

Radiační biofyzika

Přednáška 9 2021

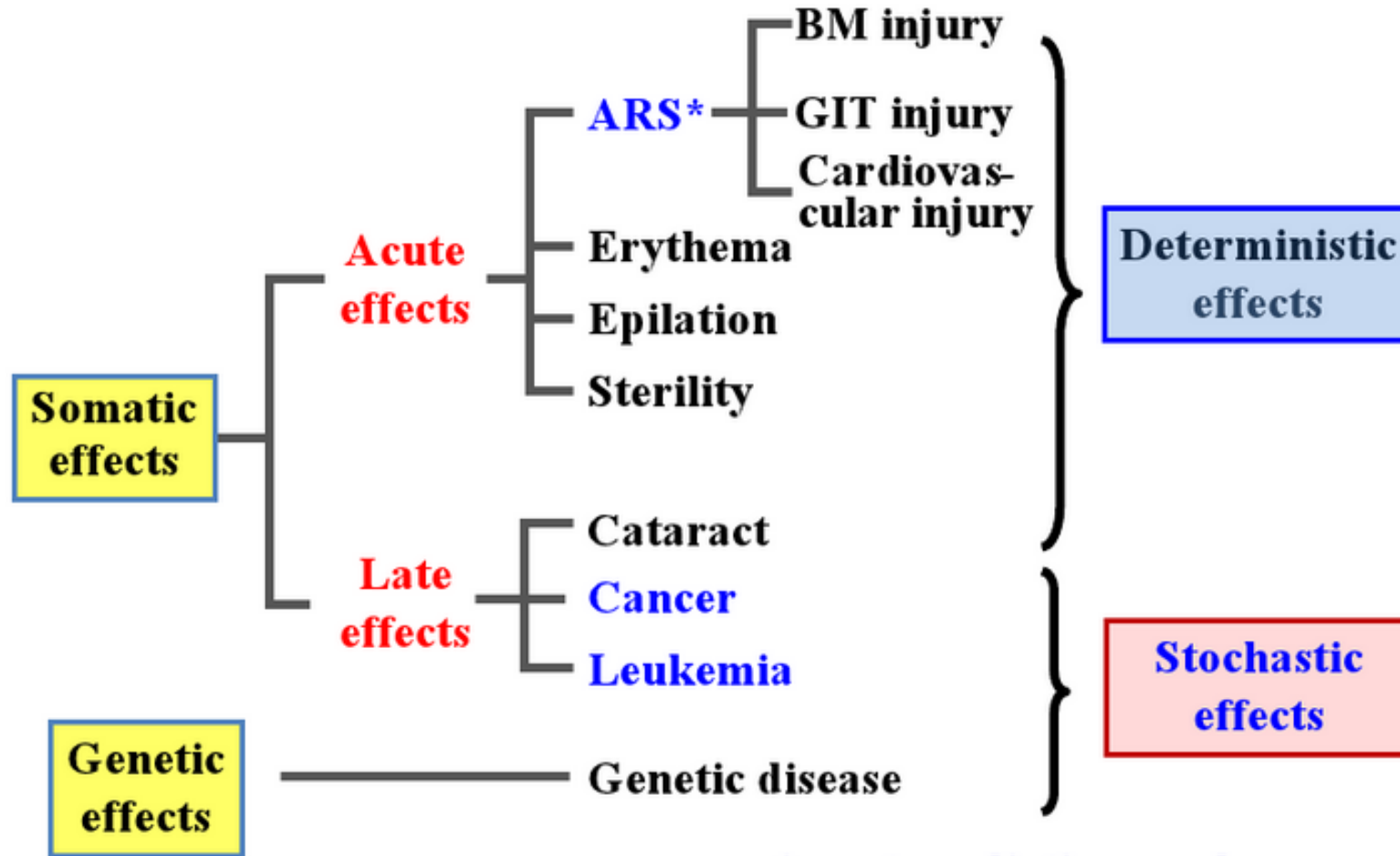
**BIOLOGICKÉ ÚČINKY
IONIZUJÍCÍHO ZÁŘENÍ II.**

(Stochastické účinky)

