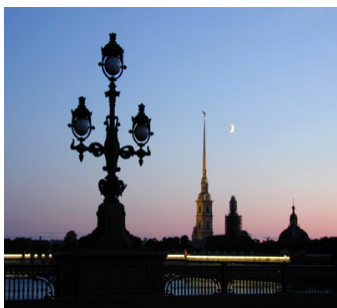




Конференция медико-биологические проблемы
токсикологии и радиобиологии

4-6 июня 2015 года

Санкт-Петербург

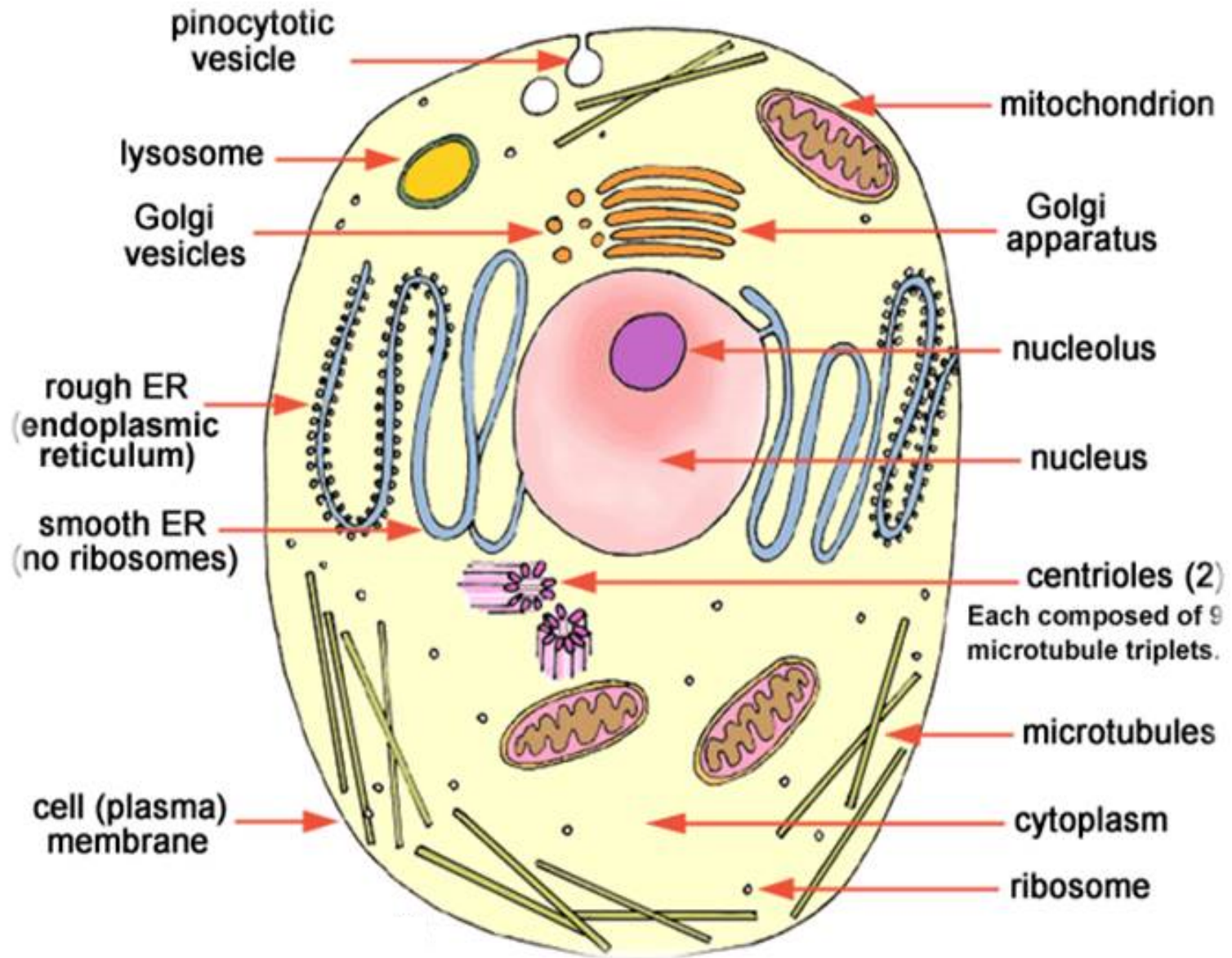
МЕТОДЫ РЕТРОСПЕКТИВНОЙ БИОДОЗИМЕТРИИ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРИ РАДИАЦИОННЫХ АВАРИЯХ

А. И. Газиев

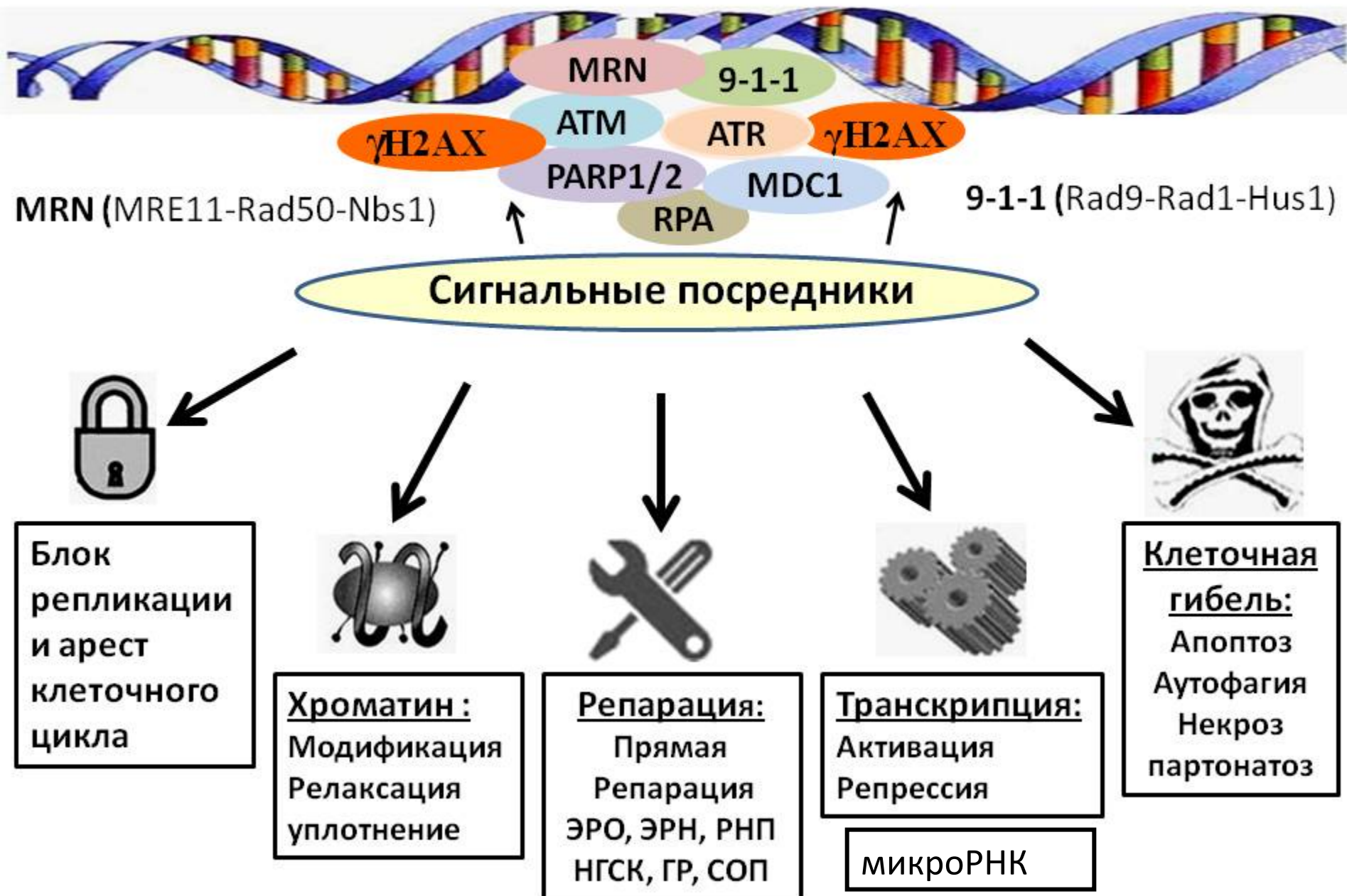
Министр обороны США Р. Гейтс:

“Every senior leader, when you’re asked what keeps you awake at night; it’s the thought of a terrorist ending up with a weapon of mass destruction, especially nuclear.”[1].

1. Graham B. et al., The Report of the Commission on the Prevention of WMD Proliferation and Terrorism. Vintage Books; New York: 2008.



