



中华人民共和国国家标准

GB/T 28236—2011

染色体畸变估算生物剂量方法

Method of chromosome aberration analysis for
biological dose assessment

2011-12-30 发布

2012-05-01 实施



中华人民共和国卫生部
中国国家标准化管理委员会

发布

前 言

本标准代替 GB/T 12715—1991《染色体畸变分析估算生物剂量的方法》。

本标准与 GB/T 12715—1991 相比主要变化如下：

- 补充了标准的范围“也适用于一次比较均匀的全身外照射复合烧伤的病例的生物剂量估算”；
- 将可较准确估算剂量的取血时间改成 60 d；
- 强调采用培养开始加秋水仙素法和用 dic(或“dic+r”)估算剂量；
- 增加了不均匀和局部照射的统计检验和生物剂量估算方法；
- 原标准基本是引用 IAEA 第 260 号技术报告丛书(1986)，本标准尽量采用我国的资料，如染色体畸变图、生物剂量估算的举例、某些统计分析方法、取血有效时间和估算剂量的注意事项等。

同时，也参考和引用了 IAEA 第 405 号技术报告丛书(2001)的有关内容。

本标准附录 A 是规范性附录，附录 B 是资料性附录。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准起草单位：中国疾病预防控制中心辐射防护与核安全医学所。

本标准主要起草人：白玉书。

本标准由中华人民共和国卫生部负责解释。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：GB/T 12715—1991。

染色体畸变估算生物剂量方法

1 范围

本标准给出了电离辐射诱发人外周血淋巴细胞染色体畸变的剂量-效应曲线的建立和用其估算生物剂量的方法。

本标准适用于一次比较均匀的全身外照射事故受照人员的剂量估算。

本标准也适用于一次比较均匀的全身外照射复合烧伤的病例剂量估算。

本标准不适用于分次照射、长期小剂量累积照射和内照射的生物剂量估算。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

生物剂量计 biological dosimeter

用以估算受照剂量的生物体系,该生物体系受到照射后的反应与受照剂量之间存在着某种定量关系,从而可用来推定受照剂量。

2.2

剂量-效应曲线 dose-response curve

某种物质或生物体系受到照射后的反应与受照剂量之间存在着某种定量关系,可将二者拟合成适当的数学模式,并制备出相应的刻度曲线,称之为剂量-效应曲线,可用其估算受照剂量。

2.3

染色体 chromosome

基因的载体。存在于细胞核内,当细胞分裂时,在碱性染料作用下着色较深。由脱氧核糖核酸(DNA)、蛋白质和少量核糖核酸(RNA)组成。

2.4

染色体畸变 chromosome aberration

正常染色体在物理、化学或生物等因素作用下发生的结构和数目上的异常。

2.5

染色体型畸变 chromosome-type aberration

照射时处于 G₀ 或 G₁ 期的细胞,由于在 DNA 合成之前,染色体以一条单体行使其功能,这时诱发的畸变,经 S 期复制后,形成涉及两条单体的染色体型畸变,主要包括无着丝粒断片、微小体、无着丝粒环、着丝粒环、双或多着丝粒体、倒位、易位、插入和缺失等。

2.6

染色单体型畸变 chromatid-type aberration

在 S 期受照的大多数细胞和 G₂ 期受照的细胞,已进行 DNA 合成,即已形成两个独立的单体。所以只诱发染色单体型畸变,主要包括染色单体断裂、染色单体互换、染色单体间隙和等染色单体间隙等。

2.7

非稳定性染色体畸变 unstable chromosome aberration

非稳定性染色体畸变包括无着丝粒断片、微小体、无着丝粒环、双着丝粒体和着丝粒环。

无着丝粒断片、微小体、无着丝粒环,由于无着丝粒,在纺锤体上不能定向,很快从分裂细胞中丢失。双着丝粒体和着丝粒环往往在分裂后期形成染色体桥或导致四倍体而常引起细胞死亡,将上述五种畸

变称为非稳定性畸变。

2.8

稳定性染色体畸变 stable chromosome aberration

倒位、易位、插入和缺失等畸变,在细胞分裂时不存在任何力学上的障碍,细胞复制不受影响,可较长时间在体内存在,称之为稳定性畸变。

3 试剂配制、细胞培养和标本制备

3.1 试剂配制

3.1.1 培养液配制

3.1.1.1 取 RPMI-1640 10.4 g(原包装),溶于 800 mL 去离子水中。

3.1.1.2 于上述培养液中加入抗生素,其终浓度为:青霉素 100 IU/mL,链霉素 100 IU/mL。

3.1.1.3 用 5% 的 NaHCO_3 溶液将培养液的 pH 调到 7.2,充分混匀后 0.22 μm 过滤除菌。

3.1.1.4 加入灭活的新生牛血清 200 mL,使其浓度占培养液总量的 20%。

3.1.1.5 将上述培养液充分混匀后,分装到灭菌的培养瓶中,每瓶 4 mL,置入 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱保存备用。

