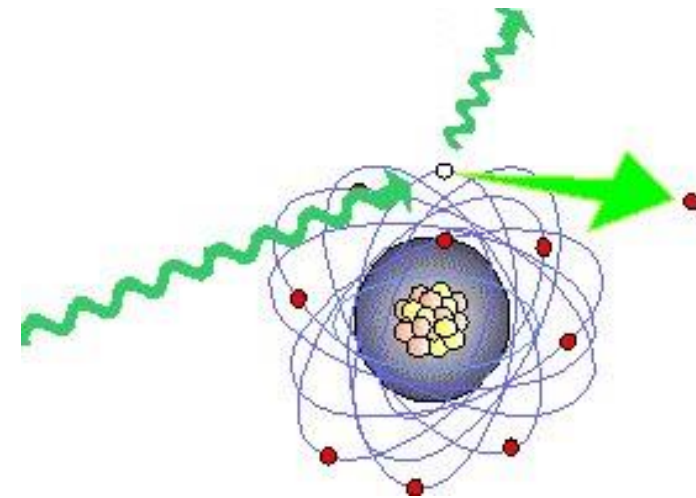
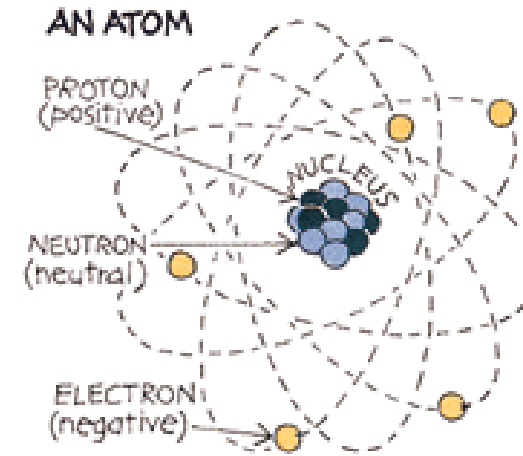


Experimentálně navozený akutní radiační syndrom u pokusného zvířete

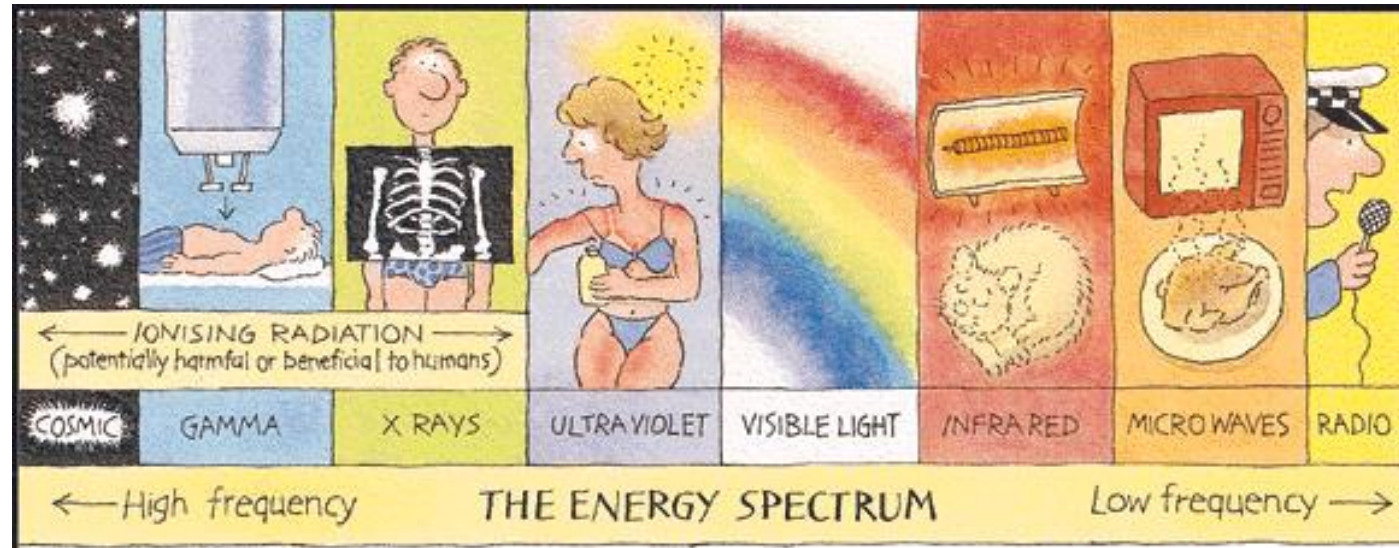
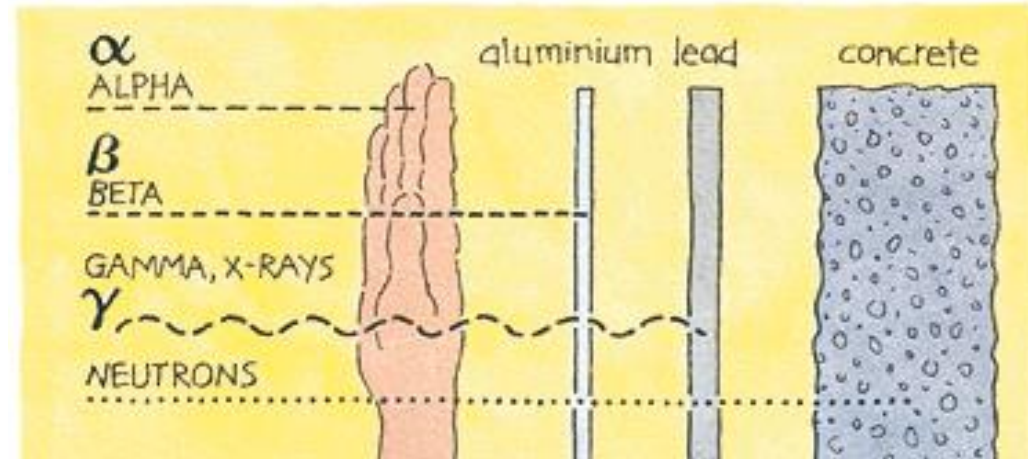
Co je to ionizující záření?

částicové nebo **elektromagnetické** záření, kdy částice/foton nesou dostatečnou energii k **ionizaci** atomů a molekul (odstraněním elektronu z jejich orbity)
produkuje elektricky nabitě částice (= ionty)
ionizace je v makromolekulách, z nichž je složen organizmus, biologicky velmi významná



Typy ionizujícího záření?

α = α -částice (atomy Helia)
 β = elektrony nebo pozitrony
 γ = elektromagnetické vlnění (fotony)
neutrony



Jednotky?

dávka ionizujícího záření kterou osoba obdržela se vyjadřuje jako **absorbovaná energie**, jednotkou je **gray** (Gy)

1Gy = 1 J/kg (dříve rad)

stejná dávka v Gy různých typů záření způsobuje různý biologický efekt (1Gy α -radiace má větší efekt než 1Gy β -záření)
→ radiační efekt se vyjadřuje jako **efektivní dávka**, jednotkou je **sievert** (Sv)

bez ohledu na typ záření, 1 Sv vede ke stejnému biologickému efektu

příklad: 1Gy=1Sv pro γ - nebo β -záření, 1Gy=10Sv pro neutrony a 1Gy=20Sv pro α -záření

rychlost radioaktivního rozpadu radioaktivní látky vyjadřují jednotky **becquerel** (Bq)

1 Bq=1 atomický rozpad/s

Co je to radioaktivita?

většina atomů je stabilních: uhlík-12 nebo kyslík-16
některé mají přebytek vnitřní energie a spontánně se rozpadají za
vzniku nových prvků = “**radioaktivní rozpad**”
při rozpadu se přebytek vnitřní energie uvolňuje jako γ -záření nebo částice

Zdroje ionizujícího záření?

Přirozené

kosmické

expozice roste s nadmořskou výškou

solární

zejm. γ -záření

pozemské zdroje

radioaktivní rozpad přirozených radioizotopů
(půda a skála)

Radon

plyn, vzniká rozpadem Radia-226 (z uranu)
má největší podíl na celk. dávce ionizujícího
záření

Arteficiální

medicína

diagnostika, terapie, sterilizace

průmyslové

nukleární energetika

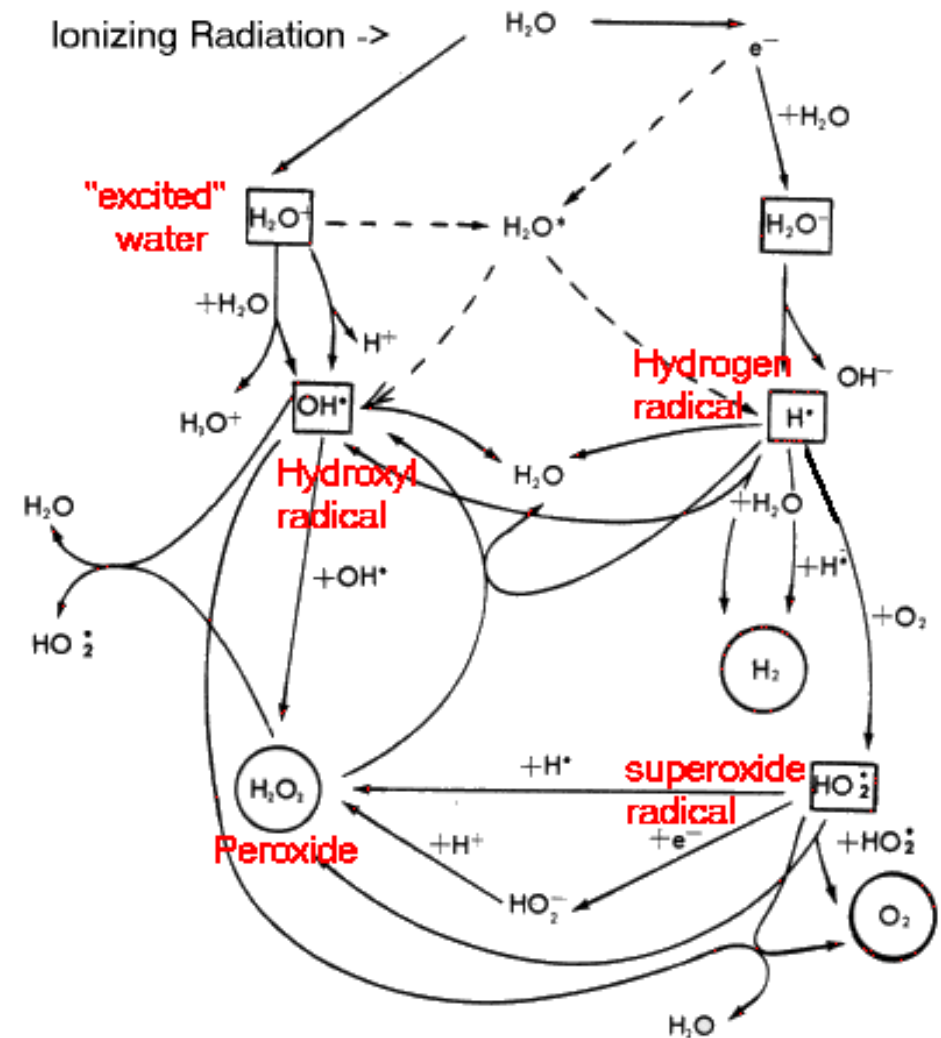
zemědělství

.....

