

MAGYAR RÉSZVÉTEL AZ EURÓPAI BIDOZIMETRIAI HÁLÓZAT (RENEB) KIALAKÍTÁSÁBAN

HUNGARIAN PARTICIPATION IN REALISING AN EUROPEAN NETWORK OF BIDOSIMETRY

KIS Enikő

(ORCID: 0000-0002-6761-0423)

kise@osski.hu

Absztrakt

A RENEB hálózatot 16 európai ország 23 biodozimetriai tapasztalattal rendelkező laboratóriuma hozta létre és a továbbiakban a nemzeti és nemzetközi katasztrófavédelmi szervek háttérintézményeként működne. Az elmúlt évek során szoros együttműködés alakult ki ezen laboratóriumok között, módszer-összemérő és virtuális baleset-szimulációs gyakorlatok során készültünk fel arra, hogy egy esetleges tömeges szerencsétlenség esetén gyors és megbízható segítséget tudjunk nyújtani. Munkánkat a NAÜ irányelveknek megfelelően végezzük. Jelen cikk célja e munka és a magyarországi sugárbiológiai biodozimetriai laboratórium részvételének bemutatása a fent említett projektben.

Ez a munka a GA295513 EU FP7-es projekt támogatásával készült.

Kulcsszavak: biodozimetria, RENEB, összemérés, MNA, DIC

Abstract

A sustainable network has been created in Europe, which could be an important backup organisation for the national and international emergency response organisations. 23 laboratories with biodosimetry experience from 16 European countries prepared to give a fast and reliable response in case of a large-scale radiological emergency. To achieve this goal, methodological intercomparison and accident simulation exercises were carried out during the past few years. The applied methodology is conform IAEA directives. The goal of this article is to disseminate this work and present the Hungarian radiological biodosimetry team's participation. This work was supported by EUFP7WP (GA295513)

Keywords: biodosimetry, RENEB, intercomparison, MNA, DIC

A kézirat benyújtásának dátuma (Date of the submission): 2018.05.16.

A kézirat elfogadásának dátuma (Date of the acceptance): 2018.09.24.

BEVEZETÉS

Közismert történelmi példák mutatnak rá arra, hogy a nukleáris energia már felfedezése óta részint etikailag elfogadható, gazdasági haszonnal is járó, részint a fegyver szerepét is betöltő eszköz volt. A CIA már a 2003-as terror-ellenes stratégiájában kiemelte, hogy bizonyos terrorista csoportok radiológiai vagy nukleáris fegyverek (radiological dispersal device, RDD) birtoklására, létrehozására és felhasználására törekednek. A nukleáris fegyverek változó összetételűek lehetnek a forgalmas helyen elhelyezett nyitott vagy zárt sugárforrástól a radioaktív anyagot tartalmazó és szétszóró piszkos bombán vagy éppenséggel nukleáris tölteten keresztül az aeroszolubilis sugárforrás kibocsátásáig (pl. ^{131}I , ^{137}Cs , ^{90}Sr). Napjainkban világszerte léteznek és tevékenykednek olyan terrorista csoportok, amelyek céljaik elérése érdekében a világ különböző pontjain okoznak támadásokat békés állampolgárok ellen. Egy RDD használata nem csupán egészségügyi, környezeti és gazdasági károkkal járhat, hanem politikai és szociális következményei is lehetnek: az általa kiváltott pánik miatt aggódó érintettek nem feltétlenül sérültjei a támadásnak, viszont szeretnének mielőbb meggyőző és megnyugtató választ találni félelmeikre. Ez esetben az aggódó tömeg az egészségügyi intézmények túlterhelését okozhatja, illetve a helyzet stabilizálása államigazgatási-politikai közbelépést is igényelhet. [1] Egy másik lehetőség az emberek terrorizálására a pánikkeltés, amely egy láthatatlan és érzékelhetetlen veszélyt kivetítve a pszichológiai fegyverviselés egy módja is lehet. Ez esetben a tünetek hiányában is aggódó tömeg ostromolhatja segítségért a hatóságokat, ami szintén szociális-politikai nehézségekhez vezethet. A 2016-ban, Washingtonban megtartott Nukleáris Biztonsági Csúcstalálkozó hivatalos kommunikációjából idézzük: „A nukleáris és radiológiai terrorizmus fenyegetése egyike a nemzetközi biztonság legnagyobb kihívásainak és a fenyegetés folyamatosan fokozódik.” [2]

A nukleáris és radiológiai balesetek áldozatainak száma is változó. A Goianai baleset párszáz áldozatot követelt (112 000 személy került monitorozásra, közülük 249 szenvedett külső vagy belső sugárszennyezést). [3] A csernobili baleset következtében 116000 személyt evakuáltak (részben a robbanást követően 20 órával, részben pedig néhány nap illetve hét múlva). Összességében, több mint 600000 munkás került bevetésre a baleset utáni munkálatokban. A telephelyen tartózkodó 400 munkás doziméterei túlexponálódtak. Az akut sugárbetegség miatt kórházi kezelésre szoruló 237 személy esetén biodozimetriai módszerekkel 1-16Sv sugárdózist állapítottak meg. [4] A fukusimai balesetek során 2400 helyreállításban résztvevő munkás kapott különböző méretű sugárdózist, 78000 embert költöztettek ki a környező területről, közülük 23 mutatott bizonyos szintű kontaminációt. Az északi félteke különböző részein volt kimérhető az erőműből származó radioaktivitás. [5]

Egy tömegeket érintő katasztrófa meghaladhatja az azt elszenvedő ország védelmi és egészségügyi rendszerének kapacitását. A következmények nem csupán a sérülések típusától és a sérültek számától, hanem a beavatkozások gyorsaságától is függenek. A sürgősségi helyzet kezelésének első lépéseként elengedhetetlen a sugársérültek expozíciójának megbecsülése, valamint az ál-negatív illetve -pozitív esetek beazonosítása. Ily módon a biodozimetriai szűrések következtében kizárólag a tényleges sérültek kerülnek sürgős kórházi ellátásra. Azokban az esetekben, amikor a megbecsülendő minták száma meghaladja jelenlegi képzett munkatársaink kapacitását, létfontosságúvá válik a biodozimetriai laboratóriumok határokon keresztül ívelő együttműködése a retrospektív dozimetriai vizsgálatok átfutási idejének csökkentésére. [6,7,8]

A sugársérültek klinikai megfigyelése elengedhetetlen teendő nagyobb elnyelt dózis esetén, viszont a fiziológiás tünetek nagy része - a limfociták számának csökkenése, a hányás, hasmenés, fejfájás, levertség - nem specifikus és nem mindig elégséges a pontosabb dózisbecsléshez. A tünetek egy részének oka lehet vegyi mérgezés vagy akár pszichés reakció is. Ilyen esetekben feltétlenül szükség van az elnyelt dózis becslésére biológiai és fizikai retrospektív dozimetriai eszközökkel. Szintén fontos a kisebb dózisokat elszenvedők orvosi

nyomon követése a sztochasztikus hatások mielőbbi detektálása és kezelése céljából. Az aggódó tömegre kifejtett pszichológiai hatás – félelem, szorongás – elkerülése, a hamis tüneteket mutató egyének kiszűrése és az emberek megnyugtatása nem csupán egy pszichológiai fegyverrel szembeni védekezés eszköze, hanem a tömegkatasztrófa politikai-szociális kezelésének egyik alapvető pillére is lehet. [9,10]

2012-ben 23 európai ország biodozimetriai laboratóriumainak bevonásával indították útjára a RENEB: Realizing the European Network of Biological Dosimetry and Physical Retrospective Dosimetry (Az Európai Biodozimetriai és Retrospektív Fizikai Dozimetriai Hálózat Megvalósítása) projektet Európai Unió támogatással. Az Európai Biodozimetriai Hálózat kialakításában az akkor Országos „Frédéric Joliot-Curie” Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Intézet, ma pedig Országos Közegészségügyi Intézet Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Főosztályának (továbbiakban: OSSKI)¹ biodozimetriai laboratóriuma a kezdetektől fogva, mint alapító tag vett részt. [6, 7, 11, 12]

A RENEB hálózat megfelelő működése céljából fontos a tevékenységünk megismertetése mind a hazai, mind a nemzetközi sürgősségi felkészültségben és válaszban feladattal rendelkező szervezetekkel. [11] Jelen közlemény célja a projekttel kapcsolatos angol nyelvű irodalom összefoglalása és az Európai Biodozimetriai Hálózat, valamint az abban való magyar részvétel bemutatása a katasztrófavédelmi szervek és a magyar közönség számára.