Развитие ответа на повреждение ДНК

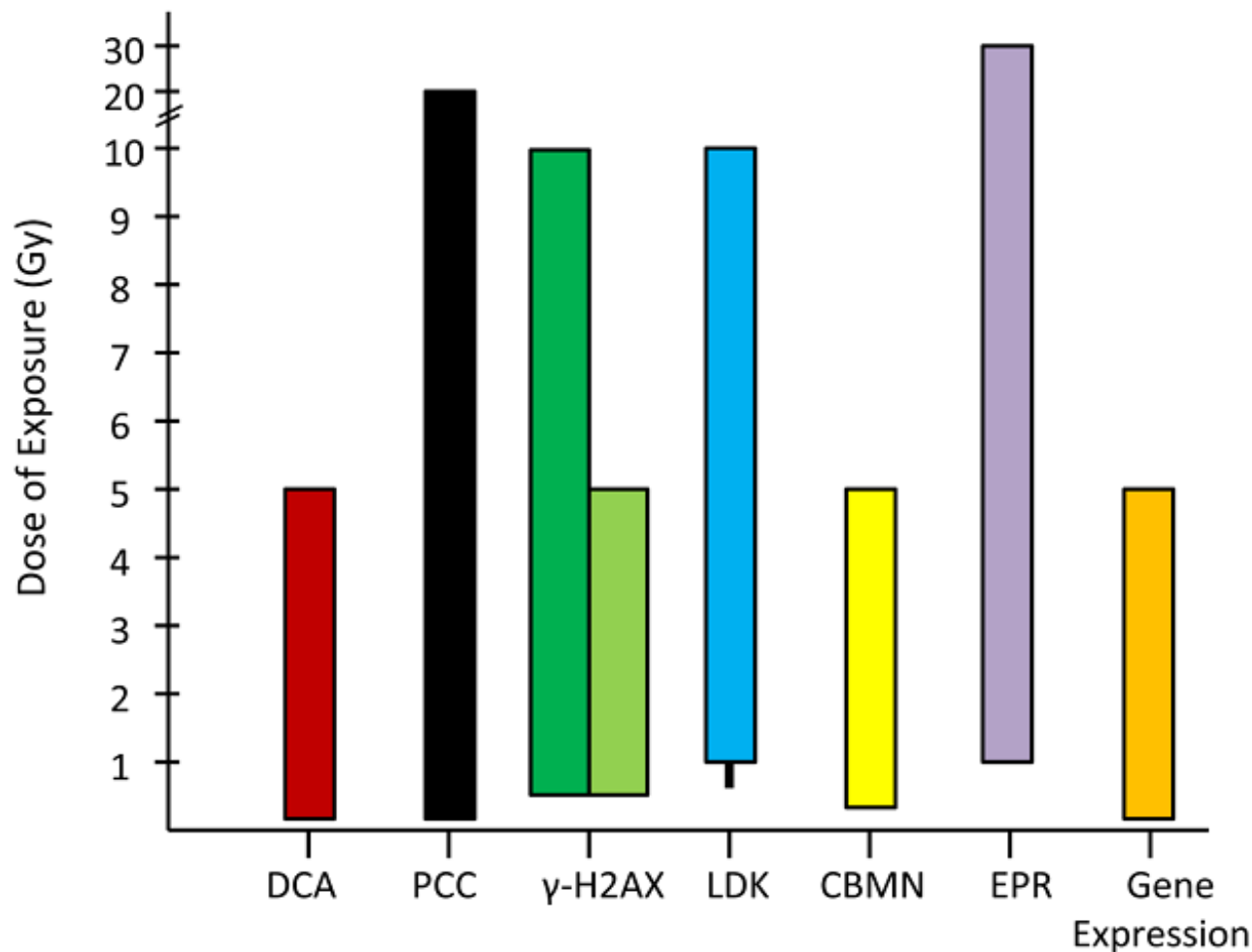


Основные требования к сигнальному биомаркеру для ретроспективной радиационной биодозиметрии

1. специфичностью к ионизирующей радиации,
2. возможность выявления при широком диапазоне доз от нескольких мкГр до десятков Гр,
3. надежная стабильность сигнала при ранних и отдаленных сроках после воздействия радиации,
4. возможность оценивать степень радиационного поражения части тела,
5. возможность различать внутренние и внешние облучения,
6. четко определять реакцию на радиацию различного качества и мощности дозы,
7. возможность создания *in vitro* калибровочной кривой доза-эффект,
8. низкая вариабельность между индивидами,
9. отсутствие других факторов, искажающих сигнал,
10. неинвазивность или минимальная инвазивность получения анализируемого материала,
11. возможность стандартизации, автоматизации, быстрой и обработки и анализа проб.

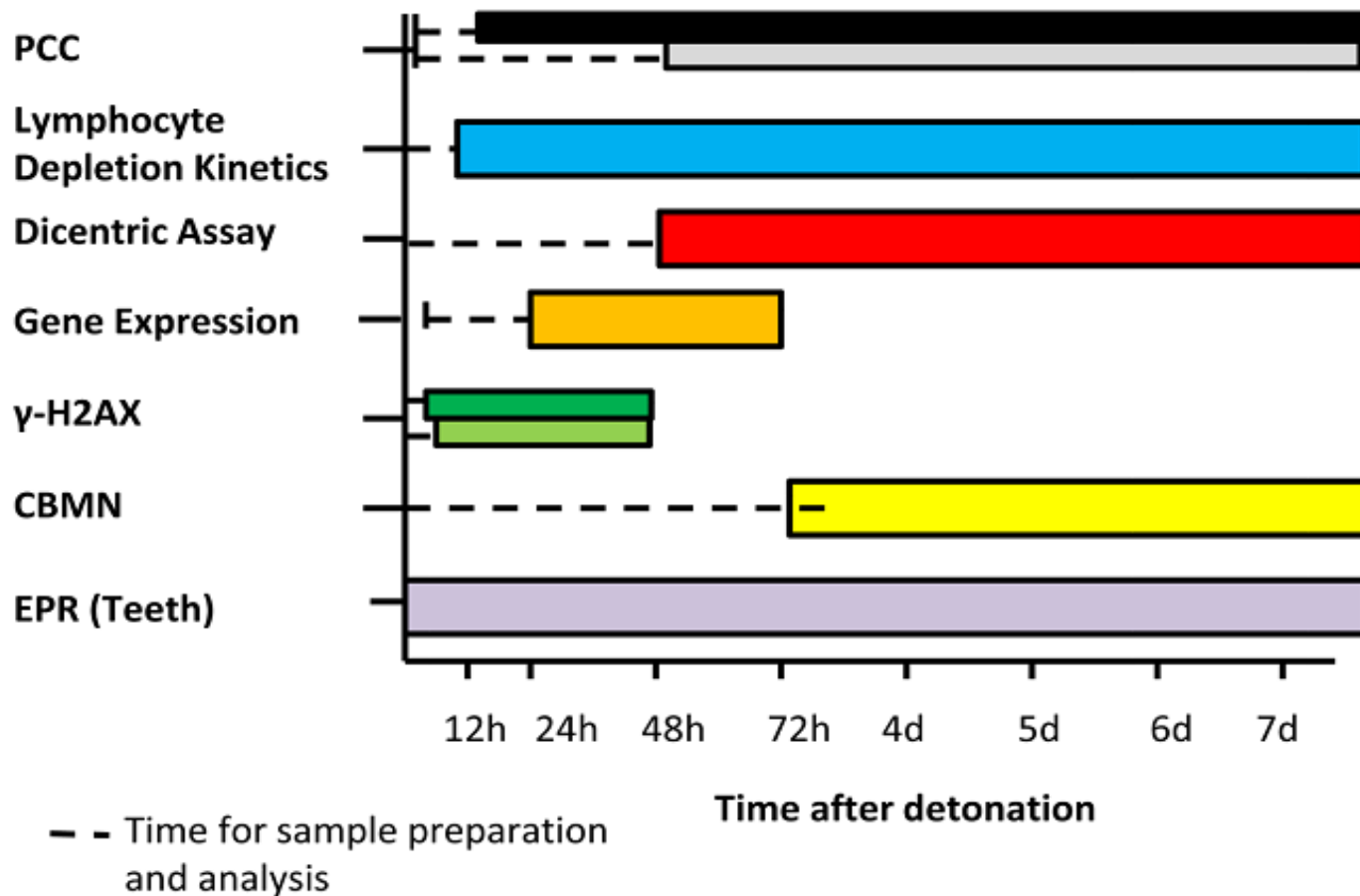
Сравнение методов ретроспективной оценки дозовых нагрузок у пострадавших в радиационных инцидентах

Метод	Дозы (Зв)	Время проведения анализа	Сроки выявления биомаркера
Анализ лимфоцитов	0,5-10	серии 8-48 ч	12 ч.–7 дн.
Дицентрики хромосом	0,05-5	55-60 ч.	3-6 мес
микроядра	0,3-5	~3 дн.	6 мес –1 г
ПВСХ	0.1–20	55-60 ч.	от 1 нед. до 6 мес.
FISH-анализ	0,2-10	~150 ч.	от 1 нед. до 6 мес
γ –H2AX	0,1-10	3 ч.	30-36 ч.
Экспрессия генов	0,05-5	9–36 ч.	48-72 ч
ЭПР (зубы)	0,1-30	5-25 мин.	Время жизни
ЭПР-ОСЛ (личные вещи)	0,2-30	0,5-10 ч.	1-30 дн.



