Arabic Summary

الملخص العربي

دلالات الأورام توصف بأنها عبارة عن مواد كيمائية حيوية تفرز بواسطة الأورام ويمكن الكشف عنها فى مصل الدم البشرى أو أحد إفرازات الجسم المختلفة.

وتعتبر دلالات الأورام من العوامل الهامة جدا فى التشخيص المبكر للأورام وكذلك متابعة مراحل النمو ومراحل العلاج الكيماوي أو الإشعاعي ومدى تأثيره وكذلك للكشف عن عودة المرض مرة ثانية.

ونتيجة لانتشار الورم الكبدي في مصر بسبب انتشار الإصابة بالبلهارسيا وفيروسات التهاب الكبد الوبائي بي و سى عنى هذا العمل بتصميم منظومة محلية للتحليل المناعي الإشعاعي بدلالة الورم الكبدي ألألفافيتوبروتين ومقارنتها بمنظومات تجارية ذات سمعة عالمية.

ويعتبر تحضير الكواشف الأولية اللازمة لتقنية التحليل المناعى الإشعاعي لالفافينوبروتين من الضروريات اللازمة لتكوين منظومة كاملة للتحليل المناعى الإشعاعي.

وهذه الكواشف الأولية تتضمن تحضير القافي الفافيتوبروتين المرقم باليود المشع-١٢٥ وكذلك المصل المضاد لألفافيتوبروتين بالإضافة إلى تحضير المحاليل العيارية ورقابة الجودة الخاصة بالألفافيتوبروتين.

ولقد ركزت هذه الدراسة بصفة خاصة على تحضير القافىألفافيتوبروتين المرقم باليود المشع-١٢٥ بعدة طرق مختلفة وفيها استخدمت عوامل مؤكسدة مختلفة مثل كلورامين تى والايودوجين ون- بروموسكسينميد بالإضافة إلى أنزيم لاكتوبيروكسيداز وكل طريقة من هذه الطرق ذات مواصفات خاصة.

أيضا تم دراسة كل طريقة على حدة مع محاولة توفيق الشروط الخاصة بعملية الترقيم من حيث الزمن الذى تستغرقه عملية الترقيم وحجم المواد المشتركة فى الترقيم وتركيز العامل

المؤكسد ونسبته إلى المادة الجاري ترقيمها وكذلك درجة الحموضة والقاعدية (pH) للوسط الذي يتم فيه عملية الترقيم. كذلك تمت دراسة التفاعل المناعى لالفافيتوبروتين المرقم باليود المشـــع- ١٢٥ بعد إتمام عملية الترقيم وشروط التخزين لهذا القافي من حيث درجة الحـــرارة أو النشـــاط الإشعاعى وكذلك مدة الثبات للقافى.

ومن خلال دراسة الطرق المختلفة السابق ذكرها يمكـــن أن ننتـــهى إلـــى أن اســـتخدام كلورامين تى كعامل مؤكسد يحتل المرتبة الأولى من حيث الأفضلية حيث أنـــه يعطـــى أعلـــى مردود للمنتج المرقم (القافي). ويحتل المرتبة الثانية بعده الأيودوجين بما له من ممـــيزات منـــها أنه يستبعد مرة ثانية بعد إتمام عملية الترقيم حيث أنه يظل عالق بجدار أنبوبة التفاعل.

ويلى الأيودوجين، ن بروموسكسينيميد حيث أنه عامل مؤكسد متوسط القوة وليس قوى مثل كلورامين تى ويأتي أنزيم لاكتوبيروكسيداز في المرتبة الأخيرة حيث أنه يحتاج أولا إلى وجـــود هيدروجين بيروكسيد ومردود المنتج من عملية الترقيم (القافي) تكون أقل من مثيلاتها.

