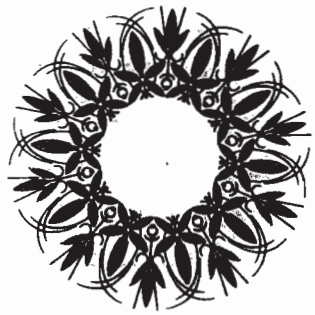
مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية
المجلد الثالث - العدد الثاني من ٧٣ الى ٩٢

شعبان ١٤٠٠ هـ
تموز ١٩٨٠ م

حركة الخلايا في الأنسجة

الدكتور عبد المعين زيتون
كلية الطب



يتعلق علم حركة الخلايا Cell Kinetic في الحوادث والتغيرات التي تطرأ على النسيج الخلوي سواءاً كان نباتا أو حيوانا. فمنذ أكثر من قرن تم التوصل الى حقيقة أن استمرار الحياة يعود الى الإنقسام المستمر غير المتبدل للخلايا ،لذلك فإن لدراسة حركة الخلايافي الأنسجة أهمية كبرى ويرجع ذلك الى عدة عوامل منها :

١ – عوامل حيوية : كتنظيم عملية التكاثر والنمو ودراسة أثر الهرمونات والتميز الخلوي وتنظيم الخلايا الأم المولدة .

٢ – عوامل تتعلق بالآلية الامراضية ومعالجة الأمراض : وأعني بها المعالجة الكيمياوية والمناعية أو الهرمونية .

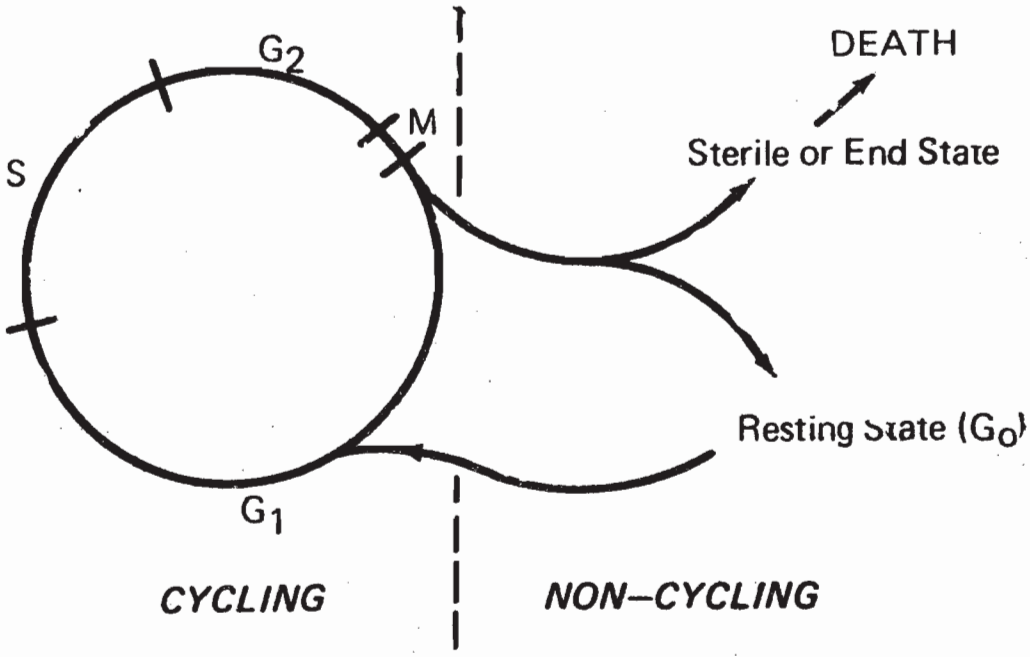
٣ – عوامل أخرى متفرقة : كدراسة حركة الخلايا من عضو الى عضو آخر أو الهجرة الخلوية ،الموت أو التولد الخلوي والتأثيرات الضارة للاشعاعات بمختلف أشكالها ودراسة تأثير العوامل الكيمياوية والفيزيائية على الأنسجة .

ولفهم حركة الخلايا لابد من التعريف بالحوادث التي ترافق تولد وانقسام الخلايا .

حلقة الانقسام الخلوي أو الدورة الخلوية (t_C) Cell Cycle

الدورة الخلوية لخلية نامية هي الفترة الفاصلة بين انتهاء إنقسام الخلية الأم وانتهاء إنقسام الخلية البنت أو كليهما . ويمكن تقسيم الحلقة الخلوية الى مرحلتين ،مرحلة الإنقسام ومرحلة الراحة . إلا أن بعض العلماء (Haward and Pelc 1953) قد لاحظوا على أن كثيرا من التغيرات تطرأ على الخلايا مثل تضاعف المورثات وتركيب الحموض الأمينية، وهذا مادعى الى تقسيم الحلقة الخلوية الى أربع فترات كما هو واضح في الصورة رقم (١) . وهذه الفترات هي مرحلة الانقسام، مرحلة الراحة الأولى ،مرحلة تركيب D N A ومرحلة الراحة الثانية .

١ – مرحلة الانقسام Mitoses (t_m) :



THE CELL CYCLE

صورة رقم –1– مخطط يعبر عن المراحل الأربعة للحلقة الخلوية والسبيل الذي قد تسلكه الخلايا غير المنقسمة سواء في حالة الراحة أو الموت الخلوي .

وهي العملية التي تحصل بواسطتها نواتي الخليتين البنتين على عدد متساو من الصبغيات والمماثلة تماما لصبغيات الخلية ،وتقسم هذه المرحلة الى أربع فترات أصغر وهي :

الزمن الاول Prophase الزمن الثاني Metaphase الزمن الثالث Anaphase والزمن الرابع Telophase.

هذا وإن الفترتان الأولى والأخيرة هما قصيرتان جدا ولذلك يصعب ملاحظتهما عمليا .

