

Biomarkery spojené s individuálnou rádiosenzitivitou

Biomarkers Associated with Individual Radiosensitivity

Martin Patin¹, Martin Bereta², Jaromír Tupý^{3,4}, Lucián Zastko^{3,5}

¹ORTOTECH s.r.o., Oddelenie rádiológie, RTG, MRI pracovisko, Banská Bystrica, Slovenská republika

²Katedra rádiologickej techniky, Fakulta zdravotníctva, Katolícka univerzita v Ružomberku, Ružomberok, Slovenská republika

³Katedra laboratórných vyšetrovacích metód v zdravotníctve, Fakulta zdravotníctva, Katolícka univerzita v Ružomberku, Ružomberok, Slovenská republika

⁴Klinika hematológie a transfúziológie, Ústredná vojenská nemocnica SNP Ružomberok - FN, Ružomberok, Slovenská republika

⁵Oddelenie rádiobiológie, Ústav experimentálnej onkológie, Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, Bratislava, Slovenská republika

<https://doi.org/10.54937/zs.2024.16.2.26-31>

Súhrn:

Tento odborný článok sa v rámci základného prehľadu venuje najmä biomarkerom, ktoré sú spojené s individuálnou rádiosenzitivitou pacientov. Táto téma je dnes priamo spojená s výskumom v onkológii a to najmä v radiačnej onkológii, kde už dlhý čas panuje požiadavka na možnosť viac individualizovanej a účinnejšej formy terapie. Tieto biomarkery spolu s ďalšími inovatívnymi metódami môžu byť veľmi nápomocné. V tomto stručnom prehľade sú zahrnuté viaceré základné kategórie biomarkerov a spôsobov ich detekcie, ktoré by sa mohli v blízkej budúcnosti uplatniť na poli konvenčnej rádioterapie. Dané biomarkery sú priamo prepojené s bunkovými procesmi, ktoré prebiehajú pred a po ožiarení v tele pacienta. Výskum v tejto oblasti stále napreduje preto očakávame široké uplatnenie daných biomarkerov v klinickej praxi.

Kľúčové slová: Individuálna rádiosenzitivita. Genetické poruchy. Poškodenia chromozomálnej DNA. Bunkové štruktúry.

Summary:

This paper, as a part of a basic review, focuses on biomarkers that are associated with individual radiosensitivity of patients. This topic is nowadays directly connected with the research in oncology, especially in the radiation oncology, where more individualized and more effective form of therapy is requested for a long time. The biomarkers together with other innovative methods could be helpful. This brief review includes several basic categories of biomarkers and their detection methods that could be used in the field of conventional radiotherapy in the near future. These biomarkers are mainly associated with cellular processes that take place before and after the patient's body is irradiated. Research in this area is still progressing and therefore we expect promising application of these biomarkers in a clinical practice.

Keywords: Individual radiosensitivity. Genetic disorders. Chromosomal DNA breakage. Cellular structures.

Úvod

Biomarkery individuálnej rádiosenzitivity sú v dnešných dňoch ostro sledovanou témou hlavne na poli radiačnej onkológie a rádiobiológie. Pre ich pochopenie a následné uplatnenie v praxi je potrebné poznať základné princípy radiačnej onkológie a rádiobiológie a tiež základnú kategorizáciu týchto druhov biomarkerov. Výskum a vývoj spojený s touto tematikou však nie je vôbec jednoduchý a výskumníci často narážajú na problémy spojené s komplexnosťou procesov odohrávajúcich sa v ľudskom organizme a tiež s problémom spojeným s nešpecifickosťou daných biomarkerov a nemožnosťou ich unifikácie a použitia v klinickej praxi. V minulosti bola téma ionizujúceho žiarenia, rádiosenzitivity, rádiobiológie a tiež biomarkerov v oblasti vedy značne menej pochopená a v súlade s vtedajším vedecko-technickým napredovaním sa o nej veľa nevedelo. V minulosti ešte nebolo do detailov známe pôsobenie ionizujúceho žiarenia na ľudský organizmus a nevedelo sa ani o možnostiach využitia tohoto žiarenia v terapeutickom využití. Postupom času keď sa objavila možnosť terapeutického využitia tohoto žiarenia sa najmä u pracovníkov obsluhujúcich RTG zariadenia a pracovníkov prichádzajúcich do styku s otvorenými zdrojmi žiarenia vyvinuli negatívne zdravotné následky, ktoré začali byť dávané do súvislosti s novoobjaveným žiarením, často využívaním najmä na poli medicíny. V dôsledku vážnych stavov a mnohých úmrtí došlo k vedeckému skúmaniu sledujúcemu

vznik žiarenia, jeho účinky, spôsob jeho merania a verifikácie [1]. Na začiatkoch sa pre tento účel používali najmä základné fyziologické parametre postihnutých osôb napríklad telesná teplota, krvný tlak, množstvo vody v organizme, kognitívne funkcie, schopnosť látkovej výmeny. Sledovali sa rozdiely v týchto procesoch spojené s ožiareným a neožiareným organizmom. Pred objavením mikrotechnológií sa sledovali najmä procesy, kde sa pozoroval začiatok a výsledok týchto procesov, pričom príčiny a ich priebeh ostali neobjasnené kvôli nedostatku poznatkov. Po veľkej technologickej a vedeckej revolúcii, ktorá sa odohrala v minulom storočí mohol človek konečne objaviť a spoznať, čo stojí za mnohými procesmi v ľudskom organizme, a to vďaka objaveniu esenciálnych biomolekúl, ako napr. DNA, RNA, nucleolus, mitochondriálna matrix, jadrová hmota, genetické inžinierstvo, metodika bunkovej signalizácie a syntézy nových makromolekúl. Tým sa mohli pozorovať aj opísať negatívne účinky žiarenia [2].