Диапазон доз, при которых анализы указанных биомаркеров могут оценить поглощенную дозу радиации. Для γ -H2AX темный столбик представляет диапазон доз при анализах с помощью микроскопии, а светлый столбец при анализах с помощью проточной цитометрии

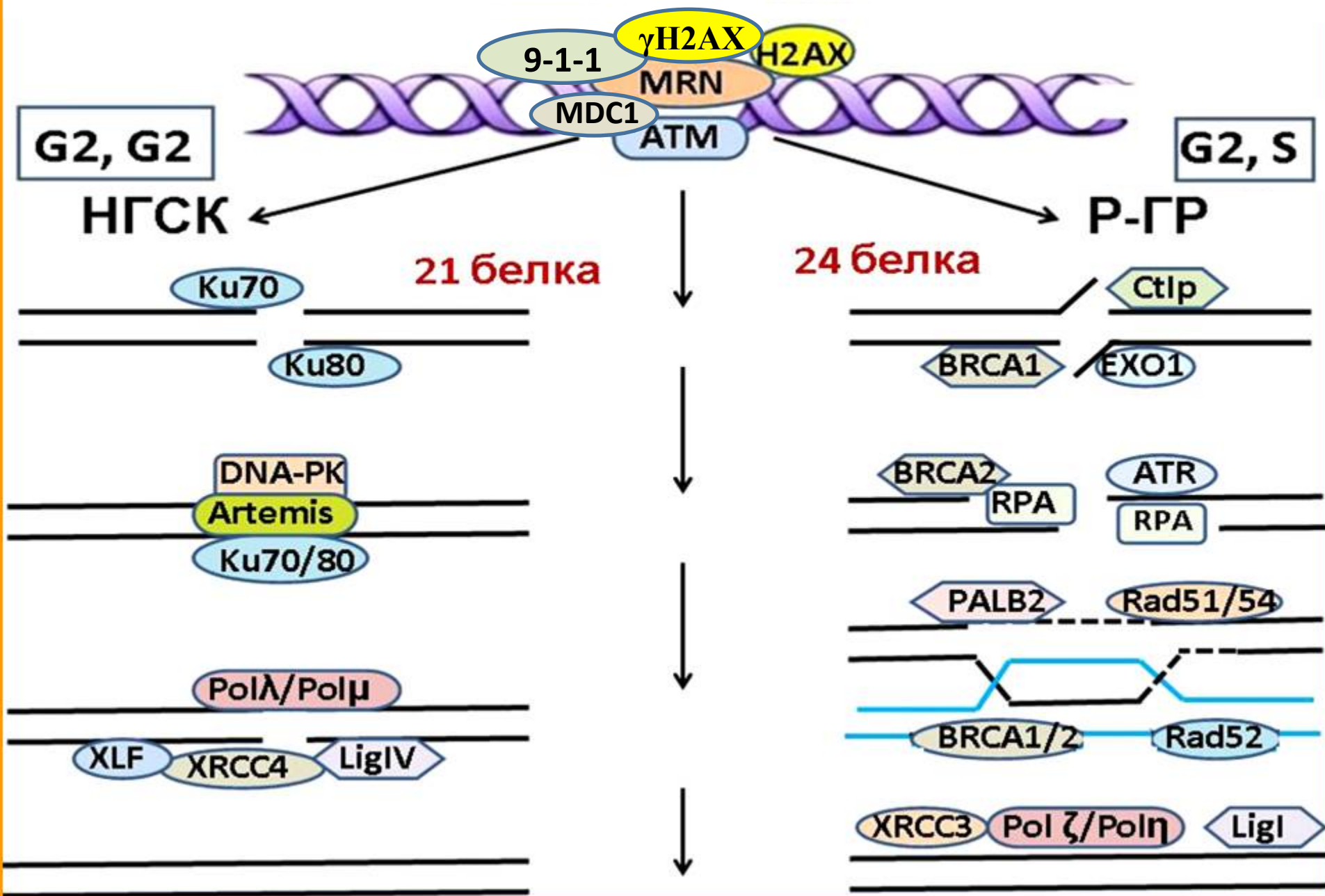
(Sullivan et al.2013)



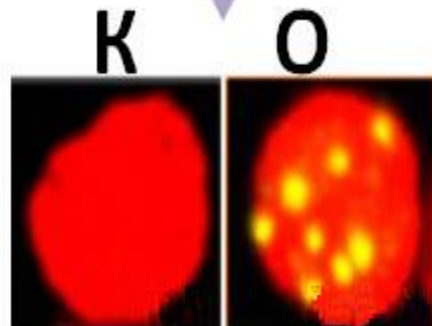
Время для оценки поглощенной дозы после детонации, использованием указанных методов. Пунктирные линии представляют время, необходимое для подготовки проб. Для метода γ -H2AX; темная полоса – данные при анализах посредством микроскопии, а светлая полоса – с помощью проточной цитометрии. Для PCC; черная полоса – результаты, получаемые с использованием митотических клеток яичника CHO и белая полоса – данные получаемые методом химической стимуляции.

(Sullivan et al. 2013)

Схема репарации двунитевых разрывов ДНК



Фокусы γ H2A.X



Радиобиология,
биодозиметрия

эффективность
репарации ДНК

клинический маркер
по радио-химиотерапии

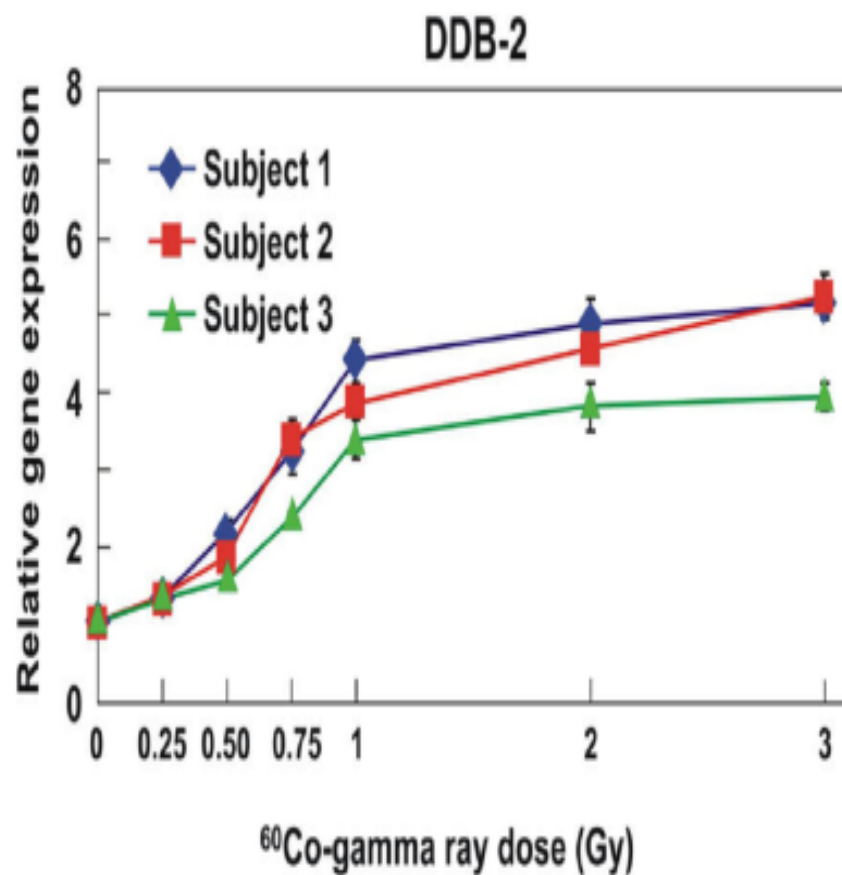
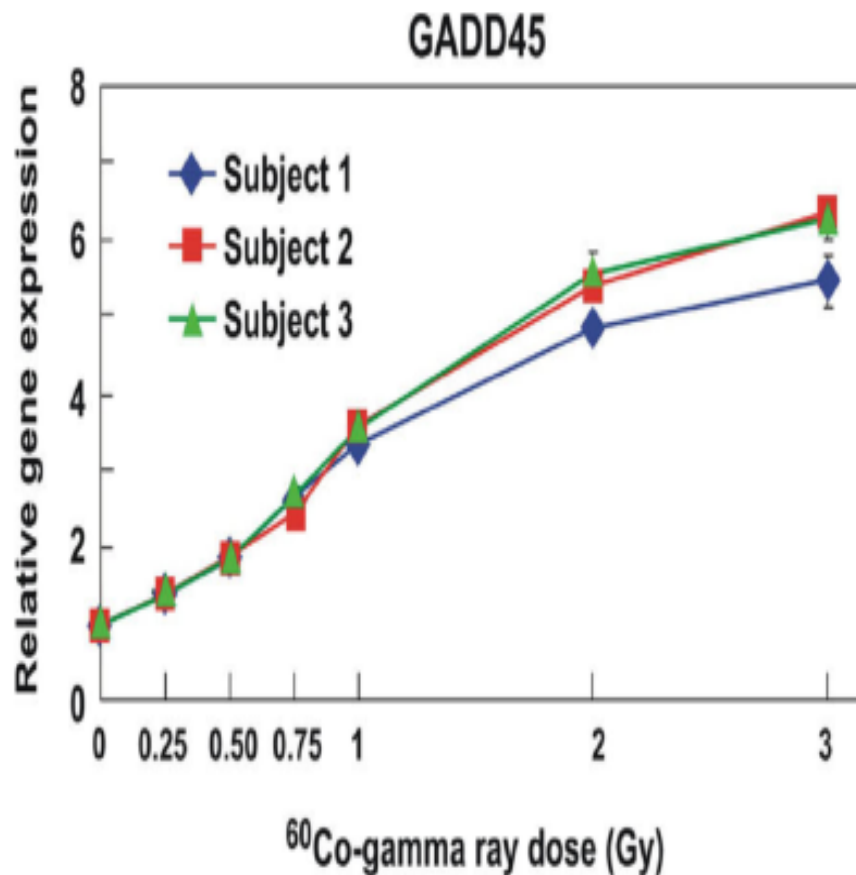
Старение