٢ - مرحلة الراحة الاولى (t_{G1}):

وهي فترة هامة جدا حيث خلالها القرار فيما اذا كانت الخلية ستأخذ طريق الإنقسام من جديد أو تتوقف عنه (Decycle). ويمكن أن تمتد هذه الفترة الى عدة ساعات أو أيام أو أسابيع أو أشهر أو حتى إلى مالانهاية ويمكن أن تكون ظاهريا معدومة كما هوالحال في خلايا النسيج الرئوي عند Chinese Hamster في وسط الزرع . إن أهم الحوادث التي تطرأ خلال هذه الفترة هي البدء في عملية تركيب الحمض الريبي النووي المنقوص الأكسجين D N A وتركيب R N A والبروتينات .

٣ - فترة تركيب D N A (t_s) :

يتم خلال هذه الفترة مضاعفة محتويات الخلية من D N A وعمليا عند تعريض وسط الزرع الخلوي أو عند حقن الحيوان بمادة مشعة مرتبطة بحمض أميني كال Tritiated Thymidine (^3H - TdR)، فإن الخلايا التي في هذه المرحلة تقوم وحدها بضم ^3H - TdR وتستمر في هذه الفترة أيضا عملية تركيب R N A والبروتينات والتي هي بدورها ضرورية لبدء الإنقسام ومن ثم لإستمراره. وعلى هذا فإن تثبيط تركيب البروتينات سوف يؤدي بالتالي الى عدم تركيب D N A ومن ثم الى إيقاف عملية الأنقسام .

٤ - فترة الراحة الثانية : t_{G2} .

وهي فترة قصيرة جدا ،وتأخذ خلالها المادة الصبغية بالتكثف وليس هناك من عمليات حيوية كيماوية هامة أثناء هذه الفترة سوى إتمام تركيب R N A والبروتينات قبل البدء في عملية الانقسام من جديد .

فتـــرة الراحـــة التامـــة G_0 ومعدل التولـــد :

تمثل الصورة رقم (١) شكلا مبسطا لجميع مراحل الحلقة الخلويـــة في الحالة المثالية حيث تأخذ جميع الخلايا في نسيج ماهذا المنحى ،غيـــر أن بعض الخلايا قد يتبع طريقا منفصلة من حيث أنها لاتنقسم إلا فـــي ظروف معينة ولقد سمى الباحث lajtha (1963) هذه الفترة بفترة الراحة التامة G_0 مثال ذلك الخلايا الكبدية في الحالة العادية حيث أن معظمها يكون في هذه المرحلة إلا أنه عند إستئصال جزء من الكبـــد فإن هذه الخلايا تأخذ طريق الحلقة الخلوية من جديد وتتحول الى مرحلـــة t_{G1} . ويمكن للخلايا التي هي في مرحلة عدم التوالد أن تسلك طريقا آخر هو طريق الموت الخلوي (Cell death) .

اما معدل النمو Growth Fraction ويرمز له ب (I_P) فهو عبارة عن نسبة الخلايا المنقسمة والمتوالدة في نسيج طبيعي أو فـــي نسيج ورمي الى العدد الكلي للخلايا في ذلك النسيج ويمكن حسابها بعـــدة طرق من أبسطهـــــا .

$$I_P = I_S \text{ Experimental} / I_S \text{ Theoretical} \quad ....(1)$$

اما I_S Experimental فهي عبارة عن نسبة الخلايا الموسومـــــة بالمادة المشعة بعد ساعة واحدة من تطبيق هذه المادة أو حقنها الـــى العدد الكلي للخلايا في نسيج ما .

واما I_S Theoretical فيمكن حسابها من المعادلة التاليـــة :

$$I_S \text{ Theoretical} = \frac{t_S}{t_C} \quad ....(2)$$

حيث أن كلا t_S , t_C يتم حسابهما من طريقة معدل الانقسام المرسوم والتي سيرد ذكرها .

وأما الطريقة الثانية لحساب I_P فيتم بتطبيق المعادلـــة التاليـــــة :

$$I_P = \frac{t_C}{t_{C\,(a)}} \quad .... (3)$$

و t_C هي الزمن الكلـي للحلقة الخلوية أما $t_{C\,(a)}$ فهي الزمـــن الكلي الظاهري للحلقة الخلوية و تقاس بطريقة خاصة تدعى Stathmokinetic وسيرد ذكرهـــا لاحقـــا .

أشكال التجمعات الخلوية :

لقد قسم العالمان Gilbert and Lajtha عام 1963 الأنسجة الى ثلاثة أنواع وذلك إعتمادا على عدة عوامل من أهمها معدل الهجرة من خارج النسيج واليه أو العكس من داخل هذا النسيج الى أنسجة أخرى ، أو معدل التوالد ضمن النسيج ذاته . وهذه الأشكال هي :

١ - النسيج المتوازن باستمرار (Steady State): حيث أن حجم التجمع الخلوي يبقى ثابتا وبكلمة أخرى إن مايولد من خلايا جديدة يعادل تماما مايفقد منها سواءا أكان عن طريق الهجرة الخلوية أوالموت الخلوي ومثال ذلك الخلايا اللمفاوية في المركز المولد للعقد اللمفاوية في الحالة الطبيعية (Zaitoun 1980).

٢ - النسيج المتزايد بإستمرار (Exponentially growing)

وفيه يزداد حجم التجمع الخلوي باستمرار أعني أن مايولد من خلايا جديدة يفوق نسبة مايفقد منها ومثال ذلك الأورام والتي تبدأ من خلية لتنتهي بكتلة أو كتل كبيرة وكنموذج عنها الورم اللمفادي الخبيث (Lauder, Zaitoun and Aherne 1979).

٣ - النسيج المتراجع (Decaying) .

حيث أن مايفقده أو يطرحه هذا النسيج يزيد عما ينتجه أويدخله ومثال ذلك المبيض إذ أن عدد البيوض في المبيض يتناقص باستمرار حتى سن اليأس ومثال آخر هو حالة أي نسيج بعد التعرض للاشعة كذلك الحال في الورم اللمفاوي الخبيث بعد المعالجة بهرمونات قشر الكظر (نفس المرجع السابق) .

