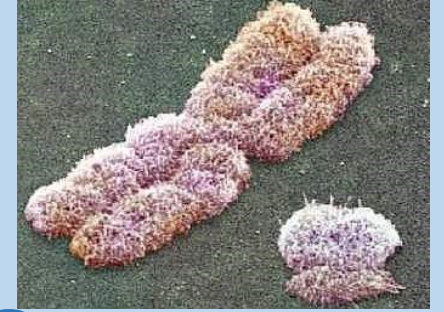




A citogenetikai dozimetria szerepe a sugárvédelemben

Farkas Gy.,¹ Kocsis S. Zs.,¹ Székely G.,¹ Mihály D.,¹ Pesznyák Cs.,^{1,2}

Major T.,¹ Polgár Cs.,^{1,3} Jurányi Zs.¹

Országos Onkológiai Intézet,¹

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem,²

Semmelweis Orvostudományi Egyetem³

Biológiai dozimetria

Biológiai dózis meghatározás baleset esetén, ha nincs személyi doziméter
ill. ha tisztázatlanok a körülmények ill. terápiás hatások vizsgálata.

Biomarkerek az ionizáló sugárzás becslésére

Sejt markerek: Limfocita kinetika

Klonogén assay

Kromoszóma markerek:

Dicentrikus kromoszómák

Mikronukleuszok

PCC

FISH

Protein markerek:

p53 fehérje

γ -H2AX

ATM

Molekuláris markerek:

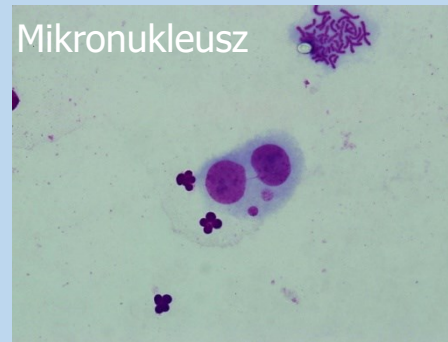
miRNS markerek

Comet assay

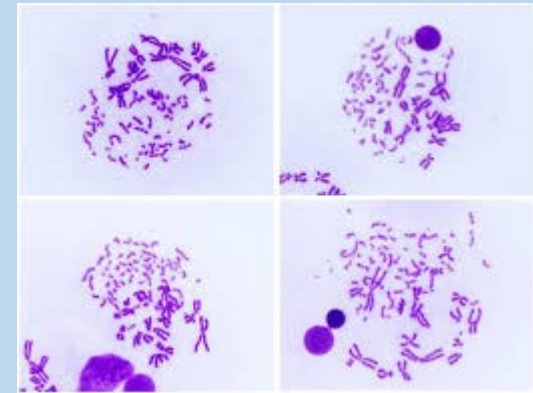
Biokémiai markerek:

ROS, Flt3-Ligand, Citrullin

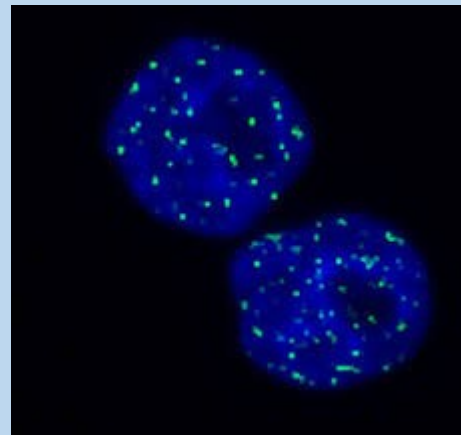
C-reaktív protein



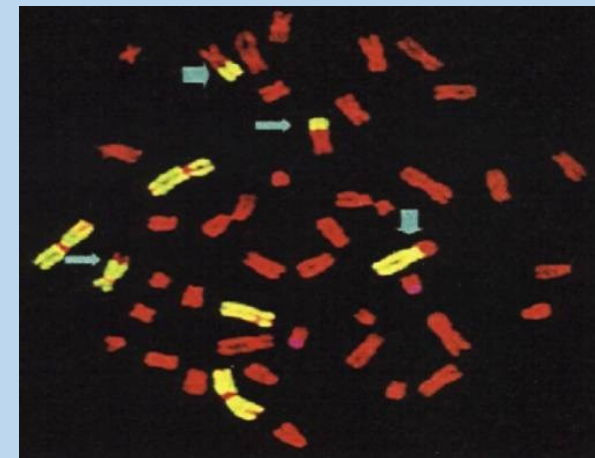
PCC



γ -H2AX

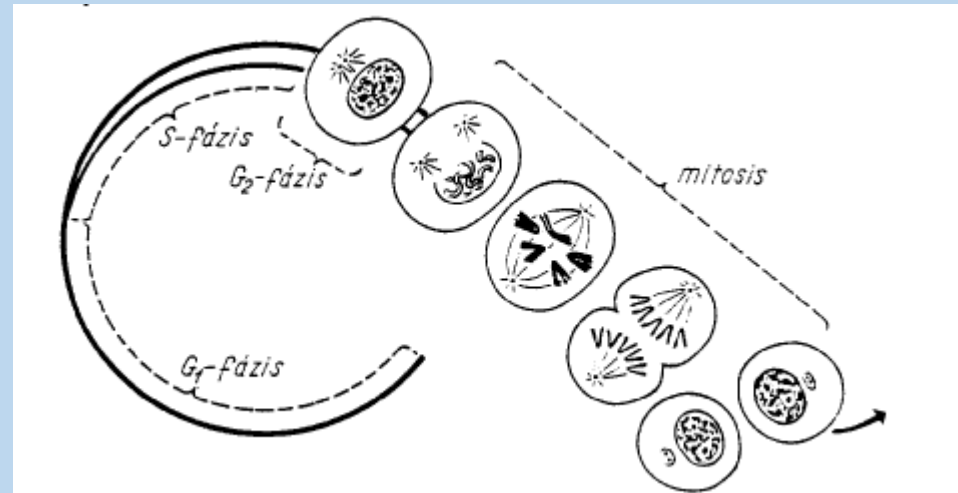
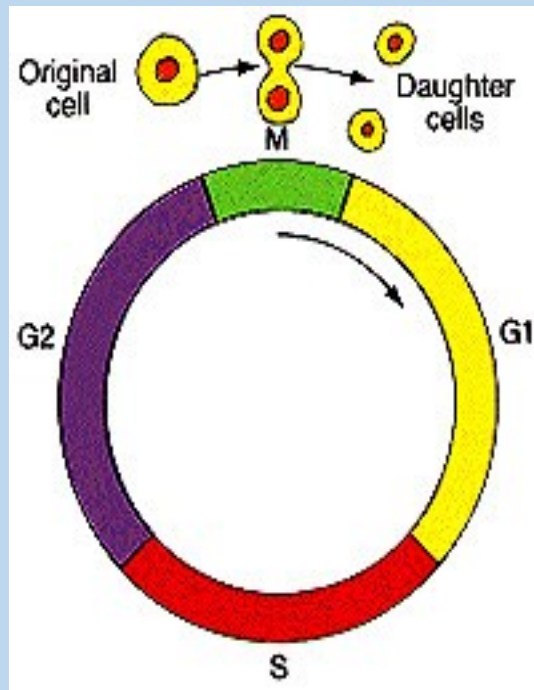


