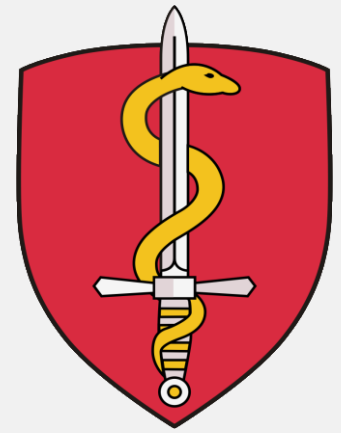


# Biologická dozimetrie: srovnání vybraných experimentálních přístupů

<sup>1</sup>Mgr. Marcela Jeličová, <sup>1</sup>Mgr. Anna Lierová, <sup>1</sup>doc. MVDr. Zuzana Šinkorová, PhD., <sup>2</sup>Ing. Radovan Metelka, PhD.

marcela.jelicova@unob.cz



<sup>1</sup>Katedra radiobiologie, Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany v Brně, Hradec Králové, Česká republika

<sup>2</sup>Katedra analytické chemie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, Pardubice, Česká republika



## Úvod

Ionizující záření má velmi negativní vliv na zdraví člověka, a proto je kladen důraz na co nejpřesnější určení velikosti absorbované dávky u ozářených osob. Současný trend zpětné rekonstrukce obdržené dávky ionizujícího záření se zaměřuje na metody sledující změny na buněčné a molekulární úrovni organismu. Cílem biologické dozimetrie je hledat nové přístupy, jež by výrazně urychlily a zjednodušily analýzu a vyhodnocení a tím zefektivnily třídění a následnou terapii suspektně ozářených jedinců v případě hromadné expozice ionizujícímu záření.