نسبة التوالد (K_B) ونسبة الضياع الخلوي (K_L) .

يعرف التكاثر الخلوي بأنه عبارة عن معدل نسبة الخلايا المتولدة المنقسمة لمجموع الخلايا الكلي في التجمع الخلوي في الساعة (K_B= Cells/ Cells/h) والزمن الذي تأخذه خلية لتعطي خلايا أخرى يدعى بالزمن

الظاهري للحلقة الخلوية ويرمز بـ $t_{C(a)}$ ،ويمكن حساب معدل التكاثر الخلوي من المعادلة التالية وذلك حسب وضع وطبيعة النسيج. ففي النسيج المتوازن تكون

$$K_B = 1/t_{C(a)} \quad \ldots\ldots\ldots (4)$$

وفي النسيج المتزايد النمو فإن

$$K_B = Ln2/t_{C(a)} \quad \ldots\ldots\ldots (5)$$

حيث ان Ln2 هو عبارة عن اللوغاريتم الطبيعي للعدد (2) ويساوي الى 0. 6931 أما معدل النمو (K_G) فهو عبارة عن معدل الزيادة الحقيقية النامية في عدد الخلايا أو حجمها النسيج ما في الساعة ويرمز له بـ K_G أو KG = mg/mg/h أما معدل الضياع الخلوي فهو عبارة عما يفقده المجمع الخلوي في الساعة ويمكن حسابه من الفرق مابين معدل التكاثر ومعدل النمو .

$$K_L = K_B - K_G \quad \ldots\ldots\ldots (6)$$

ونظريا يمكن حساب K_G مباشرة من قياس عدد الخلايا الطبيعية أو الورمية في وسط الزرع خلال فترة معينة وأما في الحياة Ln Vivo فإن الأمر يكون أكثر تعقيدا حيث يتم قياس حجم الورم مثلا بواسطة معيار ما خلال فترات زمنية محددة أو يمكن في حالة الأورام النامية في حيوانات التجربة إزالة الورم وقياس حجمه أو وزنه .

وأما زمن التضاعف (t_D) فهو عبارة عن الزمن الذي يحتاجه الورم أو النسيج لكي يضاعف به حجمه أو وزنه . والعلاقة التالية تربط مابين زمن التضاعف ومعدل النمو في النسيج المتزايد كالأورام :

$$K_G = \frac{Ln2}{t_D} \quad \ldots\ldots\ldots (7)$$

وغالبا مايعبر عن معدل الضياع بنسبة هذه المعدل الى معدل التكاثر في زمن ما وهذا مايدعى بعامل الضياع ويرمز له بـ ϕ ويمكن حسابه عمليا من المعادلة التالية :

$$\phi = K_L / K_B \times 100 \quad \ldots\ldots\ldots 8$$

تعود أهمية الضياع الخلوي في الأورام الى أنها عامل هام في تراجع هذه الأورام ولقد وجد كلا من(Dyson and Heppleston 1976) على أن نسبة الضياع في الورم الغدي الرئوي بعد عدة أسابيع من نمو الورم هي 83 - 95% أي انه مقابل كل 100 مائة خلية تتوالد هناك حوالي ٩٠ خلية تتلاشى أو تموت . ويحدث الموت الخلوي في أي نسيج على أحد شكلين أو كليهما التنخر الخثري ومثال ذلك مايحدث عند تعرض النسيج الى أشعة أو عوامل محيطية أخرى أونقص التروية الدموية والشكل الثاني ويدعى بـ Apoptosis (كلمة يونانية) حيث أن حوادث الموت الخلوي تكون مرتبة منتظمة ومتتابعة ومثال ذلك مايحدث من تأثير هرمونات قشر الكظر على الغدة التوتية Thymus وحيث يؤدي المعالجة بهذه الهرمونات الى ضمور الغدة أو الى موت عدد كبير من الخلايا فيها (Zaitoun et al 1979) .

الطرق المستعملة في دراسة حركة الخلايا :

هناك طرق متعددة لدراسة حركة الخلايا في النسيج ولدراسة الحلقة الخلوية وأجزائها وهذه الطرق تكمل بعضها بعضا غير أن بعضها يعطي معلومات أوفر وأدق وسوف أتناول شرحها باختصار :

١ - معدل الإنقسام الخلوي (I_m) Mitotic Figure

يمكن تمييز النواة في حالة الأنقسام بكل سهولة عن الخلية غير المنقسمة . ويمكن عمليا حساب معدل الأنقسام بنسبة عدد الخلايا المنقسمة الى مجموع الخلايا في ذلك النسيج ويعبر عنها بالمعادلة التالية

$$I_m \% = \frac{N_c}{N} \times 100 \; ....$$

إذ أن N_c تمثل الخلايا المنقسمة و N عبارة عن العدد الكلي للخلايا المعدودة في النسيج المفحوص . ولإعطاء قيم دقيقة لـ I_m يجب عد مالايقل عن ثلاثة آلاف خلية . تتصف بعض الأنسجة بأن معدل الانقسام فيها منخفض عما هو عليه في أنسجة أخرى مثال ذلك قشر الكظر في الحالة الأولى وبطانة الرحم في الحالة الثانية. كما أننا قد نجد فروقا في معدل الأنقسام في العضو الواحد أو النسيج الواحد. مثال ذلك إن معدل الانقسام في قشر التوتة هو أعلى