3.1.2 0.2% 肝素溶液

称取 200 mg 肝素钠粉溶于 100 mL 生理盐水中,55.12 kPa 灭菌 15 min。

3.1.3 秋水仙素溶液(分子式: $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{O}_5\text{N}$, 分子量: 399)

称取秋水仙素 100 mg,溶于 100 mL 生理盐水(1 mg/mL)即为原液,分装成小瓶,低温保存。应用时配制成 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3.1.4 PHA 干粉

按使用说明配制。

3.1.5 0.075 mol/L KCl 低渗液

称取 5.60 g KCl 溶于 1 000 mL 去离子水中,放入 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中备用。

3.1.6 Giemsa 染液

Giemsa 染料	0.5 g
中性甘油(CP)	33.0 mL
甲醇(AR)	33.0 mL

先将 Giemsa 染料放入乳钵中,加甘油后研磨片刻,移入小烧杯内,放置 $55\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴箱中 2 h,用玻璃棒搅拌,溶解后加入 33 mL 甲醇即为原液,用前按 Giemsa : PBS = 1 : 20 稀释。

3.2 细胞培养和标本制备

3.2.1 培养开始加秋水仙素法

3.2.1.1 将冰冻保存的培养液取出,室温下融化。

3.2.1.2 用肝素溶液湿润灭菌注射器后,抽取静脉血,于每瓶组合培养液内加入 0.4 mL 抗凝血,平行接种 2 瓶,对过量受照者的样品接种不少于 3 瓶。根据有关信息,估计受照剂量较大($>5\text{ Gy}$)者,接种不少于 6 瓶。

3.2.1.3 加入 PHA,加入量按使用说明确定。

3.2.1.4 加入秋水仙素,最终浓度为 0.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3.2.1.5 混匀,标记姓名、日期,置入 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱培养。

3.2.1.2~3.2.1.5 的操作必须在无菌条件下进行。

3.2.1.6 培养 48 h~50 h,取出培养瓶,去上清液。

3.2.1.7 加入 0.075 mol/L KCl 低渗液 8 mL,混匀,低渗 10 min。

3.2.1.8 加入固定液(甲醇 : 冰乙酸 = 3 : 1)1 mL 预固定。

3.2.1.9 1 000 r/min 离心 10 min, 去上清, 再加固定液 8 mL, 混匀。

3.2.1.10 固定 20 min, 再离心 10 min, 去上清, 重复固定一次。

3.2.1.11 冰干法制片, 每片滴 3 滴沉淀物, 过火一燃即可。

3.2.1.12 干燥后 Giemsa 染色。

3.2.2 荧光加姬姆萨(FPG)技术

3.2.2.1 将冰冻保存的培养液取出, 室温下融化。

3.2.2.2 用肝素溶液湿润灭菌注射器后, 抽取静脉血, 于每瓶组合培养液内加入 0.4 mL 抗凝血, 平行接种 2 瓶, 对过量受照者接种不少于 3 瓶。对估计受照剂量较大(>5 Gy)者, 接种不少于 6 瓶。

3.2.2.3 加入 PHA, 加入量按使用说明确定。

3.2.2.4 加 Brdu(5-溴脱氧尿嘧啶核苷), 最终浓度为 15 $\mu\text{g/mL}$ 。

3.2.2.2~3.2.2.4 的操作必须在无菌条件下进行。

3.2.2.5 混匀, 标记姓名、日期, 置入 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱避光培养 46 h 加秋水仙素, 继续培养至 48 h~50 h 收获。

3.2.2.6 制片后用荧光染料处理。将标本浸入浓度为 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 的 Hoechst33258 溶液(避光), 40 min 后用蒸馏水冲洗。

3.2.2.7 晾干后往标本上滴加 2 $\times$ SSC 溶液, 标本所在玻璃板温度为 50 $^{\circ}\text{C}$ ~60 $^{\circ}\text{C}$, 用黑光灯或紫外线灯照射 30 min。

3.2.2.8 晾干后 Giemsa 染色。

4 剂量-效应曲线的建立方法

4.1 照射条件和培养方法

4.1.1 必须提供可靠的、明确的样品照射的物理剂量。受照标本应与照射源保持一定的距离以达到均匀照射的目的。有条件的实验室应建立包括不同辐射类型(如 X 射线、 γ 射线、中子)、不同剂量率(低 LET 辐射)的剂量-效应曲线。在 0.1 Gy~5.0 Gy 剂量范围内, 剂量率最好大于 0.3 Gy/min, 小于 1.0 Gy/min, 至少要选择 8 个剂量点。

