Корисна модель належить до біологічної дозиметрії, радіобіології та радіаційної медицини і може бути використана для оцінки поглиненої дози опромінення різних біологічних об'єктів та виявлення впливу гамма-опромінення на молекулярному рівні.

Відомий спосіб реєстрації опромінення (Модель сплайнової регресії і урахування індивідуальної радіаційної чутливості людини для реконструкції дози опромінення по хромосомних аберациях / Дьоміна Е.А., Демченко О.М., Михайленко В.М., Петунін Ю.І., Савкіна М.Ю. // Патент України 46933. - 11.01.2010), згідно з яким визначають індивідуальну радіаційну чутливість людини з використанням моделі лінійної сплайнової регресії по хромосомних аберациях при зіставленні зі стандартними калібрувальними кривими. Однак цей спосіб має ряд недоліків, пов'язаних з великим обсягом ручної праці та затратами часу.

Відомий спосіб (Method for measuring radiation intensity / Liu Y.-h., Chen J.-f., He J., Hsiao M.-c. // U.S. Patent 11561308. - 24.01.2023) включає вимірювання інтенсивності випромінювання, отриманого білком у полі випромінювання на основі ступеня деградації, де ступінь деградації є відношенням молекулярної маси білка до і після опромінення, що дозволяє оцінити дозу нейтронів. Проте цей спосіб неефективний при низьких рівнях доз, так як при дозах менше 1-10 Гр ступінь фрагментації білків недостатня, щоб виявити зміну маси фрагментованого білка.

Найближчим аналогом до корисної моделі є спосіб реєстрації дози опромінення шляхом визначення розмірів біомолекул у неопроміненому та опроміненому розчинах методом динамічного розсіювання світла (ДРС) (Spectroscopic study of gamma irradiation effect on the molecular structure of bovine serum albumin / Zarei H., Bahreinipour M., Eskandari K., Zarandi S.-A.M., Ardestani S.K. // Vacuum. - 2017. - V. 136. - P. 91-96).

Цей спосіб передбачає формування розчину з досліджуваним біополімером та вимірювання параметрів біологічного об'єкта за допомогою апарату ДРС. Дані інтенсивності розсіювання обробляють за допомогою інструментального програмного забезпечення для отримання гідродинамічного діаметру і розподілу зразка за розміром. Даний спосіб не має достатньої роздільної здатності в інтервалі доз опромінення до 1 Гр.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалити спосіб реєстрації дози опромінення шляхом непараметричного аналізу статистичних розподілів корелограм ДРС та їхніх скінченних різниць, що дозволяє підвищити чутливість визначення відмінностей між зразками біомолекул у розчинах, опромінених у різних дозах.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб оцінки дози опромінення біологічної рідини, який включає формування розчину, опромінення дозою, вимірювання параметрів біологічного об'єкта за допомогою апарата динамічного розсіювання світла, згідно з корисною моделлю, оцінку тестової дози опромінення здійснюють шляхом визначення найближчої калібрувальної дози за рахунок порівняння відстаней статистичних розподілів між відповідними групами корелограм, а також їхніх скінченних різниць, інтерпретованих як точки у багатовимірному просторі.

Однією з основних характеристик, яку отримують методом ДРС, є гідродинамічний діаметр молекули у розчині. Однак ця характеристика є похідною від автокореляційної функції інтенсивності розсіювання. Тому ряд досліджень базується на аналізі корелограм, отриманих методом ДРС (Activation Energy for Dissociation of Hydrogen-Bonding Crosslinkers in Phase-Change Salogels: Dynamic Light Scattering versus Rheological Studies / Karimineghlani P., Sukhishvili S.A. // Macromol. Chem. Phys. - 2019. - V. 220. - N. 22. - 1900329).