Biologický efekt a následky ionizujícího záření?

Přímá ionizace makromolekul
Nepřímo prostřednictvím "radiolýzy"
vody
volné kyslíkové radikály

Důsledky:
blokáda cyklu → apoptóza
mitotická či post-mitotická smrt
(proliferující bb.)
mutace (genová či chromozomová)
reparace
nereparovaná změna



Typy a důsledky lézí DNA?

bodové mutace

DNA reparace: mismatch repair

single strand breaks (SSB)

DNA reparace: base excision repair

double strand breaks (DSB)

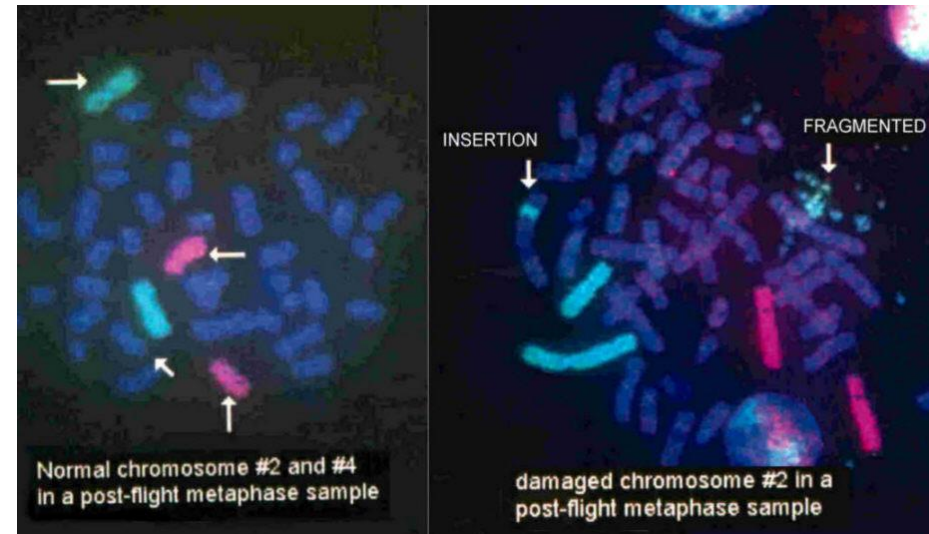
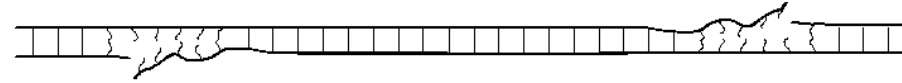
letální (apoptóza)

DNA reparace: homologní rekombinace (někdy)

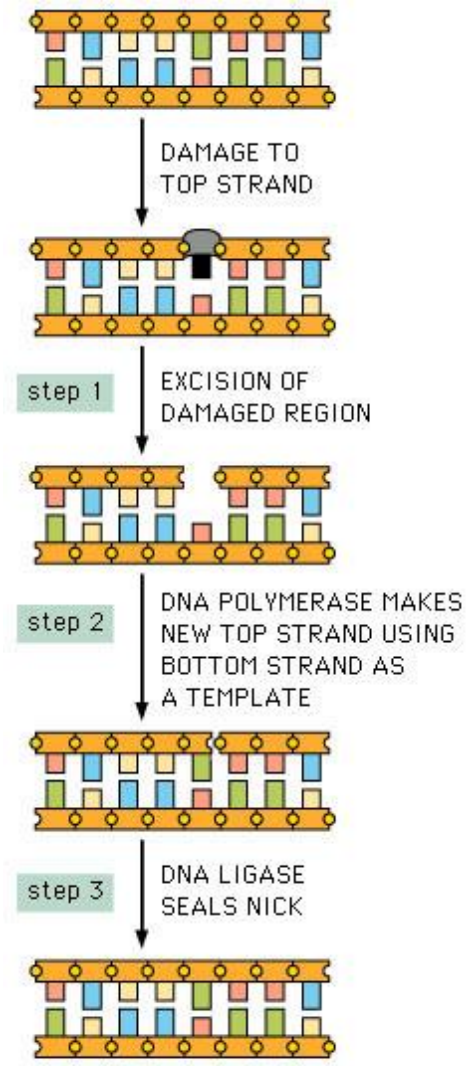
jindy nehomologní připojení

translokace

inzerce



DNA repair



(*in situ* repair)

- excisní reparace
- base excision repair
- nucleotide excision repair
- mismatch repair

Charakter biologického účinku

Deterministický

závažnost závisí (“je determinována”) na **dávce**

manifestace **specifická**

poškození typických tkání a orgánů
efekt se objevuje jen při překročení **prahové dávky**

poškození je důsledkem zániku **velkého množství buněk**

nástup příznaků brzy po expozici (**krátká latence**)

typy:

akutní radiační syndrom (ak. nemoc z ozáření)

celotělové ozáření dávkou >1Gy

chronický post-radiační syndrom (celkově nebo lokálně)

sterilita, katarakta, radiační dermatitida, alopecie, endarteritis obliterans, pneumonitis, ...

poškození plodu *in utero*

Stochastický

pravděpodobnost roste s dávkou (ne závažnost!)

manifestace **nespecifická**

poškození různých tkání a orgánů

plynulý nárůst rizika **bez “bezpečné” prahové dávky**

k efektu stačí poškození **jediné buňky**
manifestace opožděná (**dlouhá latence**, typicky roky)

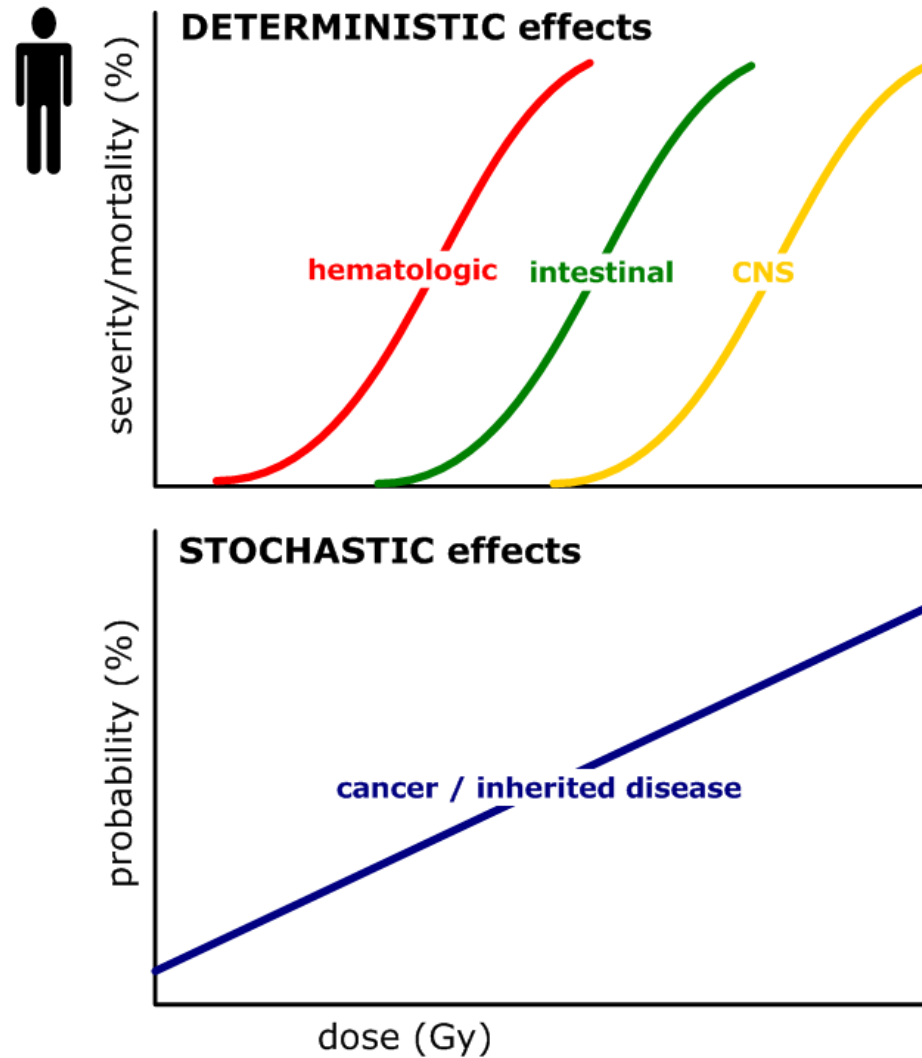
typy:

somatické mutace - nádory

leukemie, št. žláza, plíce, ml. žláza, skelet

germinativní mutace (oocyt, spermie) – vrozený genetický defekt

Deterministické × stochastické

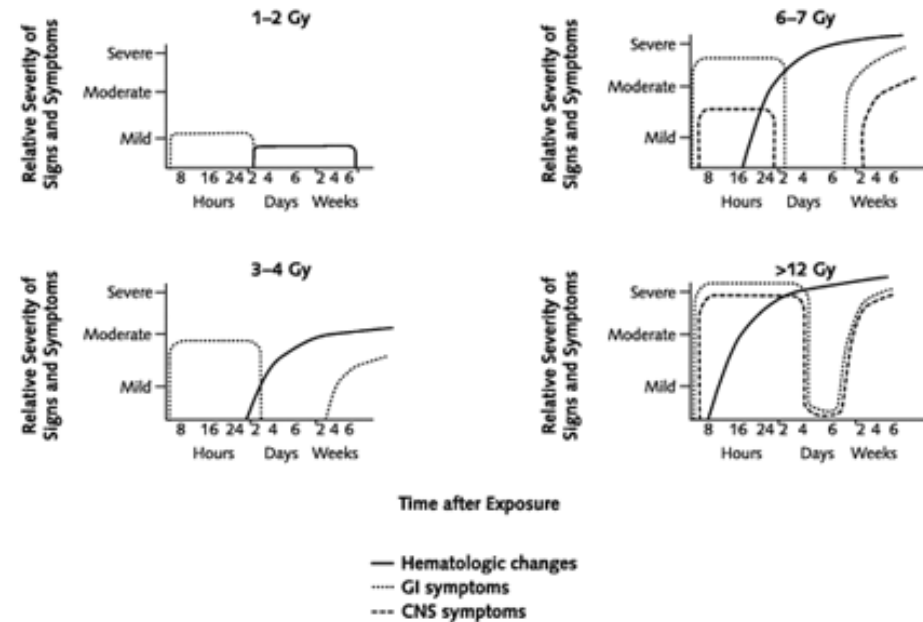


Akutní radiační syndrom

postihuje **hematopoetický**,
gastrointestinální a **cerebrovaskulární**
systém

časový průběh, rozsah a závažnost odstupňovaná
podle dávky → **deterministický** efekt!!!

