

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

Vliv radioaktivity na hematopoézu

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2023

Tereza Kukalová

UNIVERSITY OF PARDUBICE
FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY

Radioactivity and hematopoiesis

BACHELOR THESIS

2023

Tereza Kukalová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Tereza Kukulová**
Osobní číslo: **C20235**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Vliv radioaktivity na hematopoézu**
Téma práce anglicky: **Radioactivity And Hematopoiesis**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1) Zpracujte literární rešerši zaměřenou na ovlivnění vzniku krevních buněk radioaktivitou. V rámci tohoto tématu se nejprve zaměřte na popis typů radioaktivity, jejich rozdílný biologický účinek a také parametry, jež kvantifikují radioaktivní účinek na živé tkáně. Následně se především zaměřte na popis principiálních účinků radioaktivity v kostní dřeni, tj. vznik maligních změn, či dřeňové formy akutní nemoci z ozáření.

2) Ke zpracování kompilace využijte elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *ScienceDirect*, *HighWire*, *NCBI Pubmed*, apod.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **23. prosince 2022**

Termín odevzdání bakalářské práce: **30. června 2023**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2023

Prohlašuji:

Práci s názvem Vliv radioaktivity na hematopoézu jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 28. 06. 2023

Tereza Kukulová v.r.

PODĚKOVÁNÍ

V první řadě bych chtěla poděkovat doc. RNDr. Tomáši Roušarovi, Ph.D. za poskytnutí užitečných rad, ochotu, trpělivost a vedení bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině za podporu během studia.

ANOTACE

Práce se zabývá radioaktivitou a jejím účinkem na hematopoetické buňky a hematopoézu. V první kapitole je popsána základní terminologie související s radioaktivitou. Podrobněji se práce věnuje kostní dřeni a hematopoetickému syndromu. Dále jsou popsány účinky záření, které přispívají vzniku maligních změn v hematopoetických buňkách. V závěru se práce věnuje nejčastějším hematologickým malignitám způsobeným ionizujícím zářením, jejich výzkumem a léčbou akutního radiačního syndromu.

KLÍČOVÁ SLOVA

Ionizující záření, kostní dřeň, hematopoetické kmenové buňky, hematopoéza, DNA, mutace, akutní myeloidní leukémie

TITLE

Radioactivity and hematopoiesis

ANNOTATION

The thesis deals with radioactivity and its effect on hematopoietic cells and hematopoiesis. The first chapter describes the basic terminology related to radioactivity. The thesis deals in more detail with effect of radioactivity in bone marrow and hematopoietic cells. The effects of radiation contributing to malignant changes in hematopoietic cells are also described. At the end, the thesis deals with the most common hematological malignancies caused by ionizing radiation, their research and treatment of acute radiation syndrome.

KEYWORDS

Ionizing radiation, Bone marrow, Hematopoietic stem cells, Hematopoiesis, DNA, Mutations, Acute myeloid leukemia

OBSAH

ÚVOD	13
1. ZÁKLADNÍ TERMINOLOGIE.....	14
1.1 Radioaktivita	15
1.2 Zdroje ionizujícího záření	15
1.2.1 Přírodní zdroje	15
1.2.2 Umělé zdroje.....	15
1.3 Druhy ionizujícího záření.....	16
1.3.1 Částice α	16
1.3.2 Částice β	16
1.3.3 γ a rentgenové záření	17
1.3.4 Interakce γ záření s hmotou	18
1.4 Deterministické a stochastické účinky záření	18
2. KOSTNÍ DŘEŇ.....	19
2.1 Hierarchie hematopoetického systému	19
2.2 Akutní nemoc z ozáření – hematopoetický syndrom.....	20
2.3 Fáze akutní nemoci z ozáření	21
3. ÚČINKY ZÁŘENÍ – VZNIK MALIGNÍCH ZMĚN.....	22
3.1 Účinek záření na hematopoetické kmenové buňky.....	22
3.2 Poškození DNA hematopoetických kmenových buněk.....	23
3.2.1 Citlivost fáze buněčného dělení na ionizační záření.....	23
3.2.2 Niche kostní dřeně a její úloha při ochraně před ionizujícím záření	23
3.2.3 Funkce proteinkinázy ataxie telangiektázie	24
3.3 Senescence hematopoetických kmenových buněk.....	25
3.4 Opravné mechanismy DNA	25
3.4.1 Nehomologická opravná cesta	26
3.4.2 Opravná cesta homologní rekombinace.....	27
3.5 Radiací indukované mutace a tvorba fúzních genů.....	27
3.6 Bystander efekt.....	28
3.7 Klonální hematopoéza.....	29

4.	HEMATOLOGICKÉ MALIGNITY	30
4.1	Historický pohled – Hirošima a Nagasaki	30
4.2	Akutní myeloidní leukémie.....	30
4.2.1	Akutní myeloidní leukémie s translokací t (8;21) (q22; q22), RUNX1- RUNX1T1.....	31
4.2.2	Myelodysplastický syndrom.....	33
4.3	Mnohočetný myelom	34
4.4	Lymfomy.....	34
4.5	Chronická myeloidní leukémie	35
5.	VÝZKUM A LÉČBA AKUTNÍHO RADIAČNÍHO SYNDROMU.....	37
5.1	Výzkum účinků ionizujícího záření	37
5.1.1	Výzkum karcinogeneze na myších	37
5.2	Radiační protiopatření.....	37
5.3	Léčba amifostinem.....	38
	ZÁVĚR	40
	POUŽITÁ LITERATURA	41

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Pronikavost jaderného záření	16
Obrázek 2: Fyziologická hematopoéza	20
Obrázek 3: Odpověď erytroidních progenitorů po celkovém ozáření myši dávkou 4 Gy.....	21
Obrázek 4: Mechanismus účinku ionizujícího záření.....	22
Obrázek 5: Odpověď na poškození DNA navozená ionizujícím zářením.....	25
Obrázek 6: Opravné mechanismy DNA	26
Obrázek 7: Model Bystander efektu antioxidačního ošetření <i>in vitro</i>	28
Obrázek 8: Model domén RUNX1, RUNX1T1 a <i>RUNX1-RUNX1T1</i>	32
Obrázek 9: Tvorba myelodysplastických novotvarů	33
Obrázek 10: Vznik Filadelfského chromozomu	36
Obrázek 11: Účinky radioprotektorů a radiomitigátorů	38
Obrázek 12: Testování amifostinu	39

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Přehled základních jednotek.....	14
---	----

SEZNAM ZKRATEK

ALL	akutní lymfoblastická leukémie
AML	akutní myeloidní leukémie
ATM	proteinkináza ataxie telangiektázie
CCND1	cyklin D1
CCND2	cyklin D2
CLL	chronická lymfocytární leukémie
CML	chronická myeloidní leukémie
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DZ	dvouřetězcové zlomy
HKB	hematopoetické kmenové buňky
HR	homologní rekombinace
IZ	ionizující záření
MDS	myelodysplastický syndrom
MRN komplex	proteiny Mre11-Rad50-NBS1
NHEJ	nehomologická oprava
NHL	non-Hodgkinův lymfom
RT-PCR	PCR s reverzní transkriptázou

ÚVOD

Jaderné zbraně představují jednu z největších hrozeb planety, a proto je důležité pochopit účinky ionizujícího záření na jeden z nejcitlivějších orgánů lidského těla, kostní dřeň. Do ionizujícího záření řadíme α , β , γ a rentgenové záření. Účinky záření na hematopoézu se dělí do dvou tříd, a to na deterministické a stochastické. Deterministické účinky způsobují akutní radiační syndrom, který zahrnuje hematopoetický syndrom. Stochastické účinky záření mají za následek vznik mutací, které později vyústí v maligní onemocnění. Hlavním cílem účinků ionizujícího záření je poškození DNA, které hraje důležitou roli v rozvoji leukémie hematopoetických buněk.

Cílem této práce je popsat základní mechanismy účinků ionizujícího záření na hematopoézu a hematopoetické kmenové buňky, které mají za následek vznik maligních onemocnění. Jsou zde i popsány experimentální pokusy na myších a možnosti léčby akutního radiačního syndromu.

1. ZÁKLADNÍ TERMINOLOGIE

Terminologie radiačních veličin využívá dva odlišné systémy: konvenční názvosloví a mezinárodní systém jednotek SI. V současné době jsou využívány oba systémy (tab. 1).

Tabulka 1: Přehled základních jednotek (upraveno dle Tonnessen et al, 2011)

Množství radiace	Konvenční jednotky	SI jednotky
Expozice	Rentgen (R)	Coulomb/kg
Povrchová integrální expozice	Rentgen-cm ²	
Absorbovaná dávka	rad	Gray (Gy)
Integrální dávka	gram-rad	Joule (J)
Ekvivalentní dávka	rem	Sievert (Sv)
Efektivní dávka	rem	Sievert (Sv)

Povrchová integrální expozice je celkové ozáření těla. Pokud jsou dvě osoby vystaveny stejné koncentraci záření, bude povrchová integrální expozice větší u osoby s větší povrchovou expozicí.

Absorbovaná dávka je energie, která se uloží v absorbujícím prostředí, čímž je kůže nebo orgán. Tato dávka závisí na hustotě a hloubce tkáně. Platí, že povrchové struktury absorbují více záření.

Integrální dávka je nahromaděná absorbovaná dávka ve všech tkáních. Neexistuje přístroj, který by přímo měřil absorpci záření v těle, a proto se integrální dávka vypočítá jako extrapolace z dávky záření.

Ekvivalentní dávka popisuje biologický účinek záření. Vypočítá se jako součin radiačního váhového faktoru a absorbované dávky. Lze pomocí tohoto určit, jakým typem záření bylo celé tělo ozářeno.

Efektivní dávka popisuje stochastické účinky na organismus. Odlišné tkáně a orgány mají jinou citlivost na záření. Účinnou dávku získáme součinem ekvivalentní dávky a váhovým faktorem specifického orgánu (Tonnessen et al, 2011).

1.1 Radioaktivita

Atom je základní stavební jednotkou hmoty a skládá se z protonů, elektronů a neutronů. Izotop je nuklid, který má stejný počet protonů, ale různý počet neutronů. Elektrony obíhají kolem jádra a jsou uspořádány ve vrstvách. Důležitým principem ionizujícího záření je stabilita izotopů a nuklidů. Izotop se stává nestabilní, pokud má v jádře příliš mnoho, nebo málo neutronů. V procesu radioaktivního rozpadu se nestabilní nuklidy mohou přeměnit na stabilnější nuklid, který vyzařuje částice γ , β nebo fotonové záření. Mezi fotonové záření patří rentgenové a γ záření (*Nakashima et al, 2021*).

1.2 Zdroje ionizujícího záření

1.2.1 Přírodní zdroje

Mezi přírodní zdroje ionizujícího záření (IZ) se řadí kosmické záření. Dochází k interakci záření s jádry atmosférických složek a vznikají kosmogenní radionuklidy. Další zdroje záření jsou přírodní radionuklidy, které jsou různého původu a mohou být přítomny v půdě, vodě nebo ovzduší. Radionuklidy jsou nestabilní chemické prvky. Největší hrozbu pro lidstvo představuje plynný radon, který se vyskytuje v horninách, vodě a stavebních materiálech. Radon je prvek s krátkým poločasem rozpadu a zvyšuje riziko vzniku rakoviny plic (*Anjos et al, 2008*).

