

DOZYMETRIA BIOLOGICZNA W XXI WIEKU - KAŻDY NOSI W SOBIE DAWKOMIERZ OSOBISTY

SYLWESTER SOMMER, CENTRUM RADIOBIOLOGII I
DOZYMETRII BIOLOGICZNEJ, INSTYTUT CHEMII I
TECHNIKI JĄDROWEJ W WARSZAWIE

Co to jest dozymetria biologiczna?

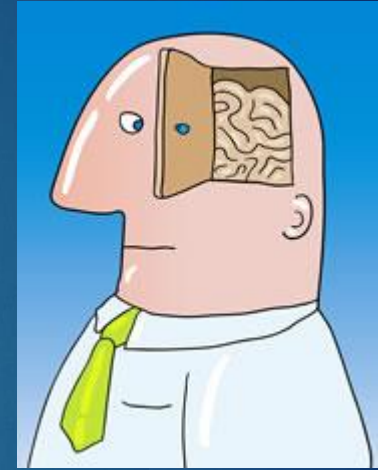
Dozymetria biologiczna pozwala zmierzyć dawkę na podstawie zmian wywołanych przez promieniowanie w naszym ciele.



Dlaczego potrzebujemy dozymetrii biologicznej?

Niewidzialne i nieodczuwalne promieniowanie jonizujące

napromienienie



obiekt nie wie

zaczyna chorować

objawy nie są bardzo specyficzne



lekarz nie wie

zaczyna coś podejrzewać



- ☐ dozymetria biologiczna;
- ☐ ustalenie dawki;
- ☐ korekta leczenia;

Scenariusz drugi

- ✓ procedury medyczne;
- ✓ praca z promieniowaniem;
- ✓ tajne rzeczy związane z wojskiem;

coś poszło nie tak

napromienienie



Obiekt wie;
podejrzanie
napromienienia;

dozymetria fizyczna;
próba rekonstrukcji
zdarzeń;

Pewność, że
dana osoba
została (lub nie)
napromieniona i
rekonstrukcja
dawki

Dozymetria biologiczna



Scenariusz trzeci

Atak terrorystyczny przy
użyciu „brudnej bomby” w
centrum miasta

napromienienie
dużej liczby osób



Obiekty nie wiedzą

wieczorne wiadomości



Jak odróżnić
napromienione osoby
od nie napromienionych
spośród setek osób?

Wszyscy zostali
napromienieni, cierpią
na chorobę
popromienną i tłumnie
udają się do lekarzy;

Dozymetria
biologiczna –
szybki i
uproszczony test
typu „triage”

Scenariusz czwarty

- ✓ procedury medyczne;
- ✓ praca z promieniowaniem;

być może coś
poszło nie tak

nadmierne
napromienienie

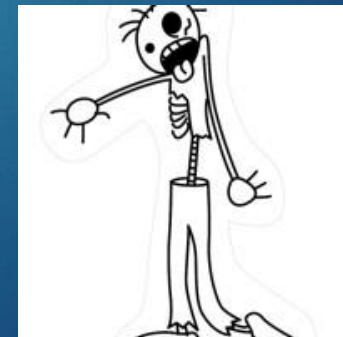


obiekt nie jest
pewien;
objawy zdrowotne;

wszyscy twierdzą, że nic
się nie stało;

czasami może
uspokoić;

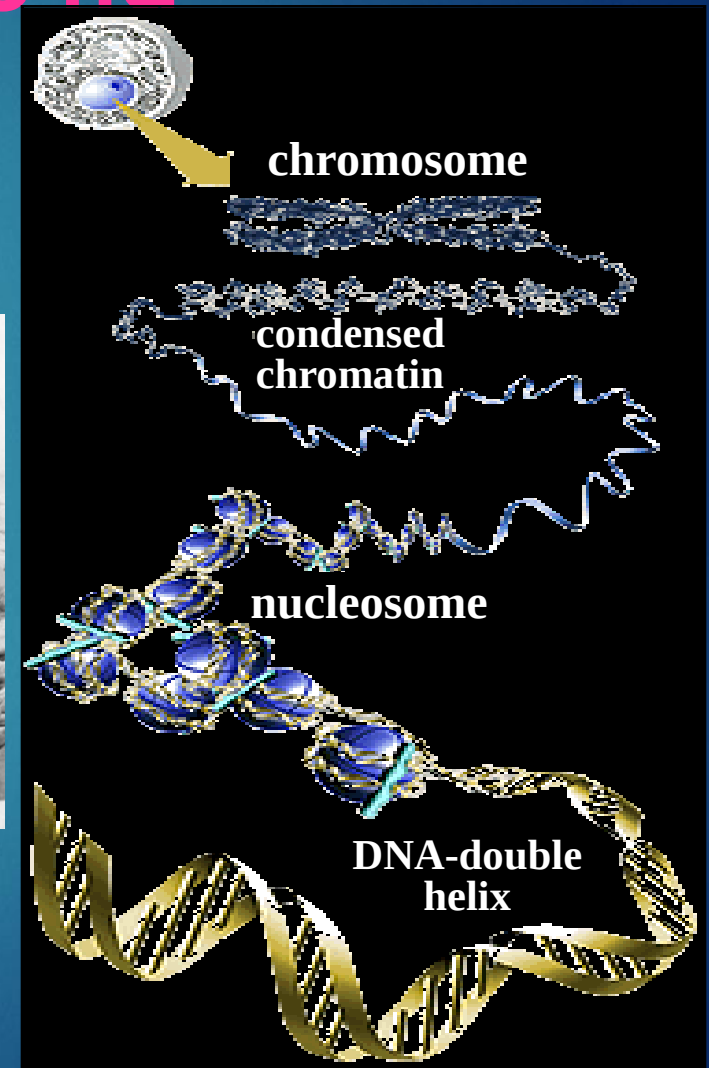
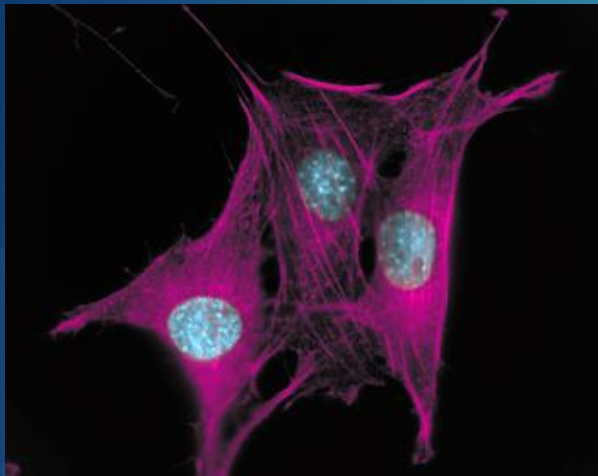
Dozymetria biologiczna



Dlaczego dozymetria biologiczna jest potrzebna – podsumowanie:

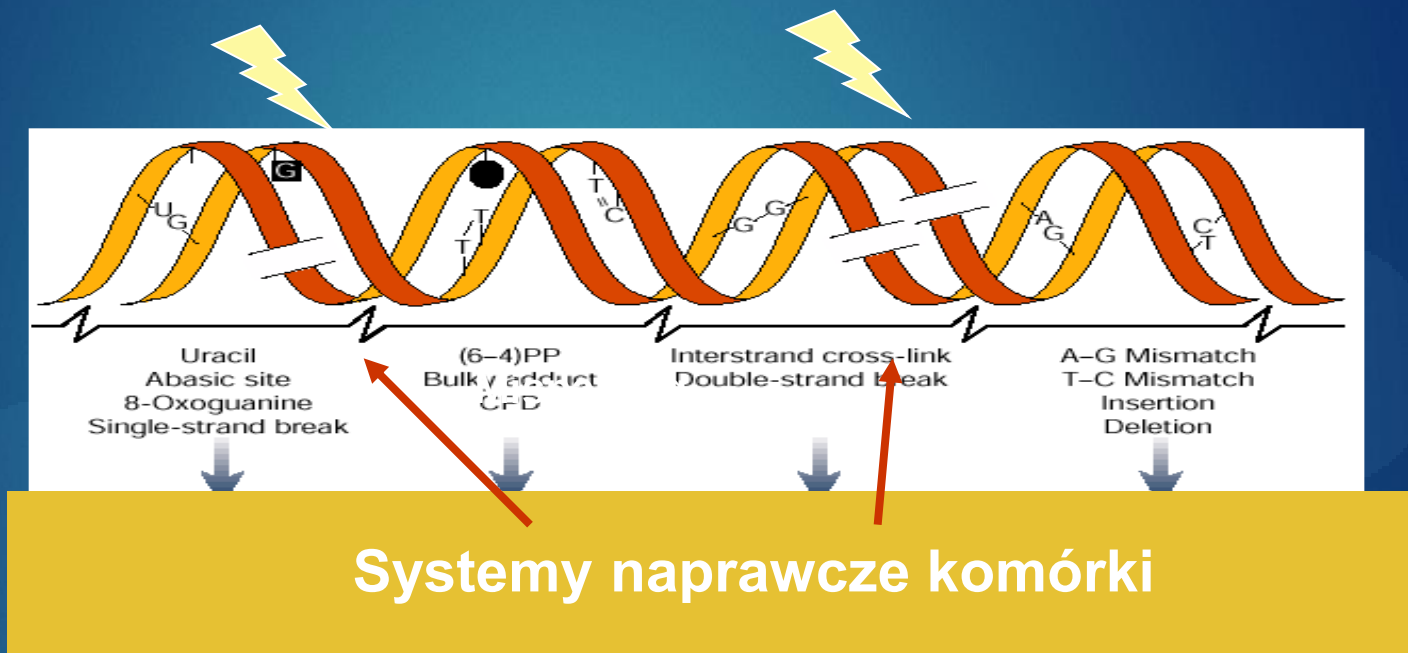
- do oszacowanie dawki, kiedy nie ma możliwości dozymetrii fizycznej – brak dawkomierza;
- ze względów prawnych, pracownik ewentualnie pacjent chce znać dawkę, ze względu np. na odszkodowanie, czy określenie ryzyka związanego z chorobą nowotworową;
- ze względów prawnych: COUNCIL DIRECTIVE 2013/59/EURATOM w razie wypadków radiacyjnych wymaga od państw członkowskich zapewnienia dozymetrii indywidualnej;
- ze względów medycznych – znając dawkę można odpowiednio dobrać procedury medyczne, czy to koktajl cytokich, interferonów i czynników wzrostu, czy przeszczep szpiku czy interwencję medyczną;

W jaki sposób promieniowanie jonizujące oddziałuje na organizm?



Ostra choroba popromienna

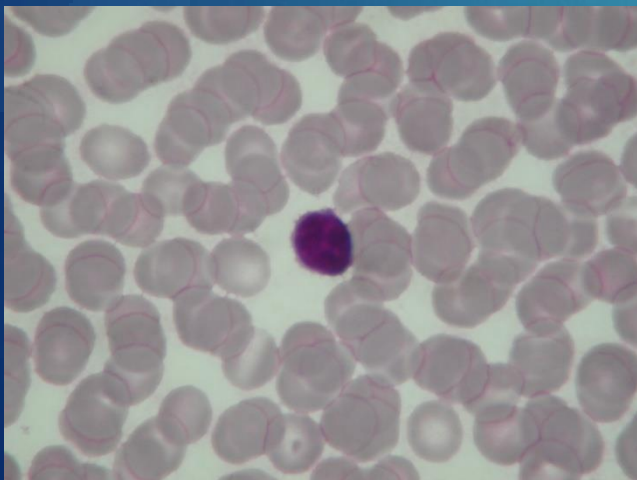
Jak powstają aberracje?



Błędna naprawa może prowadzić do zmian morfologicznych chromosomów zwanych aberracjami.

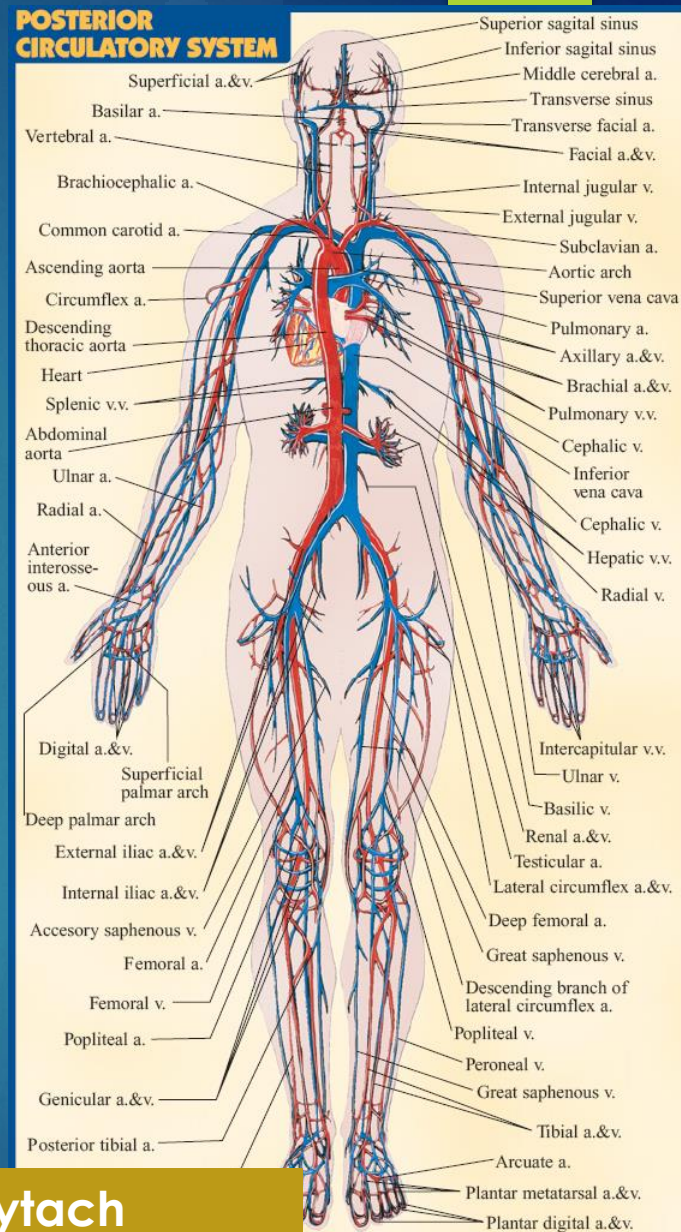
Aberracje analizujemy w limfocytach krwi obwodowej

- pobieranie krwi jest mało inwazyjną metodą;
- limfocyty krążą dosłownie po całym ciele, dzięki czemu nawet w przypadku ekspozycji części ciała część z nich zostanie napromieniona;
- są zsynchronizowane i łatwe w hodowli;



Limfocyt ludzki,
barwienie Pappenheima

Zmiany w limfocytach odzwierciedlają zmiany w komórkach innych tkanek

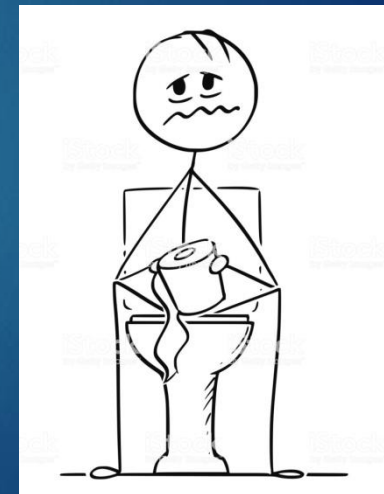


Testy używane w dozymetrii biologicznej

- ▶ zmiany w obrazie krwi,
- ▶ chromosomy dicentryczne,
- ▶ test mikrojądrowy,
- ▶ PCC (premature chromosome condensation) – różne rodzaje,
- ▶ FISH – test translokacji,
- ▶ histon gamma-H2AX;
- ▶ ekspresja białek;
- ▶ mikromacierze;
- ▶ EPR - OSL;

Biodozymetria medyczna – na podstawie objawów

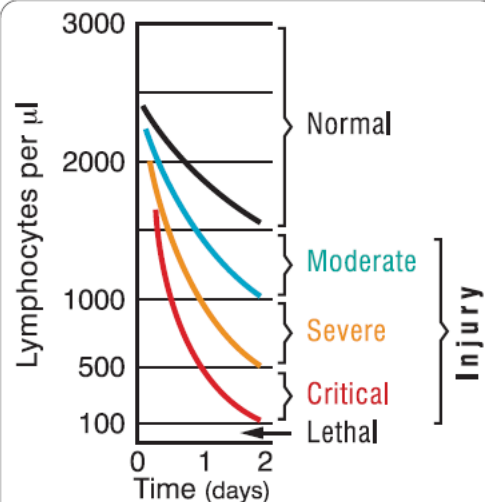
- Spadek liczby elementów morfotycznych we krwi obwodowej;
- Wymioty;
- Biegunka;