Martin Falk



Human Health Effects of Radiation Exposure

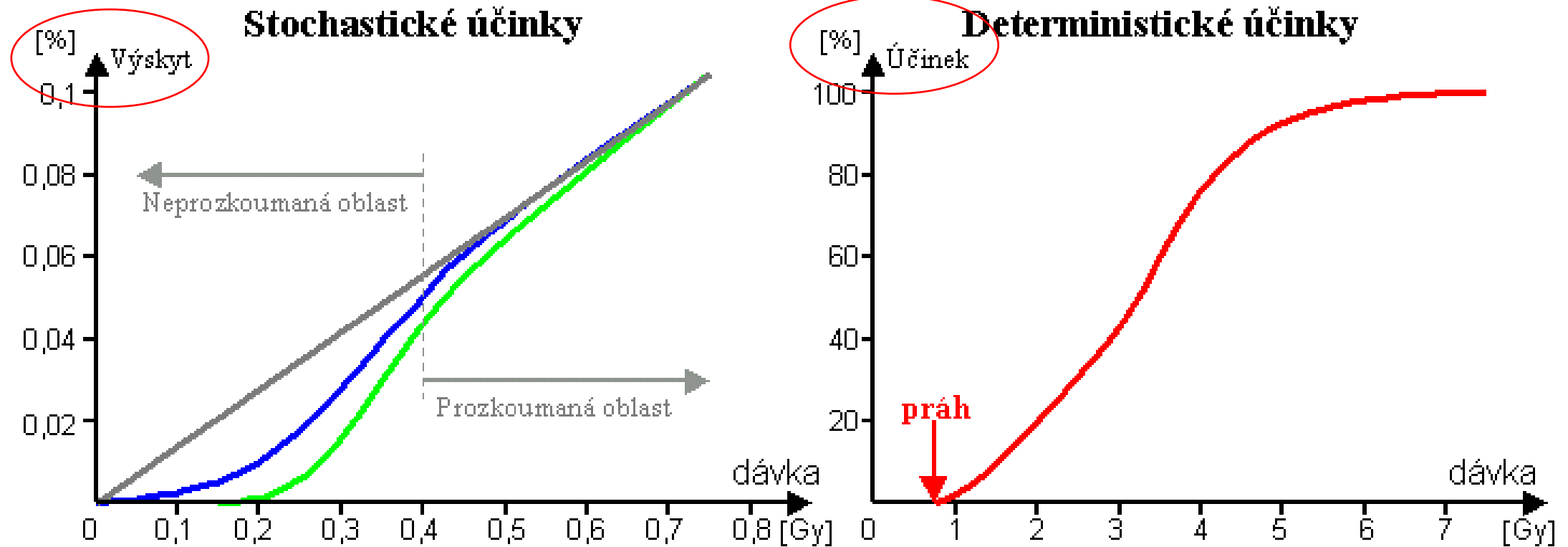


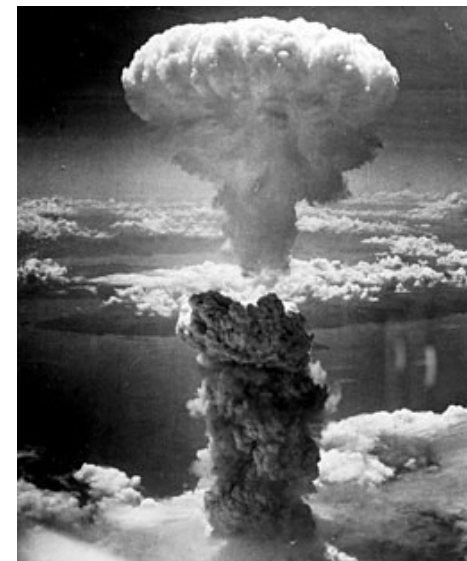
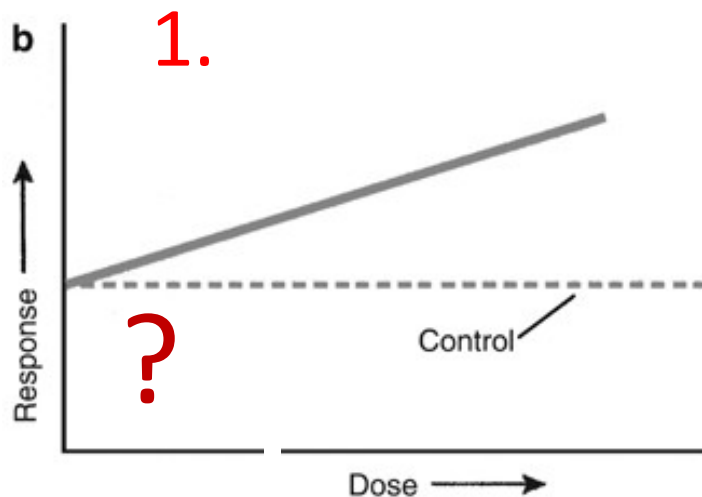
* acute radiation syndrome

Účinek záření na organismy

Rozlišujeme **deterministické účinky** – existuje práh, velké dávky, rychlý nástup (ne vždy), z hlediska RO relativně malý význam (více méně se týká pouze radičních nehod nebo havárií – radiční pracovníci; ale také dlouhé interplanetární pilotované mise, radioterapie nádorů)

Stochastické účinky – bezprahovost, malé dávky, pozdní efekt, velký význam pro společnost (týká se všech – medicínské ozáření, radon, kosmické záření apod.)





↓ dávky
↓ dávkový příkon

↑ dávky
↑ dávkový příkon

Stochastické účinky

1. **Lineární bezprahový nárůst pravděpodobnosti vzniku stochastických účinků.** Každá dávka záření může vyvolat efekt, přičemž dávky se sčítají po celý život a neustále tak roste pravděpodobnost postižení.

Je to dnes uznávaný model z hlediska radiační ochrany



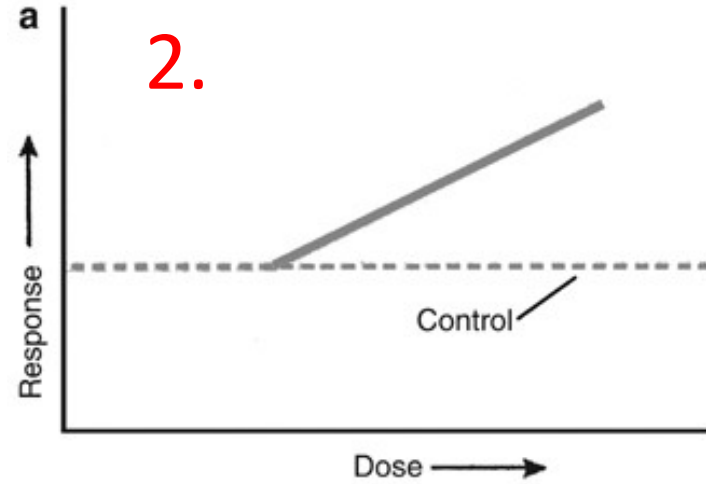
koeficient rizika smrti

- Pravděpodobnost celoživotního rizika úmrtí na nádorové onemocnění v důsledku ozáření vyjadřuje tzv. **koeficient rizika smrti**.
- Pro **efektivní dávku** 1 Sv je v současnosti uváděna hodnota **$550 \cdot 10^{-4} \text{ Sv}^{-1}$** , což znamená, že při vystavení 10 000 lidí ionizujícímu záření o dávce 1 Sv jich 550 (5,5 %) zemře na rakovinu způsobenou ozářením.
- Mezi nejvnímavější tkáně/orgány ke stochastickým účinkům patří kostní dřeň, lymfoidní orgány, žaludek, tlusté střevo, plíce a mléčná žláza.

Celkové riziko rakoviny na 1 Sv (prokazatelné riziko pro $d > 100 \text{ mSv}$):

- **11 % (3 – 5 %; 2018) SOLIDNÍ TUMORY** (chyba 2x, tzn. 6 – 22 % ;-))
- **1 % LEUKÉMIE** (při snížení dávky na 0,1 Sv bude podle lineárně-kvadratického modelu riziko vzniku leukémie 20x menší)

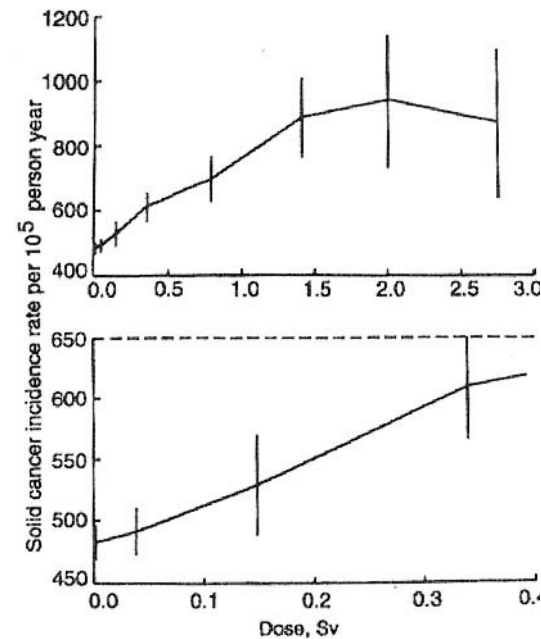
Přírodní pozadí (ČR): 2,4 mS/rok **RTG vyšetření plic** 0,04 – 0,4 mSv **CT (počítačová tomografie)** 7 mSv



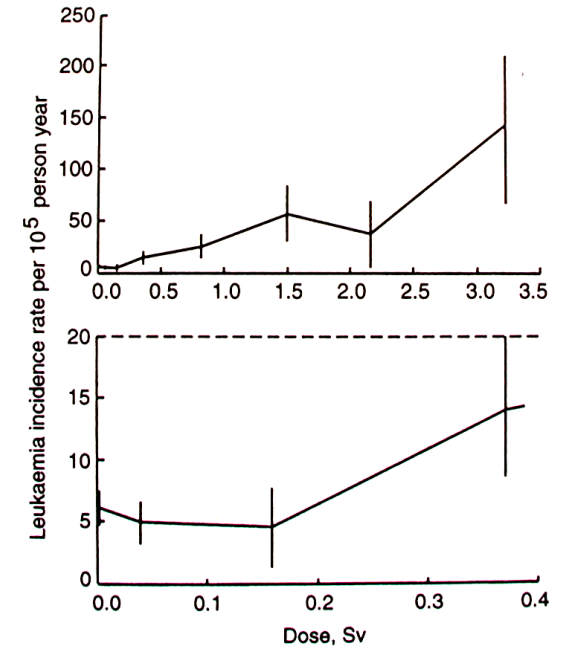
Stochastické účinky

2. Lineární nárůst pravděpodobnosti vzniku stochastických následků od určité prahové dávky. Pro podprahové dávky je tedy riziko nádorů a genetického poškození stejné jako u neozářených osob.

