

BIODOZIMETRICKÉ POSTUPY

¹Jaroslav PEJCHAL, ²Jan ÖSTERREICHER, ²Lenka ZÁRYBNICKÁ, ²Zuzana ŠINKOROVÁ, ²Aleš TICHÝ, ²Jiřina VÁVROVÁ

¹Univerzita obrany, Fakulta vojenského zdravotnictví, Centrum pokročilých studií, Hradec Králové

²Univerzita obrany, Fakulta vojenského zdravotnictví, katedra radiobiologie, Hradec Králové

Souhrn

V současné době se biodozimetrie stala rychle se rozvíjejícím oborem radiobiologie. Význam tohoto oboru vzrůstá zejména s jadernými ambicemi Iránu a Korejské lidové demokratické republiky a s nestabilní situací v Pákistánu, kde v případě vítězství Tálibánu by toto radikální hnutí získalo pákistánský jaderný arzenál, a podle slov svých vůdců, by jej neváhalo použít. Biodozimetrie se při takovýchto rozsáhlých užití jaderných zbraní stává důležitým prostředkem hodnotícím rozsah události a tím umožňujícím optimalizaci intervence integrovaného záchranného systému a predikci následků události.

Tento text je přehledem základních biodozimetrických postupů užívaných při řešení radiačních událostí. Hodnocen je význam klinické odpovědi organismu v období prodromální fáze akutní nemoci z ozáření a laboratorní cytologické a cytogenetické vyšetření periferní krve. Text je doplněn o nové poznatky z oblasti molekulární biodozimetrie. Důraz je kladen zejména na praktický aspekt metod.

Klíčová slova: Ionizující záření; Biodozimetrie.

Biodosimetric Methods

Summary

Biodosimetry has recently become a quickly developing subject of radiobiology. Its significance has been increasing regarding nuclear ambitions of Iran and Democratic People's Republic of Korea and instable situation in Pakistan, where, if the Taliban wins, the radical movement will be in the possession of Pakistan nuclear arsenal and, according to its leaders, will not hesitate to use it. In the situation of nuclear weapon use, biodosimetry serves as a tool for accident assessment which enables optimization of emergency rescue system responses and prediction of consequences.

The text is an overview of basic biodosimetric approaches used in radiation casualty management. The significance of clinical diagnosis based on the assessment of symptoms in prodromal phase of acute radiation sickness and cytological and cytogenetical work-up of peripheral blood is discussed. The text is supplemented with new knowledge in the field of molecular biodosimetry. Emphasis is especially placed on practical aspects.

Key words: Ionising radiation; Biodosimetry.

Úvod

Biodozimetrie se na počátku 21. století stala intenzivně se rozvíjejícím oborem radiobiologie. Tato vědní disciplína se zabývá retrospektivním odhadem absorbované dávky ionizujícího záření pomocí kvantifikace postradiačních změn organismu, ať již na celkové, buněčné nebo molekulární úrovni. V současné době se biodozimetrie zabývá zejména výzkumem nových ukazatelů ionizujícího záření a vývinem rychlých, výkonných, spolehlivých a snadno použitelných metod vhodných i pro polní podmínky. Při událostech jako jsou rozsáhlé radiologické incidenty (útok špinavou bombou, jaderný útok) je dostupnost takovýchto metod kritická, jak

pro efektivní klasifikaci/třídění raněných, léčbu radiačního poškození, tak jako prostředek ke zmírnění paniky mezi účastníky nehod, kteří nebyli ve skutečnosti ionizujícímu záření exponováni (19, 43).

Využití biodozimetrie v průběhu katastrofických událostí je však omezeno časovými a technickými možnostmi jednotlivých metod.

Diagnostické postupy

Nejvýznamnějším postupem, který plní kritéria rychlého a technicky nenáročného biodozimetrického nástroje, je zhodnocení klinické odpovědi organismu ozářeného jedince pomocí odběru ana-

mnězy a základního fyzikálního vyšetření. Klinická odpověď organismu souvisí s rozvojem akutní nemoci z ozáření. Akutní nemoc z ozáření probíhá ve čtyřech fázích – prodromální, latentní, manifestní, uzdravení/smrt (viz tab. 1).

K provedení rychlé diagnózy stupně nemoci z ozáření jsou vyhodnocovány symptomy prodromálního stadia akutní nemoci z ozáření. Symptomy prodromálního stadia jsou spojeny s rozvojem nespecifické odpovědi organismu. Rychlost, intenzita a doba trvání symptomů prodromální fáze je úměrná absorbované dávce a je užívána jako hrubý ukazatel míry radiačního poškození v průběhu 1. dne po ozáření (17) (viz tab. 2).

Prodromální symptomy jsou vhodné zejména pro odhad celotělové expozice vysokým dávkám (> 6–8 Gy), kdy je jejich intenzita poměrně vysoká a vyskytují se mnohočetně. Vysoká intenzita a mnohočetný výskyt symptomů (např. kombinace opakovaného zvracení, průjmů, bolesti hlavy a zvýšené teploty) vytváří klinický obraz velmi charakteristický pro ozáření, tudíž lépe odlišitelný od symptomů jiné etiologie. Při ozáření dávkou 1–4 Gy nevykazuje část ozářených jedinců žádné výše jmenované příznaky, přitom skupina vystavená dávce 2–4 Gy je ohrožena 0–50% letalitou. Dávky 0–1 Gy není možné tímto způsobem detekovat.

