text{var}(M_i) + 2 \sum_{i=1}^4 \sum_{j=i+1}^4 M_i M_j \text{cov}(M_i, M_j) \quad \text{(رابعاً - ٢)}$$

ويتضمن الجدول رابعاً - ١ مثلاً عملياً لحساب الرقم القياسي للانقسام النووي والتباين.

الجدول رابعاً - ١: توزيع النُويّات

عدد الخلايا المحتوية على نُويّة واحدة أو نويّتين أو ثلاث أو أربع نويات					
العدد	١	٢	٣	٤	الرقم القياسي للانقسام النووي
٥٠٠	١١١,٨٧٨ ± ١٦٩	١٢٤,٧٥٨ ± ٢٣٩	٤٣,٣٩٢ ± ٤٨	٤٠,١٢٨ ± ٤٤	١,٩٣٤

ويرد في الجدول رابعاً - ١ عدد الخلايا المحتوية على نُويّة واحدة أو نويّتين أو ثلاث أو أربع نويات من مجموع ٥٠٠ خلية. ويحسب الرقم القياسي للانقسام النووي وفقاً للمعادلة (رابعاً - ١) أعلاه:

$$NDI = (169 + 2 \times 239 + 3 \times 48 + 4 \times 44) / 500 = 1.934$$

وتُحسب قيم تباين كل قيمة باستخدام المعادلة ذات الحدين (المعادلة رابعاً - ٣):

$$\text{var}(M_1) = N(M_1 / N)(1 - (M_1 / N)) \quad \text{(رابعاً - ٣)}$$

ولذلك فإن M_1 :

$$\text{var}(M_1) = 500 (169 / 500) (1 - (169 / 500)) = 111.878$$

ملحوظة: جدير بالإشارة أن كل الأرقام الواردة هنا حُسبت باستخدام برنامج ميكروسوفت إكسل وتتنطبق كل قيمة بشكل صحيح على عدد كبير من الخانات العشرية. على أن القيم الواردة في النص مقرّبة إلى أقرب ثلاثة أرقام عشرية للتيسير، وبالتالي لن تتحقق نفس النتائج بالضبط إذا استخدمت آلة حاسبة مع نفس القيم الواردة هنا.

وعند حساب تباين الرقم القياسي للانقسام النووي، $\text{var}(\text{NDI})$ ، يجب أولاً حساب حاصل مربع كل قيمة من M_i مضروباً في قيمة تباينه:

$$\sum_{i=1}^4 M_i^2 \text{var}(M_i) \quad (\text{رابعاً - ٤})$$

على أنه بالنظر إلى أن التباين لا يمكن حسابه حساباً صحيحاً إلا عن طريق مجموع عدد الخلايا المحتوية على $M = 1$ حتى ٤، يجب استبدال M في المعادلة بالقيم التالية:

رابعاً - ٢: قيم M_i المحسوبة وقيمة $\text{VAR}(M_i)$

قيم M_i في المعادلة (رابعاً - ٢)				
العدد	١	٢	٣	٤
٩٦٧	$139,464 \pm 169$	$241,719 \pm 478$	$122,506 \pm 144$	$143,967 \pm 176$

وأعيد حساب قيم M بحيث تكون $M_1 = 1 \times 169$ ؛ $M_2 = 2 \times 239$ ؛ $M_3 = 3 \times 48$ ؛ و $M_4 = 4 \times 44$. وقيمة n هي حاصل جمع هذه المكونات وتحسب كالتالي:

$$n = (169 + 2 \times 239 + 3 \times 48 + 4 \times 44) = 967$$

ويعاد حساب قيم التباين وفقاً للمعادلة (رابعاً - ٣) ولكن باستخدام القيم الجديدة لكل من M_i و n ، على سبيل المثال:

$$\text{var}(M_2) = 967 \times (478 / 967) \times (1 - (478 / 500)) = 241.719$$

ويمكن بعد ذلك استخدام قيم M_i و $\text{var}(M_i)$ من الجدول رابعاً - ٢ لحساب الجزء الأول من $\text{var}(\text{NDI})$ حسب المعادلة (رابعاً - ٤):

$$\begin{aligned} & \sum_{i=1}^4 M_i^2 \text{var}(M_i) \\ &= M_1^2 \times \text{var}(M_1) + M_2^2 \times \text{var}(M_2) + M_3^2 \times \text{var}(M_3) + M_4^2 \times \text{var}(M_4) \\ &= (169^2 \times 139.464) + (478^2 \times 241.719) + (144^2 \times 122.556) + (176^2 \times 143.967) \\ &= 66\,212\,947.630 \end{aligned}$$

ويجب بعد ذلك، وفقاً للمعادلة (رابعاً - ١) إيجاد تباين كل مجموعة بيانات. ويحسب ذلك وفقاً للصيغة التالية:

$$\text{cov}(M_i, M_j) = -np_i p_j \quad (\text{رابعاً - ٥})$$

وتمثل p_i و p_j في هذه المعادلة احتمالية ملاحظة كل عدد من النويات في الخلايا الثنائية النواة، وبالتالي تُحسب احتمالات M_1 و M_4 على النحو التالي:

$$\begin{aligned} p_1 &= 169 / 967 = 0.175 \\ p_2 &= (2 \times 239) / 967 = 0.494 \\ p_3 &= (3 \times 48) / 967 = 0.149 \\ p_4 &= (4 \times 44) / 967 = 0.182 \end{aligned}$$

وبالتالي فإن تباين M_1 و M_2 يحسب وفقاً للمعادلة (رابعاً - ٥):

$$\text{cov}(M_1, M_2) = -967 \times 0.175 \times 0.494 = -83.539$$

ويجب بعد ذلك حساب قيم التباين بنفس الطريقة في كل مجموعة من M_i و M_j :

$$\text{cov}(M_1, M_3) = -967 \times 0.175 \times 0.149 = -25.166$$

$$\text{cov}(M_1, M_4) = -967 \times 0.175 \times 0.182 = -30.759$$

$$\text{cov}(M_2, M_3) = -967 \times 0.494 \times 0.149 = -71.181$$

$$\text{cov}(M_2, M_4) = -967 \times 0.494 \times 0.182 = -86.999$$

$$\text{cov}(M_3, M_4) = -967 \times 0.149 \times 0.182 = -26.209$$

ويجب بعد ذلك حساب المكونات الفردية في النصف الثاني من المعادلة (رابعاً - ٢). من ذلك مثلاً أنه في حالة $i = 1$ و $j = 2$:

$$M_1 \cdot M_2 \cdot \text{cov}(M_1, M_2) = 169 \times 478 \times (-83.539) = -6748429.704$$

وبالمثل حتى يمكن الحصول على حاصل الجمع من $i = 1$ حتى ٤ و $j = 1 + i$ حتى ٤:

$$M_1 \cdot M_3 \cdot \text{cov}(M_1, M_3) = 169 \times 144 \times (-25.166) = -612451.806$$

$$M_1 \cdot M_4 \cdot \text{cov}(M_1, M_4) = 169 \times 176 \times (-30.759) = -914897.142$$

$$M_2 \cdot M_3 \cdot \text{cov}(M_2, M_3) = 478 \times 144 \times (-71.181) = -4899528.670$$

$$M_2 \cdot M_4 \cdot \text{cov}(M_2, M_4) = 478 \times 176 \times (-86.999) = -7319049.001$$

$$M_3 \cdot M_4 \cdot \text{cov}(M_3, M_4) = 144 \times 176 \times (-26.209) = -664238.196$$

وحالما تحسب كل المكونات الفردية، يمكن جمعها وفقاً للنصف الثاني من المعادلة (رابعاً - ٢) للحصول على مجموع قدره 21 158 594.519-. ووفقاً للمعادلة (رابعاً - ٢) يصبح تباين الرقم القياسي للانقسام النووي كالتالي:

$$\text{var}(NDI) = 66212947.630 + 2 \times (-21158594.519) = 23895758.592$$

ولتحويل ذلك إلى قيمة معيارية للخطأ المعياري تستخدم المعادلة التالية لعرضها مع قيمة الرقم القياسي للانقسام النووي:

$$SE(NDI) = \frac{\sqrt{\text{var}(NDI)} / \sqrt{n}}{n} = \frac{\sqrt{\text{var}(NDI)}}{n^{3/2}} \quad (\text{رابعاً - ٦})$$

وباستخدام القيم المحسوبة أعلاه يكون الخطأ المعياري:

$$SE(NDI) = (23895758.592)^{(1/2)} / 967^{(3/2)} = 0.163$$

وبالتالي فإن القيمة المحسوبة للرقم القياسي للانقسام النووي باستخدام البيانات الواردة في الجدول رابعاً - ١ هي 1.934 ± 0.163 .

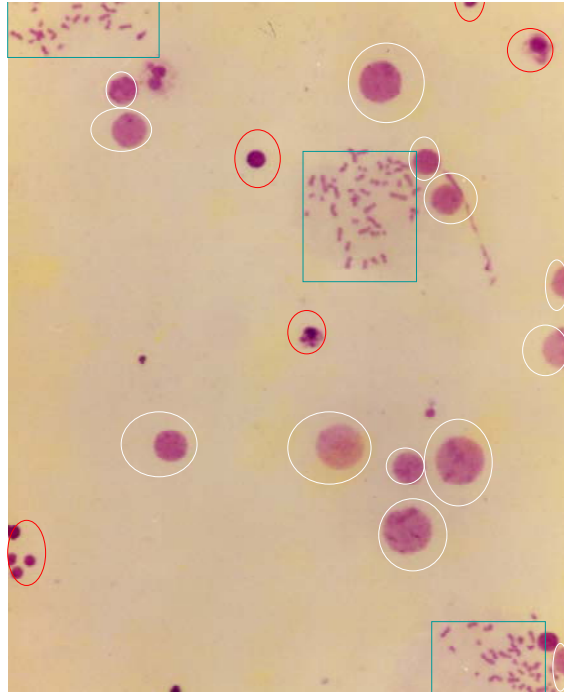
المرفق الخامس

معايير تحديد الرقم القياسي للانقسام الفتيلي

- فيما يلي خطوات تحديد الرقم القياسي للانقسام الفتيلي المستخدم في فحص ثنائيات القسيم المركزي:
- تُستبعد النوى من الخلايا المتعددة النوى والخلايا غير المحفزة (النوى الصغيرة) والخلايا الميتة أو المحتضرة والنويات.
 - يحسب عدد النوى من الخلايا المنقسمة خيطياً والخلايا المحفزة (الخلايا البلاستية المحتوية على نوى كبيرة) وتستخدم المعادلة (خامساً - ١) لحساب الرقم القياسي للانقسام الفتيلي في الخلايا المحفزة.
- ونظراً لنطاق أحجام النوى في الخلايا المحفزة، يتعيّن وضع حد فاصل عشوائي بين النوى الصغيرة المحفزة وغير المحفزة. وتشمل 'مُسحات' الطور الاستوائي' الطورين التمهيدي والانفصالي.

$$\text{Mitotic Index} = \frac{(\# \text{metaphases}) \times 100}{\# \text{metaphases} + \text{blasts}} \quad (\text{خامساً - ١})$$

وسوف يكون الرقم القياسي للانقسام الفتيلي في الشكل خامساً - ١ $\frac{(12+3)}{3} \times 100 = 20\%$ بالرغم من استخدام ٥٠٠ خلية عموماً في التحليل الكامل للرقم القياسي للانقسام الفتيلي.



الشكل خامساً - ١: منظر بتكبير منخفض يبين شريحة مزرعة كريات لمفاوية نمطية. وتشير الدوائر البيضاء إلى النوى المحسوبة كأرومات، والدوائر الحمراء هي النوى غير المحسوبة، وتشير الأطر المربعة إلى مسحات الطور الاستوائي.

المرفق السادس

التحليل الإحصائي

وردت من قبل في هذا المنشور، لا سيما في القسمين ٨ و ٩، أمثلة توضح الحسابات باستخدام الإجراءات الإحصائية في تحليل وتفسير بيانات القياس البيولوجي للجرعات من خلال الفحوص الوراثية الخلوية. وتوجد مجموعة كبيرة من المراجع الإحصائية التي وضع بعضها تحديداً لاستخدامه في التطبيقات البيولوجية والطبية البيولوجية. ولذلك لا يهدف هذا المنشور إلى تناول الإحصاءات باستفاضة كبيرة. على أن هذا المرفق يتضمن مقدمة موجزة عن الاختبارات والتوزيعات الإحصائية الأكثر شيوعاً في ميدان القياس البيولوجي للجرعات باستخدام الفحوص الوراثية الخلوية. ويتضمن الجزء ٣ من هذا المرفق إجراءً حاسوبياً لتوفيق منحنيات الجرعة والاستجابة.

المرفق السادس-١- الأساليب الإحصائية الأساسية المستخدمة في الوراثة الخلوية

المرفق السادس-١-١- الخطأ المعياري والانحراف المعياري

الانحراف المعياري (SD) لمجموعة من البيانات هو ببساطة مقياس لمتوسط تشتت (بُعد) الأرقام عن قيمة الوسط. ويعطي الانحراف المعياري مؤشراً لمدى اتساع توزيع قيم مجموعة البيانات.

وأما الخطأ المعياري في الوسط (SEM) فهو مقياس لمدى احتمالات انحراف الوسط الحقيقي للمجموعة الإحصائية. والخطأ المعياري يعادل الانحراف المعياري التقديري للخطأ في الأسلوب. ويقاس الخطأ المعياري في الوسط مدى الدقة التي يكون بها الوسط الحقيقي للمجموعة الإحصائية معلوماً. وكلما ازداد حجم العينة كلما تقلص الخطأ المعياري في الوسط لأن وسط العينة الكبيرة أقرب على الأرجح إلى الوسط الحقيقي للمجموعة الإحصائية من وسط العينة الصغيرة.

المرفق السادس-١-٢- قيم الاحتمالات (قيم p)

تمثل القيمة p احتمالات أن تكون النتيجة موافقة على الأقل لنقطة نهاية معيّنة بافتراض أن النقطة المرجعية ناتجة عن الصدفة وحدها. من ذلك مثلاً أنه إذا كانت فرضية العدم تقول بأن متوسطي مجموعتين إحصائيتين متماثلان فإن قيمة p عندما تكون ٠,٠٣ ستمثل صدفة نسبتها ٣ في المائة في الفرق الملحوظ مقارنة بالفرق المحسوب إذا كانت فرضية العدم صحيحة. وتقضي العينات العشوائية من المجموعات الإحصائية المتطابقة إلى فرق أصغر من الفرق المحسوب في ٩٧ في المائة من التجارب وأكبر من الفرق المحسوب في ٣ في المائة من التجارب.