TÖRTÉNETI ÁTTEKINTÉS

A Nemzetközi Atomenergia Ügynökség 1988-ban, a Goiana-i balesetet követően kiadott javaslatában megfogalmazta, hogy a sugársérült személy expozíciójának retrospektív meghatározásában a biológiai dozimetria nagyon hasznosnak bizonyult. Javaslat született a nemzeti sürgősségi tervek felülvizsgálatára és nemzeti vagy nemzetközi kollaboráció létrehozására a biodozimetriai felmérések nagyobb mintaszám esetén történő elvégzéséhez. Egy másik javaslat összemérési programok létrehozására irányul a különböző laboratóriumok eredményeinek egységesítéséhez. [3] A NAÜ védnöksége alatt Latin-Amerika területén hat biodozimetriai laboratóriumból álló hálózat jött létre.

Az Amerikai Egyesült Államokban, Japánban és Kanadában nemzeti szinten jöttek létre hasonló hálózatok. Európában először egy hármas, Nagy-Britannia-Franciaország-Németország közötti kölcsönös segítségen alapuló memorandumot írták alá 2004-ben a súlyos radiológiai események kezelésére. A NAÜ bevonta válasz és segítségnyújtási hálózatába (Response and Assistance Network – RANET) a biodozimetriai laboratóriumokat és globális szinten a WHO létrehozta a BioDoseNet -et. [7]

Az „Egy kiváló európai biológiai dozimetriai hálózat felé” (Towards a European Network of Excellence in Biological Dosimetry, TENEB) című felmérés a tapasztalt európai biodozimetriával foglalkozó laboratóriumok beazonosítására és feljegyzésére irányult, amelyet 2009-ben teljesített is. [7,11,13]

2010-2013 között a MULTIBIODOSE projekt keretein belül megtörtént a multidiszciplináris biodozimetriai eszközök elemzése és tömegszerencsétlenség esetén való alkalmazásra való adaptációja. [14]

Hasonló célkitűzései voltak az Európai Sugár-Dozimetriai Csoport (EURADOS) 10. munkacsoportjának: a biológiai és fizikai módszerek alkalmazása retrospektív dozimetriai felmérésekre, a retrospektív dozimetria lehetőségének népszerűsítése a hatóságok között, új

1 - A RENEB pályázat lebonyolítása idején az Országos Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Intézet (OSSKI) különálló intézményként vett részt. Időközben az állami intézményi átszervezések kapcsán az Országos Közegészségügyi Intézet, Országos Közegészségügyi Igazgatóságának Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Főosztálya lett.

módszerek bevezetése illetve a parciális testdózis és belső sugárszennyezés megállapítására irányuló módszerek kialakítása. [15]

Az előzetes felmérő és megalapozó munkák során több ország jelezte igényét és elköteleződését egy hosszú távú európai biodozimetriai hálózat létrehozására, amely végül 2012-ben 16 európai ország 23 laboratóriumának együttműködésének folytán létrejött.

CÉLKITŰZÉS

A RENEB célja az volt, hogy a meglévő tudást, labor-kapacitást megossza az együttműködő európai országokkal, egységesítse a vizsgálati módszereket és a kiértékelést, és megalapozza a kölcsönös segítségnyújtási lehetőséget. 2012-ben tizenhat országból származó 23 európai szervezet működött közre ennek a projektnek az elindításában, hogy a lehető legmagasabb hatékonysággal gyors és megbízható dózis-becslést garantáljon. A projekt az egyes laboratóriumokban fennálló és már használatban lévő biodozimetriai tudás összehangolására és egységesítésére irányul, ennek keretein belül pedig az eddig ismert legnagyobb számú biodozimetriai laboratórium együttműködése valósult meg. A végső cél az állandó készenlét lenne egy nagy számú sérüléssel járó radiológiai katasztrófa esetére, amit a résztvevő szervezetek a laboratóriumaik közötti együttműködés folyamatos fenntartásával és a dózis-meghatározás minőségének állandó biztosításával szeretnének elérni.

Retrospektív biodozimetriai módszerek

Amennyiben egy sugár-sérüléssel járó baleset sérültje nem viselt fizikai dozimétert a baleset megtörténtekor, az általa elszenvedett dózis utólag, visszamenőleg is meghatározható, egy úgynevezett retrospektív dózisbecslési eljárás során. Az előző fejezetben említett együttműködést laboratóriumi szinten ú.n. összemérések formájában valósítottuk meg: a különböző laboratóriumokban alkalmazott hét biológiai és két fizikai módszer lebonyolítási módját (kísérleti protokollok összehasonlítása) valamint eredményeit hasonlítottuk össze. Már a kezdeti fázisban újabb módszereket is kipróbáltunk, melyek célja a gyorsabb, pontosabb dózis-becslés, valamint a mérések objektivitásának növelése volt.

A nemzetközi összemérések lebonyolítása úgy történt, hogy egyik szervező laboratórium munkatársai begyűjtötték a humán vérmintát, besugarazták, szétosztották, majd csomagküldő szolgálat útján eljuttatták a résztvevők számára. Minden résztvevő elvégezte a saját kísérleti protokollja alapján az általa vállalt méréseket és saját laboratóriumi körülményei között, saját dózis-hatás görbéje alapján becsülte meg az elnyelt dózisoskat. Az első összemérés során négy, a második összemérés során két különböző dózissal kezelt minta került kiküldésre. [16,17]

Az eredmények a MultiBioDose által meghatározott kategóriákba sorolva, az expozíció testfelületre vetített arányával együtt kerültek jelentésre. A MultiBioDose által meghatározott kategóriák:

- alacsony (<1Gy) – kismértékű sérülés, nem igényel klinikai ellátást: zöld kód;
- közepes (1 és 2 Gy között) – orvosi monitorozás szükséges: narancssárga kód;
- magas (>2Gy) – súlyosan sérült, sürgős orvosi beavatkozás szükséges: piros kód.

Az összeméréseket szervező laborok munkatársai végezték el az eredmények statisztikai értékelését, kielemezését. [16,17]

Sugárkezelés

A vérmintákat 37°C-on különböző dózissal Cs-137 gamma-sugárzással kezelték, majd két órán át 37°C-on inkubálták, lehetővé téve a DNS hibajavító folyamatok lezajlását. Az első összemérés alkalmával 0-, 0,94-, 3,27Gy teljes test-dózissal valamint 4,75Gy parciális test-dózissal történt a kezelés. Ez utóbbit a kezelt és kezeletlen vérminták 1:1 arányú

összekeverésével szimulálták. A második összemérés alkalmával 0,85Gy, és 2,7Gy teljes test-dózissal sugarozták be a mintákat, amelyeket ezután kódoltak, szétosztottak és a résztvevőkhöz szállították őket. [16,17]

Szállítás

A szállítás minden esetben a B kategóriájú biológiai anyagokra kiadott UN 3373-as számú csomagolási rendeletnek megfelelően történt. A szállítási hőmérsékletet hőmérsékletjelzővel, a szállítás során kapott háttérdozist SC-2-es típusú üveg-doziméterrel követték nyomon. A mintához mellékelt dozimétereket és hőmérsékletjelzőket mindkét esetben kiértékelték. A minták minden esetben kevesebb, mint 1mGy többlet-sugárzást kaptak a szállítás folyamán. A hőmérséklet 11-30°C között változott az első, 11-29°C között a második minta szállítása során. [16,17]

Résztvevők

A résztvevők száma módszerenként és gyakorlatonként változott.