Tabulka 1

Fáze akutní nemoci z ozáření

Fáze	prodromální	latentní	manifestní	uzdravení/smrt
Symptomy	nechutenství nausea zvracení průjem neurologické symptomy	bez symptomů	infekce krváčení průjem dehydratace šokový stav neurologické symptomy	

Citováno z Final report of dose estimation for three victims of JCO akcident a modifikováno (17).

Tabulka 2

Symptomy prodromální fáze akutní nemoci z ozáření

Dávka	1–2 Gy	2–4 Gy	4–6 Gy	6–8 Gy	> 8 Gy
zvracení (nástup) (procento postižených)	po 2 h 10–50	1–2 h 70–90	do 1 h 100	do 30 min 100	do 10 min 100
průjem (nástup) (procento postižených)	– –	– –	mírný 3–8 h < 10	těžký 1–3 h > 10	těžký do 1 h 100
bolesti hlavy (nástup) (procento postižených)	nepatrné – –	lehké – –	střední 4–24 h 50	těžké 3–4 h 80	těžké 1–2 h 80–90
vědomí (procento postižených)	neovlivněno –	neovlivněno –	neovlivněno –	může být alterováno –	bezvědomí (> 50 Gy) 100
tělesná teplota (nástup) (procento postižených)	neovlivněna – –	zvýšená 1–3 h 10–80	horečka 1–2 h 80–100	vysoká horečka < 1 h 100	vysoká horečka < 1 h 100
Letalita (%)*	0	0–50	20–70	50–100	100

Citováno z Final report of dose estimation for three victims of JCO akcident a modifikováno (17).

Dávky jsou uváděny pro gama-záření v čase expozice. Procenta jsou průměrnou hodnotou při neposkytnutí léčby.

Společně s nízkou senzitivitou tohoto biodozimetrického postupu je dalším praktickým limitem nízká specificita sledovaných indikátorů a značné interindividuální rozdíly v odpovědi exponovaných jedinců. Nejvýznamnějším faktorem, který zkresluje třídění účastníků radiační nehody, je psychický stres. Stresová reakce může např. vyvolat gastrointestinální symptomy, které mohou imitovat příznaky nemoci z ozáření. Vyhodnocení prodromálních symptomů akutní nemoci z ozáření je tedy dostatečné pro rychlé a orientační třídění raněných na Rolích 1, 2 a 3, avšak z hlediska nízké senzitivity a specificity klinického nálezu je metoda nevhodná k individuálnímu hodnocení míry ozáření a pro stanovení dalšího terapeutického postupu. Proto je nezbytné zapojit laboratorní biodozimetrické postupy, jakými jsou cytologické, cytogenetické a v blízké budoucnosti i molekulární metody.

Cytologické metody jsou nejpoužívanějšími metodami hodnotícími rozvoj, prognózu a účinnost terapie nemoci z ozáření. Metody vycházejí z denního monitorování změn krevního obrazu. Počet elementů periferní krve je udržován v dynamické rovnováze, která je určena rychlostí přísunu a odsunu buněk. Fyziologický obrát granulocytů činí $120 \times 10^9/\text{den}$, erytrocytů $200 \times 10^9/\text{den}$ a trombocytů $150 \times 10^9/\text{den}$ (16). Ionizující záření vede k narušení této dynamické rovnováhy poškozením kmenových buněk a prekurzorů jednotlivých linií hematopoézy. Neumann a spol. (30) určili práh citlivosti pluripotentních hematopoetických kmenových buněk kolem 0,9 Gy.

V případě ireverzibilního poškození kostní dřeně ionizujícím zářením se krevní hodnoty neutrofilních granulocytů zvyšují nebo zůstávají v normě po dobu 4 dní (14), což je následováno poklesem s poločasem 6–7 hodin (14, 18). Počáteční vzestup je dán vyplavováním fyziologické rezervy granulocytů z kostní dřeně v reakci na stimulaci některými mediátory a hormony, jako jsou například glukokortikoidy, jejichž koncentrace při stresové reakci organismu vzrůstá (18). Rychlý je i úbytek lymfocytů, který je dán jak jejich citlivostí k ionizujícímu záření (50), tak patofyziologickou odpovědí organismu, kdy buňky přestupují z krevního oběhu do

tkání a lymfatického systému (3, 18). Trombocyty a erytrocyty v případě selhání funkce kostní dřeně mizí z oběhu během 10 dní, resp. 120 dní (14, 18).

Na základě analýz radiačních nehod Szepesi a spol. (45) rozdělili změny počtu buněk v krevním oběhu podle jejich kinetiky do 6 kategorií (tab. 3).