od několika hodin do několika měsíců po
expozici



Akutní radiační syndrom

Hematopoetický syndrom (>1Gy)

- 1) retikulocytopenie, lymfopenie + granulocytóza
- 2) granulocytopenie (→ imunodeficience)
- 3) trombocytopenie (→ krvácivost)
- 4) anemie (→ hypoxie)

GIT syndrom (>10Gy)

časný (hodiny) – nevolnost, zvracení, diarrhea

pozdní (dny) – ztráta intestinální integrity

malabsorpce, dehydratace, toxemie/sepse, ileus, krvácení

Cerebrovaskulární syndrom (desítky Gy)

bolest hlavy, porucha kognitivních funkcí, dezorientace, ataxie, křeče, vyčerpání a hypotenze

Kožní

erytém, popáleniny, edém, porucha hojení ran

epilace

Hematopoetický syndrom

ozáření kostní dřeně (>1Gy) vede k exponenciálnímu zániku buněk -

hematologická krize

hypoplazie až aplazie dřeně + periferní pancytopenie (infekce, krvácení)

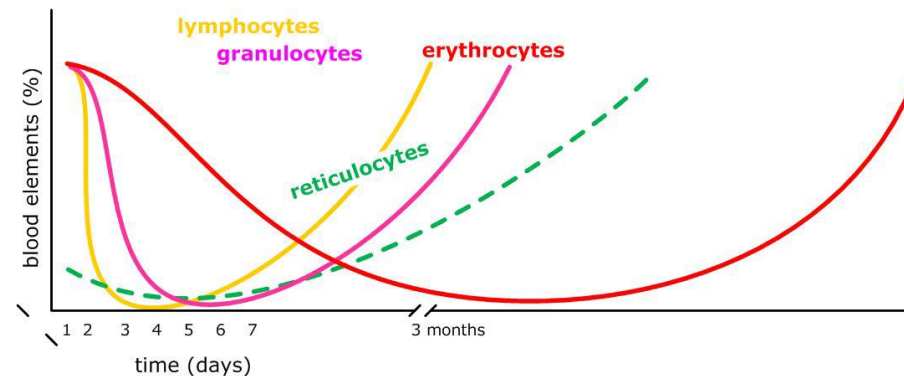
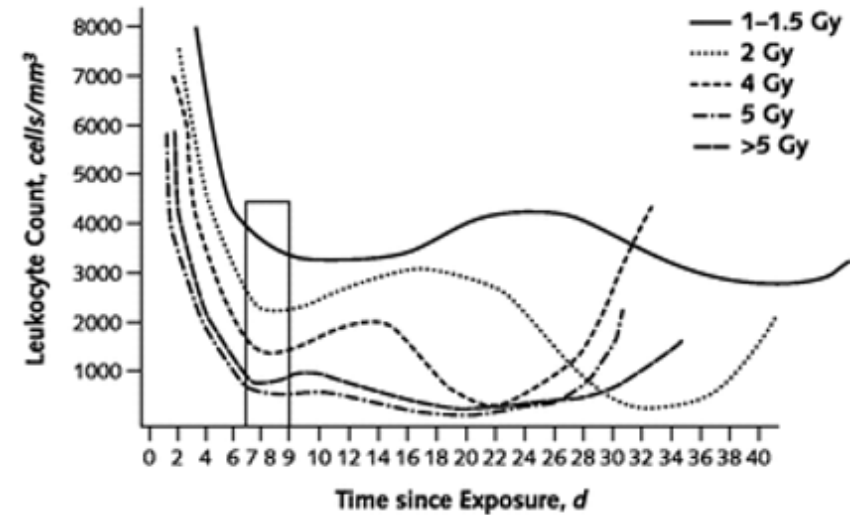
subpopulace **kmenových bb.** je selektivně více **radio-rezistentní**, (pravděpodobně díky převaze bb. v G_0 fázi)

nezbytné pro regeneraci

anemie je pozdním důsledkem (erythrocyty ~120 dní)!

masivní stresová reakce

(glukokortikoidy) přispívají k lymfopenii (cytolytický efekt) a paradoxně oddalují nástup granulocytopenie (uvolnění zásob. granulocytů z dřeně a sleziny)



Exemplární příklad?

THE UKRAINIAN WEEKLY
Published by the Ukrainian National Association Inc., a fraternal non-profit association
Vol. LXIV No. 16 THE UKRAINIAN WEEKLY SUNDAY, APRIL 21, 1986 \$1.25/\$2 in Ukraine

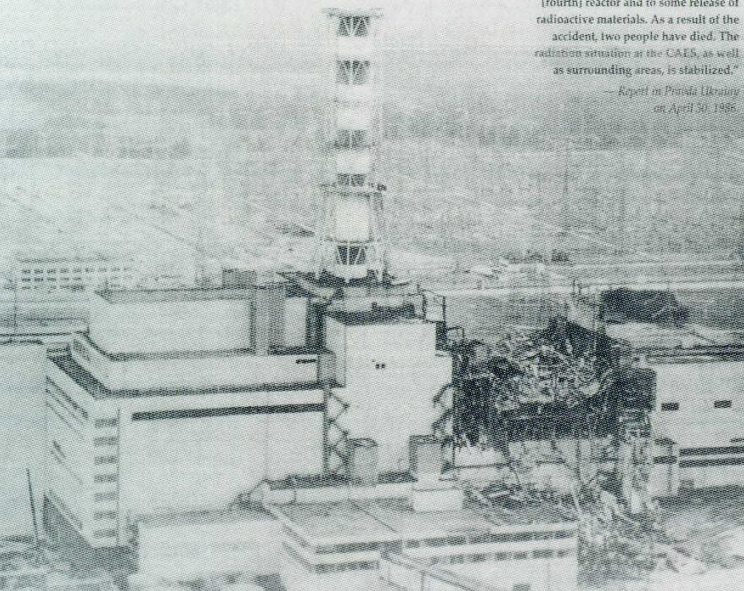
CHORNOBYL: THE FIRST DECADE

"An accident has taken place at the Chernobyl power station, and one of the reactors was damaged. Measures are being taken to eliminate the consequences of the accident. Those affected by it are being given assistance. A government commission has been set up."

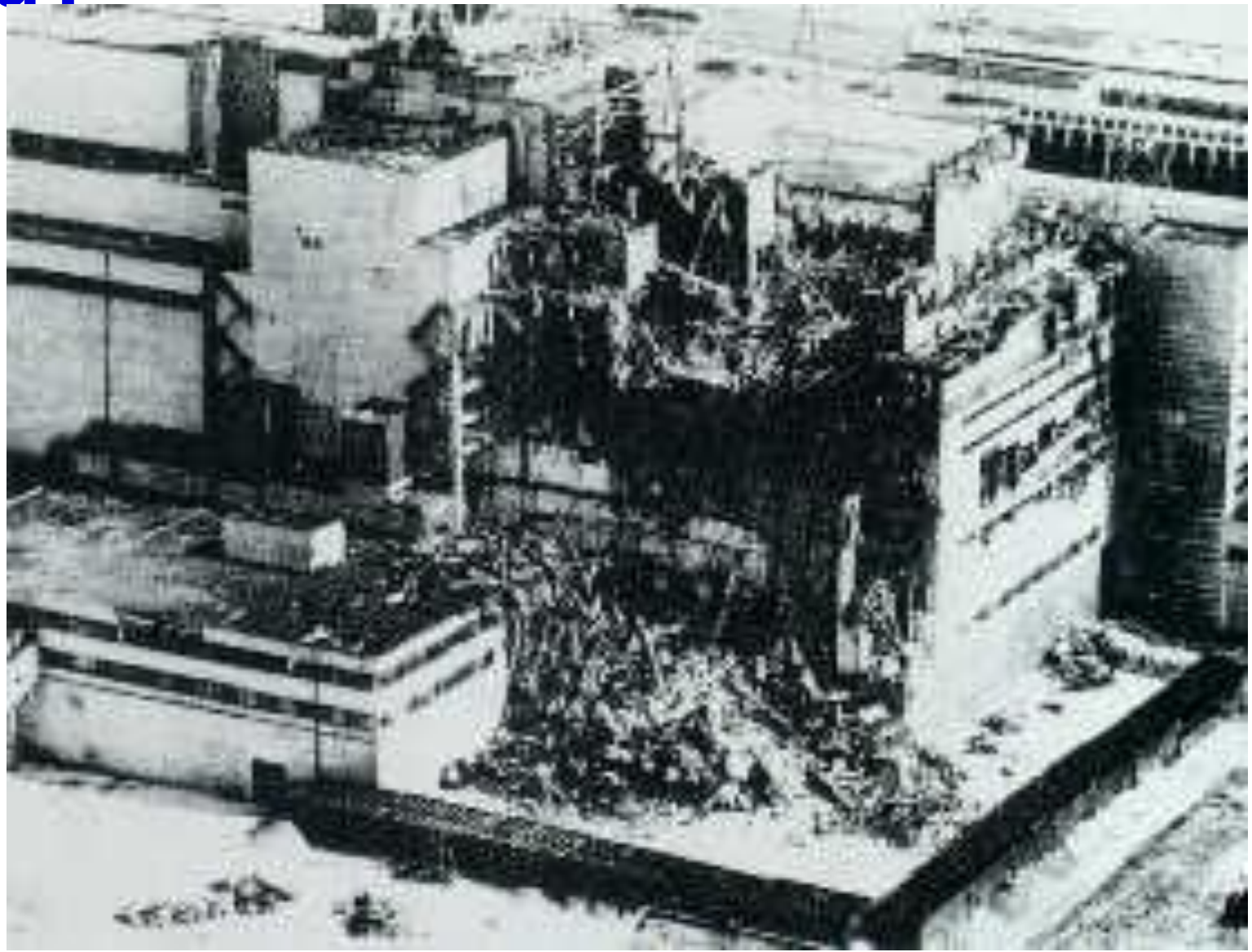
— Announcement of USSR Council of Ministers read on April 28, 1986, on Moscow television.

"At the Chernobyl atomic energy station there was an accident that led to the ruin of a portion of the building housing the [fourth] reactor and to some release of radioactive materials. As a result of the accident, two people have died. The radiation situation at the CAES, as well as surrounding areas, is stabilized."

— Report in Pravda Ukraine on April 30, 1986.

