



УКРАЇНА

(19) UA (11) 46933 (13) U
(51) МПК (2009)
G01N 33/48МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту(54) МОДЕЛЬ СПЛАЙНОВОЇ РЕГРЕСІЇ І УРАХУВАННЯ ІНДИВІДУАЛЬНОЇ РАДІАЦІЙНОЇ ЧУТЛИВОСТІ
ЛЮДИНИ ДЛЯ РЕКОНСТРУКЦІЇ ДОЗИ ОПРОМІНЕННЯ ПО ХРОМОСОМНИХ АБЕРАЦІЯХ

1

2

(21) u200907626

(22) 20.07.2009

(24) 11.01.2010

(46) 11.01.2010, Бюл.№ 1, 2010 р.

(72) ДЬОМІНА ЕМІЛІЯ АНАТОЛІЇВНА, ДЕМЧЕНКО
ОЛЕНА МИКОЛАЇВНА, МИХАЙЛЕНКО ВІКТОР
МИХАЙЛОВИЧ, ПЕТУНІН ЮРІЙ ІВАНОВИЧ, САВ-
КІНА МАРТА ЮРІЇВНА(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛО-
ГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ ІМ. Р.Є. КАВЕЦЬ-
КОГО НАН УКРАЇНИ(57) Модель сплайнової регресії і урахування інди-
відуальної радіаційної чутливості людини для ре-
конструкції дози опромінення по хромосомних
абераціях, яка **відрізняється** тим, що визначають
та враховують індивідуальну радіаційну чутливість
людини з використанням моделі лінійної сплайно-
вої регресії, яка забезпечує найбільше наближен-
ня до цитогенетичних даних та мінімальну похибку
при реконструкції величини поглиненої дози опро-
мінення.

Корисна модель, що заявляється, належить до
радіаційної медицини.

Рівень техніки. З метою реконструкції погли-
нених доз іонізуючого випромінювання, впливу
якого людина зазнає внаслідок радіаційних інци-
дентів, рівень радіаційно-індукованих аберацій
хромосом в "біологічних дозиметрах", якими ви-
знані лімфоцити периферичної крові [1], співстав-
ляється зі стандартними калібрувальними кривими
(в подальшому - СКК), що побудовані за результа-
тами тестуючого опромінення культури лімфоцитів
крові [2, 3]. Тому особливо важливого значення
набуває отримання коректних СКК, на основі яких
в подальшому по індукованому рівні аберацій
хромосом в культурі лімфоцитів здійснюється ви-
значення величини поглиненої інтегральної дози у
опромінених осіб.

Методика культивування лімфоцитів, приготу-
вання цитогенетичних препаратів та метафазний
аналіз аберацій хромосом не відрізняється від
загальноприйнятої [1]. При цьому аналіз аберацій
хромосом здійснюється в метафазах першого мі-
тозу після опромінення, тобто на 50 год. від почат-
ку інкубації клітин. Останнє є необхідною умовою
при використанні цитогенетичного методу в біоло-
гічній дозиметрії, оскільки при фіксації клітин в
більш пізні строки інкубації частина аберацій елі-
мінує при мітотичному поділі, що неминує відо-
бразиться на формі калібрувальних кривих.

Для побудови калібрувальних кривих важли-
вою складовою є вибір математико - статистичної
моделі, яка має бути адекватною вихідним експе-

риментальним (цитогенетичним) даним, давати
об'єктивні оцінки дози опромінення і "працювати" в
широкому діапазоні доз. З метою побудови СКК на
основі радіаційно-індукованих аберацій хромосом
традиційно використовуються математичні моделі
лінійної $y = \alpha D + \beta$ та лінійно-квадратичної
 $y = \alpha D^2 + \beta D + c$ регресії, де y - частота аберацій
хромосом, α - коефіцієнт лінійного члену моделі, β
- сталий (вільний) член, c - спонтанний рівень абе-
рацій хромосом, D - доза опромінення [1]. Недолі-
ком застосування зазначених моделей є їх значні
похибки, тобто незадовільна узгодженість експе-
риментальних (цитогенетичних), клінічних даних та
розрахункових результатів [4,5]. Тому побудова
СКК на підставі цих математичних моделей в ряді
випадків може обумовити некоректне визначення
поглиненої дози (недооцінку або завищення її ве-
личини) [5].