الكاشف الأولى الثاني فى منظومة التحليل المناعى الإشـــعاعي هـــو المعيـــار الخـــاص بالألفافينوبروتين وفى هذه الدراسة تم تحضير المعيار من عينات دم أخذت من دم الحبل الســـرى للسيدات أثناء عملية الولادة وقد تم الحصول عليها مـــن بعـــض مستشـــفيات النســـاء والـــولادة بالقاهرة. حيث وجد أن هذا الدم يحتوى على تركيز عالى جدا من الألفافيتوبروتين فبعد الحصول على العينة تم تقدير نسبة ألالفافيتوبروتين مبدئيا في المصل باستخدام كواشف التحليل المنـــاعي الإشعاعي لشركة نيتريا بالمملكة المتحدة وهى شركة ذات سمعة عالمية بعـــد عـــدة تخفيفـــات **فكانت النتيجة أن هذه العينة تحتوى تقريبا على تركيز ٤٠,٠٠٠ وحدة دولية لكل مللي. ثم بعـــد** ذلك أجريت عملية التنقية لهذه العينة باستخدام طريقة بالترسيب بواسطة كبريتات الأمونيوم وبعـــد

ذلك تم تقدير تركيز الألفافيتوبروتين مرة ثانية باستخدام مطياف للأشعة فوق البنفسجية حيث أعطى تركيز حوالى ٣٩٨٠٠ وحدة دولية لكل مللي وتعتبر هذه العينة بعد التنقية هى المصدر الرئيسى لتحضير المعيار بقيم مختلفة تتراوح من ٥ إلى ٥٠٠ وحدة دولية لكل مللى مع مراعاة أن التخفيف تم فى المحلول المنظم الخاص بمنظومة التحليل المناعى الإشعاعى. ولقد تم استخدام معيار دولي لمعرفة مدى صحة قيم المعيار المحضر بهذه الطريقة ولقد أوضحت النتائج أن هذه الطريقة جيدة لتحضير المعيار واستخدامه فى منظومة التحليل المناعى الإشعاعي.

الكاشف الأولى الثالث فى منظومة التحليل المناعى الإشعاعى هو إنتاج المصل المضاد المحلى للألفافيتوبروتين ولقد تم ذلك بواسطة حقن مجموعة من الأرانب من النوع نيوزلاند تتراوح أعمارها من شهرين إلى ثلاثة شهور وكذلك وزنها من ٢ كجم إلى ٣ كجم وأعطيت الأرانب جرعات تنشيطية على فترات زمنية متماثلة وقبل كل جرعة يتم عمل نزف للأرانب لتجميع الدم الذى يحتوى على المصل المضاد ويتم فصل المصل باستخدام جهاز الطرد المركزي ثم التنقية باستخدام كبريتات الأمونيوم والتقدير المبدئي لتكوين الأجسام المضادة عديدة النسيلة من عدمه. ويتم إجراء اختبارات خاصة بعوامل الجودة للمصل المضاد الناتج مثل درجة الحساسية.....الخ.

وبعد الانتهاء من تحضير أهم الكواشف الأولية لمنظومة التحليل المناعى الإشعاعى تم توليف مكونات هذه المنظومة معا لإعطاء منظومة متكاملة من خلالها يمكن تحديد العينات الغير معلومة التركيز بالنسبة للألفافيتوبروتين. وهذه المنظومة تشمل القافي للألفافينوبروتين والمعيار والمصل المضاد والثلاثة تم تحضيرهم في هذا العمل وبأفضل طرق بعد التوصل إلى معرفتها ويضاف إلى الثلاث السابقين وسائل الفصل وهى عبارة عن مصل مناعي ارنبى ومصل الحمار

لضاد الأرانب بالإضافة إلى بولى اثيلين جليكول ٨% ووسائل الفصل المستخدمة تـم الحصـول عليها من خلال الوكالة الدولية للطاقة الذرية.

وقد تم إجراء التحليـل بإضافـة ١٠٠ ميكروليـتر مـن المصـل المضـاد المحلـى لألفافيتوبروتين (بتخفيف قدره ١: ٥٠٠٠٠) يتبعها ١٠٠ ميكروليتر مـن قـافي الفـافيتوبروتين المرقم باليود المشع-١٢٥ المنتج محليا الى ١٠٠ ميكروليتر من المعيـار أو العينـة المطلـوب معرفة قيمة ألألفافيتوبروتين بها وبعد حضانة طوال ٢٤ ساعة عند أربع درجات مئوية تضـاف وسائل الفصل وهى ١٠٠ ميكروليتر مصل مناعي أرنبى(١ : ٢٠٠) يتبعـها ١٠٠ ميكروليـتر مصل الحمار لضاد الأرنب (١ : ٢٠) ثم ٥٠٠ ميكروليتر بولى ايثلين جليكول (٨ %) علـى الترتيب الى كل أنابيب التحليل. بعد ذلك تركت أنابيب التحليل فى درجة حرارة الغرفة لمـدة ٣٠ دقيقة ثم رسبت باستخدام جهاز الطرد المركزى عند سرعة ٤٠٠٠ لفـة فـي الدقيقـة ودرجـة الحرارة أربع درجات مئوية لمدة ٢٠ دقيقة ثم سكبت وتم عد النشاط الإشعاعي للراسب المتبقـي بكل أنبوبة باستخدام جهاز العد الجامى ورسم المنحنى بين تركيز المعيار على المحور السـينى والنشاط الإشعاعى للراسب الممثل للجزء المرتبط من القافي بالمصل المضـاد للألفـافيتوبروتين على المحور الصادى ومن الرسم يمكن تحديد التركيزات الغير معروفة.