Reverzibilní poškození I.–IV. kategorie a ireverzibilní, avšak léčitelné poškození V. kategorie, mohou být rozpoznány 5.–6. den po ozáření (45). Pokud k hodnocení krevního obrazu přidáme také aspiráty kostní dřeně, může být klasifikace stanovena již 3. den po ozáření (45). Terminální poškození bez šance na přežití (VI. kategorie) může být diagnostikováno 24 hodin po ozáření (45)).

Z terapeutického hlediska je důležité určit hranici mezi reverzibilním a ireverzibilním poškozením. Pokud 4.–6. den po celotělovém ozáření hodnoty granulocytů klesají (pod $300 \times 10^6/l$), počty lymfocytů jsou nízké během 1. dne po ozáření (pod $1 \times 10^9/l$) a nadále ubývají (pod $1 \times 10^7/l$ během 4. až 6. dne po ozáření) a destičky pokračují ve strmém sestupu podle kinetik odpovídajících selhání funkce kostní dřeně, je nutné zvažovat transplantaci kmenových buněk (15). Pokud se však 5.–6. den objevují v krvi měřitelné hodnoty granulocytů ($300\text{--}500 \times 10^6/l$), lze předpokládat, že obdržená dávka nebyla buď dostatečná k zastavení produkce krevních buněk, nebo došlo k nehomogennímu ozáření a část dřeně obdržela dávky nižší než zbylé části systému (15, 31). Pak je možné zahájit terapii růstovými faktory, jako jsou G-CSF, GM-CSF a IL-11 (4). Z hlediska efektivní terapie růstovými faktory by však tato informace přicházela pozdě, protože tuto léčbu je nutné zahájit co nejdříve, nejlépe během prvních 24 hodin po ozáření (49).

Analýza krevního obrazu dokáže zachytit jen hrubé změny silně snižující funkční kapacitu kostní dřeně. Darroudi a spol. (10) prokázali na celotělově a parciálně ozářeném zvířecím modelu, že tato metoda nedokáže zachytit vysokodávkovou expozici lokalizovanou na malou plochu těla (jednotky procent) a všeobecně není vhodná k rozlišení mezi celotělovým a parciálním ozářením. Baranov a spol.

Tabulka 3

Klasifikace radiačního poškození na základě rozboru krevního obrazu

I.–IV. kategorie	V. kategorie	VI. kategorie
reverzibilní poškození	ireverzibilní poškození léčitelné	ireverzibilní poškození bez možnosti úspěšné terapie

(5) porovnali biodozimetrické odhady z analýz hematologických změn s cytogenetickými metodami u jedinců postižených při havárii v Černobylu a ukázali, že tento způsob odhadu je méně přesný než cytogenetická analýza. Těž je nutné dodat, že změny krevního obrazu mající charakter insuficience kostní dřeně nejsou specifické pouze pro účinky ionizujícího záření. Selhání funkce kostní dřeně mohou vyvolat faktory, jako jsou viry (komplikace non-A a non-B hepatitis), léky (cytostatika, antibiotika), chemikálie (benzen, DDT) (36).

Z praktického hlediska je pro cytologické vyšetření krve nutné laboratorní zázemí. Není tedy možné tuto metodu používat na Roli 1 a 2 (zdravotnické zabezpečení na úrovni praporu, respektive brigády – na Roli 1 laboratoř není, na Roli 2 je k dispozici pouze omezený sortiment laboratorního vyšetření). Role 3 (polní nemocnice) však může být vybavena průtokovými cytometry, které rychlé cytologické vyšetření krve umožňují. Tyto přístroje jsou zároveň schopny zachytit změny relativních počtů jednotlivých lymfocytárních populací periferní krve, jež jsou rovněž dávkově závislé (40, 46).

Soudobé cytogenetické metody užívané v retrospektivní biodozimetrii se soustředí na hodnocení přítomnosti chromozomových aberací. Vznik aberací je komplexním procesem, na kterém se podílí jak narušení lineární kontinuity chromozomů dvojitými zlomy DNA v kombinaci s destabilizací proteinového lešení chromozomů účinkem ionizujícího záření (6), tak proces chybné reparace. Dvojitě zlomy jsou rychle reparovány. Pokud však k reparaci DNA nedojde či reparace proběhne nesprávně, vzniká chromozomová aberace. Ačkoli vznik chromozomových aberací není charakteristický pouze pro účinky ionizujícího záření, je senzitivita a specifita cytogenetických metod vysoká. Dvojitě zlomy jsou generovány genotoxickými agens, jejichž přítomnost můžeme často anamnesticky vyloučit, nebo je jejich prevalence nízká – dvojitě zlomy vznikají např. vlivem chemických agens – yperitem (38), cytostatiky (inhibitory topoizomeráz – camptothecin, etoposid (42), inhibitory ribonukleotidové reduktázy – hydroxyurea (24)) nebo vlivem biologických agens – HIV-1 infekce (47), HTLV-1 infekce (25).