وإذا كانت p أكبر من مستوى الدلالة الإحصائية (في الغالب ٠,٠٥) في الاختبارات الإحصائية فإن البيانات لا تختلف اختلافاً معنوياً عن النموذج المتوقع وبالتالي لا يمكن رفض فرضية العدم. ومن المهم أن نشير إلى أن في الحالة المذكورة أعلاه لا يمكن القول بأن فرضية العدم صحيحة، فقط بأنه 'يمكن رفض فرضية العدم' ($p < 0,05$) أو أن 'فرضية العدم ليست صحيحة بشكل معنوي' ($p > 0,05$).

وعند إجراء مقارنات متعددة فإن قيمة p يجب تعديلها على النحو التالي: في عدد من فرضيات العدم المستقلة N، يكون احتمال الحصول على قيمة أو أكثر من قيم p بما يقل عن العتبة، $t = 0,05$ بالصدفة $100 \cdot (1 - 0,95)^N$. وتبلغ العتبة المطلوبة لضمان أن الخطر العام لرفض فرضية العدم الصحيحة بطريقة غير سليمة هو $0,05 \geq 1 - 0,95^{(1/N)}$.

المرفق السادس-١-٣- اختبار كا تربيع

يستخدم اختبار كا تربيع (التفرق المتبقي أو المجموع المتبقي للانحرافات التربيعية (χ^2 Pearson)) لتقييم الفروق ذات الدلالة الإحصائية بين نسب النتائج الموزعة توزيعاً طبيعياً. وتعطي قيمة p في حالة χ^2 (وما يصاحبها من عدد درجات الحرية) احتمال أن تكون الفروق بين النتائج راجعة إلى الصدفة. ومن المعتاد تحديد مستوى الدلالة الإحصائية بنسبة ٩٥ في المائة، ويعني ذلك أننا لا نتوقع هذه الدرجة من التفاوت في مجموعة البيانات الموزعة توزيعاً طبيعياً إلا في ٥ في المائة من الوقت.

ويمكن عن طريق اختبار التجانس باستخدام كا تربيع مقارنة عدد من القياسات للتحقق من فرضية العدم التي تقول بأن الترددات النسبية للأحداث الملحوظة توافق توزيع كا تربيع. وفي علم الوراثة الخلوية يستخدم اختبار التجانس عن طريق كا تربيع لمعرفة الفروق بين عدد من مجموعات البيانات، مثل أعداد ثنائيات القسيم المركزي الملحوظة في الخلايا المفحوصة لتحديد عدد التجمعات التي يمكن تمييزها في مجموعة البيانات.

وعموماً فإن إحصائي كا لا يمكن الاعتماد عليه إلا في حالة العينات التي تزيد عن ٥. وأما العينات الأصغر فيمكن أن يستخدم معها تصحيح ييتس (Yates) لتقليل الخطأ الناشئ عن تقريب البيانات إلى توزيع كا تربيع. ويؤدي التصحيح بالفعل إلى تقليل إحصائي كا تربيع وبالتالي يزيد من قيمة p المصاحبة له. على أن إمكانية تطبيق التصحيح متفاوتة وقد يكون معامل التصحيح أكبر من اللازم، وبالتالي ينصح بتوخي الحذر في تطبيقه.

ويتوقع في الحالة الخاصة التي تقارن فيها عينتان أن تتوزع البيانات توزيعاً ذا حدين. وفي هذه الحالة تحسب χ^2 باستخدام التقريب الطبيعي إلى التوزيع ذي الحدين، وهذا هو اختبار كا تربيع لدرجة حرية واحدة. ويمكن استخدام صيغة ذات حدين في اختبار كا تربيع لمقارنة مجموعة وحيدة من الأعداد الملحوظة والمتوقعة، مثل عدد ثنائيات القسيم المركزي في عينة دم ضابطة غير معرضة مع عدد ثنائيات القسيم المركزي في عينة معرضة.

المرفق السادس-٤-١- اختبار t

اختبار t هو اختبار فرضية إحصائية تكون فيها فرضية العدم صحيحة إذا كان إحصائي الاختبار، t ، موزعاً توزيعاً احتمالياً. وينطبق الاختبار على العينات الصغيرة التي لا يمكن التأكد مما إذا كانت مجموعتها الإحصائية موزعة توزيعاً طبيعياً لأن الانحراف المعياري للمجموعة الإحصائية غير مؤكد. ويراعى في اختبار t تأثير الصدفة عن طريق دمج معلومات عن عدد العينات. وفي الوراثة الخلوية، يستخدم في العادة اختبار t لفحص الدلالة الإحصائية للفروق بين عددي بواسون عن طريق مقارنة الوسطين لتحديد ما إذا كانت مجموعتا البيانات مأخوذتين من نفس المجموعة الإحصائية. ومرة أخرى فإن قيمة p تستخدم لتحديد ما إذا كانت الفروق بين العينات ذات دلالة إحصائية ويحدد في العادة مستوى الدلالة الإحصائية عند ٩٥ في المائة أو ٠,٠٥.

ويوجد عدد من الأشكال المختلفة لاختبار t وكلها صحيح في مختلف الحالات. ويستخدم اختبار t التزاوجي مع العينات ذات التبعية المباشرة. ومن أمثلة ذلك أعداد ثنائيات القسيم المركزي التي يفحصها فاحصان مختلفان على نفس مجموعة الشرائح. ويجب في اختبار t التزاوجي أن يكون حجم العينتين، أي أعداد الخلايا المفحوصة، متساوياً في كل الحالات. وأما اختبار t غير التزاوجي فيستخدم مع مجموعات البيانات المستقلة، مثل أعداد ثنائيات القسيم المركزي التي يفحصها فاحصان مختلفان على مجموعتين مختلفتين من الشرائح. وفي هذه الحالة يمكن أن يتطابق أو يختلف حجم العينات. ويمكن أن تكون اختبارات t أحادية أو ثنائية الجانب. والاختبار الأحادي الجانب يستخدم لتحديد ما إذا كانت عينة واحدة كبيرة معنوياً عن العينة الثانية. وأما الاختبار الثنائي الجانب فيستخدم لتحديد ما إذا كانت الفروق بين مجموعات البيانات ذات دلالة إحصائية من حيث اتجاهها، أي ما إذا كانت العينة الأولى أكبر أو أصغر من العينة الثانية.

المرفق السادس-٥-١- اختبار نسبة التفاوت، F

توزيع F هو توزيع احتمالية متصلة تساوي نسبة توزيعي كا تربيع. وبالتالي يمكن استخدام اختبار F القائم على هذا التوزيع لمقارنة البيانات حتى يمكن معرفة ما إذا كانت هذه البيانات مأخوذة من نفس التوزيع. ويمكن استخدام اختبار F أو اختبار Z لفحص الدلالة الإحصائية لمعاملين ناشئين عن توفيق المنحنيات باستخدام الأرجحية العظمى. وفي حالة ما إذا كانت هناك أدلة تثبت عدم وجود توفيق (وذلك مثلاً من اختبار χ^2)، ينبغي استخدام اختبار f لفحص الدلالة الإحصائية للمعاملات. وفي مقابل اختبار t الذي يستخدم لمقارنة وسطين، يقارن اختبار f بتباينات مجموعات البيانات. وأكثر استخدامات اختبار F شيوعاً هو تحليل اختبار التباين.

المرفق السادس-٦-١- تحليل التباين

يشير إلى مجموعة من الأساليب المتعددة المستخدمة في اختبار تساوي المتوسطات. ويستخدم تحليل التباين توزيع F لاختبار الفروق بين ثلاث أو أكثر من المجموعات المستقلة الموزعة توزيعاً معتدلاً مع تجانس

التباينات، أو بين القياسات المتكررة. ويقمّ تحليل التباين أهمية عامل أو أكثر عن طريق مقارنة متوسطات متغيرات الاستجابة عن مختلف مستويات العوامل.

وتصف قيمة p في كل عامل احتمالات أن يكون التباين الكبير بين المجموعات مقارنة بالتباين داخلها راجع إلى الصدفة. ويمكن التفكير في قيمة p باعتبارها تمثل احتمال أن تسفر المعاينة العشوائية عن متوسطات متباعدة بنفس قيمة التباين الملحوظ في التجربة (إن لم يكن أكثر).

وفي علم الوراثة الخلوية، يمكن استخدام تحليل التباين في أي ظروف عندما يلزم إجراء مقارنة بين ثلاثة مجموعات أو أكثر أو بين عاملين أو أكثر. وقد يكون الغرض من ذلك مثلاً اختبار التأثيرات المجمعّة لمستوى الجرعة الإشعاعية وتقسيم الجرعة أو تأثيرات الإشعاع والتعرض الكيميائي. ويوجد عدد كبير من الأشكال المختلفة للاختبار، ولكن أدوات استخدام البيانات المتاحة تجارياً على نطاق أوسع تستخدم قدرات تحليل التباين ويمكن الرجوع إلى المزيد من الإرشادات في النصوص الإحصائية.

وبالرغم من أن تحليل التباين هو من حيث المبدأ أسلوب بارامتري في التحليل يمكن ألا ينطبق في العادة إلا على البيانات الطبيعية، فإن نوع البيانات الأكثر شيوعاً في الوراثة الخلوية (أي الموزعة توزيعاً بواسونياً) تقرب التوزيع الطوعي بطريقة تكفي لضمان إمكانية تطبيق تحليل التباين. ويوجد بدلاً من ذلك عدد كبير من التحليلات البارامتريّة كما هو وارد أدناه.

المرفق السادس-١-٧- الاختبارات غير البارامتريّة

في الحالات التي يتعذر فيها تلبية شرط الاعتدال، يمكن استخدام الاختبارات غير البارامتريّة. واختبار ويلكوكسون هو اختبار غير بارامتري يشبه اختبار t التزواحي. ويمكن استخدامه لمقارنة مجموعة واحدة أو مجموعتين من البيانات، وهو اختبار من اختبارات إشارات الرتب وهو بذلك يتطلب قياس البيانات على فترات متكررة. ويبحث إحصائي الاختبار عن تساوي متوسطات المجموعات الإحصائية. ويمكن في حالة العينات المستقلة استخدام اختبار مان ويتني (Mann Whitney). وهذا الاختبار هو الصيغة غير البارامتريّة لاختبار t التي يمكن استخدامها لاختبار ما إذا كانت مجموعتان من البيانات المفردة مأخوذة من نفس التوزيع. وعند مقارنة مجموعات متعددة من البيانات، يمثل اختبار كروشال واليس (Kruskal Wallis) امتداداً لاختبار مان ويتني الذي يشبه تحليل التباين.

المرفق السادس-٢- التوزيعات الإحصائية

توجد عدة أشكال وفئات للتوزيعات التي يمكن استخدامها في نمذجة احتمالات وقوع الأحداث. ويتسم نوع التوزيع المختار بأهمية بالغة في التحليل الدقيق للبيانات، واقتُرحت ونفّذت عدة نماذج في تقييم البيانات الوراثة الخلوية. وفيما يلي مجموعة مختارة من النماذج التي يشيع استخدامها، وتطبيقاتها في مجال الوراثة الخلوية.

المرفق السادس-٢-١- توزيع بواسون

هو توزيع متقطع يعبر عن احتمالات وقوع أحداث عشوائية نادرة. وهذا التوزيع هو الأكثر شيوعاً والأكثر انتشاراً في تحليل البيانات الوراثة الخلوية. وتعتبر بيانات الانحرافات الكروموسومية في العادة صغيرة إلى حد ما من حيث عددها، وكشف إدواردز وآخرون (Edwards et al) عن أنه من الواقعي بدرجة كبيرة افتراض توافق الانحرافات الكروموسومية مع توزيع بواسون أكثر من توافقها مع التوزيع الطبيعي [٤]. وكشفت ميركل عن أن اختبارات جودة التوفيق القائمة على التوزيع البواسوني، بما في ذلك χ^2 ، واختبار التباين واختبار u التي سبقت مناقشتها في هذا المنشور يمكن تطبيقها على البيانات الوراثة الخلوية، لا سيما في حالة العينات الكبيرة الحجم [٥]. وتبيّن أن تحليل الانحدار في توفيق المنحنيات يمكن تطبيقه على بيانات بواسون. وتستخدم حالياً في جميع أنحاء العالم تقريباً الأشكال الناشئة للأرجحية العظمى [٦] و/أو توفيق المربعات الصغرى المرجحة [٧] في إنشاء منحنيات معايرة على أساس الجرعات للانحرافات الكروموسومية، مثل ثنائيات القسيم المركزي أو النويات.

المرفق السادس-٢-٢- التوزيع ذو الحدين

التوزيع ذو الحدين هو توزيع متقطع يصف احتمالات عدد النواتج الناجحة من سلسلة تجارب مستقلة يكون لكل منها واحد من ناتجين محتملين. وفي كل حالة، إذا كان مستوى احتمالات الناتج ١ هو p فإن مستوى احتمالات الناتج ٢ هو $1-p$. ومن الأمثلة الجيدة على مجموعات البيانات التي يمكن نمذجتها باستخدام هذا التوزيع في الوراثة الخلوية حساب أعداد الخلايا المصابة بأضرار حيث الناتجين 'ذوي الحدين' هما أن تكون الخلية مصابة بضرر أو سليمة. والواقع أن التوزيع ذا الحدين غالباً ما يستخدم في حساب الأخطاء المعيارية المصاحبة لنتائج الخلايا المصابة بأضرار.

المرفق السادس-٢-٣- نموذج بواسون المختلط

عرض ساساكي [٨] أسلوباً لتحليل بيانات الانحرافات الكروموسومية في محاولة منه للتعامل مع المشاكل المرتبطة بالتقدير غير الملائم لمتوسط الجرعة الذي ينتج عن عدم التجانس. وتتألف مجموعة الخلايا من خليط من المجموعات الفرعية التي تعرض كل منها لجرعة مختلفة مما تسبب في قدر مختلف من الضرر. ولذلك يمكن التعبير عن توزيع الأضرار الكروموسومية في الخلايا من حيث التوزيع البواسوني المختلط ونحصل من 'الكشف' عن هذا التوزيع على صورة توزيع الجرعة. وثبت أن هذا النموذج يوفر توافقاً كافية للعلاقة الخطية - التربيعية للجرعة والاستجابة في بيانات المحاكاة والبيانات الحقيقية.