Biomarkery individuálnej rádiosenzitivity

Postupným vývojom sa dostávame až k biomarkerom individuálnej rádiosenzitivity, ktoré by mali byť prioritou pre koordinované zlepšenie obrany ľudského organizmu voči ionizujúcemu žiareniu (IŽ) a voči nežiadúcim účinkom žiarenia. Hlavnou prioritou by malo byť ich využitie na poli radiačnej

onkológie a to najmä jej experimentálnych a inovatívnych foriem [1]. Hlavné požiadavky na tieto biomarkery by mali byť vysoká senzitivita daných biomarkerov voči IŽ, zachytenie ich hodnôt už pri ožiarení nízkymi dávkami, vysoká špecificita pre konkrétnu sledovanú oblasť, možnosť využitia týchto biomarkerov u mužov a u žien, unifikácia, využitie týchto ukazovateľov u väčších a rozsiahlejších skupín a sledovaných oblastí, a z mnohých ďalších aj možnosť diferenciácie a rozlíšenia medzi jednotlivými biologickými procesmi a bunkovými pochodmi, aby nedošlo k ich zámene. V súčasnej dobe môžeme pozorovať viacero sľubných skupín biomarkerov ktoré sa zaoberajú DNA, RNA, mitochondriálnou štruktúrou, poškodením a zlomom chromozómov, bunkovou signalizáciou, tvorbou voľných radikálov, modifikáciou organických zlúčenín a biomolekúl, zachytávaním voľných radikálov v hydroxyapatitoch v zuboch, nechtoch a vlasoch, a tiež zmenou organických zlúčenín zachytených v moči alebo krvi [2]. Pojmy: rádiosenzitivita a rádiorezistencia si získali veľkú pozornosť v rádiobiologickom svete. Rádiosenzitivita bola v minulom storočí opisovaná ako bunková reakcia vyvolaná určitými dávkami žiarenia, napr. radiačná dermatitída kože [3]. V neskoršom období sa tento pojem používal aj pre onkologické ochorenia, ktoré súviseli s ožiarovaním, napr. karcinóm štítnej žľazy alebo leukémia [4]. Tento druh poškodenia súvisel aj so šedým zákalom a znížením plodnosti. Pre všetky tieto poškodenia sa používal jeden názov, čo spôsobovalo chaos a tiež problémy v klinickej praxi [5]. Preto sa postupom času a vedeckého pokroku začali definovať jednotlivé odpovede na ožiarenie pomocou jednoznačných klinických pojmov, ktoré sa mohli nezávisle od seba aplikovať na jednotlivé bunkové, molekulové, tkanivové a tiež molekulárne rozhrania. Dôležité je pritom poznať a zaznamenať rádiosenzitivitu pomocou vedomostí o jej vlastnostiach [6].

Rádiosenzitivita je preto v dnešných dňoch popisovaná ako nepriaznivé reakcie zdravého tkaniva, ako sú napr. dermatitída, popáleniny, rektitída atď., tzn. akúkoľvek reakciu, ktorá končí bunkovou smrťou vyvolanou žiarením, ktorá môže byť vo všeobecnosti sprevádzaná zápalom [1]. Stupeň bunkovej rádiosenzitivity závisí od kombinácie rôznych fyzikálno-chemických vlastností daného tkaniva: vzájomnej interakcie medzi bunkami, schopnosti opraviť poškodenie, hypoxie, aktuálnej fázy bunkového cyklu, hormonálnej rovnováhy, rastovej frakcie, imunitného systému a rôznych faktorov, v závislosti od

vonkajšieho či vnútorného prostredia. Pravdepodobnou príčinou rádiosenzitivity môže byť nedostatočne vykonaná náprava poškodení spôsobených žiarením na DNA, vo všeobecnosti v dôsledku chybnéj signalizácie poškodenia DNA alebo mechanizmu jej celkovej opravy, čo závisí od stupňa poškodenia a stavu buniek [7].