FISH

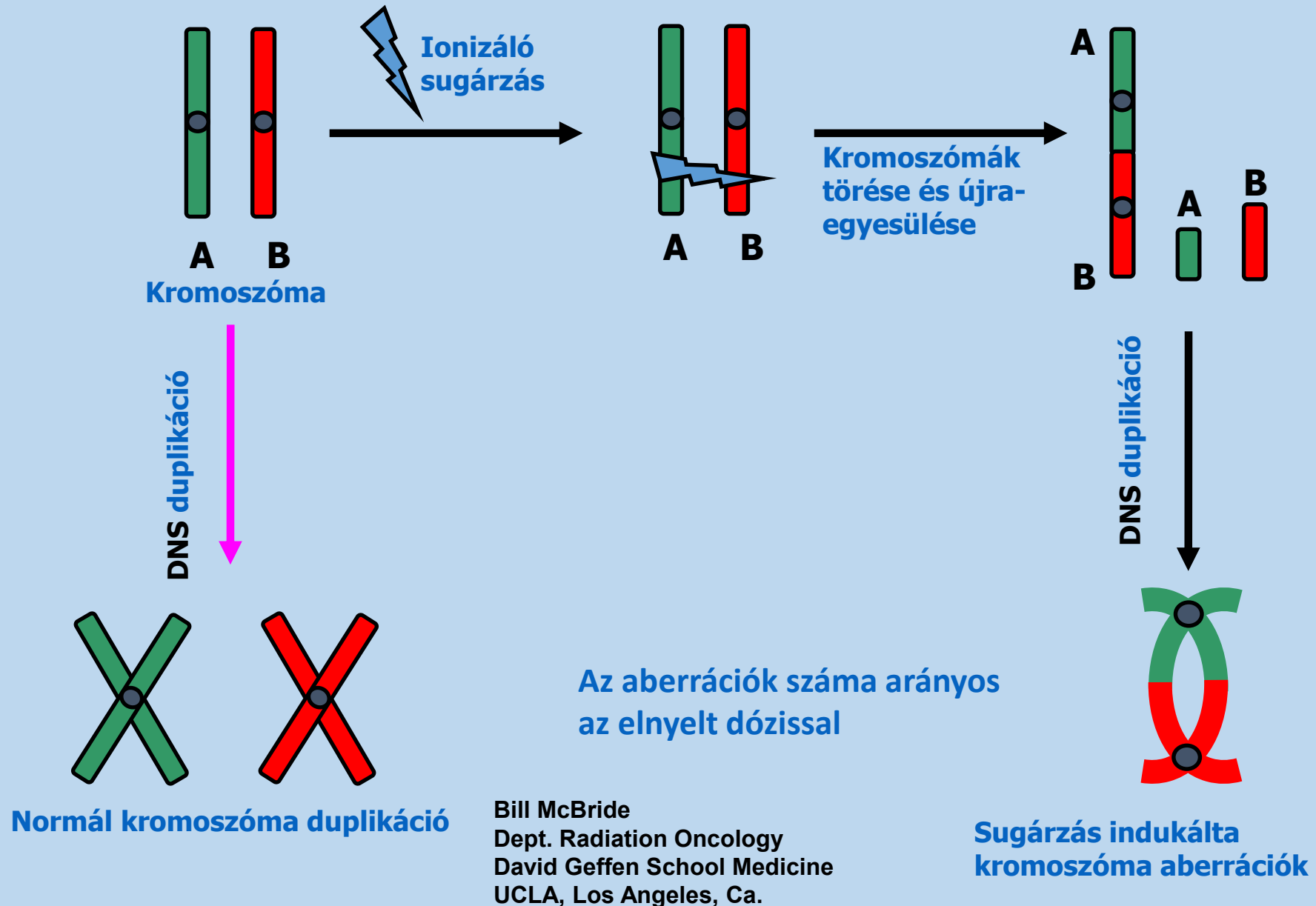


A sejtosztódás

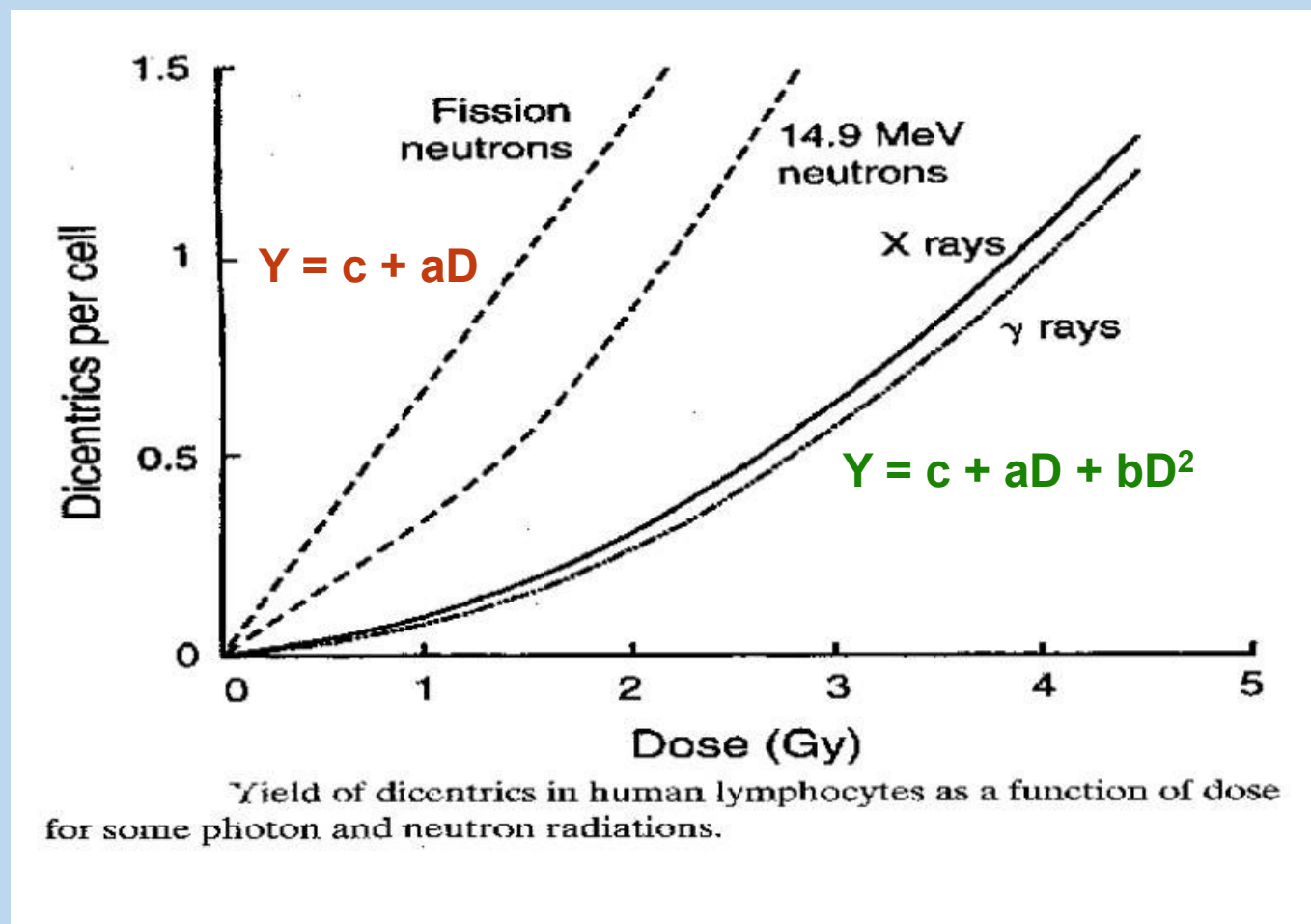
S fázis: szintézis-G2 nyugalmi szakasz-M fázis: mitózis (sejtek osztódása)-
G1 nyug. sz. Metafázisban a kromoszómák jól elkülöníthetők, és
láthatóvá válnak az aberrációk.