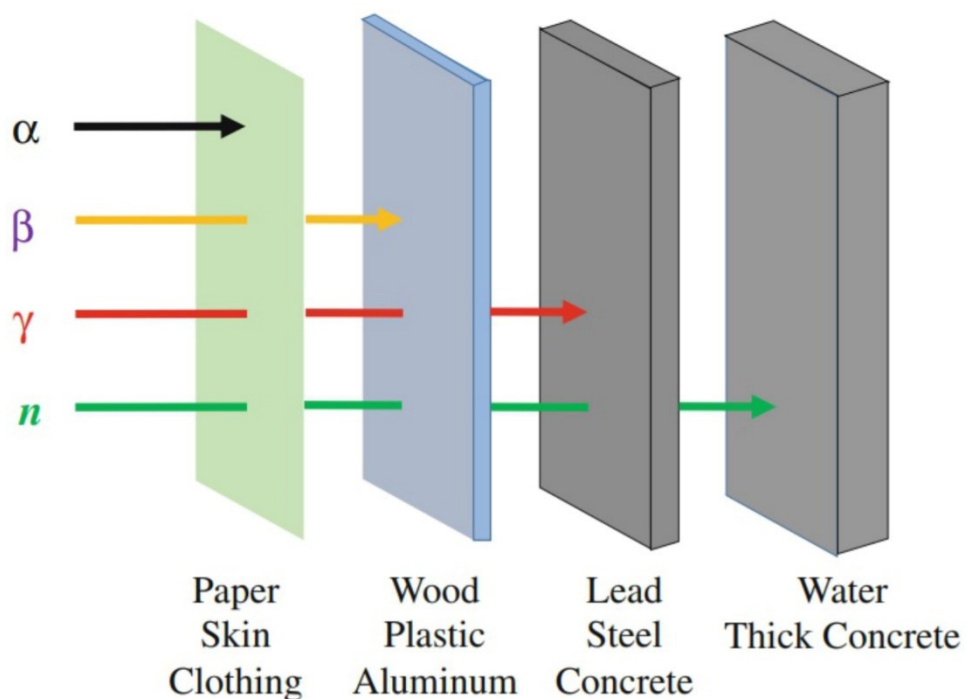
1.2.2 Umělé zdroje

Umělé zdroje záření jsou zdroje, které jsou vytvořené člověkem, a řadíme mezi ně rentgentky, umělé radionuklidy, urychlovače a jaderné reaktory. Rentgenky jsou zařízení, kde dochází k urychlování emitovaných elektronů směrem k anodě. Dopadem elektronů vzniká elektromagnetické záření. Rentgenky jsou zdrojem záření pro radiodiagnostiku. Urychlovače se rozdělují na kruhové a lineární podle tvaru dráhy, ve které jsou urychlované nabitě částice. Příklad kruhového urychlovače je betatron, ve kterém se elektrony urychlují po kruhové dráze. Dříve se betatrony hojně využívali k radioterapii. V lineárním urychlovači jsou elektrony urychlovány elektromagnetickou vlnou po přímce. Jaderné reaktory jsou zařízení, ve kterých probíhá řízené štěpení jader. Jsou velkým zdrojem γ záření. Jaderné reaktory slouží zejména k výrobě elektrické energie, ale také se můžeme setkat s jadernými reaktory výzkumnými, ve kterých se vyrábí radionuklidy pro lékařské využití (*Kuna et al, 2005*).

1.3 Druhy ionizujícího záření

1.3.1 Částice α

Částice α se skládají ze dvou protonů a dvou neutronů. Jedná se o velké částice, které jsou uvolňované rozpadem nejtěžších radioaktivních jader, mezi které řadíme radium, uran a aktinium. Mají vysokou energii a ionizační vlastnosti, ale jejich váha a velikost jim způsobuje ztrátu energie na krátkou vzdálenost. Mohou být zastaveny vrstvou papíru (Obr. 1). Při kontaktu s lidským organismem představují vysoké riziko pro zdraví. Mohou způsobovat vážné poškození na úrovni buněčné i genetické (Donya et al, 2014).



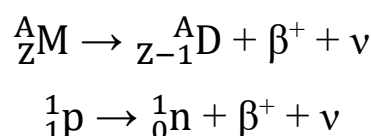
Obrázek 1: Pronikavost jaderného záření (De Sanctis et al, 2016)

1.3.2 Částice β

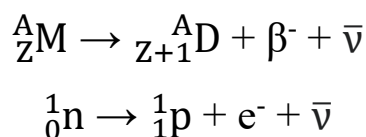
Částice β jsou pronikavější než α částice, mohou cestovat vzduchem a snadno je zastaví hliníkový plát. Způsobují menší poškození organismu, protože je jejich ionizace rozložena na větší ploše. Hlavní poškození způsobují při vdechnutí (Donya et al, 2014).

K rozpadu β dochází po vzniku nerovnováhy mezi protony a neutrony v atomovém jádru. Lze charakterizovat 3 typy rozpadu β : β^+ přeměna, β^- přeměna a elektronový záchyt.

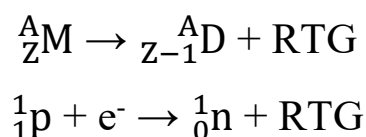
K β^+ přeměně dochází, když je příliš mnoho protonů v atomovém jádru a dojde ke vzniku přebytku kladného náboje. Jádro se snaží získat větší stabilitu vyzářením kladně nabitého elektronu, tj. pozitronu pomocí β^+ přeměny, kdy se proton přemění na neutron. Přeměna β^+ má velký význam v pozitronové emisní tomografii, která se využívá v onkologii. Principem tohoto zobrazování je reakce mezi elektronem a pozitronem a vzájemná anihilace, což má za důsledek přeměnu hmoty na energii. Energie se uvolní ve formě dvou fotonů γ , které tvoří základ zobrazování (*Welsh, 2006*).



Ke druhé přeměně dochází při nadbytku neutronů nad protony, při které jádro získá větší stabilitu vyzářením záporně nabitého elektronu pomocí β^- přeměny a neutron se přemění na proton (*Welsh, 2006*).



Ve třetím případě může dojít k elektronovému záchytu, při kterém jádro zachytí obíhající elektron a dojde ke spojení s protonem, neutralizaci a vzniku neutronu (*Welsh, 2006*).



1.3.3 γ a rentgenové záření

Záření γ , které je uvolňované při radioaktivním rozpadu, má při jaderných explozích nejmenší vlnovou délku a největší energii ze všech elektromagnetických vln (*Donya et al, 2014*). Toto vysokoenergetické fotonové záření má silnou pronikavost, větší než α nebo β částice. Jako stínící materiály lze uvést beton, keramika a sklo. Je velmi nebezpečné pro lidský organismus, protože má až stochastické účinky (*Liu et al, 2022*).

Rentgenové záření má obdobné vlastnosti jako γ záření, také se jedná o čistou elektromagnetickou energii. Vznikat může pomocí přístrojů, nebo se může objevit v důsledku poklesu elektronů do nižších orbitálních slupek (*Christensen et al, 2014*).

1.3.4 Interakce γ záření s hmotou

Když rentgenové nebo γ záření prochází prostředím, nastává interakce mezi hmotou a fotonem a zároveň k přenosu energie do prostředí. Hlavní formy interakce záření s hmotou jsou Comptonův rozptyl a fotoelektrický jev.

Při Comptonově rozptylu dochází k interakci fotonů s valenčními elektrony a k předání části energie fotonům. Je zde vzájemná propojenost mezi úhlem, pod kterým je foton rozptýlen, energií předána elektronem a energií, kterou foton ztratí. Změna vlnové délky závisí na úhlu, kterým je záření rozptýleno. Comptonův rozptyl je využíván v radioterapii pro tkáň.

Fotoelektrický jev vzniká, když foton interaguje s vnitřním elektronem a zcela zaniká, v důsledku absorpce elektromagnetického záření. Zároveň také dochází k vyzáření charakteristického záření. Tyto emitované elektrony se nazývají elektrofotony (*Mehta et al, 2010*).

1.4 Deterministické a stochastické účinky záření

Deterministické účinky jsou charakterizovány prahovou dávkou. Důvodem prahu je, že buněčná populace ve tkáni musí indikovat poškození, které je následně zobrazeno v klinickém obrazu. Jakmile dojde k překročení prahu, začne stoupat poškození. Křivka stoupání má esovitý tvar. Lze tyto účinky popsat jako akutní a nejčastěji způsobují akutní nemoc z ozáření, akutní lokální změny a poškození vývoje plodu (*Havránková, 2020*). Závažnost účinku se zvyšuje se zvyšující se absorbovanou dávkou. Časně reakce zahrnují gastrointestinální příznaky např. hemoragický průjem, selhání kostní dřene a kožní poruchy. Pozdní reakce pak zahrnují kardiovaskulární poruchy a nekrózu (*Kamiya et al, 2015*).

Stochastické účinky mají za následek vznik mutací, tj. změna v genetické informaci buněk. Tyto účinky jsou bezprahové a mají lineární průběh. Stochastické následky mohou být důsledkem poškození jedné nebo více buněk, které nakonec vedou až ke vzniku maligních nádorů (*Havránková, 2020*).

2. KOSTNÍ DŘEŇ

Kostní dřeň je polotuhý orgán. Hlavní funkcí kostní dřeně je hematopoéza. Skládá se z krvetvorné tkáně a tukových buněk, které obklopují cévní dutiny. Tyto cévní dutiny se nachází v trámčité kosti. Vnitřní povrch kostních dutin a vnější povrch kostní dřeně pokrývá endostální výstelka, ve které se nacházejí osteoblasty a osteoklasty. V dutině dřeně je kruhové proudění krve, které prochází od středu dřeně směrem k okraji a poté zpět do středu. Dlouhé a ploché kosti mají krevní zásobení a zásobení kostní dřeně propojeno endostální sítí cév. Žilní dutiny jsou pokryté vrstvou plochých endotelových buněk (*Travlos, 2006*).

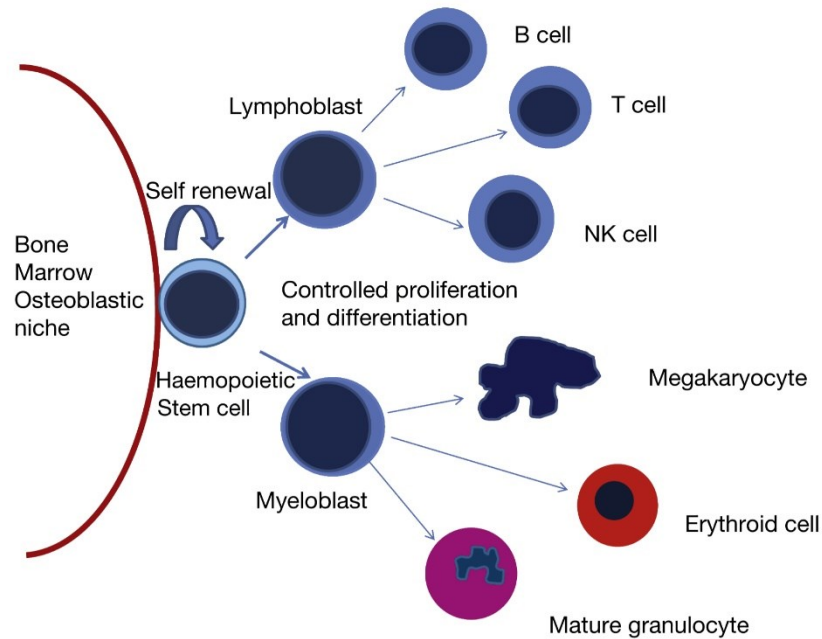
Mezi buněčné složky kostní dřeně řadíme krvetvorné buňky a stromální buňky. Krvetvorné buňky zahrnují kmenové buňky dozrávající granulocytární a myeloidní buňky, erytroidní buňky, megakaryocyty, lymfocyty a plazmatické buňky. Stromální buňky tvoří adipocyty, fibroblasty, dendritické buňky a makrofágy. Tyto buňky jsou důležité pro produkci růstových faktorů, které mají roli v hematopoéze a vznikají z mezenchymových kmenových buněk (*Sovani, 2021*).

Kostní dřeň se s věkem mění a postupně dochází k přeměně červené dřeně na žlutou. Po narození je téměř všechna dřeň krvetvorná. V průběhu růstu plodu probíhá hematopoéza ve všech částech kostní dřeně a také ve slezině a játrech. Před narozením zaniká hematopoéza ve slezině a játrech. Přeměna červené kostní dřeně na žlutou začíná v distálních člácích a její průběh je dostředivý. V dospělém věku je kostní dřeň rozšířená především v axiálním skeletu, hrudní kosti, žebrech a proximálních femurech a humerech. Objem kostní dřeně v dospělém věku je zhruba 50 % žluté kostní dřeně a 50 % červené kostní dřeně. Žlutá kostní dřeň obsahuje 95 % tukových a 5 % netukových buněk, na rozdíl od červené kostní dřeně, která obsahuje 60 % krvetvorných a 40 % tukových buněk (*Blebea et al, 2007*).

2.1 Hierarchie hematopoetického systému

Hematopoetický systém je uspořádán hierarchicky. Na úplném vrcholu se nacházejí hematopoetické kmenové buňky (HKB), které vykazují schopnost sebeobnovy, proliferace a diferenciaci do buněčných linií periferní krve. Konkrétně do multipotentních a hematopoetických progenitorových buněk. HKB jsou za normálních podmínek v klidovém stavu a chrání hematopoetický systém před různými stresovými podněty. Multipotentní a hematopoetické progenitory jsou proliferující buňky, které nemají schopnost sebeobnovy. Jakmile jsou vyčerpány dochází k akutní myelosupresi. V tomto stavu může dojít k sebeobnově, diferenciaci a proliferaci HKB, aby obnovily homeostázu. Je-li však narušena

sebeobnova HKB, vede tento stav k dlouhodobému a trvalému poškození hematopoetického systému, nakonec může dojít k selhání kostní dřeně a smrti organismu (Shao et al, 2011). Následně dochází k dělení do lymfoidních a myeloidních progenitorů, kdy poté podle jednotlivých prekurzorů dochází ke tvorbě zralých krevních buněk. Celou tuto cestu zrání buněk doprovází kontrolovaná proliferace a diferenciacce (Obr. 2) (Sovani, 2021).