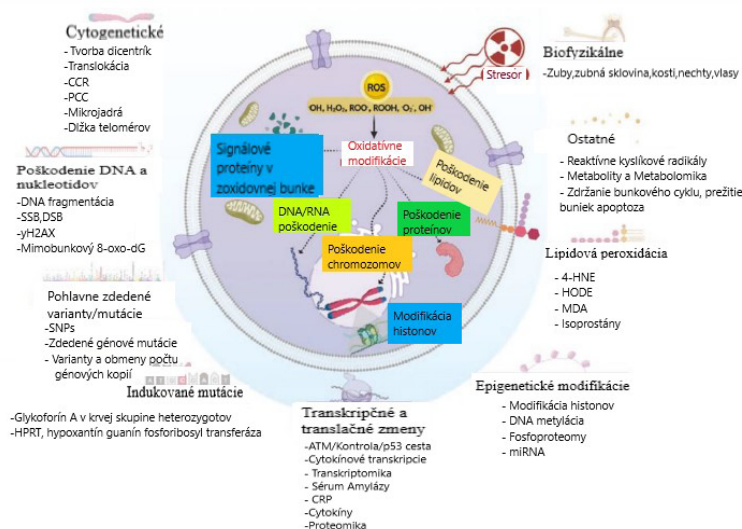
Rádiorezistencia, pre porovnanie s rádiosenzitivitou, je synonymom absentujúcich - akýchkoľvek nežiaducich negatívnych reakcií tkaniva a tiež funkčnej opravy poškodenia DNA (rýchlosť a účinnosť). Z hľadiska citlivosti na rádioaktívne žiarenie je rádiorezistencia synonymom nízkej pravdepodobnosti vzniku onkologických ochorení vyvolaných žiarením, avšak prejavíť sa môže inými faktormi v inom čase. Z hľadiska rádiodegenerácie je rádiorezistencia synonymom nízkeho rizika procesov a prejavov starnutia - vyvolaného IŽ [7].

Biomarker, v kontexte prepojenia na predošle definované pojmy, je vo všeobecnosti objektívna vlastnosť, vzájomne prepojená s jednou alebo viacerými predefinovanými vlastnosťami, ktoré indikujú špecifické fyziologické a patologické procesy a tiež reakcie na expozíciu alebo terapeutické účinky IŽ. Najčastejšie sú v dnešnej dobe merateľné v krvi alebo slinách a sú kvantifikovateľnými ukazovateľmi, ktoré odrážajú interakciu medzi biosystémom a jedným alebo viacerými environmentálnymi faktormi (chemickými, fyzikálnymi alebo biologickými) [8].

Cieľom použitia biomarkerov je ich schopnosť predpovedať zdravotné účinky daných situácií na organizmus. Zadefinovanie kvalitného biomarkera je problematické: vzhľadom na veľkosť a zložitosť živých systémov, použitie rôznych zdrojov žiarenia, rozličné pôsobenie na diferentné druhy buniek, iné časové rozpätie a fyziologické účinky [8].

Tieto biomarkery môžu byť organizované do kategórií ako (a) **cytogenetické**; b) poškodenie báz nukleotidov a poškodenie DNA; c) mutácie alebo varianty zdedené zo zárodočnej línie; d) indukované mutácie; e) transkripčné a translačné zmeny; f) epigenetické modifikácie; (g) peroxidácia lipidov; (h) iné druhy vrátane biofyzikálnych markerov.

Základné kategórie biomarkerov spojených s individuálnou rádiosenzitivitou sú uvedené na Obr. 1, viacerým z nich sa bližšie budeme venovať v nasledujúcej časti článku.



Obr. 1 Základný systematický prehľad biomarkerov spojených s individuálnou rádiosenzitivitou a IŽ. Upravené podľa zdroja [8].

Cytogenetické biomarkery

Tvorba dicentrických chromozómov je podmienená asymetrickými intrachromozomálnymi zámenami. Ide o výmenu medzi centromérovými kúskami dvoch zlomených chromozómov, ktorá je vo svojej kompletnej forme sprevádzaná fragmentom - zloženým z acentrických kúskov týchto chromozómov. Translokácia - súvisí s tvorbou dicentrických aj s mikrojadrovými biomarkermi, využíva sa najmä pri hematologických malignitách, zahŕňa znovu usporiadanie častí medzi nehomologickými chromozómami, ktoré vedú k fúzii génov spôsobujúcich onkologické ochorenie [9]. Poškodenie nukleotídových báz a DNA - γ H2AX - je fosforylovaná forma histonového proteínu H2AX, ktorý hrá úlohu v detekcii a oprave DSB, pomáha vytvárať a zadržať reparačné proteíny na indukovanom mieste pre efektívnu opravu. 8-oxo-dG - je biomarker oxidatívneho poškodenia DNA často prítomný v telesných tekutinách ako krvná plazma alebo moč, vytvára sa pri oxidácii guanínu, jeho zvýšené hodnoty môžu indikovať oxidatívny stres, napr. pri diabete alebo kardiovaskulárnych problémoch. Indukované

mutácie tiež zaraďujeme medzi cytogenetický typ biomarkerov. Glykoforín A v krvi skupine heterozygotov - je dôležitý sialoglykoproteín na povrchu ľudských červených krviniek, môže mať rôzne formy v závislosti od rôznych alel. Detekujú sa podľa neho somatické mutácie erytrocytov, skoré dozrievanie erytrocytov a určujú genetické rozdiely pomocou antigénnych variantov. HPRT - je enzým zapojený do metabolizmu purínov, ich recyklácie a syntézy nukleotidov. Jeho prítomnosť môže indikovať určité onkologické ochorenia [10]. Po rozdelení a biologickej kvalifikácii viacerých druhov biomarkerov používaných v spojení s rádiosenzitivitou a s klinickým výskumom sa presunieme k nemenej dôležitému rozdeleniu biomarkerov podľa ich **časového pôsobenia**. Tieto biomarkery majú rôzny čas pôsobenia, rozpätie kedy je možné ich merať, tiež biogénne vlastnosti a dlhodobé následky spojené s ich výskytom. Líšia sa aj v príčine ich vzniku, pôsobení, možnosti efektívneho merania a rutinného využitia. Ich základný prehľad je uvedený v Tab. 1.