4.1.2 选择 2~3 名成年健康人血样, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ $\pm$ 0.5 $^{\circ}\text{C}$ 条件下进行离体照射, 照后在上述温度下放置 2 h, 然后采用培养开始加秋水仙素法或 FPG 技术培养, 得到可供分析的第一次有丝分裂(M_1)细胞, 如果采用前种方法, 其秋水仙素浓度对分裂中期细胞的有效阻断率必须达到 99% 以上。

4.2 计数分析技术

4.2.1 在分析 M_1 细胞时, 只记录染色体型畸变中的非稳定型畸变:

- a) 无着丝粒畸变(acentrals, ace)是一对无着丝粒的姐妹染色单体, 包括无着丝粒断片、微小体和无着丝粒环。无着丝粒断片(acentric fragments, f), 又称末端缺失, 是一对相互平行的染色单体, 有时易与等染色单体间隙相混淆, 其判断标准是: 如果两断端距离小于染色单体横径, 视为等染色单体间隙, 否则为无着丝粒断片; 微小体(minutes, m), 又称中间缺失, 为一对比无着丝粒断片小得多的染色单体, 呈现一对染色质球状; 无着丝粒环(acentric rings, ar)也称中间缺失, 是一对环形的无着丝粒染色单体。
- b) 着丝粒环(centric rings, r)是一对具有着丝粒的环形染色单体, 常伴有一对无着丝粒断片。
- c) 双着丝粒体(dicentric, dic)是指有两个着丝粒的染色体, 常伴有一对无着丝粒断片。多着丝粒体是指具有三个或三个以上着丝粒的染色体, 如三着丝粒体(tricentric, tri)伴有两对无着丝粒断片, 四着丝粒体(quadricentric, quadri)伴有三对无着丝粒断片。三着丝粒体计算成两个双着丝粒体, 四着丝粒体计算成三个双着丝粒体, 即三着丝粒体以上的, 应计算成 $n-1$ 个双着丝粒体。

在上述畸变中, 双着丝粒体是估算生物剂量的最佳指标, 也可将其与着丝粒环合并(双+环, dic+r)估算剂量, 无着丝粒畸变是估算剂量的辅助指标(dic 和 r 图见附录 A)。

4.2.2 进行显微镜下分析的工作人员,必须具有辐射细胞遗传学的基本知识和实际工作经验,受过专门训练,能准确识别辐射诱发的各种染色体畸变。为避免主观因素造成的误差,应遵守以下原则:

- 建立一个选择细胞的标准,并始终坚持这一标准。例如:选择染色体长度适中、分散良好、很少重叠的中期分裂相,分析和记录 46 ± 1 个染色体的中期细胞。
- 盲法阅片。
- 发现畸变时,应征得第二者确认。
- 采用图式法结合统一命名的数字、字母和符号记录畸变类型和显微镜坐标,以备审核或照相。

4.2.3 一个完整的记录除了标明标本号、显微镜号、观察者、制样和观察日期以及分析细胞数外,必须能反映出畸变在细胞中的分布以及交换和组合的染色体数。

4.2.4 按公式(1)计算各剂量点应分析的细胞数。

$$n = \frac{(1-p) \times 96.04}{p} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

p ——畸变细胞率;

n ——应分析的细胞数;

p ——可在计数分析到一定数量的细胞后求得。

4.3 剂量-效应曲线的拟合

4.3.1 根据下列四种数学模式进行曲线拟合:

a) 线性模式

$$f(D) = a_1 + b_1 D \quad \text{即} \quad y = a + bD \dots\dots\dots (2)$$

b) 二次方程模式

$$f(D) = a_2 + c_2 D^2 \quad \text{即} \quad y = a + cD^2 \dots\dots\dots (3)$$

c) 二次多项式模式

$$f(D) = a_3 + b_3 D + c_3 D^2 \quad \text{即} \quad y = a + bD + cD^2 \dots\dots\dots (4)$$

d) 幂函数模式

$$f(D) = a_4 + b_4 D^n \quad \text{当} \quad a_4 = 0 \quad \text{时} \quad y = kD^n \dots\dots\dots (5)$$

式中:

f ——以 D 为自变量的函数;

y ——每细胞的畸变数(畸变/细胞)或每百个细胞的畸变数,%;

D ——吸收剂量,单位为戈瑞(Gy);

a ——本底畸变率;

b, c ——回归系数;

k ——常数;

n ——幂次。

4.3.2 剂量-效应曲线回归方程式的拟合步骤:

首先将所得数据在算术格纸上作散点图,然后根据不同图像决定采用何种方程式。

a) 在算术格纸上散点图呈直线趋势的可采用 $y = a + bD$ 模式。

b) 在算术格纸上散点图呈曲线趋势的,而在双对数格纸上呈直线的,可采用 $y = kD^n$ 模式。

c) 在算术及双对数格纸上散点图都不能直线化,而呈抛物线形式,可采用 $y = a + bD + cD^2$ 模式。

d) 当 $y = kD^n$ 中的 $n=2$,或 $y = a + bD + cD^2$ 中的 $bD=0$ 时,可采用 $y = a + cD^2$ 模式。