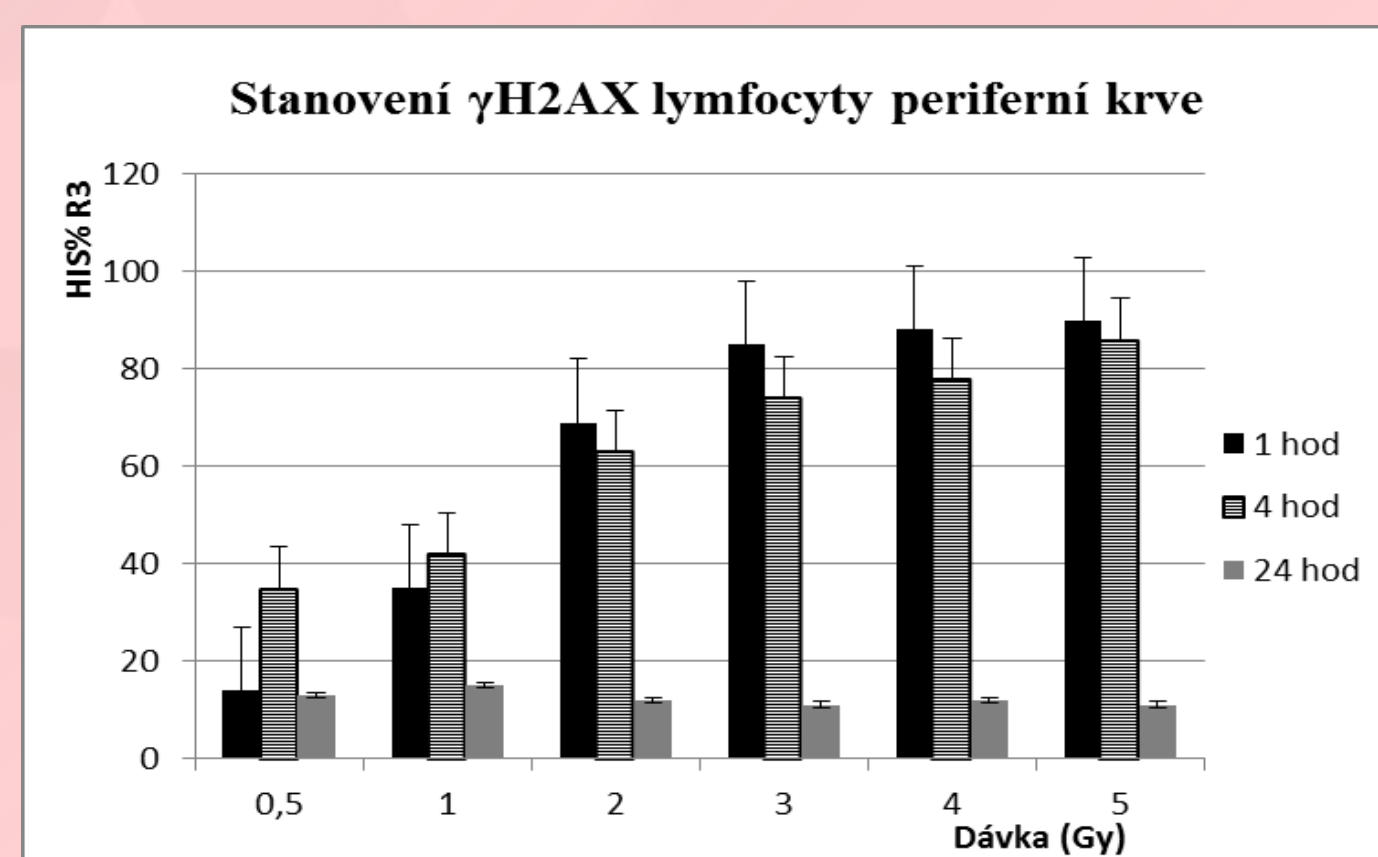
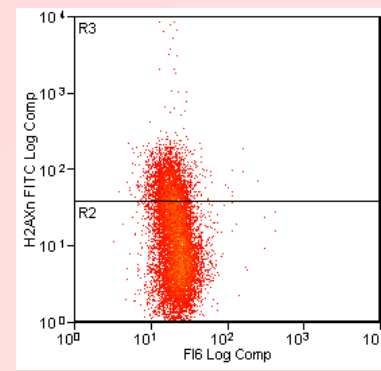
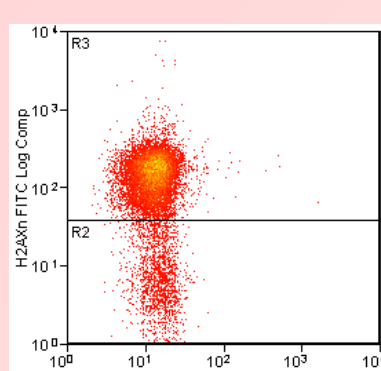
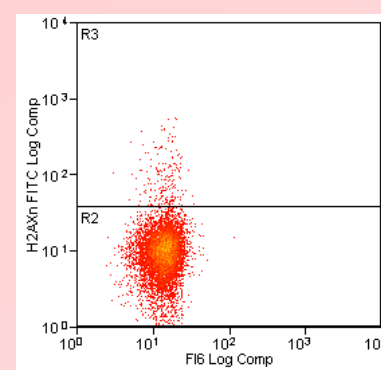
## Stanovení $\gamma$ H2AX pomocí průtokové cytometrie

Periferní krev, izolace PBMC - gradientová centrifugace

Dávkové rozmezí 0,5 – 5 Gy, časové intervaly 1h, 4h a 24h po ozáření; Značeno

Anti-phospho-Histone H2A.X (Ser139), FITC konjugát

Průtokový cytometr CyAn



Závislost exprese histonu  $\gamma$ H2AX na dávce ionizujícího záření in vitro v různých časových intervalech.

Dotploty exprese  $\gamma$ H2AX, dávka 4 Gy, po hodině, 4 a 24 hodinách.