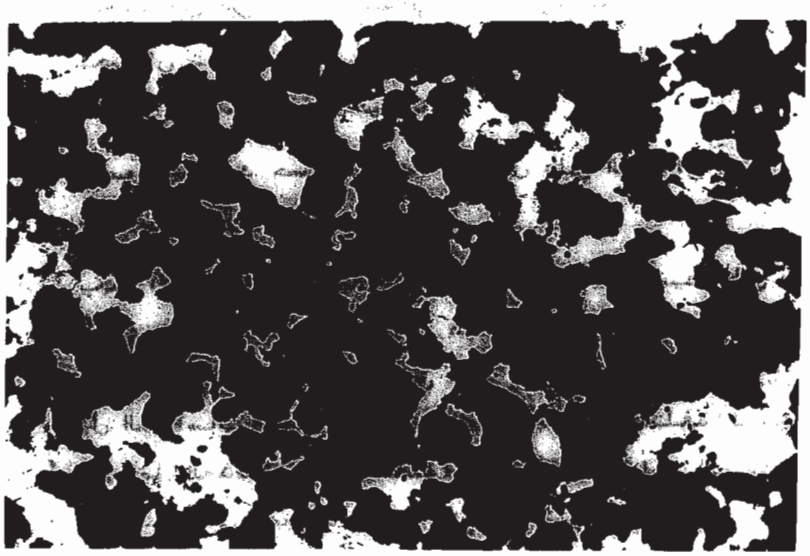
بكثيـر مـن لـب التوتـة Medulla (Zaitoun et al 1979).

٢ - معدل الوسـم الخلـوي : I_S %

يمكن للخلايا في مرحلة تركيب D N A أن توسم باحدى المـواد المشعة مثل ^3H - TDR كما سبق وذكرت إما بتطبيقها لوسـط الزرع أو بواسطة الحقن للأحياء . ويتم انضمام المادة المشعـة خلال ساعة أو أقل(صورة رقم 2) . ويقدر معدل الوسم الخلـوي

بالنسبة المئوية لعدد الخلايا الموسومة على المجموع الكلي للخلايـا المعدودة في ذلك النسيج وتحسب من المعادلة التاليـة

$$I_S \% = \frac{N_s}{N} \times 100 \quad ....10$$



حيث N_s تمثل عدد الخلايا الموسومة . وما ذكر عن وضع النسج في قياس معدل الإنقسام ينطبق تقريبا على معدل الوسم .

٣ - . Stathmokinetic Method

صورة رقم -2 - صورة مجهرية مكبرة للخلايا المفاوية في المنطقـة نظيرة المركز المولد من العقدة اللمفاوية المغبنيـه . والحبيبات السوداء هي عبارة عن المادة المشعـة الموجودة ضمن النواة . وعمليا فإن كل خلية تحتوي على خمس حبيبات أو أكثر تعتبر خلية موسومة .

وهي من الطرق السهلة المستعملة لهذا الغرض فلو تم تطبيق أو حقن أحد العوامل المثبطة على الانقسام وهي (Vincristine, Venblastine, Colchicine on Colcimid) الى نسيج ما فان الخلايا النقسمة تتوقف جميعها في مرحلة الزمن الثاني Mitaphase ولقد حدد Tannock (1967) بعض الخصائص الهامة للعامل المثبط على الأنقسام وهي:

آ ـ في المقدار المعطي يجب أن يقوم هذا العامل بتثبيط جميع الخلايا في مرحلة الإنقسام خلال فترة التجربة.

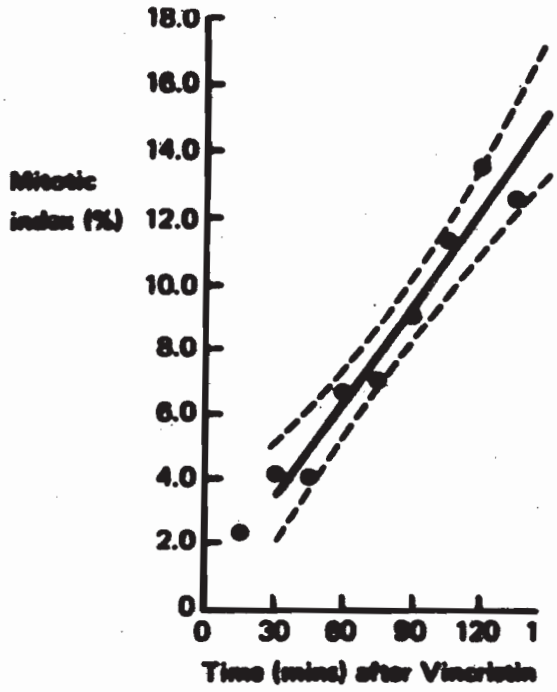
ب ـ يجب أن تحافظ الخلايا التي تم تثبيطها على هذا الوضع حتى أثناء دراستها نسيجيا.

ج ـ يجب ألاتعتمد حساسية هذا العامل على المقدار الدوائي المعطي أو المحقون.

د ـ يجب ألا يملك هذا العامل أية تأثيرات عكسية على خلايا أخرى ضمن النسيج الواحد. هذا ولقد وجد Tannock على أفضل العوامل والذي يوافق هذه المواصفات هو Vincristine. وخلال الدراسات التي قيمت بهاعلى أنسجة مختلفة تبين على أن العامل المذكور يعطي معلومات دقيقة تشابه الى حد ما المعلومات التي تعطيها أدق الطرق وأكثرها تعقيدا وأقصد بها طريقة معدل الانقسام الجزئي الموسوم والتي سيرد ذكرها. وهذه الأنسجة هي العقد اللمفاوية (Zaitoun 1980) والطحال (Zaitoun 1979) والتوتة (Zaitoun et al 1979) والورم اللمفاوي الخبيث (Lauder, Zaitoun and Aherne 1979).