Solidní tumory



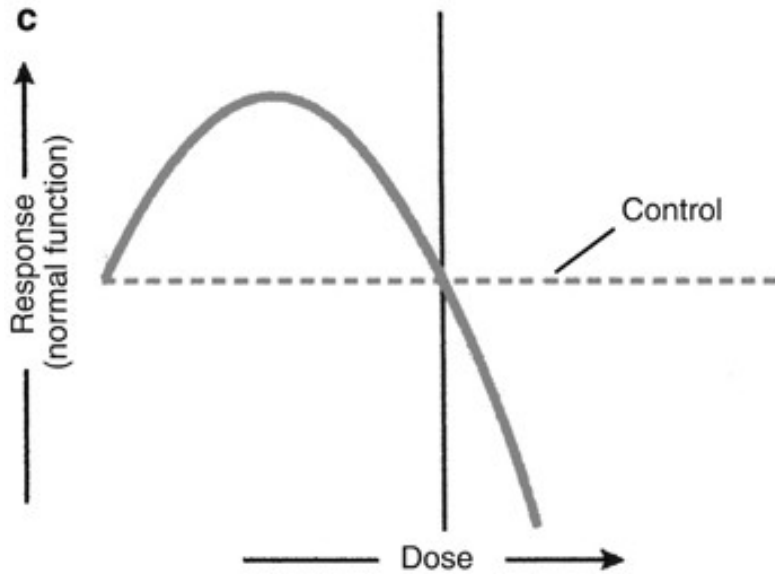
Leukmie



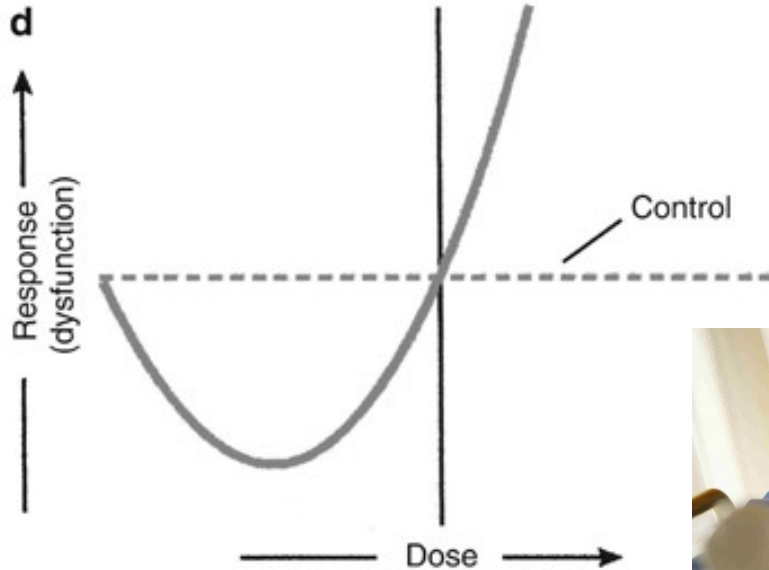
STOCHASTICKÉ ÚČINKY - MODELY

3. (obr. c) **HYPERSENZITIVITA** při nízkých dávkách. Model předpokládá vysokou citlivost pro nízké dávky např. kvůli nedostatečné aktivaci DNA reparačních procesů.

THE LAZY MAN'S WAY TO CAR MAINTENANCE

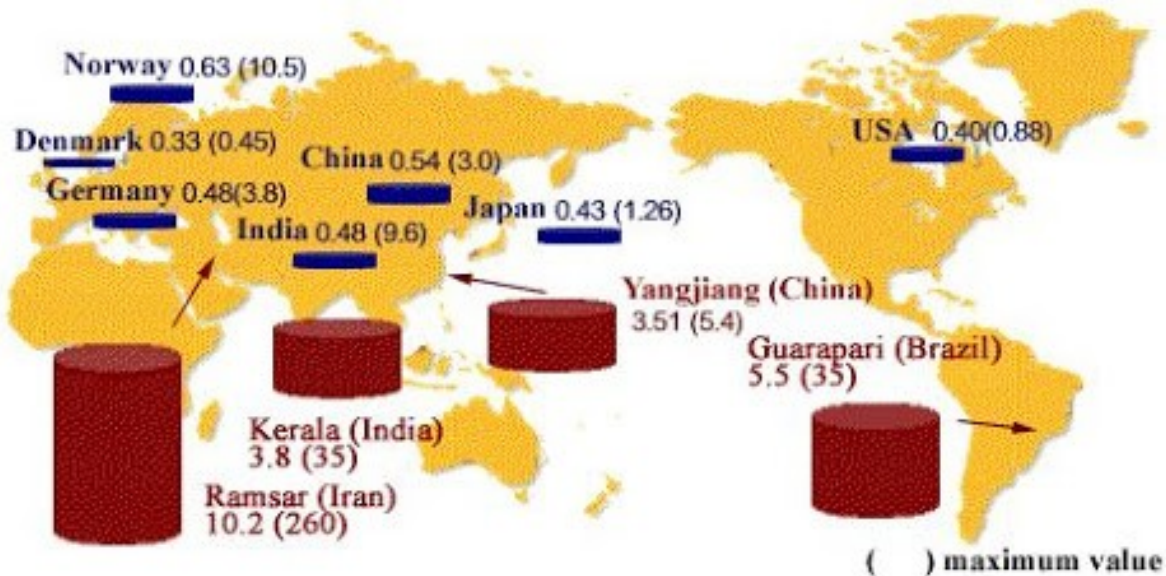


STOCHASTICKÉ ÚČINKY - MODELY

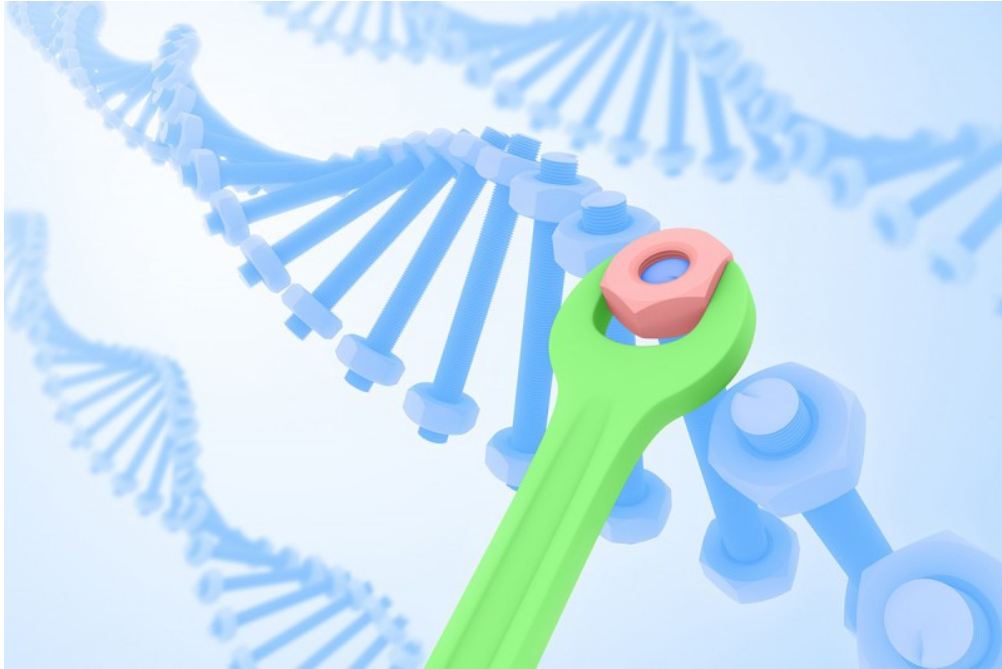


4. (obr. d) **EFEKT HORMEZE**. Nízké dávky IZ naopak snižují výskyt pozdních účinků (např. nádorových onemocnění).