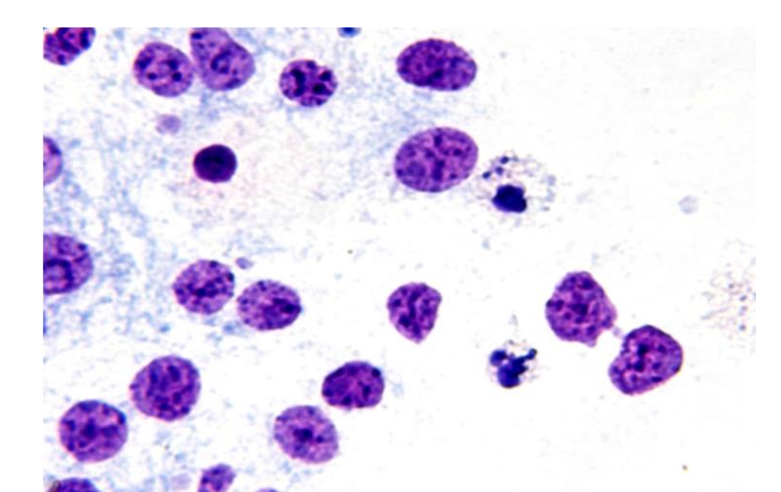
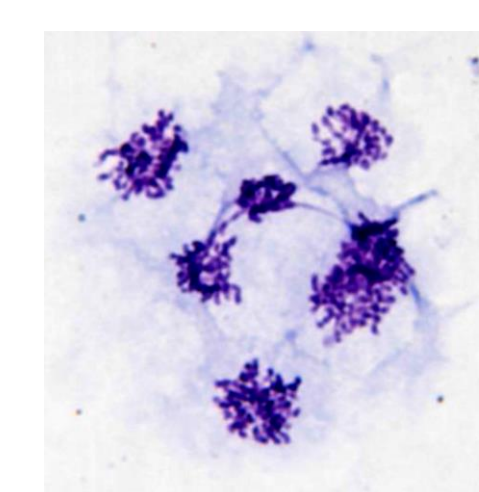