A dicentrikus kromoszóma aberrációkat mérő módszert az első összemérésben 14 laboratórium végezte el. A második összemérés egy nagy létszámú gyakorlattá nőtte ki magát, mivel ezúttal a Kanadai Hálózat-, az Ázsiai Hálózat-, a Latin Amerikai Hálózat-, a Dél-Afrikai és a NAÜ Hálózat tagjai valamint a BioDoseNet/WHO partnerei is részt vettek. A 14 Európai Unió RENEB partner ország 19 laboratóriumán kívül még három nem RENEB-partner európai ország négy laboratóriuma, illetve 16, nem-EU tagállam 19 laboratóriuma vett részt az összemérésben. Így egy alkalommal 31 ország 41 laboratóriuma hangolta össze biodozimetriai méréseit. Ennek jelentősége igen nagy a módszer nemzetközi szinten történő egységesítése szempontjából, ugyanis ilyen volumenű mérés-szinkronizálás tudomásunk szerint még nem történt a biodozimetria történetében. [16,17]

Ahhoz, hogy a dicentrikus assayt teloméra-centroméra festéssel pontosabbá tegyünk, egy másik egységesítő kísérletet is szerveztek a müncheni laboratórium munkatársai, ebben tizenhét európai laboratórium munkatársai vettek részt. [16,17]

Az első mikronukleusz assay összemérésben 12, a másodikban 16 RENEB-partner labor vett részt. [16,17]

Biodozimetriai módszerek

A RENEB hálózatot már meglévő, több éve működő, gyakorlott biodozimetriai laboratóriumok hozták létre. Az ezekben a laboratóriumokban használatban lévő módszerek DNS – kromoszóma - sérüléseken alapuló módszerek: mikronukleusz assay (MNA), dicentrikus kromoszóma assay (DIC), fluoreszcens in situ hibridizáció (FISH), korai kromoszóma kondenzációs módszer (PCC) és a H2 hiszton foszforilációjának vizsgálata (γ H2Ax). A biológiai módszerek mellett a fizikai retrospektív dozimetria két módszere is bekerült a RENEB hálózatban használatos módszerek közé: elektron paramágneses rezonancia (EPR) és optikailag szimulált lumineszcencia (OSL). [6, 18,19]

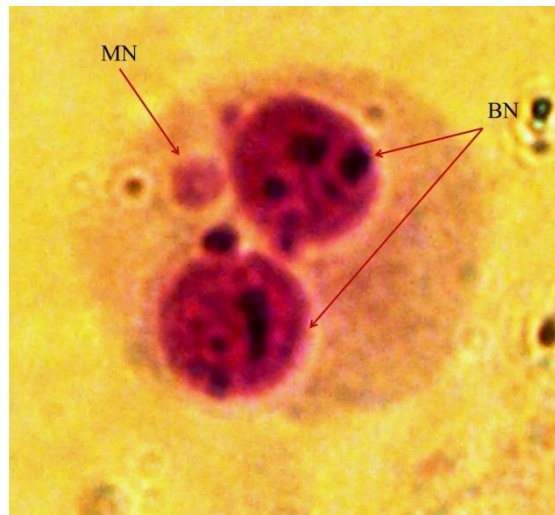
A könnyebb átláthatóság érdekében szükségesnek találjuk a fent említett módszerek rövid ismertetését. Az OSSKI biodozimetriai laboratóriumában használatos MNA és DIC assay-k módszereit kissé bővebben ismertetjük.

Mikronukleusz assay (MNA):

A mikronukleusz assay egy, a DNS kettős törések kimutatásán alapuló módszer. Sugárkezelést követően a DNS kettős láncon egy- és kétláncú törések jönnek létre. A sejtek ezen sérülések kijavítására törekszenek. Abban az esetben, ha nem, vagy nem helyesen javítódnak ki a kétláncú törések, a sérült DNS a sejtsztódás során kizáródhat a sejtmagból és apró, sejtmag-szerű képződmények alakulhatnak ki a citoplazmában, amelyeket mikronukleuszoknak nevezünk.

Amennyiben a sejtosztódást leállítjuk a leány sejtmagvak létrejötte után, de még a citoplazma kettéválása előtt, az így keletkező binukleáris sejtekben megjelenő mikronukleuszok arányosak az elnyelt dózissal. [9]

A módszer használatának korlátai: mivel osztódásra készítjük a sejteket, amit a sugárkezelés dóziszfüggően akadályoz, illetve a mikronukleuszok természetes hátterének köszönhetően a mikronukleusz assay 0,25-5Gy között használható retrospektív dózisbecslésre. A humán limfociták nem osztódnak a vérben, viszont körülbelül félévente lecserélődnek, így a bennük található sugárzás indukálta károsodások is eltűnnek. Ez egy további korlátja e módszer használatának. [9]



1. ábra mikronukleuszok sugárkezelt sejtekben. MN: mikronukleusz BN: a sejtosztódást követően kialakuló két leánysejtmag. (saját fotó)

A vérminták mindkét esetben 24 órán belül, problémamentesen érkeztek meg. Kézhezvételüket követően a vért 10% foetalis bovine szérum (FBS) tartalmú RPMI tápoldatban tenyésztettük sejtosztódást serkentő fehérje (phytohemagglutinin) jelenlétében. A teljes tenyésztési idő 72 óra volt, a 44. órában cytochalasine B segítségével, telofázisban² állítottuk le a sejtosztódást. A vérben lévő limfociták így a 72. órára két sejtmagvas, ún. binukleáris állapotba kerültek. A preparálási folyamat során 0.075M KCl-os oldatban hipotonizáltuk a sejteket, ezáltal megnöveltük a sejtek belső képleteinek a láthatóságát. Ezután 3:1 arányú metanol-ecetsav oldattal fixáltuk a sejteket. Tárgylemezre történő kicseppentést követően Giemsa oldattal festettünk.

Dózis-hatás görbe³: Az általunk használt dózis-hatás görbe manuálisan, ⁶⁰Co sugárforrás segítségével, <0,5Gy/perc dózis-rátával készült.

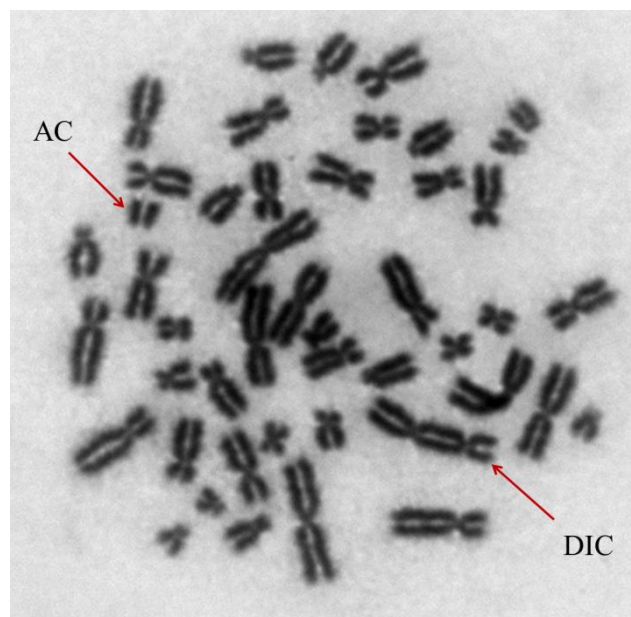
Értékelés: 1000 binukleáris sejtet vizsgáltunk meg minden dózis esetén. A NAÜ szabványnak megfelelően értékeltük a mikronukleuszokat és 1000 binukleáris sejtre kivetítve határoztuk meg arányukat. A dózist a fent említett dózis-hatás görbe segítségével CABAS [20] és DoseEstimate [21] software segítségével határoztuk meg. Az exponált testfelület arányát a CABAS program algoritmusai szerint állapítottuk meg.

² A sejtosztódásnak az a része, amikor a sejtmag állománya már ketté osztódik, viszont a citoplazma és a sejt még nem. A sejtmagokból kiesett sérült DNS szakaszok így még a sejtben vannak és megszámlálhatóak.