经验证明,以 dic 或“dic+r”为指标,对低 LET 辐射,多适于拟合二次多项式($y = a + bD + cD^2$)和幂函数($y = kD^n$)。而高 LET 辐射多适于直线方程式($y = a + bD$)。

5 染色体畸变分析估算剂量的原则

- 5.1 dic(或 $\text{dic}+r$)比较准确估算剂量的范围为 $0.1\text{ Gy}\sim 5.0\text{ Gy}$ 。
- 5.2 事故后应在尽早取血,最好在 48 h 之内取血,最迟不要超过 60 d 。
- 5.3 培养条件、制片方法和染色体畸变的判断标准应与建立刻度曲线时相同。对估算剂量的个体,至少应分析 $300\sim 500$ 个 M_1 细胞。
- 5.4 应选择和事故条件接近的刻度曲线进行剂量估算,在曲线剂量范围内应用,一般不外推。
- 5.5 估算剂量时,除给出平均值以外,同时给出剂量范围的 95% 可信限。在计算 95% 的可信限时,可以忽略回归方程式中由于不确定性的染色体畸变率的标准误,只计算观察细胞畸变率的标准误即可。

附录 A

(规范性附录)

正确使用本标准的说明

A.1 用 dic(或 dic+r)估算比较均匀的 X 射线、γ 射线和中子的过量照射比较准确。本标准也适用于过量外照射复合烧伤的病例。对不均匀和局部照射准确性较差,一般只能给出相当于全身均匀照射时的吸收剂量。

A.2 制备剂量-效应曲线时,对供血者的要求是:不患有急慢性疾病;非放射性工作者;半年内无射线和化学毒物接触史;无过量受照史;近一个月内无病毒感染史;不吸烟。

A.3 培养开始加秋水仙素法是培养开始加秋水仙素,可得到大量可供分析的 M_1 细胞。实践证明,该方法简单易行,目前已被国内多个实验室所采用。

A.4 只分析 M_1 细胞。主要用 dic 估算剂量。在正常个体受照的淋巴细胞中,dic 的剂量反应几乎不受年龄和性别的影响,在活体和离体照射时,对 dic 的剂量反应无显著性差异,本底率又低(0.03%左右),在体内存留时间较长,其形态特殊易于识别,所以 dic 是估算生物剂量的最好指标。r 的产额仅仅是 dic 的 5%~10%,不能单独使用,可与 dic 合并(dic+r)估算生物剂量。而 ace 可被多种化学诱变剂诱发,本底率较高,在生物剂量估算中不被使用。染色体畸变 dic 和 r 见图 A.1 和图 A.2。



图 A.1 4 个双着丝粒体和 4 对无着丝粒断片



图 A.2 1 个着丝粒环和 2 对无着丝粒断片

A.5 制备剂量-效应曲线时,分析细胞数计算公式是根据染色体畸变细胞率符合二项式分布,若已知畸变细胞率和允许误差,就可以根据二项式分布 95% 可信限公式求出应计数的细胞数,生物学实验一般容许误差采用 15%,这需要计数相当大的细胞数,目前多采用 20% 的容许误差,其公式为:

$$p \pm 1.96 \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}} \dots\dots\dots (A.1)$$

令

$$1.96 \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}} = p \times 20\% \dots\dots\dots (A.2)$$

则

$$n = \frac{(1-p) \times 96.04}{p} \dots\dots\dots (A.3)$$

式中:

p ——畸变细胞率;

n ——为应分析的细胞数。

p 可以从预实验中得到,也可以在分析过程中求出。为提高结果的可信限,应分析足够多的细胞数,分析细胞数的多少取决于畸变率。在建立染色体畸变的剂量-效应曲线时,应尽可能满足统计学要求,但由于染色体畸变的本底率相当低,如果对照(正常)剂量点难以满足统计学要求时,至少应分析 10 000 个 M_1 细胞。如用于个体生物剂量估算,则须计数 200~500 个中期分裂细胞的染色体畸变,分析细胞越多,估计剂量的 95% 可信限范围越窄,越可靠。当大剂量急性照射时,畸变率高,需计数细胞数少,分析 100~200 细胞就可满足统计学要求,而在较小剂量照射时,往往需要计数大量的细胞数。

A.6 含有某种畸变的细胞数占所分析的细胞数的份额为畸变细胞率,常以百分率(%)表示。

A.6.1 染色体畸变细胞率,属于二项分布,以百分率表示,计算公式如下:

$$p = x/n \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.4)$$

式中:

p ——畸变细胞率, %;

x ——含畸变的细胞数;

n ——观察细胞数。

其标准误按下列公式计算:

$$s_p = \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}} \quad \dots\dots\dots (A.5)$$