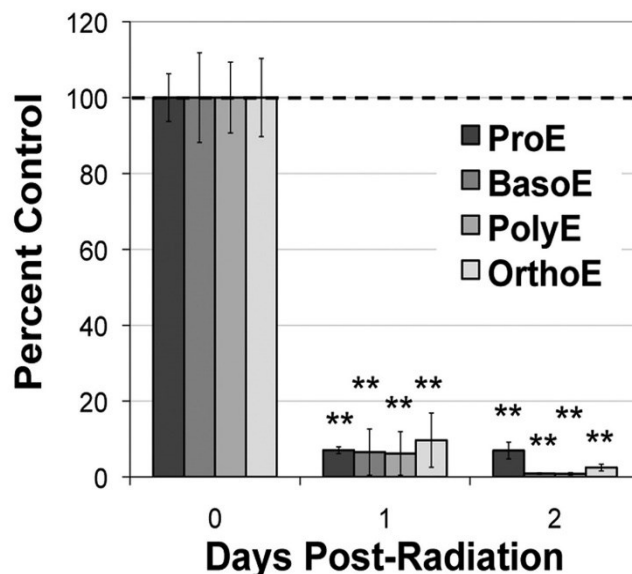
Obrázek 2: Fyziologická hematopoéza (Sovani, 2021)

2.2 Akutní nemoc z ozáření – hematopoetický syndrom

Nejvíce jsou na IZ citlivé kmenové buňky, naopak diferencované buňky jsou nejméně citlivé. Doba projevu deficitu souvisí s životností krevních buněk (Cosset, 2010). Lymfopenie se vyskytuje nejdříve během prvních 6–24 hodin po expozici. Záření také narušuje recirkulační vlastnosti lymfocytů, proto nelze pokles považovat za ukazatel poškození kmenových buněk (Macià i Garau et al, 2011). Neutropenie a trombocytopenie se projeví velmi rychle, zatímco anémie se objeví až po několika týdnech, protože životnost erytrocytů je 120 dní. Smrtelná dávka celkového ozáření kostní dřeně se pohybuje okolo 4–5 Gy (Cosset, 2010).

Při dávkách nižších než 1 Gy přežívají hlavně proliferující buňky a jsou schopny doplnit zralý funkční kompartment, a proto nastává i velmi malý pokles krvinek. Jakmile dojde ke zvyšování absorbované dávky, bude zabíjeno více HKB a prekurzorů. Nástup příznaků závisí na rychlosti úbytku cirkulujících buněk a na vyčerpání proliferčních kompartmentů (Macià i Garau et al, 2011). Erytroidní prekurzory jsou vážně poškozeny po celkovém ozáření

těla dávkou okolo 4 Gy. Tato dávka způsobí vyčerpání erytroidních prekurzorů během 2 dnů, což je smrtelné téměř pro všechny erytroidní buňky v kostní dřeni (Obr. 3) (Peslak et al, 2011).



Obrázek 3: Odpověď erytroidních progenitorů po celkovém ozáření myši dávkou 4 Gy (Peslak et al, 2011) Myši byly vystaveny γ paprskům dávky 1,6 Gy/min. (ProE-Proerytroblast, BasoE-Basofilní erytroblast, PolyE-Polychromatofilní erytroblast, OrthoE-Ortochromní erytroblast)

Významnou roli indikátoru poškození má Ligand Flt-3. Jedná se o cytokin, který může působit samostatně nebo s jinými cytokiny. Existuje hypotéza, že zvýšená plazmatická koncentrace tohoto cytokinu souvisí s aplazií po radiační expozici. Následně dochází ke snížení koncentrace, což souvisí s obnovením populace krevních buněk. Monitorování hladin Flt-3 se dá použít jako ukazatel poškození a funkce kostní dřene (Macià i Garau et al, 2011).

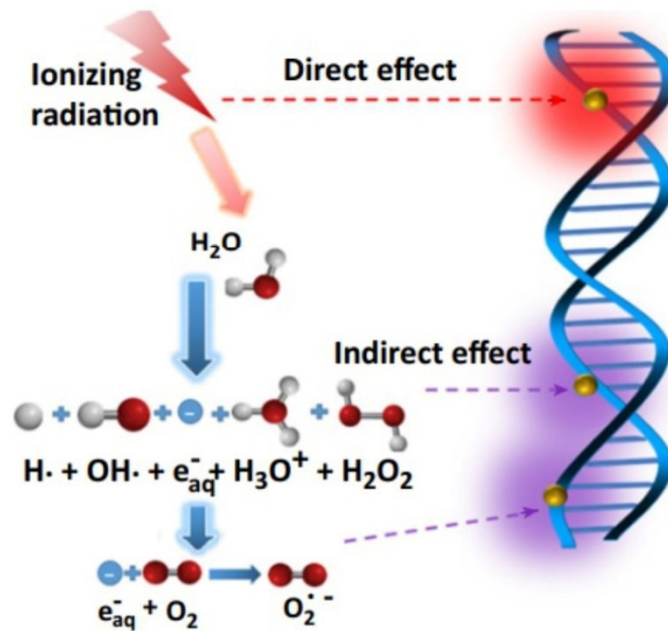
2.3 Fáze akutní nemoci z ozáření

Lze charakterizovat čtyři klinické fáze akutní nemoci z ozáření: prodromální, latentní, manifestního onemocnění a konečnou. Prodromální fáze je počáteční fáze a příznaky se objevují v závislosti na velikosti absorbované dávky, v rádech minut až dní. Nástup zvracení se při vysoké expozici vyskytuje během několika minut. Latentní fáze je fáze, ve které dochází ke zlepšení symptomů a jedinci se cítí lépe. V laboratorních testech je však zjevná lymfopenie a trombocytopenie. Tato fáze může trvat hodiny i měsíce. Fáze manifestního onemocnění je charakterizovaná příznaky specifického syndromu. Hematopoetický syndrom se nejvíce rozvíjí při dávkách mezi 1-8 Gy. Konečná fáze zahrnuje zotavení, nebo smrt v závislosti na absorbované dávce (Macià i Garau et al, 2011).

3. ÚČINKY ZÁŘENÍ – VZNIK MALIGNÍCH ZMĚN

3.1 Účinek záření na hematopoetické kmenové buňky

Účinek záření na organismus se rozděluje na přímý a nepřímý (Obr.4). V obou případech dochází k poškození deoxyribonukleové kyseliny (DNA).



Obrázek 4: Mechanismus účinku ionizujícího záření (Wang et al, 2018)

Přímý účinek znamená, že záření působí přímým zásahem na biomolekuly nebo atomy v buňkách. Hlavním cílem je DNA, u které IZ způsobuje i vícečetné poškození. Citlivé jsou také enzymy a strukturní proteiny. Poškozené buňky mohou později vyvolat karcinogenezi (Desouky et al, 2015).

Při nepřímém působení IZ zasahuje molekuly vody a dochází ke vzniku volných radikálů, jako je hydroxylový a alkoxylový. Volné radikály obsahují ve struktuře volný nepárový elektron, který je vysoce reaktivní. Reaguje s molekulami DNA a způsobuje molekulární a strukturní poškození. Reaktivní formy dusíku mají také podíl na poškození buněk. (Desouky et al, 2015). Působením reaktivních forem kyslíku HKB ztrácejí schopnost sebeobnovy. Dlouhodobý stres může vést až k selhání hematopoézy (Weiss et al, 2014).

3.2 Poškození DNA hematopoetických kmenových buněk

IZ způsobuje několik typů poškození DNA. Dochází ke změnám bází, jednořetězcovým a dvouřetězcovým zlomům (DZ). Mezi nejškodlivější poškození DNA řadíme DZ. Mohou vést ke zlomům a translokacím chromozomů. Tyto poruchy DNA vyvolají řadu reakcí, jako jsou aktivace mechanismů na opravu DNA, odstranění poškozené buňky indukci apoptózy, nebo stárnutí buněk (*Shao et al, 2014*).

Wang et al ve své studii prokázali, že poškození DNA v HKB po expozici IZ vyčerpává HKB tím, že podporuje jejich diferenciaci do lymfoidní linie. Předpokládají, že k zvýšené lymfoidní diferenciaci přispívá aktivace kontrolního bodu diferenciaci HKB, který je závislý na faktoru stimulující kolonie granulocytů dráhou G-CSF/Stat3/BATF. Také bylo zjištěno, že lymfoidně orientované HKB byly citlivější na indukci diferenciaci po aktivaci kontrolního bodu oproti myeloidně orientovaným HKB. Cílení na tuto dráhu vede k akumulaci poškození DNA v HKB, což zvyšuje riziko maligní transformace HKB a rozvoj leukémie (*Wang et al, 2012*).

3.2.1 Citlivost fáze buněčného dělení na ionizační záření

Jsou charakterizovány čtyři fáze buněčného cyklu. V každé fázi buňky vykazují různou citlivost vůči záření, tj. radiosenzitivitu. V G1 fázi se buňky připravují na replikaci DNA. V této fázi buňky vykazují relativní radiosenzitivitu. S fáze je proces, kdy buňky vstupují do fáze replikace DNA, ve které musí buňka replikovat svou DNA, aby došlo k vytvoření sady chromozómů. Vstup do této fáze je řízen vysoce regulovanými cyklin–dependentními kinázami. Buňky v této fázi jsou odolné vůči záření, díky působení enzymů, které zodpovídají za zajištění replikace a rozpoznávají změnu báze DNA při poškození. V G2 fázi se buňky připravují na mitózu. Tato fáze buněčného cyklu je radiosenzitivní. V M fázi dochází k dělení buněk a vznik dvou dceřiných. Buňky jsou velmi citlivé na záření v této fázi. DNA je zabalena do chromozómů a IZ působí přímo na DNA (*Brown et al, 2011*).

3.2.2 Niche kostní dřene a její úloha při ochraně před ionizujícím zářením

Niche je lokální tkáňové mikroprostředí, v kterém se buňky nacházejí. Jak už bylo řečeno, HKB jsou velmi citlivé na IZ, a proto je potřeba je chránit. Tuto ochranu jim poskytuje niche kostní dřene. Kostní dřeň obsahuje alespoň dva různé druhy niche. Jeden druh nalézáme periosteálně a poskytuje hypoxické prostředí. Druhá niche je lokalizována perivaskulárně (*Pajonk et al, 2013*).

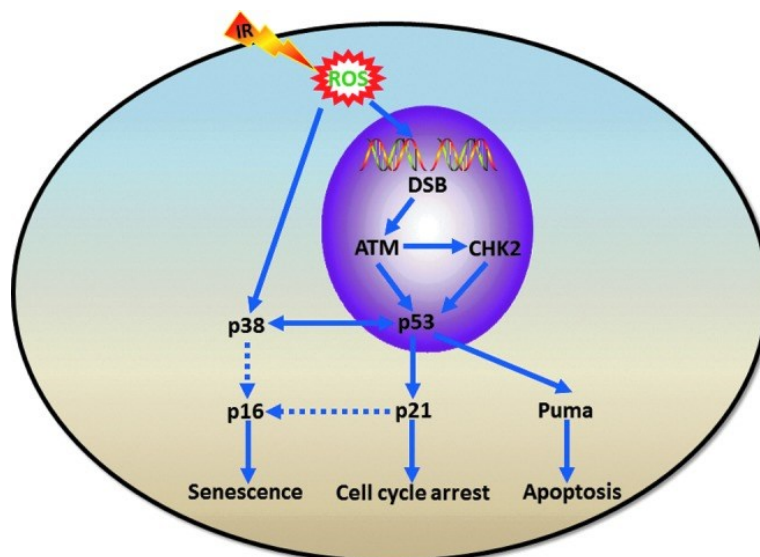
Hlavní úlohou niche je ochrana HKB před oxidační stresem. Udržuje zásobu kmenových buněk v G0 fázi buněčného cyklu. G0 fáze je klidový a nedělicí stav (*Weiss et al, 2014*).