³ A dózis-hatás görbe a biodozimetriai módszerek mérő eszköze. Előállításánál egyre növekvő dózissal besugározott egészséges emberi véren végezzük el az adott kísérletet, majd kiértékeljük és az eredményeket grafikusán ábrázoljuk. Az így keletkező görbe a MNA és DIC esetén exponenciális. A görbe másodfokú egyenletének ismeretlene a dózis. Napjainkban két szoftver is létezik a görbe alapján történő dózisbecslésre (CABAS, DoseEstimate)

Dicentrikus assay (DIC):

A dicentrikus kromoszóma assay szintén a DNS kettős lánctörések kimutatására épül. Sugárkezelést követően a DNS-ben létrejövő kétláncú törések kijavítódása során két különböző kromoszóma DNS állománya hibásan összekötődhet és két centromérával⁴ rendelkező dicentrikus-, valamint centromérát nélküli, úgynevezett acentrikus szakaszok jöhetnek létre. Az ún. centrikus gyűrű úgy jön létre, hogy egyazon kromoszóma két vége törik le és a hátramaradó csonkolt végek egymáshoz záródnak. Amennyiben a sejtosztódást metafázisban⁵ állítjuk le, a kromoszómák kondenzálódnak és láthatóvá válnak. A dicentrikus kromoszómák jellemzőek a sugársérült sejtekre és számuk arányos az elnyelt dózissal. A mikronukleusz assay esetén említett korlátok a dicentrikus assay esetén is fennállnak. Viszont ez a genetikai sérülés nem szokott spontán előfordulni, így alacsonyabb, akár 0,1Gy dózis esetén is használható. Az alacsony dózisok pontos becslését viszont nehezíti ritka előfordulása. [9]



2. ábra dicentrikus kromoszóma és acentrikus szakasz sugárkezelt sejtekben. AC: centroméra nélküli töredék; DIC: két centromérával rendelkező, sérült kromoszóma. (saját fotó)

A vérminták azonosak voltak a MNA esetében használt mintákkal. Kézhezvételüket követően a vért 10% FBS tartalmú RPMI tápoldatban tenyésztettük phytohaemagglutinin jelenlétében. A humán vérben lévő limfocitákban a 48. órára kondenzálódnak a kromoszómák, ezért a teljes tenyésztési idő 48 óra volt és a 45. órában colcemid oldat segítségével állítottuk le a sejtosztódást, metafázisban. Hipotonizálással (0.075M KCl) megnöveltük a sejtek térfogatát, majd 3:1 arányú metanol-ecetsav oldattal fixáltuk őket. Tárgylemezre történő kicseppentést követően Giemsa oldattal festettünk.

Dózis-hatás görbe: A mikronukleusz assay-hez hasonlóan a dózis-hatás görbe ⁶⁰Co sugárforrás segítségével, <0,5Gy/perc dózis-rátával készült, manuális kiértékeléssel.

Értékelés: az ún. Quickscan módszert alkalmazva 50 metafázist számoltunk le, ebből következtettünk a dózissra.

⁴ A centroméra a kromoszóma központi része, ahol az osztódási orsóhoz kötődik.

⁵ A sejtosztódás egyik szakasza, ahol láthatóvá válnak a kromoszómák.

Dicentrikus Assay teloméra-centroméra festéssel (DIC-TC):

A dicentrikus assay objektívebbé tételéhez a centromérákat és telomérákat⁶ fluoreszcensen jelölték. Az összemérés virtuálisan, fényképek kiértékelésével történt. Ezen gyakorlatban az OSSKI biodozimetriai laboratóriuma az értékelés folyamatában vett részt, amely során részletesen kielemeztük nem csupán a dicentrikus kromoszómák számát, de az acentrikus szakaszok milyenségét és eredetét is (pl. intersticiális deléció: a DNS szálból kiszakadt apró szakasz centroméra és teloméra nélkül, egy- vagy két telomérával rendelkező acentrikus szakasz.) [22]

A lemezeket az első dicentrikus assay összemérés során állították elő a müncheni laboratórium munkatársai. 0,94-, 3,27 Gy teljes test dózissal és 4,75 Gy parciális test-dózissal sugárkezelt vérből, az eredeti DIC assay-hez hasonlóan. A teloméra-centroméra festést Q-FISH⁷ technikával végezték el, Cy-3-jelölt teloméra-specifikus festéssel (piros), valamint FITC-jelölt centroméra-specifikus festéssel (sárga). A kromoszómákat DAPI-val festették kékre. Automatikus felvételek készítésére alkalmas Autocapt szoftverrel (MetaSystems, 3.9.1 verzió) fotózták végig a lemezeket és a fényképeket juttatták el elektronikusan a gyakorlatban résztvevő laboratóriumokba. [22]

A dózist M'kacher et al., 2014 cikkében leírt dózis-hatás görbe alapján CABAS V2.0 szoftverrel [20] értékelték ki a koordináló laboratóriumban. A teloméra-centroméra festéses módszer validációjakor az első DIC összemérés eredményei szolgáltattak viszonyítási alapul. [22]

Korai kromoszóma-kondenzáció (PCC):

A sugárhatásra bekövetkezett kromoszóma törések gyors kimutatására szolgáló módszer, ami a dicentrikus kromoszóma vizsgálathoz hasonló elveken alapul. Ebben az esetben azonban nincs szükség 48 órás tenyésztésre, hanem a limfocitákat osztódásban lévő kínai hörcsög sejtekkel fuzionáltatják. Az osztódó sejtekben lévő fehérjék hatására a limfociták haploid⁸ kromoszómái kondenzálódnak, a DNS törések kimutathatóvá válnak. Ezért hamarabb, alig néhány órán belül juthatunk eredményhez. Mivel a módszer nem igényel sejtenyészést, nem kell a magasabb dózisok által okozott sejtosztódási eltolódással vagy a sérüléseik miatt sejtosztódásból kizáródó sejtekkel számolni, így akár 10Gy sérülés esetén is használható. Kombinálható teloméra-centroméra festéssel is. [9]

Fluoreszcencia in situ hibridizáció (FISH):

A stabilizálódott kromoszóma-károsodások kimutatására alkalmas: két-három különböző, fluoreszcens festékekkel megfestett kromoszóma és a többi egyszínű kromoszóma között kicserélődött szakaszok értékelésén alapul. A transzlokációk stabilitása a dicentrikus kromoszómákénál jóval nagyobb, mivel a csontvelőben is kialakulnak és fennmaradnak, akár évekkel később is kimutathatóak a fehér vérszövetekből. Mivel hosszú évekig fennmaradó elváltozásokról van szó, későbbi retrospektív dózisbecslésre is alkalmas. Szintén osztódásra készítjük a mérés elvégzéséhez a sejteket, ezért 0,3-5Gy dózis-tartományban érzékeny. [9]

γ H₂A_x kimutatása:

Egy szintén gyorsan elvégezhető módszer, amely a kettős DNS törések helyén foszforiláló H₂A_x hiszton antitestekkel történő jelölésén alapszik. Annak ellenére, hogy nem szükséges a sejtosztódás az elvégzéséhez, a jel telítődése miatt csupán 5Gy-ig alkalmazható. A DNS károsodások gyorsan kijavítódnak a sejtekben (kb 4 óra leforgása alatt), ezért csupán a sérülést követő 24 órán belül kimutatható a γ H₂A_x. [9]

⁶ A kromoszóma végén lévő, a genetikai anyag lemorzsolódásától védő szakaszok.

⁷ A DNS szakaszhoz köthető fluoreszcensen jelölt próbákkal jelölték a centromérákat és telomérákat.

⁸ egy példányban vannak jelen, nem duplázódik meg a DNS, mint sejtosztódáskor

Elektron paramágneses rezonancia (EPR):

Az okostelefonok folyékony kristály- és érintő képernyőjében sugárzás hatására keletkező rezgések kimutatásából következtet a dóziszra. Fő előnyei, hogy specifikus a sugárzásra, és a jel hosszú távon, akár éveken keresztül is fennmarad. 10Gy fölött is használható módszer. [17]

Az optikailag szimulált lumineszcencia (OSL):

Ez a módszer az optikai szimulációs állapotban lévő okostelefonok ellenállásaiban a sugárhatás következtében emittált lumineszcenciát képes mérni és ez alapján megbecsülni az elnyelt dózist. Nagyon specifikus és érzékeny módszer. A jel felezési ideje körülbelül 10 nap. Szintén használható 10 Gy felett is. [17]

Balesetszimulációs gyakorlatok

A RENEB hálózat felépítése során a résztvevők egy olyan virtuális katasztrófavédelmi szcenáriót gyakorolhattak be, amelyhez a magas számú áldozattal járó nagyszámú adat értékelése és kezelése szükséges. A 2016-ban 27 héten keresztül tartó kétrészes szimulációs gyakorlat folyamán minden résztvevő biodozimetriai laboratóriumnak lehetőség nyílt egy nukleáris katasztrófa helyzetét mindkét szempontból: az elszenvedő és segítséget kérő (referencia laboratórium, RL) illetve a segítséget nyújtó (ú.n. kiségitő - service lab, SL) fél oldaláról begyakorolni. Minden héten más-más RL laboratórium aktiválta a hálózatot egy fiktív balesetet jelző elektronikus levéllel. A hálózat további tagjai (SL) válaszlevélben jelezték rendelkezésre állásuk paramétereit: az adott intézményben az adott időpontban hány ember milyen mennyiségű dozimetriai vizsgálatot képes vállalni.