式中:

s_p ——标准误;

p ——畸变细胞率;

n ——观察细胞数。

总体率的可信限公式如下:

$$\text{总体率 } 95\% \text{ 的可信限为 } p \pm 1.96s_p \quad \dots\dots\dots (A.6)$$

$$\text{总体率 } 99\% \text{ 的可信限为 } p \pm 2.58s_p \quad \dots\dots\dots (A.7)$$

A.6.2 染色体畸变率,包括 dic、r、ace 和总畸变,属于泊松分布,以每细胞或每 100 个细胞有多少畸变表示,计算公式为:

$$p_1 = x/n$$

或

$$p_2 = x/n \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.8)$$

式中:

p_1 ——每细胞的畸变数, %;

p_2 ——每 100 个细胞畸变数, %;

x ——畸变数;

n ——分析细胞数。

其标准误计算公式为:

$$s_p = \frac{\sqrt{x}}{n} \quad \dots\dots\dots (A.9)$$

式中:

s_p ——标准误;

x ——畸变数;

n ——分析细胞数。

总体率可信限公式如下:

总体率 95% 的可信限为

$$p \pm 1.96s_p \quad \dots\dots\dots (\text{A. 10})$$

总体率 99% 的可信限为

$$p \pm 2.58s_p \quad \dots\dots\dots (\text{A. 11})$$

畸变细胞率以百分率表示,即每百个被观察细胞中所见的畸变细胞数。而“dic+r”率所用的百分率,不代表真正的率,而是观察 100 个细胞所见的畸变数目,有的细胞可含 1 个以上的畸变,有时可超过 100%,ace 和总畸变率也是如此。也可用每个细胞含有的畸变数表示。

A. 7 可以通过解方程式的方法计算回归系数。目前,已有各种拟合剂量-效应曲线的统计软件,只要输入变量 x (即 D ,剂量)、变量 y (染色体畸变率)和要拟合的数学模式,即可得出具体的回归系数(即回归方程式)并给出检验回归系数显著性的 r 值以及检验拟合度的相关指数 R^2 。

A. 8 应用举例:某人受⁶⁰Co γ 射线一次全身照射,照后 48 h 取血,采用 FPG 技术培养淋巴细胞,分析 300 个 M_1 细胞,“dic+r”共 258 个,估算其生物剂量。

$$\begin{aligned} p &= X/n \quad \dots\dots\dots (\text{A. 12}) \\ p &= \frac{258}{300} = 0.86 \\ s_p &= \frac{\sqrt{258}}{300} = 0.053\ 5 \end{aligned}$$

“dic+r/细胞的 95% 可信限为 $p \pm 1.96s_p$

$$0.86 + 1.96 \times 0.053\ 5 = 0.964\ 9$$

$$0.86 - 1.96 \times 0.053\ 5 = 0.755\ 1$$

选择本实验室所建立的⁶⁰Co γ 射线照射离体人外周血建立的染色体畸变(dic+r)的剂量-效应曲线:

$y = 7.351\ 2 \times 10^{-3} + 3.403\ 7 \times 10^{-2} D + 8.039\ 8 \times 10^{-2} D^2$,该公式的剂量范围为 0.25 Gy~5.0 Gy,剂量率为 1.0 Gy/min, y 为每细胞“dic+r”数, D 为剂量(Gy)。

按下列公式求解:

$$D = \frac{-b + \sqrt{b^2 + 4cy}}{2c} \quad \dots\dots\dots (\text{A. 13})$$

将 0.86、0.755 1 和 0.964 9 分别代入 y 项($y=p$),求 D 。

D_1 、 D_2 、 D_3 分别代表平均、下限、上限剂量(Gy)。

$$0.86 = 7.351\ 2 \times 10^{-3} + 3.403\ 7 \times 10^{-2} D_1 + 8.039\ 8 \times 10^{-2} D_1^2$$

$$0.852\ 6 = 0.034\ 037 D_1 + 0.080\ 398 D_1^2$$

$$D_1 = \frac{-0.034\ 037 + \sqrt{0.034\ 037^2 + 4 \times 0.080\ 398 \times 0.852\ 6}}{2 \times 0.080\ 398} = 3.05\ (\text{Gy})$$

$$0.755\ 1 = 0.007\ 351\ 2 + 0.034\ 037 D_2 + 0.080\ 398 D_2^2$$

$$0.747\ 7 = 0.034\ 037 D_2 + 0.080\ 398 D_2^2$$

$$D_2 = \frac{-0.034\ 037 + \sqrt{0.034\ 037^2 + 4 \times 0.080\ 398 \times 0.747\ 7}}{2 \times 0.080\ 398} = 2.84\ (\text{Gy})$$