المرفق السادس-٢-٤- التوزيع ذو الحدين السالب

على غرار توزيع بواسون فإن التوزيع ذا الحدين السالب هو توزيع متقطع ولكن له بارامتر إضافي يمكن استخدامه لتمثيل التشتت المفرط. وبالنظر إلى أن بارامتر التشتت المفرط يكون صفراً في الغالب فإن التوزيع ذا الحدين السالب يميل إلى أن يكون بواسونياً [٩]. واستخدم عدد من المؤلفين التوزيع ذا الحدين السالب بدلاً من توزيع بواسون وذلك مثلاً في دراسة أجريت في عام ٢٠٠٨ تناولت تردد الانتقالات الكروموسومية لدى قاندي الطائرات [١٠].

المرفق السادس-٢-٥- توزيع نيومان من النوع ألف

اقترح نيومان (Neyman) هذا التوزيع لأول مرة في عام ١٩٣٩ عندما أدخل هذه الفئة الجديدة من التوزيع لاستخدامها في اختبار الفرق بين وسطى عينتين مختلفتين في التباين. ويُنَاقَض ذلك مع الاختبارات المعيارية الأخرى، من قبيل اختبار z واختبار t اللذين يستندان إلى بيانات موزعة توزيعاً طبيعياً ومعلومة الانحرافات المعيارية وغير معلومة الانحرافات المعيارية على التوالي، ويجب أن يكون تباينها متماثلاً إن لم يكن متطابقاً. ويغلب على توزيع نيومان من النوع ألف أنه يميل نحو التوزيع البواسوني العام كلما ازداد حجم العينة [١١]. وأصدر موراند وآخرون (Morand et al) في عام ٢٠٠٨ مذكرة تقنية تصف برنامج نيما الحاسوبي الذي يمكن استخدامه لحساب حدود الثقة البالغة ٩٥ في المائة في الأحداث الموزعة حسب توزيع نيومان من النوع ألف [١٢]. وخلص موراند وزملاؤه إلى أن حدود الثقة المحسوبة باستخدام توزيع نيومان أصغر من حدود الثقة المحسوبة باستخدام أسلوب بواسون التقليدي في حالة العينات الصغيرة الحجم (أعداد الخلايا) [١٢].

المرفق السادس-٢-٦- توزيعات أخرى

يحدّد توزيع بيتا مجموعة من التوزيعات الاحتمالية المتصلة التي تحدّد في الفترة صفر - ١ ببارامترين شكليين يشار إليهما في العادة باسم ألفا وبيتا. وتشكل توزيعات دايريكليت (Dirichlet) امتداداً لتوزيع بيتا في حالة البارامترات المتعددة (أكثر من بارامترين). وقارن ستيراتيلي وآخرون (Stiratelli et al) [١٣] توزيع بواسون والتوزيع ذا الحدين في حالة الأضرار الكروموسومية المستحثة كيميائياً مع توزيعات بيتا ذات الحدين، والتوزيعات ذات الحدين السالبة والتوزيعات ذات الحدين المرتبطة. وعلى النقيض من توزيعات بواسون والتوزيعات ذات الحدين البسيطة، لا تعتمد هذه النماذج على استقلال الاستجابة الخلوية. وخلص المؤلفون إلى أن كل النماذج القائمة على توزيع بيتا كشفت عن تحسن التوفيق في نماذج بواسون والنماذج ذات الحدين (بعد فحصها باستخدام اختبار χ^2). وأتاح نموذج بيتا ذو الحدين أفضل توفيق لمجموعة بيانات المؤلف [١٣].

ووصف أتشيسون وشين (Aitchison and Shen) في عام ١٩٨٠ رسمياً التوزيع الطبيعي اللوغاريتمي. وينتج عن التحول اللوجستي في التوزيع الطبيعي البُعدي، d ، توزيع طبيعي لوغاريتمي على

المفردة البسيطة البُعدية، d. ويمكن تطبيق هذا التوزيع في التشخيص الإحصائي الذي يخضع فيه تصنيف الحالات الأساسية للريية، مثل بيانات الانحرافات الكروموسومية. ويسوق المؤلفون أمثلة تبين استخدام هذا التوزيع على سبيل المثال في التوصيف الإحصائي المباشر وتحليل البيانات الإنشائية والاحتمالية، وكذلك كبديل عن فئة دايريكليت المسبق المرافق في تحليل بيانات الجداول المتعددة الحدود وجداول التوافق [١٤].

المرفق السادس-٣- الإجراءات الروتينية المتبع في توفيق منحنيات الجرعة والاستجابة

تناول القسم ٨-٣ بالوصف برنامجاً حاسوبياً لتوفيق المنحنيات. ويتضمن هذا المرفق مثلاً عملياً يستخدم أحد خيارات البرنامج الحاسوبي، وهي أداة تعتمد على لغة البرمجة R المطبقة على بيانات الكوبالت - ٦٠ المبيّنة في الجدول ٤. وفي حين أن برنامج حساب الانحرافات الكروموسومية وبرنامج تقدير الجرعات متاحان كأداتين جاهزتين للاستخدام فإن إجراء R يحتاج إلى روتين يكتبه عالم بالرياضيات. وتم الانتهاء من إعداد الروتين المطلوب (على يد H. Braselmann) ويرد هنا كاملاً في الإطار ١ لأنه لم يُنشر في أي مكان آخر.

ويشمل الروتين أربعة أجزاء، يستخدم الجزء الأول منها في إدخال البيانات الملحوظة، أي الجرعات، وأعداد الانحرافات، وعدد الخلايا المفحوصة، والرقم القياسي للتوزيع (التشتت). ويوجد بالنسبة لهذا الرقم القياسي خياران، إما استخدام قيمة ثابتة لكل الجرعات أو تعيين قيمة منفصلة لكل جرعة. وفي المثال العملي الوارد في المرفق استخدمت قيمة ثابتة قدرها ١. والبديل الذي يبينه المرفق أيضاً هو استخدام القيم الفردية σ^2/y المبيّنة في الجدول ٤. (يلاحظ أن كل الأسطر الواردة في الروتين التي تبدأ بالرمز '#' للعلم فقط وليست للتنشيل). أما الجزء التالي فهو لإدخال الإعدادات المثلى؛ '١' معامل ارتباط سيغما الذي يوصى معه باستخدام القيمة ١ أو تقدير هذا المعامل؛ '٢' الوزن المطلوب؛ '٣' الدالة المراد توفيقها. ويُدْرَج لهذه الدالة القيمة '١' في حالة التوفيق الخطي أو '1q' للتوفيق الخطي التربيعي. ولا يجوز أن يعدل الجزآن المتبقيان من الروتين إلا من قاموا بصياغة النص الأصلي. وإذا أردنا توفيق البيانات مع دالة الجرعة والاستجابة الخطية سنجد تحت الإطار ١ البيانات التي تُدرج باستخدام بيانات الهيليوم - ٤ في الجدول ٤. ويتطابق الروتين بعد ذلك مع الروتين الوارد في الإطار ١.

ويتطلب تشغيل الروتين تنزيل البرنامج R من موقعه على الشبكة الإنترنت (انظر القسم ٨-٣). وباستخدام نسخة بشكل نسق منقول (PDF) من هذا المنشور، ينسخ الروتين المبيّن في الإطار ١ ويلصق مباشرة في معالج الكلمات. ويستعاض عن بيانات مثال الكوبالت - ٦٠ بالبيانات الخاصة بك وتحدّد الخيارات المرجوة، مثل '١' أو '1q'. ويلصق ذلك في الروتين بعد الرمز < في الوقت الذي يكون فيه برنامج R مفتوحاً على الشاشة.

ويرد الناتج في الإطار ٢، حيث x_0 ، و x_1 ، و x_2 على التوالي، ومعاملات C، و α ، و β كما هو مبيّن في المعادلة (٢) إلى جانب أخطائها المعيارية. وتمثل قيمة z اختبار الدلالة الإحصائية لكل مُعامل مع احتماليتها (Pr). وترد أيضاً قيمة التباين والتغيّر لكل مُعامل. ونلاحظ أن قيم المُعاملات متطابقة مع القيم المبيّنة في الجدول ٥ وأن قيم التباين/التغاير متطابقة مع القيم المبيّنة في القسم ٩-٧-٣. ويمثل أيضاً ناتج R النقاط المرجعية والمنحنى الموفّق كرسماً بياني (الشكل رابعاً - ١).

الإطار ١: تطبيق روتين توفيق المنحنيات كمثال عملي على بيانات الكوبالت - ٦٠

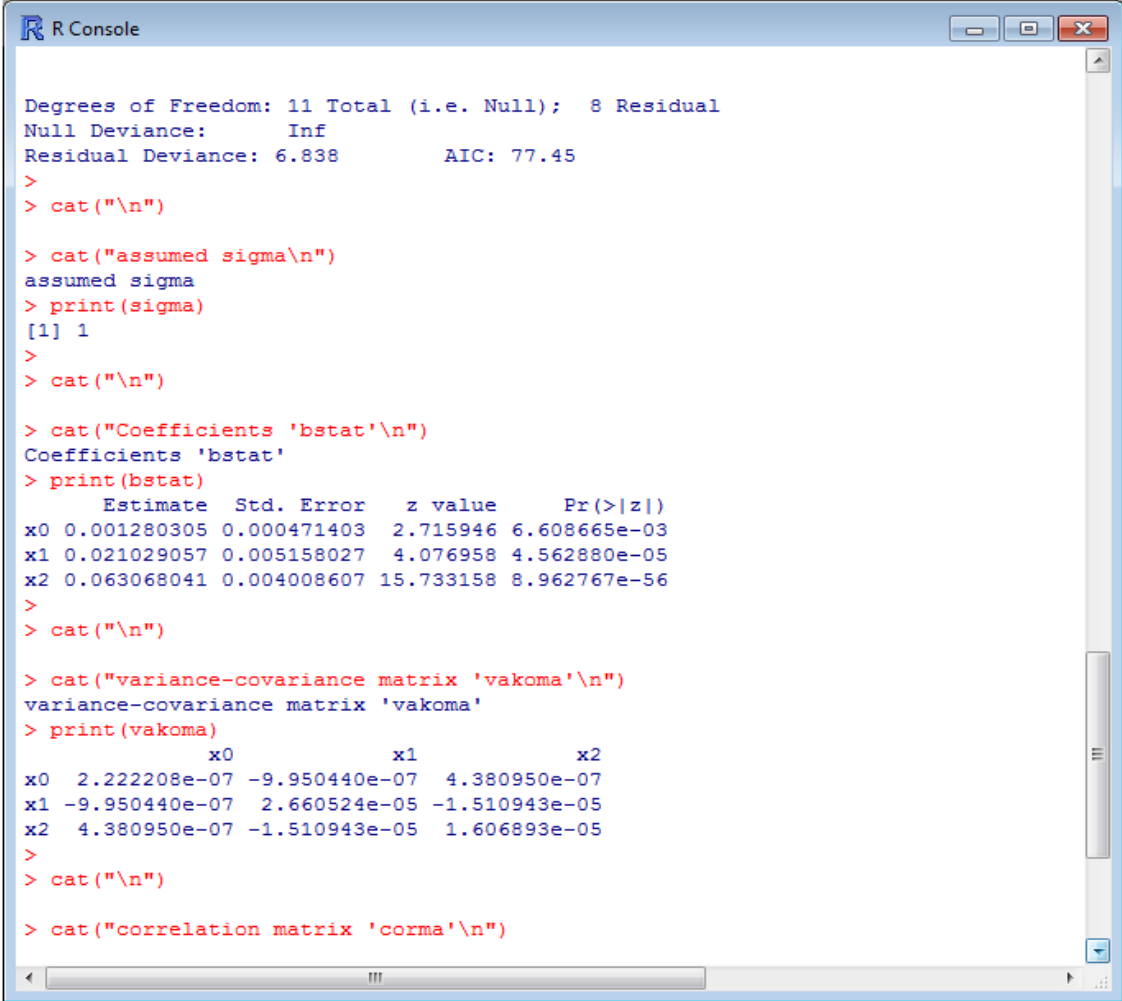
```
## latest changes: H. Braselmann, 2010, April 9th
##           Helmholtz Zentrum München, Department of Radiation Cytogenetics, Germany
## contact details: braselm@helmholtz-muenchen.de
## user part: data
# cobalt-60 gamma (86)
dose<-c(0,0.1,0.25,0.5,0.75,1,1.5,2,3,4,5)
ab<-c(8,14,22,55,100,109,100,103,108,103,107)
cells<-c(5000,5002,2008,2002,1832,1168,562,332,193,103,59)
disp<- 1.0
#disp<- c(1.0,1.0,1.08,0.97,1.03,1.0,1.06,1.14,0.83,0.88,1.15)
## user part: option settings
sigma<- 1      # regression sigma 1 or
#sigma<- NULL  # NULL (regression sigma estimated)
wt<- 1/disp     # weight setting, required!
model<- "lq"
#model<- "l"
# "l"          for linear or "lq" for linear quadratic
# a background value (c) is fitted in both options
#####
## execution part: changes recommended only for developers of the script ##
#####
if (length(disp)==1) disp<- rep(disp,length(dose))
kurvendaten<-data.frame(dose,ab,cells,disp)
print(kurvdaten)
x0<-cells
x1<-cells*dose
x2<-cells*dose*dose
modelldaten<-list(x0,x1,x2,ab)
if (length(wt)==1) wt<- rep(wt,length(dose))
if (model=="lq" & sigma==1)
  result<-glm(ab ~ -1 + x0+x1+x2,family=poisson(link = "identity"), weights=wt, data=modelldaten)
if (model=="lq" & is.null(sigma))
  result<-glm(ab ~ -1 + x0+x1+x2,family=quasipoisson(link = "identity"), weights=wt, data=modelldaten)
if (model=="l" & sigma==1)
  result<-glm(ab ~ -1 + x0+x1,family=poisson(link = "identity"), weights=wt, data=modelldaten)
if (model=="l" & is.null(sigma))
  result<-glm(ab ~ -1 + x0+x1,family=quasipoisson(link = "identity"), weights=wt, data=modelldaten)
smry<-summary(result,correlation=TRUE)
#smry$coefficients
#smry$correlation
corma<-smry$correlation
bstat<-smry$coefficients
seb<-bstat[,2]
vakoma<-corma*outer(seb,seb)
vakoma<-vcov(result)
#####
## output of results ##
#####
cat("\n")
cat("Result of curve fit 'result'\n")
cat("-----\n")
print(result)
cat("\n")
cat("assumed sigma\n")
print(sigma)
cat("\n")
cat("Coefficients 'bstat'\n")
print(bstat)
cat("\n")
cat("variance-covariance matrix 'vakoma'\n")
print(vakoma)
cat("\n")
cat("correlation matrix 'corma'\n")
```

```
print(corma)
par(lwd=2)
plot(dose, ab/cells)
if (model=="lq") curve(bstat[1,1]+bstat[2,1]*x+bstat[3,1]*x*x,0,max(dose), add=TRUE)
if (model=="l") curve(bstat[1,1]+bstat[2,1]*x,0,max(dose), add=TRUE)
```

مفردات توفيق بيانات الهيليوم - ٣ مع النموذج الخطي.