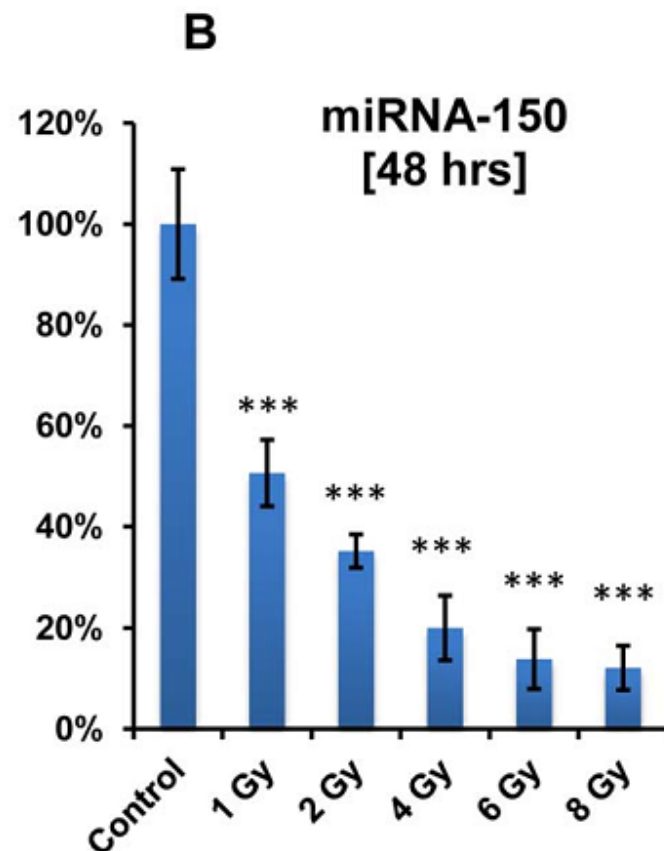
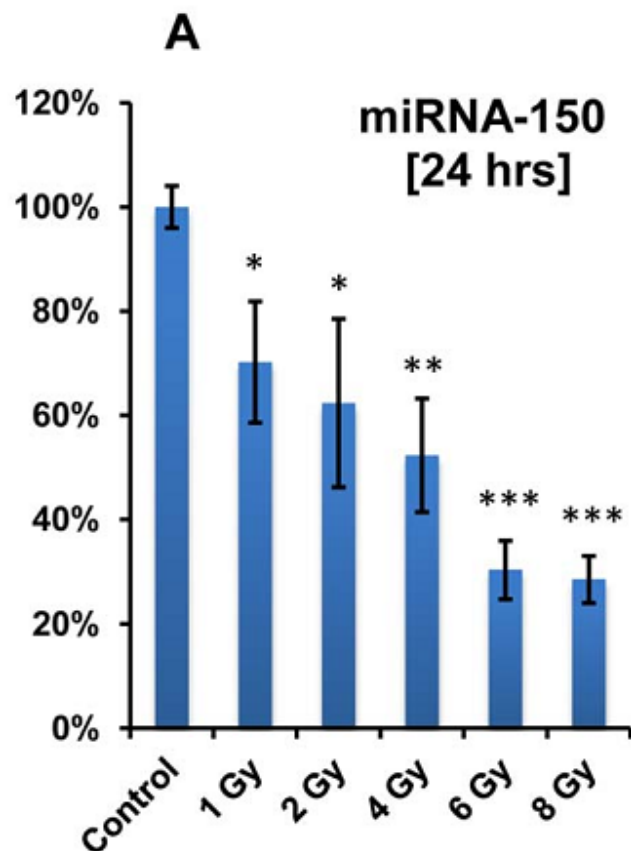
генотоксиканты
окружающей среды

Summary of genes differentially changed ($p < 0.001$) in various class comparisons, after 24 h (Ghandhi S.A. et al. 2015)

Class comparison	Number of genes significantly changed	Number of up regulated genes	Number of down regulated genes
LDR 4 Gy vs 0 Gy	354	236	118
Acute 4 Gy vs 0 Gy	565	354	211
LDR 2 Gy vs 0 Gy	213	134	79
Acute 2 Gy vs 0 Gy	205	150	55
LDR 0.5 Gy vs 0 Gy	71	49	22
Acute 0.5 Gy vs 0 Gy	65	55	10
LDR 4 Gy vs Acute 4 Gy	243	116	127

Изменение экспрессии генов в клетках цельной крови человека (данные через 24 часов)





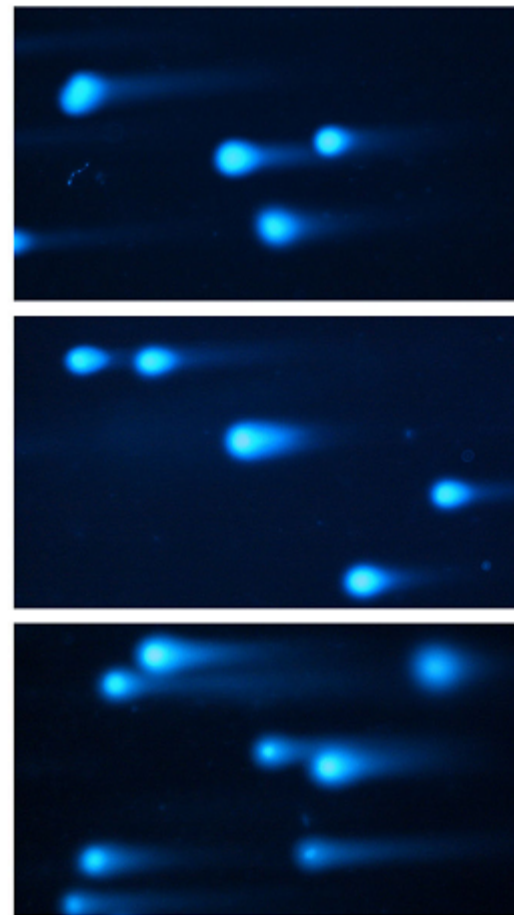
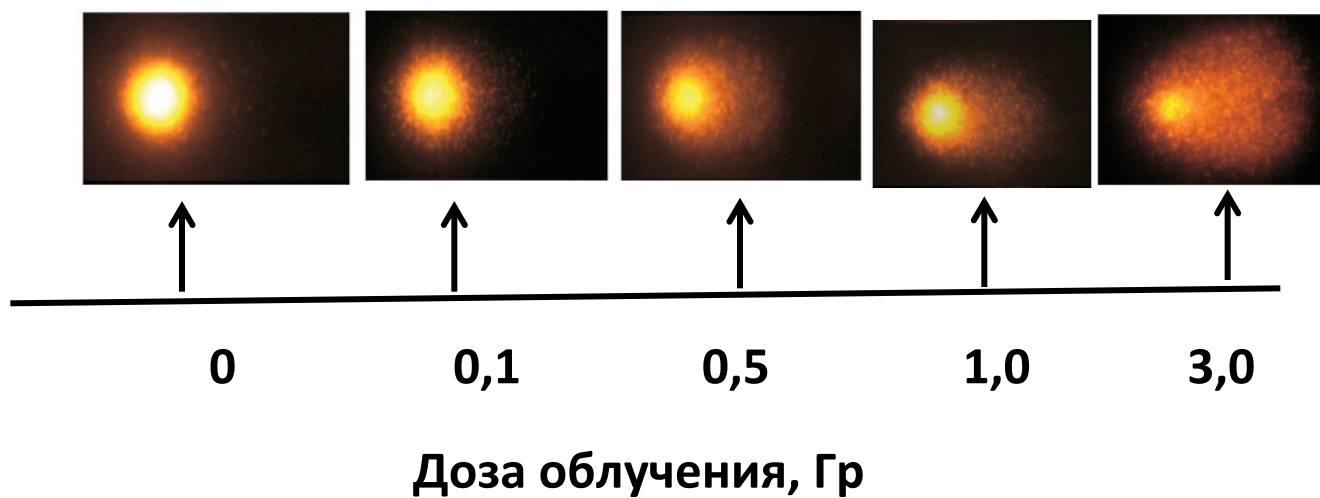
C