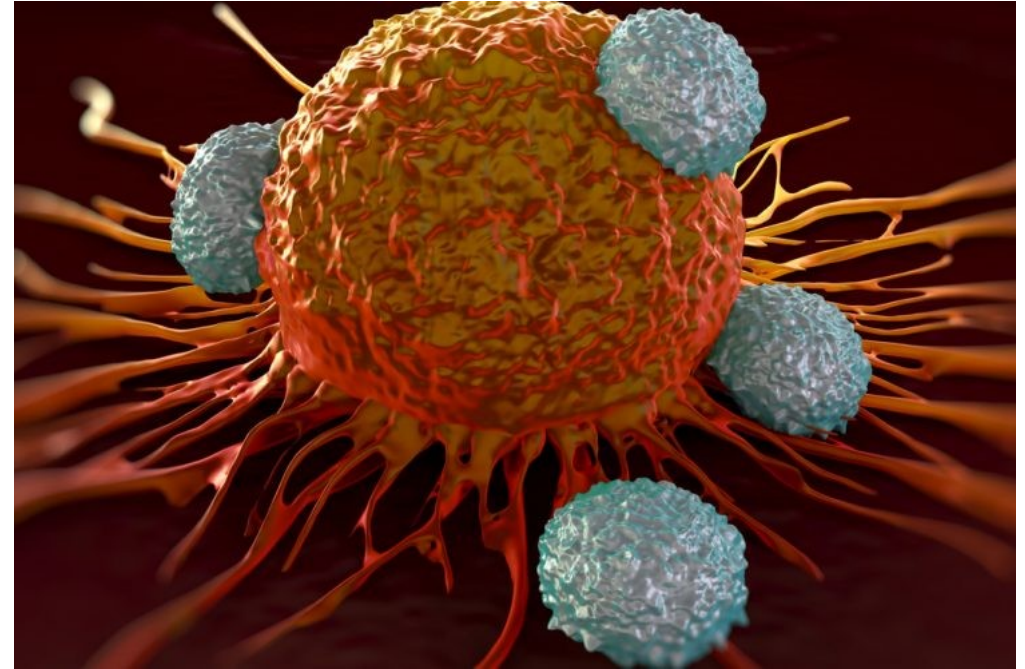
- určité studie např. naznačují nižší výskyt nádorových onemocnění u lidí žijících v oblastech s vyšší aktivitou podloží
- hormezní efekt se vysvětluje např. aktivací imunitního systému nízkými dávkami IZ a takto „nabuzený“ systém potom spontánně likviduje i „zárodky nádorů“, které by jinak nemusely být rozpoznány
- i přes prospěšnost nízkých dávek IZ (dle tohoto modelu) lze však patrně přepokládat celoživotní sčítání jednotlivých dávek



HORMEZNÍ EFEKT

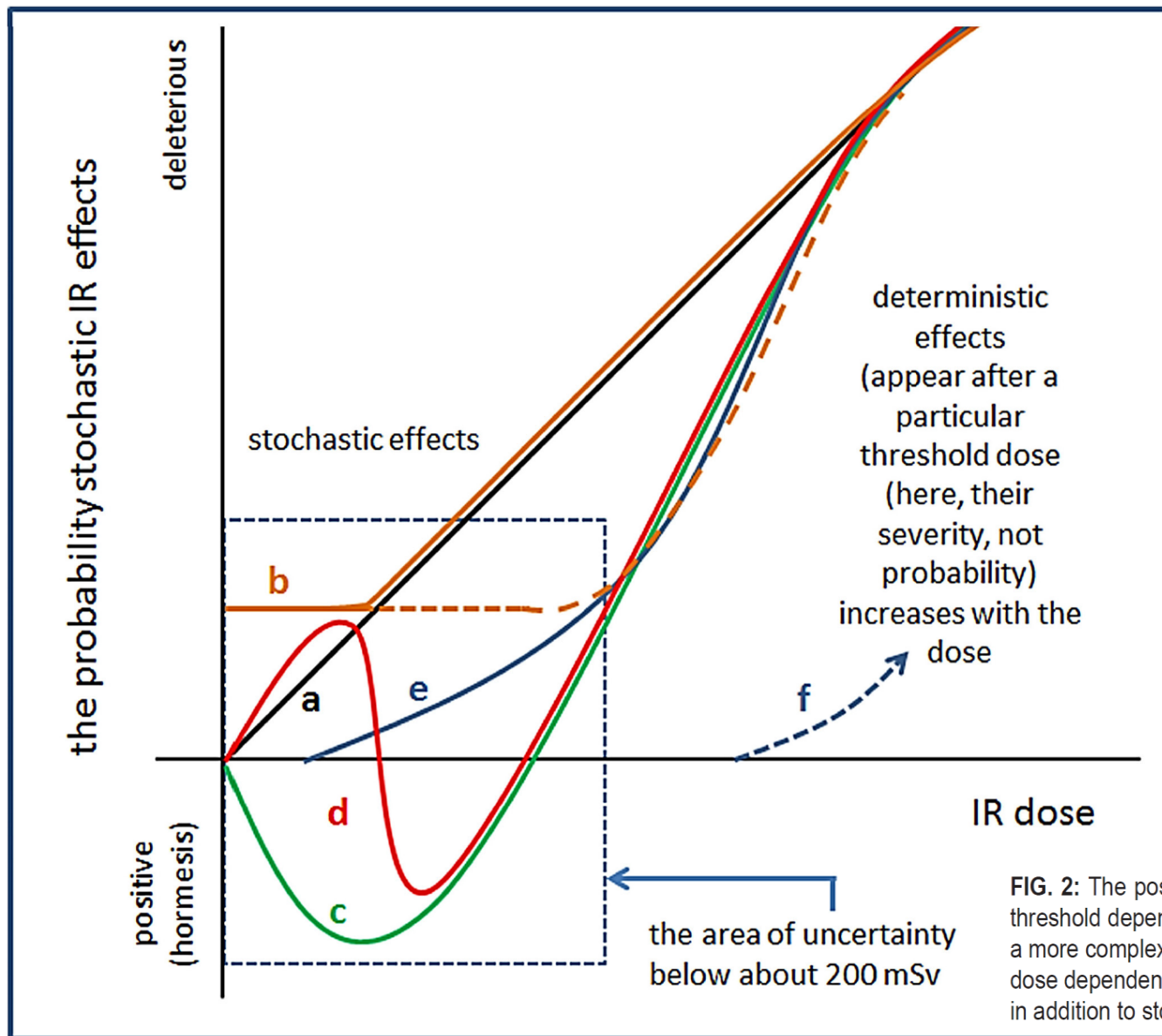


Aktivace mechanismů reparace DNA



Aktivace imunitního systému

Další mechanismy ??