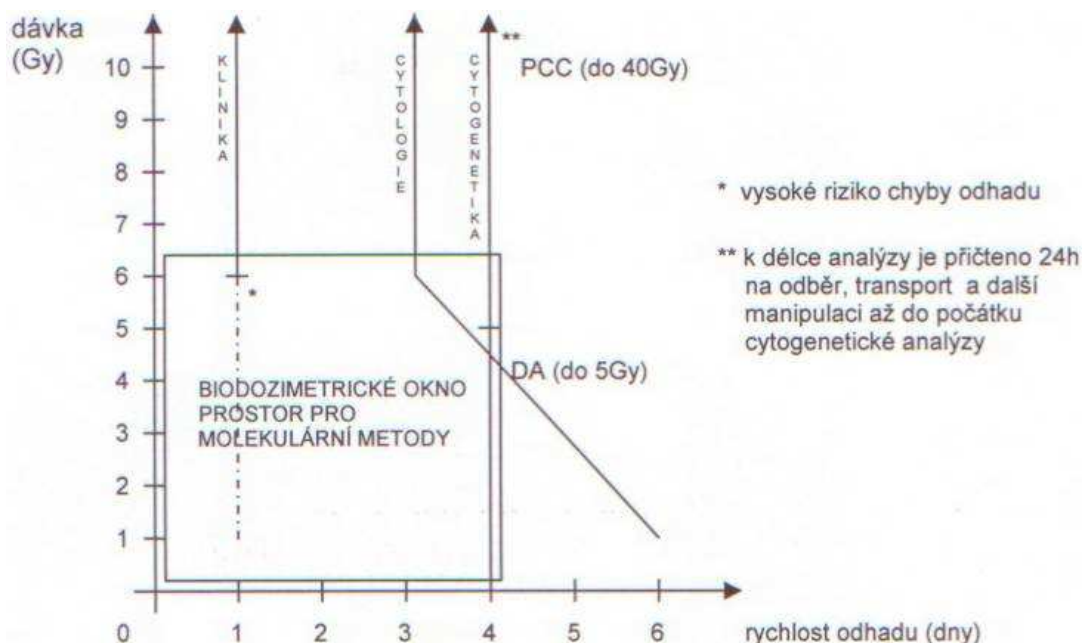
Cytogenetické metody hodnotí kvantitativně i kvalitativně aberace v lymfocytech periferní krve (7), kterou je nutné odebrat co nejdříve po ozáření. Další postup spočívá v 48hodinové (dicentrická ana-

lýza, chemicky indukovaná předčasná chromozomová kondenzace) až 72hodinové kultivaci s phytohemagglutininem (analýza mikrojader) s mitotickými jedy umožňující vizualizaci chromozomů, či se substancemi zesilujícími míru kondenzace (9, 34, 35). Následuje mikroskopické odečtení aberací školeným personálem. Nutnost laboratorního zázemí, vhodných laboratorních podmínek, časová prodleva mezi získáním vzorku a výsledky analýzy a potřeba vysoce školeného personálu činí cytogenetické metody méně vhodnými pro polní podmínky (toto omezení je společné pro všechny cytogenetické metody). Dnes je sice možné téměř všechny jednotlivé kroky analýzy zautomatizovat a laboratorní práci zjednodušit, není ale možné tyto kroky urychlit. První výsledky mohou být získány ke konci 3. dne od příjmu vzorků laboratoří, neboť k 48hodinové kultivaci je nutno připočítat 24 hodin na další zpracování vzorků, včetně finálního kroku odečítání preparátů, kdy například, nejzkušenější pracovníci jsou schopni odečítat výsledky dicentrické analýzy rychlostí 500 buněk/den (13). Přesnost odhadu této metody je přitom dána množstvím vyhodnocených buněk. Zpravidla je hodnoceno 500 buněk s přesností 0,1 Gy nebo 1000 buněk s přesností 0,05 Gy (13, 20, 26). Další navýšení množství hodnocených buněk odhad sice více zpřesní, ale dicentrickou analýzu neúměrně časově zatíží. Z tohoto hlediska jsou cytogenetické metody vhodné pro vyhodnocení maximálně několika desítek vzorků. Jejich význam jako směrodatného biodozimetrického postupu hodnotícího míru ozáření jedinců při nehodách s vysokým počtem zasažených signifikantně klesá.

V oblasti biodozimetrie založené na **bázi molekulárních metod** byly doposud zaznamenány jen dílčí úspěchy, které však naznačují, že tyto metody mají potenciál klasickým biodozimetrickým postupům úspěšně konkurovat.

Molekulární metody měří změny na úrovni genové transkripce (genomika), translace a posttranslačních modifikací proteinů (proteomika) vyvolaných genotoxickým stresem v podobě ionizujícího záření.

Změny na molekulární úrovni je možné zaznamenat již několik minut po ozáření. Turtoi a spol. (48) pozorovali změny na transkripční úrovni u lidských lymfocytů *in vitro* již 15 minut po ozáření a Rogakou a spol. (39) sledovali nárůst množství fosforylované formy histonu H2AX na serinu 139 již 1 minutu po ozáření savčích buněk *in vitro* a podle výsledků práce katedry radiobiologie FVZ prokazují dávkově závislý vzestup již 1 hodinu po ozáření



Obr. 1: Diagnostický prostor pro molekulární metody

dávkami do 5 Gy u lidských lymfocytů *in vitro* (50). Z tohoto hlediska by molekulární metody mohly umožnit rychlé poskytnutí informace o obdržené dávce ionizujícího záření a vyplnit slepá okna klinických, cytologických a cytogenetických přístupů (viz obr. 1).