Spadek liczby limfocytów we krwi – najważniejszy symptom

European Group for Blood and Marrow Transplantation (2007)

kategoria	I	II	III
po 24 h	$> 1500 \text{ mm}^3$	$< 1500 \text{ mm}^3$	$< 500 \text{ mm}^3$
po 48 h	$> 1500 \text{ mm}^3$	$< 1500 \text{ mm}^3$	$< 100 \text{ mm}^3$



Do not forget recording in parallel neutrophils and platelets

Normalna liczba limfocytów waha się we krwi od 1400 do 3500 w mm^3 (Blakely 2005)

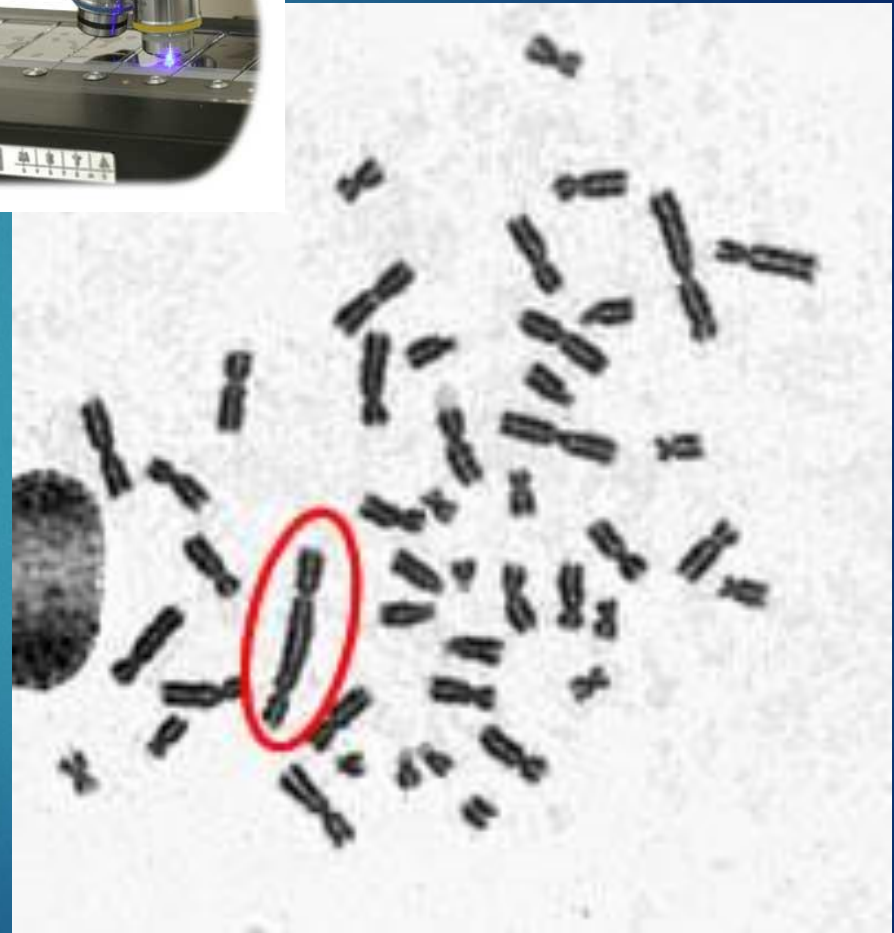
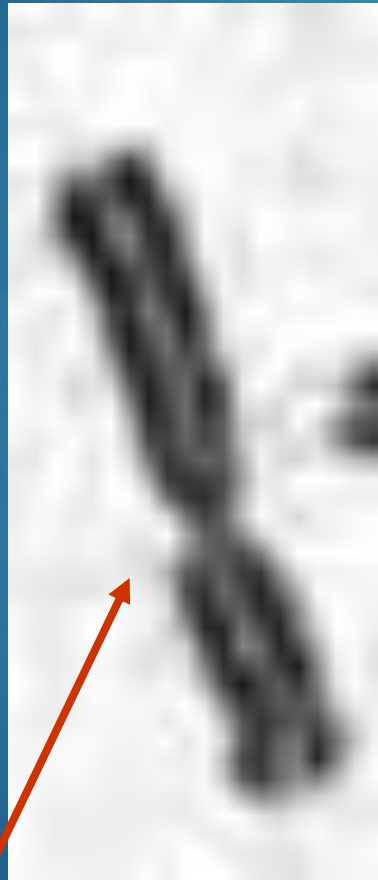
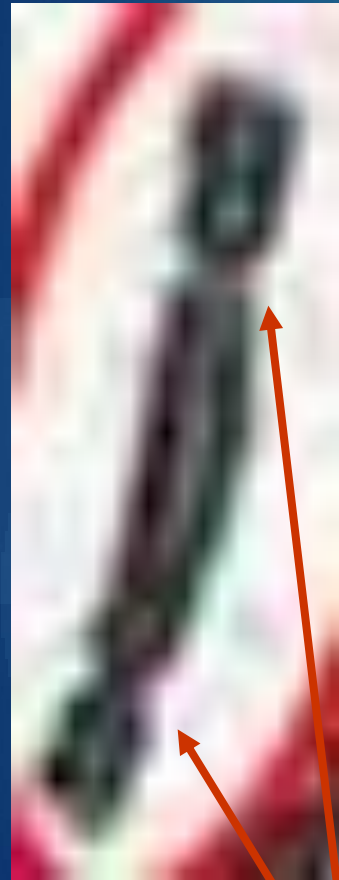
Triage medyczny IAEA 1998

Prodromal Phase of Acute Radiation Syndrome (ARS): Clinical Features Relating To Dose

Symptoms	ARS degree and the approximate dose (Gy) of acute whole body exposure				
	Mild (1-2 Gy)	Moderate (2-4 Gy)	Severe (4-6 Gy)	Very Severe (6-8 Gy)	Lethal * (>8 Gy)
Vomiting	Possible	Likely	Yes	Yes	Yes
Onset	2h after exposure or later	1-2h after exposure	Earlier than 1h after exposure	Earlier than 30min after exposure	Earlier than 10min after exposure
% of incidence	10-50%	70-90%	100%	100%	100%
Diarrhoea	None	None	Mild	Heavy	Heavy
Onset	-	-	3-8h	1-3h	Within minutes or 1h
% of incidence	-	-	<10%	>10%	Almost 100%
Headache	Slight	Mild	Moderate	Severe	Severe
Onset	-	-	4-24h	3-4h	1-2h
% of incidence	-	-	50	80%	80-90%
Level of consciousness	Unaffected	Unaffected	Unaffected	May be altered	Unconsciousness
Onset	-	-	-	-	(may last seconds/minutes)
% of incidence	-	-	-	-	Seconds/minutes
					100% (at >50 Gy)
Body temperature	Normal	Increased	Fever	High Fever	High fever
Onset	-	1-3h	1-2h	<1h	<1h
% of incidence	-	10-80%	80-100%	100%	100%
Medical Response	Outpatient observation	Observation in general hospital If needed - Treatment in specialised hospital	Treatment in specialised hospital	Treatment in specialised hospital	Palliative treatment (symptomatic only)