$$0.964\ 9 = 0.007\ 351\ 2 + 0.034\ 037 D_3 + 0.080\ 398 D_3^2$$

$$0.957\ 5 = 0.034\ 037 D_3 + 0.080\ 398 D_3^2$$

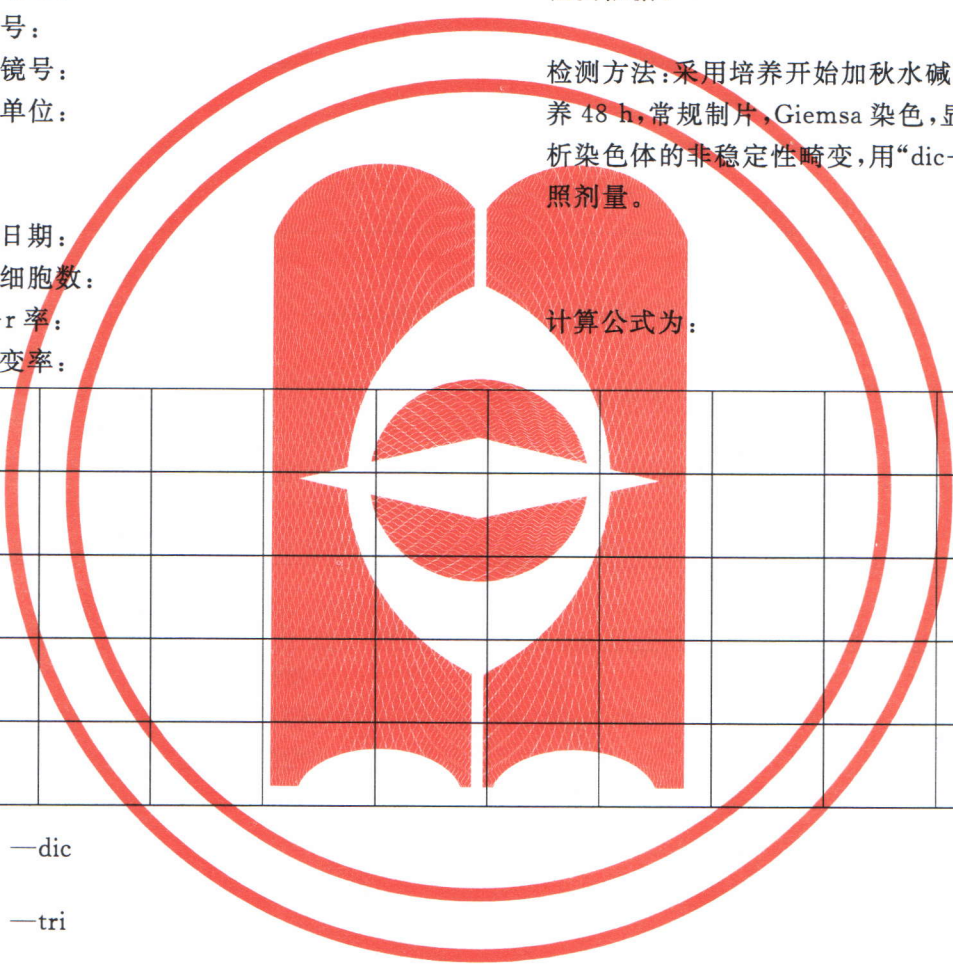
$$D_3 = \frac{-0.034\ 037 + \sqrt{0.034\ 037^2 + 4 \times 0.080\ 398 \times 0.957\ 5}}{2 \times 0.080\ 398} = 3.24\ (\text{Gy})$$

结果:平均剂量 3.05 Gy,95% 可信限下限为 2.84 Gy,上限为 3.24 Gy。

估算的剂量为 3.05(2.84~3.24) Gy。

有的实验室将建立的剂量-效应曲线制成软件,直接用染色体畸变率求剂量,只要输入分析细胞数和染色体畸变率,立即可以得到平均剂量和 95%可信限剂量。

A.9 记录表格如下所示。

人淋巴细胞染色体畸变分析剂量估算原始记录																																																																							
共 页,第 页(附图 页,表 页)																																																																							
样品名称:人外周血						检测项目:人淋巴细胞染色体畸变分析																																																																	
样品编号:						检测依据:																																																																	
玻片号:						检测方法:采用培养开始加秋水碱法,37℃培养 48 h,常规制片,Giemsa 染色,显微镜下分析染色体的非稳定性畸变,用“dic+r”估算受照剂量。 计算公式为:																																																																	
显微镜号:																																																																							
送样单位:																																																																							
送样日期:																																																																							
分析细胞数:																																																																							
dic+r 率:																																																																							
总畸变率:																																																																							
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </table>																																																																							
 —dic  —tri  —r  —f  —m  —ar 检测人: 校核人: 检测日期:																																																																							

人淋巴细胞染色体畸变分析剂量估算原始记录(续页)

玻片号:

显微镜号:

共 页,第 页

检测人:

校核人:

检测日期: 年 月 日

附录 B

(资料性附录)