أما الآلية التي يؤثر فيها Vincristine فقد قام بتفسيرها Jellinghaus وجماعته عام ١٩٦٩ حيث وجد هؤلاء على أن العامل المذكور لايؤثر فقط على الخلايا التي في مرحلة الانقسام بل على الخلايا التي في مرحلة الراحة الأولى t_{G1} أيضا وهذه الخلايا المتأثرة خلال هذه المرحلة تتابع مرورها عبر الحلقة الخلوية حيث تدخل مرحلة الانقسام وتتوقف عندها. غير أن هذه المادة لاتؤثر على الخلايا في مرحلة t_S او t_{G2}

وإن عملية التوقف في مرحلة الإنقسام هي عملية هامة في تطبيق هذه الطريقة Stathmokinetic فلوفرضنا أن نسبة معدل الدخول في الانقسام متماثلة لجميع الخلايا في نسيج ما ، عندئذ يصبح معدل التوقف في مرحلة الإنقسام معادلا لمرحلة الدخول في الإنقسام . ويعبر عن مرحلة التوقف في الإنقسام بعلاقة خطية تختلف من عامل لآخر ويعتبر الـ Vincristine من أفضلها كما ذكرت . وتختلف جودة هذه العلاقة الخطية من نسيج لآخر وذلك حسب معدل الانقسام الأولي لذلك النسيج ويمكن عمليا تمثيل هذه العلاقة بأخذ النسب المئوية لنقاط التجربة وتمثيلها على مخطط مقابل الزمن والذي هو في هذه الحالة الدقائق (صورة رقم 3) .وتعتمد طريقة حساب القيم على وضع النسيج .ففي النسيج الذي في مرحلة النمو المتوازن يمكن أخذ النسبة المؤية لمعدل التوقف في مرحلة الانقسام وعندئذ يكون معدل انحدار الخط البياني مساويا لمعدل الدخول في الانقسام



صورة رقم - 3 -

عبارة عن الخط البياني لما يدعي بطريقة Stathmokinetic موضحا نقاط التجربة . كما أن الخطين المنطقين هما عبارة عن الخطين الذين يحصران ٩٥٪ من نقاط التجربة نظريا ومنحدر الخط البياني يساوي الى نسبة التولد K_B . وهو يمثل التوقف في مرحلة الانقسام للخلايا المغاوية في المركز المولد بعد حقنه Vincrstine .

K_B ، ويحسب الزمن الظاهري للحلقة الخلوية $^{t}C_{(a)}$ من المعادلة رقم (4) . اما في النسيج المتزايد النمو كالأورام فيؤخذ اللوغاريتم الطبيعي لهذه القيم عوضا عن النسبة المئوية وبعد الحصول على معدل الانقسام K_B يتم حساب $^{t}C_{(a)}$ من المعادلة رقم (5) .

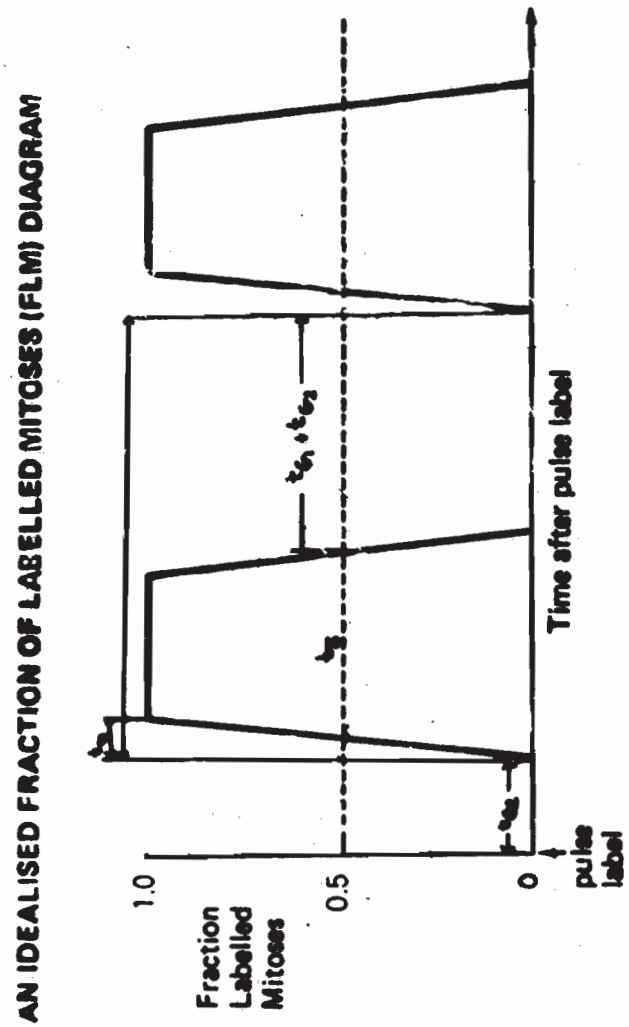
والزمن الكلي لمرحلة الانقسام وهو جزء من أجزاء الحلقة الخلوية فيتم حسابه من المعادلة التالية :

$$L_n\,(1+\,^{I}m\,) = 0.301\,(t + \,^{t}m\,)/^{t}C_{(a)} \quad .... \; 11$$

حيث أن T تمثل زمن التوقف في مرحلة الإنقسام .

معدل الإنقسام الجزئي الموسوم (F L M) .

وهي من أهم الطرق المعروفة من حيث دقتها ووفرة المعلومات التي تقدمها ومن ثم فإنها الطريقة الوحيدة التي تعطي القيم المختلفة لاجزاء الحلقة الخلوية . ولقد بدء باستعمال هذه الطريقة عام 1953 بواسطة كل من Howard and Pelc . وتعتمد هذه الطريقة على حقيقة أن زمن الانقسام هو أقل من زمن تركيب D N A في الخلية . فإذا ماتم تطبيق أو حقن مادة مشعة كا ^{3}H - TdR لنسيج ما فإن جميع الخلايا التي في مرحلة D N A سوف تأخذ تلك المادة وتتابع دورتها الخلوية المعتادة ونظريا أو في الحالة المثالية (صورة رقم 4) عندما يكون FLM في مرحلة الصفر وهذا يعني أن جميع الخلايا التي في مرحلة الانقسام لم تأخذ بعد المادة المشعة ندعو هذه المرحلة بـ G_2 وبعدها تبدأ الخلايا التي في مرحلة الانقسام بأخذ المادة المشعة وتصبح جميعها موسومة فتصل قيمة الـ FLM الى 100 % والزمن الذي انقضى حتى الوصول الى هذه المرحلة يدعى بـ t_m . تبقى الخلايا المنقسمة الموسومة في هذه المرحلة فترة من الزمن تعادل الى $t_s - t_m$ حتى تصبح قيمتها مساوية الى الصفر وعندئذ تبدأ حلقة خلوية جديدة . والزمن الذي ينقضي منذ انتهاء هذه العملية وبدء الإنقسام من جديد يدعى بـ $t_{G1} + t_{G2}$ وهذا قلما يحدث عمليا وذلك لأن الإختلاف في معدل الوسم أو أخذ الخلايا المنقسمة المادة المشعة ربما يكون كبيرا ولذلك يعتمد على حساب أجزاء الحلقة الخلوية من رسم مخطط الـ FLM بطريقة اليد العادية . فالمسافة التي تنقضي حتى بلوغ 50 % على الطرف الصاعد من الموجة الأولى تعادل