3.2.3 Funkce proteinkinázy ataxie telangiektázie

Proteinkináza ataxie telangiektázie (ATM) hraje důležitou roli při rozpoznání DZ v DNA. Tato vysoce molekulární proteinkináza má mnoho jiných rolí. Podílí se na fosforylaci několik stovek proteinových substrátů, genové transkripci a reakci na apoptózu. Pokud není DNA poškozena, ATM nejčastěji existuje jako nekovalentně asociovaný dimer. Do místa DZ je lokalizován a v místě aktivován proteiny Mre11-Rad50-NBS1 (MRN komplex). Tento komplex zadržuje ATM a zároveň dochází k navázání na DZ. Následně podstupuje autofosforylaci na zbytku Ser1981 a vytvoří se aktivní monomery či dimery, které mají důležitou úlohu v homologní rekombinantní opravě. ATM může být také aktivován přímo peroxidem vodíku nezávisle na komplexu MRN. Tato aktivace může probíhat i v nepřítomnosti fyzického poškození DNA. Také může aktivace probíhat membránovými receptory při reakci na oxidační stres. V podmínkách oxidačního stresu musí být přítomny membránově vázané tyrosinkinázy a růstový faktor β odvozený od krevních destiček. Klinické měření ATM se nejčastěji provádějí z jaderných preparátů lymfocytů nebo lymfoblastoidních buněčných linií (*Ambrose et al, 2013*).

Aktivovaný ATM koordinuje signalizaci několika kontrolních bodů buněčného cyklu. První je kontrolní bod G1/S fosforylace nádorového supresoru proteinu p53 na Ser15. Druhý je bod G2/M fosforylace proteinkinázy CHK2 na Thr68. Poslední je kontrolní bod uvnitř cyklu S fosforylací proteinu SMC1 na Ser957 a Ser966 (*Ambrose et al, 2013*).

Fosforylace p53 zvyšuje expresi proteinu p21 a proapoptických proteinů jako například Puma a p16, což má za následek zastavení buněčného cyklu, senescenci a apoptózu. Mimo jiné mohou reaktivní formy kyslíku aktivovat protein p38, který indukuje expresi proteinu p16 a dochází k buněčné senescenci (Obr. 5) (*Shao et al, 2014*).



Obrázek 5: Odpověď na poškození DNA navozená ionizujícím zářením (Shao et al, 2014) (DSB-dvouřetězcové zlomy DNA, ATM-mutovaný protein ataxie telangiektázie, CHK2-proteinkináza, Puma-proapoptický protein, p38, p53, p21 a p16-aktivované proteiny)

3.3 Senescence hematopoetických kmenových buněk

Buněčná senescence je nevratný stav. HKB zůstávají živé, ale nejsou schopné proliferace a diferenciaci. Jak bylo popsáno výše, tento stav může vznikat po expresi aktivovaných proteinů. Pro radiaci indukovanou senescenci jsou hlavním stimulem DZ v DNA. Lze rozlišit dva druhy senescence, a to replikační a předčasnou. Obě tyto senescence mají společné indukční cesty, ale vykazují jisté odlišnosti.

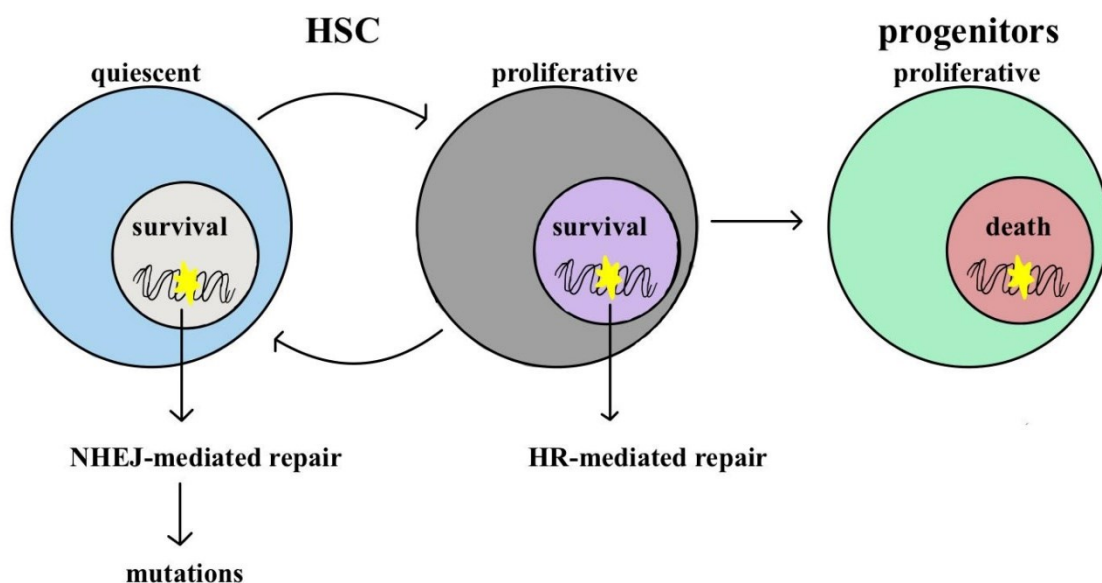
Replikační senescence souvisí s délkou telomer. Bez exprese se totiž telomerázy a telometrické sekvence v HKB při každé replikaci DNA zkracují. Kriticky krátké délky mají za důsledek nevratnou zástavu v G1 fázi buněčného cyklu. Osobám s nedostatkem telomerázy hrozí například aplastická anémie a selhání kostní dřeně.

Mnohem častěji je předčasná senescence vyvolaná IZ. Od replikační senescence se liší tím, že buňky, které procházejí stresem, mají zkrácenou vnitřní replikativní životnost, vedoucí k senescenci, bez významného zkracování telomer (Shao et al, 2011).

3.4 Opravné mechanismy DNA

Oprava DNA je velmi důležitá pro fyziologickou funkci HKB. Jakmile dojde k nahromadění poškození DNA, dochází ke zhoršení funkce HKB, která brání jejich sebeobnově a proliferaci. Poškození DNA se časem hromadí v jádrech myeloidních

i lymfoidních progenitorů, které nakonec mohou vést ke vzniku rakoviny (Niedernhofer, 2008). Mezi hlavní opravy DNA patří nehomologická oprava a homologní rekombinace (Obr. 6).



Obrázek 6: Opravné mechanismy DNA (Upraveno dle Mohrin et al, 2010) (HSC-hematopoetické kmenové buňky, NHEJ-nehomologická opravná cesta, HR-homologní rekombinace)

3.4.1 Nehomologická opravná cesta

Základním kamenem nehomologické opravné cesty (HNEJ) je heterodimer proteinu Ku70/80. V prvním kroku opravy se heterodimerní protein Ku70/80 váže na konce DZ a povolává proteinkinázy. Proteinkinázy se vážou na konce DNA, což podporuje spojení obou konců. Druhým krokem je zpracování nevázaných konců, aby se odstranila poškozená DNA, nebo se vyplnily mezery. K tomuto procesu jsou zapotřebí enzymy. Nejdůležitějším enzymem je NHEJ specifická nukleáza Artemis, která je aktivována prostřednictvím proteinkináz a ATM kinázou. Dalšími důležitými enzymy jsou fosfatáza, polynukleotidkináza a exonukleázy. Tyto enzymy pomáhají správně umístit konce pro ligaci. Mezery mezi nukleotidy a delece jsou vyplněny DNA polymerázami μ a λ . Tento druhý proces je velice náchylný k chybám, protože se předpokládá, že zpracování konců DZ vede k modifikaci, nebo ztrátě nukleotidů na obou stranách zlomu. Posledním krokem je ligace konců DNA, která je prováděna ligázou IV navázanou na *X-ray cross-complementing protein*. Tento protein stabilizuje ligázu a stimuluje její aktivitu (Wang et al, 2013). Následkem chyb v tomto mechanismu opravy mohou tedy být chromozomální delece, inserce nebo translokace, které způsobují genomovou nestabilitu, a tedy větší pravděpodobnost vzniku maligních změn (Naka et al, 2011).

3.4.2 Opravná cesta homologní rekombinace

Homologní rekombinace (HR) je vysoce regulovaný molekulární mechanismus, který je důležitý pro zachování genomické integrity. Jedná se o přesný a nejdůležitější postup opravy, který využívá sesterské chromatidy jako templáty. Prvním krokem HR je rozpoznání poškozených míst MRN komplexem. Následně je každá strana DNA lyzovaná od 5' do 3' konce pomocí proteinu MRE11, který má exonukleázové a endonukleázové aktivity. Poté je povolána rekombináza RAD51, která syntetizuje DNA pomocí sesterské chromatidy. RAD51 vytvoří mikrofilamentum a vede k invazi vlákna. Oba konce DNA jsou zachyceny Hollidayovými spoji a výsledkem jsou křížené nebo nekřížené formy (Yamamoto, 2022). Právě tyto Hollidayovy spoje jsou klíčovým meziproductem HR. Typickou vlastností HR je, že informace ztracená z přerušného duplexu se obnoví z homologního duplexu. Přechodnou cestou mezi HR a NHEJ je mechanismus opravy jednoho řetězce. Duplex je štěpen exonukleázou, aby se odhalily mikrohomologické oblasti, které podporují ořezávání, párování a ligaci (Sancar et al, 2004).

3.5 Radiací indukované mutace a tvorba fúzních genů

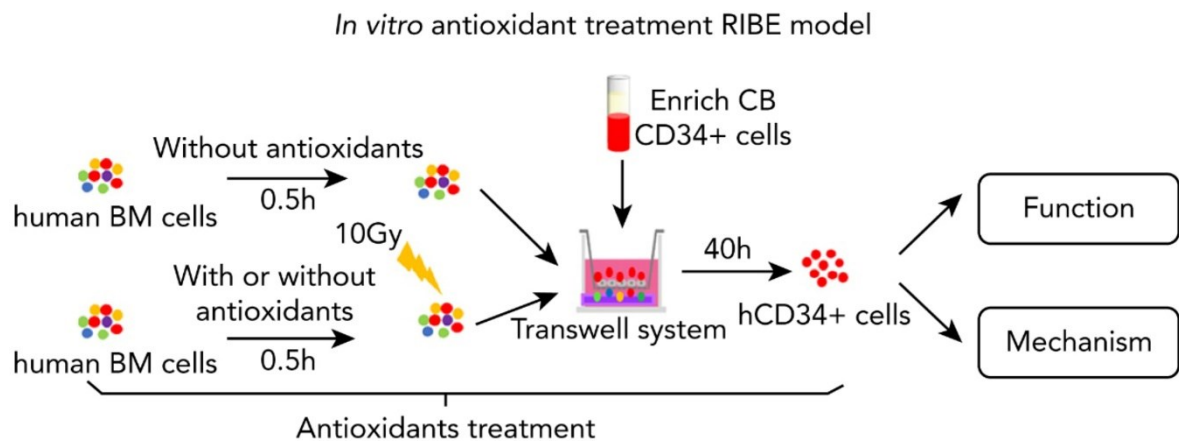
Pro rozvoj spontánních malignit jsou nezbytné onkogenní mutace, které vznikají v důsledku epigenetických a genetických změn v onkogenech a supresorových genech. Tyto genetické nestability se přenášejí na další generaci buněk. Vznik mutací vede k maligní transformaci a rakovině. K vývoji rakoviny je nezbytná akumulace onkogenních mutací dříve, než dojde k neoplastické transformaci a opravě DNA. Mutace mohou vznikat buď bodově nebo jako delece, které mohou zahrnovat i celý gen. Příčinou karcinogenního účinku IZ nemusí být nutně mutace v genech, ale může dojít k několika onkogenním příhodám, které přispívají k rozvoji maligních onemocnění (Marusyk et al, 2010).

Fúzní geny vznikají somatickými chromozomálními přestavbami. Mezi základní formy chromozomálních přestaveb patří translokace, delece, inzerce a inverze (Weckselblatt et al, 2015). Translokace je výměna genomového materiálu mezi dvěma různými chromozomy a obecně vyžadují vznik DZ. Tento jev vyžaduje, aby dva lokusy byly v těsné prostorové blízkosti během interfáze, a tím došlo ke vzájemnému kontaktu dvou chromozomů produkujících translokace (Kosik et al, 2023). Delece a inverze zahrnují pouze jeden chromozom a jsou výsledkem jednoho nebo více DZ (Weckselblatt et al, 2015). Při inverzi dochází k vložení chromozomového segmentu do druhého chromozomu, a tím vzniká spojení úseků (Gu et al, 2016).

3.6 Bystander efekt

Bystander efekt, jinak řečeno efekt přihlížejícího, je stav, kdy dochází k poškození v důsledku použití IZ i u neozářených buněk. Jedná se o tzv. sekundární poškození. Tento efekt se projevuje mezibuněčnou komunikací od ozářených buněk k neozářeným buňkám.