延时性外照射、不均匀照射和局部照射时的剂量估算

B.1 延时性外照射的生物剂量估算

延时照射(protracted exposure)是指在长时期内受到的低剂量率连续或间断性照射。

例如比较均匀的剂量率、总剂量为几戈(Gy)的 X 或 γ 射线较长时间照射时,剂量平方项的系数下降,此时可引进一个依赖于时间的函数 $[G_{(x)}]$ 进行定量修正,其公式可写成:

$$y = a + bD + cG_{(x)}D^2 \quad \text{.....(B.1)}$$

式中:

y ——每细胞的畸变数(畸变/细胞)或每百个细胞的畸变数,%;

D ——吸收剂量,单位为戈(Gy);

a ——本底畸变率;

b 、 c ——回归系数。

$$G_{(x)} = \frac{2}{x^2}(x - 1 + e^{-x}) \quad \text{.....(B.2)}$$

此处, $x = t/t_0$, t 为照射延续时间, t_0 为染色体断裂平均重接时间(采用 2 h)。

B.2 不均匀和局部照射的生物剂量估算

人体受到全身照射后,由于体内各部位吸收剂量的分布不可能是完全均匀的,故有比较均匀和不均匀照射之分,二者界限不甚明确,只是相对而言。不均匀程度是以全身不同部位受照最大是最小剂量的相对倍数(不均匀系数)表示,对不均匀系数小于 3 者,称为比较均匀照射,而不均匀系数大于 3 者,称为不均匀照射。

B.2.1 不均匀和局部照射时的统计检验

在低 LET 辐射均匀照射时,dic(或“dic+r”)在细胞间呈泊松分布。在局部或不均匀照射时则偏离泊松分布。用泊松分布 u 检验,可以判断是否均匀照射。公式如下:

$$u = \frac{\frac{(n-1)\sigma^2}{y} - (n-1)}{\sqrt{2(n-1)(1 - \frac{1}{\sum x_o})}} \quad \text{.....(B.3)}$$

$$\sigma^2 = \frac{\left\{ \sum x_o^2 - \frac{(\sum x_o)^2}{n} \right\}}{(n-1)} \quad \text{.....(B.4)}$$

式中:

σ^2 ——方差;

n ——观察细胞。

$\sum x_o$ 为观察到的 dic 总数,其中 x 为每细胞含 dic 的个数, o 为观察相应的细胞数, $\bar{y}$ 为均值($\sum x_o/n$)。

当均匀照射时 dic 符合泊松分布, u 值 $< |1.96|$,方差与均值之比($\sigma^2/\bar{y}$)接近 1.00,而不均匀或局部照射时,dic 不符合泊松分布, u 值 $> |1.96|$, $\sigma^2/\bar{y}$ 不接近于 1.00, $\sigma^2/\bar{y} < 1.00$ 为欠离散分布, $\sigma^2/\bar{y} > 1.00$,为过离散分布。举例说明。

例如 某人受 ^{60}Co γ 射线急性照射,照后 38 天检查染色体,共分析 300 个细胞,“dic+r”总数为

134 个,估算受照剂量为 2.30(2.07~2.50)Gy,检查是否为均匀照射。

本例 $n=300$, $\sum x_o=134$, $\bar{y}=134/300=0.4467$

“dic+r”分布:

“dic+r”/细胞	0	1	2	3	4	5
细胞数	200	73	21	5	1	0

$$\begin{aligned}\sigma^2 &= \frac{\left\{ \sum x_o^2 - \frac{(\sum x_o)^2}{n} \right\}}{n-1} \\ &= \frac{\left\{ 0^2 \times 200 + 1^2 \times 73 + 2^2 \times 21 + 3^2 \times 5 + 4^2 \times 1 - \frac{134^2}{300} \right\}}{300-1} \\ &= \frac{158.1467}{299} = 0.5289 \\ \frac{\sigma^2}{\bar{y}} &= \frac{0.5289}{0.4467} = 1.1840\end{aligned}$$

$$u = \frac{\frac{(n-1) \cdot \sigma^2}{\bar{y}} - (n-1)}{\sqrt{2(n-1)\left(1 - \frac{1}{\sum x_o}\right)}} = \frac{299 \times 1.1840 - 299}{\sqrt{2 \times 299 \left(1 - \frac{1}{134}\right)}} = 2.2582$$

$u > 1.96$, $\sigma^2/\bar{y} > 1.00$, 不服从泊松分布, 为过离散分布, 故此人受到的是不均匀照射。

B.2.2 局部照射或不均匀照射时的受照份额和剂量估算: 在局部或高度不均匀照射时, 用染色体畸变分析只能给出全身等效剂量, 这种剂量表达方式很不确切。为此, IAEA(1986)介绍用不纯泊松分布方法及品质值(Qdr)方法估计局部(或不均匀)照射时的受照份额及其相应剂量。