Tab. 1 Rozdelenie biomarkerov spojených s individuálnou rádiosenzitivitou a IŽ, počas ich časového pôsobenia.

Upravené podľa zdroja [11];

Biomarkery expozície	<ul style="list-style-type: none"> - dostupné a merateľné v určitom krátkom časovom úseku po expozícii - vhodné na odhad prijatej dávky a identifikáciu vnútornej expozície človeka environmentálnym a pracovným chemikáliám/žiarením pomocou nových výkonných technológií a vedeckých postupov - využitie v radiačnej onkológii pre poskytnutie predikcií o výsledku rádioterapie - aktuálne najvhodnejšie cytogenetické biomarkery pre dozimetriu, pretože vykazujú vysoké hodnoty špecificity a citlivosti voči IŽ
Biomarkery vyjadrujúce citlivosť	<ul style="list-style-type: none"> - dostupné pred, počas alebo po expozícii - poskytujú dôležité informácie o vlastnostiach nepriaznivých účinkov IŽ, a tiež sú nástrojom predikcie účinkov vzhľadom na zdravie - pri rôznych skupinách a podskupinách obyvateľov je vhodné poskytnúť informácie o vzťahoch medzi expozíciou, rizikom a variabilitou voči žiareniu u všetkých skupín - za vhodné biomarkery citlivosti - metabolické fenotypy alebo genetické varianty polymorfizmu spojené s predispozíciou k onkologickému ochoreniu - cytogenetické kontrolné koncové body tzv. kontrolné body (<i>checkpoints</i>) sú významné ako biomarkery spojené s citlivosťou na IŽ
Biomarkery pretrvávajúcich účinkov	<ul style="list-style-type: none"> - zhodnotenie dôsledkov žiarenia objavujúcich sa a zotrvávajúcich dlhú dobu po expozícii - možné po validácii použiť v klinickej praxi - vyššia schopnosť identifikácie jedincov s vyšším rizikom vzniku onkologického ochorenia - prepojené a naviazané na ostatné skupiny biomarkerov a spolu dodávajú komplexnejšie informácie
Biomarkery neskorých účinkov	<ul style="list-style-type: none"> - hodnotenie dlhodobých účinkov žiarenia na zdravie a to aj pred klinickým diagnostikovaním choroby alebo jej plným prepuknutím - cytogenetické testy sú vhodné pre predpovedanie nežiadúcich účinkov na zdravie po absolvovaní rádioterapie - transkripčné biomarkery možno použiť na identifikáciu línie génov, ktorých expresia pomáha k identifikácii možných predispozícií a vhodných podmienok pre rozvoj neskorých negatívnych účinkov

Biomarkery hodnotiace rádiosenzitivitu, ich vývoj a použitie:

Pre tematiku vývoja a využitia biomarkerov ku dnešnému dňu existuje len obmedzené množstvo klinických štúdií zaoberajúcich sa RT-indukovanými fyziologickými zmenami u pacientov [12]. Jednoznačne môžeme konštatovať, že rastie dopyt po vývoji a možnom použití prediktívnych biomarkerov, ktorými by sa sprostredkovala terapia na mieru, tzn. „adekvátny

radioterapeutický postup pre každého individuálneho pacienta“. Predpovedaním prínosu pre lekára sa zaoberajú najmä intervenčné a prognostické biomarkery, ktoré sú využívané na identifikáciu pravdepodobnosti klinickej udalosti - recidívy alebo prípadnej progresii ochorenia [12]. Prognostické biomarkery poskytujú informácie o progresii ochorenia a predpokladaných výsledkoch liečby a prediktívne biomarkery indikujú reakciu na lekárske zásahy. Na začiatku procesu vývoja biomarkerov sa pri podozrení na nádorové ochorenie odoberá biopsická vzorka. Následne sa

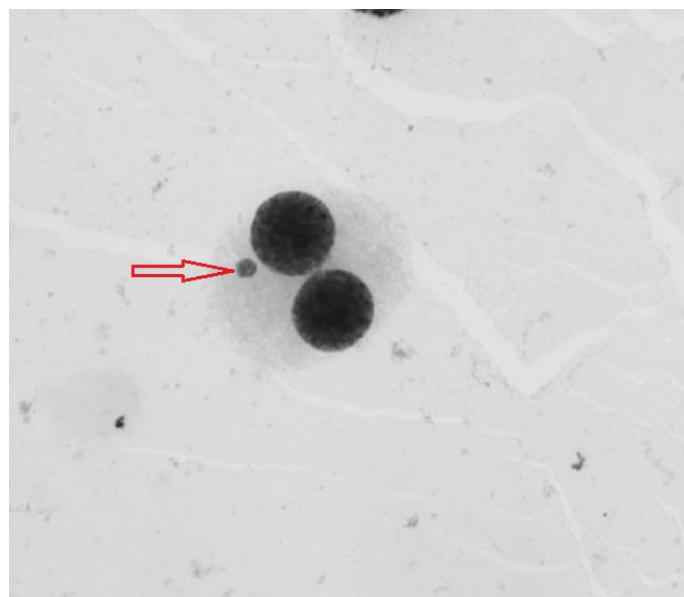
odoberá počas RT a po jej ukončení. Odoberá sa aj pri recidíve pre získanie profilovania dynamickej imunity. Biomarkery pre RT môžu byť rozdelené do viacerých skupín podľa ich diagnostického cieľa a účelu použitia. Najčastejšie sa ako sľubné biomarkery skúmajú viaceré proteíny, metabolity a časti génov DNA, alebo RNA vykazujúce aktivitu v procese rádioterapie. Proces vývoja a využitia býva značne zdĺhavý, kvôli individualite každého jedinca a komplexnosti interakcie IR s ľudským organizmom. V laboratóriu môžu byť tieto biomarkery objavené pomocou vysoko-výkonných génových technológií [13].