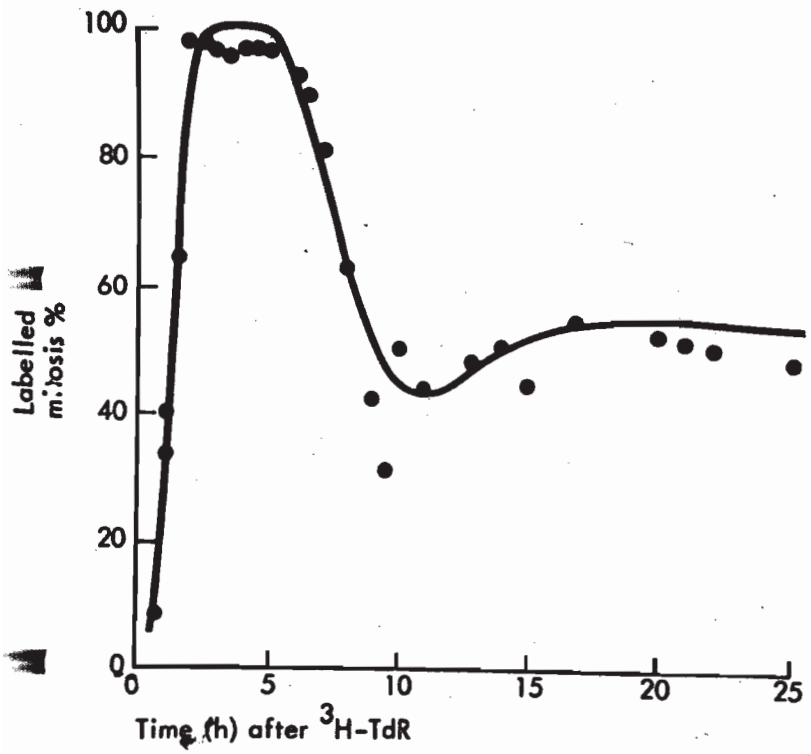


صورة رقم -4- وهو خط تمثيلي يعبر عن المنحنى الذي تأخذه الخلايا المنقسمة في الحالة المثالية أو النظرية ويتألف بصورة رئيسية من قمتين .

الى ($t_{G_2} + \frac{1}{2} t_m$) أو t_2 والمسافة المنقضية بين 50 % على الطرف الصاعد والهابط من منحني الموجة الأولى يعادل t_s ، والمسافة التي تنقضي بين 50 % على المنحني النازل من الموجة الأولى والصاعد من الموجة الثانية يساوي الى ($t_{G1} + t_m + t_{G2}$) او $t_1 + t_2$ ، والمسافة الفاصلة بين 50 % من الجزء الصاعد للموجة الأولى و 50 % للجزء الصاعد للموجة الثانية يعادل الى الزمن الكلي للحلقة الخلوية t_C

وهكذا يمكن إستخلاص t_{G1} بسهولة بعد انتم معرفة كلا منه t_C و t_{G2} , t_s . في بعض الأحيان عندما لانحصل على موجة ثانية من منحنى FLM صورة رقم (5) بل نحصل على خط شبه مستقيم ، وهذا راجع الى الإختلاف الكبير في أخذ المادة المشعة بين خلايا النسيج الواحد ، عندئذ نحصل على عتبة تمثل قيمتها نسبة الخلايا الموسومة على مجمل الخلايا ضمن فترة زمنية معينة أي أن قيمتها تعتمد على نسبة t_S , t_C وتساوي الى

$$I_P = \frac{t_S}{t_C}$$

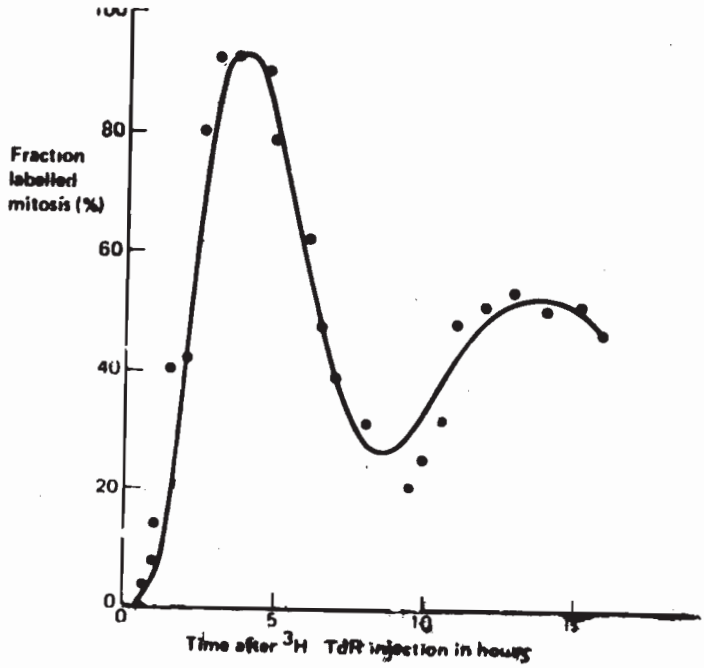


صورة رقم- 5 -

صورة لـ FLM تبين وجود قمة واحدة فقط وهي مأخوذة من الخلايا اللمفاوية في المركز المولد للطحال . وعوضا من وجود قمة ثانية هنا فهناك شبه خط مستقيم وتمثل قيمته الى نسبة $\frac{t_S}{t_C}$.