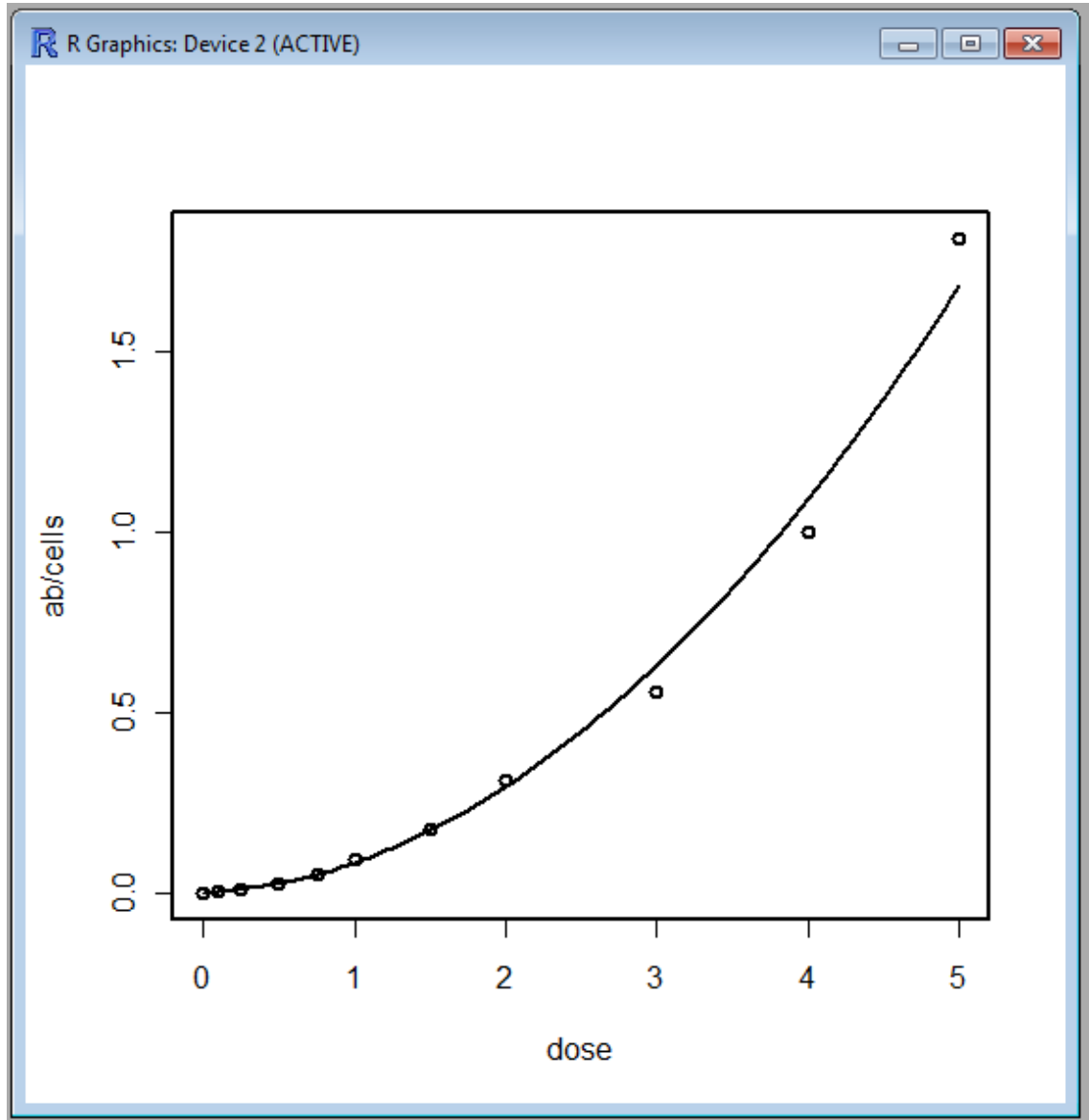
```
# 20 MeV helium  $\alpha$ - particles (87)
dose<-c(0,0.051,0.104,0.511,1.01,1.536,2.05,2.526,3.029)
ab<-c(3,19,27,199,108,96,120,148,108)
cells<-c(2000,900,1029,1136,304,142,137,144,98)
disp<- 1.19
sigma<- NULL
wt<- 1/disp
model<- "l"
```

الإطار ٢: ناتج توفيق بيانات الكوبالت - ٦٠



```
R Console

Degrees of Freedom: 11 Total (i.e. Null); 8 Residual
Null Deviance:      Inf
Residual Deviance: 6.838      AIC: 77.45
>
> cat("\n")
> cat("assumed sigma\n")
assumed sigma
> print(sigma)
[1] 1
>
> cat("\n")
> cat("Coefficients 'bstat'\n")
Coefficients 'bstat'
> print(bstat)
      Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
x0 0.001280305 0.000471403  2.715946 6.608665e-03
x1 0.021029057 0.005158027  4.076958 4.562880e-05
x2 0.063068041 0.004008607 15.733158 8.962767e-56
>
> cat("\n")
> cat("variance-covariance matrix 'vakoma'\n")
variance-covariance matrix 'vakoma'
> print(vakoma)
      x0      x1      x2
x0 2.222208e-07 -9.950440e-07 4.380950e-07
x1 -9.950440e-07 2.660524e-05 -1.510943e-05
x2 4.380950e-07 -1.510943e-05 1.606893e-05
>
> cat("\n")
> cat("correlation matrix 'corma'\n")
```



الشكل رابعاً - ١: ناتج بيانات الكوبالت - ٦٠ كرسم بياني تظهر فيه النقاط المرجعية الملحوظة وتوفيق المنحنى الخطي التربيعي.

المرفق السابع

مثال للمقارنة بين المختبرات لضمان الجودة

يتضمن هذا المرفق مثلاً لمقارنة بين ١٤ مختبراً دولياً متخصصاً في القياس البيولوجي للجرعات. وشملت العملية تحليل شرائح الأطوار الاستوائية للدم المشع داخل المختبر باستخدام ٠,٧٥ غراي و ٢,٥ غراي من أشعة غاما المنبعثة من الكوبالت - ٦٠. واشترط على المختبرات المشاركة الإبلاغ عن تردد ثنائيات القسيم المركزي التي حصلت عليها والجرعة المقدرة بعد تحليل ٥٠ خلية و ١٠٠ خلية (منوال الفرز) وبعد الفحص التقليدي الذي شمل ٥٠٠ خلية أو التوقف قبل ذلك في حالة الوصول إلى ١٠٠ كروموسوم ثنائي القسيم المركزي. وقيمت هذه المقارنة أداء كل مختبر وإمكانية تكرار العملية باستخدام الأساليب القوية (الخوارزميتان A و S) المبيّنة في المعيارين الموحدتين ٥٧٢٥-٥ و ١٣٥٢٨-١٣: ٢٠٠٥ [١٥، ١٦].

ويبين هذا المرفق على سبيل المثال مجرد مجموعة فرعية من نتائج المقارنة بين المختبرات بعد تحليل ٥٠٠ خلية تلقت ٠,٧٥ غراي. وترد التفاصيل الكاملة في المرجع [١٧].

واستخدم الاختبار z لتحديد أداء المختبرات:

$$z = \frac{(x_i - x_{ref})}{\sqrt{(s^*)^2 + u_x^2}} \quad (\text{سابعاً - ١})$$

ويتحقق اختبار z من القيم التي أبلغ عنها كل مختبر فيما يتعلق بتردد ثنائيات القسيم المركزي الملحوظة أو الجرعة المقدرة بإحالة تردد ثنائيات القسيم المركزي إلى منحنى الجرعة والاستجابة الموجود من قبل (x_i) . وتمثل (x_{ref}) في تحليل التردد قيمة توافقية (متوسط متين، x^* من الخوارزمية A) والجرعة المادية المستخدمة في تحليل تقدير الجرعة. ويراعى أيضاً في اختبار z الانحراف المعياري الصامد (s^*) المحسوب باستخدام الخوارزمية ألف والريبة المعيارية للقيمة التوافقية أو القيمة المرجعية (u_x) . وعندما قيّمت الترددات، حُسبت u_x كالاتي:

$$u_{ref} = 1.25s^* / \sqrt{p} \quad (\text{سابعاً - ٢})$$

حيث p عدد المختبرات المشاركة.

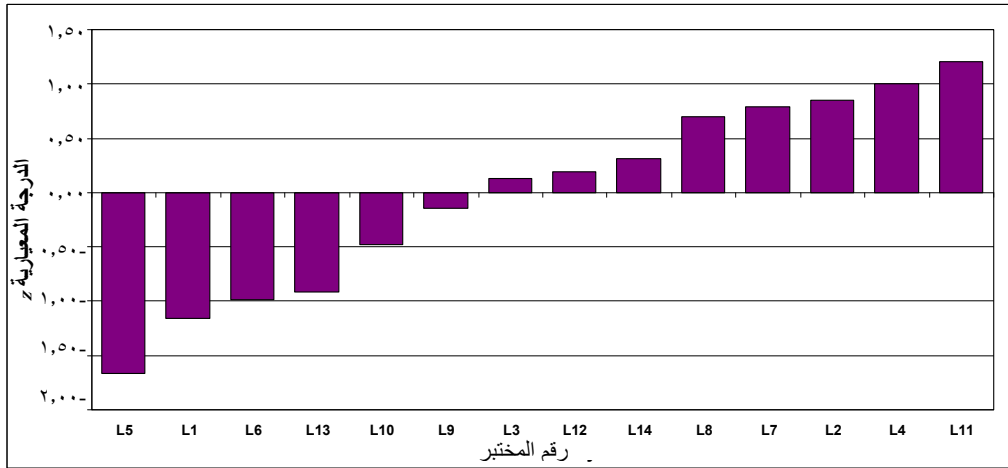
وفيما يتعلق بتقدير الجرعات فإن قيمة الريبة، u_x ، في القياسات المادية للجرعات الفعلية التي تلقتها عينات الدم لا تذكر وفقاً للمعايير المبيّنة في المعادلة (سابعاً - ٣). وفيما يتعلق بتقدير الجرعات كانت القيمة u_x الريبة بشأن الجرعات المادية المقدمة. وفي كل تحليل، أُعتبرت القيمة u_x جد قليلة وفقاً للمعايير التالية:

$$0.96 \leq \frac{s^*}{\sqrt{(s^*)^2 + u_x^2}} \leq 1 \quad (\text{سابعاً - ٣})$$

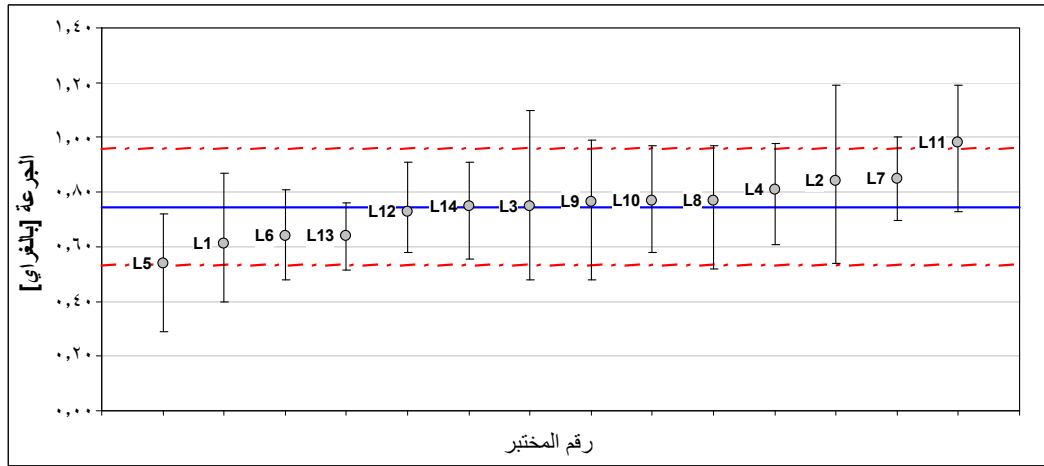
وطُبقت في تقييم أداء المختبرات المعايير التالية:

$ z \leq 2$	مُرَضٍ
$2 < z < 3$	مَشْكُوك
$ z \geq 3$	غير مُرَضٍ

وترد في الشكل سابعاً-١ درجة z لكل مختبر (L اختصاراً للفظه مختبر) فيما يتعلق بتردد ثنائيات القسيم المركزي. وفي هذه الحالة بلغ المتوسط الصامد الذي استخدم باعتباره x_{ref} ٠,٠٥ و s^* ٠,٠١. وتراوحت كل قيم z بين -١,٦٦ و ١,٢١، ووفقاً لمعايير القبول، اعتبرت كل القيم 'مُرَضِيّة'.



الشكل سابعاً - ١: درجة z لكل مختبر مشارك في تحديد تردد ثنائيات القسيم المركزي



الشكل سابعاً - ٢: الجرعات المقدرة في كل مختبر مشارك.