Hladina lymfocytov v krvi po ožiarení - je spoľahlivým biomarkerom rádiosenzitivity. Cirkulujúce lymfocyty sú jednou z najviac rádiosenzitivných buniek. Sú to biomarkery včasnej odozvy na hodnotenie obdržanej dávky žiarenia. Výrazné zmeny počtu krvných buniek po celotelových ožiareníach sú ľahko dostupné biologické indikátory poškodenia organizmu. Počet lymfocytov v periférnej krvi klesá približne o 50 % v priebehu 12 hodín ($1.4 \times 10^9/l$), čo naznačuje závažnú radiačnú expozíciu [14]. Expozícia IŽ zapríčiňuje kombináciu mnohých dôsledkov a poškodení organizmu - skorá fyzická symptomatológia v prodromálnom štádiu akútneho radiačného syndrómu (ARS), počet lymfocytov, cytogenetické biomarkery, metabolické a sérové zložky, močové zložky a somatické mutácie [15].

Dicentrické a kruhové chromozómy (chromozóm, ktorý obsahuje dve centroméry) sú dôležité biomarkery IŽ expozície, ktoré sú vytvorené asymetrickými interchromozomálnymi zámienami. Tvorba dicentrických nachádza svoje využitie v biodozimetrii a priamo súvisí s množstvom prijatej dávky. Ide o výmenu medzi centromérovými kúskami dvoch zlomených chromozómov, ktorá je vo svojej kompletnej forme sprevádzaná fragmentom zloženým z acentrických kúskov týchto chromozómov [16]. Po obdržaní vysokých objemov IŽ sa môžu vytvoriť multicentrické konfigurácie. Tricentrické sú sprevádzané tromi fragmentmi, kvadricentrické štyrmi fragmentmi, atď. Základným pravidlom vzniku je stimulácia izolovaných lymfocytov fytohemaglutínom (PHA) do mitózy a zastavenie metafázových chromozómov využitím kolchicínov. Neskoršie skórovanie dicentrickej chromozómovej aberácie sa vykonáva v metafázových rozptyloch [14]. Vytváranie dicentrických chromozómov je lineárne úmerné dávke obdržaného žiarenia, ale môže sa tiež odlišovať v závislosti od typu žiarenia [17].

Mikrojadrové biomarkery (Obr. 2) sú **detekovateľné už pri** veľmi nízkych dávkach IŽ. Nízke dávky spôsobené röntgenovými a γ lúčmi nevyhnutne nemusia spôsobiť zlomy dvojvláknovej DNA, čo môže viesť k tvorbe nestabilných chromozomálnych aberácií. Vysoké dávky žiarenia môžu spôsobiť zlomenie dvojvlákna DNA. Mikrojadrá sú chromozomálne fragmenty vytvorené bez centromér, ktoré nie sú zahrnuté v jadrách dcérskych buniek v anafáze mitózy. Tieto chromozomálne fragmenty sa stávajú nestabilnými a vytvárajú menšie satelitné štruktúry. Je to sľubný biomarker reagujúci na ožiarenie pre poškodenie DNA ľudského tela [14]. Rovnako, ako u iných cytogenetických biomarkerov, frekvencia mikrojadier je používaná na retrospektívne hodnotenie obdržanej dávky. Počet mikrojadier vykazujú lineárny vzťah krivky dávka - indukcia. K ich triedeniu dochádza prostredníctvom cytokinéznych blokov lymfocytov periférnej krvi a sú detekovateľné pomocou mikronukleárneho testu. Pri tejto metóde cytochalzín B (molekula ľudského tela zapojená v

cytokinéze) blokuje cytokinézu v kultivovaných lymfocytoch, bez inhibície jadrového delenia. Tieto bunky produkujú dvojjadrové bunky, namiesto dvoch dcérskych buniek, ktoré sa majú oddeliť [12].