Hu et al ve své studii zkoumali *Bystander* efekt u pacientů, kteří podstoupili celkové ozáření těla. Celkové ozáření těla se využívá pro transplantaci lidských HKB v kondicionálních režimech. Výsledky ukázaly, že byly dlouhodobě poškozeny HKB a také byla snížena klonogenní schopnost progenitorových buněk. Tento efekt vyvolal u HKB zvýšené poškození DNA, které následně vedlo k zástavě buněčného cyklu, apoptóze a senescenci. Hlavní příčinou poškození DNA byl oxidační stres. Důležitou roli zde také hrály antioxidanty, kterých se zapojovalo více. Pro své studium použili 3 antioxidanty, konkrétně N-acetylcystein, sulforafan a resveratrol. Zkoumali, jak se tyto antioxidanty podílí na odstranění nadměrného oxidačního stresu v okolních lidských HKB a progenitorových buňkách. Buňky kostní dřeně byly ošetřeny 30 minut před ozářením jednotlivými antioxidanty. Antioxidanty působily v kultivačním systému po dobu 40 hodin. Následně navrhli experimentální schéma (Obr. 7). Ošetření těmito antioxidanty zabránilo poškození DNA a snížilo apoptózu *in vitro* v okolních lidských HKB a progenitorových buňkách (Hu et al, 2021).



Obrázek 7: Model Bystander efektu antioxidantního ošetření *in vitro* (Hu et al, 2021)

3.7 Klonální hematopoéza

Klonální hematopoéza může vznikat vlivem stárnutí HKB. Tyto buňky získávají během života somatické mutace, které jim poskytují konkurenční výhodu oproti jiným kmenovým buňkám. Tento stav vede ke klonálnímu šíření buněk této linie. Pokud dojde k nahromadění takových mutací, může vzniknout nový myeloproliferativní novotvar nebo leukémie. Rizikové faktory vzniku klonální hematopoézy jsou kouření, obezita, nezdravá strava a vystavení se IZ. S IZ také souvisí neschopnost opravit chybu DNA ve stárnoucích HKB, nebo zkracování telomer, které také vede ke klonální hematopoéze. Většina osob s tímto onemocněním má somatické mutace v regulačních genech nebo opravných genech DNA, jako jsou *DNMT3A*, *TET2*, *JAK2* a *ASXL1*. Tyto geny jsou často u hematologických malignit mutovány. Velkým rizikem klonální hematopoézy indukované IZ jsou kardiovaskulární příhody, konkrétně vznik aterosklerózy, srdečního selhání nebo mrtvice. Kromě srdečních příhod můžeme také pozorovat vznik trombózy (*Bhattacharya et al, 2021*). Z tohoto tedy vyplývá, že osoby s klonální hematopoézou mají větší pravděpodobnost budoucí diagnózy hematologické rakoviny než osoby bez detekovatelných somatických mutací. Také se častěji vyskytují u osob nad 65 let. Průkaz klonální hematopoézy se provádí pomocí sekvenování DNA (*Genovese et al, 2014*).

4. HEMATOLOGICKÉ MALIGNITY

4.1 Historický pohled – Hirošima a Nagasaki

Rozvoj maligních změn je problém pozdních následků, které se vyskytují až po několika letech po expozici. První maligní onemocnění, které bylo detekováno u osob, které přežily atomovou bombu, byla leukémie. Konkrétně tři roky po bombardování lékaři v Hirošimě a Nagasaki zaznamenali zvýšený počet pacientů s leukémií u přeživších. Později byly u zasažených osob klasifikovány jednotlivé druhy leukémií, a to akutní lymfoblastická leukémie (ALL), akutní myeloidní leukémie (AML), chronická myeloidní leukémie (CML), chronická lymfocytární leukémie (CLL) a T-buněčná leukémie/lymfom. Nejčastěji se u osob vyskytovala AML, u které byly určeny všechny podtypy, a to M1 myeloblastický typ bez zrání buněk, M2 se zráním leukemických buněk, M3 promyelocytární, M4 a M5 s postižením monocytární linie, M6 erytroleukémie a M7 megakaryoblastický typ. Později byly prokázány důkazy o zvýšeném výskytu myelodysplastického syndromu (MDS). Hematologické malignity, které souvisí s leukémií, byly detekovány u přeživších z Nagasaki i po 40 letech od expozice (*Tsushima et al, 2012*).

Studie, která se zabývala výskytem hematologických malignit u přeživších mezi roky 1950–2001, v kohortě registrovala 113 011 členů. Kohorta je soubor osob, které byly součástí demograficky významné události v určitém roce. Konkrétně bylo mezi těmito členy identifikováno 1215 hematologických malignit. Z toho 40 % případů byly leukémie, 40 % trpělo non-Hodgkinovým lymfomem (NHL) a zbylých 20 % mělo mnohočetný myelom. Druhá nejčastější leukémie byla CML, a to u 20 % osob. Třetí častá leukémie byla ALL (*Hsu et al, 2013*).

4.2 Akutní myeloidní leukémie

Jak už bylo popsáno výše, AML je nejčastější druh leukémie vyskytující se u osob po bombardování v Hirošimě a Nagasaki. Proto jsem se rozhodla zaměřit na toto onemocnění z bližšího pohledu. Jedná se o heterogenní onemocnění, jehož výsledkem je klonální transformace hematopoetických prekurzorů. Tyto transformace vznikají v důsledku chromozomálních přestaveb a mnohočetných genových mutací (*Rubnitz et al, 2010*). Důsledkem je náhrada normální kostní dřeně leukemickými buňkami za současného poklesu počtu červených krvinek v periferní krvi. Toto onemocnění má rychlou progresi, a proto je považováno za akutní. Pokud by nedošlo k časnému nálezu, mohou být následky až fatální.

Příznaky spojené s AML jsou dušnost, únava, krvácení a vysoké riziko infekce (Acheampong et al, 2018). U AML se také mohou vyskytovat genetické abnormality v transkripčních kontrolních prvcích. Tyto poruchy vedou k nekontrolovatelné zástavě proliferace nebo diferenciaci (Preudhomme et al, 2002). AML může zahrnovat spoustu mutací, jako jsou mutace genů *NPM1*, *FLT3*, *CEBPA*, *c-KIT*, *IDH1*. Celkově se mutace genu *NPM1* velmi často vyskytuje až u 27 % případů AML (Lindsley et al, 2015).

4.2.1 Akutní myeloidní leukémie s translokací t (8;21) (q22; q22), RUNX1-RUNX1T1

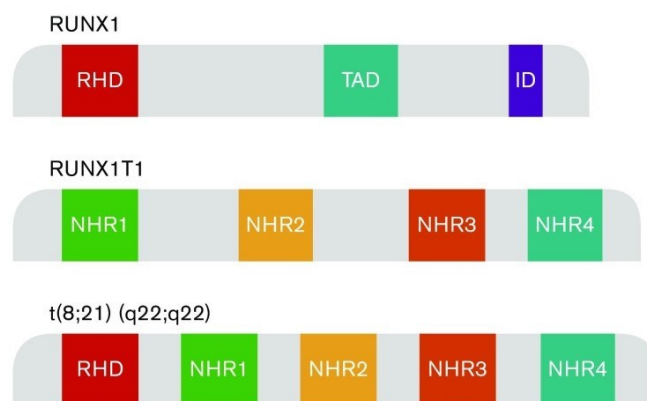
Protein RUNX1 je transkripční faktor, který je exprimován v HKB a má důležitou roli v regulaci hematopoézy v embryonálním vývoji a je tedy nepostradatelný pro tento proces (Yokota et al, 2020). Gen *RUNX1* se nachází na chromozomu 21 (21q22.1) a má délku 260 kb. Podílí se na mnoha formách chromozomálních translokací u leukémie (Lam et al, 2012). Právě tento gen byl popsán jako cíl genové alterace IZ. Při expozici IZ vznikají somatické bodové mutace genu *RUNX1*. Záradečné mutace způsobují familiární poruchu trombocytů, která má predispozici k AML. Somatické mutace tohoto genu můžeme také pozorovat u jiných hematologických malignit, jako jsou ALL, MDS a myeloproliferativní neoplazie. Nejvíce však jsou tyto mutace způsobené IZ v souvislosti s AML (Yokota et al, 2020).

Harada et al zkoumali mutaci tohoto genu u přeživších atomovou bombu v Hirošimě a Nagasaki. Analyzovali exony 3 a 5 genu *RUNX1* pomocí testu PCR. Pro tuto analýzu použili genomovou DNA extrahovanou z mononukleárních buněk kostní dřeně pacientů. Nalezené mutace dále byly potvrzeny metodou PCR s reverzní transkriptázou (RT-PCR). Výsledek přinesl, že *RUNX1* mutace byly potvrzeny téměř u poloviny zasažených osob s AML (Harada et al, 2003).

Gen *RUNX1T1* je člen rodiny myeloidních translokačních genů. Je umístěn na chromozomu 8 (8q22) a má délku kolem 136 kb. Obsahuje zinkové struktury a transkripčně aktivované domény, které jsou bohaté na prolin. Obvykle je zkoumán jako součást fúzního proteinu *RUNX1-RUNX1T1*. Negativně ovlivňuje transkripci prostřednictvím rekrutací histonových deacetyláz, což mu umožňuje regulovat proliferaci a diferenciaci hematopoetických progenitorů. Jeho účinky na krvetvorbu jsou spojené se sníženou funkcí proteinu RUNX1. Neinteraguje přímo s DNA, ale je povolán transkripčními faktory (Hu et al, 2022).

Výsledkem translokace t(8;21) je juxtapozice genu *RUNX1* z chromozomu 21 do *RUNX1T1* genu na chromozomu 8. Takto vzniká nový chimérický gen *RUNX1-RUNX1T1*. Tento gen produkuje transkript, který je náhodně spojován s leukemogenezí tím, že blokuje trans-aktivaci cílových hematopoetických genů reagujících na *RUNX1* (Al Bahar et al, 2009).

Gen *RUNX1-RUNX1T1* má 5 konzervovaných domén. Jednu z *RUNX1* a 4 z *RUNX1T1*. Doména z *RUNX1* je runt homologická doména RHD. Domény z *RUNX1T1* jsou NHR1, NHR2, NHR3 a NHR4 (Obr. 8). Doména NHR1 interaguje s korepresorem jaderných hormonálních receptorů N-CoR a také s aktivační doménou proteinů E2A a HEB. Doména NHR2 tvoří α helikální tetramer, který zprostředkovává oligomerizaci *RUNX1-RUNX1T1* a interaguje s kompresorem Sin3, GFi1 a histonovými deacetylázami. Doména NHR3 interaguje s regulační podjednotkou cyklické AMP-dependentní proteinkinázy typu II. Doména NHR4 zprostředkovává interakce s N-CoR, tlumivým mediátorem retinoidního a tyroidního hormonálního receptoru SMRT a DNA vazebným proteinem SON (Roudaia et al, 2009).

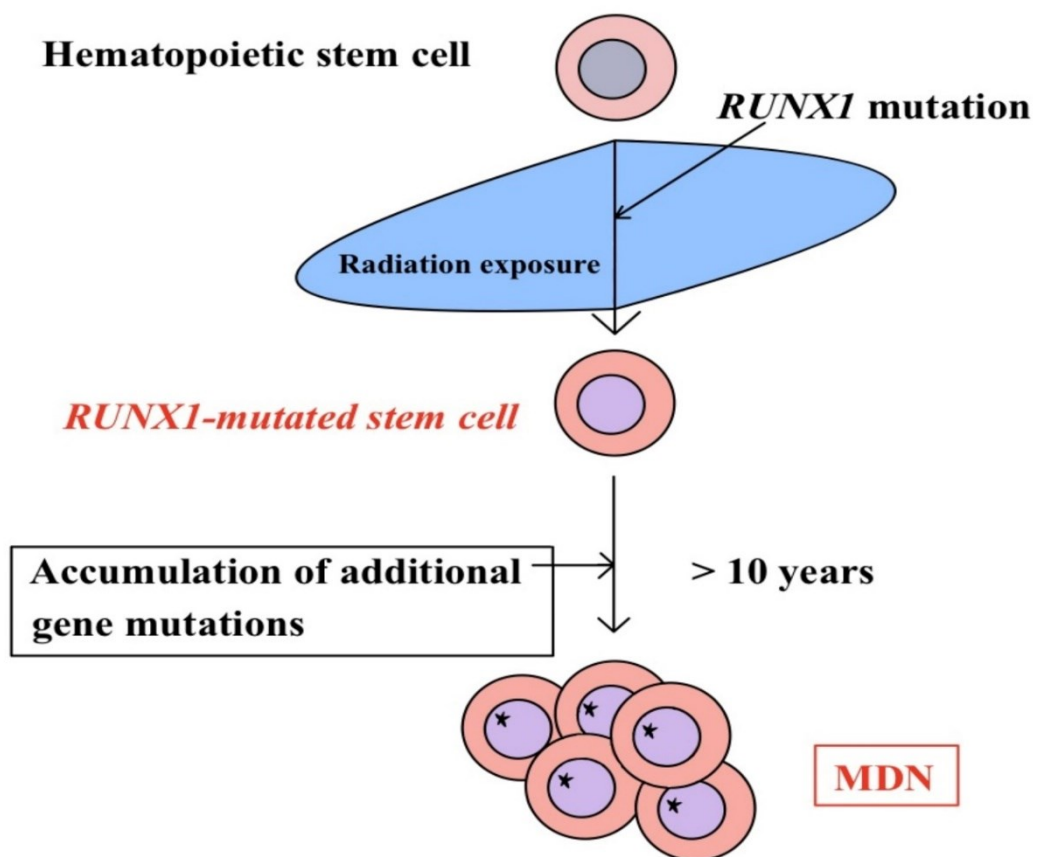


Obrázek 8: Model domén *RUNX1*, *RUNX1T1* a *RUNX1-RUNX1T1* (Al-Harbi et al, 2020)