Nejvýraznějších výsledků bylo dosaženo v oblasti genomiky, která pomocí techniky užívající cDNA array umožňuje simultánní sledování transkripce několika tisíc genů, a pomocí techniky real time – polymerase chain reaction (RT-PCR) další (přesnější) kvantifikaci. Amundson a spol. (2) použili cDNA array metodu pro hodnocení změny transkripčního profilu lymfocytů exponovaných *ex vivo* ionizujícímu záření. Geny jako jsou DDB2, CDKN1A a XPC vykazovaly lineární dávkovou odpověď v rozsahu 0,2–2 Gy 24 a 48 h po expozici gama-záření (2). Kang a spol. (22) užitím RT-PCR v kombinaci s cDNA array metodou identifikovali jako vhodné bioindikátory ionizujícího záření geny receptoru TRAIL-2, FLH-2, cyklinu G a CPG, které vykazují dávkovou závislost mezi 0,5–4 Gy 12 h po ozáření. V neposlední řadě byla metoda *in situ* PCR použita k hodnocení specifické delecí mitochondriální DNA (4977 bp), která se charakteristicky kumuluje v mitochondriálním genomu lidí při procesu stárnutí (8) a je též indukována ionizujícím zářením (23). Tato delecí u lymfocytů vykazuje dávkovou závislost v rozsahu 0,5–2 Gy při možnosti analýzy 90–95 % buněk (37).

Tyto výsledky ukazují, že změny transkripčního

fenotypu mají dávkovou, dávkově příkonovou, časovou a tkáňově specifickou závislost. Přítomnost tkáňové specifity naznačuje, že bude možné tyto změny použít k biodozimetrickému hodnocení poškození jiných tkání, než je krev, kde ostatní metody, cytologické a cytogenetické, nejsou pro rychlé posouzení míry poškození použitelné. Citlivost těchto metod je také dostačující. Změny genové exprese je možné pozorovat u lidských nádorových linií již po ozáření dávkami 0,02 Gy *in vitro* a u lidských periferních lymfocytů ozářených *ex vivo* a myších lymfocytů ozářených *in vivo* dávkami 0,2 Gy (1). Tím se molekulární metody dostávají na detekční úroveň metod cytogenetických (viz výše). V porovnání s cytogenetickými metodami lze též očekávat, že molekulární přístupy vyřeší problém radiospecifity. Park a spol. (33) vytypovali u nestimulovaných (p53^{-/-}) a stimulovaných (p53^{+/+}) periferních lidských lymfocytů a lidské T-lymfocytární linie Jurkat (p53^{-/-}) 384 genů vhodných pro sestrojení radiospecifického „RadChipu“. Tyto geny totiž byly podobně exprimovány bez ohledu na typ buněčné linie a statut proteinu p53 a přitom odlišně od transkripčního fenotypu vyvolaného UV-zářením, cisplatinou a doxorubicinem.

V oblasti zabývající se změnami exprese proteinů a jejich posttranslačními modifikacemi nebylo takovýchto výsledků dosaženo. Doposud nebyla vyvinuta technika, která by dokázala pokrýt všechny proteinové změny vyvolané ionizujícím zářením v takovém rozsahu, jakým genomické metody po-

krývají změny transkripční. Nedávný rozvoj proteomických metod však dává tušit, že pravděpodobně dojde k nalezení vhodných biodozimetrických ukazatelů. V práci z laboratoře katedry radiobiologie FVZ byla stanovena dávková závislost vzestupu množství p21 24 a 48 h po *in vitro* ozáření lidských lymfocytů (50).

Změny proteinového profilu jsou všeobecně považovány za relevantnější a déletrvající indikátor buněčného poškození, korelující s biologickým dopadem a riziky (11). Ze stávajících proteinových ukazatelů ionizujícího záření se jako perspektivní jeví členové drah podílejících se na signalizaci a reparaci poškození DNA (p53, p21, GADD153 vykazují rozdílný expresní profil u toxických a netoxických nox (21)), dále stresové kinázy a jejich transkripčních faktorů (transkripční faktor elk-1 je *in vivo* exprimován v závislosti na dávce a času po ozáření (12)) či ukazatele zánětu, jako jsou protein CRP, interleukiny, TNF a sérové amylázy, které jsou odrazem celkové zánětlivé reakce organismu (29, 41, 44). Z hlediska tkáňové specifity vůči ionizujícímu záření má prognostickou hodnotu pro možný rozvoj plicních komplikací plazmatická koncentrace TGFβ1 (32) a FGF2, který je spjat s rozvojem fibrovaskulárních komplikací (32). Míru poškození GIT zrcadlí plazmatická koncentrace citrulinu, jenž je konečným produktem glutaminového a prolinového metabolismu střevních enterocytů a jeho produkce odpovídá celkové masě střevní výstelky (27). Jeho hodnota však zaznamenává signifikantní pokles pouze po ozáření vyššími dávkami s latencí 2 až 4 dny po ozáření (28).