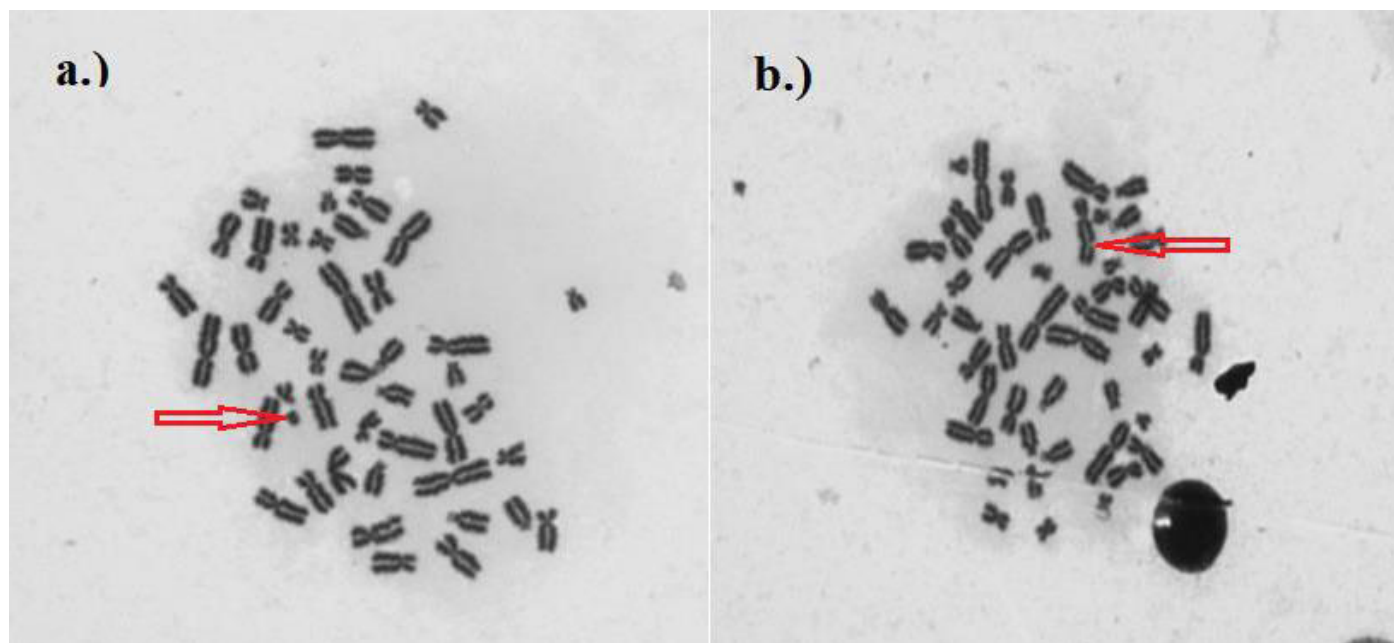


Obr. 2 Mikrojadro produkované dvojjadrovou bunkou. Mikrojadro (indikované červenou šípkou) v bunke vzniká počas bunkového delenia a jeho indukcia môže byť zapríčinená rôznymi faktormi vrátane genetických porúch, expozíciou škodlivým látkam, IŽ.

Získané z: [Rádiobiologické laboratórium: Oddelenie rádiobiológie, Ústav experimentálnej onkológie, BMC SAV, v. i.].

Chromozomálne aberácie (Obr. 3) ako biomarkery rádiosenzitivity - metóda FISH (*fluorescence in situ hybridization*) je zatiaľ najčastejšie používanou cytogenetickou metódou na hodnotenie obdržanej biologickej dávky. Zvýšené množstvá aberácií sa považujú za indikáciu zvýšeného rizika vzniku malignít. Spodná hranica detekcie dávky pri použití tejto metódy je 0.1 – 0.25 Gy.

Predčasná kondenzácia chromozómov: IŽ-indukované poškodenie môže byť tiež detekované v interfázových. Pri použití daného testu sú testované bunky fúzané s mitotickými bunkami, ktoré majú za úlohu preniesť signál na rozpustenie jadrovej membrány, a teda spôsobujú kondenzáciu interfázového chromozómu [19]. Tento proces je možné stimulovať polyetylén glykolom. Bunky sa hodnotia v procese mitózy; ak dôjde k zlomeniu, potom sa v interfázových chromozómoch objaví viac ako 46 chromozómov. Chemická indukcia FISH sond na chromozomálne zafarbenie môže zvýšiť rýchlosť a presnosť testu. Ak sa množstvo dávky zvýši, zvýši sa tým aj počet extra-chromozómových fragmentov [14]. Markery skorých biologických účinkov (EBE, *early biological effects*) a zmenená funkcia štruktúry naznačujú, že ide o medziprodukty medzi expozíciou a chorobou. Takto môžu byť detekované cytogenetické zmeny a zmutovanie somatických buniek. EBE markery naznačujú premaligne zmeny v kontrole bunkového cyklu. Biologické indikátory dávky žiarenia je možné sledovať ako somatické mutácie v markerových lokusoch hematopoetických kmeňových buniek v reakcii na ožiarenie [17].



Obr. 3 Chromozomálne aberácie gap a fragment. a.) Chromozomálna aberácia fragment predstavuje úsek chromozómu oddelený od hlavného chromozómu. b.) Chromozomálna aberácia gap označuje miesto na chromozóme, kde chýba úsek DNA. Získané z: [Rádiobiologické laboratórium: Oddelenie rádiobiológie, Ústav experimentálnej onkológie, BMC SAV, v. v. i.].