ويبين الشكل سابعاً - ٢ تقدير الجرعة الذي أبلغ عنه كل مختبر وفترة ثقته التي بلغت ٩٥ في المائة. ويمثل الخط الأفقي المتصل الجرعة المادية التي تلقتها العينة، وتمثل الخطوط المتقطعة الفترة ١,٩٦ * s. والمختبر الوحيد 'المشكوك' في صحة نتائجه، حسب ما أشارت إليه درجة z (٢,١٢) هو المختبر رقم ١١ الذي أبلغ عن جرعة قدرها ٠,٩٨ غراي.

الشكل سابعاً - ٢: تقديرات الجرعات في كل مختبر مشارك.

وقِيّمت إمكانية نسخ هذه العملية من خلال الانحراف المعياري لقابلية النسخ (S_R):

$$S_R = \sqrt{(s^*)^2 + S_r^2 \left(1 - \frac{1}{n}\right)} \quad (\text{سابعاً - ٤})$$

وتنظر هذه الصيغة في التغيرية بين المختبرات عن طريق الانحراف المعياري الصامد (s^*) المحسوب باستخدام الخوارزمية A والتغير داخل المختبر عن طريق الانحراف المعياري لقابلية التكرار (S_r) المحسوبة باستخدام الخوارزمية S. وتمثل n في المعادلة (سابعاً - ٤) المقياس المتكرر في كل مختبر مشارك والذي بلغ في العملية الحالية ٢. وبعد تحليل ٥٠٠ خلية تلقت ٠,٧٥ غراي، بلغت قيم S_R ٠,٠١٣ وللتردد ٠,١١٦ للجرعة. وحُدّد معامل التغير (CV) لمقارنة إمكانية نسخ كلا القياسين، أي التردد والجرعة.

ويشير معامل التغير إلى التشتت العام في النتائج ويحسب كنسبة S_R/x^* . وبلغت المعاملات المحسوبة في هذا المثال ٢٤,٤ في المائة و١٥,٦ في المائة بالنسبة للتردد والجرعة على التوالي. وأشارت هذه النتائج إلى تحسن في قابلية النسخ عندما تعلق بالجرعات المقدرة وليس بترددات ثنائيات القسيم المركزي.

وسوف تحدّد المقارنات بين نفس المختبرات في المستقبل إمكانية تحسين قابلية النسخ. وإذا لم يكن من الممكن تحسينها، ستقبل حينئذ القيمة المحصلة باعتبارها التغيرية المصاحبة للأخطاء العشوائية في الأسلوب.

مراجع المرفقات

- [1] FENECH, M., Cytokinesis-block micronucleus cyto assay, *Nat. Protoc.* **2** (2007) 1084–1104.
- [2] WEIER, H.G., et al., Two colour hybridization with high complexity chromosome-specific probes and a degenerate alpha satellite probe DNA allows unambiguous discrimination between symmetrical and asymmetrical translocations, *Chromosoma* **100** (1991) 371–376.
- [3] FENECH, M., et al., HUMN project: detailed description of the scoring criteria 4686 for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte 4687 cultures, *Mutat. Res.* **534** (2003) 65–75.
- [4] EDWARDS, A.A., LLOYD, D.C., PURROT, R.J., Radiation induced chromosome aberrations and the Poisson distribution, *Radiat. Environ. Biophys.* **16** (1979) 89–100.
- [5] MERKLE, W., Poisson goodness-of-fit tests for radiation-induced chromosome aberrations, *Int. J. Radiat. Biol.* **40** (1981) 685–692.
- [6] FROME, E.L., DUFRAIN, R.J., Maximum likelihood estimation for cytogenetic dose-response curves, *Biometrics* **42** (1986) 73–84.
- [7] PAPWORTH, D.G., SAVAGE, J.R.K., “Curve fitting by maximum likelihood”, *Radiation-Induced Chromosomal Aberrations in Tradescantia: Dose Response Curves*, *Radiat. Bot.* **15** (1975) 87–140.
- [8] SASAKI, M.S., Chromosomal biodosimetry by unfolding a mixed Poisson distribution: a generalized model, *Int. J. Radiat. Biol.* **79** (2003) 83–97.
- [9] BRAME, R. S., and GROER, P. G., Bayesian methods for chromosome dosimetry following a criticality accident. *Radiat. Prot. Dosim.* **104** (2003) 61–63.
- [10] YONG, L.C., et al., Increased frequency of chromosome translocations in airline pilots with long-term flying experience, *Occ. Environ. Med.* **66** (2008) 56–62.
- [11] NEYMAN, J., On a new class of “contagious” distribution, applicable in entomology and bacteriology, *Am. Math. Stat.* **10** (1939) 35–55.
- [12] MORAND, J., et al., Confidence limits for Neyman type A-distributed events, *Radiat. Prot. Dosim.* **128** (2008) 437–443.
- [13] STIRATELLI, R.G., MCCARTHY, K.L., SCRIBNER, H.E., Parametric approaches to the analysis of in vivo cytogenetics studies, *Environ. Mutagen.* **7** Suppl. 4 (1985) S43–S54.
- [14] AITCHISON, J., SHEN, S.M., Logistic-normal distributions: some properties and uses, *Biometrika* **67** (1980) 261–272.
- [15] INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, “Alternative methods for the determination of the precision of a standard measurement method”, *International Standard. Accuracy (Trueness and Precision) of Measurement Methods and Results*, ISO 5725-5, ISO, Geneva (1998).
- [16] INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, *International Standard. Statistical Methods for Use in Proficiency Testing by Interlaboratory Comparisons*, ISO 13528, ISO, Geneva (2005).
- [17] DI GIORGIO, M., BARQUINERO, J.F., VALLERGA, M.B., RADL, A., TAJA, M.R., SEOANE, A., DE LUCA, J., STUCK OLIVEIRA, M., VALDIVIA, P., GARCIA LIMA, O., LAMADRID, A., GONZALEZ MESA, J., ROMERO AGUILERA, I., MANDINA CARDOSO, T., GUERRERO CARBAJAL, Y.C., ARCEO MALDONADO, C., ESPINOZA, M.E., MARTINEZ-LOPEZ, W., MENDEZ-ACUÑA, L., DI TOMASO, M., ROY, L., LINDHOLM, C., ROMM, H., GÜÇLÜ, I., LLOYD, D.C., Biological dosimetry intercomparison exercise: an evaluation through triage and routine mode results by robust methods. *Radiation Research* (2011, in press).

المختصرات

شظية عديمة القسيم المركزي	ace
معهد بحوث البيولوجيا الإشعاعية التابع للقوات المسلحة (الولايات المتحدة الأمريكية)	AFRRI
تحليل التباين	ANOVA
الإصابة بأعراض إشعاعية حادة	ARS
مواقع لا قاعدية	AS
ثلاثي فوسفات الأدينوزين	ATP
ضرر قاعدي	BD
إصلاح القطع القاعدي	BER
ثنائي النواة	BN
برومو ديوكسي يوريدين	BrdU
معايير الأمان الأساسية	BSS
برنامج حساب الانحرافات الكروموسومية	CABAS
فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي	CBMN
فحص سايتوم النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي	CBMN Cyt
جهاز متقارن الشحن	CCD
مبيض القداد الصيني	CHO
مجس القسيم المركزي	CP
برنامج بحثي منسق	CRP
مثبط حركة الخلايا B (سايتوكالاسين B)	Cyt-B
4', 6' - دياميدين - ٢ - فينيل إندول (دابي)	DAPI
فحص الكروموسومات الثنائية القسيم المركزي	DCA
درجات الحرية	df
كروموسوم ثنائي القسيم المركزي	dic
ثنائي ميثيل أوكسيد الكبريت	DMSO
الحمض الرئيسي النووي المنزوع الأكسجين (الحمض النووي)	DNA
الروابط التساهمية في بروتين الحمض النووي	DPC
انكسار ثنائي الخيط	DSB
ثنائي أمين الإيثيلين رباعي حمض الخليك (إديتات)	EDTA
رنين الدوران الإلكتروني	ESR
التهجين الموضعي بالفلورسين	FISH
الفلورسين المضاف إلى الغيمزا	FPG
محلول هانك الملحي المتوازن	HBSS
فيروس نقص المناعة البشرية	HIV

الكريات المفاوية في الدم الطرفي البشري	HPBL
الإصلاح عن طريق إعادة اتحاد المادة الوراثية المتماثلة	HRR
نُويّة بشرية	HUMN
الوكالة الدولية للطاقة الذرية	IAEA
اللجنة الدولية للوقاية من الإشعاعات	ICRP
اللجنة الدولية للوحدات والمقاييس الإشعاعية	ICRU
أجهزة نووية ارتجالية الصنع	IND
معهد الوقاية من الإشعاعات والأمان النووي (فرنسا)	IRSN
المنظمة الدولية لتوحيد المقاييس	ISO
وحدة دولية	IU
حد الثقة الأدنى	LCL
انتقال خطي للطاقة	LET
نظام إدارة المعلومات المختبرية	LIMS
طور الانقسام الاستوائي الأول والثاني، ... داخل المختبر	M1, M2, ...
مواقع أضرار متعددة	MDS
الوسط الأساسي الأدنى	MEM
التهجين الموضعي بالفلورسين المتعدد الألوان	mFISH
نُويّة (نويات)	MN
خلية سالبة/موجبة القسيم المركزي في النُويّة	MNCM ^{-ve/+ve}
برعم نووي	NBUD
الرقم القياسي للانقسام النووي	NDI
التحام النهايات غير المتماثلة	NHEJ
الإصلاح عن طريق قطع النوكليوتيد	NER
المعهد الوطني للعلوم الإشعاعية	NIRS
جسر هيولي النواة	NPB
محطة قوى نووية	NPP
حمض الأوكاديك	OA
بروتوكول تحديد الانحرافات الكروموسومية ومصطلحات الأسماء	PAINT
محلول ملحي معزول بالفوسفات	PBS
تكثف كروموسومي مبكر	PCC
تفاعل بوليميري متسلسل	PCR

غليكول متعدد الإيثيلين	PEG
فيتوهيماغلوتينين	PHA
ضمان الجودة	QA
مراقبة الجودة	QC
فعالية بيولوجية نسبية	RBE
جهاز نشر إشعاعات	RDD
مركز المساعدة في حالات الطوارئ الإشعاعية/ موقع التدريب (الولايات المتحدة)	REAC/TS
جهاز تعريض إشعاعي	RED
فحص الكروموسومات البينية السريع	RICA
إنزيم ريبونوكلياز	RNase
انحراف معياري	SD
خطأ معياري	SE
الخطأ المعياري للمتوسط	SEM
النظام الدولي للوحدات	SI
انكسار وحيد الخيط	SSB
إصلاح الانكسار الوحيد الخيط	SSBR
سترات ملح صوديوم	SSC
مقياس جرعات بالوميض الحراري	TLD
حد الثقة الأعلى	UCL
الأمم المتحدة	UN
فوق البنفسجي	UV
منظمة الصحة العالمية	WHO

التعاريف (٣)

جرعة ممتصة*

الكمية الأساسية لقياس الجرعة، D وتعرّف بأنها:

$$D = \frac{d\bar{\varepsilon}}{dm}$$

حيث:

$d\bar{\varepsilon}$ هي الطاقة المنقولة من الإشعاع المؤيّن للمادة في عنصر حجمي، و dm هي كتلة المادة في هذا العنصر الحجمي.

• يمكن حساب متوسط الطاقة في كل حجم معيّن، حيث يساوي متوسط الجرعة إجمالي الطاقة المنقولة في الحجم مقسوماً على الكتلة الموجودة في ذلك الحجم.

• تُحدد الجرعة الممتصة في نقطة ما.

• وحدة القياس: الغراي (GY)، وهو يساوي ١ جول/كيلو غرام (في السابق، كان يستعمل الراد).

حادث*

أي حدث غير مقصود، بما في ذلك أخطاء التشغيل وأعطال المعدات وغير ذلك من الأحداث غير المؤاتية، تكون له عواقب أو يمكن أن تكون له عواقب لا يمكن تجاهلها من زاوية الوقاية أو الأمان.

حادث حرجية (criticality accident). حادث يتعلق بالحرجية

• عادة، في مرفق تستخدم فيه مواد انشطارية.

عديم القسيم المركزي

شظية كروموسومية طرفية أو ببنية بأحجام مختلفة لا يوجد فيها قسيم مركزي. ويشار في العادة إلى الشظية العديمة القسيم المركزي المتكونة بصورة مستقلة عن كروموسوم ذي قسيمين مركزيين أو ثلاث قسيمات مركزية أو حلقة مركزية بأنها شظية زائدة عديمة القسيم المركزي.

إشعاع ألفا

جسيمات منبعثة في أثناء التفكك النووي لنويدات مشعة معينة. وتتألف جسيمات ألفا من نيوترونين وبروتونين وهي متطابقة مع نواة ذرة الهيليوم. ويمكن امتصاصها بسهولة في بضع سنتيمترات من الهواء، ولذلك تنشأ أخطارها الرئيسية عن النويدات التي تدخل الجسم وتنبعث إشعاعات ألفا.

مطفر (أنيوجين)

مُطَفّر غير مباشر قادر على التأثير على انقسام الخلية وجهاز الغزل الفتيلي، مما يسفر عن فقد أو زيادة الكروموسومات الكاملة ويتسبب بالتالي في اختلال الصيغة الكروموسومية.

التهاب الفقار الروماتويدي

التهاب مزمن في الفقرات يؤثر على العمود الفقري ومفصل الحوض. واستخدمت منذ عقود أجهزة ميدانية كبيرة للمعالجة الإشعاعية البعادية لالتهاب الفقرات لدى هؤلاء المرضى.

مضاد التجلط

عقار يمنع تخثر (تجلط) الدم.

(٣) تستخدم التعاريف لأغراض المنشور الحالي. ونقلت التعاريف الموسومة بعلامة النجمة من المرجع [٣٥٧].

تردد/مستوى/قيمة الخلفية

ظهور (أو عدد) الانحرافات الكروموسومية أو النُويّات المسجلة في المجموعة العامة.

بكريل*

وحدة النظام الدولي SI للنشاط، وتعادل مقدار تحول ١ في الثانية.

• يلغي ويحل محل وحدة الكوري، التي لا تنتمي للنظام الدولي. ١ بكريل = ٢٧ بيكو كوري (٢,٧ × ١٠^{-١١} كوري) تقريباً. ١ كوري ٣,٧ × ١٠^{١٠} بكريل.