A referencia laboratórium megállapította a hálózat kapacitását (az egyes laboratóriumok által vállalható minta-mennyiséget az adott héten), mérte a válaszok visszaérkezési idejét és összesítette a visszaérkező eredményeket. Mindezt továbbította a baleset szimulációs gyakorlatot koordináló laboratóriumnak, ahol az eredményekből statisztikát számoltak.

A RL ezt követően a visszajelző laboratóriumok részére egy 54 adatsorból álló táblázatot küldött ki. Minden SL elemezte ezeket, eredményeiket pedig visszaküldték a koordináló laboratóriumnak.

A táblázat a hét retrospektív módszer által korábban meghatározott dózisokat tartalmazta, ezen adatok alapján kellett a balesetet szenvedett egyént a már említett MultiBioDose kategóriákba sorolni. Az egyes módszerek korlátait ismerve a baleset időpontját is el lehet dönteni (a sérülést követő 24 órán belül, egy napon túl, illetve egy héten túl), valamint a sugárhatásnak kitett testfelület (parciális vagy teljes testdózis) mértékét is meg kellett becsülni: ahogy az előzőekben említettük, a γ H2Ax hiszton foszforilációja 24 órán belül mutatható ki. Amennyiben sikerült ezzel a módszerrel dózist becsülni, a vérminta a balesetet követő 24 órán belül lett begyűjtve. Az OSL által mért jelenség erőssége tíz napon belül feleződik. Tehát, ha ez utóbbi módszerrel becsült dózis fele a többi módszer segítségével megbecsült értéknek, akkor nyilvánvalóan a mintavételhez képest legalább tíz nappal korábban történt a baleset. Ez esetben a γ H2Ax foszforilációval nem kimutatható a sérülés.

A parciális testdózis meghatározásához ez esetben a hordozható elektronikus eszközök (portable electronic device - PED) és a sugárnyaláb útjának viszonyából következtettünk. Pl. ha minden módszerrel magas dózis került megállapításra, csupán a PED-ekből meghatározott dózis volt alacsony, akkor parciális test-dózisról beszélünk, ahol a PED nem került a sugárnyaláb útjába. A lehetséges szcenáriókat az 1. táblázat sorolja fel. [7]

A baleseti szcenáriót mind a segítséget nyújtó, mind az azt elfogadó laboratóriumoknak meg kellett fejteniük. Az eredmények összesítése és jelentése szintén az RL kötelezettsége volt. Ezen a ponton is mértük a válaszok beérkezési idejét, a hálózat terhelhetőségét. [7,23]

Szcenáriók		
Testfelület mérete	Expozíció és vérvétel között eltelt idő	PED helyzete
Teljes	0. napon begyűjtött vérminta	
	1. napon begyűjtött vérminta (24h)	
	1 héttel később begyűjtött vérminta	
Parciális	0. napon begyűjtött vérminta	sugárnyaláb útjában
	1. napon begyűjtött vérminta (24h)	
	1 héttel később begyűjtött vérminta	
Parciális	0. napon begyűjtött vérminta	sugárnyalábon kívül
	1. napon begyűjtött vérminta (24h)	
	1 héttel később begyűjtött vérminta	

1. táblázat Szcenárió-kategóriák. Brozowska et al. nyomán [7]

A gyakorlat nehézsége, különlegessége az OSSKI számára abban állt, hogy pont az augusztus 20-ai héten került sor a koordinálói feladatra. Ezen a héten munkatársaink túlnyomórészt szabadságon tartózkodtak, így onnan vettek részt a gyakorlatban. Ezáltal azt is észlelhettük, hogy munkatársaink mennyi idő alatt mozgósíthatóak egy baleseti szituációban. Az is fontos szempont, hogy Nemzeti Ünnepünk alkalmából nagy tömegek gyűlnek össze az ország különböző pontjain ezen a héten, ami nemzetbiztonsági szempontból igen jelentős lehet.

EREDMÉNYEK, A PROJEKT KIMENETELE, TANULSÁGAI

Nemzetközi összemérések tanulságai

A RENEB projekt folyamán két laboratóriumi és egy virtuális összemérésben vettünk részt. A laboratóriumi összemérésekhez előre besugarazott vérmintát kaptunk kézhez. Az első összemérésben mikronukleusz, míg a másodikban mikronukleusz és dicentrikus assay-eket végeztünk, az eredményeket manuálisan értékeltük ki, majd megbecsültük az elnyelt dózist. A virtuális összemérés⁹ során a laboratóriumi összemérésből származó képek kerültek kiértékelésre.

Az első laboratóriumi összeméréshez 0, 0,94 és 3,27Gy teljes test-dózissal, valamint 4,75Gy 50% parciális test-dózissal kezelt vért szállítottak ki a résztvevő laboratóriumoknak, azzal az információval együtt, hogy van a minták között egy negatív kontroll, egy alacsony és egy magas teljes test-dózissal-, valamint egy parciális test-dózissal kezelt. A minták a szállítás során <1mGy sugárdózist kaptak, kb. 10°C hőmérsékleti különbséget szenvedtek el. [16,17]

A második összemérés során egy alacsony (0,85Gy) és egy magas (2,7Gy) teljes test-dózissal kezelt mintát szállítottak ki. [16,17]

A kiküldött mintákból elvégeztük a mikronukleusz- illetve a dicentrikus kromoszóma-assayt, az eredményeket a saját laborunkban használatos dózis-hatás görbe alapján kiértékeltek és továbbítottuk a szervező laboratórium felé.

Mindkét esetben a minták vakon történt kiértékeléséből kapott eredményeket a MultiBioDose által a radiológiai vészhelyzetekre megszabott ún. triage kategóriába soroltuk be. Az értékelés során szükségessé vált egy, a dózis-meghatározáshoz rendelt bizonytalansági

⁹ Az előzőek során említett fotók alapján történő összemérés célja az eredmények kiértékelésének összehangolása és pontosítása volt a kromoszómák centroméra-teloméra végződéseinek festése révén.

intervallum bevezetése a minták triage módban történő rangsorolásához. Ezt az alacsony dózisok esetén 0,5Gy, míg a magas dózisok esetén a szórás 20%-ában állapították meg a szervezők úgy a MNA, mint a DIC esetén. [16,17]

Mikronukleusz assay

Az első összemérés során a résztvevők dózis-hatás görbéit is vizsgálták. A szervezők begyűjtötték a résztvevők dózis-hatás görbéinek adatait, valamint azok elkészítésének körülményeit. Annak érdekében, hogy minél inkább összhangban legyen a különböző laborok mérési eredménye, ezeket az ismereteket is összevetették és mindenki számára elérhetővé tették. A dózis-hatás görbék között mind az automatikus, a fél-automata és a manuális értékelés esetén nagy volt a variáció. Az inhomogenitás nőtt a dózissal és legnagyobb a manuális értékelés esetében volt. Ez valószínűleg a különböző munkacsoportok kísérleti körülményei közötti eltéréseknek tulajdonítható úgy a protokollok, mint a besugárzás körülményei vagy a kiértékelés terén. [16]

A manuális kiértékelési módszer nagyobb számú MN-t eredményezett a nagy dózisok esetében, mint az automatikus vagy fél-automatikus, míg az alacsony dózissal kezelt minták esetén ez pont fordítva történt. [16]

A kontrollt és alacsony dózist a résztvevő laboratóriumok nagy hányada helyesen határozta meg: a 0- és 0,94Gy-t a laboratóriumok 88%, a 0,85Gy-t pedig a 84%-a. A magas dózisokat mindössze a laboratóriumok 47%-a (3,27Gy) illetve 74%-a (2,7Gy) határozta meg elfogadhatóan, míg a parciális test-dózis esetén az arány mindössze 35% volt. A parciális test-dózis esetén az eredmények nagyon szórtak úgy a dózis meghatározásában (2,28-7,89Gy), mint a sugárnyaláb útjába eső testfelület becslésében (31-75%). [16]

Az OSSKI biodozimetriai laboratóriumában az első összemérés során a besugározatlan kontrollt, az alacsony teljes test-dózist valamint a parciális test-dózist a meghatározott bizonytalansági faktoron belül sikerült meghatározni. A magasabb teljes test-dózist csupán 0,08 ezreddel becsültük a bizonytalansági határ fölé, viszont a MultiBioDose által előírt dózis-kategóriákba minden dózist megfelelően soroltuk be. A 2. táblázat röviden összefoglalja a valós és általunk becsült dózisokat, a valós dózistól való eltéréseket, valamint a bizonytalansági faktorokat.