Somatická mutácia, ako indikátor radiačnej záťaže - pre účely detekcie radiačnej záťaže boli preskúvané rôzne typy somatických mutácií. Príkladom sú varianty hemoglobínu (Hb) a glykoforínu A (gpa) v erytrocytoch a mutácie v lokusoch (HLA) alebo hypoxantín-guanínfosforibozyltransferáz (*hprt*) v T lymfocytoch. Test glykoforínu sa vykonáva v erytrocytoch hlavne na retrospektívne hodnotenie dávky. Zrelé ľudské červené krvinky neobsahujú jadrá, mutácie však vznikajú v hematopoetických progenitorových bunkách kostnej drene. Mutované hematopoetické progenitorové bunky sa môžu v kostnej dreni kumulovať roky [18]. Monitorovanie prebieha pomocou cirkulujúcich buniek, a to identifikáciou ichmutantných fenotypových variácií. U heterozygota je možné rýchlo kvantifikovať variantné červené krvinky exprimujúce iba jednu alelu pomocou metódy prietokovej cytometrie. Táto metóda rekonštrukcie dávky je však použiteľná len pre heterozygotov, ktorí tvoria asi polovicu populácie [20]. Pomocou jedincov, ktorí prežili výbuch atómovej bomby a obetí černobyľskej havárie mohol byť definovaný vzťah reakcie na vysokú dávku žiarenia. Spodná hranica detekcie mutácií pri použití metódy analýzy variantov gpa je približne 1 – 2 Gy. Analýza mutantného variantu *HPRT*: Gén *HPRT* kóduje enzýmy, ktoré dovoľujú fosforibozyláciu hypoxantínu a guanínu ako prekursora syntézy DNA [19].

Biomarker hodnotiaci rádiosenzitivitu zo vzoriek zubnej skloviny a nechťov - expozícia IŽ vedie k tvorbe voľných radikálov, ktoré spôsobujú poškodenie biomolekúl alebo môžu vyvolať oxidačný stres. Životnosť týchto nepárových elektrónov je veľmi krátka (nanosekundy) vo vnútornom prostredí väčšiny biologických tkanív. Tieto zmeny vyvolané žiarením môžu byť dlhodobo fixované v kalcifikovaných tkanivách, napr. zuby, kosti a nechty [14]. Techniky radiačnej dozimetrie založené na týchto biomarkeroch sú neinvazívne alebo minimálne invazívne. Nevyžadujú vývoj, alebo spracovanie potrebné na biologicky založených metódach. Zubná sklovina je najtvrdšia anorganická zložka tela [9]. Obsahuje 97 % hydroxyapatitu, 2 % vody a

1 % organickej zlúčeniny. Po ožiení sú radiáciu indukované voľné radikály zachytené v mriežkovej kryštalickej štruktúre hydroxyapatitu. Môžu tu byť uväznené mesiace až roky. Technika dozimetrie elektrónovej paramagnetickej rezonancie (EPR) meria koncentráciu voľných radikálov, ktoré vznikajú v reakcii na žiarenie. Nechty a vlasy obsahujú α -keratín, do ktorého sú začlenené voľné radikály a je ho možné merať EPR dozimetriou [17].

Reakcia nádoru na RT je mnohostranná metrika výsledkov po rádioterapeutickej liečbe, často monitorovaná prostredníctvom biopsie nádoru alebo tekutej biopsie. Pacientom, ktorí nereagujú priaznivo na liečbu sa môže ponúknuť iná efektívnejšia cesta liečby, ktorá ich ušetrí od toxicity vlastnej liečby [2]. V centre súčasného výskumu radiačnej biológie je identifikácia fenotypov/genotypov rezistentných na liečbu a terapeutických cieľov, ktoré môžu ovplyvniť odpoveď nádoru. Robustné, pre pacienta špecifické a prediktívne biomarkery sú rozhodujúce pre posúdenie odpovede nádoru na zlepšenie liečby pacienta a výsledkov [8].

Záver

Biomarkery popisujúce zmeny v ľudskom tele v reakcii na ožiarenie sú už v súčasnosti dlho používané na hodnotenie radiačnej dávky a stavu organizmu počas expozície žiareniu. Počas uplynulých rokov, s pokrokom v technológii a sofistikovanosti markerov, sa začal skúmať potenciál využitia biomarkerov ako odozvy tela na ožarovanie v spojení s inými vonkajšími faktormi pri predikovaní konečného výsledku a reálnej individualizácie liečby. Vývoj, validácia a implementácia týchto markerov je veľmi náročný proces s ohľadom na veľké množstvo ďalších vnútorných a vonkajších faktorov. Vzhľadom na nedávny obrovský pokrok sú však biomarkery individuálnej rádiosenzitivity na podporu presne cielenej terapie pracujúcej s IŽ vzrušujúcou oblasťou, v ktorej sa očakáva veľké napredovanie v relatívne krátkom čase.

V oblasti dozimetrie a predikcie odpovede na liečbu zatiaľ panuje všeobecná zhoda, že doposiaľ neexistuje dokonalý biomarker rádiosenzitivity. V čase núdze je najlepšou vhodnou metódou použitie doplnkových metód dozimetrie. V prípade akútnej expozície celého tela sa javí metóda analýzy indukcie chromozomálnych aberácií najvhodnejším nástrojom posúdenia rozsahu a závažnosti dôsledkov z ožiarenia. V súčasnosti sa na hodnotenie absorbovanej dávky najčastejšie používajú biomarkery profilujúce proteínovú a génovú expresiu. Radičná metabolomika je tiež veľmi sľubnou oblasťou, pretože predstavuje neinvazívne meranie rádiáciou vyvolaných zmien v metabolitoch. Táto oblasť je stále predmetom skúmania, ale už dnes sa ukazuje, že jej uplatnenie v individualizácii rádioterapie je prinajmenšom sľubné.