Другим недоліком побудови СКК є те, що вони
не враховують індивідуальну радіаційну чутливість
(в подальшому - ІРЧ) донора, на лімфоцитах якого
будують СКК. Це пов'язано з тим, що радіаційне -
індуковані ефекти на хромосомному рівні клітин
різних донорів можуть суттєво розрізнятися в силу
варіабельності генетично детермінованої ІРЧ, що
в деяких випадках обумовлює не об'єктивну оцінку
величини поглиненої дози та обмежує можливості
біологічної дозиметрії.

Суть корисної моделі, що заявляється. В ос-
нові корисної моделі поставлено задачу:

(13) U

(11) 46933

(19) UA

удосконалення біологічної дозиметрії організму опромінених осіб шляхом використання більш стійких і точних моделей регресії для побудови СКК на основі цитогенетичних показників та урахування ІРЧ.

Поставлена задача вирішується тим, що для створення корисної моделі обрано модель сплайнової регресії [6]

$$y = \begin{cases} \alpha_1 D + b_1, & \text{якщо } D \leq D_0 \\ \alpha_2 D + b_2, & \text{якщо } D > D_0 \end{cases}$$

де y - частота аберацій хромосом на кожні 100 проаналізованих метафаз; a , b , c , α_1 , α_2 , b_1 , b_2 - коефіцієнти (параметри) моделей, D_0 - точка переходу у моделі сплайнової регресії. Ця модель порівняно з лінійною та лінійно-квадратичною моделями відрізняється більшою точністю, стійкістю, узгодженістю розрахункових та експериментальних даних, перш за все, для променевих маркерів - дицентричних хромосом (фіг.1) можливість прогнозувати дозу, починаючи з якої змінюється характер калібрувальної кривої (точка переходу D_0) та є засобом удосконалення біологічної (цитогенетичної) дозиметрії організму опромінених осіб.

Як видно із табл. 1, визначення величини інтегральної дози опромінення на підставі цитогенетичного обстеження (реєстрації аберацій хромосом в культурі лімфоцитів периферичної крові) та співставленням з даними СКК, яка отримана з використанням моделі сплайнової регресії, дає більш точну оцінку ступеня променевого ураження організму людини, перш за все, за рахунок меншої похибки. Похибка моделі визначається залишковою сумою квадратів в результаті співставлення експериментальних та розрахункових даних, що отримані на основі вказаної моделі: чим менша залишкова сума квадратів, тим більш точна модель. Так, якщо похибка запропонованої моделі сплайнової регресії для рівня абераційних клітин в 6,8 разів менше у співставленні з похибкою для лінійної моделі і приблизно у 8 разів - для лінійно-квадратичної, то для суми аберацій хромосом в 7,8 разів менше порівняно з лінійною і у 7,1 - з лінійно-квадратичною моделями (табл. 1).

Стосовно найбільш інформативних променевих дозиметрів - дицентричних хромосом - показано, що в порівнянні з лінійною і лінійно-квадратичною моделями дозова залежність цих показників, що найкраще апроксимуються сплайновою регресією (похибка її в 1,4 рази менше похибок інших моделей) (фіг. 1., табл.1).

Одночасна оцінка ІРЧ донора, на лімфоцитах крові якого побудовані СКК, визначається на основі цитогенетичного G_2 тесту -(індукована частота аберацій хромосом в культурі лімфоцитів, опромінених в найбільш радіочутливій стадії мітотичного циклу - G_2 у дозі 1,5 Гр.) надає можливість побудови СКК з урахуванням його генетичних та фізіологічних особливостей [7]. На фіг. 2 представлені СКК, які побудовані із застосуванням моделі сплайнової регресії для різних цитогенетичних показників, отриманих на лімфоцитах донора із ІРЧ, значення якої відповідає середньопопуляційному рівню [8]. Встановлено, що оптимальним комплексом цитогенетичних показників для визначення величини поглиненої дози є частота абера-