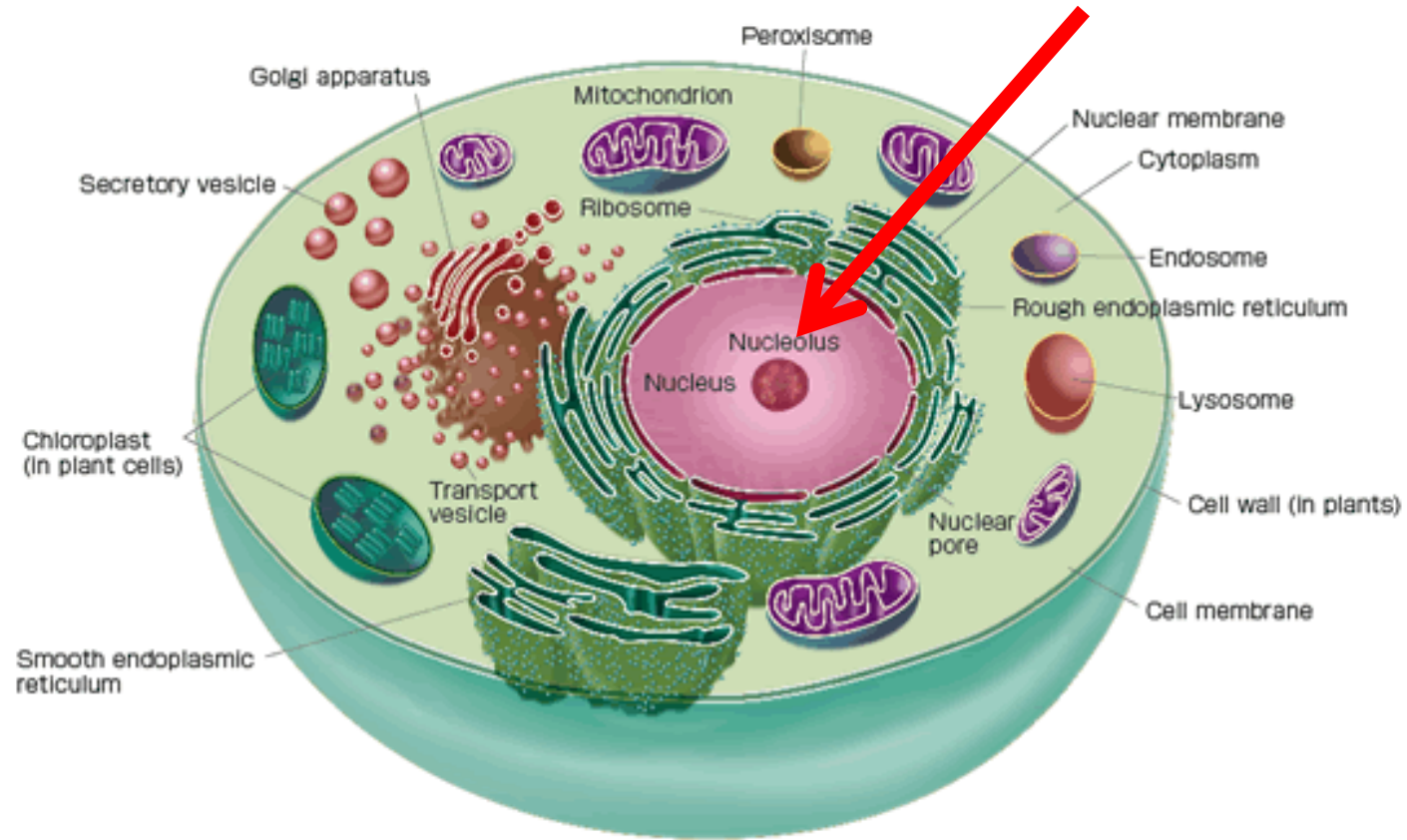
Determining Omics Spatiotemporal Dimensions Using Exciting New Nanoscopy Techniques to Assess Complex Cell Responses to DNA Damage: PART A—Radiomics

Martin Falk,^{1,*} Michael Hausmann,² Emílie Lukášová,¹ Abin Biswas,^{2,3} Georg Hildenbrand,^{2,3} Marie Davidková,⁴ Evgeny Krasavin,⁵ Zdeněk Kleibl,⁶ Iva Falková,¹ Lucie Ježková,^{1,5,7} Lenka Štefančíková,¹ Jan Ševčík,⁶ Michal Hofer,¹ Alena Bačíková,¹ Pavel Matula,^{1,8} Alla Boreyko,⁵ Jana Vachelová,⁴ Anna Michaelidesová,^{4,9} & Stanislav Kozubek¹

FIG. 2: The possible shapes of the dose-response curve in the range of low doses of irradiation (IR): linear non-threshold dependence (a); the low-dose hypersensitivity (b); the hormesis effect (the low-dose hyposensitivity) (c); a more complex dependence (here composed from hypersensitive and hyposensitive regions) (d); a threshold low-dose dependence (e); deterministic effects appearing after higher IR doses (i.e., always after some threshold dose) in addition to stochastic effects (f).

1. Poškození DNA a dvouřetězcové zlomy DNA (DSB)

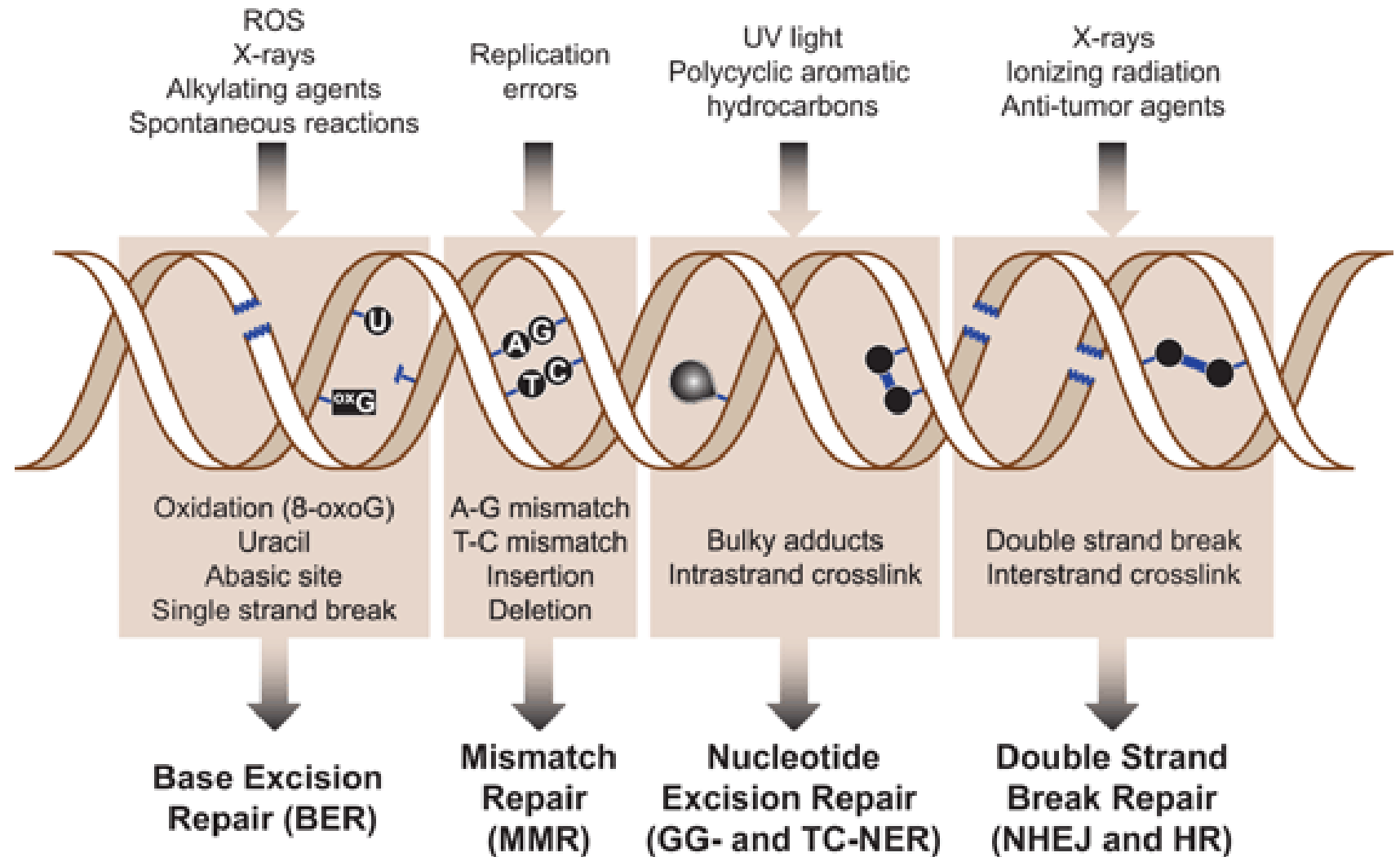
DNA – nejcitlivější cíl z hlediska biologických účinků ionizujícího záření