Zoznam bibliografických odkazov:

- [1] Klener, V a kol. *Principy a praxe radiační ochrany*. Praha 1, Česká republika: Azin, 2000. ISBN 8023837036
- [2] Šlampa, P a kol. *Radiační onkologie*. Vyd. 1. Praha, Česká republika: Galen, 2007. ISBN 9788072624690
- [3] Sinnott, B, Ron, E, Schneider, AB. *Exposing the thyroid to radiation: a review of its current extent, risks, and implications*. *Endocr. Rev.* 2010;31(5):756–73. <https://doi.org/10.1210/er.2010-0003>.
- [4] Brown, NP. *The lens is more sensitive to radiation than we had believed*. *Br J Ophthalmology*. 1997;81:257–9. <https://doi.org/10.1136/bjo.81.4.257>
- [5] Foray, N, Bourguignon, M. *Comment on 'Considerations on the use of the terms radiosensitivity and radiosusceptibility' by Wojcik et al.* *J Radiol. Prot.* 2019;39(1):309–13. <https://doi.org/10.1088/1361-6498/aaf4e9>.
- [6] Schoenaker, MH, Suarez, F, Szczepanski, T, Mahlaoui, N, Loeffen, JL. *Treatment of acute leukemia in children with ataxia telangiectasia (A-T)*. *Eur J Med Genet.* 2016;59(12):641–6. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2016.05.012>.
- [7] Foray, N, Bourguignon, M, Hamada, N. *Individual response to ionizing radiation*. *Mutat Res Rev. Mutat Res.* 2016;770(Pt B):369–86. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2016.09.001>.
- [8] Pernot, E, Hall, J, Baatout, S, Benotmane, Ma, Blanchardon, E, Bouffler, S. *Ionizing radiation biomarkers for potential use in epidemiological studies*. *Mutat Res.* 2012;751(2):258–86. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2012.05.003>
- [9] Dimphy, Z et al. *Biomarkers of Ionizing Radiation Exposure: A Multiparametric Approach*. USA: Researchgate, 2014 Dostupné na internete: (PDF) Biomarkers of Ionizing Radiation Exposure: A Multiparametric Approach (researchgate.net)
- [10] Amundsen, S et al. *Biological indicators for the identification of ionizing radiation exposure in humans*. Dostupné na internete: Biological indicators for the identification of ionizing radiation exposure in humans | Request PDF (researchgate.net)
- [11] Elizabeth, A., Ana, A, Sarah, B, Ans, B, Maria, B, Benjamin, F, *Individual Radiation Sensitivity and Biomarkers: Molecular Radiation Biology*, Radiobiology Textbook. 2023.

https://doi.org/10.1007/978-3-031-18810-7_7

- [12] Cheng, S et al. *Understanding the Effects of Radiotherapy on the Tumour Immune Microenvironment to Identify Potential Prognostic and Predictive Biomarkers of Radiotherapy Response*. Manchester, United Kingdom: The Christie NHS Foundation Trust, 2020. <https://doi.org/10.3390/cancers12102835>
- [13] Friedman, AA, Letai, A, Fisher, DE. *Precision medicine for tumor treatment with functional diagnosis of new generation: Cancer*, 2015. <https://doi.org/10.1038/nrc4015>
- [14] Sudha, R. et al. *Radiation-induced biomarkers for the detection and assessment of absorbed radiation doses: Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, Volume 2, Number 3, 2010. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.68500>
- [15] Vávrová, J a kol. *Rádiosenzitivita hematopoetického systému*. Praha 2, Česká republika, 2001. ISBN 80-7262-200-5
- [16] Kochanová, D a kol. *Effects of low-dose ionizing radiation on genomic instability in interventional radiology workers*. Dostupné na internete: Effects of low-dose ionizing radiation on genomic instability in interventional radiology workers - PMC (nih.gov)
- [17] Chianté, J et al. *Centromere Destiny in Dicentric Chromosomes: New Insights from the Evolution of Human Chromosome 2 Ancestral Centromeric Region* Giorgia Chiantante. Dostupné na internete: Centromere Destiny in Dicentric Chromosomes: New Insights from the Evolution of Human Chromosome 2 Ancestral Centromeric Region - PubMed (nih.gov)
- [18] Winters, T et al. *Development of Biomarkers for Radiation Biodosimetry and Medical Countermeasures Research: Current Status, Utility, and Regulatory Pathways*. Dostupné na internete: Development of Biomarkers for Radiation Biodosimetry and Medical Countermeasures Research: Current Status, Utility, and Regulatory Pathways - PMC (nih.gov)
- [19] Dietz, A et al. *Ionizing Radiation Protein Biomarkers in Normal Tissue and Their Correlation to Radiosensitivity: Protocol for a Systematic Review: Journal of personalised medicine*, 2020. <https://doi.org/10.3390/jpm11010003>
- [20] Ainsbury, E et al. *Individual Radiation Sensitivity and Biomarkers: Molecular Radiation Biology*, 2019. Dostupné na internete: Individual Radiation Sensitivity and Biomarkers: Molecular Radiation Biology | SpringerLink. Ainsbury

Kontakt - Korešpondujúci autor:

RNDr. Lucián ZASTKO, PhD.
Fakulta zdravotníctva
Katolícka univerzita v Ružomberku
Námestie A. Hlinku 48
03401, Ružomberok
e-mail: lucian.zastko@ku.sk