Triage kategória	alacsony		magas	
	Valós dózis	0Gy	0,94Gy	3,27Gy
OSSKI által becsült dózis	0Gy	1Gy	4Gy	5,60Gy
Abszolút deviációk	0	0,06	0,73	0,85
Elfogadhatósági intervallum	±0,5Gy	±0,5Gy	±0,65Gy	±0,95Gy

2. táblázat Az általunk mikronukleusz assay-vel becsült dózisok viszonyulása a valós dózishoz az első összemérés során.

A két összemérés között, eredményeink és dózis-becslési hatékonyságunk növelése érdekében biodozimetriai gyakorlatokon vettünk részt, aminek következtében valóban javult a második összemérés során laboratóriumunk teljesítménye.

A második összemérés során hasonlóképpen az alacsony dózist a megadott bizonytalansági határon belül, a magas dózist viszont 0,05%-kal felette sikerült becsülni, viszont ismét a megfelelő MultiBioDose értékkategóriákban. A 3. táblázat foglalja össze a valós és általunk becsült dózisokat az első összemérésben, valamint a bizonytalansági faktorokat.

Triage kategória	alacsony	magas
Valós dózis	0,85	2,7
OSSKI által becsült dózis	0,99Gy	3,29
Abszolút deviációk	0,14	0,59
Elfogadhatósági intervallum	$\pm 0,5\text{Gy}$	$\pm 0,59\text{Gy}$

3. táblázat Az általunk mikronukleusz assay-vel becsült dózisok viszonyulása a valós dózishoz a második összemérés során.

Dicentrikus kromoszóma assay

A második DIC összemérésben vettünk részt. Az alacsony dózis becslésénél ($0,85\text{Gy} \pm 0,5\text{Gy}$) minden résztvevő a dicentrikusok átlagához közeli ($5,13\text{dic}/50\text{metafázis}$) számú dicentrikus kromoszómát jelentett le. Minden kiértékelt lemez esetében a megbecsült dózis a 95% konfidencia-szinten belülre esett. A magas dózis esetén ($2,7\text{Gy} \pm 20\%$) a résztvevők többsége helyesen ítélte meg a $28,8\text{dic}/50\text{metafázis}$ körüli dicentrikus kromoszómák számát. A 90 becslés 61%-a esett a tolerált régióba. [17] Az OSSKI munkatársai mindkét dózist felülbecsülték, viszont a nagyobb dózis esetén a megfelelő triage kategóriába soroltuk, míg az alacsony dózis esetén alig 0,03%-al tértünk el a bizonytalansági szinttől.

Triage kategória	alacsony	magas
Valós dózis	0,85	2,7
OSSKI által becsült dózis	1,38	3,52
Abszolút deviációk	0,53	0,82
Elfogadhatósági intervallum	$\pm 0,5\text{Gy}$	$\pm 0,54\text{Gy}$

1. táblázat: Az általunk becsült dózisok viszonyulása a valós dózishoz a második összemérés során.

Teloméra-centroméra festéssel kiegészített DIC assay:

Minden résztvevő az előzetesen megadott kritériumok alapján számolta le a dicentrikus kromoszómákat, acentrikus és centrikus gyűrűket, valamint az acentrikus kromoszóma darabokat. A négy telomérrel rendelkező acentrikus kromoszóma darabok a letört kromoszóma-végek fúziójával jönnek létre, a dicentrikus kromoszómák képződése során. A két telomérrel rendelkező acentrikusok vagy nem fuzionáló acentrikusok kromoszóma végződés deléciói vagy a gyűrűk kísérői. A telomér nélküli acentrikusok interszticiális deléciókat jelentenek. A DIC-TC assay nagyon homogén eredményeket adott: a teljes-test dózisok megbecsülése minden laboratórium esetén a valós dózis $\pm 20\%$ intervallumába esett. ($0,94$ és $3,27\text{Gy}$). [22]

Baleseti szcenárió levezetésének/ tanulságai

A virtuális radiológiai balesetet szimuláló gyakorlatok 27 héten keresztül zajlottak. Mindössze egy laboratórium utasította vissza a koordináló szerep (referencia laboratórium, RL) begyakorlási lehetőségét. Koordináló partnerként a laboratóriumok elektronikus levél útján aktiválták a hálózatot, begyűjtötték és jelentették az eredményeket. Az aktiváló e-mail-re érkező válaszok idejét rögzítették és összesítették. Az aktiváló e-mail-re érkező válaszok száma az elvárásoknak megfelelően júliusban és augusztusban volt a legalacsonyabb, szeptemberben pedig a legmagasabb. A válaszok átlagos ideje 8 ± 4 óra volt, ez függött az intézmény típusától

(pl. egy kórházban a páciens kezelése nagyobb prioritást élvez) valamint az időzóna-eltolódástól (Canada, Uruguay) vagy a személyzet méretétől. A RL-ok válaszadási idejét is mérték, kiértékeltek. Két jelentést kellett küldeniük a szimulációs gyakorlatot levezető laboratóriumnak, az első jelentés visszaérkezési ideje $7,6 \pm 2,1$ nap, míg a második jelentés beérkezési ideje $8,3 \pm 2,4$ nap volt. Átlagosan egy baleset eredményeinek a visszaérkezési ideje 14 nap volt. [7]

A RL-ok továbbá felmérték a hálózat heti kapacitását is az egyes laboratóriumok által vállalható minták számát illetően. A gyakorlat teljes ideje alatt a segítséget nyújtó laboratóriumok (SL) összességében 122115 mintát vállaltak, ami egy heti 4520 ± 210 minta-átlaghoz vezet. A legkevesebb mintát június, július és augusztus során vállalták a RENEB partnerek, ami egybeesik a nyári szabadságolásokkal. A minták 40%-át γ H2Ax módszerrel, a 20%-át DIC assay elvégzésével vállalták. Legkevesebb mintát a PCC assay segítségével vállaltak feldolgozni a laboratóriumok, ami annak köszönhető, hogy ez a módszer aránylag kevés, alacsony kapacitású laboratóriumokban használatos. [7]

Azok a SL-ok, akik pozitív választ adtak a hálózatot aktiváló levélre, egy táblázatot kaptak kézhez, amelyben 54 virtuális sérült dozimetriai adatai voltak. Ezt a táblázatot kiértékeltek, majd visszaküldték a RL-nak. A táblázatok 7%-a nem érkezett vissza, ami az internet kapcsolatok deficitjének, a személyzet egyéb fontos elfoglaltságának vagy a túlságosan megnyúlt válaszidőnek volt betudható (a határidőn kívül beérkező válaszokat nem vették figyelembe). [7]

A táblázatokban található értékeket a megadott kritériumoknak megfelelően értékeltük ki. Az értékelési sémák a SL-ok 40%-a automatikusan, a páciens kódokból listát alkotva vagy valamilyen macro bevezetésével értékelték ki a táblázatokot, a többi laboratórium pedig manuálisan, minden táblázatot új adatsorként kezelve. A SL-ok által adott válaszok az esetek több, mint 90%-ában megfelelőek voltak. A mi laboratóriumunk minden táblázatot új adatsorként, egymást ellenőrizve értékelték ki. A visszaérkező adatok szórásából egyértelműen kimutatható volt, hogy a különböző SL-ok gyorsan megtanulták kiértékelni a kézhez kapott adatsorokat. A gyakorlat folyamán a hálózatban részvevő laboratóriumok között maximum három adatsornyi eltérés volt ennek megítélésében. [7]

MEGBESZÉLÉS, KÖVETKEZTETÉSEK

Egy esetleges tömeg-katasztrófa helyzet bekövetkezése esetén a biológiai és fizikai retrospektív dózis-meghatározó módszerek rendkívül hasznosak lehetnek az orvosi személyzet munkájának támogatásában. A DIC napjainkban a nemzetközileg elismert arany sztenderd a biológiai dózis-meghatározásában.