Důležitou roli zde také mají transkripční faktory z rodiny CCAAT/enhancer binding protein. Celkově zahrnují 6 transkripčních faktorů, jejichž exprese je omezena na myeloidní linii. Je zde také spojitost s genem *RUNX1*, protože reguluje expresi *C/EPB α* , který je exprimován v myelomonocytárních buňkách a je nezbytný pro zapojení do granulocytární linie a diferenciace zralých neutrofilů. Zvýšenou regulaci tohoto faktoru můžeme pozorovat během granulocytární diferenciace. Jeho podmíněná exprese je dostačující ke spuštění neutrofilní diferenciace prekurzorů. Také se podílí na aktivaci myeloidně specifických receptorů pro faktor stimulující kolonie makrofágů a faktor stimulující kolonie granulocytů v myeloidních buňkách (Preudhomme et al, 2002). Jakmile dojde k translokaci, dojde k potlačení genové exprese *C/EPB α* .

4.2.2 Myelodysplastický syndrom

MDS jsou heterogenní skupinou onemocnění, které jsou charakteristické klonální a neefektivní krvetvorbou, morfologickou dysplazií se zvýšeným rizikem vzniku AML. Toto onemocnění bývá také často označováno jako pre-leukémie. Model patogeneze zahrnuje počáteční poškození HKB v kostní dřeni. Toto má za následek rozšíření MDS klonu a následnou leukemickou transformaci. Klinická podobnost AML a MDS je vysoká, protože můžeme u tohoto onemocnění pozorovat mutace v genu *RUNX1* (Iwanaga et al, 2011). Rozvoj myelodysplastických novotvarů může být otázka až několika desítek let. Například vznik mutace genu *RUNX1* v jedné HKB vlivem ozáření trvalo více než deset let, než se transformovala nahromaděním dalších genových změn, které poté vedly k rozvoji myelodysplastických novotvarů (Obr. 9) (Harada et al, 2011).



Obrázek 9: Tvorba myelodysplastických novotvarů (Upraveno dle Harada et al, 2011)

4.3 Mnohočetný myelom

Mnohočetný myelom je další hojně vyskytující se onemocnění po expozici IZ. Jedná se o klonální proliferaci maligních plazmatických buněk v kostní dřeni. Pro toto onemocnění je charakteristická nadměrná exprese cyklinů D1 (CCND1) nebo D2 (CCND2), které jsou zodpovědné za kontrolu progresu buněčného cyklu v G1 fázi. Když dojde k poškození DNA, je v buňkách zaznamenána degradace CCND1. Tyto cykliny také vážou cyklin–dependentní kinázy a podílí se na jejich aktivaci. Toto vede k zástavě buněčného cyklu v G1 fázi v nemyelomových buňkách, což ovlivňuje opravu DNA a přežití. Na vzniku myelomu má podíl mnoho událostí, jako jsou translokace IgH, což je těžký řetězec imunoglobulinu, pro něž jsou typické translokace u lymfoproliferativních onemocnění. Další události, které se podílí na vzniku tohoto onemocnění, jsou numerické chromozomové aberace například hyperdiploidie s trizomiemi lichých chromozomů. Nádory mnohočetného myelomu rostou pomalu. Jakmile ale dojde k nekontrolované proliferaci, značí tento stav konečné stadium. Při vzniku dvouřetězcových zlomů, indukovaných ionizujícím zářením, zůstávají hladiny CCND2 nezměněné, čímž se výrazně liší od CCND1, jehož hladiny jsou v buňkách zvýšené, což podporuje opravu DNA a přežití buněk (*Smith et al, 2016*).

Smith et al zkoumali vliv IZ na aspirátech kostní dřeni od pacientů s mnohočetným myelomem. Buňky byly vystaveny IZ o dávce 5 nebo 10 Gy a analýza buněčného cyklu byla provedena 6 a 24 hodin po ozáření. Poté byly buňky inkubovány, obarveny propidiumjodidem a autoři následně provedli analýzu buněčného cyklu pomocí průtokové cytometrie. Nejprve zkoumali vliv IZ na CCND1 a CCND2 v myelomových buňkách. Výsledky přinesly to, že došlo ke snížení regulace CCND1, zatímco hladina CCND2 zůstala nezměněná. Výsledky naznačují, že zastavení ve fázi buněčného cyklu S, G2 nebo M místo ve fázi G1 by teoreticky umožnilo pokračovat v opravě DNA prostřednictvím HR. Ukázalo se tedy, že diferenciální exprese cyklinu D zásadně neovlivňuje odpověď buněčného cyklu na IZ. Je tedy nepravděpodobné, že by byla základem rozdílné citlivosti na poškození DNA (*Smith et al, 2016*).

4.4 Lymfomy

Lymfomy jsou maligní nádory, které postihují lymfocyty. Tato onemocnění jsou prekurzorové lymfoidní malignity, které zahrnují proliferaci nezralých lymfoblastů a zralé lymfoidní malignity, do kterých patří diferencované B a T buňky. Lymfomy se klasifikují do dvou skupin, a to Hodgkinovy a non–Hodgkinovy. Rozlišují se podle přítomnosti

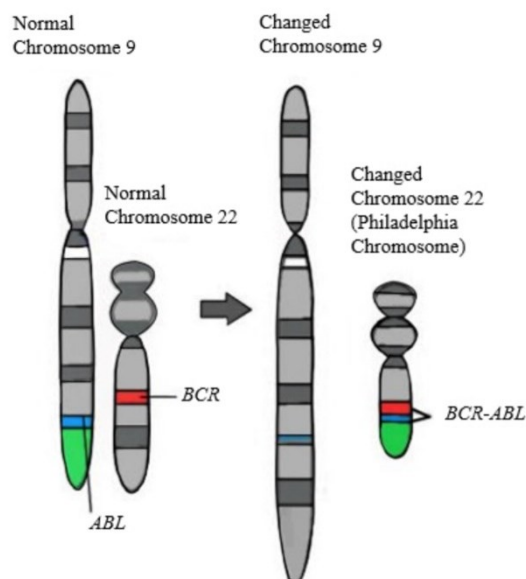
Reed-Sternbergových buněk, které jsou typické pro Hodgkinovy lymfomy. Tato onemocnění se mohou projevovat jako leukémie, kdy proliferace probíhá hlavně v kostní dřeni. Mohou se také projevovat jako lymfom, u kterého proliferující buňky tvoří mimokostní léze. Nádory se typicky vyskytují v lymfatických uzlinách, ale mohou se i vyskytovat kdekoli v těle, kde se nachází lymfatická tkáň. Při klasifikaci musíme brát v úvahu stadium lymfopoézy, a že se každý typ buněk může nacházet na různých místech, včetně kostní dřene, krve, sleziny, brzlíku nebo v zárodečných centrech lymfatických uzlin. Genetické mutace vyvolané IZ se mohou objevit v kterémkoli z předešlých zmíněných míst (*Harbron et al, 2020*).

Zejména NHL se hojně vyskytovaly u jaderných pracovníků a likvidátorů odpadů po jaderné katastrofě. Hlavně v případech chronické expozice nízkými dávkami IZ. Také ale případy tohoto onemocnění byly zaznamenány v Německu u pracovníků, kteří obsluhovali dekontaminované jaderná zařízení (*Schmitz Feuerhake et al, 2022*). Pro NHL jsou charakteristické chromozomální translokace. Tyto translokace pravděpodobně vznikají nepřesnou opravou a zpracováním DZ DNA (*Cerosaletti et al, 2002*).

4.5 Chronická myeloidní leukémie

CML je další a často se vyskytující leukémií po expozici IZ. Jedná se o klonální myeloproliferativní onemocnění, která byla jako první malignitou se specifickou chromozomální malignitou. Laboratorní nálezy tohoto onemocnění zahrnuje leukocytózu a častou mírnou anémii. Kostní dřev u postižených osob je hypercelulární a bez tuku. Můžeme také pozorovat zpoždění ve vyzrání buněk v myeloidním kompartmentu (*Quintás - Cardama et al, 2006*).

CML je hojně spojována s cytogenetickou abnormalitou, která je známá jako Filadelfský chromozom. Toto je jeden z hlavních markerů pro diagnostiku CML (*Amin et al, 2021*). Tento chromozom vzniká translokací genů *ABL* a *BCR*. Tato translokace vzniká mezi genem *ABL* na 9. chromozomu a genem *BCR* na 22. chromozomu (Obr. 10). Tato translokace byla nejčastěji zjištěna mezi lidmi, kteří byli vystaveni IZ (*Radivoyevitch et al, 2001*). Pro detekci se využívá jedna z nejcitlivějších technik metoda RT-PCR (*Amin et al, 2021*).



Obrázek 10: Vznik Filadelfského chromozomu (Upraveno dle Amin et al, 2021)

Ernst et al zkoumali prevalenci mutací u ukrajinských pacientů s CML. Celkem použili 25 krevních preparátů pacientů, kterým bylo toto onemocnění diagnostikováno mezi roky 2005–2017. Deset pacientů pracovalo po havárii v letech 1986–1988 jako likvidátoři v černobylské elektrárně. Zbýlých třináct pacientů byli obyvatelé země, která byla zamořena radiací. V době diagnózy byli pacienti ve stadiu chronické fáze CML a jejich věk byl 31-73 let. Analýza vzorků krve odhalila mutace u 65 % pacientů. Šest pacientů měli mutace v sestřihových oblastech genů. Kromě výše zmíněné translokace měli tito pacienti mutace v genech *BCOR*, *DNMT3A*, *STAG 2*, *ASXL1* a *CUX1*. U některých pacientů byly pozorovány mnohočetné mutace (Ernst et al, 2020).

5. VÝZKUM A LÉČBA AKUTNÍHO RADIAČNÍHO SYNDROMU

5.1 Výzkum účinků ionizujícího záření

Pro výzkum účinků záření se využívají hlodavci nebo primáti. Pro zjišťování časových změn v hladinách metabolitů lze použít sérum z uvedených zvířat. U myši vystavených ionizujícímu záření byla prokázána dysregulace sérových metabolitů, včetně lipidů a aminokyselin s rozvětveným řetězcem 24 hodin po expozici záření. Při nízké dlouhodobé dávce došlo ke snížení metabolismu lipidů u myši (*Crook et al, 2021*).

5.1.1 Výzkum karcinogeneze na myších

Výzkum karcinogeneze zahrnuje rozsáhlé testování, pro které se využívají zvířecí modely. Postupem času prošla laboratorní myš výrazným vývojem. Výzkumné laboratoře se zabývají genomem tohoto hlodavce a vyvíjejí přesné techniky. Moderní výzkum obsahuje xenograftové modely, které jsou kompatibilní s lidskými neoplastickými buňkami. Takto geneticky upravené myši mají schopnost plně reprezentovat patofyziologické rysy mnoha typů lidské rakoviny a umožňují sledovat přesnou cestu progresu karcinogeneze.