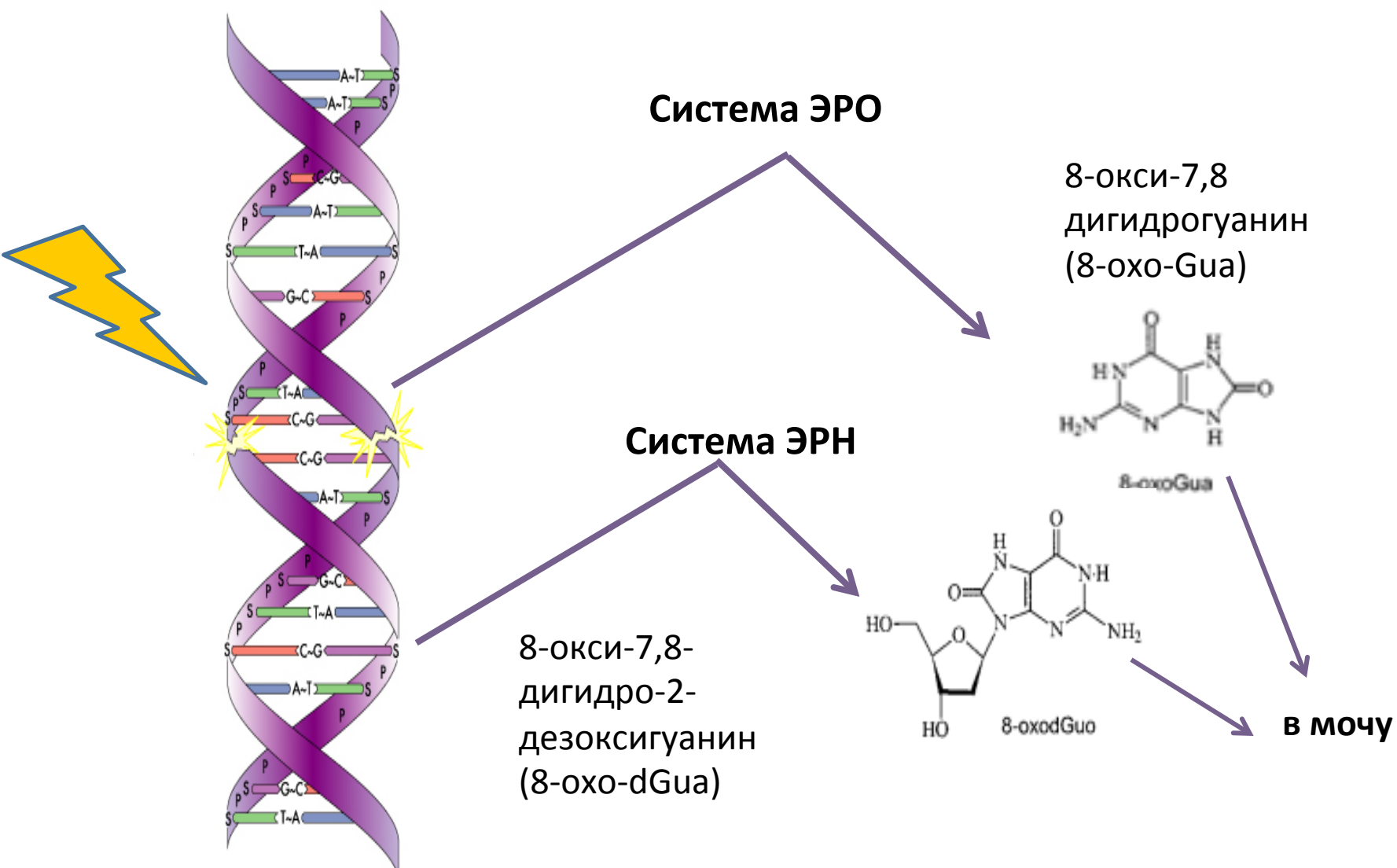
	Control	1 Gy	2 Gy	4 Gy	6 Gy	8 Gy
24 hrs	100%	70%	62%	52%	30%	28%
48 hrs	100%	50%	35%	20%	14%	12%

Изменение содержания микроРНК-150 в сыворотке мышей, подвергавшихся воздействию гамма-лучами (^{137}Cs). Зависимость от дозы и времени после облучения.

(Jacob N.K. et al. 2014)

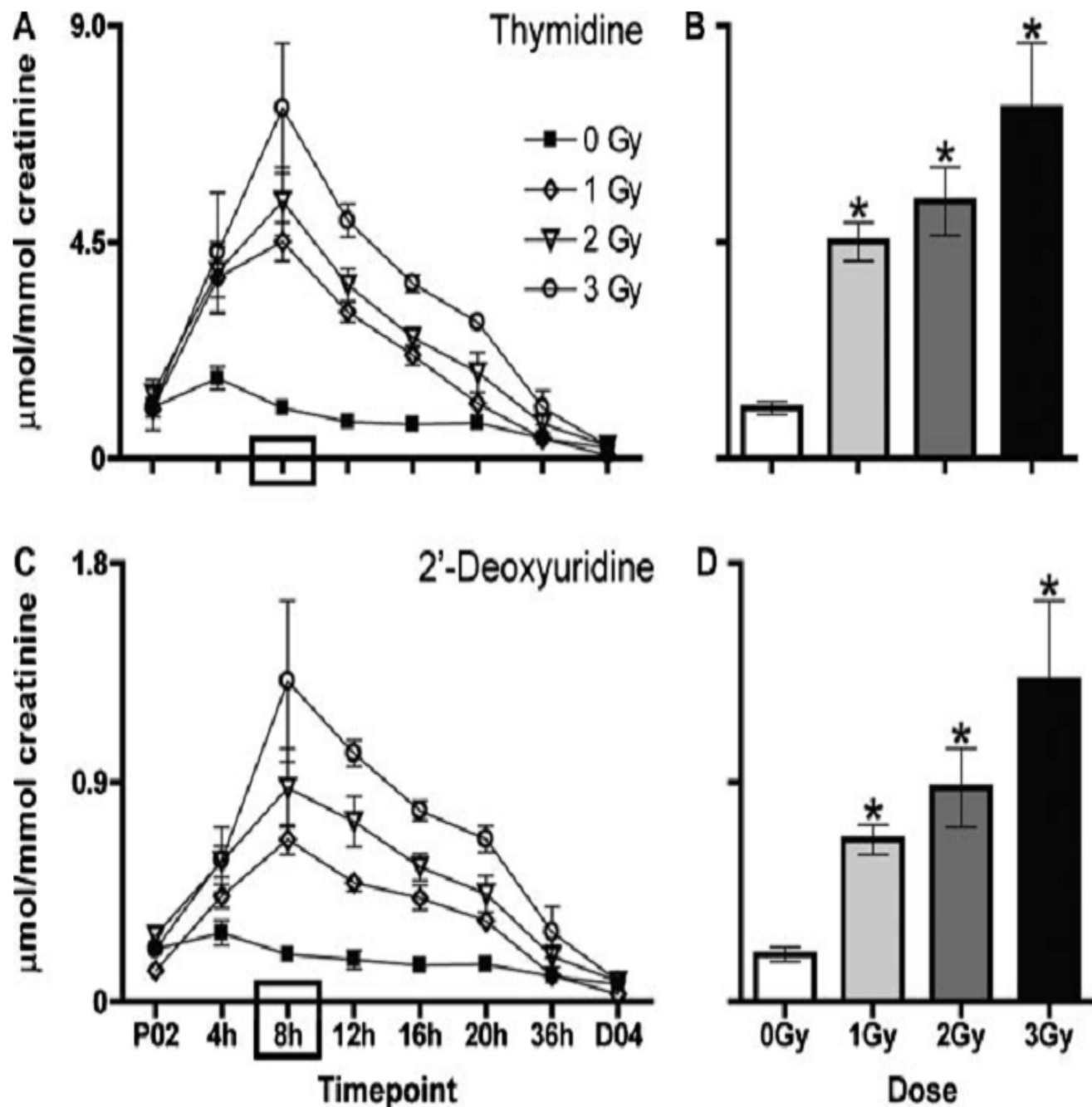
Комета тест (клетки периферической крови)



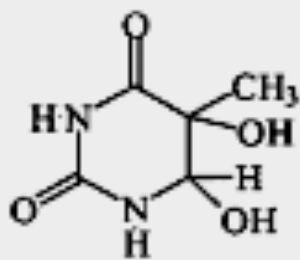


Поврежденные основания или нуклеотиды, отщепляемые из ДНК в процессе ее репарации, поступают в кровоток далее в моче

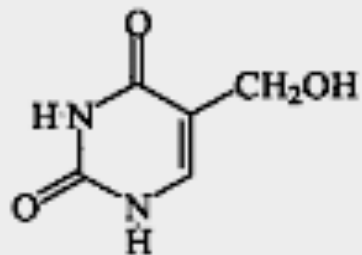
Ионизирующее излучение вызывает зависимое от дозы увеличение экскреции с мочой **dT** и **dU** у мышей уже в 4 часа после их облучения.