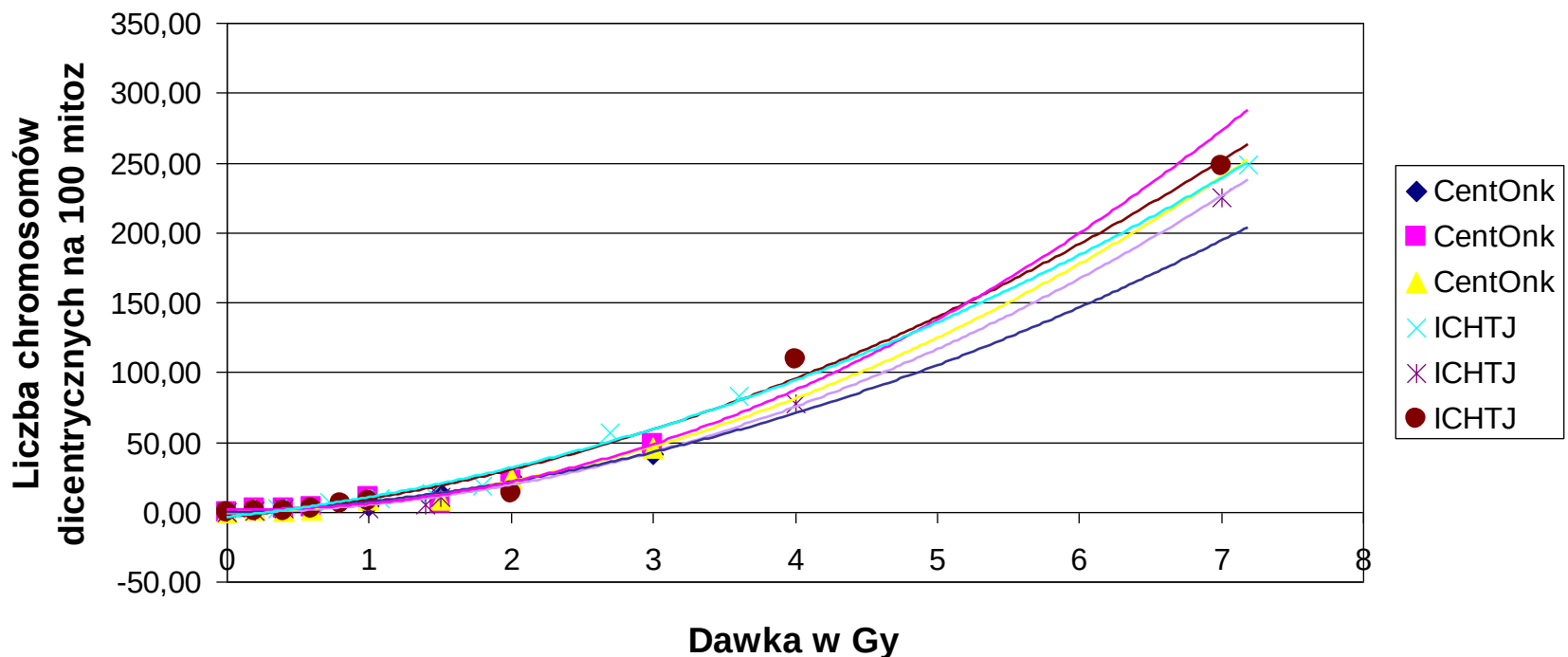
* With appropriate supportive therapy individuals may survive for 6 to 12 months with whole-body doses as high as 12 Gy. Source: Adapted from International Atomic Energy Agency, *Diagnosis and Treatment of Radiation Injuries, Safety Report Series, No. 2, Vienna, 1998.*

Test chromosomów dicentrycznych



centromery

Krzywe dawka – efekt dicentryki, dla promieniowania gamma Co60

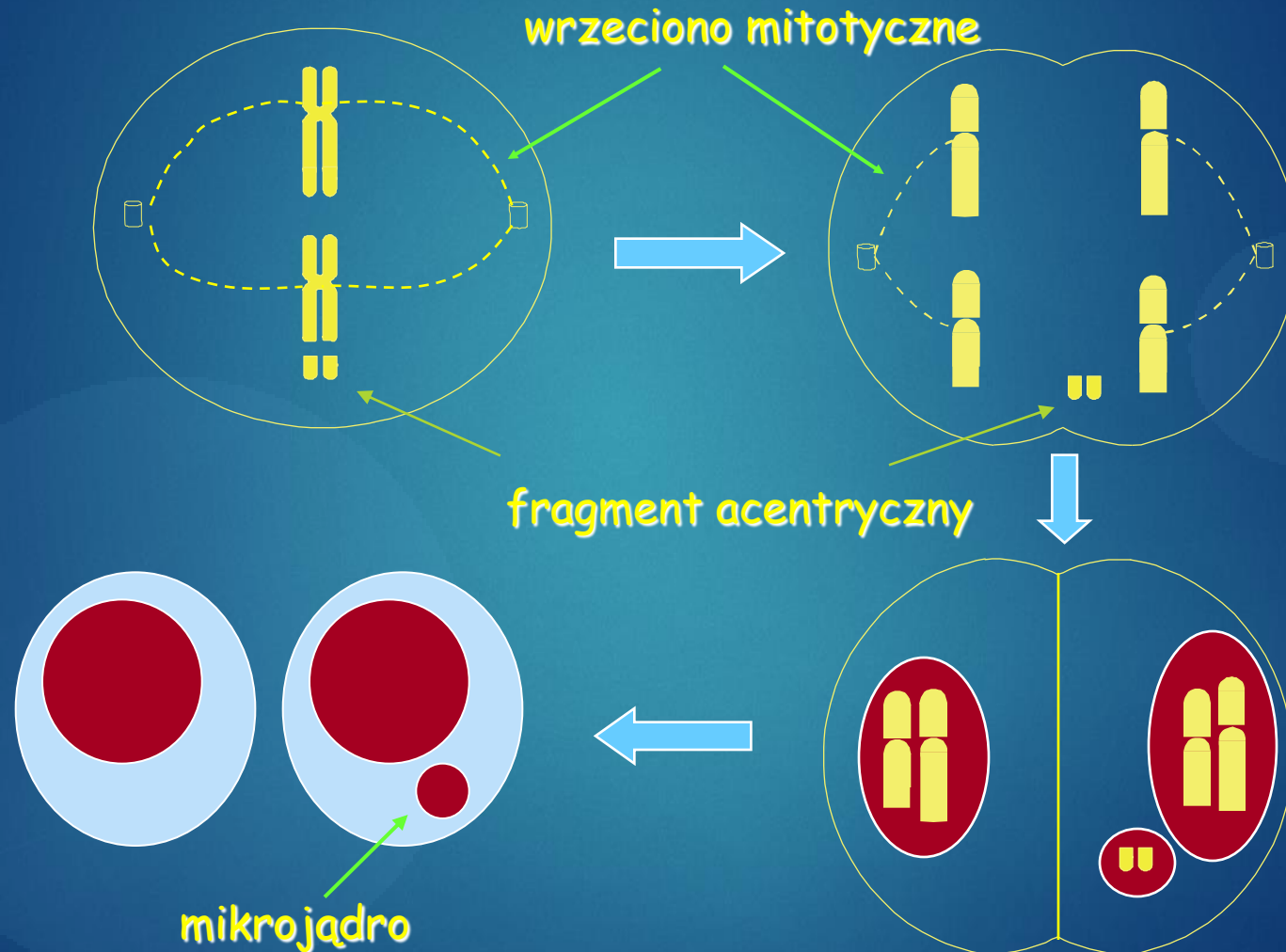


Częstość dicentryków w limfocytach krwi obwodowej jest „złotym standardem: biodozymetrii!!!

- Pozwala wykryć ekspozycje części ciała – limfocyty krwi obwodowej są obecne praktycznie wszędzie w naszym organizmie;
- Dicentryki są indukowane specyficznym promieniowaniem jonizujące;
- Częstość dicentryków w limfocytach pozostaje na tym samym poziomie długi czas po napromienieniu – półokres ich trwania jest szacowany na 3 lata (Buckton 1983);
- Badanie dicentryków jest metodą nieinwazyjną;
- Czułość metody jest wysoka i pozwala oszacować dawki nawet od 0,2 Sv i działa do mniej więcej 5-8 Sv;
- Metoda aczkolwiek nie najprostsza i stosunkowo pracochłonna jest znakomicie udokumentowana i wielokrotnie stosowano ją w praktyce;

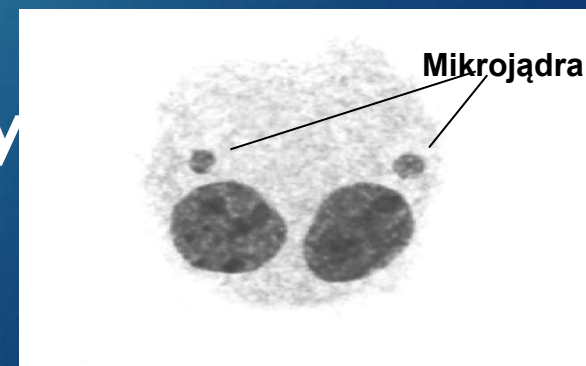
Test mikrojądrowy (Micronucleus assay)