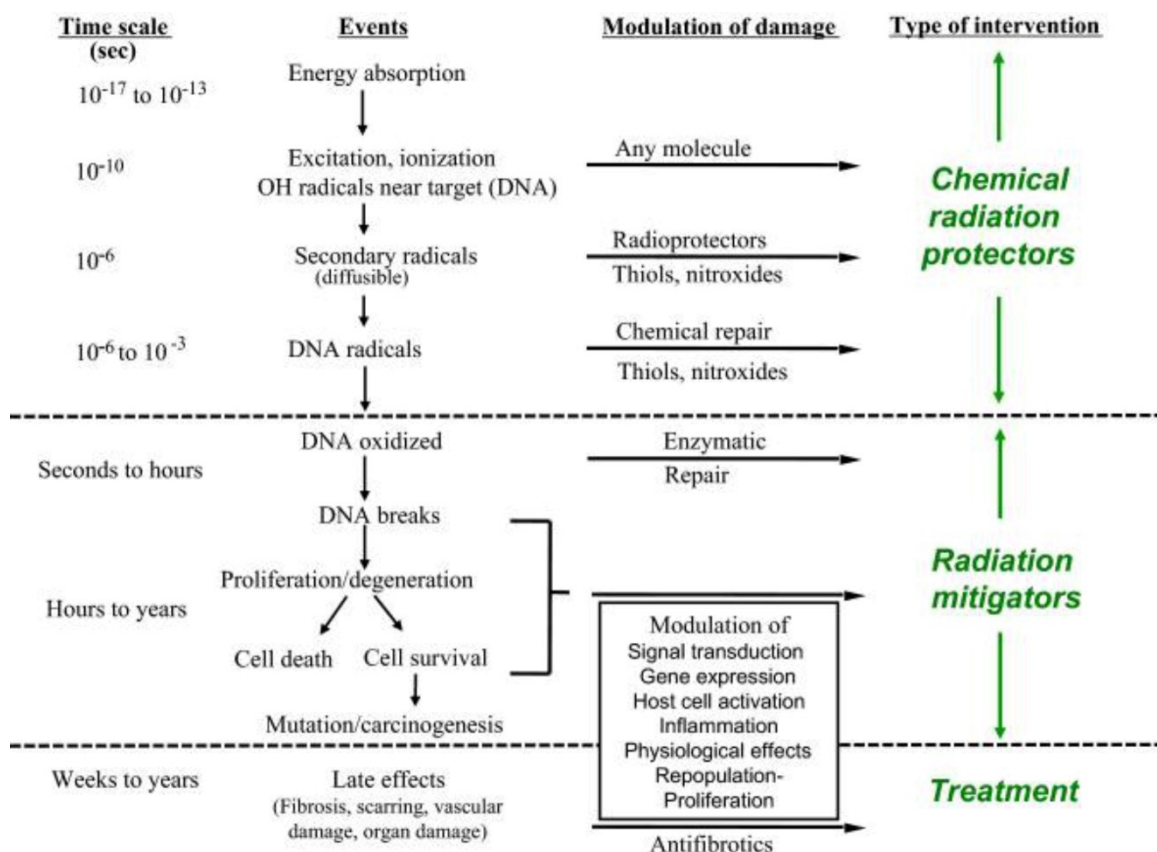
Nejvíce se však pro výzkum karcinogeneze využívají inbrední kmeny, které vznikají příbuzenským křížením a jsou geneticky shodné. Tyto kmeny jsou nejvíce využívány pro výzkum *in vivo*. Inbrední kmeny umožňují zkoumat nejrůznější mechanismy, včetně sledování vzniku mutací. Také jsou nepostradatelné při objevech onkogenů a nádorových supresorů.

Výzkum radiačně indukované myeloidní leukémie zahrnuje několik myších modelů, příkladem může být RF myš. U tohoto modelu je myeloidní leukémie indukována jednou dávkou ionizujícího záření. Také u tohoto modelu lze pozorovat delecii chromozomu a jiné genomové nestability. Dalším typickým modelem je CBA myš, která se hojně využívá pro výzkum radiačně indukované AML u lidí (*Rivina et al, 2014*).

5.2 Radiační protiopatření

Činidla, která se používají v rámci radiačních protiopatření, dělíme do tří tříd. Patří mezi ně radioprotektory, radiomitigátory a terapeutika (*Singh et al, 2019*). Pro popis účinků radioprotektorů a radiomitigátorů je důležité pochopení událostí, ke kterým dochází při ozáření tkání a buněk (Obr. 11). Radioprotektory vychytávají volné radikály a vykazují antioxidační aktivitu. Radiomitigátory jsou činidla, která zmírňují pozdní toxické účinky záření.

Radiomitigátory stimulují diferenciaci a proliferaci buněk a stimulují opravu DNA (Citrin *et al*, 2010). Americkým úřadem pro kontrolu potravin a léčiv byly schváleny pouze čtyři radiomitigátory. Avšak nebyla schválena žádná radioprotektivní činidla pro léčbu pacienta před akutním ozářením (Crook *et al*, 2021).



Obrázek 11: Účinky radioprotektorů a radiomitigátorů (Citrin *et al*, 2010)

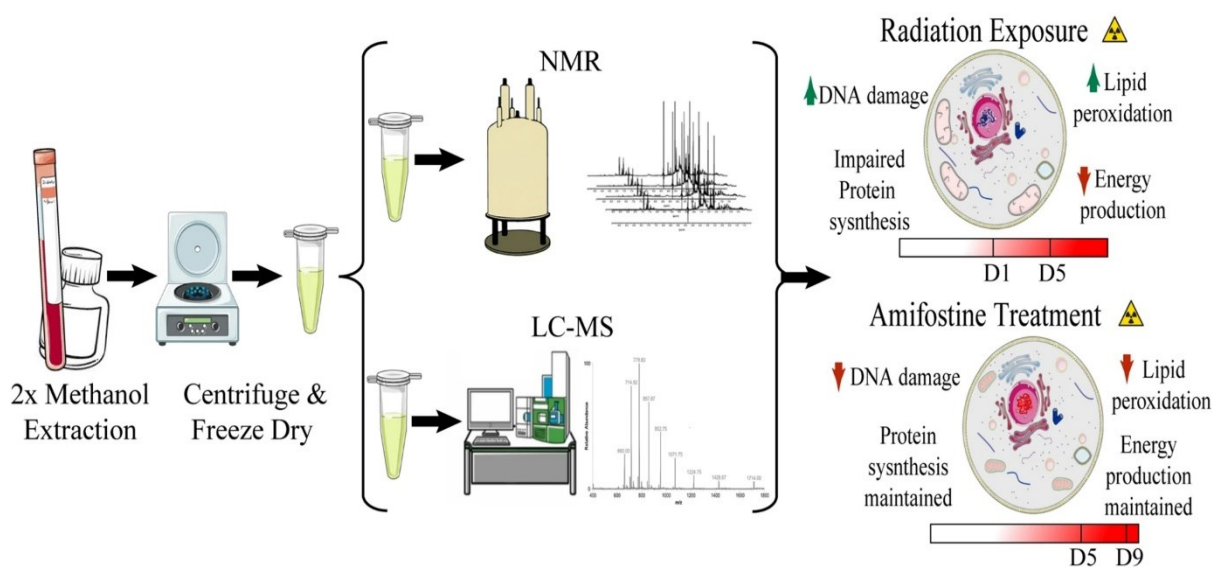
5.3 Léčba amifostinem

Amifostin je širokospektrální cytoprotektivní látka, která snižuje účinky akutní radiační expozice (Crook *et al*, 2021). Od orgánově specifických radioprotektiv se liší tím, že se používá ve vysokých dávkách. Nízké dávky této látky lze použít k radioochraně lidí, u kterých je riziko vystavení ionizujícímu záření. Jeho hlavní důležitá role je ochrana DNA a vylučování volných radikálů. Nevýhodou této látky je toxicita, která způsobuje poruchy horního a dolního dýchacího traktu. V poslední době je však ve snaze odborníků omezit jeho toxické účinky a zachovat radioprotektivní vlastnosti (Singh *et al*, 2019). Počáteční studie na zvířecích modelech ukázaly, že amifostin chrání zvířata před vysokými dávkami ionizujícího záření. Jako další látka s radioprotektivními účinky je například fosfonol, který má obdobné vedlejší účinky jako

amifostin. Od amifostinu se hlavně liší tím, že má efektivnější obranné účinky (Singh et al, 2019).

Studium prokázalo, že nízké dávky chrání hematopoetické progenitory v krvetvorných tkáních u myši. K ochraně hematopoetických orgánů stačí pouze 25 až 50 mg/kg amifostinu. Tato dávka stačí z důvodu, že zralé progenitory lépe reagují na nízké dávky než multipotenciální progenitory. Amifostin se dá použít v kombinaci s prostaglandinem E2. Prostaglandiny podporují přežití hematopoetických kmenových buněk (Singh et al, 2019).

Crook et al zkoumali účinky amifostinu na myších. Pro výzkum byly použity metody kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií a nukleární rezonanční spektroskopie. Výsledky ukázaly, že amifostin je účinným radioprotektivním činidlem. Amifostin snížil poškození DNA a peroxidaci lipidů (Obr. 12). Studie ukázala, že léčba amifostinem v dávce 50 mg/kg vedla ke 40% přežití 30 dnů po ozáření. Pro další výzkum bylo podáno 200 mg/kg amifostinu 30 minut před expozicí. Výsledkem bylo 100% přežití myši 30 dnů po ozáření (Crook et al, 2021).



Obrázek 12: Testování amifostinu (Crook et al, 2021)

(NMR-nukleární rezonanční spektroskopie, LC-MS-kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií)

ZÁVĚR

Cílem této práce bylo popsat základní principy působení ionizujícího záření na hematopoetický systém. Nejvíce jsou na ionizující záření citlivé kmenové buňky, které jsou při akutní nemoci z ozáření všechny zničeny. Doba projevu deficitu souvisí s životností krevních buněk.

Ionizující záření poškozuje hematopoetické kmenové buňky dvěma způsoby, a to přímým a nepřímým. Při přímém účinku ionizující záření bezprostředně poškozuje DNA. Při nepřímém účinku dochází ke tvorbě volných radikálů, které jsou vysoce reaktivní a reagují s DNA. Ionizující záření způsobuje několik druhů poškození DNA, z nichž jsou nejvíce závažné dvouřetězcové zlomy. Poškození DNA se časem hromadí v jádrech myeloidních a lymfoidních progenitorů, které nakonec vedou ke vzniku rakoviny. Důležitou roli při poškození DNA hraje proteinkináza ataxie telangiektázie. Tato proteinkináza se zejména podílí na fosforylaci p53, což má za následek zastavení buněčného cyklu, senescenci a apoptózu. Zásadní roli při poškození DNA hrají opravné mechanismy, mezi které patří homologní rekombinace a nehomologická oprava.

Pro rozvoj malignit je nezbytná akumulace onkogenních mutací, než dojde k neoplastické transformaci. Důležitým aspektem, přispívající ke vzniku maligních změn, je tvorba fúzních genů. Působením ionizujícího záření dochází i k poškození neozářených buněk. Tento jev se nazývá *Bystander* efekt. Posledním rizikem vzniku maligních změn je klonální hematopoéza.

Ionizující záření způsobuje velkou škálu hematologických malignit. Nejčastější leukémií, která se vyskytovala po bombardování v Hirošimě a Nagasaki je akutní myeloidní leukémie s translokací t (8;21) (q22;q22). Výsledkem této translokace je nový chimérický gen *RUNX-RUNX1T1*. Akutní myeloidní leukemii se klinicky velmi podobá myelodysplastický syndrom, který bývá často označován jako pre-leukemie. Mezi další hematologické malignity způsobené ionizujícím záření patří mnohočetný myelom a lymfomy. Poslední zmíněnou leukémií je chronická myeloidní leukemie, pro kterou je typická cytogenetická abnormalita Filadelfský chromozom.

Pro výzkum účinků ionizujícího záření se používají hlodavci nebo primáti. Výzkum karcinogeneze používá inbrední kmeny, které jsou nejvíce využívány pro výzkum *in vivo*. Činidla, která se využívají pro radiační protipatření jsou radioprotektory, radiomitigátory a terapeutika. Pro léčbu akutního radiačního syndromu lze zvolit amifostin, což je širokospektrální cytoprotektivní látka.