Навіть у випадках, коли результати досліджень мають значну природну мінливість (наприклад, корелограми для однакової дози опромінення можуть варіюватися у певних межах), між розподілами корелограм для різних доз все ж можуть існувати статистичні відмінності. Ці розподіли можна представити як хмари точок у багатовимірному просторі, де кожна точка відповідає певному об'єкту (конкретній корелограмі, її скінченній різниці, тощо), а відстань між кожною парою точок кількісно характеризує міру розбіжності між відповідними об'єктами. Їх також можна представити як емпіричні розподіли ймовірностей, розбіжність між якими можна кількісно оцінити за допомогою статистичних відстаней, як, наприклад, за допомогою метрики Васерштейна (відстань землекопа) (A metric for distributions with applications to image databases / Rubner Y., Tomasi C., Guibas L.J. // Proc. 6th Int. Conf. Comput. Vis., Bombay, India. - 1998. - P. 59-66).

Відомо, що вплив доз гамма-радіації, близьких до терапевтичних (Spectroscopic study of gamma irradiation effect on the molecular structure of bovine serum albumin / Zarei H., Bahreinipour M., Eskandari K., Zarandi S.-A.M., Ardestani S.K. // Vacuum. - 2017. - V. 136. - P. 91-96), може призводити до структурних змін макромолекул і агрегації поліпептидного ланцюга.

Однак такі чутливі методи, як спектроскопія поглинання та флуоресценції, показують, що для спектру поглинання відмінність між 1 Гр і контролем практично відсутня, а для флуоресценції різниця на рівні стандартного відхилення (Effect of gamma-irradiation of bovine serum albumin solution on the formation of zigzag film textures / Glibitskiy D.M., Gorobchenko O.A., Nikolov O.T., Cheipesh T.A., Roshal A.D., Zibarov A.M., Shestopalova A.V., Semenov M.A., Glibitskiy G.M. // Rad. Phys. Chem. - 2018. - V. 144. - P. 231-237).

Сутність корисної моделі пояснюють креслення, на яких зображено: на фіг. 1-4, наведені для розчину бичачого сироваткового альбуміну (БСА) фірми "DiaM".

На фіг. 1 наведено приклад корелограм, на фіг. 2 - скінчені різниці $CK_{y(x)}$ корелограм; скороченнями HI та PHI на осях позначаються нормалізована інтенсивність та скінченна різниця нормалізованих інтенсивностей відповідно.

$$CK_{y(x)} = \frac{y(x_{j+1}) - y(x_j)}{x_{j+1} - x_j}, \quad (1)$$

$$HI_j = \frac{K_j}{K_{max}}, \quad (2)$$

$$PHI_j = \frac{HI_{j+1} - HI_j}{t_{j+1} - t_j}, \quad (3)$$

де

K_j - значення корелограми для відліку j,

K_{max} - максимальне значення корелограми,

t - час, j - індекс відповідного дискретного відліку.

На фіг. 3 і 4 наведені тривимірні апроксимації методом MultiDimensional Scaling (MDS) відстані між корелограмами, та скінченними різницями корелограм, відповідно.

Як можна бачити, на фіг. 1 і 2 значення HI та PHI на певних ділянках залежностей для конкретної дози у середньому відрізняються від відповідних ділянок для інших доз. З фіг. 3 і 4 можна бачити, що дози формують "кластери", які певною мірою знаходяться поруч або відокремлені від "кластерів" інших доз. Для усіх цих кластерів інтервали передбачення перекриваються, але точки всередині того чи іншого кластеру в середньому ближче до інших точок того ж кластеру ніж до точок інших кластерів.

Формують розчини із зразків біополімерів, отриманих різними способами.

Для кожного з цих розчинів отримують ДРС-корелограми для калібрувальних доз, причому проміжки часу між опроміненням та вимірами корелограм можуть бути вибрані достатніми для мінімізації впливу пост-радіаційного ефекту (5-10 хвилин).

Розраховують скінченні різниці для корелограм.

Для кожного зразка біополімера, тестовий розчин опромінюють певною дозою іонізуючого опромінення і аналогічним чином отримують ДРС-корелограми та розраховують їхні скінченні різниці.