إشعاع بيتا

إشعاع جسيمي يتألف من إلكترونات موجبة أو سالبة الشحنة تنبعث في أثناء حدوث تفكك نووي في نويدات مشعة معينة. ويتراوح اختراق جسيمات بيتا بين بضع سنتيمترات وبضع أمتار في الهواء وبضع ملليمترات إلى بعض سنتيمترات في النسيج الرخو أو البلاستيك.

تحيز

ابتعاد النتائج أو الاستدلالات عن الحقيقة أو العمليات التي تفضي إلى ذلك الابتعاد.

ثنائي النواة

يحتوي على نواتين. وتظهر الخلايا الثنائية النواة في نهاية دورة الانقسام النووي ويمكن مراكمتها عن طريق وقف انقسام الهيولي مثل مثبط حركة الخلايا B (السايتوكالاسين B) وتفحص الخلايا الثنائية النواة للتحقق من احتوائها على نويدات وجسور الهيولي في فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي.

القياس البيولوجي للجرعات/قياس الجرعات بيولوجياً

استخدام المؤشرات البيولوجية للتحقق من التعرض لإشعاعات وتقدير الجرعة الممتصة

تأثيرات بيولوجية

مجموعة من العواقب المحتملة على المادة أو الكائنات أو الأنسجة أو الخلايا الحية، تبعاً لنوع ودرجة الضرر الخلوي الذي قد ينشأ عن التعرض لعامل خارجي، مثل الإشعاعات المؤينة.

علامة بيولوجية

مؤشر للعمليات البيولوجية أو الأمراض الطبيعية. وتستخدم العلامات البيولوجية في مجال القياس البيولوجي للجرعات لتمييز الأضرار البيولوجية المستحثة بالإشعاع عن الأضرار البيولوجية الناجمة عن عوامل أخرى.

نظرية التجويف

ترتبط بالتأين الناشئ في تجويف مليء بالغاز داخل وسط للطاقة الممتصة في ذلك الوسط المحيط. وفي سياق تكون الانحرافات الكروموسومية، يعني تطبيق النظرية أن حجم نواة الخلية صغير بالقدر الذي يجعل الطاقة الكلية الممتصة راجعة فقط إلى الإلكترونات التي تمر من النواة. ولذلك يمكن تجاهل الجسيمات الثانوية.

برومو ديوكسي يوريدين

نظير للثيميدين تستبدل فيه مجموعة الميثيل عند الموقع ٥ في الثيمين بالبرومين. ويستخدم برومو ديوكسي يوريدين في القياس البيولوجي للجرعات عند التوسيم المتباين للحمض النووي المخلّق حديثاً لتحديد الخلايا التي مرّت بانقسام فتيلي أكثر من مرة.

الغلالة الشهباء

الطبقة التي تحتوي على معظم خلايا الدم البيضاء في عينة الدم المعالجة بمضادات التجلط بعد تعريضها لطرد مركزي.

منحنى معايرة

يشير منحنى المعايرة في القياس البيولوجي للجرعات إلى وصف بياني أو رياضي للعلاقة بين الجرعة والتأثير، ويشق هذا المنحنى من خلال تشيع عينات الدم بجرعات معلومات داخل المختبر ويستخدم المنحنى لاستقراء

الجرعة الإشعاعية التي يتلقاها الفرد الذي يمكن أن يتعرض للإشعاع.

التحزيم الكروموسومي C

انظر 'تحزيم الكروموسومات'.

قسيم مركزي

المنطقة الرئيسية الضيقة في الكروموسوم التي تشاهد في أثناء الانقسام الفتيلي وتضم زوجاً من الكروماتيدات.

سلسلة إجراءات التحفظ على العينات

سجل كامل لعينة الدم يتتبع مناولتها وتخزينها من النقطة التي تجمع/تستلم فيها العينة حتى وصولها إلى وجهتها النهائية.

توازن الجسيمات المشحونة

يحدث عندما يكون عدد كل نوع من الجسيمات المشحونة المزاوجة من حجم معين مساوياً لعدد الجسيمات التي تدخل هذا الحجم.

تحزيم الكروموسومات

تقنية لتلوين الكروموسومات بألوان متباينة غالباً ما تستخدم فيها صبغة غيمزا. وتبعاً للأسلوب المستخدم يشاهد استخدام تلوين انتقائي لمناطق كروموسومية معينة، مثل القسيمات المركزية (التحزيم C) أو أنماط مميزة على طول الأذرع (التحزيم G). ويتم التعرف على هيكل كل زوج من الكروموسومات وتقييمه باستخدام نمط الخطوط الداكنة والفاتحة (الحزم) التي يتميز بها كل زوج.

مكسر كروموسومي (كلاستوجين)

عنصر فيزيائي أو كيميائي يكسر الحمض النووي في الكروموسومات مفضياً إلى تعديلات مثل الانحرافات الملحوظة في الأطوار الاستوائية.

أعطاب الحمض النووي المجمعة

أكثر من موقعين مصابين بإضرار في الحمض النووي بسبب إشعاعات مؤينة في ٢٠ زوجاً قاعدياً من نفس الجزيء.

كولشيسين/كولسيميد

مركبات شبه قلبية تثبط تكون المغزل في أثناء انقسام الخلية. وتستخدم هذه المركبات لجمع عدد كبير من خلايا الطور الاستوائي عن طريق منعها من الوصول إلى الطور الانفصالي. والكولسيميد نظير مخلّق من الكولشيسين الطبيعي النباتي.

إعادة الترتيب الكروموسومي المعقدة

انحراف يشمل ثلاثة انكسارات أو أكثر في كروموسومين أو أكثر ويتميز بأنه يستحث بعد التعرض لإشعاعات كثيفة التأيين أو الجرعات الكبيرة من الإشعاعات الخفيفة التأيين.

فترة الثقة

تقدير فترة متغير ما مثل معدل ما، يحدّد وفقاً لتوزيع مختار (مثل توزيع بواسون) بحيث يكون لهذا النطاق احتمالية محددة تشمل القيمة الصحيحة للمتغير. وبالتالي فإن فترة الثقة (التي توصف بحدي الثقة الأعلى والأدنى) تستخدم للإشارة إلى موثوقية التقدير. ويحدّد مستوى الثقة أو معامل الثقة مدى أرجحية احتواء الفترة على البارامتر. وتتسع فترة الثقة بزيادة مستوى الثقة المرجو.

إرباك

'تشويش' الارتباط بين متغير مؤثر (مثل التعرض لإشعاع مؤين) والتأثير (مثل الانحرافات المستحثة) في دراسة متغير آخر (عامل مركب، مثل العمر أو التدخين). وإذا لم تؤخذ عوامل الإرباك في الاعتبار فإن ذلك يمكن أن يؤدي إلى حدوث ارتباط لا وجود له في الواقع أو يمكن أن يؤدي إلى تشويش ارتباط حقيقي.

أسلوب بواسون الملوث

تحليل رياضي لترددات الحلقات المركزية وترددات ثنائيات القُسَم المركزي، ويسمح هذا التحليل بتقدير الجرعة في الحالات التي يشتبه فيها بحدوث تعرض لجزء من الجسم. ويسمح الأسلوب بتقدير الجرعة عن طريق النظر في توزيع الكروموسومات ذات القسيمين بين كل الخلايا المفحوصة ويعطي معلومات إضافية عن الحجم المشع من الجسم. انظر أيضاً أسلوب حاصل ثنائيات القُسَم المركزي والحلقات (Qdr)

تلوث*

وجود مواد مشعة على الأسطح أو في مواد صلبة أو سائلة أو غازية (بما في ذلك جسم الإنسان) حيث يكون وجودها غير مقصود أو غير مرغوب فيه، أو العملية المؤدية إلى وجود هذه المواد في مثل هذه الأماكن.

مجموعة ضابطة

مجموعة من الخلايا أو الحيوانات أو أشخاص التجارب المعرضين لأفضل الظروف الممكنة المتطابقة مع ظروف الأفراد المعرضين باستثناء عدم ترتيب حدوث التأثير.

تغاير

مقياس ارتباط التباين بين مجموعتين (أو أكثر) من البيانات التابعة، أي كيفية تغَيُّر البيانات معاً. ويمكن أن يكون التغاير موجباً أو سالباً، وهو ما يشير إلى وجود علاقة خطية موجبة أو سالبة بين مجموعات البيانات. وإذا كانت البيانات مستقلة فإن التغاير يكون صفراً.

تغاير بارامترات المنحنى (covariance of curve parameters). لا تتحرف البارامترات (α, β, C) بصورة مستقلة عن قيمها الصحيحة المثلى (انظر الانحراف المعياري، التباين)، ولكن ذلك يحدث في حدود معينة من الارتباط لأنها تحسب في آن واحد باستخدام نفس مجموعة البيانات، وبالتالي تقل قيمة الخطأ في الحسابات المجمعة مثل المعادلة (٧) في الحالات التي يحسب فيها مع التباينات وحدها. ويمكن أيضاً حساب الارتباطات المقابلة من خلال التباينات والتغايرات (التغاير مقسوماً على مربع جذر ناتج التباينين، أي التغاير مقسوماً على ناتج الانحرافين المعياريين).

توفيق المنحنى

تحديد معادلة تصف أفضل توفيق مع سلسلة من نقاط البيانات ربما باستخدام عدد من القيود الأخرى، بما في ذلك ترجيح التوفيق بموثوقية كل نقطة بيانات (تقيّم بالخطأ المعياري في نقطة البيانات) و/أو جعل التوفيق مقصوداً على قيمة أساسية مقاسة.

مثبط حركة الخلايا B (سايتوكالاسين)

مركب طبيعي من أصل فطري ينفرد بخاصية تثبيط انقسام هيولي خلايا الثدييات والإنسان المستخدمة في فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي.

الوراثة الخلوية

فرع من علم الوراثة يتناول دراسة الكروموسومات.

فحص سايتوم النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي

هو صيغة أكثر تطوراً من فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي تقاس فيه مجموعة أوسع من العلامات البيولوجية التي تميز العطب الكروموسومي (النُويَات، وجسور هيولي النواة، والبراعم النووية في الخلايا الثنائية النواة) وكذلك موت الخلايا (الخلايا النخرية والخلايا الموت المبرمج) والرقود الخلوي (الرقم القياسي للانقسام النووي على أساس نسب الخلايا الأحادية النواة والثنائية النواة والمتعددة النوى) وأما العلامات البيولوجية للنويات وجسور الهيولي النووي فهي العلامات البيولوجية في هذا النظام التي يتم التحقق من صحتها على أفضل وجه في القياس البيولوجي للجرعات الناشئة عن التعرض لإشعاعات مؤينة.

الإشعاع الكثيف التأين/ذو الانتقال الخطي المرتفع للطاقة

إشعاعات تودع طاقتها في التفاعلات الضيقة على طول مسارها (مثل جُسُيمات ألفا، والنيوترونات). ويتجسّد هذا التوزيع المكاني في الفعالية البيولوجية النسبية. انظر أيضاً 'انتقال خطي للطاقة'.

حد الكشف

الجرعة التي يمثلها أقل تردد لمؤشر معين من مؤشرات قياس الجرعات من خلال الفحص البيولوجي ويمكن تمييزها فوق تردد الخلفية بقدر معين من الثقة يبلغ في العادة ٩٥ في المائة.

أثر قطعي

أثر صحي إشعاعي توجد له عموماً عتبة حدية لمستوى الجرعة تزداد فيه حدة الأثر إذا تجاوزته الجرعة. ويوصف هذا الأثر بأنه قطعي حاد إذا كان مميتاً أو يهدد الحياة أو إذا كان يؤدي إلى انتقاص من نوعية الحياة.

كروموسوم ذو قسيمين مركزيين (ثنائي القسيم المركزي)

كروموسوم زائغ يحمل قسيمين مركزيين ناتجين عن خلل في إصلاح كروموسومين منكسرين.

ضعفاني

عدد الكروموسومات في الخلية الجسدية في نوع معين؛ ويبلغ هذا العدد في الإنسان ٤٦ (٢٢ زوجاً من الكروموسومات الجسدية وكروموسوماً جنسياً).

الحمض الريبي النووي المنزوع الأوكسجين (الحمض النووي)

الجزء الذي تحتوي عليه الكروموسومات ويتحكم في شفرة المورثات المسؤولة عن هيكل ووظيفة كائن ما ويسمح بنقل المعلومات الوراثية من جيل إلى الجيل الذي يليه.

معدل الجرعة

مقياس للجرعة التي تنتقل بها الطاقة من الإشعاع إلى الهدف؛ أي الجرعة التي تودع في الهدف في وحدة من الزمن. وبالرغم من أن معدل الجرعة يمكن تحديده من حيث المبدأ في أي وحدة من الزمن (مثل الجرعة السنوية التي تعتبر من الناحية الفنية معدل جرعة) يستخدم مصطلح معدل الجرعة في العادة في سياق الفترات الزمنية القصيرة، مثل الجرعة في الثانية أو الجرعة في الساعة.

مقياس الجرعة الإشعاعية

جهاز مادي يقيس التعرض للإشعاع المؤين.

انكسار ثنائي الخيط

نوع من العطب يتسبب في قطع الحمض النووي بالكامل نتيجة لحدوث انقسام في العمود الفقري للفسفودايستراز في خيطي اللولب المزدوج في نفس الموقع أو في المواقع القريبة.

رنين الدوران الإلكتروني/الرنين الإلكتروني الفائق المغطاة

تقنية لدراسة الأنواع الكيميائية التي تحتوي على إلكترون واحد غير زوجي، مثل الجذور الحرة العضوية وغير العضوية، والمركبات غير العضوية التي تحتوي على أيون معدني انتقالي. ويمكن استخدامه كمقياس للجرعات الإشعاعية.