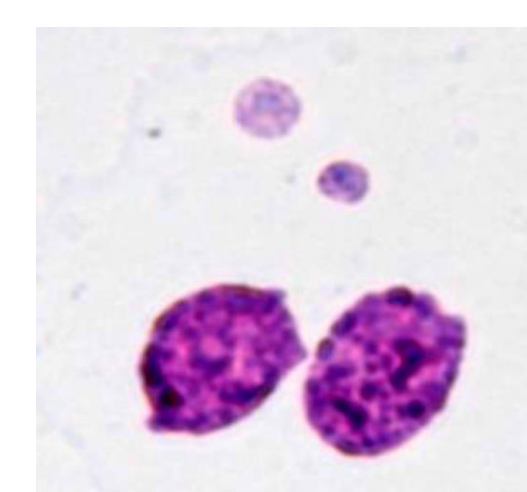
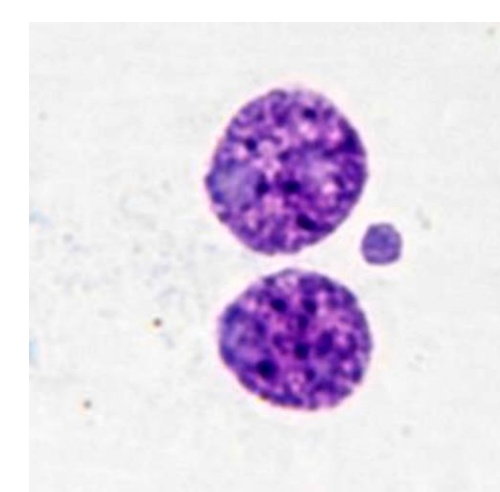