Розраховують попарні відстані між усіма отриманими корелограмами (а також скінченними різницями), наприклад, за формулою:

$$d_{i,j} = \sum_t \left| f_i(t) - g_j(t) \right|, \quad (4)$$

де $f_i(t)$ - корелограма (або її скінченна різниця) для тестового зразка i, $g_j(t)$ - корелограма (або її скінченна різниця) для калібрувального зразка j.

Для кожного зразка біополімера розраховують статистичні відстані SD (наприклад, відстані Васерштейна) для кожної комбінації тестового та калібрувального розподілів корелограм, і аналогічно для комбінацій розподілів їхніх скінченних різниць. Якщо не для всіх біополімерів є дані щодо певних калібрувальних доз, то відповідні комірки таблиці залишають порожніми. Загальний вигляд отриманого у результаті набору даних проілюстрований у Табл. 1:

Таблиця 1

Матриця статистичних відстаней

	Калібрувальна доза А	Калібрувальна доза Б	*
Корелограми зразка біополімера 1	Статистична відстань між розподілами корелограм для тестового розчину і калібрувального розчину дози А зразка біополімера 1	Статистична відстань між розподілами корелограм для тестового розчину і калібрувального розчину дози Б зразка біополімера 1	…
Скінченні різниці зразка біополімера 1	Статистична відстань між розподілами скінченних різниць для тестового розчину і калібрувального розчину дози А зразка біополімера 1	Статистична відстань між розподілами скінченних різниць для тестового розчину і калібрувального розчину дози Б зразка біополімера 1	…
… (відповідно для інших зразків біополімера)	…	…	…

* інші калібрувальні дози

Для кожного рядка таблиці формують набір попарних порівнянь між наявними дозами, де доза X має перевагу над дозою Y якщо $SD_X < SD_Y$.

За результатами усіх порівнянь розраховують рейтинг калібрувальних доз методом ранжування на основі попарних порівнянь - наприклад, з використанням моделі Бредлі-Террі (MM algorithms for generalized Bradley-Terry models / Hunter D.R. // Ann. Statist. - 2004. - V. 32. - N. 1. - P. 384–406) або AccuRATE (A Hybrid Approach to Predicting Sports Results and an AccuRATE Rating System / Kyriakides G., Talattinis K., Stephanides G. // Int. J. Appl. Comput. Math. - 2017. - V. 3. - N. 1. - P. 239–254). Калібрувальну дозу, для якої рейтинг виявився найвищим, вважають найближчою серед калібрувальних доз до тестової дози.

Приклади здійснення.

1. Приклад здійснення способу, що запропонований. Для оцінки доз опромінення використовувався розчин бичачого сироваткового альбуміну (БСА) з концентрацією 10 мг/мл у присутності 20 мМ NaCl. Було використано 3 зразки білка: БСА від "DiaM", США (нефільтрований) - біополімер 1; БСА від "Sigma-Aldrich", США (ліофілізований, >=99 %, нефільтрований) - біополімер 2; БСА від "Sigma-Aldrich", США (ліофілізований, >=99 %, фільтрований) - біополімер 3.

Набір корелограм для відомих доз розділявся на дві рівні групи ("калібрувальна" та "тестова") для 1000 випадкових варіантів розділення. Приклад матриці статистичних відстаней для одного такого розділення (для "тестового" розподілу, сформованого з корелограм, отриманих для дози 0,3 Гр) наведено у Табл. 2.

Таблиця 2

Приклад матриці статистичних відстаней

	0 Гр	0,3 Гр	0,6 Гр	1 Гр
Корелограми зразка біополімера 1	181,7	259,6	417,3	298,5
Скінченні різниці зразка біополімера 1	184,5	229,3	402,4	372,2
Корелограми зразка біополімера 2	132,8	91,1	133,3	
Скінченні різниці зразка біополімера 2	132,6	80,5	131,6	
Корелограми зразка біополімера 3	413,5	107,1	403,4	179,1
Скінченні різниці зразка біополімера 3	411,8	113,6	418,9	171,2

Попарні порівняння для Табл. 2 наведені у Табл. 3.