Schemat powstawania mikrojąder popromiennych



Test mikrojądrowy

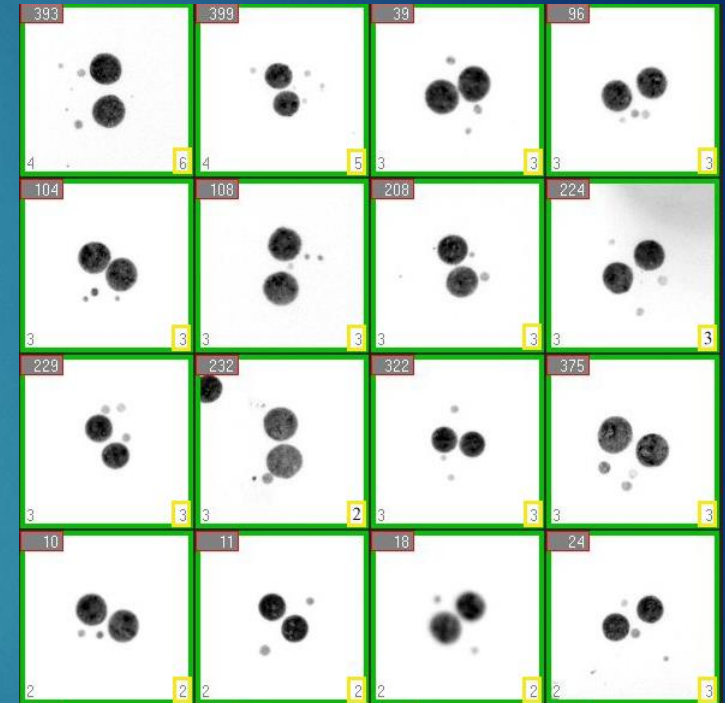
- ▶ Nie jest tak czuły jak test chromosomów dicentrycznych – minimalna wykrywalna dawka to około 0,3 – 0,5 Sv;
- ▶ Nie jest specyficzny dla promienjowania, wiele czynników chemicznych również indukuje powstawanie mikrojąder;
- ▶ Kontrolny poziom mikrojąder jest wysoki i zależy do wieku. Ponadto istnieją różnice pomiędzy dawcami;
- ▶ Limfocyty w trakcie tego testu są hodowane co najmniej przez 70 godzin;
- ▶ Istnieją jednak powody, dlaczego test jest powszechnie używany:
 - prostota analizy
 - nie jest tak bardzo pracochłonny



Automatyzacja liczenia



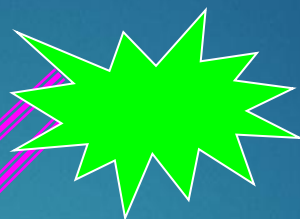
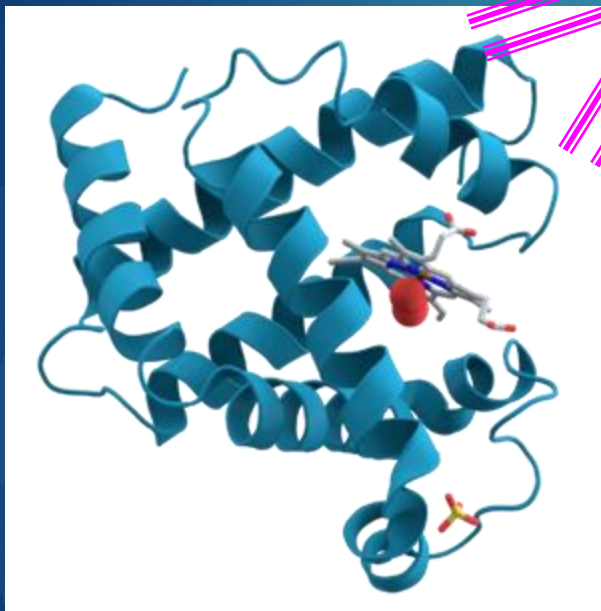
Automatyczny mikroskop Zeiss Imager Z2 sprzężony z systemem do analizy obrazu METAFER4, Metasystems, Niemcy



Galeria komórek dwujądrzastych z mikrojądrami

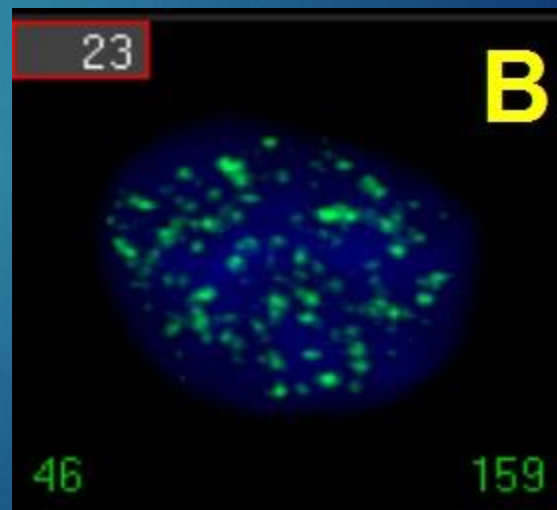
Histon gamma-H2AX

barwienie cytochemiczne



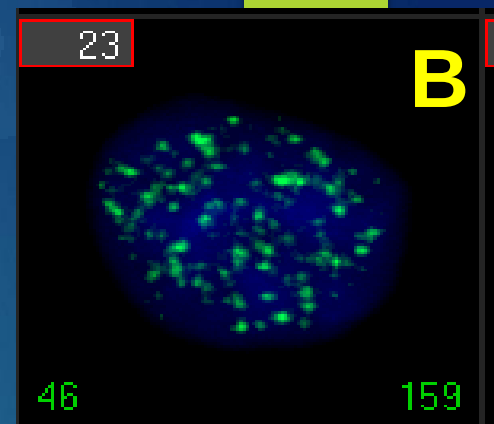
fluorochrom

przeciwciało
monoklonalne





Ogniska histonu gamma-H2AX



- ▶ Obiecująca metoda immunochemiczna, ale nadal niezbyt dobrze opracowana;
- ▶ Działa w zakresie od 0,6 do 2,0 Sv, ale postuluje się że jej czułość to nawet 0,05 Sv;
- ▶ Łatwy i szybki w wykonaniu.

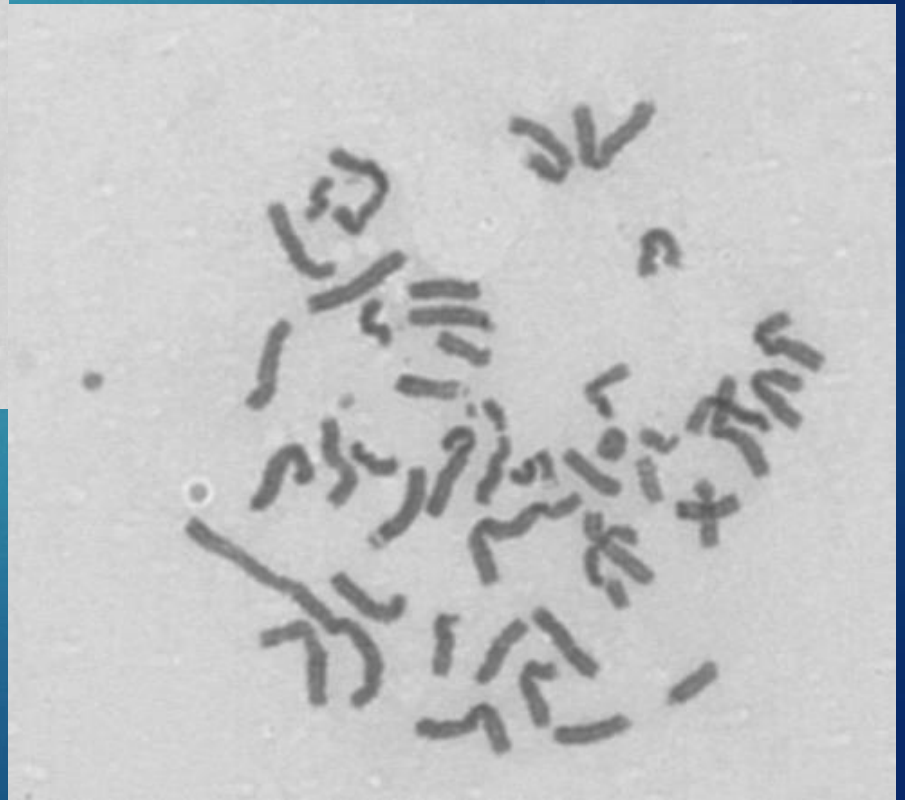
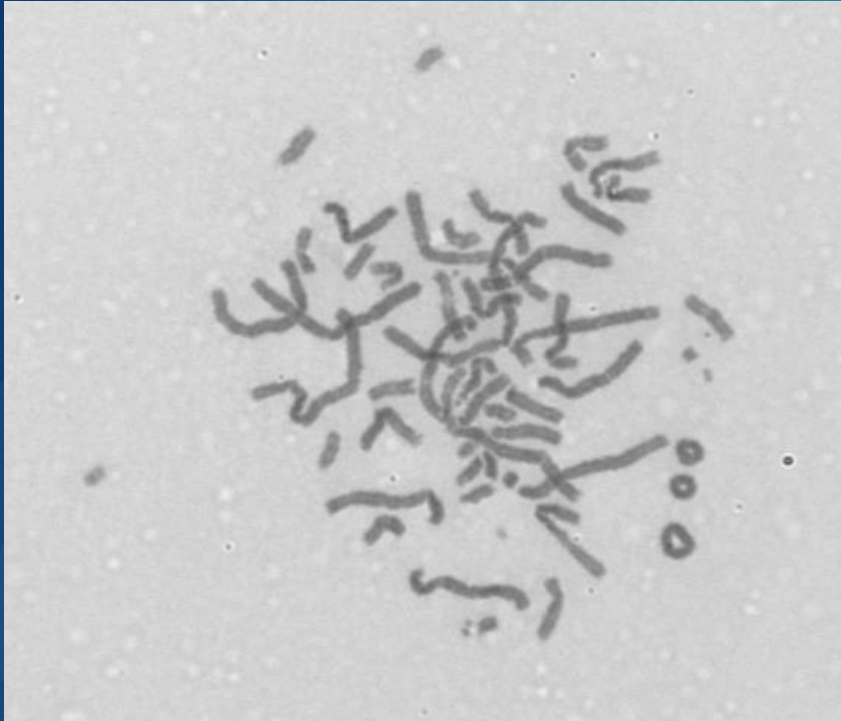
Fusion PCC