POUŽITÁ LITERATURA

1. ACHEAMPONG DO, ADOKOH CHK, ASANTE DB et al.: Immunotherapy for acute myeloid leukemia (AML): a potent alternative therapy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. **2018**, 97, 225-232.
2. AL BAHAR S, ADRIANA Z, PANDITA R: A novel variant translocation t (6; 8; 21) (p22; q22; q22) leading to AML/ETO fusion in acute myeloid leukemia. *Gulf Journal of Oncology*. **2009**, 5, 56-59.
3. AMBROSE M a GATTI RA: Pathogenesis of ataxia-telangiectasia: the next generation of ATM functions. *Blood*. **2013**, 121(20), 4036-4045.
4. AL-HARBI S, ALJURF M, MOHTY M et al.: An update on the molecular pathogenesis and potential therapeutic targeting of AML with t(8;21)(q22;q22.1);RUNX1-RUNX1T1. *Blood Advances*. **2020**, 4(1), 229-238.
5. AMIN H a AHMED S: Characteristics of BCR–ABL gene variants in patients of chronic myeloid leukemia. *Open Medicine*. **2021**, 16(1), 904-912.
6. ANJOS RM, VEIGA R, CARVALHO C et al.: Natural sources of radiation exposure and the teaching of radioecology. *Physics Education*. **2008**, 43(4), 423-428.
7. BHATTACHARYA R a BICK AG: Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential: an Expanding Genetic Cause of Cardiovascular Disease. *Current Atherosclerosis Reports*. **2021**, 23(11), 2-12.
8. BLEBEA JS, HOUSENI M, TORIGIAN DA et al.: Structural and Functional Imaging of Normal Bone Marrow and Evaluation of Its Age-Related Changes. *Seminars in Nuclear Medicine*. **2007**, 37(3), 185-194.
9. BROWN KR a RZUCIDLO E: Acute and chronic radiation injury. *Journal of Vascular Surgery*. **2011**, 53(1), 15-21.
10. CEROSALETTI KM, MORRISON VA, SABATH DE et al.: Mutations and molecular variants of the NBS1 gene in non-Hodgkin lymphoma. *Genes, Chromosomes and Cancer*. **2002**, 35(3), 282-286.
11. CITRIN D, COTRIM AP, HYODO F et al.: Radioprotectors and Mitigators of Radiation-Induced Normal Tissue Injury. *The Oncologist*. **2010**, 15(4), 360-371.
12. COSSET, JM: Effets secondaires des rayonnements sur les tissus sains et organes à risque. *Cancer/Radiothérapie*. **2010**, 14(4-5), 228-231.

13. CROOK A, DE LIMA LEITE A, PAYNE T et al.: Radiation exposure induces cross-species temporal metabolic changes that are mitigated in mice by amifostine. *Scientific Reports*. **2021**, 11(1), 14004.
14. DE SANCTIS E, MONTI S, RIPANI M: Radioactivity and Penetrating Power of Nuclear Radiation. In: DE SANCTIS, Enzo, Stefano MONTI a Marco RIPANI. *Energy from Nuclear Fission*. Cham: Springer International Publishing, **2016**, 39-87. ISBN 978-3-319-30649-0.
15. DESOUKY O, DING N, ZHOU G: Targeted and non-targeted effects of ionizing radiation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. **2015**, 8(2), 247-254.
16. DONYA M, RADFORD M, ELGUINDY A et al.: Radiation in medicine: Origins, risks and aspirations. *Global Cardiology Science and Practice*. **2014**, 2014(4), 437-448.
17. ERNST T, RINKE J, HAGEN J et al.: Molecular-defined clonal evolution in patients with chronic myeloid leukemia who were exposed to ionizing radiation following the Chernobyl nuclear disaster. *Leukemia*. **2020**, 34(2), 645-650.
18. GENOVESE G, KÄHLER AK, HANDSAKER RE et al.: Clonal Hematopoiesis and Blood-Cancer Risk Inferred from Blood DNA Sequence. *New England Journal of Medicine*. **2014**, 371(26), 2477-2487.
19. GU S, SZAFRANSKI P, AKDEMIR ZC et al.: Mechanisms for Complex Chromosomal Insertions. *PLOS Genetics*. **2016**, 12(11), 1006446.
20. HAVRÁNKOVÁ R: Biologické účinky ionizujícího záření. *Časopis lékařů českých*. **2020**, 159, 258-260.
21. HARADA H, HARADA Y, TANAKA H et al.: Implications of somatic mutations in the AML1 gene in radiation-associated and therapy-related myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukemia. *Blood*. **2003**, 101(2), 673-680.
22. HARADA Y a HARADA H: Molecular mechanisms that produce secondary MDS/AML by RUNX1/AML1 point mutations. *Journal of Cellular Biochemistry*. **2011**, 112(2), 425-432.
23. HARBRON RW a PASQUAL E: Ionising radiation as a risk factor for lymphoma: a review. *Journal of Radiological Protection*. **2020**, 40(4), 151-185.
24. HU L, YIN X, ZHANG Y et al.: Radiation-induced bystander effects impair transplanted human hematopoietic stem cells via oxidative DNA damage. *Blood*. **2021**, 137(24), 3339-3350.
25. HU N, ZOU L, WANG CH, SONG G: RUNX1T1 function in cell fate. *Stem Cell Research & Therapy*. **2022**, 13(1), 369.

26. HSU WL, PRESTON DL, SODA M et al.: The Incidence of Leukemia, Lymphoma and Multiple Myeloma among Atomic Bomb Survivors: 1950–2001. *Radiation Research*. **2013**, 179(3), 361-382.
27. CHRISTENSEN DM, IDDINS CJ, SUGARMAN SL: Ionizing Radiation Injuries and Illnesses. *Emergency Medicine Clinics of North America*. **2014**, 32(1), 245-265.
28. IWANAGA M, HSU WL, SODA M et al.: Risk of Myelodysplastic Syndromes in People Exposed to Ionizing Radiation: A Retrospective Cohort Study of Nagasaki Atomic Bomb Survivors. *Journal of Clinical Oncology*. **2011**, 29(4), 428-434.
29. KAMIYA K, OZASA K, AKIBA S et al.: Long-term effects of radiation exposure on health. *The Lancet*. **2015**, 386(9992), 469-478.
30. KOSIK P, SKORVAGA M, BELYAEV I: Preleukemic Fusion Genes Induced via Ionizing Radiation. *International Journal of Molecular Sciences*. **2023**, 24(7), 6580.
31. KUNA P a NAVRÁTIL L: *Klinická radiobiologie*. Praha: Manus, **2005**, 9-11. ISBN 80 - 86571-09-2.
32. LAM K a ZHANG DE: RUNX1 and RUNX1-ETO: roles in hematopoiesis and leukemogenesis. *Frontiers in Bioscience (Landmark edition)*. **2012**, 17(1), 1120-1139.
33. LINDSLEY RC, MAR BG, MAZZOLA E et al.: Acute myeloid leukemia ontogeny is defined by distinct somatic mutations. *Blood*. **2015**, 125(9), 1367-1376.
34. LIU Y, LIU B, GU Y et al.: Gamma radiation shielding property of continuous fiber reinforced epoxy matrix composite containing functional filler using Monte Carlo simulation. *Nuclear Materials and Energy*. **2022**, 33, 101246.
35. MACIÀ I GARAU M, LUCAS CALDUCH A, LÓPEZ EC. Radiobiology of the acute radiation syndrome. *Reports of Practical Oncology & Radiotherapy*. **2011**, 16(4), 123-130.
36. MARUSYK A, PORTER CHC, Vadym ZABEREZHNYI V et al.: Irradiation Selects for p53-Deficient Hematopoietic Progenitors. *PLOS Biology*. **2010**, 8(3), 1000324.
37. MEHTA SR, SUHAG V, SEMWAL M et al.: Radiotherapy: Basic Concepts and Recent Advances. *Medical Journal Armed Forces India*. **2010**, 66(2), 158-162.
38. MOHRIN M, BOURKE E, ALEXANDER D et al.: Hematopoietic Stem Cell Quiescence Promotes Error-Prone DNA Repair and Mutagenesis. *Cell Stem Cell*. **2010**, 7(2), 174-185.
39. NAKA K a HIRAO A: Maintenance of genomic integrity in hematopoietic stem cells. *International Journal of Hematology*. **2011**, 93(4), 434-439.
40. NAKASHIMA J, DUONG H: Radiation Physics. 2021 May 8. In: StatPearls [internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 32119402.

41. NIEDERNHOFER LJ: DNA repair is crucial for maintaining hematopoietic stem cell function. *DNA Repair*. **2008**, 7(3), 523-529.
42. PAJONK F a VLASHI E: Characterization of the Stem Cell Niche and Its Importance in Radiobiological Response. *Seminars in Radiation Oncology*. **2013**, 23(4), 237-241.
43. PESLAK SA, WENGER J, BEMIS JC et al.: Sublethal radiation injury uncovers a functional transition during erythroid maturation. *Experimental Hematology*. **2011**, 39(4), 434-445.
44. PREUDHOMME C, SAGOT CH, BOISSEL N et al.: Favorable prognostic significance of CEBPA mutations in patients with de novo acute myeloid leukemia: a study from the Acute Leukemia French Association (ALFA). *Blood*. **2002**, 100(8), 2717-2723.
45. QUINTÁS-CARDAMA A a CORTES JE: Chronic Myeloid Leukemia: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clinic Proceedings*. **2006**, 81(7), 973-988.
46. RADIVOYEVITCH T, KOZUBEK S, SACHS RK: Biologically based risk estimation for radiation-induced CML. *Radiation and Environmental Biophysics*. **2001**, 40(1), 1-9.
47. RIVINA L, DAVOREN M, SCHIESTL RH: Radiation-induced myeloid leukemia in murine models. *Human Genomics*. **2014**, 8(1), 13.
48. ROUDAIA L, CHENEY MD, MANUYLOVA E et al.: CBF β is critical for AML1-ETO and TEL-AML1 activity. *Blood*. **2009**, 113(13), 3070-3079.
49. RUBNITZ JE, GIBSON B, SMITH FO: Acute Myeloid Leukemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America*. **2010**, 24(1), 35-63.
50. SANCAR A, LINDSEY-BOLTZ LA, ÜNSAL-KAÇMAZ K, LINN S: Molecular Mechanisms of Mammalian DNA Repair and the DNA Damage Checkpoints. *Annual Review of Biochemistry*. **2004**, 73(1), 39-85.
51. SHAO L, LI H, PAZHANISAMY SK et al.: Reactive oxygen species and hematopoietic stem cell senescence. *International Journal of Hematology*. **2011**, 94(1), 24-32.
52. SHAO L, LUO Y, ZHOU D: Hematopoietic Stem Cell Injury Induced by Ionizing Radiation. *Antioxidants & Redox Signaling*. **2014**, 20(9), 1447-1462.
53. SCHMITZ-FEUERHAKE I, FRENTZEL-BEYME R, WOLFF R: Non-Hodgkin lymphomas and ionizing radiation: case report and review of the literature. *Annals of Hematology*. **2022**, 101(2), 243-250.
54. SINGH VK a SEED TM: The efficacy and safety of amifostine for the acute radiation syndrome. *Expert Opinion on Drug Safety*. **2019**, 18(11), 1077-1090.

55. SMITH D, MANN D, YONG K: Cyclin D type does not influence cell cycle response to DNA damage caused by ionizing radiation in multiple myeloma tumours. *British Journal of Haematology*. **2016**, 173(5), 693-704.
56. SOVANI V: Normal bone marrow, its structure and function. *Diagnostic Histopathology. Toxicologic Pathology*. **2021**, 27(9), 349-356.
57. TONNESSEN BH a POUNDS L: Radiation physics. *Journal of Vascular Surgery*. **2011**, 53(1), 6-8.
58. TRAVLOS GS: Normal Structure, Function, and Histology of the Bone Marrow. *Toxicologic Pathology*. **2006**, 34(5), 548-565.
59. TSUSHIMA H, IWANAGA M, MIYAZAKI Y: Late effect of Atomic bomb radiation on myeloid disorders: leukemia and myelodysplastic syndromes. *International Journal of Hematology*. **2012**, 95(3), 232-238.
60. WANG CH a LEES-MILLER SP: Detection and Repair of Ionizing Radiation-Induced DNA Double Strand Breaks: New Developments in Nonhomologous End Joining. *International Journal of Radiation Oncology*Biology*Physics*. **2013**, 86(3), 440-449.
61. WANG H, MU X, HE H et al.: Cancer Radiosensitizers. *Trends in Pharmacological Sciences*. **2018**, 39(1), 24-48.
62. WANG J, SUN Q, MORITA Y et al.: A Differentiation Checkpoint Limits Hematopoietic Stem Cell Self-Renewal in Response to DNA Damage. *Cell*. **2012**, 148(5), 1001-1014.
63. WECKSELBLATT B a RUDD MK: Human Structural Variation: Mechanisms of Chromosome Rearrangements. *Trends in Genetics*. **2015**, 31(10), 587-599.
64. WEISS CN a ITO K: DNA damage response, redox status and hematopoiesis. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. **2014**, 52(1), 12-18.
65. WELSH JS: Beta Radiation. *The Oncologist*. **2006**, 11(2), 181-183.
66. YAMAMOTO H a HIRASAWA A: Homologous Recombination Deficiencies and Hereditary Tumors. *International Journal of Molecular Sciences*. **2022**, 23(1), 348.
67. YOKOTA A, HUO L, LAN F et al.: The Clinical, Molecular, and Mechanistic Basis of RUNX1 Mutations Identified in Hematological Malignancies. *Molecules and cells*. **2020**, 43(2), 145–152.