ційних клітин, аберацій хромосомного типу, в тому числі дицентричних хромосом. Виходячи з наших даних, точність оцінки дози по дицентрикам може слугувати основою для біологічної дозиметрії, починаючи з дози 0,5 Гр.(так як частота аберацій цього типу в діапазоні до 0,5 Гр. незначна - 1/100 клітин). СКК, що побудовані за вище зазначеним принципом (фіг.2), доцільно використовувати з метою об'єктивізації оцінки інтегральної дози опромінення на разі радіаційних інцидентів та аварій для своєчасного визначення ступеня променевих реакцій організму людини та строків профілактичних та терапевтичних заходів.

Приклади практичного застосування корисної моделі

Реконструкція поглиненої дози радіації на основі даних цитогенетичного обстеження опромінених осіб культура лімфоцитів периферичної крові та використання СКК, що побудовані із залученням моделі сплайнової регресії та урахування індивідуальної радіаційної чутливості (цитогенетичний G_2 -тест).

Приклад 1. Потерпілий К..., 40 років зазнав зовнішнього одноразового опромінення внаслідок радіаційного інциденту і через 24 години потрапив до лікарні (№ історії хвороби 1102). При цитогенетичному аналізі 200 метафаз із культури лімфоцитів периферичної крові потерпілого виявлено:

6,6 клітин з абераціями хромосом (%)

3,6 аберацій хромосомного типу (в розрахунку на 100 клітин)

1,0 дицентриків (в розрахунку на 100 клітин).

Використовуючи розроблені нами СКК (фіг. 2) на осі ординат, відповідно відкладаємо значення цитогенетичних показників, які отримані при обстеженні постраждалого. Із отриманих точок паралельно осі абсцис проводяться лінії до перетину з калібрувальною кривою. Із точок перетину опускаємо перпендикуляри до осі абсцис. Точка перетину перпендикуляру від калібрувальної кривої дає середнє значення поглиненої дози радіації (фіг. 3).

Для даного конкретного прикладу доза опромінення, яку оцінювали за трьома показниками, найкраще визначається на основі частоти абераційних клітин і аберацій хромосом та еквівалентна 0,3 Гр.

Заключення цитогенетичного обстеження хворого К: середнє значення інтегральної дози опромінення, що визначено по рівню абераційних клітин (6,6%), аберацій хромосомного типу (3,6/100 метафаз) складає 0,3 Гр.

Приклад 2. Потерпілий Б..., 23 роки зазнав аварійного переопромінення та потрапив до лікарні через 48 годин після впливу радіації (№ історії хвороби 788). При цитогенетичному аналізі 200 метафаз із культури лімфоцитів периферичної крові потерпілого виявлено:

9,5 клітин з абераціями хромосом (%)

5,0 аберацій хромосомного типу (в розрахунку на 100 клітин)

1,5 дицентриків (в розрахунку на 100 клітин).

Використовуючи СКК (фіг.2) та застосовувавши ті ж самі розрахунки, що і в прикладі 1, отримуємо середнє значення інтегральної поглиненої дози радіації за трьома цитогенетичними показниками, що еквівалентно 0,5 Гр (фіг.4).

Заключення цитогенетичного обстеження хворого Б: середнє значення інтегральної дози опромінення, що визначено по рівню аберантних клітин (9,5%), аберацій хромосомного типу (5,0/100 метафаз) та по дицентрикам (1,5/100 метафаз) еквівалентно 0,5 Гр.

Приклад 3. Потерпілий С..., 30 років, зазнав зовнішнього гострого опромінення внаслідок радіаційного інциденту та потрапив до лікарні через 3 доби (№ історії хвороби 901) При цитогенетичному аналізі 200 метафаз із культури лімфоцитів периферичної крові потерпілого виявлено:

13,2 клітин з абераціями хромосом (%)

8,0 аберацій хромосомного типу (в розрахунок на 100 клітин)

4,2 дицентриків (в розрахунок на 100 клітин).