Таблиця 3

Приклад попарних порівнянь між калібрувальними дозами

	Результати порівнянь
Корелограми зразка біополімера 1	($SD_0<SD_{0,3}$), ($SD_0<SD_{0,6}$), ($SD_0<SD_1$), ($SD_{0,3}<SD_{0,6}$), ($SD_{0,3}<SD_1$), ($SD_1<SD_{0,6}$)
Скінченні різниці зразка біополімера 1	($SD_0<SD_{0,3}$), ($SD_0<SD_{0,6}$), ($SD_0<SD_1$), ($SD_{0,3}<SD_{0,6}$), ($SD_{0,3}<SD_1$), ($SD_1<SD_{0,6}$)
Корелограми зразка біополімера 2	($SD_0<SD_{0,6}$), ($SD_{0,3}<SD_0$), ($SD_{0,3}<SD_{0,6}$)
Скінченні різниці зразка біополімера 2	($SD_{0,3}<SD_0$), ($SD_{0,3}<SD_{0,6}$), ($SD_{0,6}<SD_0$)
Корелограми зразка біополімера 3	($SD_{0,3}<SD_0$), ($SD_{0,3}<SD_{0,6}$), ($SD_{0,3}<SD_1$), ($SD_{0,6}<SD_0$), ($SD_1<SD_0$), ($SD_1<SD_{0,6}$)
Скінченні різниці зразка біополімера 3	($SD_0<SD_{0,6}$), ($SD_{0,3}<SD_0$), ($SD_{0,3}<SD_{0,6}$), ($SD_{0,3}<SD_1$), ($SD_1<SD_0$), ($SD_1<SD_{0,6}$)

Приклад рейтингу, розрахованого методом AccuRATE за даними Табл. 3 наведено у Табл. 4.

Таблиця 4

Рейтинг калібрувальних доз, розрахований методом AccuRATE

	0 Гр	0,3 Гр	0,6 Гр	1 Гр

Результат усереднення	-5,5	4,4	-14,0	-3,3

Найвище значення рейтингу знаходиться у стовпчику для 0,3 Гр, і, відповідно, робиться висновок, що ця калібрувальна доза є найближчою до тестової.

Щоб перевірити застосовність способу, який описано вище у прикладі, проведено аналіз визначення найближчої дози для різних варіацій тестових розподілів. Якщо узагальнити результати для 1000 випадкових варіантів розділень, то (у припущенні, що додаткові експерименти з тими ж розчинами будуть мати такі самі статистичні властивості розподілів корелограм) можна оцінити ймовірність зробити правильну або неправильну оцінку дози. Приклад таких ймовірностей наведений у Табл. 5.

Таблиця 5

Ймовірність визначення "калібрувальних" розподілів (стовпчики) як найближчих до "тестових" розподілів (рядки) при розділенні корелограм на дві групи

	0,0 Гр	0,3 Гр	0,6 Гр	1,0 Гр
0,0 Гр	82 %	11 %	1 %	6 %
0,3 Гр	8 %	87 %	1 %	4 %
0,6 Гр	0 %	0 %	96 %	4 %
1,0 Гр	3 %	10 %	0 %	86 %

Загальна кількість корелограм для кожної дози становила в інтервалі від 30 до 34. Тобто, при використанні лише половини з них як "калібрувальної" групи, мінімальна ймовірність правильного визначення дози становила 82 % (і в середньому 88 %).

Втім, при збільшенні розміру вибірки можна очікувати, що ймовірність правильного визначення найближчого калібрувального розподілу буде збільшуватися. Щоб перевірити це припущення, була розрахована аналогічна оцінка для повного набору експериментальних корелограм як "калібрувальних" розподілів, і використання синтетичних корелограм "тестових" розподілів (згенерованих методом інтерполяції корелограм відповідної дози з випадковими вагами). Розраховані таким чином ймовірності (усереднені по 1000 синтетичним варіаціям) наведені у Табл. 6.