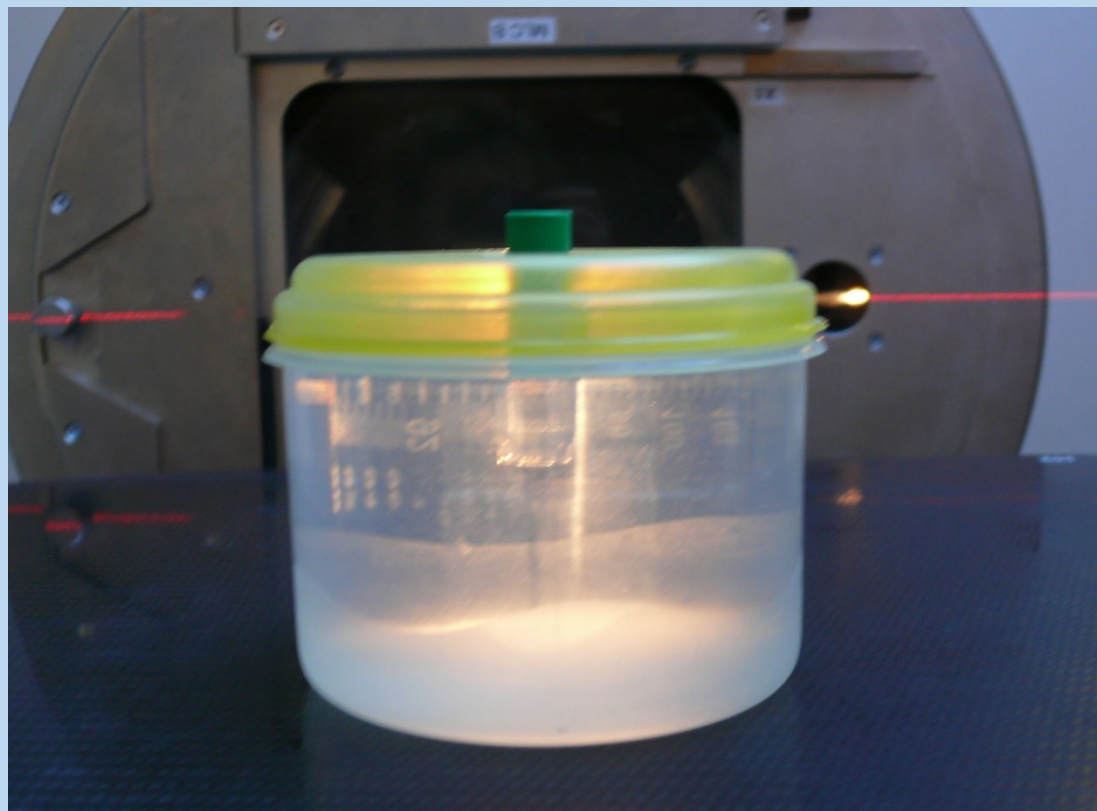
A dicentrikus kromoszóma analízis elvi sémája