A vérminták szállítása az európai országokba megoldható volt 24 órán belül. Az Európán kívül elhelyezkedő országokba a helyi sajátosságoknak köszönhetően elfogadhatatlan mértékű késések voltak tapasztalhatóak, amelyek arra engedtek következtetni, hogy egy tömeges szerencsétlenség esetén az Európán kívül található partnerek számára a speciális diagnosztikai anyagoknak megfelelő minták postázása ésszerűtlen szállítási és csomagolási költségekkel járna. Egy lehetséges alternatíva volna ezen országoknak az eredmények virtuális értékelésben való bevonása vagy előzetes felkészülés a sürgősségi helyzetekben történő szállítás megvalósítására. [17,24,25]

Legmegbízhatóbbnak a dózis-bebecslések során a fél-automata értékelési módszer bizonyult. Ez összhangban van a MultiBioDose és NATO tanulmányok eredményeivel. [25,26] Sürgősségi helyzetben gyors, megbízható dózisbecslésre van szükség a klinikai személyzet munkájának alátámasztására. Mivel nem minden laboratórium rendelkezik automatizált rendszerrel a binukleáris sejtek értékeléséhez, speciális, kevesebb munkát igénylő stratégiák kidolgozása lenne célszerű a manuális módszer gyorsabbá tételéhez. Nemrég a NAÜ javaslata

alapján a DIC assay triage módozatához hasonlóan a MNA értékelését is triage módban végeznénk, ami mindössze 200 binukleáris számolásával járna mintánként. Az összemérések során nem volt szignifikáns különbség 2000 és 500 sejt értékelése esetén az eredményeket illetően. [22] A két MNA összemérés alapján a módszer triage eszközként való bevetésének hasznossága bizonyítottá vált egy radiológiai tömeges vészhelyzet esetén: a RENEB partnerek mindhárom esetben elfogadható, alacsony hibahatárral jellemezhető dózisbecsléseket végeztek.

A DIC assay fontos eszköze az elnyelt dózis becslésének perifériás vér limfocitákban. A módszer egységesítése a hálózat munkájában részt vevő laboratóriumok között ugyanakkor létfontosságú egy tömegszerencsétlenség esetén. Ezért fektettek a szervezők nagy hangsúlyt a projektben résztvevő laboratóriumok számára, vontuk be a lehető legnagyobb számú laboratóriumot az összemérésekbe. Összesen 31 ország 42 laboratóriuma vett részt és 550 dózis-becslés került feljegyzésre és értékelésre. [17]

Annak ellenére, hogy a DIC assay egy jól kidolgozott biodozimetriai módszer, a protokollok nem teljesen egységesek a laboratóriumok között. A variációk beleestek a NAÜ által megadott irányelv-intervallumokba. Javasolt a rövid távú (3h) Colcemid kezelést követően fluoreszcens és Giemsa festést alkalmazni, vagy pedig a hosszú távú (24h) Colcemid kezelést választani. A dózis-hatás görbék többsége szintén a NAÜ irányelveknek megfelelő volt. Amint az erre irányuló kérdőívek kiértékeléséből kiderült, a kevésbé sikeres dózis-becslések leggyakoribb oka a külső forrásból származó dózis-hatás görbe használata volt. [17]

A DIC assay pontos értékeléséhez 500-1000 metafázis leszámolása szükséges. Nagyszámú minta gyors kezeléséhez 20-50 sejt vagy 30 DIC értékelése javasolt, ami ugyan bizonytalanabbá teszi a becslést, viszont egy második körben lehetséges a ténylegesen sérült személyek mintáinak pontosabb értékelése. Ezen értékelési stratégia alkalmazásával nagy mennyiségű felesleges munka is elkerülhető (amivel például a hamis tüneteket mutató egyének mintáinak pontos értékelése járna). [17]

A RENEB összemérések során bebizonyosodott, hogy a dózis-kategóriák nagyon pontosan kerültek meghatározásra, alacsony és magas dózisa egyaránt. Rendszeres összemérések szükségesek a hálózaton belül a dózis-meghatározások minőségének megőrzéséhez.

A teloméra-centroméra festéses módszer a viszonyítási alapul szolgáló DIC assay által adott eredményeknél megbízhatóbbnak és robusztusabbnak bizonyult. Az eredeti Giemsa/egyszínű kromoszóma-festés esetén kevesebb dicentrikus kromoszómát sikerült azonosítani a partner laboratóriumoknak. A különböző acentrikus töredékek típusának pontos azonosítása a DNS kettős törések számának pontos meghatározását is lehetővé teszi. Még a legmagasabb variációs lehetőséget rejtő teljes test-dózis esetében is csökkent a különböző laboratóriumok által meghatározott dózisos szórása és akár 30%-kal is nőtt a dicentrikusok frekvenciája. Ugyanakkor érdemes megjegyezni, hogy ez esetben a különböző laboratóriumok ugyanazokat a képsorokat elemezték. Egy következő lépés lenne a módszer bevezetése a többi RENEB partner eszköztárába is, amikor is saját készítésű lemezeket és kalibrációs görbét is megismételhetjük az összemérést. Szintén további kísérletek szükségesek a módszer reprodukálhatóságának felméréséhez. [22]

Az OSSKI biodozimetriai laboratóriuma minden esetben a megfelelő triage kategóriába sorolta a vakon értékelt minták dózist, így a jövőben megfelelő szakmai segítséget képes nyújtani egy radiológiai baleset során. A jelenleg használatban lévő ⁶⁰Co gamma dózis-hatás görbe enyhén magasabbra becsüli a dózist. Ez valószínűleg a Co gamma sugárforrás alacsony dózis-rátájának tudható be. A közeli jövő feladata az új dózis-hatás görbe elkészítése, a dicentrikus assay teloméra-centroméra festéssel együtt történő bevezetésével.

A baleseti szcenárió gyakorlat célja a résztvevők felkészítése volt olyan hatalmas adatmennyiség kezelésére, amely egy tömegszerencsétlenség alkalmával halmozódhat fel. Minden résztvevő gyakorlatot szerzett úgy a hálózat aktiválásában, mint a kisegítő laboratórium szerepében, az eredmények értékelésében és a nagy adathalmazokat tartalmazó táblázatok

kezelésében. Az európai laboratóriumok készültségi állapotának fontos tükre lett a 27 héten át megismételt információ-begyűjtés. A 28 résztvevő laboratórium válasza a hálózatot aktiváló e-mail-re soha nem haladta meg a 8 órát, ami, figyelembe véve a hálózat globális jellegét és a laboratóriumok számát, nagyon jó idő. [7]

Összességében a RENEB hálózat dozimetriai triage kapacitása egyetlen radiológiai sürgősségi helyzet esetén 4520 páciens, az esetek 40%-ában $\gamma\text{H}_2\text{A}_x$ módszerrel vizsgálva, amelyet a vizsgálatok számát illetően a dicentrikus assay követ. [6,7,25)

A különböző scenáriók megítélésének helyessége kiemelkedő volt annak ellenére, hogy számos változótól függött. A gyakorlat hasznosságát mutatja, hogy a kiegészítő laboratóriumok a gyakorlat során szemmel láthatóan fejlődtek ezek megítélésében.

A szimulációs gyakorlat folyamán az idő becslése leegyszerűsítve történt, nem vettük figyelembe a minták kiküldésének és a kísérletek elvégzésének idejét. E két tényezőt azonban az összemérési gyakorlatok során teszteltük, amikor is ezen folyamatok 2-5 nap alatt zajlottak le. A hálózat aktiválása és az adatok begyűjtése nem tart két napnál tovább.