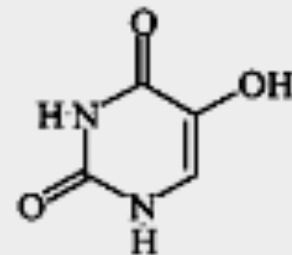
(Tyburski et al. 2009)



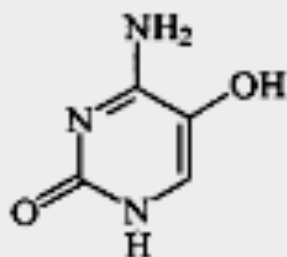
Thy glycols



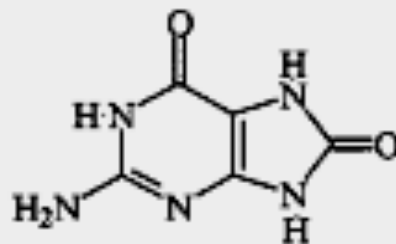
5-HMUra



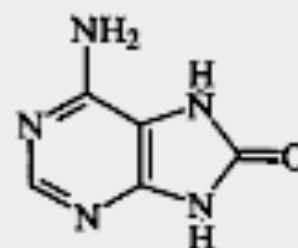
5-OHUra



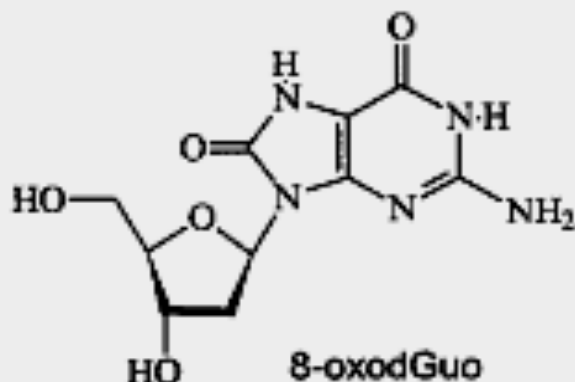
5-OHCyt



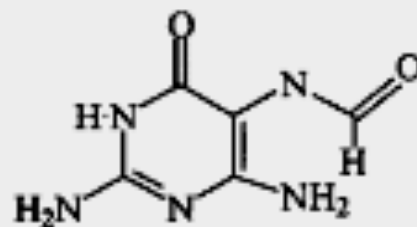
8-oxoGua



8-oxoAde



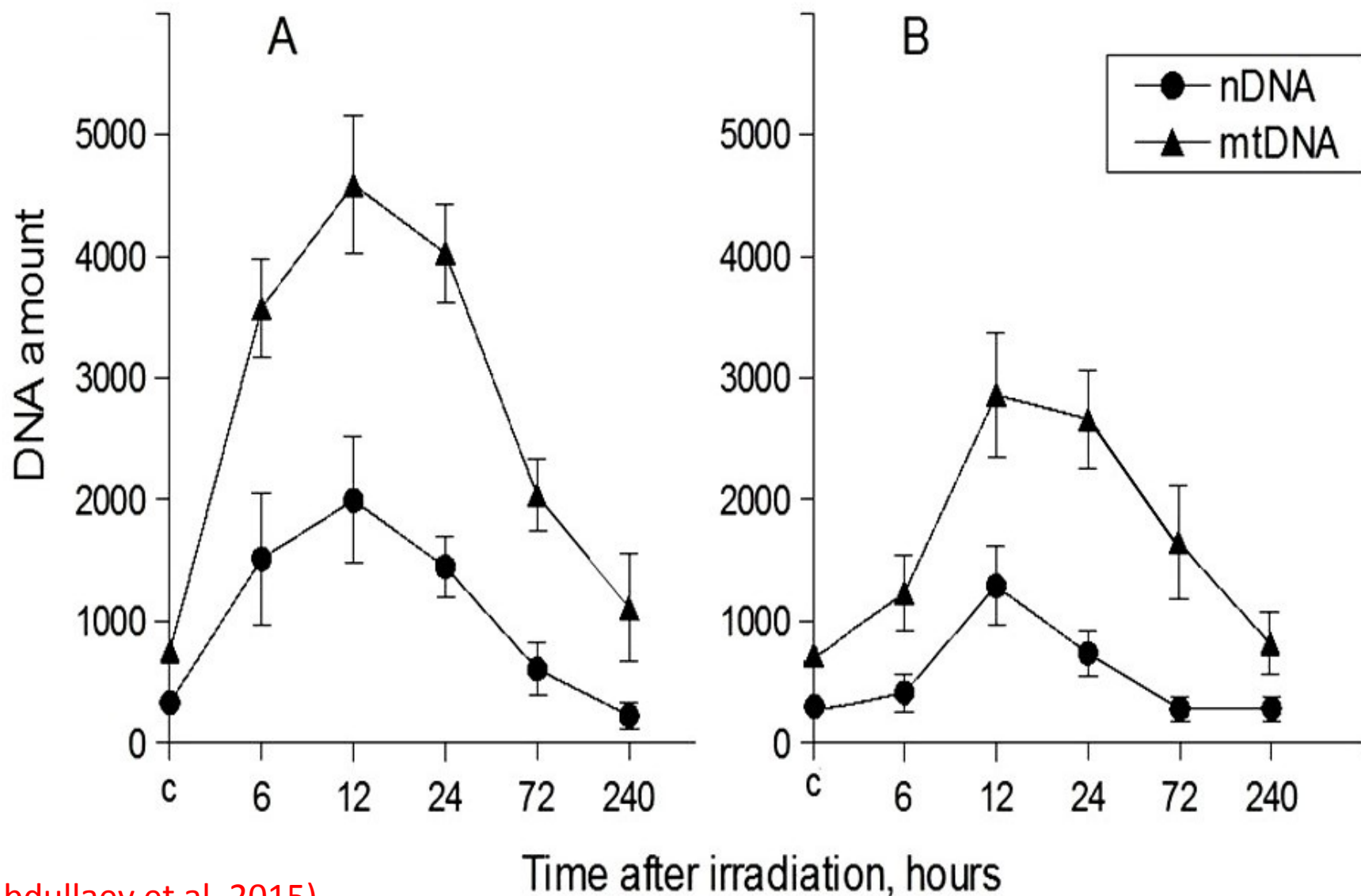
8-oxodGua



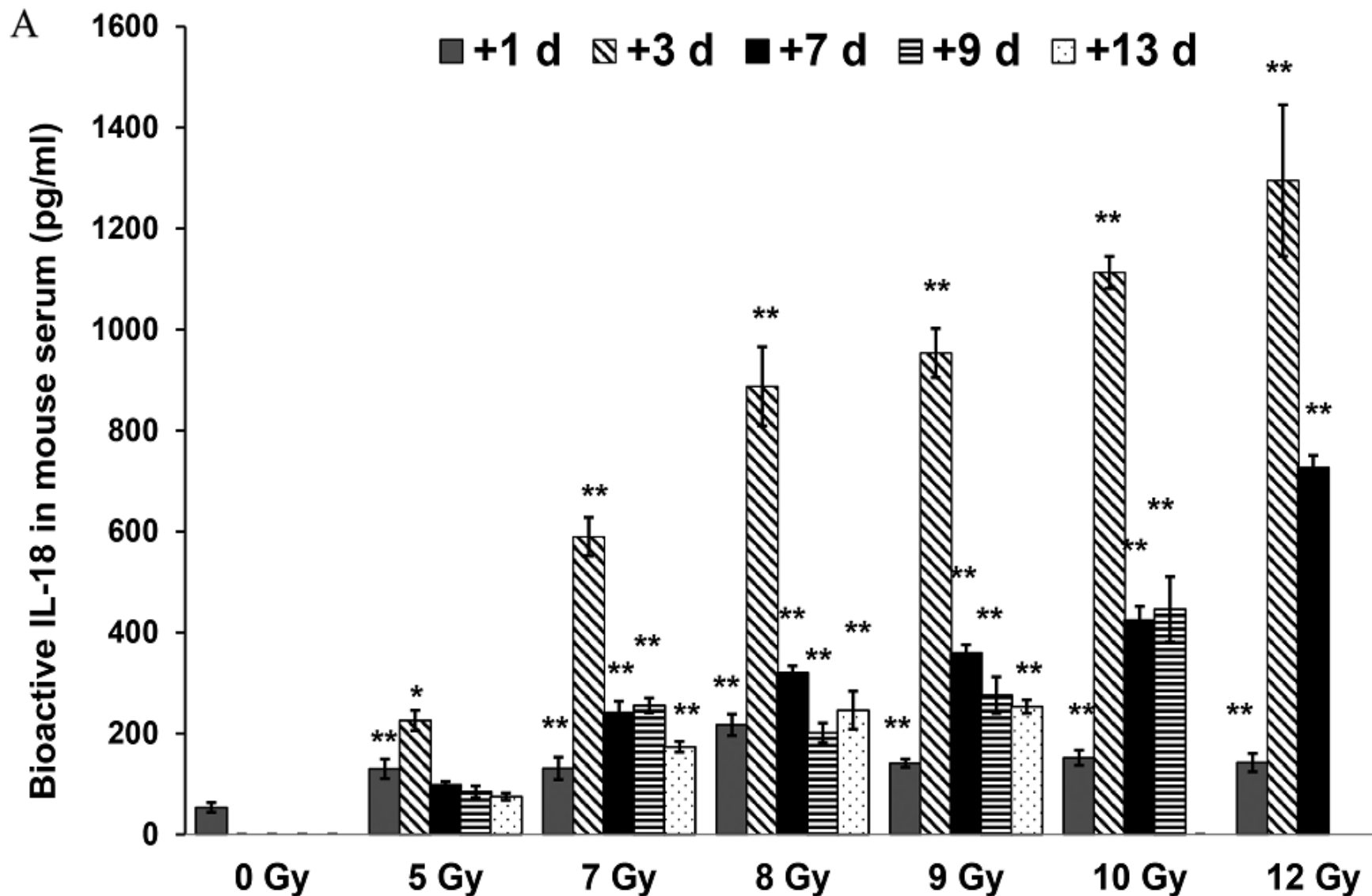
FapyGua