Використовуючи СКК (фіг.2) та застосувавши ті ж самі обчислення, що і в прикладах 1, 2, отримуюмо середнє значення інтегральної поглиненої дози радіації, що еквівалентна 0,8 Гр.

Заключення цитогенетичного обстеження хворого С: середнє значення інтегральної дози опромінення, що визначено по рівню аберантних клітин (13,2%), аберацій хромосомного типу (8,0/100 метафаз) та дицентриків (4,2/100 метафаз) складає 0,8 Гр.

Підписи до рисунків

Фіг. 1. Метафазна пластинка лімфоцита з дицентричною хромосомою (вказано стрілками). Мікрофото та схема утворення аберантної хромосоми.

Фіг. 2 Стандартні калібрувальні криві для оцінки дози опромінення

1 - частота клітин з абераціями, %;

2 - частота аберацій хромосомного типу на кожні 100 проаналізованих метафаз;

3 - частота дицентриків на кожні 100 проаналізованих метафаз;

Фіг. 3 Приклад 1 - визначення величини поглиненої дози для потерпілого К.

Фіг. 4 Приклад 2 - визначення величини поглиненої дози для потерпілого Б.

Фіг. 5 Приклад 3 - визначення величини поглиненої дози для потерпілого С.

Джерела інформації:

1. Biological dosimetry: chromosomal aberrations analysis for dose assessment. Technical Reports series № 260. - Vienna: Int. Atom. Energy Agency, 1986. - 69 p.

2. Пикалова Л. В. Применение цитогенетических методов исследования хромосом в радиобиологии // Молекулярная биология. - 2007. - № 9. С. 160 -168.

3. Снигирева Г. П., Богомазова А. Н., Новицкая Н. Н., Хазинс Е. Д., Рубанович А. В. Биологическая индикация радиационного воздействия на организм человека с использованием цитогенетических методов // Метод, рекомендации. - Санкт-Петербург. - 2007. - 32 с.

4. Севаньяев А. В., Насонов А. П. Биологическая дозиметрия по хромосомным абберациям в культуре лимфоцитов человека. Метод, рекомендации. - Обнинск. - 1979. - 16 с.

5. Пяткин Е. К. и соавт. Оценка дозы и равномерности облучения при острых радиационных поражениях человека с помощью анализа аббераций хромосом. Метод, рекомендации. - Москва. - 1988. - 26 с.

6. Ключин Д. А., Петунин Ю. И. Доказательная медицина: Применение статистических методов // М: Диалектика, 2008. - 315 с.

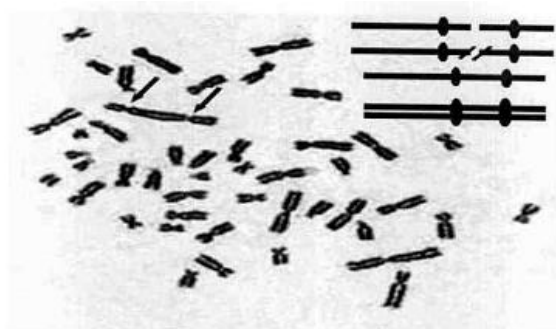
7. Smart V., Curwen G. B., Whitehouse C. A., Edwards A., Town E. J. Chromosomal radiosensitivity: a study of the chromosomal 62 assay in human blood lymphocytes indicating significant inter-individual variability // Mutat. Res. - 2003. - Vol. 528. -P. 105-110.

8. Дьоміна Е.А., Рябченко Н.М., Дружина М.О., Чехун В. Ф. Цитогенетичний спосіб (GI - assay) визначення індивідуальної радіочутливості людини з метою первинної профілактики радіогенного раку // Метод, рекомендації. - К.: Логос, -2007.-28 с.