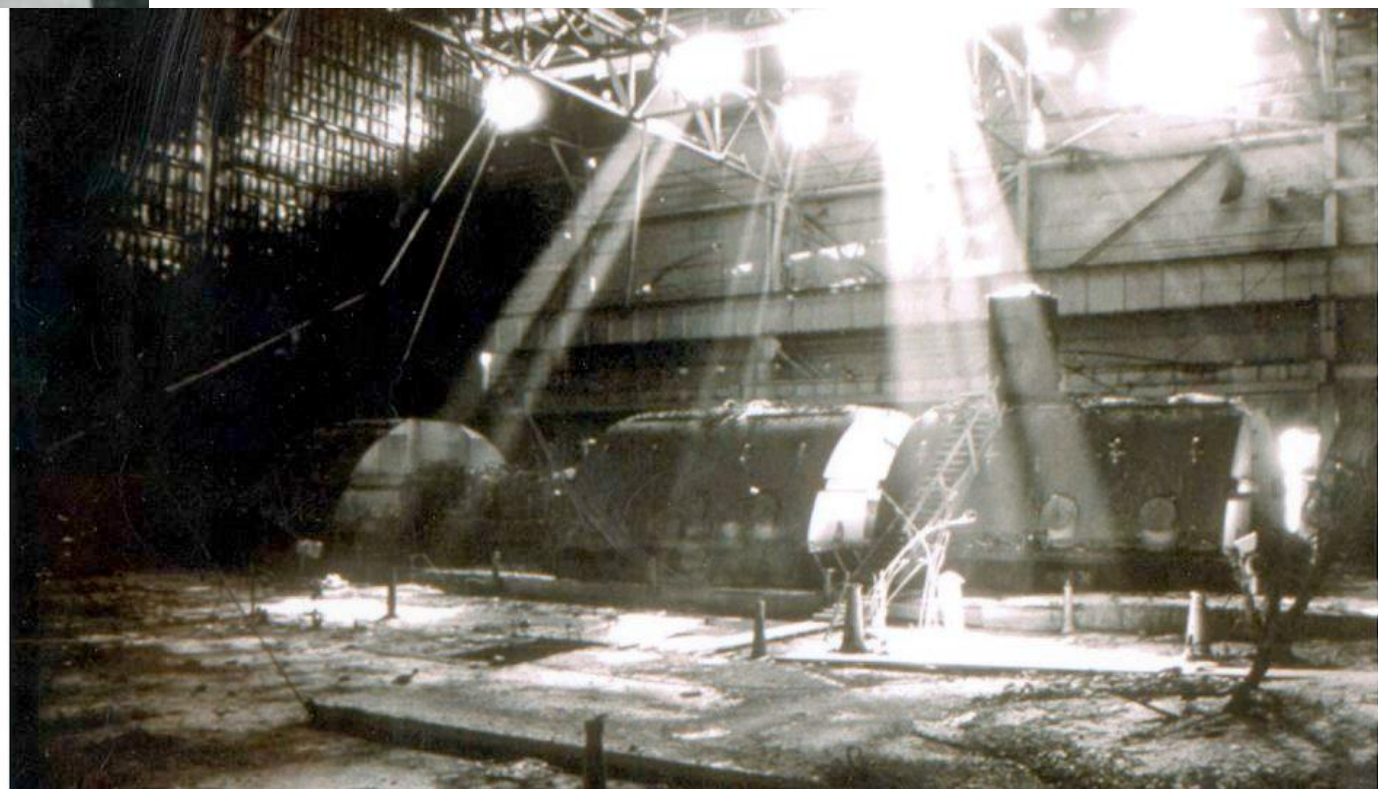


The destroyed fourth reactor of the Chernobyl nuclear power plant as photographed soon after the April 26, 1986 disaster by Andrei Ilchuk.



Super quick explanation of the what the Chernobyl nuclear disaster and reactor number 4 including it's timeline of events in the seconds and minutes and days following April 26th, 1986 and what radioactivity is









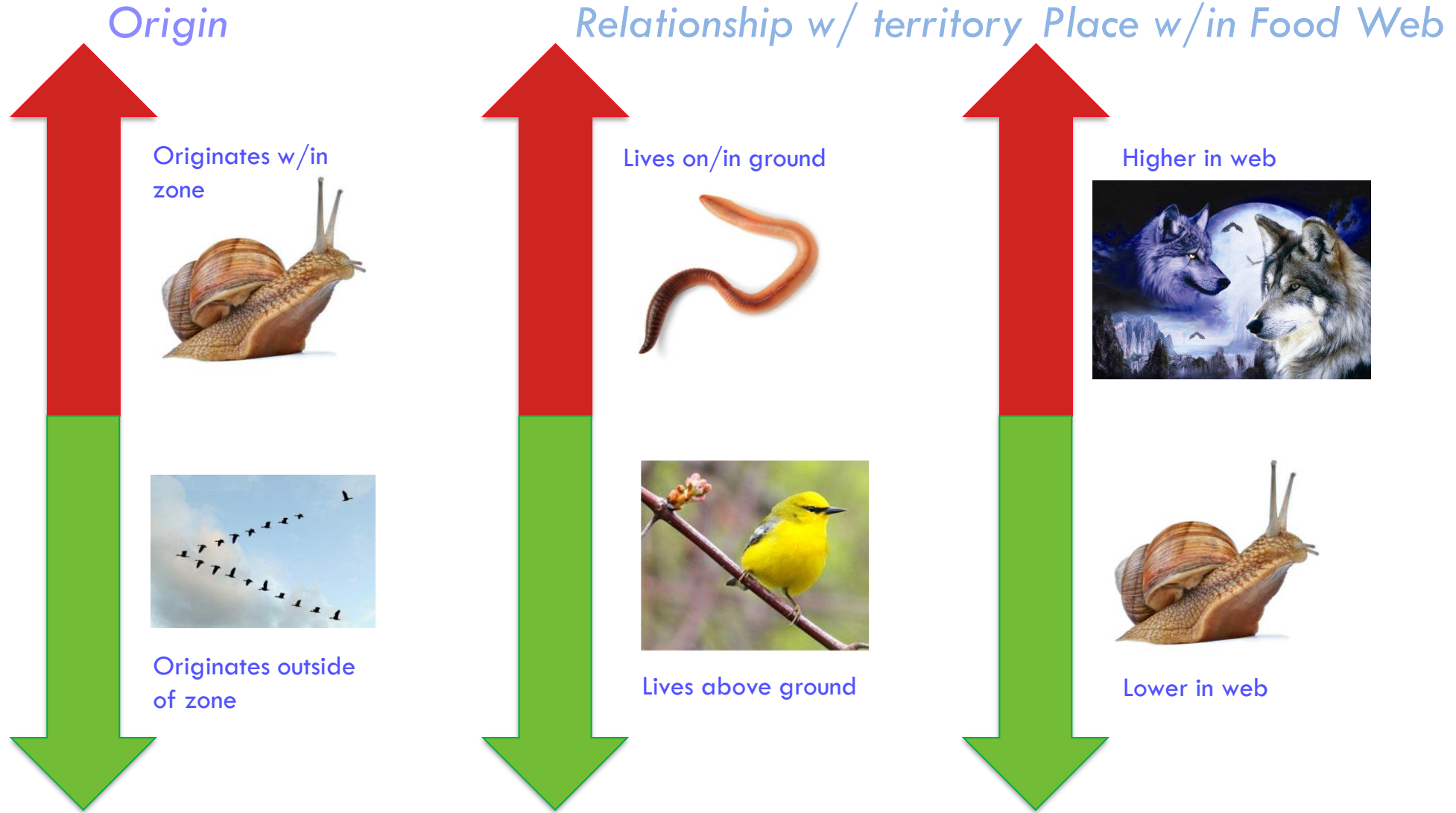








Bioakumulace



Praktikum:

EXPERIMENTÁLNĚ NAVOZENÝ AKUTNÍ RADIČNÍ SYNDROM U POKUSNÉHO ZVÍŘETE

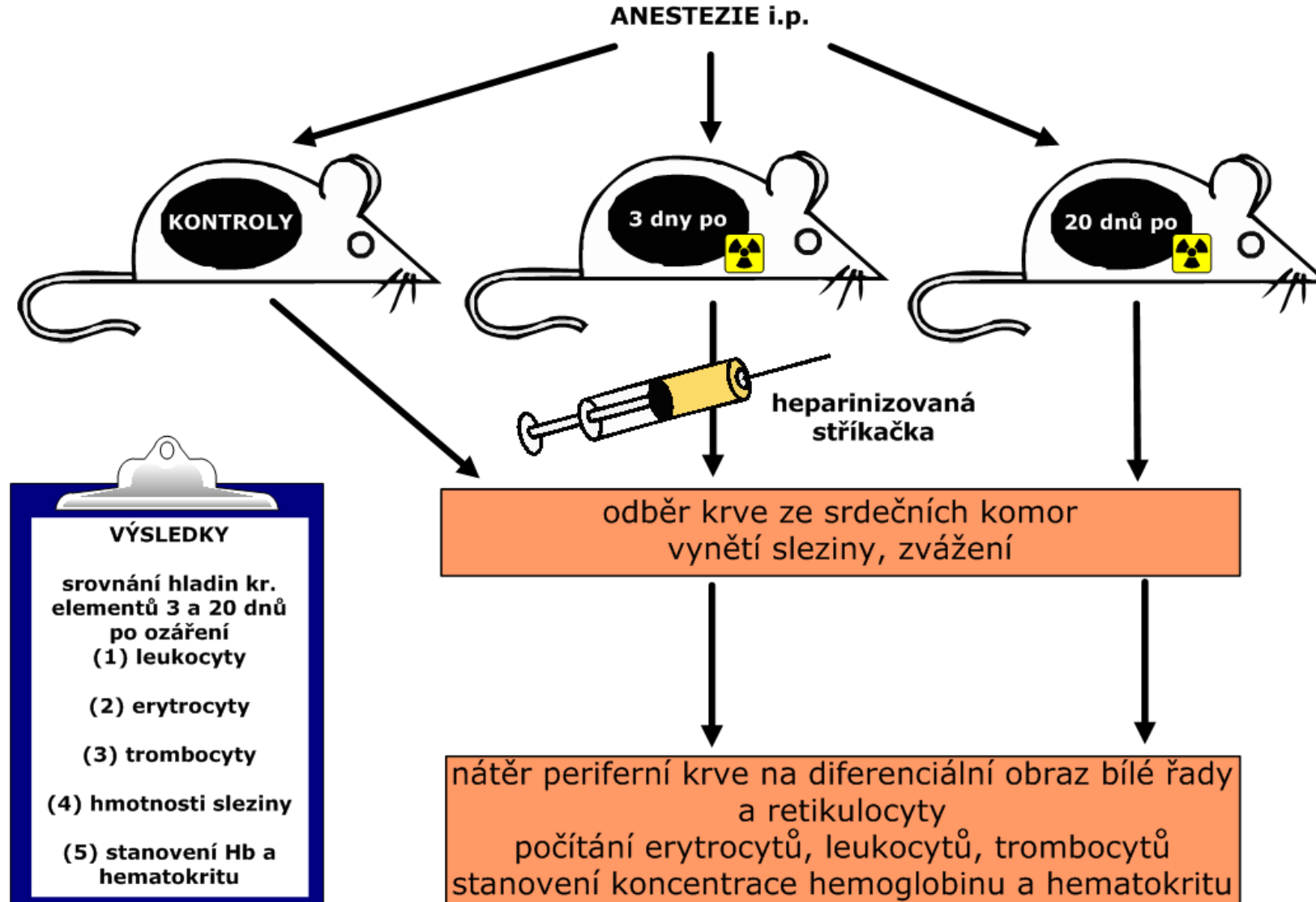
Cíl praktika

na hematologických parametrech dokumentovat deterministickou povahu účinků záření