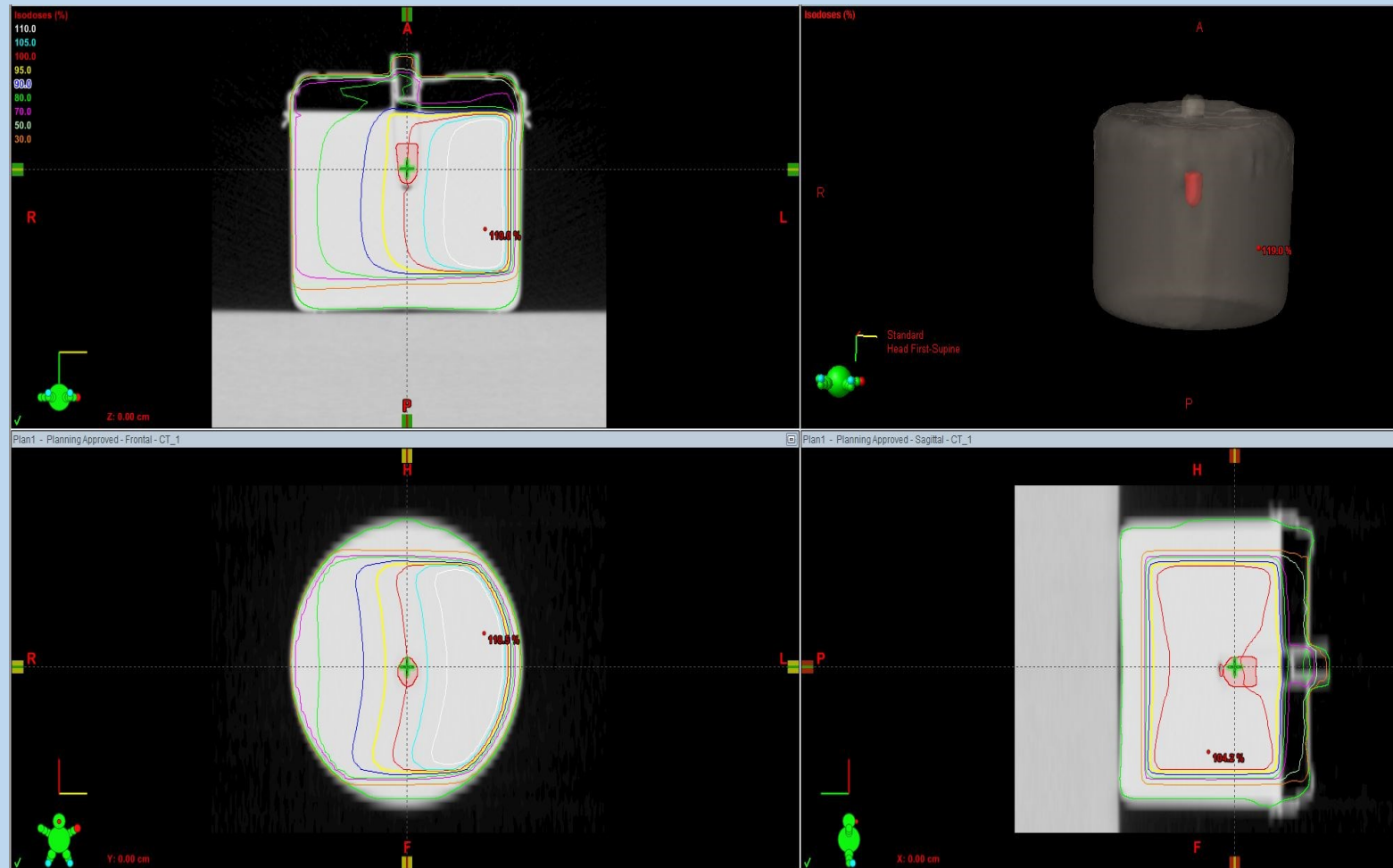
Kromoszóma dozimetria lineáris kvadratikus modell (Bender, 1965)



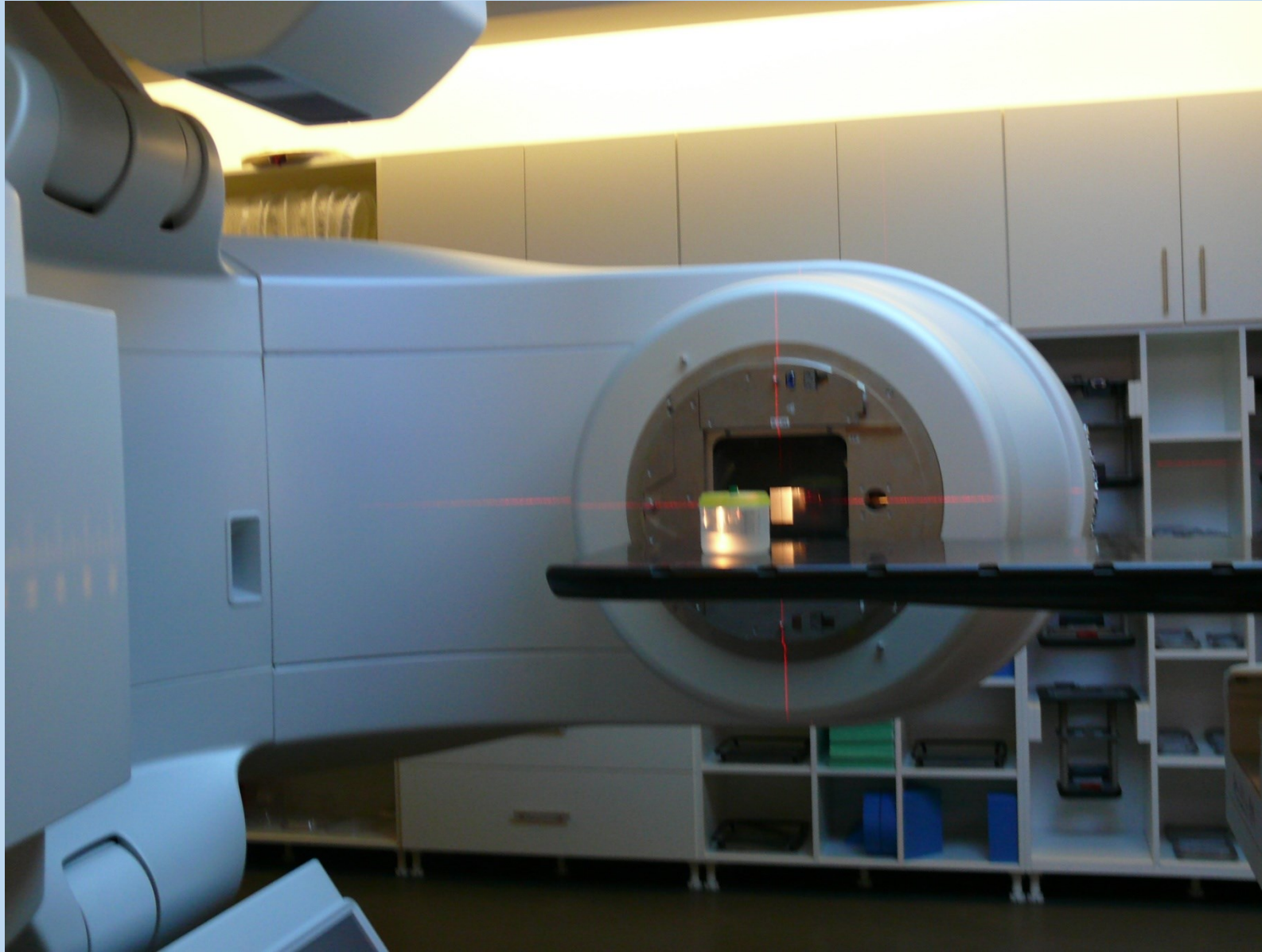
A besugárzó edény
A vér besugárzása: vízzel teli műanyag fantom benne 2 ml-es kriocső.