Таблиця 6

Ймовірність визначення "калібрувальних" розподілів (стовпчики) як найближчих до "тестових" розподілів (рядки) при порівнянні синтетичних розподілів з експериментальними

	0,0 Гр	0,3 Гр	0,6 Гр	1,0 Гр
0,0 Гр	93 %	4 %	1 %	3 %
0,3 Гр	0 %	100 %	0 %	0 %
0,6 Гр	0 %	0 %	100 %	0 %
1,0 Гр	0 %	1 %	3 %	96 %

Результати цих розрахунків вказують на те, що збільшення розміру вибірки може суттєво підвищити ймовірність правильного визначення дози. Тому можна очікувати, що при достатньо малому дозовому інтервалі калібрувальних розподілів та достатньо великій кількості корелограм у тестовій та калібрувальних групах, ймовірність правильно визначити найближчу дозу буде наближатися до 100 %.

2. Приклад здійснення способу, наведеного у аналогу.

Для порівняння зі способом, описаним у аналогу, було розраховано середнє значення d та стандартне відхилення σ гідродинамічних діаметрів молекул БСА при об'єднанні даних усіх біополімерів (Табл. 7).

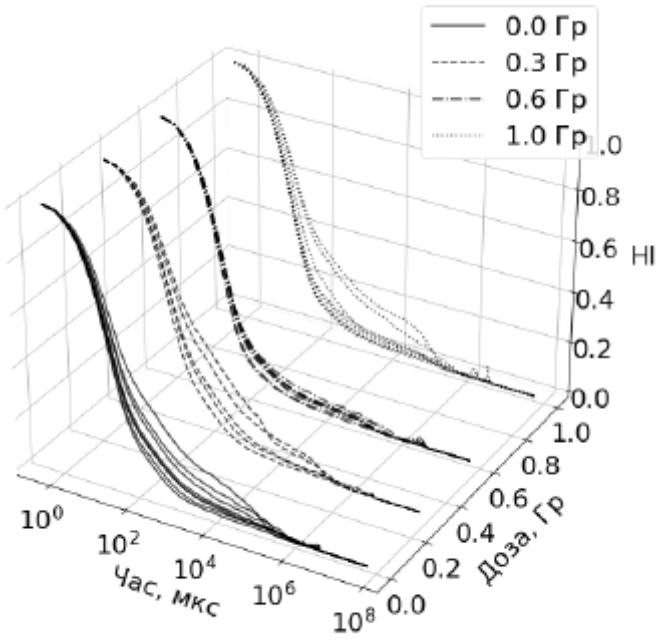
Таблиця 7

Гідродинамічні діаметри молекул БСА

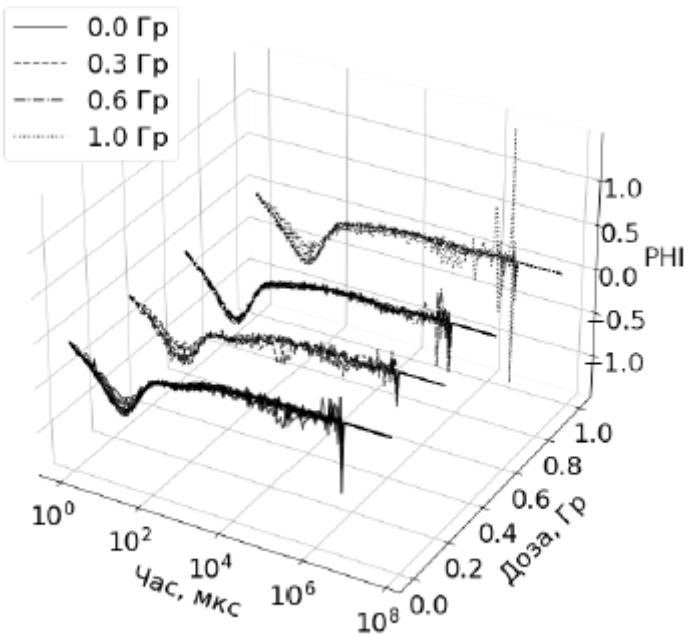
	d, nm	σ, nm
0,0 Гр	8,7	0,9
0,3 Гр	8,2	0,7
0,6 Гр	8,6	0,6