والطريقة السابقة تسمى طريقة الطور السائل بمعنى أن كل الكواشف سائلة لذلك تحتـاج الى وسائل لفصل الألفافيتوبرتين المرقم (القافي) والغير مرقم (المعيار) الغير مرتبطين بـالمصل المضاد بعيدا عن ألألفافيتوبروتين المرقم والغير مرقم اللذين ارتبطا بـالمصل المضـاد. وهـذه الطريقة قد تكون من الطرق الغير سهلة التداول بالمعامل لاحتياجها الى تقنية وجهد لذا تم عمـل

تطوير لهذه المنظومة من الطور السائل إلى الطور الصلب وهو ما يقصد بـــه طـــلاء الأنـــابيب بالمصل المضاد للألفافيتوبروتين على الجدار الداخلى و هى المساحة التى تســـتوعب كواشـــف التحليل فقط اسفل الأنبوبة وبذلك يضاف الى هذه الأنبوبة المعيار والقافي للألفافيتوبروتين المرقـم باليود المشع-١٢٥ ويتم مدة احتضان ٢٤ ساعة فى درجة حرارة ٤ °م ثم .سكبت الأنـــابيب وغسلت باستخدام ٢ مللي من محلول منظم الفوسفات وكلوريد الصوديوم وتعد على جهاز جامـــا الآلي مباشرة أي أنها لاتحتاج إلى وسائل فصل للجزء المرتبط من الجـــزء غـــير المرتبـــط إلا بالسكب والغسيل فقط. وهذا يعتبر تيسير كبير بالنسبة لمعامل التحاليل.

وعملية الطلاء للأنابيب بالمصل المضاد تمت بطريقتين مختلفتين الطريقة الأولـــى هـــى طريقة الفوسفات وفيها يتم تخفيف المصل المضاد للألفافيتوبروتين باستخدام محلول الفوســـفات المنظم بتركيز محدد ودرجة حموضة وقاعدية ٧,٢ والطريقة الثانية هى طريقة محلول البـــورات المنظم وفيها يتم تخفيف المصل المضاد للألفافيتوبروتين باستخدام محلول البورات بتركيز محـــدد ودرجة حموضة وقاعدية حوالي ٨,٥ وتمت مقارنة الطريقتين من حيث مدة التخزيـــن ودرجـــة التفاعل مع المعيار أو القافي وقد وجد أن طريقة الفوسفات أفضل.

في هذا العمل تمت أيضا دراسة كاملة لشروط التحليل من حيث حجم العينة المســـتخدمة أو زمن الاحتضان والتركيز الإشعاعى للقافى وطرق الغسيل ووجد أن أفضل زمن احتضان فـــى كلا الطريقتين (الأطوار السائلة أو الصلبة) هو ثلاث ساعات عند درجة٣٧.

وبعد ذلك تم عمل دراسات بينت أن التحليل بواسطة هذه المنظومة تتميز بالحساسية العالية حيث أن اقل كمية يمكن تعينها كانت ١,٥وحدة دولية / مللي وكذلك قدرت معوليه كلا الطريقتين ووجد أنه من خلال اختبار ثبايتة تكرارريتها على عينات مجمعة من المصل البشرى تمثل مستويات مختلفة من ألألفافيتوبروتين وقد أظهرت نتائج التباين داخل التحليل الواحد والتباين بين التحاليل المختلفة ثباتية كبيرة.

كما أظهرت الدراسة أن هذه التقنية لتقديرالألفافيتوبروتين تتفق مع النظم المتداولة ذات السمعة الدولية.

ونظرا لبساطة هذه التقنية وخصوصيتها وصحتها ودقتها وسعرها الأقل تكلفة، فإن ذلك يرشحها لتكون مناسبة تماما للعمل الروتينى المعملى.