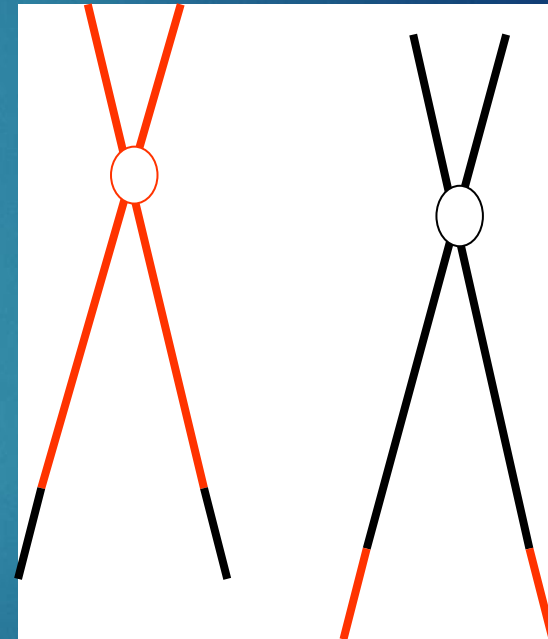
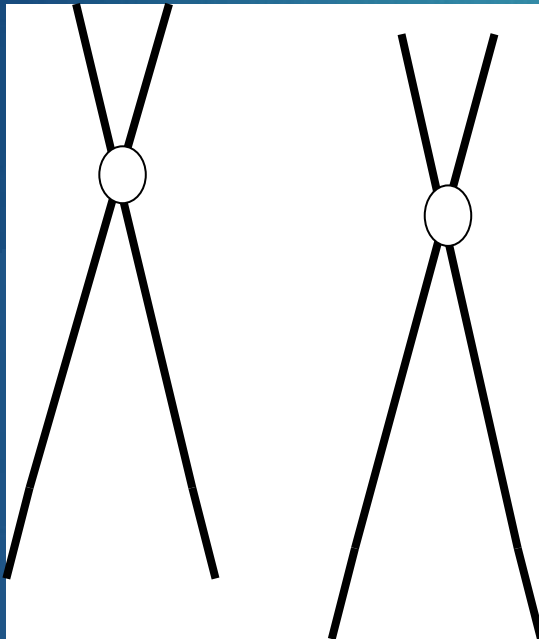
- Uszkodzenia początkowe;
- Liczba fragmentów, lub dicentryki;
- Bardzo dokładna metoda od 0,05 Gy do 30 Gy czy nawet więcej;
- Bardzo pracochłonna;

Chemicznie indukowana PCC

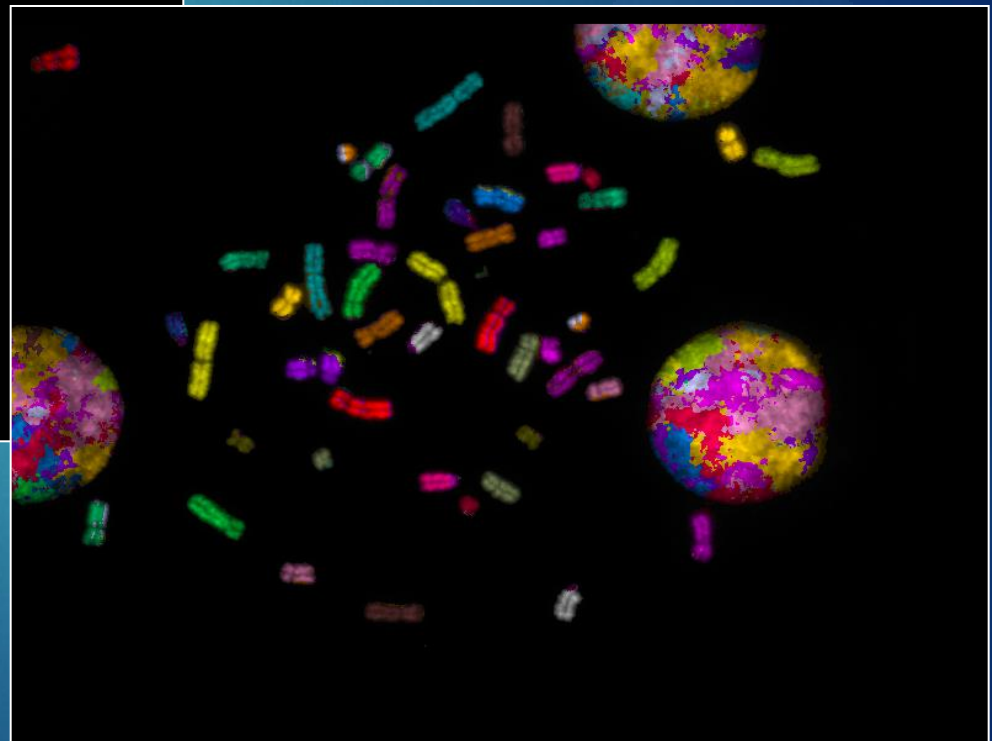
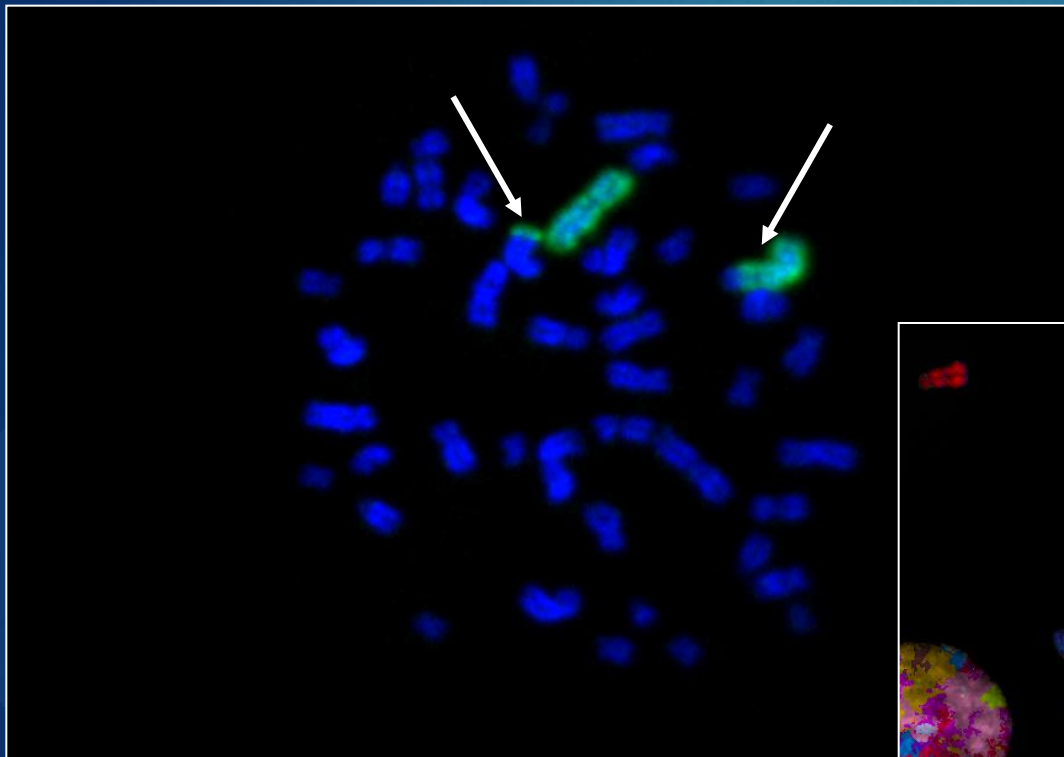
przy wysokich dawkach;



Analiza translokacji – jak powstają?