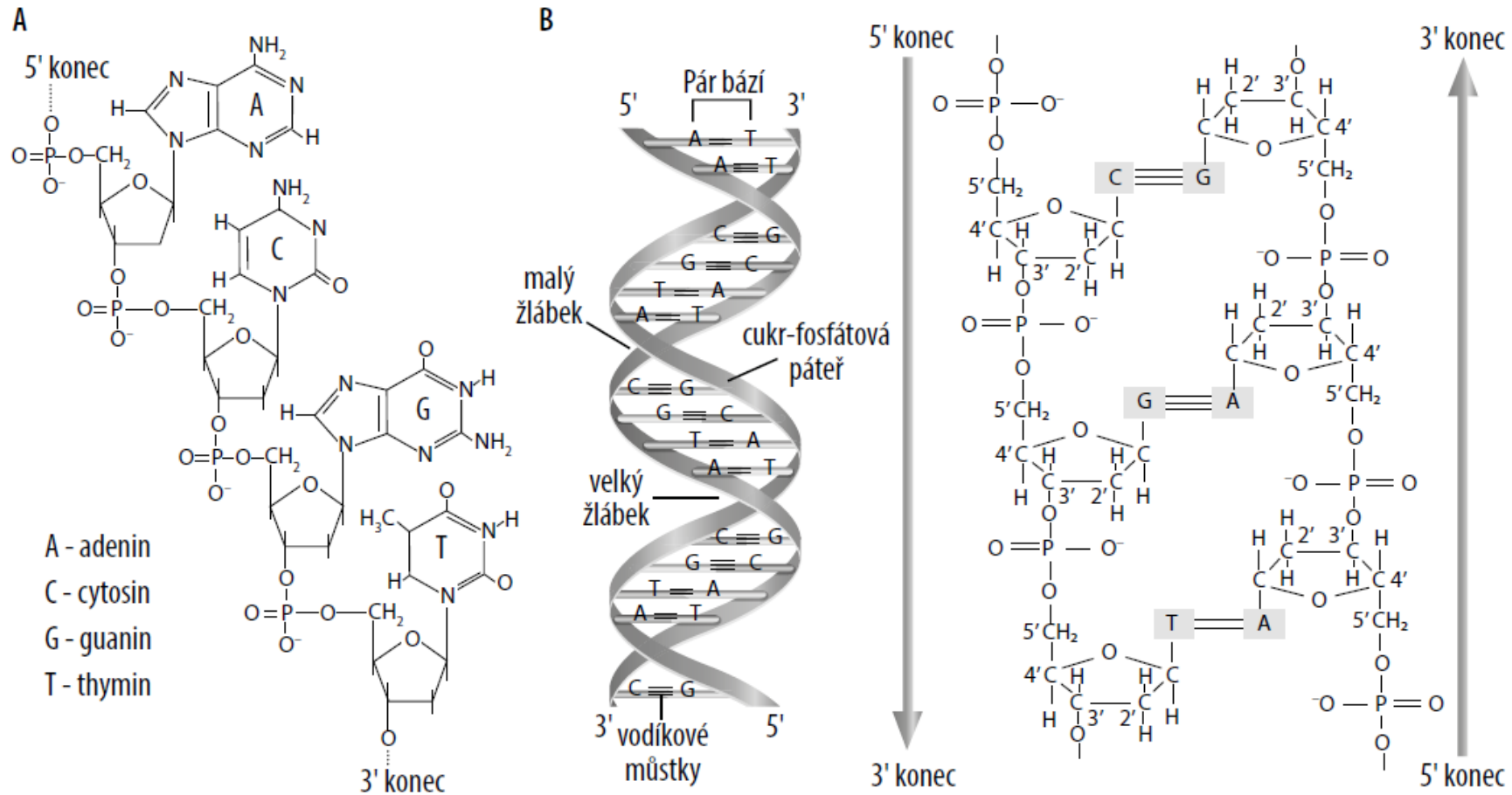


RADIAČNÍ POŠKOZENÍ DNA

Typy poškození DNA:

- poškození bází
- vznik abazických míst
- intra- a inter-řetězcové „cross-linky“
- adukty DNA
- jednořetězcové zlomy DNA (SSB)
- **Dvouřetězcové zlomy DNA (DSB)**





Poškození bází: poruchy párování → bodové mutace; díky reparaci nicméně i přechod na jiné typy poškození včetně DSB

Cross-linky, adukty na DNA: kolaps replikačních vidlic → DSB

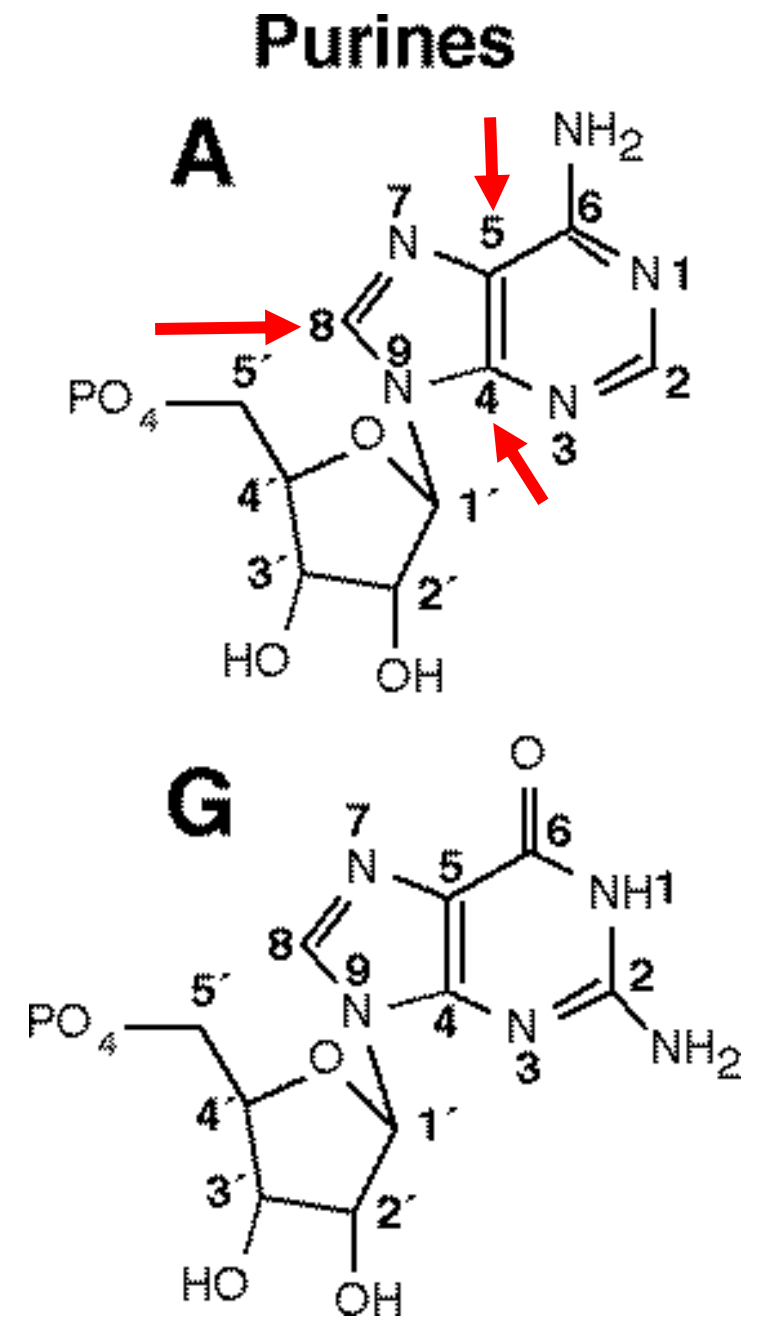
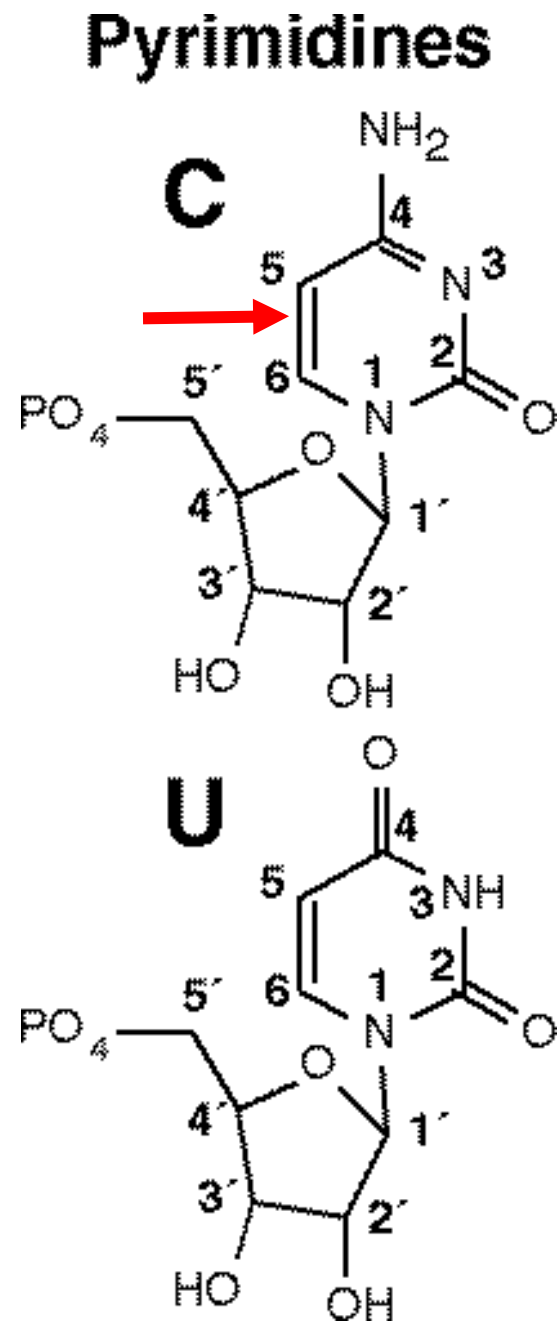
SSB → DSB: desintegrace molekuly DNA → chromosomální aberace