وطالما أنه تم حساب t_S من الموجة الأولى فيمكن بسهولة حساب قيمة t_C استنادا للعلاقة السابقة .

ولقد وجد عدد من العلماء وخاصة Gilbert عام 1972 بديلا عن هذه الطريقة وذلك باستعمال برنامج خاص يتم إستعماله في Computer ويمكن لهذا البرنامج ان يعطي مجمل أجزاء الحلقة الخلوية بالاضافة الى معدل الخطأ النسبي لكل قيمة على انفراد وبالتالي يعطي فكرة عن جوده وأهمية القيم الحاصلة الصورة رقم (6) .



صورة رقم -6- عبارة عن المخطط البياني لـ FLM والخط الموصول هو عبارة عن الخط الذي تم الحصول عليه بواسطة Computer تحيط به نقاط التجربة التي تم الحصول عليها بصورة عملية من قشر التوتة Thymus بعد حقن المادة المشعة ^3H - TdR

وتجدر الاشارة الى أنه من الصعب الحصول على قيم دقيقة لـ FLM لنسيج ما عندما يكون معدل الانقسام البدئي لهذا النسيج صغيرا مثال على ذلك لب التوتة واللب الأحمر في الطحال والمنطقة نظيرة المركز المولد في العقدة اللمفاوية ...الخ .

وفي عام ١٩٦٦ أوجد كلا من Barranco وجماعته طريقة لحساب قيم الحلقة الخلوية في الاعتماد على العداد الشعاعي ،وهي طريقة سهلة وسريعة ولم يعرف بعد مدى دقتها بالمقارنة مع الطرق الأخرى المعروفة حاليا .

طريقة الوسم المستمر Continuous Labelling .

وتعتمد هذه الطريقة على تطبيق المادة المشعة بصورة مستمرة ولفترة زمنية تكفي لوسم جميع الخلايا في المجمع الخلوي سواءا في وسط الزرع أو في الأحياء . هذا ويجب أن يتم الحقن على فترات بحيث لاتزيد الفترة الفاصلة مابين حقنتين عن زمن t_s .

ويعادل الزمن الذي تأخذه جميع الخلايا أو الجزء الأكبر منها للوصول الى العتبة الشابته (صورة رقم 7) الى ($t_1 * t_2$) أما قيمة ($t_m + t_{G2}$) فيمكن حسابها من الزمن الذي تأخذه الخلايا الموسومة والمنقسمة للوصول الى حد الإشعاع ،أما قيمة t_{G1} فيمكن حسابها من المعادلة التالية :

$$t_{G1} = (t_1 + t_2) - (t_m + t_{G2}) \quad \ldots\ldots\ldots 12$$

أما t_s فيتم حسابها باحدى طريقتين وذلك حسب وضع النسيج.

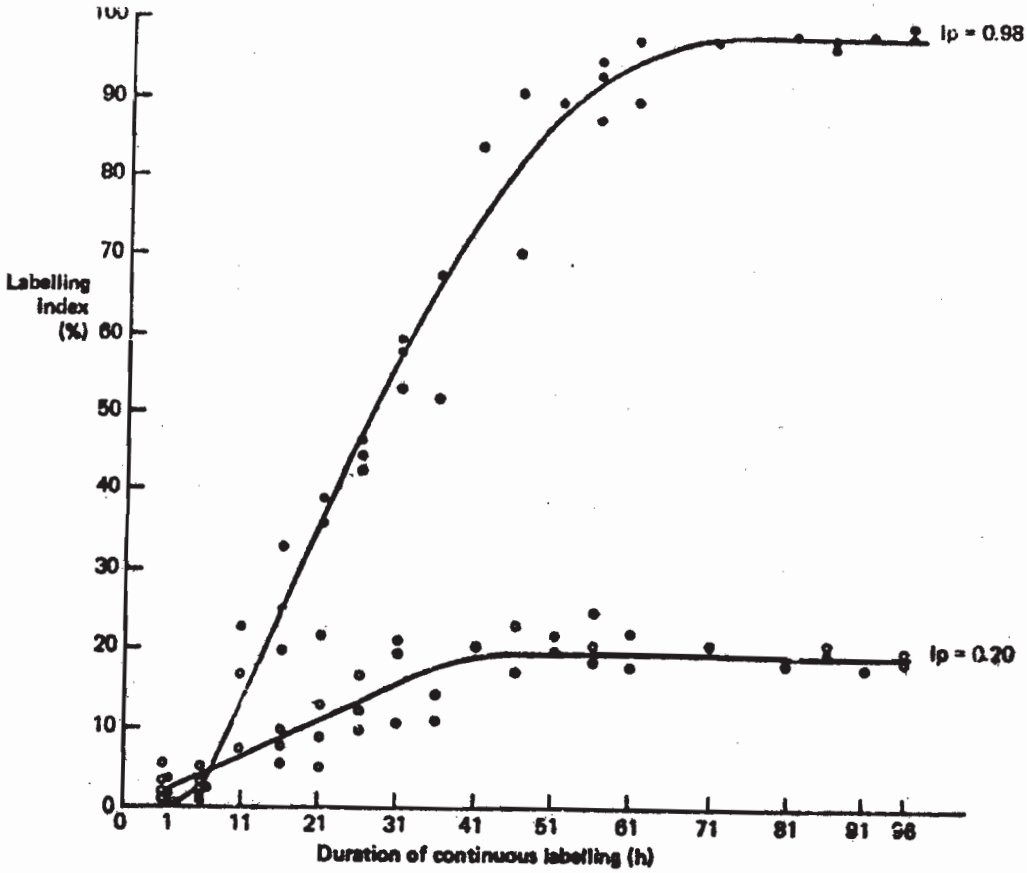
ففي النسيج النامي بصورة متزايدة فإن :

$$t_S = \frac{(t_1 + t_2) \cdot I_S}{fn (1 + I_P) - I_S} \quad \ldots\ldots\ldots 13$$

I_S فقد ورد ذكر الحصول عليه وأما I_P فهي تعادل قيمة العتبة ويمكن قراءتها مباشرة من المنحنى .