Z dosažených výsledků vyplývá, že molekulární metody mají potenciál překonat cytologické i cytogenetické vyšetření, avšak budou narážet na různá úskalí. Těmito úskalími jsou například pozitivita pouze v určitých časově dávkových oknech a participace molekulárních biodozimetrických ukazatelů na biologických dějích, jako jsou oprava poškození DNA, regulace buněčného cyklu či apoptóza, jež nejsou pro ionizující záření specifické. Můžeme se tedy domnívat, že budoucí biodozimetrie bude založena na metodách, které umožňují paralelně monitorovat více ukazatelů, jejichž kombinací bychom dokázali radiospecifitu i dávkovou závislost efektivně pokrýt. Z tohoto hlediska by tyto metody mohly být založeny na detekci změn exprese mRNA pomocí real-time PCR nebo cDNA-microarray techniky a/nebo detekci kvantitativních změn množství proteinů nebo jejich modifikací prostřednictvím gelové elektroforézy, hmotnostní spektrometrie nebo

multi-ELISA assay. V armádních, resp. v polních podmínkách obecně, bude pro svoji jednoduchost a rychlost zřejmě dominovat imunoenzymatické stanovení proteinových změn pomocí ELISA metody. Vyhodnocení touto metodou trvá přibližně 45 min, a tak časovou zátěž celé procedury (odběr vzorku, jeho zpracování, vyhodnocení a získání výsledku) můžeme odhadovat na přibližně 1 až 2 hodiny.

Praktickou limitací vyskytující se v polních podmínkách je časová mezera mezi radiační událostí a odběrem vzorku. Primární reakce integrovaného záchranného systému směřuje k řešení vlastní nehody a biologická dozimetrie je řešena až jako jedna z posledních záležitostí. Proto se jeví systémově vhodné, aby vzorky pro biologickou dozimetrii byly odebírány 24 hodin po incidentu a aby kalibrační křivky ELISA metod určené pro *in vivo* detekci proteinových biodozimetrických ukazatelů byly konstruovány z takto odebraných vzorků. Toto schéma může být kompromisem potřeb integrovaného záchranného systému, tlaku biodozimetrie stran rychlého stanovení absorbované dávky u účastníků radiačního incidentu a odsunové kapacity léčebně odsunového systému. V průběhu 24 hodin po nehodě jsou všichni poranění transportováni na Roli 3, která biodozimetrii poskytuje dostatečné laboratorní zázemí, ať již v podobě vybavení nutného pro ELISA analýzu, nebo v podobě průtokového cytometru, nezbytného pro sledování změn hematologických parametrů.

Závěr

Obecný algoritmus biodozimetrických postupů užívaných u radiologických událostí/nehod spočívá v rychlém třídění postižených podle symptomatiky nemoci z ozáření, které je následováno hematologickými a cytogenetickými vyšetřeními. Třídění postižených na základě klinických příznaků nemoci z ozáření nám sice umožňuje získat představu o rozsahu události/nehody jako takové, není však vhodné k vyhodnocení výstupů, jakými jsou individuální radiobiologické účinky, zdravotní následky a analýza dlouhodobého rizika, a k zvolení vhodného terapeutického programu. Na tyto otázky dokáží částečně odpovědět laboratorní metody. Jejich limitací je však časová latence vyšetření a kapacita zejména cytogenetických vyšetření. Tyto technické nevýhody budou pravděpodobně překonány molekulárními metodami, které se tak stanou důležitou součástí kolektivní radiační ochrany a na jejichž výzkumu se naše katedra radiobiologie podílí.

Poděkování

Předložená práce byla provedena v rámci vojenského výzkumného záměru č. MO0FVZ0000501.