POŠKOZENÍ BAZÍ DNA

Molekula DNA se skládá z pyrimidinových (thymin, cytosin) a purinových (adenin, guanin) bazí, přičemž k radiálnímu poškození vykazují citlivost oba tyto typy.

V případě pyrimidinových bazí preferují radikály $\text{OH}\bullet$ pro svůj atak dvojnou vazbu mezi uhlíky C5 a C6.

Při reakcích s purinovými bazemi se $\text{OH}\bullet$ aduje do pozic C4, C5 nebo C8 u guaninu a C4 nebo C8 u adeninu za produkce v těchto pozicích hydroxylovaných cyklů



Mezi nejdůležitější produkty popsaných reakcí patří 8-oxo-7,8-dihydro-2-deoxyguanosin (8-oxodG) s jeho tautomerní formou 8-hydroxy-2-deoxyguanosinem (8-OHdG) a 8-hydroxyadenin.

8-oxodG/8-OHdG představuje nejvýznamnější marker oxidativního poškození bází, protože guanin ze všech bází nejnádhněji podléhá oxidaci.

122 A. Valavanidis et al.

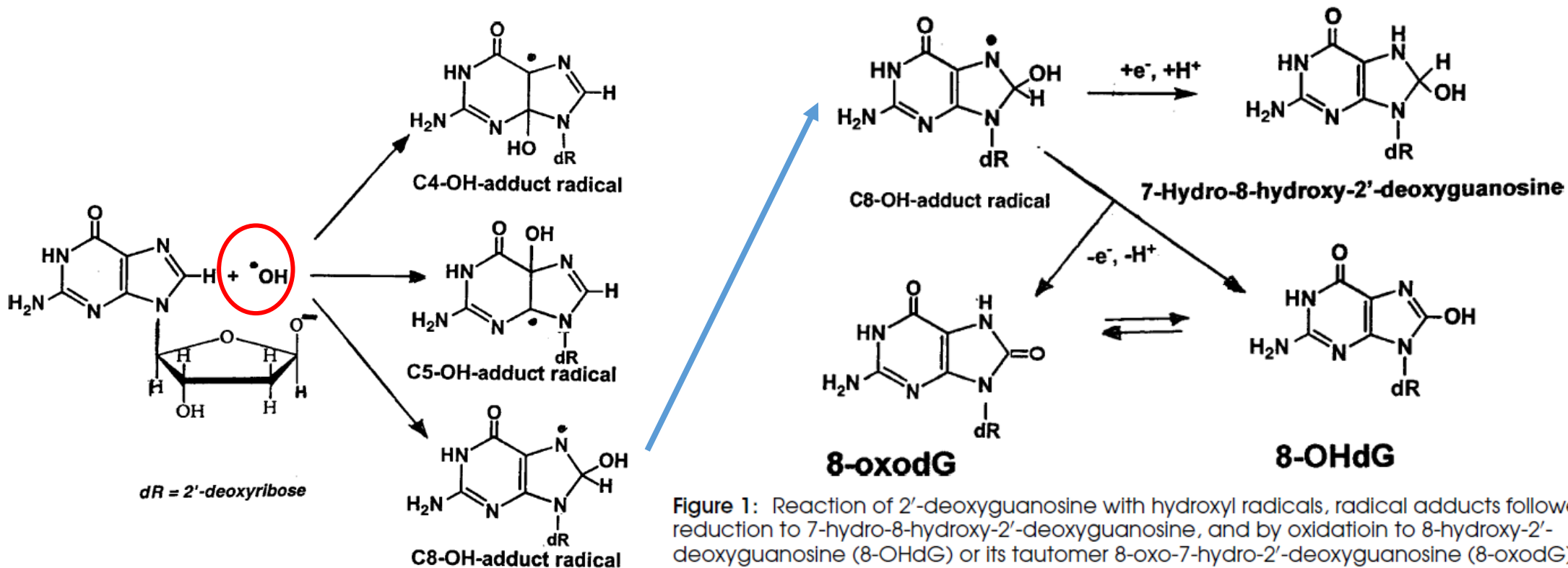
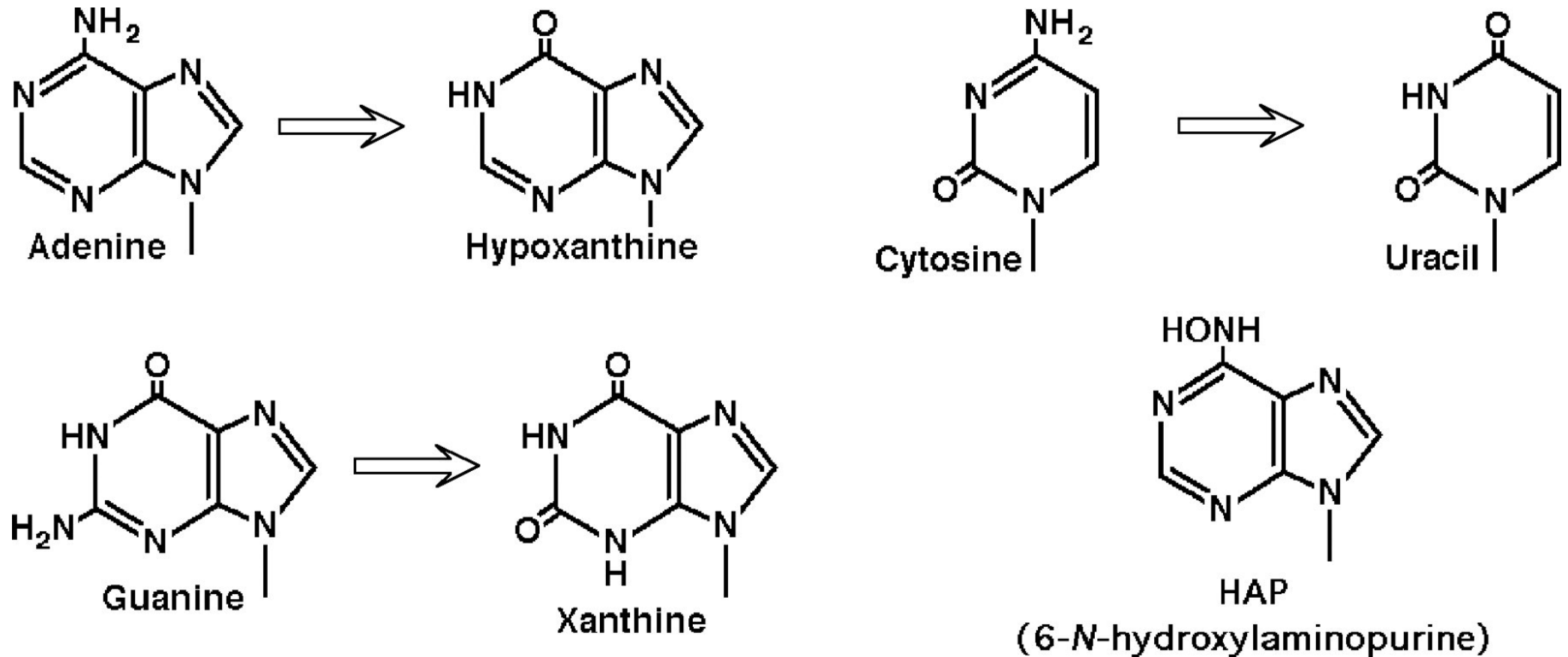