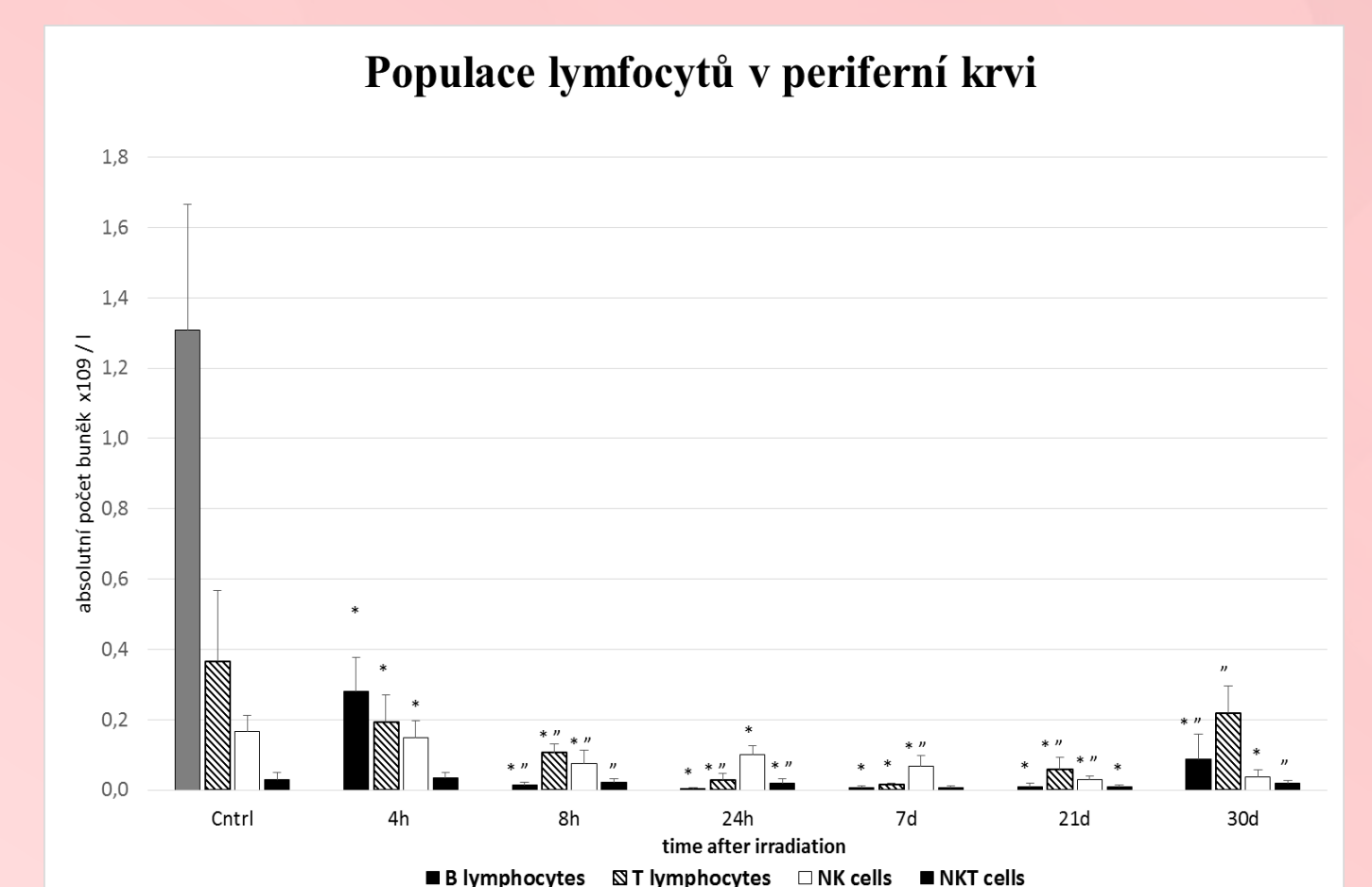
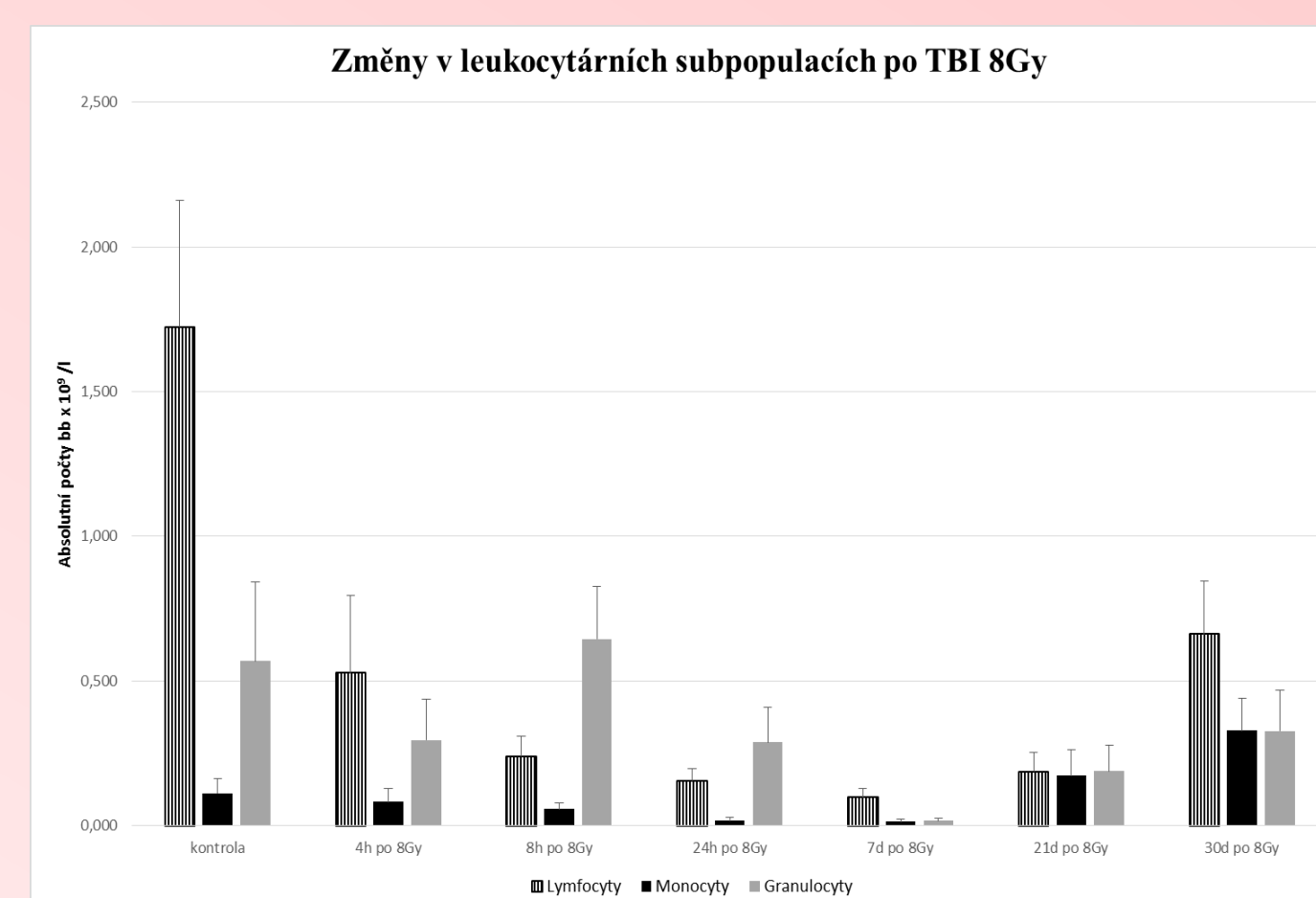