Literatura

1. AMUNDSON, SA. – FORNACE, AJ. Jr. Gene expression profiles for monitoring radiation exposure. *Radiat. Prot. Dosimetry*, 2001, vol. 97, no. 1, p. 11–16.
2. AMUNDSON, SA., et al. Identification of potential mRNA biomarkers in peripheral blood lymphocytes for human exposure to ionizing radiation. *Radiat. Res.*, 2000, vol. 154, no. 3, p. 342–346.
3. ANDERSON, RE. – SPRENT, J. – MILLER, JF. Radio-sensitivity of T and B lymphocytes. I. Effect of irradiation on cell migration. *Eur. J. Immunol.*, 1974, vol. 4, no. 3, p. 199–203.
4. AUGUSTINE, AD., et al. Animal models for radiation injury, protection and therapy. *Radiat. Res.*, 2005, vol. 164, no. 1, p. 100–109.
5. BARANOV, AE., et al. Transplantation of the bone marrow after total body irradiation of the victims after the accident at the Chernobyl atomic power plant. *Gematol. Transfuziol.*, 1989, vol. 34, no. 3, p. 3–16.
6. BARKER, S., et al. Identification of mammalian proteins cross-linked to DNA by ionizing radiation. *J. Biol. Chem.*, 2005, vol. 280, no. 40, p. 33826–33838.
7. BLAKELY, WF., et al. Overview of low-level radiation exposure assessment: biodosimetry. *Mil. Med.*, 2002, vol. 167, no. 2 (Suppl), p. 20–24.
8. CORTOPASSI, GA. – ARNHEIM, N. Detection of a specific mitochondrial DNA deletion in tissues of older humans. *Nucleic Acids Res.*, 1990, vol. 18, no. 23, p. 6927–6933.
9. COUNTRYMAN, PI. – HEDDLE, JA. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutat. Res.*, 1976, vol. 41, no. 2/3, p. 321–332.
10. DARROUDI, F., et al. Detection of total- and partial-body irradiation in a monkey model: a comparative study of chromosomal aberration, micronucleus and premature chromosome condensation assays. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1998, vol. 74, no. 2, p. 207–215.
11. DESAI, N., et al. Simultaneous measurement of multiple radiation-induced protein expression profiles using the Luminex(TM) system. *Adv. Space Res.*, 2004, vol. 34, no. 6, p. 1362–1367.
12. DRIÁK, D., et al. Expression of phospho-Elk-1 in rat gut after the whole body gamma irradiation. *Physiol. Res.*, 2008, vol. 57, no. 5, p. 753–759.
13. EDWARDS, AA. The use of chromosomal aberrations in human lymphocytes for biological dosimetry. *Radiat. Res.*, 1997, vol. 148, no. 5 (Suppl), p. 39–44.
14. FLIEDNER, TM. – CRONKITE, EP. – BOND, VP. Pathogenesis and regeneration of radiation induced bone marrow injury, and therapeutic implications. *Strahlentherapie*, 1962, vol. 51, p. 263–278.
15. FLIEDNER, TM. – NOTHDURFT, W. – STEINBACH, KH. Blood cell changes after radiation exposure as an indicator for hemopoietic stem cell function. *Bone Marrow Transplant.*, 1988, vol. 3, no. 2, p. 77–84.
16. FLIEDNER, TM., et al. Structure and function of bone marrow hemopoiesis: mechanisms of response to ionizing radiation exposure. *Cancer Biother. Radiopharm.*, 2002, vol. 17, no. 4, p. 405–426.
17. FUJIMOTO, K. *Final report of dose estimation for three victims of JCO accident*. Chiba: Japan, National Institute of Radiological Sciences, 2002.
18. GANONG, WF. *Přehled lékařské fyziologie*. Praha, H&H, 1999.
19. CHAUDHRY, MA. Biomarkers for human radiation exposure. *J. Biomed. Sci.*, 2008, vol. 15, no. 5, p. 557–563.
20. International Atomic Energy Agency. Biological dosimetry: chromosomal aberration analysis for dose assessment. *Technical reports series* no. 405. Vienna, IAEA, 2001.
21. JOHNSON, NF., et al. DNA damage-inducible genes as biomarkers for exposures to environmental agents. *Environ. Health Perspect.*, 1997, vol. 105, no. 4 (Suppl), p. 913–918.
22. KANG, CM., et al. Possible biomarkers for ionizing radiation exposure in human peripheral blood lymphocytes. *Radiat. Res.*, 2003, vol. 159, no. 3, p. 312–319.
23. KUBOTA, N., et al. Induction of a particular deletion in mitochondrial DNA by X rays depends on the inherent radiosensitivity of the cells. *Radiat. Res.*, 1997, vol. 148, no. 4, p. 395–398.
24. KUROSE, A., et al. Effects of hydroxyurea and aphidicolin on phosphorylation of ataxia telangiectasia mutated on Ser 1981 and histone H2AX on Ser 139 in relation to cell cycle phase and induction of apoptosis. *Cytometry A.*, 2006, vol. 69, no. 4, p. 212–221.
25. LEMOINE, FJ. – MARRIOTT, SJ. Genomic instability driven by the human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I) oncoprotein. *Tax. Oncogene*, 2002, vol. 21, no. 47, p. 7230–7234.
26. LLOYD, DC. – PROSSER, JS. – PURROTT, RJ. *The study of chromosome aberration yield in human lymphocytes as an indicator of radiation dose*. Report NRPB-M70, National radiological protection board, 1992.
27. LUTGENS, LC. – LAMBIN, P. Biomarkers for radiation-induced small bowel epithelial damage: an emerging role for plasma Citrulline. *World J. Gastroenterol.*, 2007, vol. 13, no. 22, p. 3033–3042.
28. LUTGENS, LC., et al. Citrulline: a physiologic marker enabling quantitation and monitoring of epithelial radiation-induced small bowel damage. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2003, vol. 57, no. 4, p. 1067–1074.
29. MAL'TSEV, VN., et al. The individual prognosis of the gravity and of the outcome of acute radiation disease based on immunological indexes. *Radiat. Biol. Radioecol.*, 2006, vol. 46, no. 2, p. 152–158.
30. NEUMANN, HA. – LÖHR, GW. – FAUSER, AA. Radiation sensitivity of pluripotent hemopoietic progenitors (CFUGEMM) derived from human bone marrow. *Exp. Hematol.*, 1981, vol. 9, no. 7, p. 742–744.
31. NOTHDURFT, W., et al. Acute and long-term alterations in the granulocyte/macrophage progenitor cell (GM-CFC) compartment of dogs after partial-body irradiation: irradiation of the upper body with a single myeloablative dose. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1986, vol. 12, no. 6, p. 949–957.
32. OKUNIEFF, P., et al. Molecular markers of radiation-related normal tissue toxicity. *Cancer Metastasis Rev.*, 2008, vol. 27, no. 3, p. 363–374.