A besugárzás tervezése (Varian Eclipse program)



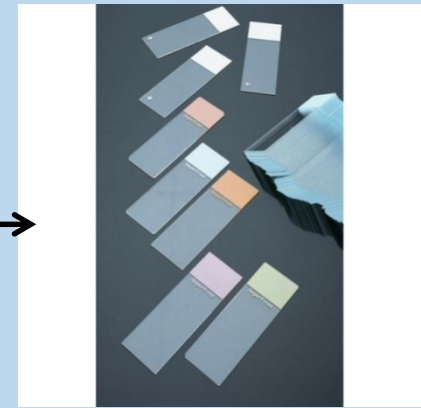
A fantom beállítása a besugárzáshoz (Varian TrueBeam 600 MU/min, 6 MV
FFF módban, 8x8 cm mezőméret)



A limfocita tenyésztés

Miért limfocita? Kevésbé invazív módszer. Az egész szervezetben cirkulál. Könnyű tenésztetni.

Perifériás vér: egészséges önkéntes személyektől (n:3, életkor $43,6 \pm 3,4$ év). A kontroll vér (2 cső) + besugarazott vér (3 cső)-ből limfocita tenyésztés. 1 dózisgörbe 1 személy véreből felvéve, 7 pontból áll. (K, 0,5; 1; 2; 3; 6; 8 Gy). Minden görbét 2-3-szor ismételtünk. 1 pont 200 sejt értékelésének eredménye.



800 ul vér + RPMI tápoldat + PHA

52 óra, 37 C°

Hipotonizálás, fixálás
(KCl, ecetsav+metanol)

kenetkészítés
(Giemsa)