طارئ*

حالة غير روتينية تتطلب إجراءً فورياً يرمي في المقام الأول إلى التخفيف من خطر أو من العواقب الضارة على صحة الإنسان وسلامته أو على نوعية الحياة أو على الممتلكات أو على البيئة. ويشمل ذلك حالات الطوارئ النووية أو الإشعاعية وحالات الطوارئ التقليدية مثل الحرائق أو انبعاث مواد كيميائية خطيرة أو العواصف أو الزلازل. كما يشمل ذلك الحالات التي تسوّغ التصرف فوراً للحد من آثار خطر متصوّر. والطارئ النووي أو الإشعاعي هو طارئ يتضمن، أو من المتصور أنه يتضمن، مخاطر تعزى إلى ما يلي:

(أ) الطاقة الناتجة عن تفاعل متسلسل نووي أو عن اضمحلال نواتج تفاعل متسلسل؛

(ب) تعرضاً إشعاعياً.

• تمثل النقطتان (أ) و(ب) على التوالي الطارئ النووي والطارئ الإشعاعي بالتقريب. بيد أن هذا ليس التمييز المصبوط.

• مصطلح طارئ إشعاعي يستخدم في بعض الحالات عندما يكون التمييز الواضح لطبيعة المجازفة غير أساسي

(خطة طوارئ إشعاعية وطنية مثلاً)، وهو يؤدي نفس المعنى بصورة جوهرية.

إنزيم

جزء بروتيني يسرّع التفاعلات الكيميائية في المواد الأخرى دون أن يتعرض هو نفسه للتدمير أو التغيير عند انتهاء التفاعلات.

علم الأوبئة

دراسة توزيع ومحددات الحالات أو الأحداث المرتبطة بالصحة في مجموعات سكانية محددة، وتطبيقات تلك الدراسة في مكافحة المشاكل الصحية.

تعرض*

الفعل أو الظرف المؤدي إلى التعرض للإشعاعات. لا ينبغي استخدام مصطلح تعرض كمترادف لمصطلح جرعة. فالجرعة إنما هي مقياس تقاس به آثار التعرض.

• يمكن تقسيم التعرض إلى فئات بحسب طبيعته ومدته (انظر أحوال التعرض) أو بحسب مصدر التعرض، و/أو الأشخاص المعرضين و/أو الظروف التي يتعرضون تحت ظلها (انظر أنواع التعرض).

تعرض خارجي (external exposure) تعرض للإشعاع من مصدر خارج الجسم.

• يقابله مصطلح تعرض داخلي.

• تعرض داخلي (internal exposure) تعرض للإشعاع من مصدر داخل الجسم.

• يقابله مصطلح تعرض خارجي..

حالات تعرض*

تعرض حاد (acute exposure). تعرض يتم تلقيه خلال فترة زمنية قصيرة. ويستخدم عادة للإشارة إلى التعرض الذي يتم خلال فترة قصيرة بما يكفي لاعتبار الجرعات الناتجة جرعات لحظية (أقل من ساعة مثلاً).

تعرض مزمن (chronic exposure). تعرض يدوم لوقت طويل. وتتعلق الصفة 'مزمّن' فقط بمدة التعرض، ولا تشير أدنى إشارة إلى حجم الجرعات التي ينطوي عليها التعرض، وهو يستخدم عادة للإشارة إلى التعرضات التي تدوم لسنوات كثيرة كنتيجة لوجود نويدات مشعة طويلة العمر في البيئة. وتستخدم اللجنة الدولية للوقاية من الإشعاعات مصطلح تعرض طويل الأمد لوصف نفس المفهوم كما في مصطلح تعرض مزمن. وكلا المصطلحين يقابله مصطلح تعرض حاد.

سلبى كاذب

نتيجة فحص تشير إلى أن الفرد لم يتأثر بينما يكون قد تأثر بالفعل؛ أي نتيجة فحص سلبية في شخص متأثر.

إيجابي كاذب

نتيجة فحص تشير إلى أن الفرد قد تأثر بينما هو في الواقع لم يتأثر؛ أي نتيجة فحص إيجابية في شخص غير متأثر بالفعل.

نيوترونات سريعة

نيوترونات تتجاوز طاقتها بعض المستوى العشوائي وتبلغ في العادة مليون إلكترون فلت

طلائع المتصددين*

أول أفراد من خدمة طوارئ يتصدون لحالة طوارئ في مسرح الأحداث.

نيوترونات الانشطار

نيوترونات حرة عادة ما تنشأ في أثناء الانشطار النووي، أي التفاعل النووي الذي تنقسم فيه نواة ذرة ثقيلة إلى جزأين متساويين تقريباً (نوى العناصر الأخف) ويصحبها انطلاق مقدار كبير نسبياً من الطاقة.

تهجين موضعي فلوري

تقنية لتحديد وجود كروموسومات محددة أو مناطق كروموسومية من خلال إدخال مجسّات ملونة بالفلورسين في

حمض نووي كروموسومي متمسخ.

تهجين موضعي فلوري بيني (interphase FISH) يتم إدخال المجسّات مباشرة في خلية الطور البيني. ويسمح ذلك بمشاهدة التغيرات على مستوى المناطق الكروموسومية.

تهجين موضعي فلوري استوائي (metaphase FISH). يتم إدخال المجسّات في الكروموسومات في أثناء الطور الاستوائي. ويسمح ذلك بمشاهدة الانحرافات الكروموسومية.

تقنيات التهجين الموضعي الفلوري:

التهجين الموضعي الفلوري المتعدد الألوان (multicolour FISH (mFISH) يستخدم في التهجين الموضعي بالفلورسين المتعدد الألوان مجسّات الحمض النووي لتلوين الكروموسومات الكاملة الموسومة بمجموعة فريدة من الألوان الفلورية لكل كروموسوم من كروموسومات الإنسان.

التهجين الموضعي بالفلورسين المتعدد الألوان للأذرع القريبة والبعيدة (pq-mFISH). شكل مختلف من التهجين الموضعي بالفلورسين المتعدد الألوان لتمييز الأذرع الكروموسومية كل على حدة.

ملون فلوري

جزيئات متألقة عندما تستثار بطريقة ملائمة. وتستخدم في التهجين الموضعي بالفلورسين لإبراز مناطق كروموسومية محددة.

إشعاع غاما

إشعاع كهرومغناطيسي (فوتونات) عالية التردد (موجات قصيرة جداً) تصدره النواه أو ينبعث من اضمحلال الجسيمات أو أحداث الإبادة. وتخترق أشعة غاما الأنسجة لمسافة أبعد من جُسَيْمات بيتا أو جُسَيْمات ألفا، ولكنها ذات انتقال خطي أقل للطاقة. ويجب استخدام مواد ثقيلة مثل الرصاص أو الخرسانة المسلحة للوقاية من إشعاعات غاما.

التحزيم G

انظر 'تحزيم الكروموسومات'.

مادة سامة جينياً (جينوتوكسين)

أي عنصر كيميائي أو فيزيائي يسبب ضرراً أو طفرة في المادة الوراثية.

الدالة G

عامل تابع زمنياً يستخدم لتعديل معامل تربيع الجرعة في العلاقة الخطية التربيعية بين الجرعة والاستجابة لمراعاة تأثيرات الجرعة الممتدة.

غراي*

وحدة الكيرما والجرعة الممتصة حسب النظام الدولي للوحدات، وتعادل ١ جول/كغم = ١٠٠ راد.

تكون الدم

تكون مكونات خلايا الدم.

عمر نصفي*

(١) بالنسبة لنويدات مشعة، الزمن المطلوب لتقلص النشاط، بفعل عملية الاضمحلال الإشعاعي، إلى النصف.

• حيثما يكون من الضروري تمييز هذا العمر النصفي عن الأعمال النصفية الأخرى (انظر (٢))، ينبغي استخدام مصطلح العمر النصفي الإشعاعي.

• يرتبط العمر النصفي بثابت الاضمحلال، λ ، حسب التعبير التالي:

$$T_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda}$$

(٢) الزمن الذي تستغرقه كمية من مادة معيّنة (مثلاً نويدة مشعة) في مكان معيّن لتتقلص إلى النصف كنتيجة

لأي عمليات أو عمليات محددة تتبع أنماط أسية مشابهة وصولاً إلى الاضمحلال الإشعاعي.

عمر نصفي بيولوجي (biological half-life). الزمن الذي تستغرقه كمية مادة في نسيج معين أو عضو معين أو منطقة معينة من الجسم (أو أي كائن حي آخر يتم تحديده) لكي تنقلص إلى النصف كنتيجة لعمليات بيولوجية.

عمر نصفي فعال (effective half-life (T_{eff}). الزمن الذي يستغرقه نشاط نويدة مشعة في مكان معين لينقلص إلى النصف نتيجة لكل العمليات ذات الصلة.

$$\frac{1}{T_{eff}} = \sum_i \frac{1}{T_i}$$

حيث:

T_i هو العمر النصفي للعملية i

عمر نصف إشعاعي (radioactive half-life). بالنسبة لنويدة مشعة، الزمن المطلوب لكي ينقلص النشاط إلى النصف جراء عملية اضمحلال إشعاعي.

• يستخدم أيضاً مصطلح 'عمر نصفي فيزيائي' للتعبير عن هذا المفهوم.

وقت نصفي

الوقت المطلوب كي ينخفض بارامتر ٥٠ في المائة من قيمته الأصلية. ويستخدم هذا المصطلح في تطبيقات القياسات البيولوجية للجرعات لوصف معدل دوران الكريات اللفافية في الدم الطرفي.

كروموسوم أرقش

كروموسوم موسوم ملون بألوان مختلفة بعد إضافة برومو ديوكسي يوريدين في أثناء دورتين متكررتين. وبعد التلوين الملائم، يبدو أحد شقي الكروموسوم داكن اللون بينما يظهر الآخر بلون فاتح.

دخول

تناول نويدة مشعة إلى الجسم عن طريق الاستنشاق أو الابتلاع أو من خلال الجلد السليم أو المصاب.

غرز

شذوذ كروموسومي تدخل فيه شظية عديمة القسيم المركزي من كروموسوم إلى ذراع كروموسوم آخر.

عملية مقارنة بينية

إجراء يستخدم في ضمان ومراقبة الجودة. ويتم في القياس البيولوجي للجرعات تبادل المواد بين المختبرات لأغراض التحليل المقارن.

طور بيني

الفترة التي تستغرقها دورة الخلية بين الانقسامات الفتيلية التي تقضي فيها الخلية معظم وقتها وتجري فيها أغلبية وظائفها، مثل الاستعداد للانقسام الخلوي.

قلب

تعديل كروموسومي تنقلب فيه شظية من كروموسوم من طرف إلى طرف وتغرز في الكروموسوم في نفس موقع الانكسار. ويمكن أن يكون بعيداً عن المركز أو قريباً منه تبعاً لما إذا كان يشمل القسيم المركزي أو لا يشمل على التوالي.

في المختبر

يلاحظ أو يجري في أنبوب اختبار.

في الجسم الحي

يلاحظ أو يجري في الكائن الحي.

تأين/تأين

العملية الفيزيائية التي يخرج فيها إلكترون مداري واحد أو أكثر من إلكترون مداري من الذرة أو الجزيء لتتحول بذلك إلى الحالة المشحونة كهربائياً (أيون). وتؤدي هذه العملية إلى إطلاق موضعي لكمية كبيرة من الطاقة تبلغ تقريباً ٣٣ إلكترون فلو لكل حدث مؤين وهي تكفي، بل وتزيد، لكسر رابطة كيميائية قوية.

نظير

ذرات من نفس العناصر الكيميائية لها نفس عدد البروتونات (نفس العدد الذري، ولكن عددها النووي مختلف) والإلكترونات، وإن كانت تحتوي على عدد مختلف من النيوترونات. وتتماثل النظائر في خواصها الكيميائية ولكنها تختلف في خواصها النووية.

النمط النووي

ترتيب الأزواج الكروموسومية المتشابهة في خلية وحيدة على أساس الحجم وموقع القسيم المركزي ونمط التحريم وفقاً لتصنيف معياري.

كيرما الهواء (الطاقة الحركية المطلقة لكل وحدة من الكتلة)*

الكمية K ، وتعرف كما يلي:

$$K = \frac{dE_{tr}}{dm}$$

dE_{tr} هو مجموعة طاقات الحركية البدئية لجميع الجسيمات المؤينة المشحونة التي تُطلقها جسيمات مؤينة غير مشحونة في مادة كتلتها dm .

• وحدة القياس: غراي (Gy).

• كان هذا المصطلح أصلاً اختصاراً لعبارة kinetic energy released in matter (أي الطاقة الحركية المطلقة في المادة)، ولكنه الآن مقبول ككلمة.

كريات بيضاء

مصطلح عام يصف كل أنواع خلايا الدم البيضاء (مثل الكريات اللمفاوية، والنيوتروفيلات واليوزينيفيلات، والخلايا البلازمية والكريات الوحيدة).

انتقال خطي للطاقة*

يعرف عموماً بأنه:

$$L_{\Delta} = \left(\frac{dE}{d\ell} \right)_{\Delta}$$

حيث:

dE هو الطاقة التي تفقد في قطع المسافة $d\ell$ ، والمقدار Δ هو حد أعلى للطاقة التي تنتقل في أي اصطدام واحد.

• مقياس للكيفية التي تنتقل بها الطاقة من الإشعاعات إلى المادة المعرضة، كدالة للمسافة. ويدل ارتفاع قيمة الانتقال الخطي للطاقة على أن الطاقة تودع في حدود مسافة قليلة.

• المقدار L_{∞} (أي عندما تكون قيمة Δ لا نهائي) يسمى 'الانتقال الخطي غير المقيد للطاقة' وذلك في تعريف عامل النوعية

• المقدار L_{Δ} يسمى أيضاً 'القدرة الخطية المقيدة على وقف الاصطدام'.

نموذج خطي

نموذج رياضي عام يستخدم لوصف الاستجابة البيولوجية للإشعاع حيث التأثير Y دالة خطية للجرعة D :

$$Y = \alpha D$$

نموذج خطي تربيعي

نموذج رياضي عام يستخدم لوصف الاستجابة البيولوجية للجرعة وفيه يكون التأثير y دالة خطية تربيعية للجرعة D :

$$Y = \alpha D + \beta D^2$$

كرية لمفاوية

نوع من خلايا الدم البيضاء يوجد أساساً في الدم والمفاويات والأنسجة اللمفاوية التي تشكل الخلايا المناعية وسلائفها في الجسم.

تحليل التحليل

دراسة تجمع نتائج بحوث مستقلة متشابهة في موضوع معيّن وتلخصها وتقيّمها وفقاً لبارامترات معينة.