وفي النسيج المتوازن النمو تحسب t_S من المعادلة التالية :

$$t_S = \frac{(t_1 + t_2) \cdot I_S}{I_P - I_S} \quad \ldots\ldots\ldots 14$$



شرح رقم -7-

تمثل منحنيين الأعلى منهما عبارة عن معدل الوسم للخلايا اللمفاوية في المركز المولد للعقدة المقاوية المساريقية والأسفل منها هو عبارة عن معدل الوسم للخلايا اللمفاوية في المركز نظير المولد لنفس العقدة اللمفاوية وذلك بعد الحقن المستمر للمادة المشعة كل خمس ساعات ولمدة ٩٦ ساعة متواصلة . والقيمة التي وصلت اليها عتبة معدل الوسم تدعى بمعدل النمو

I_P

طريقـــة العداد الشعـــاعـــي :

وهي طريقة تعطي نتيجة سريعة ولكنها أقل دقة من الطرق سابق ذكرها وتعتمد على أنه يمكن الحصول على جزء من النسيج بعد وزنـــه ثم حلـــه بعامـــل خاص مثـــل :

X - 10 Hydroscide of Hyamine عندئذ يصبح النسيج على شكـــل سائل ثم يمزج مع مواد خاصة تقوم بتحرير المادة المشعة وهـــي (PPO and POPOP) والتي يمكن حلها في مادة Toluene بنسبة معروفة عندئذ توضع الخلاصة في زجاجة خاصة وتلقم للجهاز الـــذي يقوم بتقدير المادة المشعة والتي يمكن بعدئذ نسبتها الى وزن النسيـــج المستعمل .

ويعترض هذه الطريقة عدة مصاعب من أهمها أن نسبة أخذ المـــادة المشعة يختلف من خلية لأخرى وبالتالي من منطقة لأخرى في نسيج ماولذلك أصبح تطبيقها محـــدودا .

References

Barranco, S.C. Haenelt, B.R. and Bolton W.E. (1977) . Cell Tissue Kinetic , 10, 335.

Dyson, P. and Heppleston, A.G.(1976) British J. Cancer 33, 105.

Gilbert C.W. (1972), Cell Tissue Kinetic 5, 53.

Gilbert C.W. and Lajtha , L.G. (1965). "Cellular Radiation Biology", Williams and Wilkins , Baltimore , Maryland.

Howard , A. and Pelc , S.R. (1953). Heredity (suppl.) 6, 261

Jellinghaus , W. Schultze B. and Maurer, W. (1977). Cell tissue Kinetic , 10 , 147.

Lajtha , L.G. (1963).J. Cellular and Comparative Physiology (suppl.) 62 , 143.

Lauder , I. Zaitoun , A .M. and Aherne , W.A. (1979)J. Path. 129 , 1.

Tannock , I.F. (1967) , Experimental Cell Research , 47, 345.

Zaitoun , A.M. (1979) , Virchows Arch. B Cell Path. 31 , 7.

Zaitoun , A.M. (1980) J. Anat. 130(1) , 131.

Zaitoun , A.M. Lauder, I. and Aherne, W.A. (1979), Cell Tissue Kinetic 12 , 191.

MAIN SYMBOLS

t_C :	Cell cycle time.
t_{G1}:	Duration of t_{G1} phase.
t_S :	Duration of DNA symthesis.
t_{GS}:	Duration of G2 phase.
t_M :	Duration of mitoses.
t_C (a):	The apparent cell cycle time.
t_D :	The overall population doubling time.
I_m :	Mitotic index .
I_s :	Labelling index.
I_p :	Proliferation index .
k_B :	Cell birth rate .
K_L :	Cell death rate .
K_G :	Overall growth rate.
G_O :	Resting state .
^{3}H-TdR :	Tritiated thymidine .
FLM :	Fraction of labelled Mitoses .
Ln 2 :	Natural Log. of 2 .
	Rate of cell loss .

English Summary

Cell population kinetics concerns the time sequemce of changes in the characteristics of a cell population. The cell cycle t_C can be divided into four phases ; (1) a Phase of function $^{t}G1$;(2)a Phase of DNA synthesis ^{t}S, (3) then a Phase of Preparation for mitoses $^{t}G2$ and (4) finally mitosis . ^{t}M cell can be labelled by radioactive thymidine (^{3}H - TdR) and the number of cells in the Proliferative cyle constitutes the growth - fraction (I_P) . The remainder of the population is in resting state (GO) . There are three types of cell population a non-growing or steady - state population b) exponentially growing - population and c) decaying population. There are a few methods to analyse the cell cycle time .

The labelling index (Is) can be established by counting at least 2000 nuclei one hour after the injection of ^{3}H-TdR. The mitotic index I_m is the percentage of metaphase arrest . In the stathmokinetic method a specific drug (Vincristine or Colcimid) is used to stop mitosis in metaphase and several parameters can e calculated accordingly, the cell birth rate K_B , the apparent cell cycle time $^{t}C(a)$ and the mitotic time (t_m). The most useful cytokinetic method is the fraction of labelled mitoses (FLM), two or possibly more waves may be recorded.. The width of a wave of half-height estimates ^{t}C. Computer Programmes are available for the optimal Plotting and that statistical analysis of such data . ^{3}H - Tdr may be supplied continuously or by repeated injection to the cell population tissue . Continuous labelling method may be used to estimate $^{t}G2 + ^{t}m + ^{t}G1$ and the growth fraction Ip . Some other methods can be used, scintillation counting procedure is available by measuring the radioactive precursor incorporated into a unit of mass tissue.