## Monitorování krevního obrazu a zastoupení subpopulací



Účinky ionizujícího záření po celotělovém ozáření myšního modelu C57bl/6 dávkou 8 Gy, analýza populací bílé krevní řady pomocí hemoanalyzeru a detailnější analýza jednotlivých lymfocytárních populací pomocí průtokového cytometru.

Plná heparizovaná krev.



## Mikrojaderný test



Experimentální model: prase

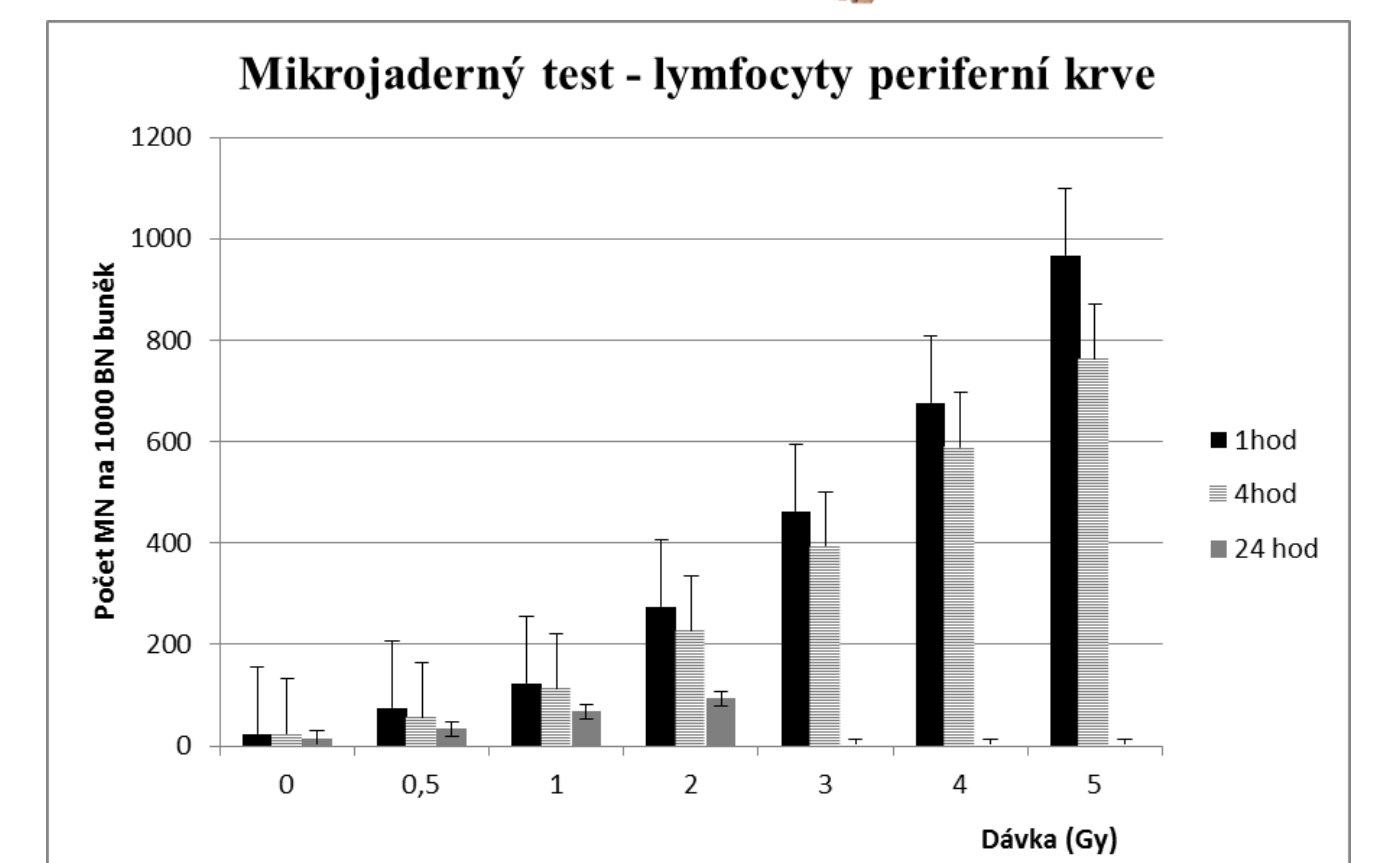
Periferní krev, izolace PBMC - gradientová centrifugace

Dávkové rozmezí 0,5 – 5 Gy, časové intervaly 1h, 4h a 24h po ozáření

44h kultivace po přidání 30ul Phytohemaglutininu (PHA)

28h kultivace po přidání Cytochalasinu B, fixace, barvení

Hodnocení počtu mikrojaderných buněk



## Elektrochemická detekce v biodozimetrii

Prostředí elektroda a analyt – elektrodové děje, pomocí nichž lze zjistit přítomnost biomolekul a studovat jejich strukturu či interakci s jinými molekulami. Proudové signály DNA - redukční a oxidační děje bází. Změna potenciálů – vznik signálu reflektující změny analytu. Absorbce DNA – biosenzor, studium poškození DNA, detekce široké škály látek.