طور استوائي

مرحلة الانقسام الفتيلي في دورة الخلية الحقيقية النواة حيث تتكثف الكروموسومات إلى أدنى طول لها وتتراص في منتصف الخلية قبل انفصالها بين الخليتين الشقيقتين.

نُويّة

النُويّة هي نواة صغيرة بدرجة أكبر وتوجد في الخلايا المصابة بعطب كروموسومي. وتنشأ النُويّة في العادة عن كروموسوم كامل متأخر أو شظية كروموسومية عديمة القُسيم المركزي في الطور الانفصالي. ويبلغ في العادة قطر النُويّة $1/16$ إلى $1/3$ من قطر النوى الرئيسية في الخلية الوحيدة النواة أو الخلية الثنائية النواة. ولا تختلف النُويّة في تركيبها وخصائص تلويّنها عن النوى.

محدث التفتل

كاشف يستحث تكاثر الخلية.

انقسام فتيلي

ذلك الجزء من عملية انقسام الخلية الذي تفصل فيه الخلية الحقيقية النواة كروموسوماتها إلى مجموعتين متطابقتين.

الرقم القياسي للانقسام الفتيلي

النسبة المئوية للخلايا في الانقسام الفتيلي في أي وقت معيّن.

مظفر

أي مادة كيميائية أو فيزيائية لها خاصية إحداث تحول وراثي في التسلسل القاعدي لجزيء الحمض النووي أو على مستوى تنظيم الكروموسوم.

طفرة

أي انحراف في مورث عن حالته الطبيعية؛ وقد يوجد في شكل ممرض أو طبيعي حميد.

إشعاع نيوتروني

النيوترونات التي تشكل أحد مكونات نواة الذرة هي جُسيمات أولية محايدة من حيث شحنتها الكهربائية. وتنتقل النيوترونات في أثناء الانشطار النووي ولها قدرة كبيرة على الاختراق.

برعم نووي

أجسام شبيهة بالنويات متصلة بالنواة عن طريق وصلة أيونية نووية رقيقة؛ شذوذ نووي.

الرقم القياسي للانقسام النووي

مقياس لمتوسط السرعة التي تتابع بها الخلية أطوار دورتها ويشق من العدد النسبي للخلايا في مجموعة تكون قد وصلت إلى كل مرحلة تالية من مراحل انقسامها وصولاً في العادة إلى الانقسام الرابع.

جسر هيولي النواة

يحدث عندما تُجذب القُسيمات المركزية في ثنائيات القُسيم المركزي أو الكروماتيدات تجاه الأقطاب المقابلة من الخلية في طور الانفصالي. ويمكن في فحص النويات الناشئة عن وقف انقسام الهيولي ملاحظة جسر هيولي النواة في الخلايا الثنائية النواة بسبب تثبيط انقسام الخلية مما يمنع انكسار جسور طور الانفصالي التي تخرج منها جسور هيولي النواة.

جُسيم نووي

الهياكل الناشئة عن الوحدات الأساسية المتكررة في تغليف الكروماتين الحقيقي النواة داخل الكروموسوم.

نويدة

نوع من الذرة يتميّز بعدد بروتوناته (عدده الذري) وعدده النووي.

نسبة الأرجحية

النسبة المحسوبة بين احتمالين لإظهار أرجحية الجرعة الصفرية مقابل قياس مشتبه به (مثل شارات القياس) أو القياس الفيزيائي للجرعة.

قياس الجرعات باستخدام الوميض المستحث ضوئياً

نوع من مقاييس الجرعات الفيزيائية المستخدمة في قياس التعرض لإشعاع مؤين.

بروتوكول مصطلحات تحديد وتسمية الانحرافات الكروموسومية

المصطلحات المستخدمة في تحليل التهجين الموضعي بالفلورسين لوصف الانحرافات الكروموسومية.

مجس القُسيم المركزي الشامل

مجسات الحمض النووي المستخدمة في توسيم منطقة القُسيم المركزي في كل كروموسوم.

جهاز شبح

جهاز يمتص ويوزع أشعة غاما أشعة إكس بنفس الطريقة تقريباً التي تحدث في أنسجة الجسم. (مثل استخدامه في قياس الجرعات أو تشيع عينات الدم المطلوبة لتوليد منحنى معايرة الجرعة والاستجابة).

التفاعل البوليميري المتسلسل

إجراء لتضخيم سلسلة حمض نووي من خلال الاستنساخ المتكرر لإنزيم بوليميراز الحمض النووي.

حاصل ثنائيات القُسيم المركزي والحلقات

تحليل رياضي لترددات الحلقات المركزية والكروموسومات ذات القسيمين المركزيين يمكن من خلاله تقييم الجرعة في الحالات التي يشتبه فيها بحدوث تعرض لجزء من الجسم. ويسمح هذا الأسلوب بتقدير الجرعة عن طريق النظر في توزيع ثنائيات القُسيم المركزي والحلقات بين الخلايا المعطوبة فقط. انظر أيضاً أسلوب بواسون الملوّث.

أسلوب حاصل التكتف الكروموسومي المبتر

تحليل رياضي مطابق لأسلوب حاصل ثنائيات القُسيم المركزي والحلقات أعلاه) ولكنه يستند إلى توزيع القطع الكروموسومية المتكثفة مبكراً.

الفعالية البيولوجية النسبية*

مقياس نسبي لفعالية مختلف أنواع الإشعاعات في إحداث أثر صحي معيّن، معبراً عنها كنسبة عكسية للجرعات الممتصة لنوعين مختلفين من الإشعاعات من شأنهما أن ينتجا نفس الدرجة من نقطة نهاية بيولوجية محددة.

حلقي و ذو قُسيم مركزي / عديم القُسيم المركزي

كروموسوم دائري زائغ ذو قُسيم مركزي أو عديم القُسيم المركزي ناشئ عن ارتباط بين انكسارين داخل كروموسوم واحد.

رونجنج*

وحدة تعرض، تساوي ٢,٥٨ × ١٠^{-٤} كلون/كغم (بالضبط)

• حلت محله وحدة النظام الدولي للوحدات كلون/كغم.

مختبر خدمي

يشير المصطلح في سياق هذا المنشور إلى مختبر متخصص في إجراء القياس البيولوجي للجرعات.

سيفرت*

وحدة الجرعة المكافئة والجرعة الفعالة حسب النظام الدولي للوحدات، وتعادل ١ جول/كغم.

دلالة إحصائية

تذكر الدلالة الإحصائية عندما تنحرف نتيجة تجربة أو دراسة معينة انحرافاً واضحاً عن النتيجة المتوقعة. والدلالة الإحصائية للنتيجة في تجربة أو دراسة معينة هي مقياس تقديري للدرجة التي تكون بها 'صحيحة'، أي عندما لا تقوم على الصدفة وحدها. وينطوي عموماً الانحراف بين النتيجة الملحوظة والمتوقعة على دلالة إحصائية إذا كان احتمال هذا الخطأ أقل من ٥ في المائة.

انكسار وحيد الخيط

نوع من ضرر الحمض النووي ينكسر فيه الحمض النووي فقط حول خيط واحد من اللولب المزدوج.

إشعاع خفيف التأيين/إشعاع مؤين ذو انتقال خطي منخفض للطاقة

انظر 'كثيف التأيين/انتقال خطي مرتفع للطاقة' و'انتقال خطي للطاقة'.

انحراف مستقر

تغيّر كروموسومي غير قاتل أو تبادل بين كروموسومين أو داخل نفس الكروموسوم دون أن تفقد المادة الوراثية في أثناء الانقسام الفتيلي.

خلية مستقرة

خلية بدون انحرافات غير مستقرة. ويمكن ألا تتعرض لأي ضرر أو يمكن أن تحتوي فقط على انحرافات من النوع المستقر.

انحراف معياري

مقياس كمي لمقدار التغير في عينة قياسات من مجموعة إحصائية ويكون مؤشراً لمدى اتساع توزيع القيم في مجموعة بيانات. ويشير الانحراف المعياري لبارامتر منحني في البيانات التي تقترب من التوزيع الطبيعي إلى مدى أرجحية حدوث انحراف عن القيمة الصحيحة التي من المثالي اعتبارها متوقفة على متوسط مجموعة إحصائية كبيرة من متبرعي المعايير (أو التجارب) بالاستناد إلى أعداد كبيرة من الخلايا في كل منها. انظر أيضاً التغاير.

الخطأ المعياري للمتوسط

مقياس كمي لمقدار التغير في عينة قياسات من مجموعة إحصائية طبيعية تقريباً مما يعطي إشارة بمدى أرجحية انحراف متوسط العينة عن المتوسط الصحيح للمجموعة الإحصائية وبالتالي قياس مدى دقة معرفة المتوسط الصحيح للمجموعة.

أثر إشعاعي عشوائي

أثر صحي مستحث إشعاعياً يزداد احتمال حدوثه مع ازدياد الجرعة الإشعاعية ولا تتوقف حدته (إذا حدث) على مقدار الجرعة. وقد تكون التأثيرات العشوائية جسمية أو وراثية، وتحدث عموماً دون وجود عتبة حدية لمستوى الجرعة. ومن أمثلة ذلك أنواع سرطان الغدة الدرقية وابتصاص الدم (اللويميا).

مزامنة

تشير هذه العملية في سياق زرع الخلايا إلى استخدام الخلايا في نفس مرحلة دورة الخلية.

قُسَيْمٌ طَرَفِي

طرف كل ذراع كروموسومي يتألف من تسلسل تكراري مترادف TTAGGG للحماية من اندماج الكروموسومات وتكوين ثنائيات القُسَيْمِ المركزي. وقد تفقد تسلسلات القُسَيْمات الطرفية في كل دورة من دورات تضاعف الحمض النووي أو الحذف المجهرى في السلسلة.

مقياس جرعات بالوميض الحراري

مقياس جرعات فيزيائي يستخدم في قياس التعرض للإشعاع المؤين.

انتقال كروموسومي

تغيُّر كروموسومي ينشأ عنه التحام كروموسوم كامل أو جزء من كروموسوم بكروموسوم كامل آخر أو جزء من كروموسوم آخر أو حدوث تبادل معه ويفصل الهجين الناشئ في أثناء الانفصال الانتصافي.

انتقال تبادلي (انتقال ثنائي الاتجاه أو كامل) تبادل أجزاء طرفية في كروموسومين منفصلين.

انتقال غير تبادلي (انتقال أحادي الاتجاه أو ناقص) انتقال شظية من كروموسوم وحيد؛ ولا يحدث أي تبادل.

فرز

عملية تصنيف أولويات المرضى على أساس شدة حالتهم. ويقصد بالفرز الوراثي الخلوي استخدام نتائج القياس البيولوجي للجرعات لدعم القرارات الطبية.

ثلاثي القُسَيْمات المركزية

كروموسوم زائغ يحمل ثلاثة قُسَيْمات مركزية ناشئة عن اتصال أجزاء من ثلاثة كروموسومات منكسرة. ولأغراض الحساب تعادل هذه القُسَيْمات الثلاثة قسيمين مركزيين وتصحبها شظيتين عديمتي القُسَيْمِ المركزي.

ماء معالج بالتريتيوم

شكل من أشكال الماء يستعاض فيه عن ذرات الهيدروجين المعتادة بالتريتيوم، وهو أحد نظائر الهيدروجين المشعة.

انحراف غير مستقر

تغيُّر كروموسومي في خلية يمكن أن يسبب ضرراً مميتاً لنفسه أو للخلايا الشقيقة لأنه يفضي إلى فقدان المادة الوراثية أو انتقال غير متوازن للمادة الوراثية في أثناء الانقسام الفتيلي.

خلية غير مستقرة

خلية محتوية على انحراف غير مستقر، مثل ثنائيات القُسَيْمِ المركزي أو الحلقات أو الشظايا العديمة القُسَيْمِ المركزي.

تباين

مقياس إحصائي لُبُعد القيم عن قيمة مركزية ويحسب كمربع الانحراف المعياري.

إشعاع سيني

إشعاع كهرومغناطيسي قصير الموجات (فوتونات) ينبعث من الإلكترونات سواءً في مدارات خارج النواة أو في أثناء تسريعها لتوليد إشعاعات صدمية ويقل طول موجات هذه الإشعاعات عن الأشعة فوق البنفسجية ولكنه أطول من موجات أشعة غاما. ويجب استخدام مواد ثقيلة، مثل الرصاص، للوقاية من هذه الإشعاعات.

المساهمون في الصياغة والمراجعة

وكالة حماية الصحة، المملكة المتحدة	Ainsbury, E.
جامعة برشلونة المستقلة، إسبانيا	Barquinero, J.F.
معهد البيولوجيا الإشعاعي التابع للقوات المسلحة، ألمانيا	Beinke, C.
معهد بحوث البيولوجيا الإشعاعية التابع للقوات المسلحة، الولايات المتحدة الأمريكية	Blakely, W.F.
مركز هلمهولتز، ألمانيا	Brasemann, H.
الوكالة الدولية للطاقة الذرية،	Buglova, E.
منظمة الصحة العالمية	Carr, Z.
هيئة الرقابة النووية، الأرجنتين	Di Giorgio, M.
منظمة الكومنولث للبحوث العلمية والصناعية، أستراليا	Fenech, M.
مركز الصحة والوقاية من الإشعاعات، كوبا	Garcia Lima, O.
مؤسسة بحوث الآثار الإشعاعية، اليابان	Kodama, Y.
الهيئة الفنلندية للأمان الإشعاعي والنووي، فنلندا	Lindholm, C.
اتحاد جامعات أوك ريدج، الولايات المتحدة الأمريكية	Livingston, G.
خبير استشاري، المملكة المتحدة	Lloyd, D.C.
معهد التصوير الإشعاعي الطبي، ANSU، أوكرانيا	Maznyk, N.A.
المعاهد الوطنية للصحة، الولايات المتحدة الأمريكية	Prasanna, P.G.S.
منظمة الصحة العالمية	Previsani, N.
المكتب الاتحادي للوقاية من الإشعاعات	Romm, H.
معهد الحماية من الإشعاع والأمان النووي، فرنسا	Roy, L.
معهد الحماية من الإشعاع والأمان النووي، فرنسا	Voisin, P.J.
جامعة غنت، بلجيكا	Vral, A.
هيئة الصحة الكندية، كندا	Wilkins, R.C.
جامعة هيروساكي، اليابان	Yoshida, M.