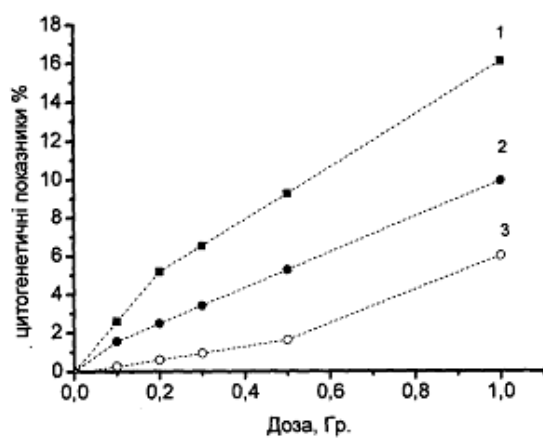
Таблиця 1

Порівняння параметрів моделі лінійної, лінійно-квадратичної та сплайнової регресії для різних цитогенетичних показників променевого ураження

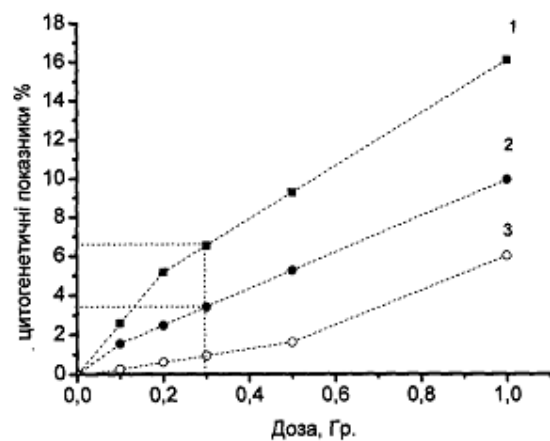
Цитогенетичний показник, %	Модель лінійної регресії $y = \alpha D + \beta$			Модель лінійно-квадратичної регресії $y = \tilde{\alpha} D^2 + \tilde{\beta} D + c$				Модель сплайнової регресії $\begin{cases} \alpha_1 D + b_1 \\ \alpha_2 D + b_2 \end{cases}$					
	α	β	S^2 - похибка моделі	$\tilde{\alpha}$	$\tilde{\beta}$	c	S^2 - похибка моделі	a_1	b_1	a_2	b_2	S^2 - похибка моделі	D_0 - точка переходу, Гр
Аберантні лімфоцити	13,992	7,786	69,868	13,602	28,000	6,035	59,652	106,055	1,500	107,555	11,226	8,731	0,1
Сума аберацій хромосом	14,130	7,838	69,337	15,069	29,647	5,898	56,689	106,953	1,500	108,458	11,306	7,186	0,1
Дицентричні хромосоми	4,908	-0,301	1,308	3,180	1,634	0,108	0,745	2,838	0,076	2,914	-2,01	0,488	0,5



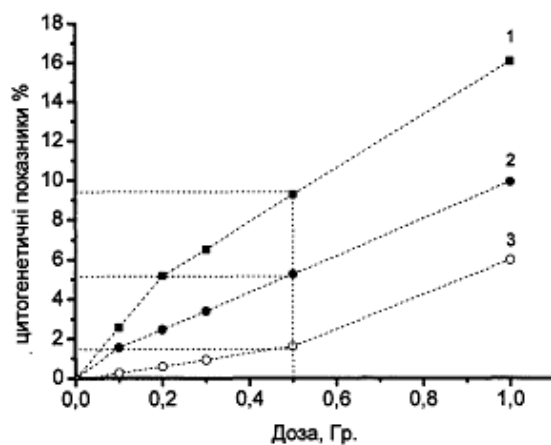
Фиг. 1



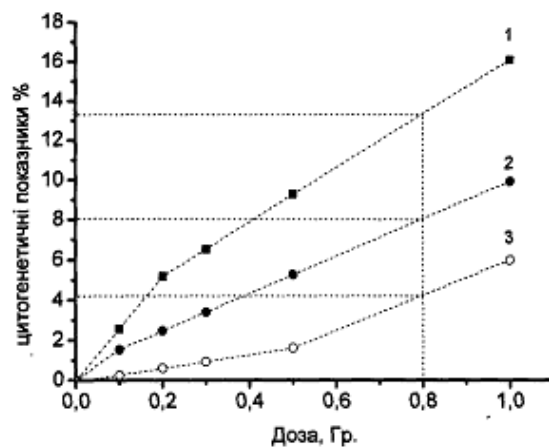
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5