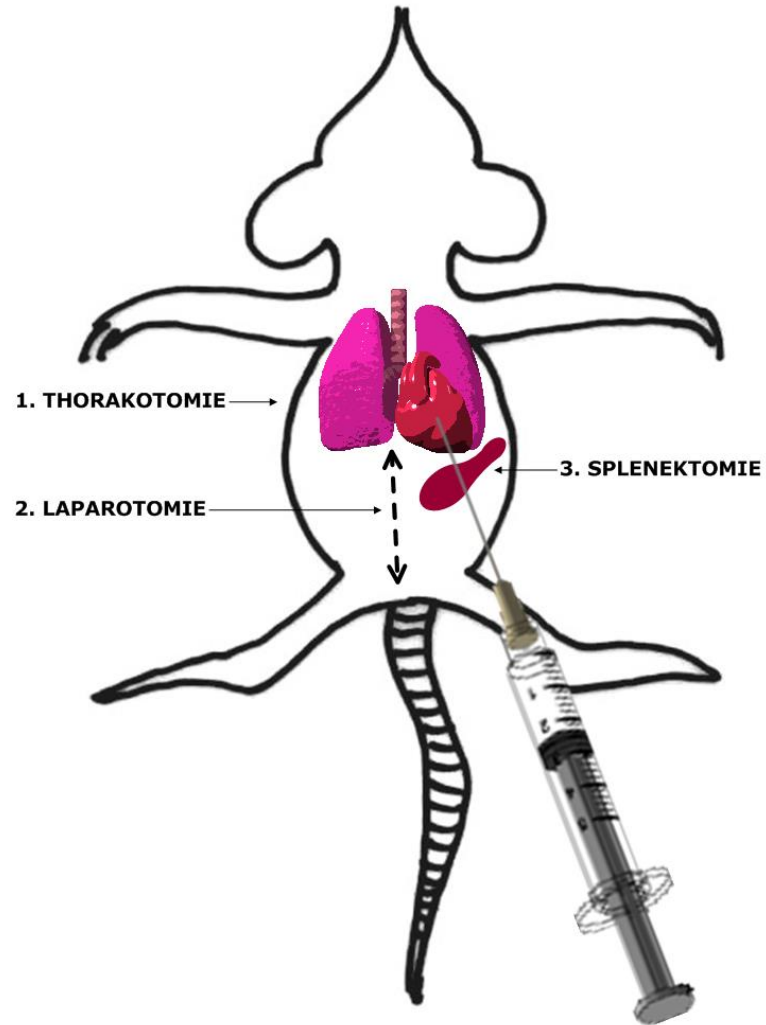
sledovat dynamiku změn periferního krevního obrazu jako následku zněm b kostní dřeni

akutní radiační syndrom je modelovou situací, na které lze ukázat princip regulace hematopoezy

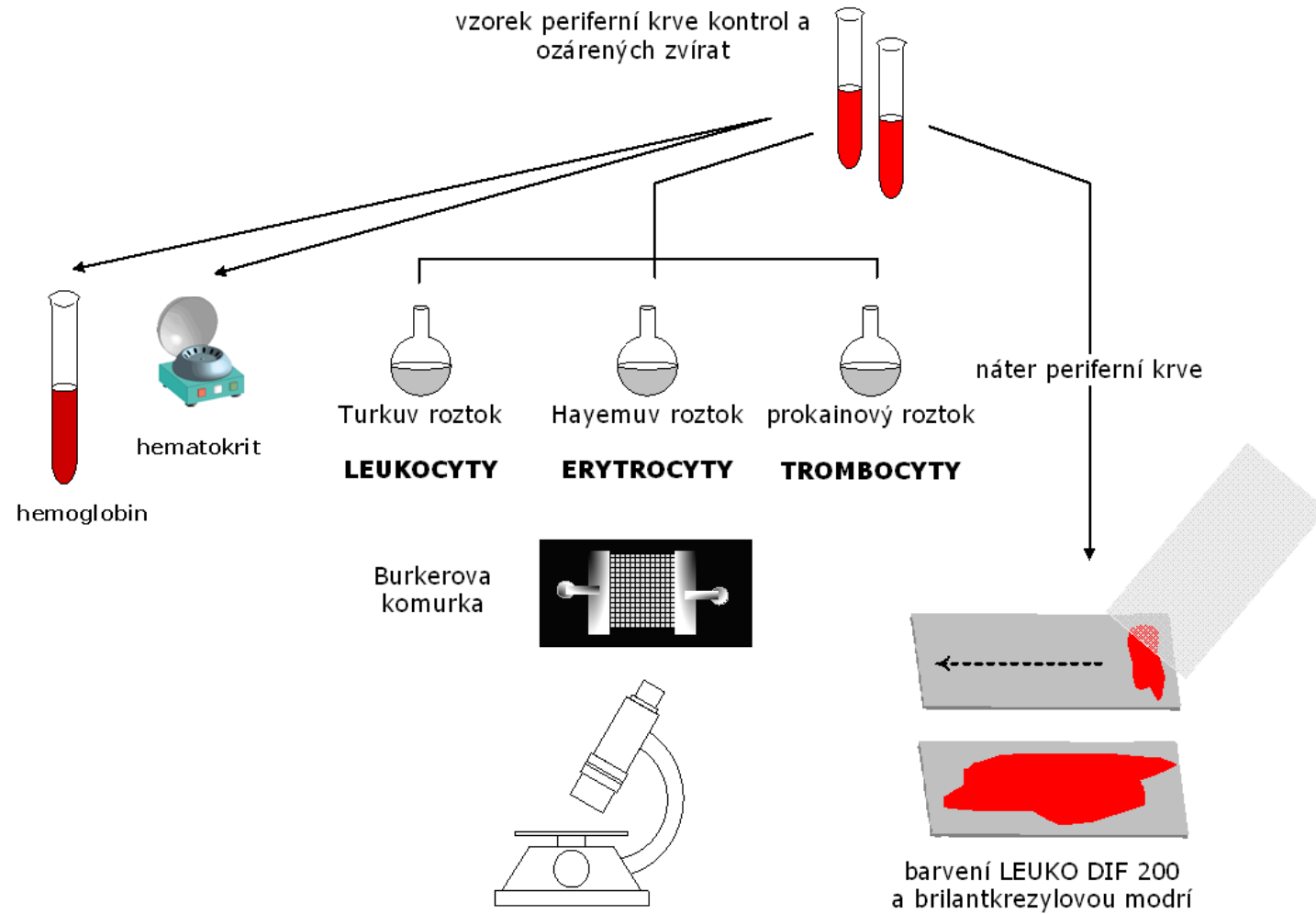
Praktikum I - design



Praktikum I – operační postup



Praktikum I - hodnocení



Účinky ionizujícího záření na krevetvornou tkáň

Praktikum II – hodnocení nátěrů periferní krve



Kontrolní otázky

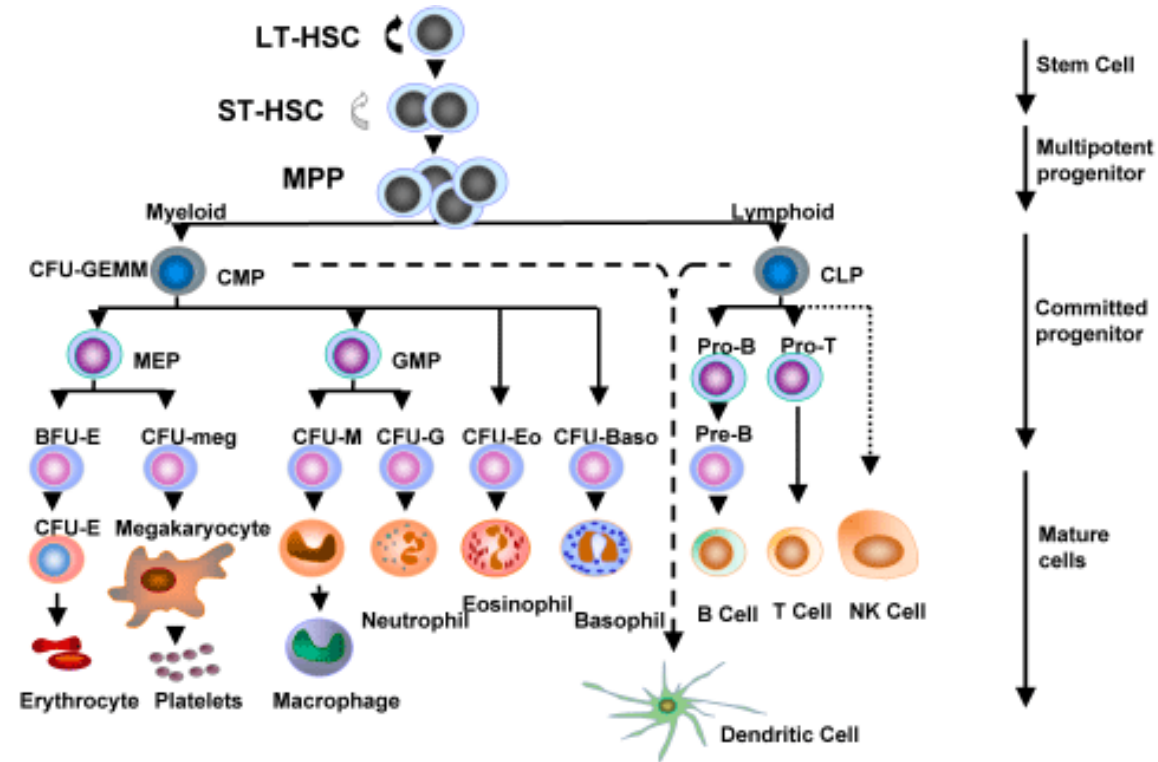
Co je to ionizující záření?

Co je to radioaktivita?

Čím jsou zprostředkovány biologické efekty ionizující záření?

Typy biologických efektů záření + příklady?