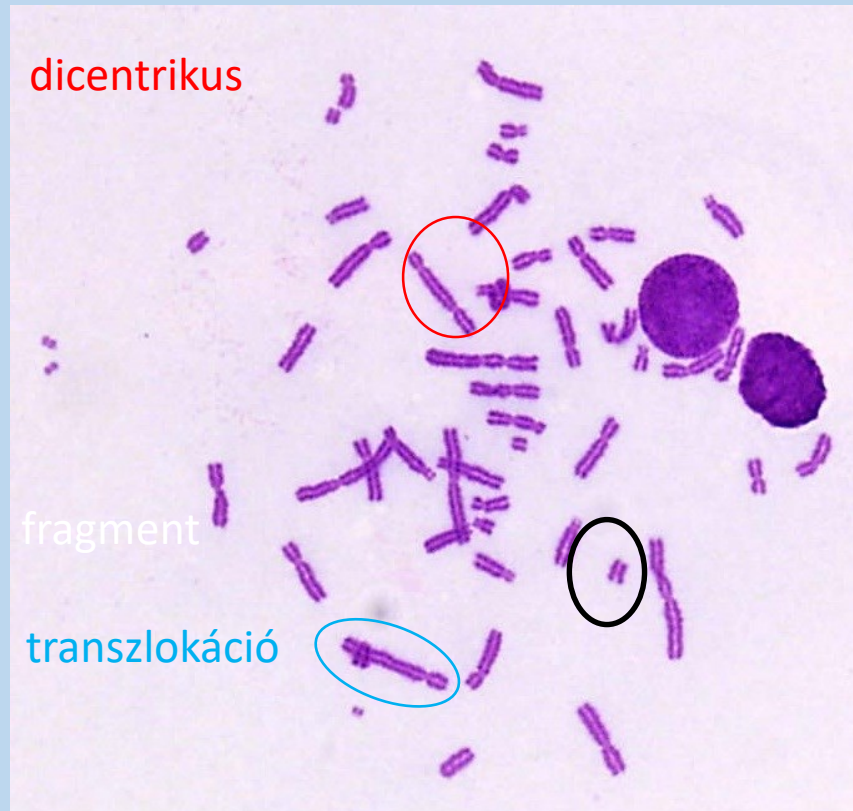
A metafázisos kenetek értékelése

Kromoszómaaberrációk fajtái

Kromatid típusú aberrációk



1. Kromatid kicserélődés , 2. Kromatid törés , 3. Gap



Kromoszóma típusú aberrációk

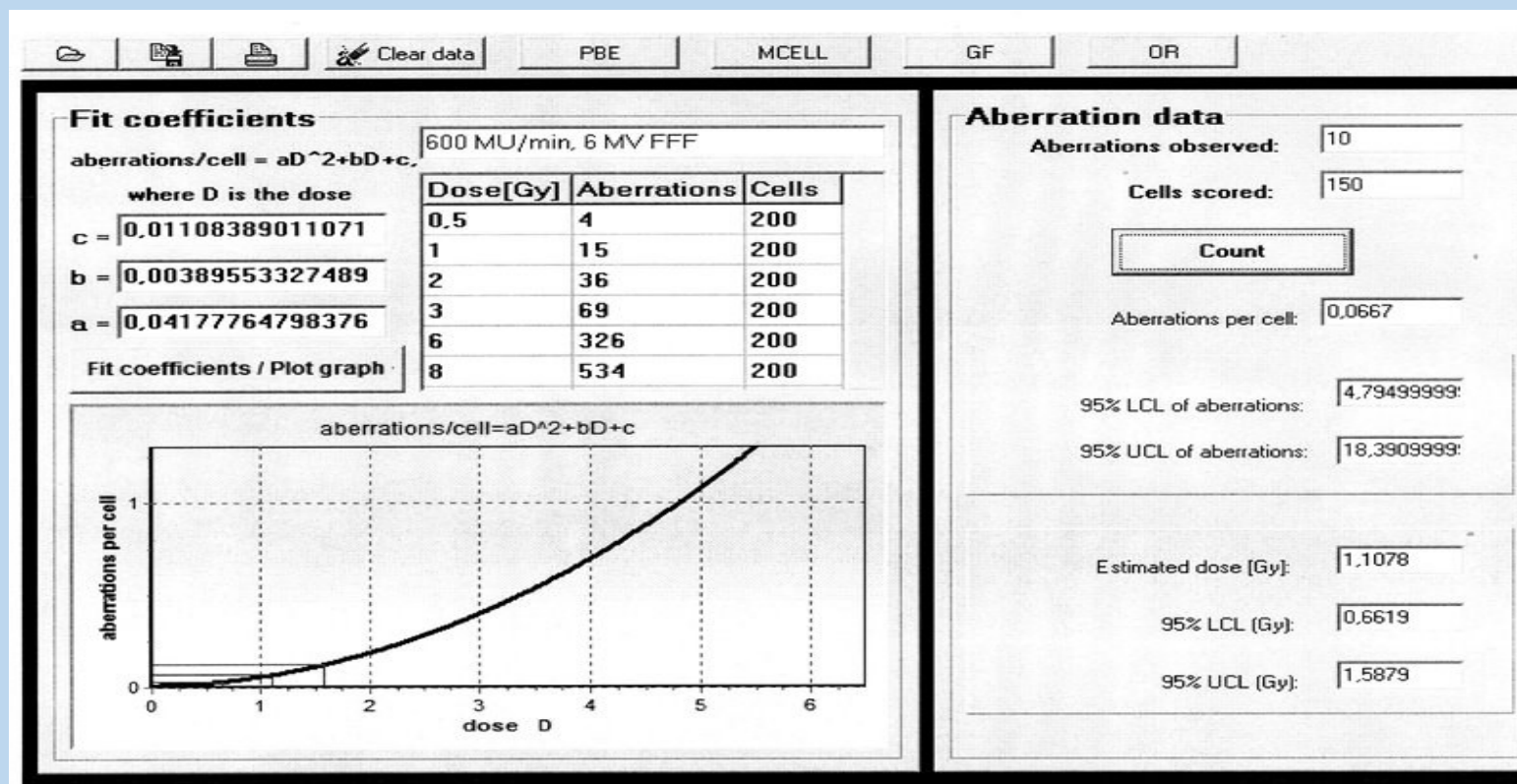
Perifériás vér limfociták kromoszómaaberrációi lineáris gyorsítón történő fotonbesugárzás után