33. PARK, WY., et al. Identification of radiation-specific responses from gene expression profile. *Oncogene*, 2002, vol. 21, no. 55, p. 8521–8528.
34. PEJCHAL, J. – ÖSTERREICHER, J. – VÁVROVÁ, J. Biodozimetrie: dicentrická analýza a předčasná chromozomová kondenzace (PCC). *Voj. zdrav. Listy*, 2007, roč. 76, č. 3, s. 95–104.
35. PEJCHAL, J. Technical arrangement TA7. Final Report. Hradec Králové, FVZ UO, 2006.
36. POVYŠIL, C., et al. *Speciální patologie. I. díl*. Praha, Karolinum, 1995.
37. PRASANNA, PG., et al. Biological dosimetry using human interphase peripheral blood lymphocytes. *Mil. Med.*, 2002, vol. 167, no. 2 (Suppl), p. 10–12.
38. ROBERTS, JJ. – KOTSAKI-KOVATSI, VP. Potentiation of sulphur mustard or cisplatin-induced toxicity by caffeine in Chinese hamster cells correlates with formation of DNA double-strand breaks during replication on a damaged template. *Mutat. Res.*, 1986, vol. 165, no. 3, p. 207–220.
39. ROGAKOU, EP., et al. DNA double-stranded breaks induce histone H2AX phosphorylation on serine 139. *J. Biol. Chem.*, 1998, vol. 273, no. 10, p. 5858–5868.
40. ŘEHÁKOVÁ, Z., et al. CD27(+) peripheral blood B-cells are a useful biodosimetric marker in vitro. *Physiol. Res.*, 2008, vol. 57, no. 4, p. 589–600.
41. SINE, RC., et al. Biodosimetry Assessment Tool: a post-exposure software application for management of radiation accidents. *Mil. Med.*, 2001, vol. 166, no. 12 (Suppl), p. 85–87.
42. SORTIBRÁN, AN. – TÉLLEZ, MG. – RODRÍGUEZ-ARNAIZ, R. Genotoxic profile of inhibitors of topoisomerases I (camptothecin) and II (etoposide) in a mitotic recombination and sex-chromosome loss somatic eye assay of *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 2006, vol. 604, no. 1–2, p. 83–90.
43. STRAUME, T., et al. Molecular and cellular biology of moderate-dose (1-10 Gy) radiation and potential mechanisms of radiation protection: report of a workshop at Bethesda, Maryland, December 17–18, 2001. *Radiat. Res.*, 2003, vol. 159, no. 6, p. 812–834.
44. STRAUME, T., et al. NASA Radiation Biomarker Workshop, September 27–28, 2007. *Radiat. Res.*, 2008, vol. 170, no. 3, p. 393–405.
45. SZEPESI, T. – FLIEDNER, TM. Reversible and irreversible damage to hematopoiesis following unexpected whole body irradiation: markers in peripheral blood. *Wien Klin. Wochenschr.*, 1989, vol. 101, no. 9, p. 309–314.
46. ŠINKOROVÁ, Z., et al. Radiosensitivity of peripheral blood B cells in pigs. *Vet. Med. (Praha)*, 2009, vol. 54, no. 5, p. 223–235.
47. TACHIWANA, H., et al. HIV-1 Vpr induces DNA double-strand breaks. *Cancer Res.*, 2006, vol. 66, no. 2, p. 627–31.
48. TURTOI, A., et al. Early gene expression in human lymphocytes after gamma-irradiation-a genetic pattern with potential for biodosimetry. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2008, vol. 84, no. 5, p. 375–387.
49. VÁVROVÁ, J., et al. Antiapoptotic cytokine IL-3 + SCF + FLT3L influence on proliferation of gamma-irradiated AC133+/CD34+ progenitor cells. *Folia Biol. (Praha)*, 2002, vol. 48, no. 2, p. 51–57.
50. VILASOVÁ, Z., et al. Changes in phosphorylation of histone H2A.X and p53 in response of peripheral blood lymphocytes to gamma irradiation. *Acta Biochim. Pol.*, 2008, vol. 55, no. 2, p. 381–390.

Korespondence: Kpt. MUDr. Jaroslav Pejchal
Univerzita obrany
Fakulta vojenského zdravotnictví
Centrum pokročilých studií
Třebešská 1575
500 01 Hradec Králové
e-mail: jaroslav.pejchal@seznam.cz

Do redakce došlo 16. 7. 2009