Hematopoeza



Krvetvorná tkáň = kostní dřeň

kostní dřeň

(1) krvetvorné bb.

(2) hematopoetické stroma – nezbytně nutné k normální produkci krevních bb.

fibroblasty, adipocyty, makrofágy, T-lymfocyty, vazivo, tu

vlastní krvetvorné bb. – kmenové bb.

pluripotentní hematopoetické kmenová buňka

diferenciace do všech řad + sebeobnova !!!

nejasný fenotyp – antigenní klasifikace CD34+

ve dřeni <0.01%

progenitorové (determinované) kmenové bb.

nemají schopnost dlouhodobé sebeobnovy

nejasný fenotyp – klasifikace podle schopnosti tvořit kolonie (CFU-E, CFU-M, CFU-G, CFU-Meg, ...)

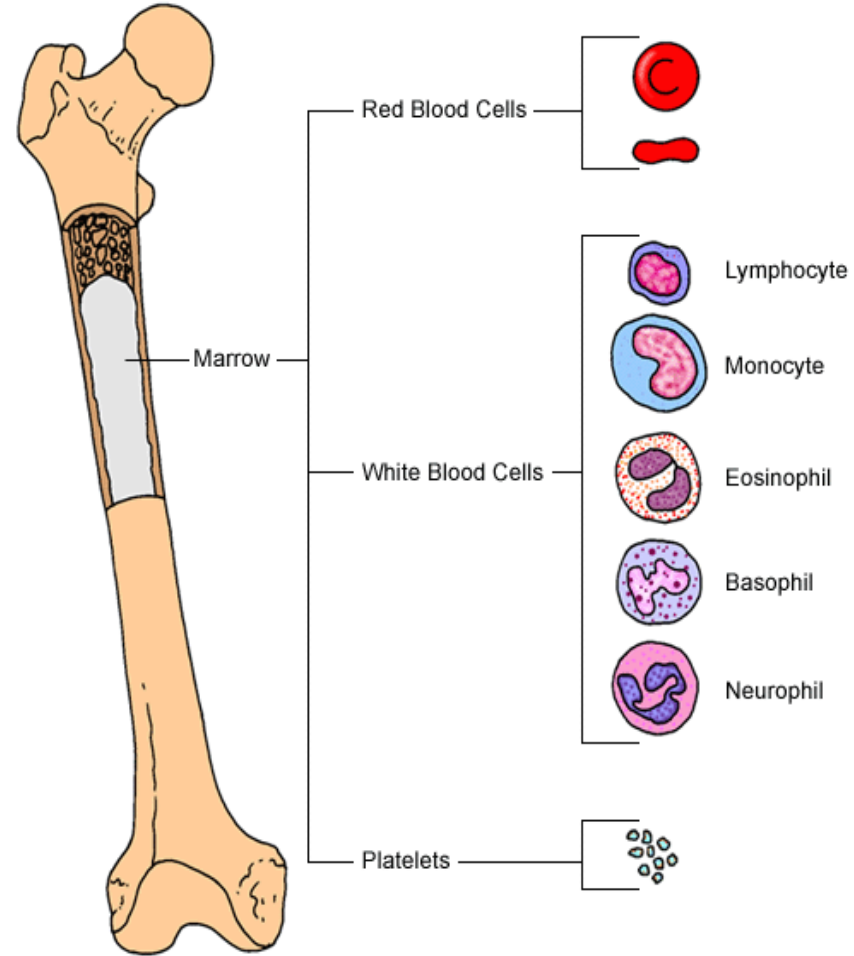
prekurzory krevních bb.

jasný fenotyp (morfologie, histochemie)

ve dřeni ~90%

proerythroblast – bazofilní erythroblast – polychromatofilní erythroblast – ortochromní erythroblast – retikulocyt - erythrocyt
myeloblast – promyelocyt – myelocyt – metamyelocyt – granulocyt (tyčka)
promonocyt – monocyt
megakaryoblast - megakaryocyt

zralé elementy



Kmenové buňky

základními vlastnostmi KB jsou
schopnost sebeobnovy

tj. dělení bez diferenciacce (asymetrické)

produkce specializovaných bb.
(regenerace tkání)

typy KB

zralé KB (pluripotentní)

adultní, somatické

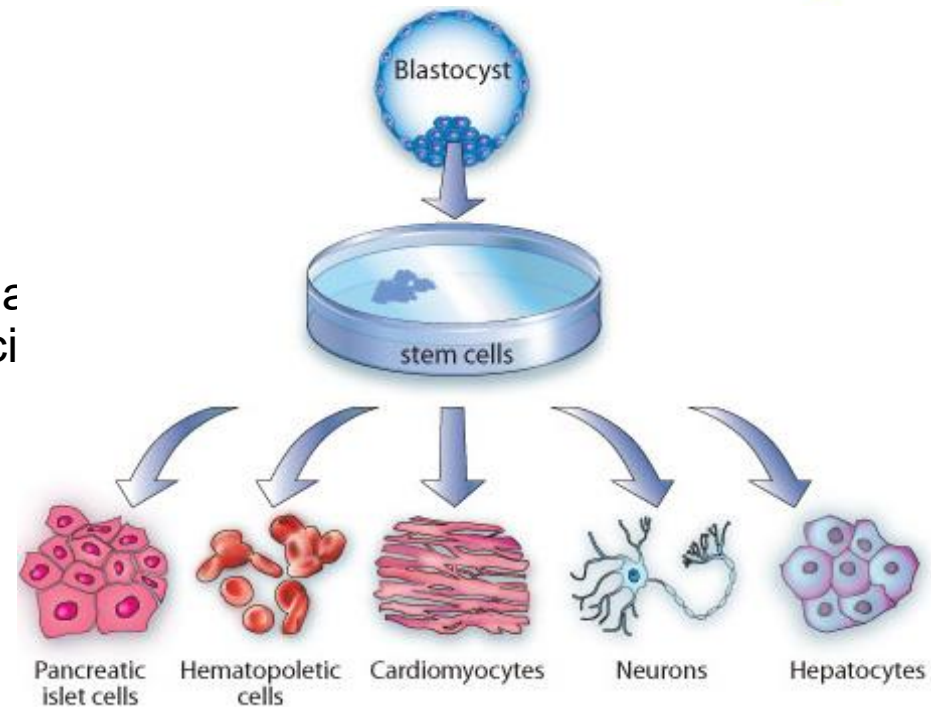
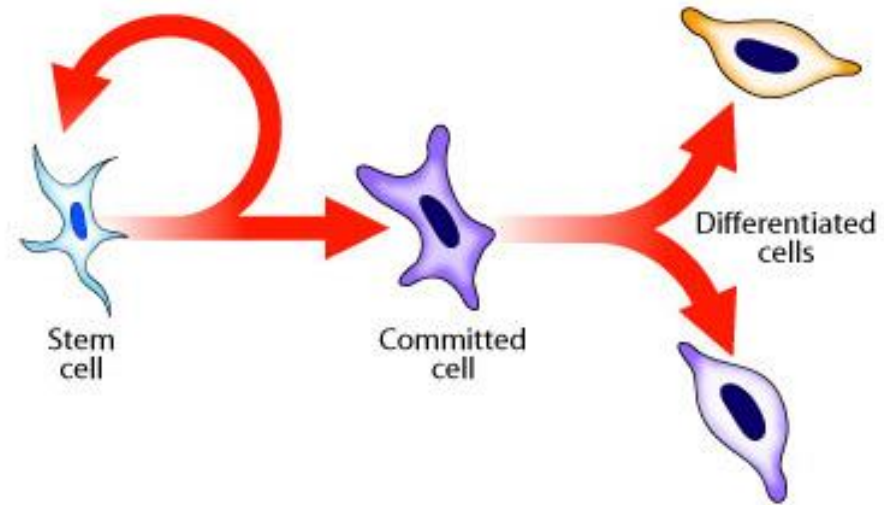
jednotlivé KB dávají vznik
omezenému repertoáru bb.

např. hematopoetické KB,
mesenchymální KB, ...

časné KB (toti-/omnipotentní)

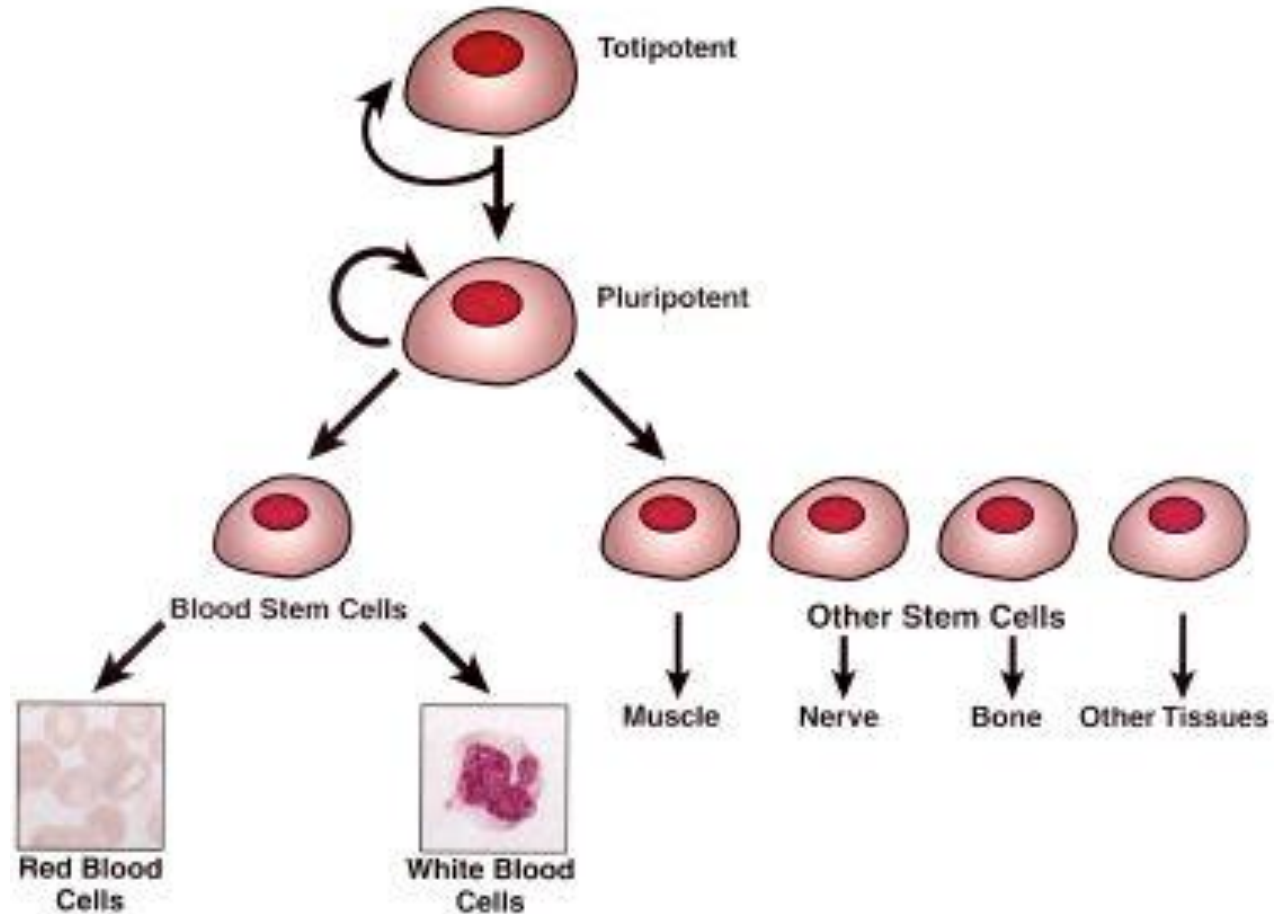
embryonální (blastocysta)

dávají vznik všem typům buněk těla
jako jediné nepotřebují ke stimulaci
dělení růstové faktory, u všech
ostatních je buněčný cyklus
startován mitogeny