Химическая структура основных продуктов (оснований ДНК), выявляемых в моче человека. **8-oxodGua** наиболее распространенных (и хорошо изученных) продуктов повреждения ДНК (радиацией или окислителями).

Changes in the content of the cf-mtDNA (▲) and cf-nDNA (●) in the rat urine collected before and after irradiation. A – irradiated at 5 Gy; B – irradiated at 3 Gy. Ordinate: DNA amount (in relative units); abscissa: time point after irradiation, C – urine before irradiation (control).

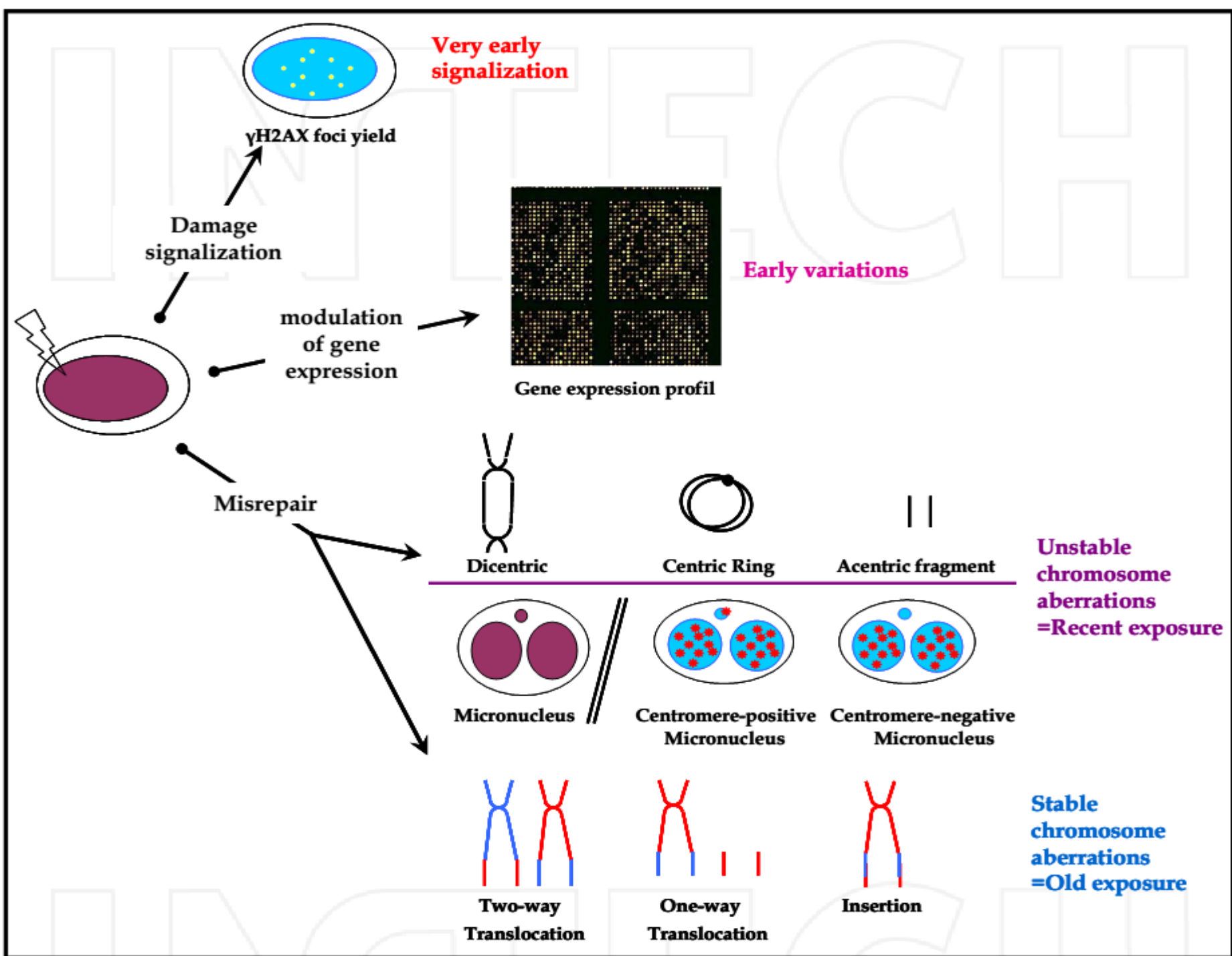


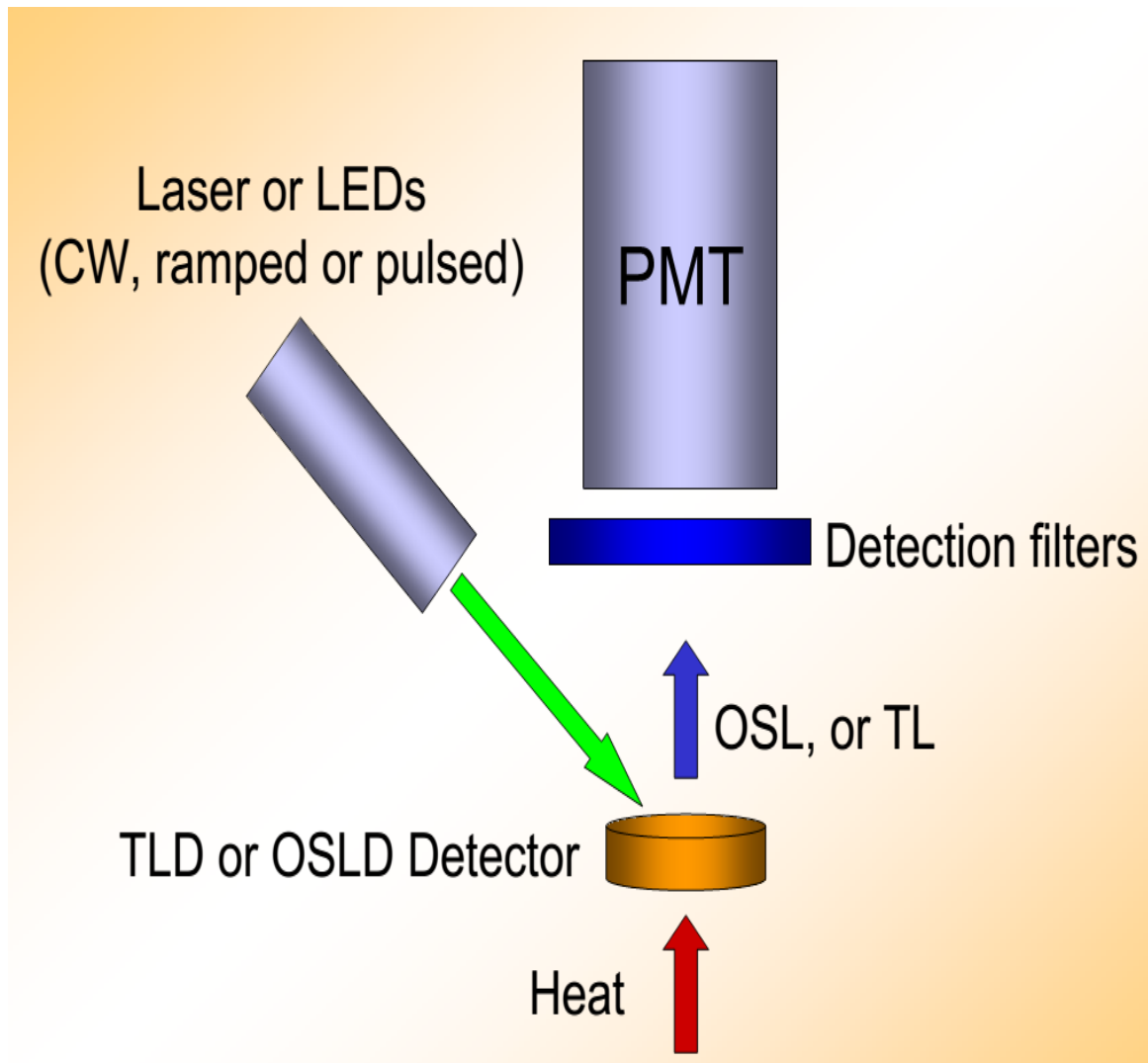
(Abdullaev et al. 2015)