B.2.2.1 不纯泊松分布法

在局部照射条件下, dic(或“dic+r”)在细胞间的分布是受照部分的泊松分布与未受照射部分分布的叠加, 由于未照射部分含有的畸变可以忽略, 该分布与正常泊松分布相比, 正常细胞所占份额相对增加, 分布过于离散, 利用该特性, 采用最大似然估计数学方法估计受照细胞的份额:

$$\frac{y}{1 - e^{-y}} = \frac{x}{n - n_0} \quad \dots\dots\dots (\text{B.5})$$

$$yf = \frac{x}{n}, f = \frac{x}{ny} \quad \dots\dots\dots (\text{B.6})$$

式中:

f ——受照份额;

n ——观察细胞数;

n_0 ——不含有 dic 的细胞数;

x ——dic 总数;

y ——受照淋巴细胞的平均畸变率。

根据公式(B.5)求出 y , 将其代入剂量效应曲线求出受照剂量。考虑到细胞的间期死亡和有丝分裂延迟效应, f 值尚须修正才能求出受照的实际份额。

$$F = \frac{\frac{f}{p}}{1 - f + \frac{f}{p}} \quad \dots\dots\dots (\text{B.7})$$

$$p = e^{\frac{-D}{D_0}}$$

$$F = \frac{\frac{f}{e^{\frac{-D}{D_0}}}}{1 - f + \frac{f}{e^{\frac{-D}{D_0}}}}$$

式中:

F ——实际受照份额;

p ——达到中期分裂相的细胞与受照细胞总数之比值;

D ——剂量;

D_0 ——在一次击中造成细胞死亡的情况下,使活存细胞由 100% 减少到 37% 所需要的剂量。

此时 $D_0 = D_{37}$, 而对多靶子细胞 $D_{37} = D_0 + D_q$, D_0 或 D_{37} 可根据实验得出。下面引用 IAEA 所举病例。某人受到 $6.7\text{Ci}^{192}\text{Ir}$ 非均匀照射,伴有局部烧伤,计数 1 000 个中期分裂相,有 99 个含非稳定畸变的细胞,dic 86 个,r 2 个和 60 个多余无着丝粒畸变,双着丝粒体分布为:

Dic/细胞	0	1	2	3	4	5
细胞数	932	56	9	1	1	1

剂量-效应曲线为:

$$y_{(\text{dic})} = 1.57 \times 10^{-4} D + 5.0 \times 10^{-6} D^2$$

$$y_{(\text{r})} = 2.30 \times 10^{-4} D + 3.9 \times 10^{-6} D^2$$

用最大似然估计 dic 产额

$$\frac{y}{1 - e^{-y}} = \frac{86}{1\,000 - 932}, y = 0.489$$

将其代入方程, $D = 297 \text{ cGy}$ 。

$$f = \frac{x}{n \cdot y} = \frac{86}{1\,000 \times 0.489} = 0.176$$

$$D_0 = 270 \text{ cGy}, \rho = e^{-D/D_0} = e^{-297/270} = e^{-1.1} = 0.33$$

$$F = \frac{\frac{f}{\rho}}{1 - f + \frac{f}{\rho}} = \frac{\frac{0.176}{0.33}}{1 - 0.176 + \frac{0.176}{0.33}} = 0.393$$

此人身受照份额约 40%, 平均剂量约 300 cGy。

B.2.2.2 Qdr 法

该方法考虑“dic+r”在非稳定性畸变的 M_1 细胞中的出现频率,以此作为品质值,用符号 Qdr 表示。假设总的非稳定性畸变在受照细胞间呈泊松分布,“dic+r”率为 y_1 ,总畸变率为 y_2 ,总畸变细胞数为 n_u ,总的“dic+r”数为 x ,

$$Qdr = \frac{x}{n_u} = \frac{y_1}{1 - \exp(-y_1 - y_2)} \quad \dots\dots\dots (\text{B.8})$$

仍举上例, $x = 86, n_u = 99$

$$y_1 = 1.57 \times 10^{-4} D + 5.0 \times 10^{-6} D^2 \quad y_2 = 2.30 \times 10^{-4} D + 3.9 \times 10^{-6} D^2$$

各项分别代入上式

$$Qdr = \frac{86}{99} = \frac{1.57 \times 10^{-4} D + 5.0 \times 10^{-6} D^2}{1 - \exp(-3.87 \times 10^{-4} D - 8.9 \times 10^{-6} D^2)}$$

用迭代法求解, $D = 319 \text{ cGy}$,与不纯泊松分布法求得 D 为 297 cGy 相一致。

上述两种方法都以分布的特征假设为前提,Qdr 法以总畸变分布服从泊松分布为前提,一般情况,这个假设不能得到满足,因而应用此法会带来系统误差。这两种方法都只适用于低 LET 辐射的急性照射条件下的局部照射剂量估计,还必须具有含两个或两个以上“dic+r”的细胞时方可应用这两种方法。

总之,局部照射剂量估算,较为多见,受到学者们的广泛重视,也取得一定进展,但尚需不断完善。