Kmenové buňky

Hierarchy of Stem Cells

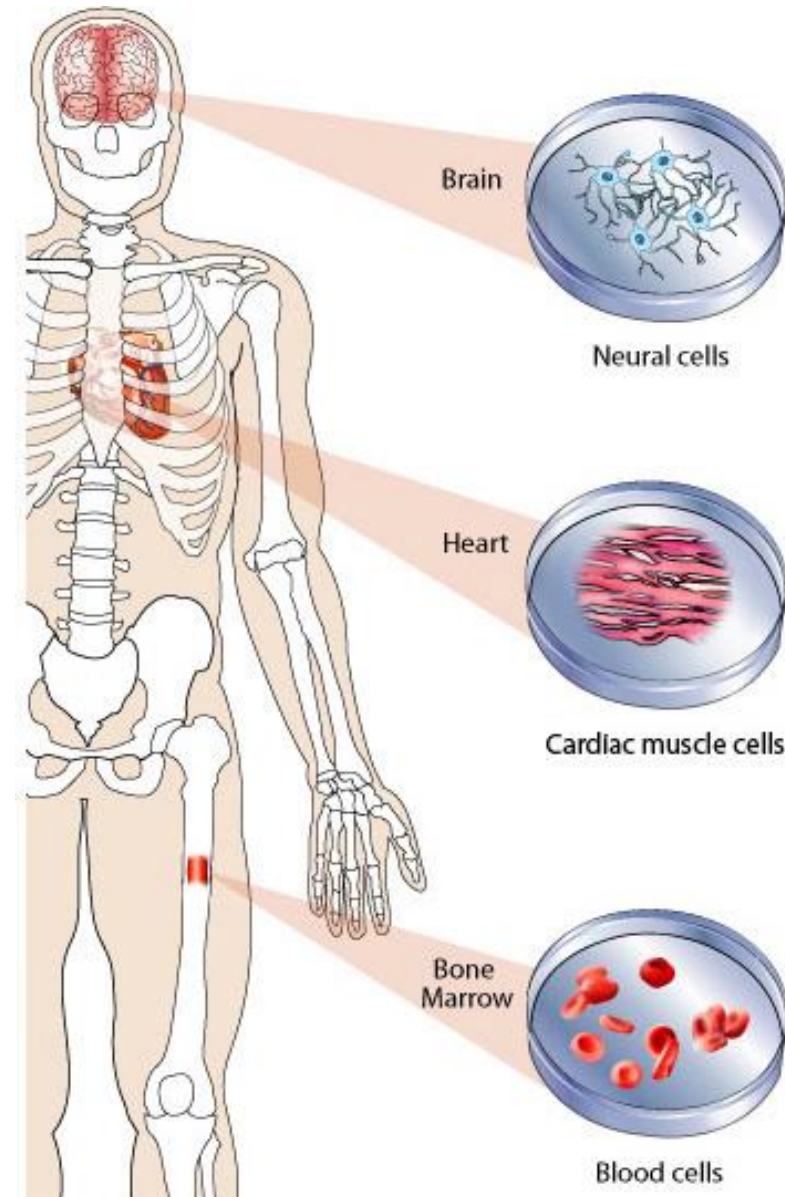


Somatické kmenové buňky

lokalizovány ve většině tkání těla jako zdroj buněk pro neustálou sebeobnovu a nahrazování

jsou pluripotentní
dávají vznik všem bb. konkrétního typu tkáně, ne však jiného (tuto schopnost mají pouze embryonální KB)

nicméně ukazuje se, že jistá univerzalita je možná



Regulační faktory hematopoezy

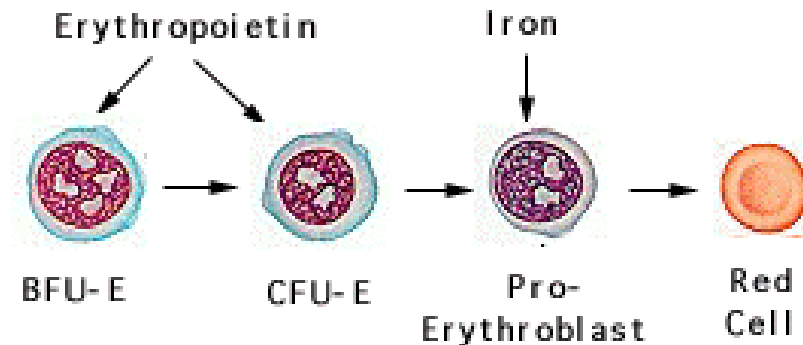
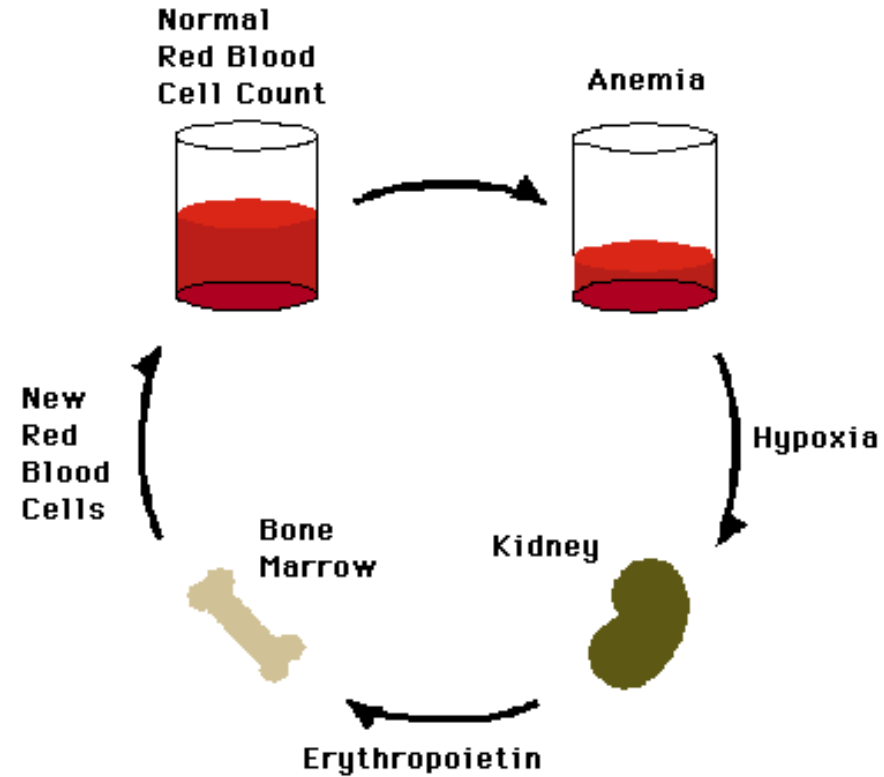
souhra působení faktorů
autokrinních, parakrinních a
endokrinních
endokrinní

erythropoetin (ledviny)
trombopoetin (játra)
cytokiny

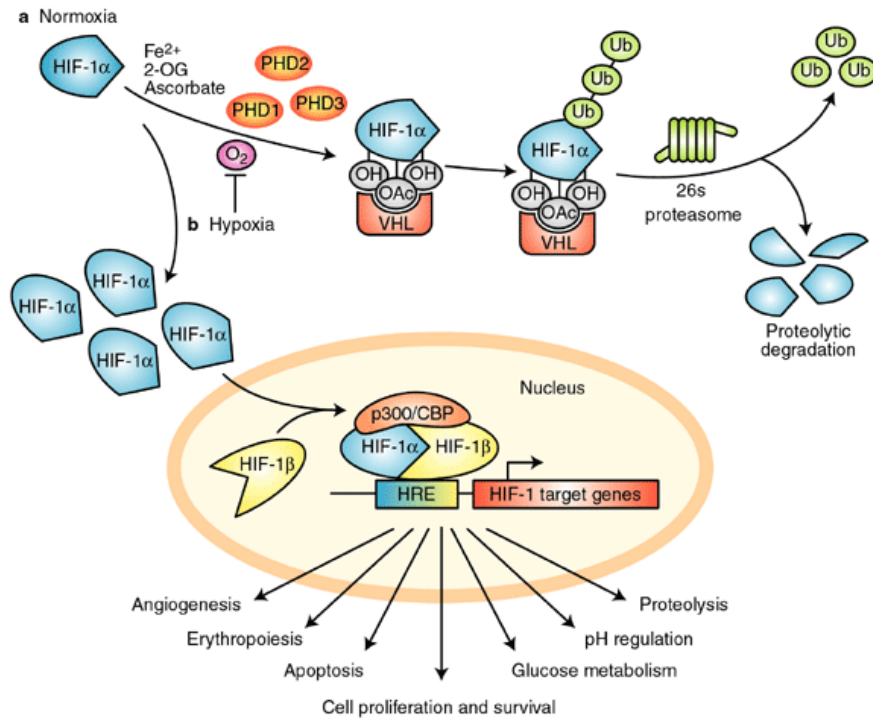
para-/autokrinní

hematopoetické růstové faktory
(cytokiny)

produkovány buňkami
stromatu, např. CSFs (colony-
stimulating factors)



Erythropoetin (EPO)



HIF-1 α regulation by proline hydroxylation

90% kyslíku v organismu je využito pro ox. fosforylaci → produkci ATP
 kyslík je ve vodě relativně nerozpustný → Hb umožňuje transportovat krví 100× více kyslíku než by bylo možné pouze ve fyzikálně rozpuštěné formě

EPO je hl. regulátorem konc. Hb a tedy dostupnosti kyslíku

1893 – vysokohorské prostředí (Alpy) vede k \uparrow Hb u lidí → hypoxie!