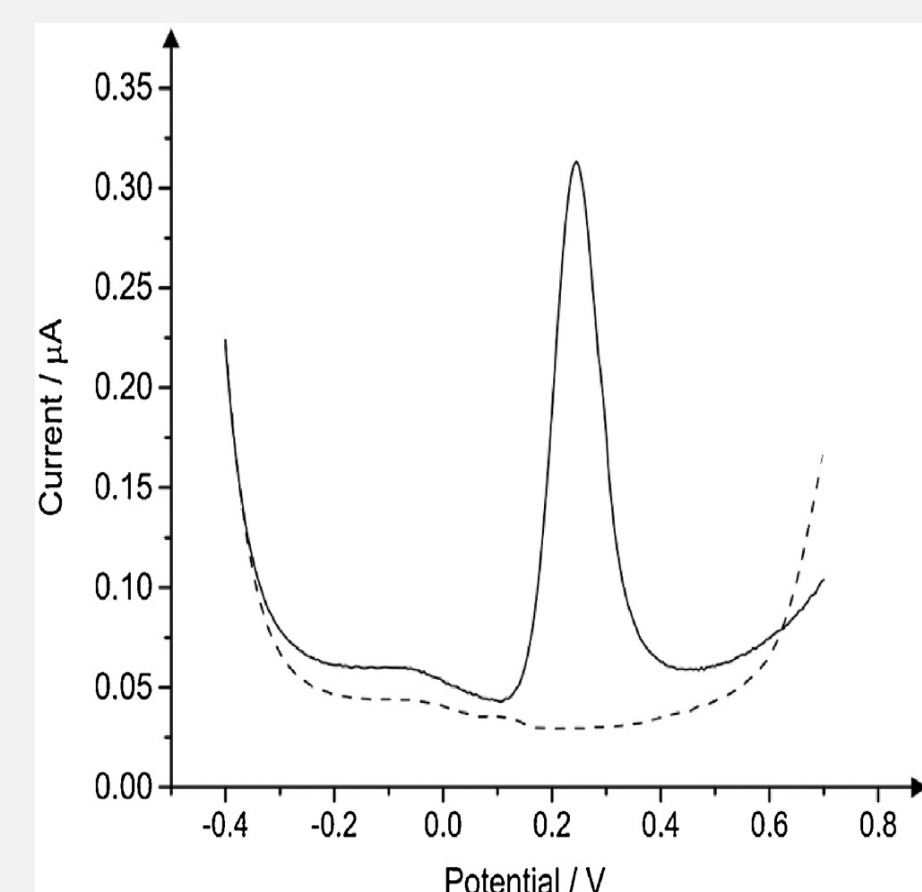
**Senzory** – uhlíkové tištěné elektrody (SPE), Diferenční pulsní (DPV) a cyklická (CV) voltametrie.

Izolace DNA lymfocytů periferní krve.

Prostředí PBS, pH pro biologické vzorky.

**8-HYDROXYGUANIN** pomocí voltametrie – stabilní produkt oxidačního stresu po ozáření.

Detekce v krvi i moči. Množství závislé na absorbované dávce.



DPV 20 M of 8-oxoGua iv 0.1 M PBS pH 7.57(plná čára) SPEs. Pozadí bez 8-oxoGua

## Shrnutí

**Krevní obraz** – základní laboratorní metoda ke sledování změn zastoupení krevních elementů, rychlá, orientační, opakovatelnost, možnost každodenního monitoringu.

**Mikrojaderný test** – zlatý standard biodozimetrických metod, specifická a spolehlivá metoda, časově náročná jak na zpracování tak vyhodnocení vzorků !DNY!

**Stanovení  $\gamma$ H2AX** – detailnější studium zastoupení leukocytárních subpopulací a probíhajících dějů na molekulární úrovni. Vyžaduje přístrojové vybavení (PC) a značení specifickými protilátkami. !HODINY!

**Elektrochemická detekce** - sledování poškozené DNA pomocí senzorů – nenáročnost na vybavení a chemikálie, levná, rychlá, citlivá metoda. Zkrácení analýzy. !MINUTY!