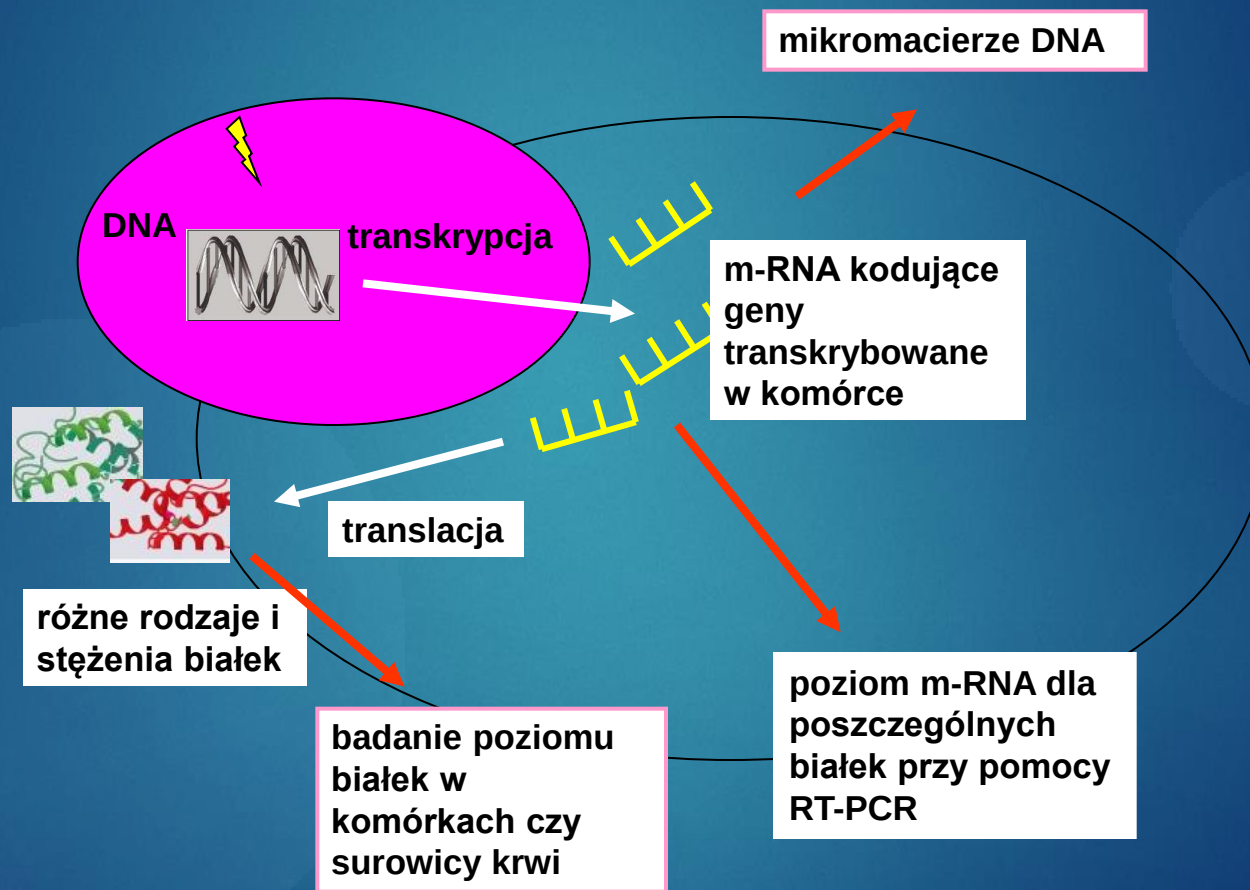
Analiza translokacji



Analiza translokacji

- ▶ Aberracje stabilne, nie powodują śmierci mitotycznej komórek;
- ▶ Dozymetria retrospektywna;
- ▶ W limfocytach;
- ▶ Zakres dawek od 0,1-0,2 Gy do 10 Gy;
- ▶ Droga bo potrzebne malowanie chromosomów;
- ▶ Potencjalnie jako test do analizy działania długotrwałych niskich dawek;

Ekspresja genów, białek



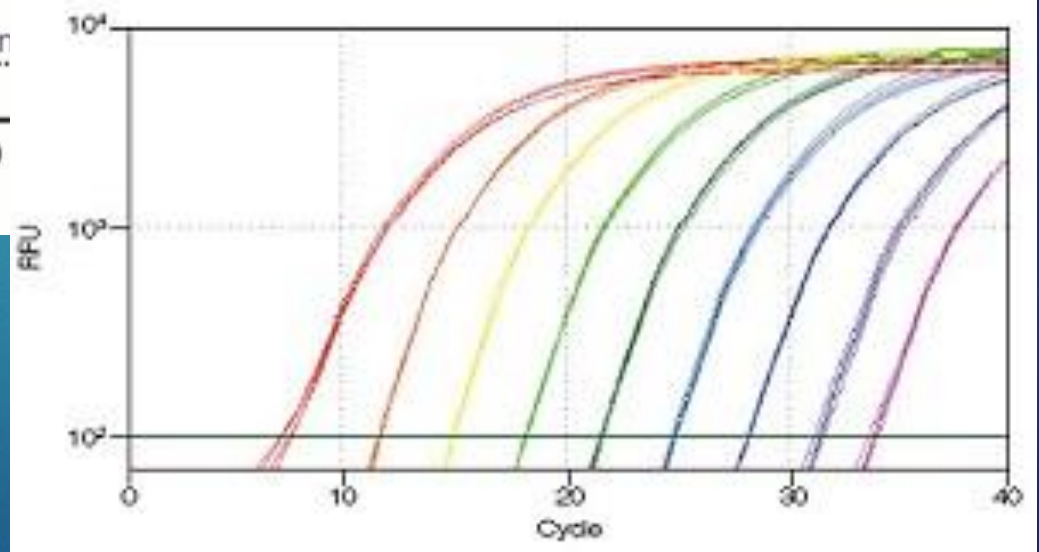
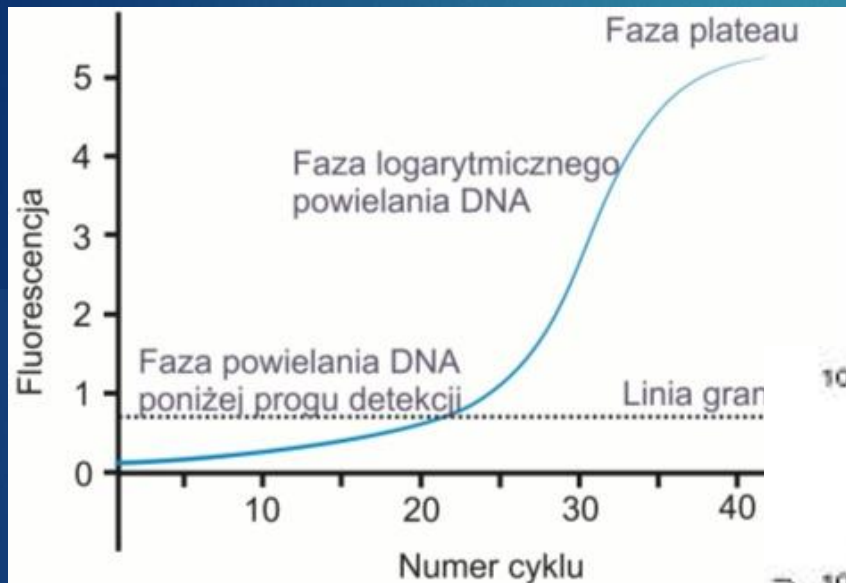
Mikromacierze DNA