Dózis Gy	Kromoszómaaberrációk $\pm$ SE /100 sejt				
	Kromatid törés	Kromoszóma fragment	Dicentrikus és ring kromoszómák	Transzlokáció	Összes aberráció
0	1,50 $\pm$ 0,70	0,66 $\pm$ 0,66	1,00 $\pm$ 0,57	0	3,16 $\pm$ 1,69
0,5	2,00 $\pm$ 0,44	2,00 $\pm$ 0,95	1,60 $\pm$ 0,60	0	5,80 $\pm$ 1,77
1	2,33 $\pm$ 1,33	4,66 $\pm$ 0,88	6,00 $\pm$ 2,00	0,66 $\pm$ 0,33	13,66 $\pm$ 3,28
2	4,20 $\pm$ 1,16	13,40 $\pm$ 2,48	14,00 $\pm$ 3,86	1,80 $\pm$ 0,91	33,40 $\pm$ 5,87
3	6,66 $\pm$ 4,25	19,33 $\pm$ 4,97	31,00 $\pm$ 4,36	3,33 $\pm$ 0,66	63,33 $\pm$ 5,36
6	5,25 $\pm$ 1,75	70,50 $\pm$ 8,88	152,25 $\pm$ 12,01	11,5 $\pm$ 4,13	247,00 $\pm$ 16,41
8	4,00 $\pm$ 1,73	163,66 $\pm$ 34,50	272,75 $\pm$ 6,21	19,00 $\pm$ 6,15	469,00 $\pm$ 27,53

Perifériás vér limfociták dicentrikus és ring kromoszómaaberrációinak megoszlása lineáris gyorsítón történő fotonbesugárzás után

Dózis,Gy	Vizsg. sejtszám	Dic+R átl/ sejt	Dic+R össz.	Dicentrikus és ring kromoszómák megoszlása									σ^2/γ	U érték
				0	1	2	3	4	5	6	7	8		
0	100	0,01	1	99	1	0	0	0	0	0	0	0	-0,91	-0,1
0,5	200	0,02	4	196	4	0	0	0	0	0	0	0	-0,64	-0,28
1	200	0,08	15	186	13	1	0	0	0	0	0	0	0,02	1,38
2	200	0,18	36	168	28	4	0	0	0	0	0	0	1,03	0,60
3	200	0,35	69	141	50	8	1	0	0	0	0	0	2,03	-0,38
6	200	1,63	326	47	58	44	30	16	4	1	0	0	3,40	-0,78
8	200	2,67	534	30	21	44	37	31	18	10	1	1	4,32	0,40

A dicentrikus és ring kromoszómák dózisgörbéje, CABAS program



Deperas J. et al. CABAS –a freely available PC program for fitting

Calibration curves in chromosome aberration dosimetry. Radiat.Prot. Dosimery2007;124:115-123.

Gyakorlati példák a biodozimetria alkalmazására

- *Esetismertetés:* sugárterápiás asszisztens TL-dózismérője 670 mSv, Nem dolgozott minden nap sugárterápiás munkában, csak azokon a napokon viselte a dozimétert, a doboz, amiben tárolta a besugárzó helyiségbe került. A kromoszómavizsgálat eredménye: 1 dic kr./300 sejt, összes aberráció < 5%. NEM történt expozíció!

Emlőtumoros betegek sugárérzékenységének vizsgálata

Bizonyos genetikai mutációk esetén ill. a repair rendszer működési zavara esetén fokozott sugárérzékenység jelentkezik. A terápiás kezelés előtt a vér in vitro besugarazása 3 és 6 Gy-vel jelzi a fokozott sugárérzékenységet.

Terápiás kezelésnél alkalmazott kezelési eljárások összehasonlítása a dózisgörbékkel

Pl. Dózisteljesítmény, energia, dózisfrakció, szűrő.

Összefoglalás

- A dóziszgörbék segítségével baleset esetén becsülhető a szervezetet ért dózis.
- A CABAS (Calibration Curves in Chromosome Aberration Dosimetry) program egy felhasználóbarát program, amellyel a sugárhatásra létrejövő kromoszómaaberrációk alapján a sugárdózisra következtethetünk. A program a dóziszgörbe szerkesztés ill. a dózisbecslés mellett olyan modult is tartalmaz, amellyel parciális besugárzás is számolható, ill. megadható az a sejtszám, ami egy adott dózis becsléséhez szükséges. Valamint frakcionált besugarazás esetén is használható.
- A kromoszómaaberrációk mértéke függ a besugarazás energiájától, a dózisteljesítménytől, szűrő alkalmazásától. Minden labor saját dóziszgöribével rendelkezzen!
- A dicentrikus és ring kromoszómák mellett az összes aberráció is hasonlóan alkalmas dózisbecslésre.
- A biodozimetria segítségével hasznos információt kaphatunk az eltérő terápiás kezelések citogenetikai hatásának összehasonlítására is.

Köszönetnyilvánítás

Készült a Somos Alapítvány
támogatásával.

A szerzőkön kívül a következő
kollégák
vettek részt a munkában:

Besugarazás:

Zongor Zsuzsánna fizikus

Stelczer Gábor fizikus

Citogenetikai értékelés:

Vass Nagyezsda szakasszisztens

Kiss Krisztina asszisztens



Köszönöm a figyelmet!