1950 – humorální faktor produkovaný ledvinami stimulující erytropoézu

bilaterální nefrektomie u krys vedla k anémii

1977 purifikace EPO z moči pacienta s aplastickou anémií

1983 naklonování genu pro EPO → produkce rekombinantního EPO (epoetin)

dlouhodobá léčba renálního selhání a některých anemií

produkce EPO – peritubulární fibroblasty ledviny (hluboký v kortex a vnější kůra)

proč ledvina?

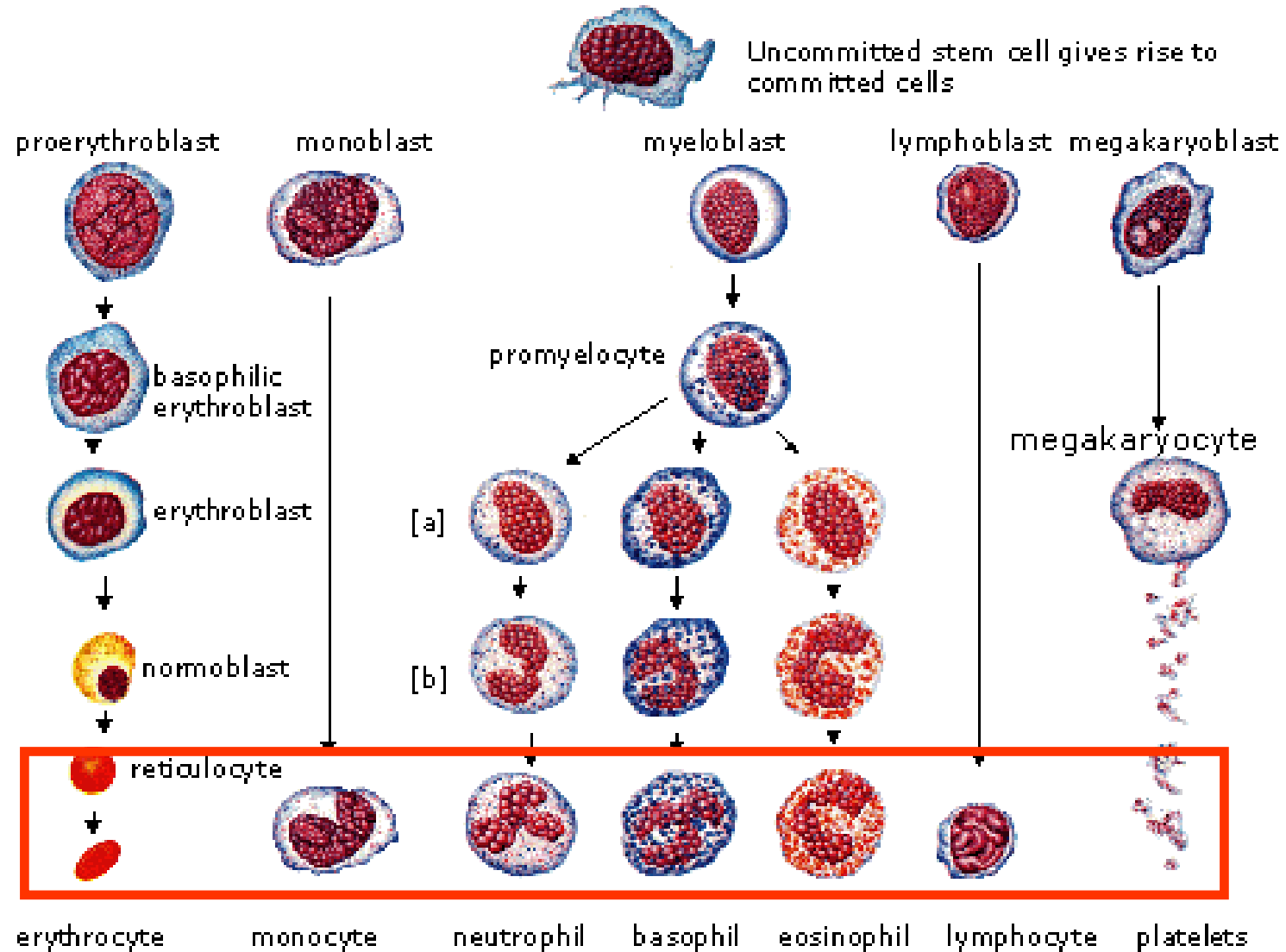
fylogeneze – u nižších organismů je ledvina hemopoetický orgán

citlivější sensing skutečného obsahu Hb a tedy kyslíku (po separaci plazmy a kr. elementů) při glom. filtraci

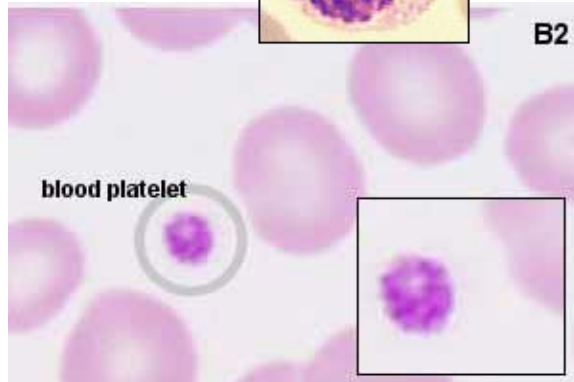
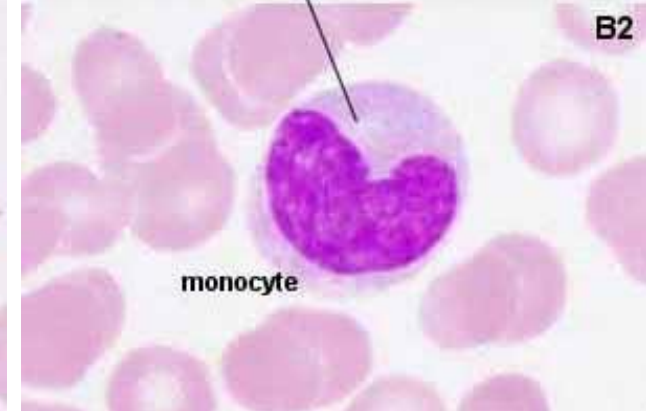
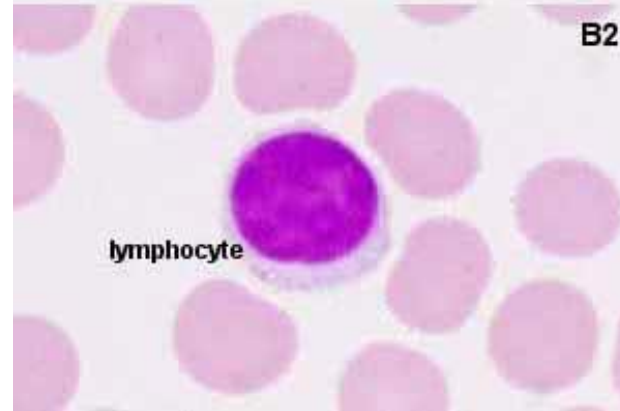
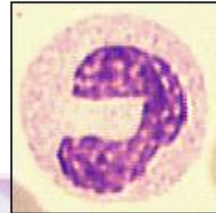
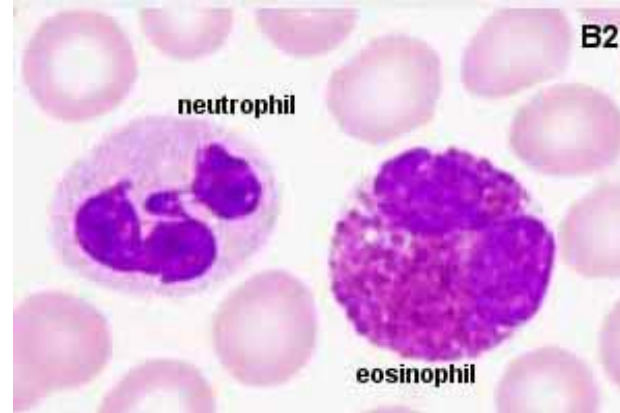
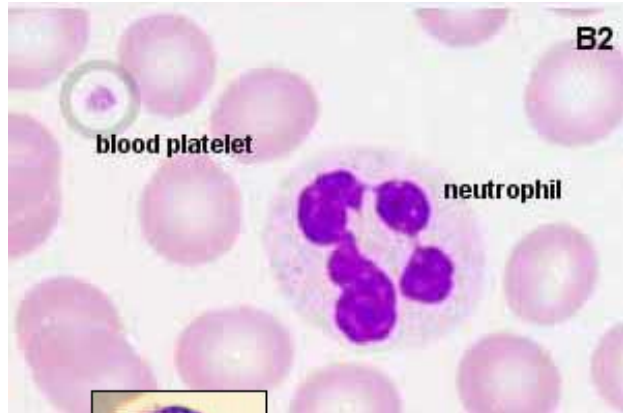
Krevní obraz – ref. hodnoty

	Muži	Ženy
počet Ery [RBC] ($\times 10^{12}/l$)	4.2 – 5.8	3.8 – 5.2
počet Leu [WBC] ($\times 10^9/l$)	5 – 10	
počet Tromb ($\times 10^9/l$)	150 – 400	
hematokrit (%)	0.38 – 0.49	0.35 – 0.46
hemoglobin (g/l)	135 – 175	120 – 168
stř. objem Ery [MCV] (fl)	80 – 95	80 – 95
prům. obsah Hb v Ery [MCH] (pg) <i>MCH = Hb \times 10/RBC</i>	27 – 32	27 – 32
prům. konc. Hb [MCHC] <i>MCHC = Hb \times 100/hematokrit</i>	0.32 – 0.37	0.32 – 0.37
distribuční šíře Ery [RDW] (%) <i>variace velikosti Ery – míra anizocytózy</i>	11 – 15	

Buňky periferní krve

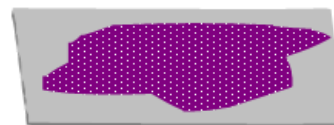


Diferenciální rozpočet bílé krevní řady ("diferenciál")

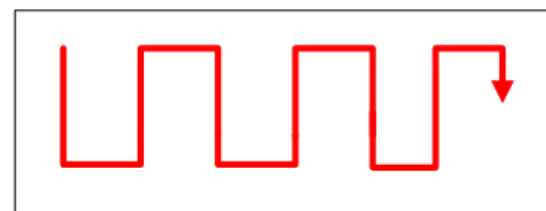


Praktikum II

obarveno v LEUKO DIF 200 / brilantkrezylové modři



prohlížení krevního nátěru



LEUKOGRAM

TYČKY											3 %
SEGMENT											62 %
EOZINOFIL											2 %
BAZOFIL											1 %
LYMFOCYT											28 %
MONOCYT											4 %
	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	100%

VÝSLEDKY

(1) počet retikulocytů
(\bar{n} ret/1000 erytrocytů)

(2) zhodnocení nátěru
periferní krve
(ze vzorků kontrol a 3 a
20 dní po ozáření 4Gy)