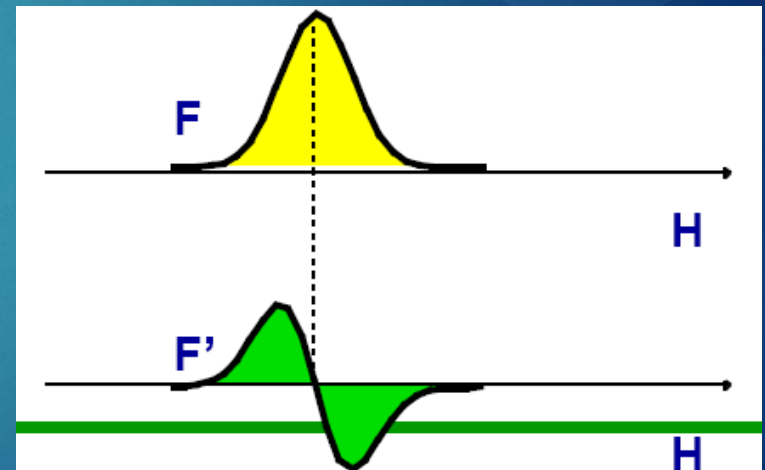
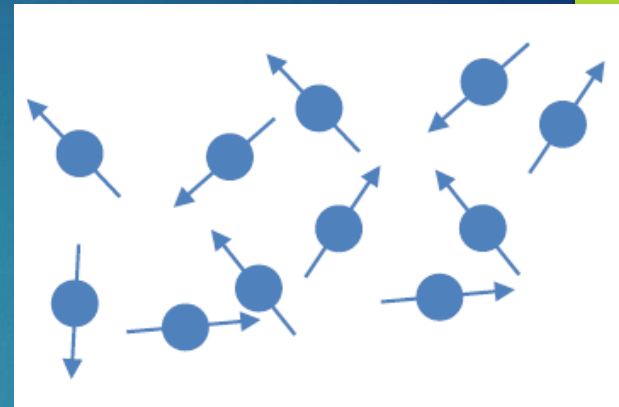
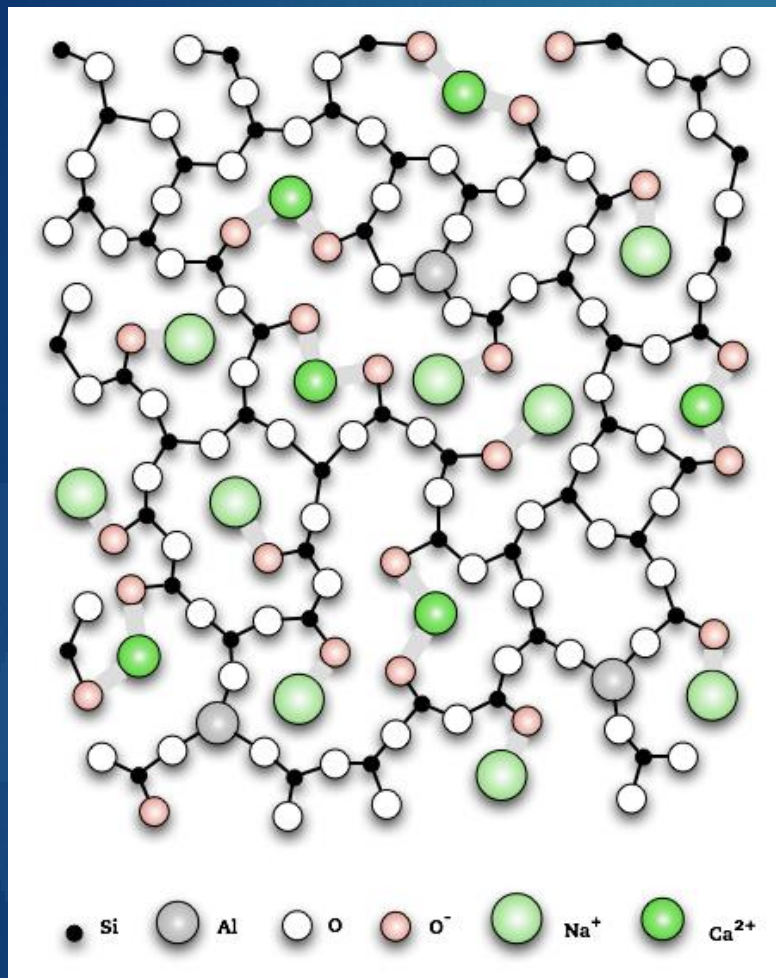
Real-time PCR badanie ekspresji genów

Białka zależne od P53:

GADD45A, CDKN1A, BBC3, BAX,
DDB2, FDXR



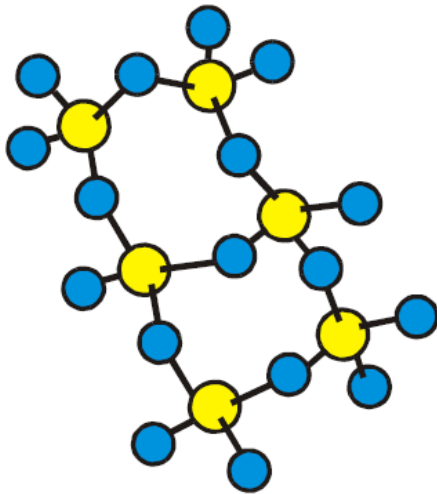
EPR – zasada działania



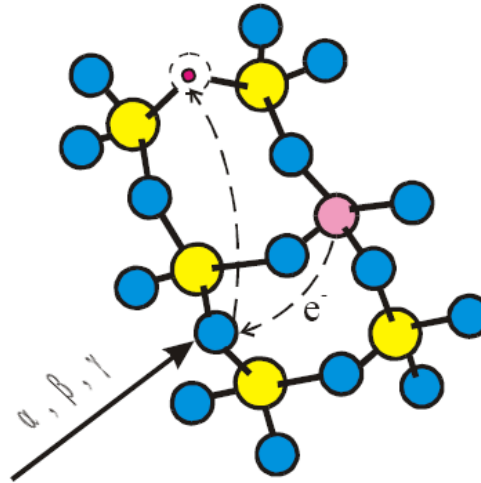
struktura szkła

OSL – zasada działania

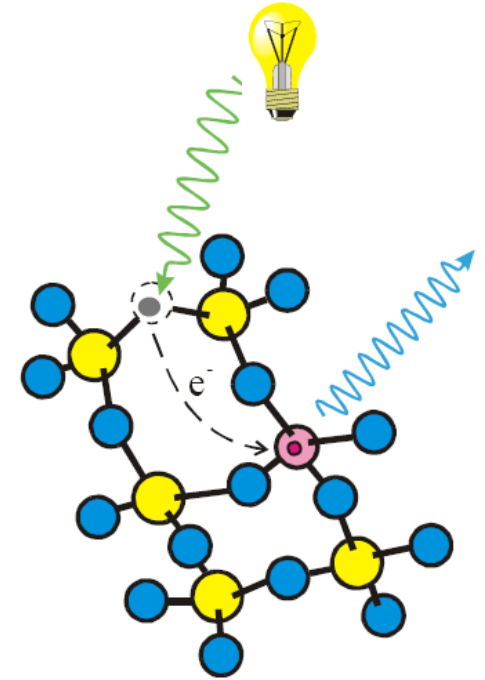
perfect crystal



real crystal



Excitation



Stimulation



EPR – (Electron Paramagnetic Resonance)

Spektroskopia Elektronowego Rezonansu
Paragmatycznego

OSL – (Optically Stimulated Luminescence) optycznie
stymulowana luminescencja

oporniki,
induktory i
kondensory

OSL



szkło
wyświetlaczy

EPR

Dlaczego nikt nie chce dozymetrii biologicznej?

Używana na szczęście jest rzadko, ale czasami by się przydała.



Tyle kasy na utrzymanie?



Wynik:



IFJ, CLOR, ICHTJ?



+



Trendy dozymetrii biologicznej w XXI

- ▶ Automatyzacja testów, użycie zmotoryzowanych mikroskopów i cytometru przepływowego;
- ▶ Akredytacja metod;
- ▶ Nowe metody: biologia molekularna oraz dozymetria fizyczna w materiałach osobistych: samochodach, telefonach itd.
- ▶ Współpraca międzynarodowa – sieci laboratoriów;



A w energetyce jądrowej?

- ▶ Dużo ludzi pracuje i w odpowiednich warunkach i posiadają dawkomierze osobiste oraz skanery skażeń;
- ▶ Brak znaczących dawek promieniowania: jeżeli jakieś dawki są to poniżej 1 mSv;
- ▶ Dawki „pracownicze”, zazwyczaj wielkości części mSv są za niskie, aby je badać dozymetrią biologiczną – która wykrywa dawki liczone w co najmniej 100-kach mSv;
- ▶ Ale w sytuacjach awaryjnych i dla poczucia bezpieczeństwa...
- ▶ Metody mogą być wykorzystywane do monitorowania niskich dawek podawanych w długim czasie oraz niestabilności genetycznej.

Wienie zaurwaga!