A gyakorlat nehézsége, különlegessége számunkra abban állt, hogy pont az augusztus 20-ai hét jutott a koordinálási feladatra. A gyakorlat ezen szakaszában munkatársaink túlnyomó többsége szabadságát töltötte. Az augusztus a nyaralás szempontjából Európa-szerte a legnépszerűbb hónap, ebből kifolyólag a hálózat kapacitása is lecsökkent. Jelentőségét növeli Nemzeti Ünneplünk, hiszen leginkább a fővárosban, de vidéken is jellemzően nagy tömegek gyűlnek össze ünnepelni a szabadban, köztereken és országos szinten szabad nap, ami a terrorveszély növekedésével is járhat.

Amennyiben egy partner laboratórium munkatársai bármely téren nem teljesítik sikeresen a hálózat mérési kritériumait, számíthatnak a hálózat támogatására. A RENEB keretein belül a partnerek lehetőséget nyújtanak egymásnak megismerni a gyakorlott, jól működő biodozimetriai laboratóriumok munkáját, ahol tanácsot kaphatnak vagy gyakorlatot szerezhetnek az adott módszerrel kapcsolatosan. A különböző nemzetközi atomenergia szervezetek és nagy gyakorlattal rendelkező laboratóriumok biodozimetriai képzéseket is szerveznek. A hálózat teljesítményének szinten tartására rendszeresen összemérések szervezését tervezzük a továbbiakban is.

KÖVETKEZTETÉSEK

Összességében elmondható, hogy a RENEB tagok készen állnak koordinált választ adni tömeges radiológiai vészhelyzetek esetén. A hálózat egy rugalmasan kezelendő csoportosulás, amely új tagok és új módszerek irányában egyaránt nyitott. Már a hálózat kezdeményezési szakaszában nyolc új tag csatlakozott és négy új módszer került kipróbálásra. Újabb, biodozimetriai potenciállal rendelkező módszerek integrálása is folyamatban van. [6,22] A közeljövő feladata a RENEB hálózat elismertetése a radiológiai sürgősségi helyzetéért felelős nemzeti és nemzetközi hivatalos szervezetek által.

FELHASZNÁLT IRODALOM

- [1] *National Strategy for Combating Terrorism*, February, 2003
https://www.cia.gov/library/reports/general-reports-1/terrorist_cbrn/terrorist_CBRN.htm (letöltve: 2017.07.21)
- [2] <https://obamawhitehouse.archives.gov/the-press-office/2016/04/01/nuclear-security-summit-2016-communicu%C3%A9> (letöltve: 2017.07.21.)
- [3] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY: *The radiological accident in Goiania. Part IV. Observations and recommendations*. Vienna, Austria. STI/PUB/815, ISBN:92-0-129088-8, pp. 89. 1988.

- [4] MÉTIVIER, H. (szerk.): *Chernobyl: assesment of Radiological and Health impacts*. NEA, 2002 <https://www.oecd-nea.org/rp/pubs/2003/3508-chernobyl.pdf> (utoljára letöltve: 2017.09.13)
- [5] OECD: *Nuclear Energy Agency (NEA) activities in follow-up to the TEPCO Fukushima Daiichi nuclear accident*. <https://www.oecd-nea.org/pub/nea6888-follow-up-fukushima.pdf> (letöltve: 2017.09.13)
- [6] VOISIN, P., Et.al.: *RENEB – Realising the European Network in Biological Dosimetry* http://reneb.eu/documents/2012_MP-HFM-223-19.pdf (letöltve: 2017.07.05)
- [7] KULKA, U., Et.al.: *RENEB – Running the European Network of biological dosimetry and physical retrospective dosimetry*, International Journal of Radiation Biology, 2017, 93:1, pp. 2-14, DOI: 10.1080/09553002.2016.1230239 2017.07.05
- [8] BRZOZOWSKA, B., Et.al.: *RENEB accident simulation exercise*, International Journal of Radiation Biology, 2017, 93:1, pp. 75-80, DOI: 10.1080/09553002.2016.1206230
- [9] KÖTELES GY. (szerk.): *Sugáregészségtan*. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 2002.
- [10] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY: *Cytogenetic dosimetry: Applications in preparedness for and response to radiation emergencies*. EPR-biodosimetry, IAEA, Viena 2011.
- [11] KULKA, U., Et.al.: *Realising the european network of biodosimetry (RENEB,)* Radiation Protection Dosimetry 2012, pp. 1–5 doi:10.1093/rpd/ncs157
- [12] KULKA, U., Et. al.: *Realising the European network of biodosimetry: RENEB—status quo* Radiat Prot Dosimetry. 2015 Apr; 164(1-2) pp. 42–45. doi: 10.1093/rpd/ncu266
- [13] WOJCIK, A., LLOYD D., ROMM, H., ROY L.: *TENEB: Towards a European Network of Excellence in Biological Dosimetry*, http://cordis.europa.eu/pub/fp7/euratom-fission/docs/teneb-final-report_en.pdf (letöltve: 2017.08.10)
- [14] MULTIBIODOSE: www.multibiodose.eu (letöltve: 2017.07.25.)
- [15] EURADOS: European Radiation Dosimetry Group: *EURADOS Working Group 10: Retrospective Dosimetry*. 2015, http://www.eurados.org/-/media/Files/Eurados/documents/Working_Groups/2015/details/WG10-2015.pdf?la=en&hash=72B77C53F8D550C616FB59E073A39A906CE3FE8A (letöltve: 2017.07.05)
- [16] DEPUYDT, J., Et. al.: *RENEB intercomparison exercises analyzing micronuclei (Cytokinesis-block Micronucleus Assay)*, International Journal of Radiation Biology, 2017, 93:1, pp. 36-47, DOI: 10.1080/09553002.2016.1206231
- [17] OESTREICHER, U., Et. al.: *RENEB intercomparisons applying the conventional Dicentric Chromosome Assay (DCA)*, International Journal of Radiation Biology, 2017, 93:1, pp. 20-29, DOI: 10.1080/09553002.2016.1233370
- [18] TROMPIER, F., Et. al.: *Overview of physical dosimetry methods for triage application integrated in the new European network RENEB*, International Journal of Radiation Biology, 2017, 93:1, 65-74, DOI: 10.1080/09553002.2016.122154518/2009.
- [19] WOJCIK, A., OESTREICHER U., BARRIOS. L., VRAL, A., TERZOUDI, G., AINSBURY, E., ROTHKAMM, K., TROMPIER, F., KULKA U. *The RENEB operational basis: complement of established biodosimetric assays*, International Journal of Radiation Biology, 2017, 93:1, pp.15-19, DOI: 10.1080/09553002.2016.1235296

- [20] DEPERAS, J., SZLUINSKA, M., DEPERAS-KAMINSKA, M., EDWARDS, A., LLOYD, D., LINDHOLM, C., ROMM, H., ROY, L., MOSS, R., MORAND, J., WOJCIK, A.: *CABAS: a freely available PC program for fitting calibration curves in chromosome aberration dosimetry*. Radiat Protect Dosim. 2007, 124:115–123.
- [21] AINSBURY, E.,A., LLOYD, D.,C.: *Dose estimation software for radiation biodosimetry*. Health Phys. 2010, 98:290–295.
- [22] AINSBURY, E., Et. al.: *Integration of new biological and physical retrospective dosimetry methods into EU emergency response plans – joint RENEB and EURADOS inter-laboratory comparisons*, International Journal of Radiation Biology, 2017, 93:1, pp. 99-109, DOI: 10.1080/09553002.2016.1206233
- [23] MONTEIRO GIL, Et. al.: *Capabilities of the RENEB network for research and large scale radiological and nuclear emergency situations*, International Journal of Radiation Biology, 2017, 93:1, pp. 136-141, DOI: 10.1080/09553002.2016.1227107
- [24] ROMM, H., Et. al. *Performance of the automated dicentric and cytokinesis block micronucleus assays in a recent NATO exercise of established biodosimetry methods* (poster), IRPA, 2012, <http://www.irpa.net/members/P02.145.pdf> (letöltve: 2017.09.18)
- [25] ROMM, H., Et. al.: *Web based scoring is useful for validation and harmonisation of scoring criteria within RENEB*, International Journal of Radiation Biology, 2017, 93:1, pp. 110-117, DOI: 10.1080/09553002.2016.1206228
- [26] MULTIBIODOSE - *Final publishable summary report of the project*
<http://www.multibiodose.eu/News/MBD%20final%20publishable%20summary.pdf>
(letöltve: 2017.09.18)