Изменение содержания интерлейкина 18 в сыворотке мышей, подвергавшихся воздействию гамма-лучами (^{60}Co). Зависимость от дозы и времени после облучения.

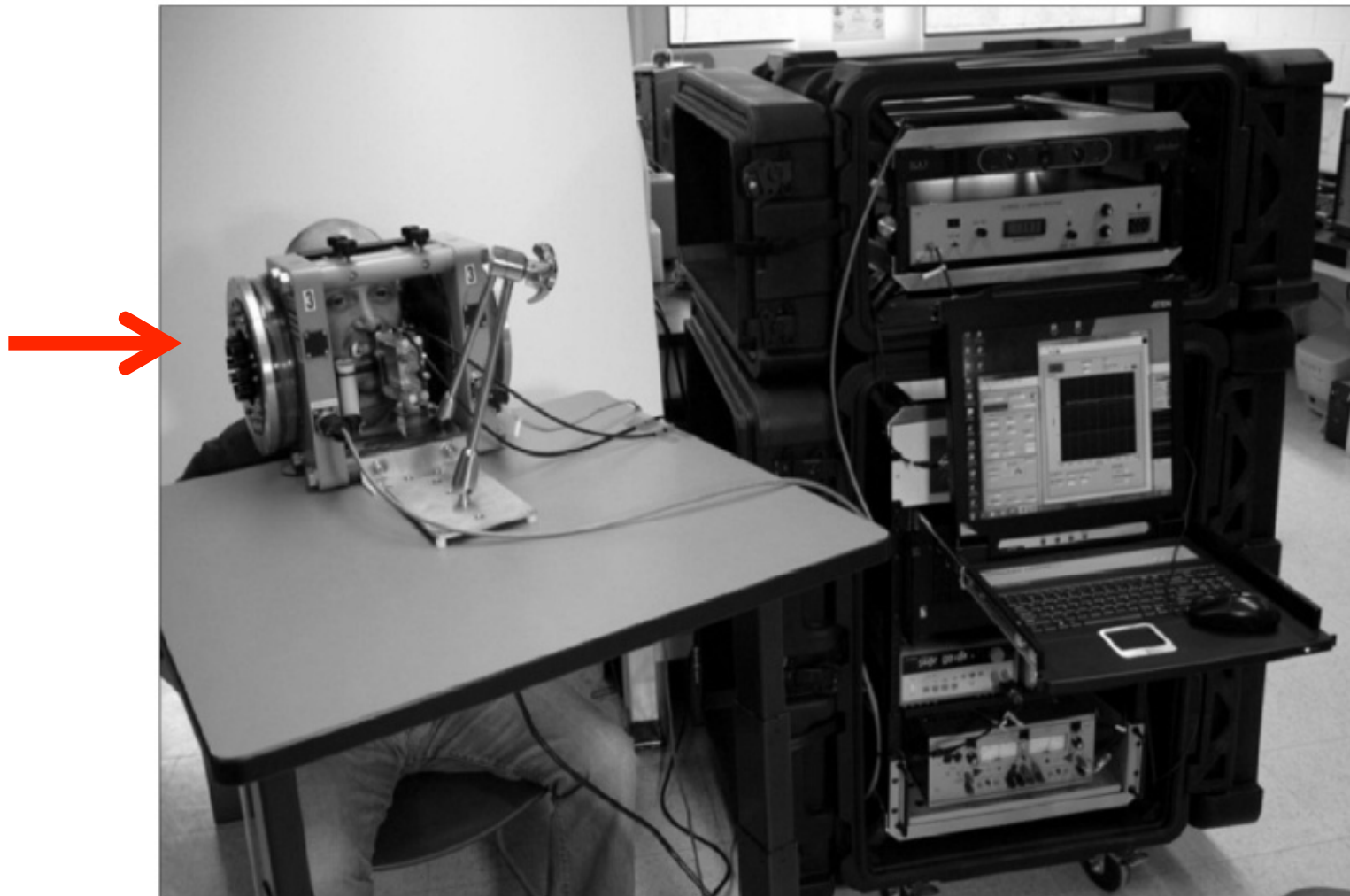
(На СТ, Li X-H et al. 2014)





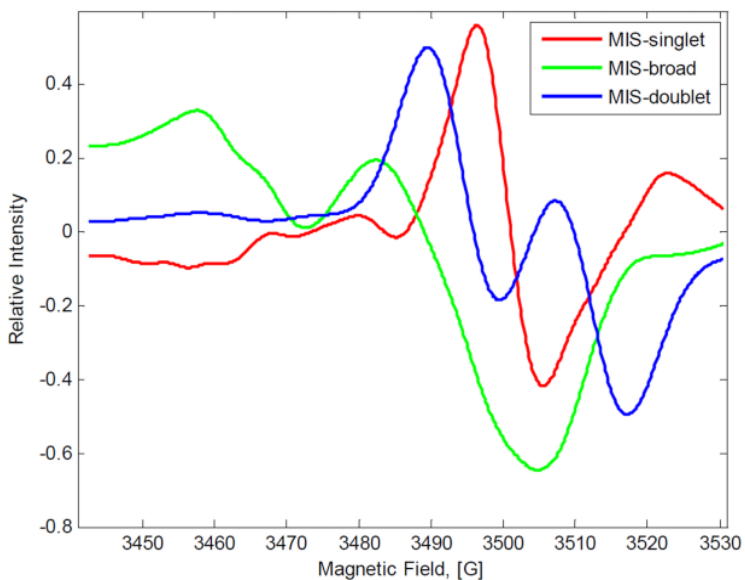
Commercial OSLDs

- $\text{Al}_2\text{O}_3 : \text{C}$
- $\text{BaFCl} : \text{Eu}$
- plus several experimental materials



Существующее развертывание ЭПР дозиметра зубов включает автономный, компактный блок электроники, дисплей и постоянный магнит (~30 кг)

Фотографии, иллюстрирующие положение пальцев в резонаторе в процессе дозиметрии ногтей методом ЭПР *in vivo*.



A



B



C

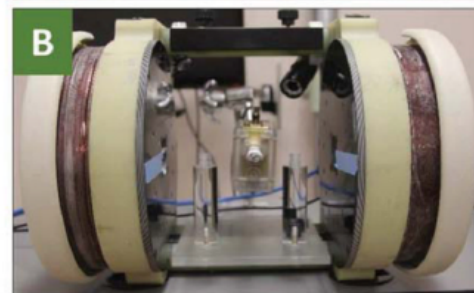
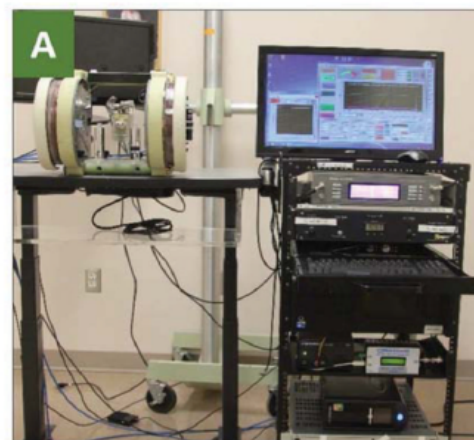


**Клиническая ЭПР
система- 1,2 ГГц.**

**ЭПР-спектрометр с
использованием
большого зазора
постоянного магнита и
поверхности петли
резонатора.**

**Также показано
подвижная кровать для
позиционирования
пациента.**

**Измерение pO_2 опухоли
головы и шеи пациента,
вид сбоку
измерение сигнала ЭПР
зубов человек**



**Системы
дозиметрических ЭПР
установок могут быть
развернуты в разных
условиях (в платке, в
автобусе, на
грузовике),
с использованием
дистанционного
электропитания**







Спасибо за внимание