1,0 Гр	8,0	0,6

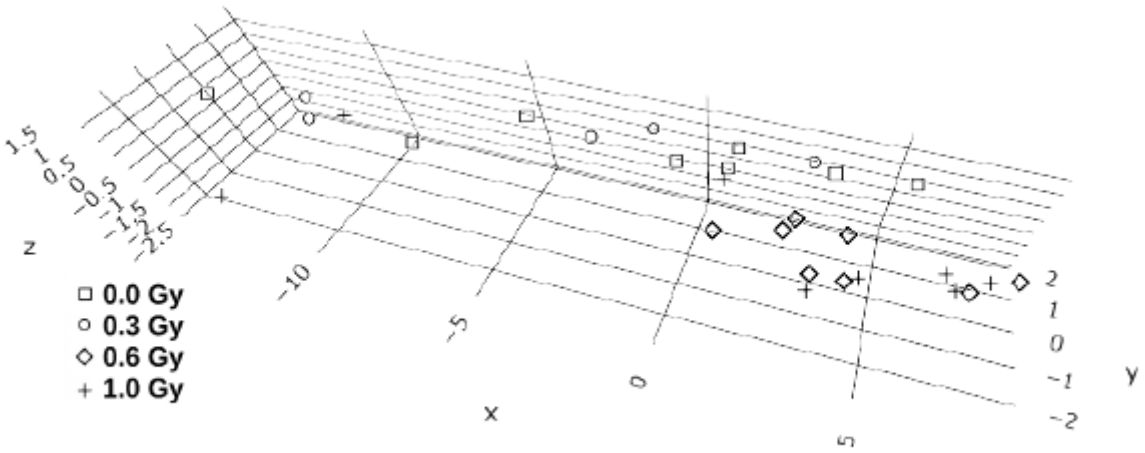
Ці результати свідчать, що для малих доз відмінність між діаметрами БСА знаходиться в межах похибки, тому наведений у аналогу спосіб не здатний ці дози відрізнити.



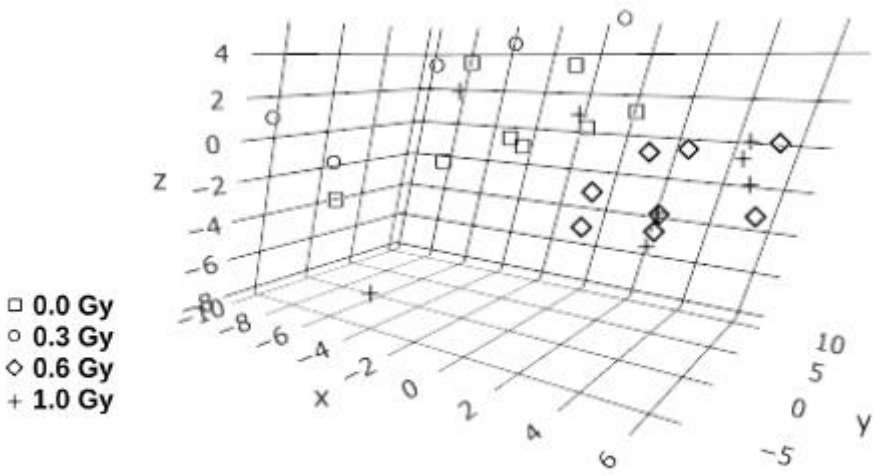
Фіг. 1



Фіг. 2



Фіг. 3



Фіг. 4