Figure 1: Reaction of 2'-deoxyguanosine with hydroxyl radicals, radical adducts followed by reduction to 7-hydro-8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, and by oxidation to 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) or its tautomer 8-oxo-7-hydro-2'-deoxyguanosine (8-oxodG).

Kromě uvedeného patří mezi významné procesy také deaminace bází – deaminaci guaninu se tvoří xantin (X), adeninu hypoxanthin (HX) a cytosinu uracil (U).



Chemické modifikace v řadě případů ovlivňují

- tvorbu vodíkových můstků mezi bazemi
- a případně i strukturu dvoušroubovice DNA.

Následkem těchto změn se objevují

- chyby párování nukleotidů během replikace
- nebo i kolaps cele replikačních vidlic

Některé poškozené baze jsou navíc labilní a zejména v alkalickém prostředí mohou být konvertovány na **abazická místa** a **zlomy řetězců DNA**, která popisujeme níže.

Příklady mutageneze následkem radiační modifikace bází

A → HX; parování HX:C namísto A:T → zaměna A:T za C:G v dalším replikačním cyklu

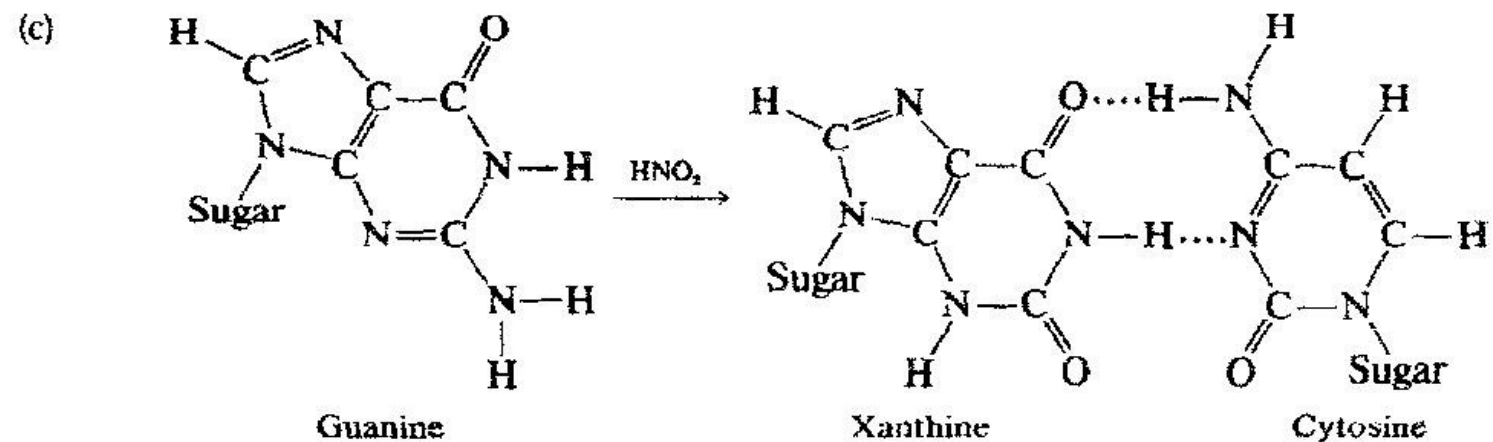
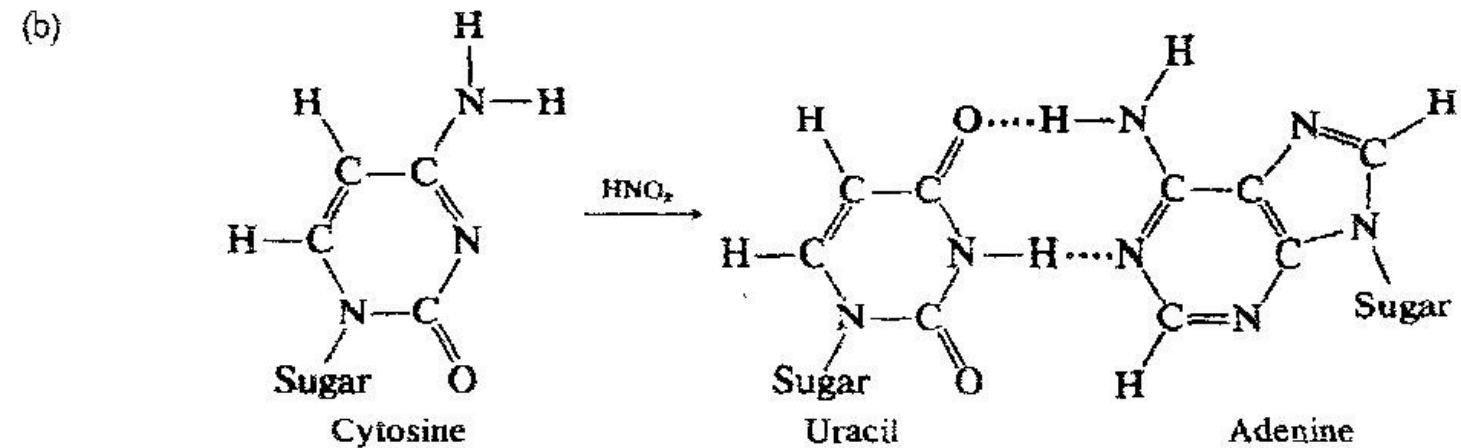
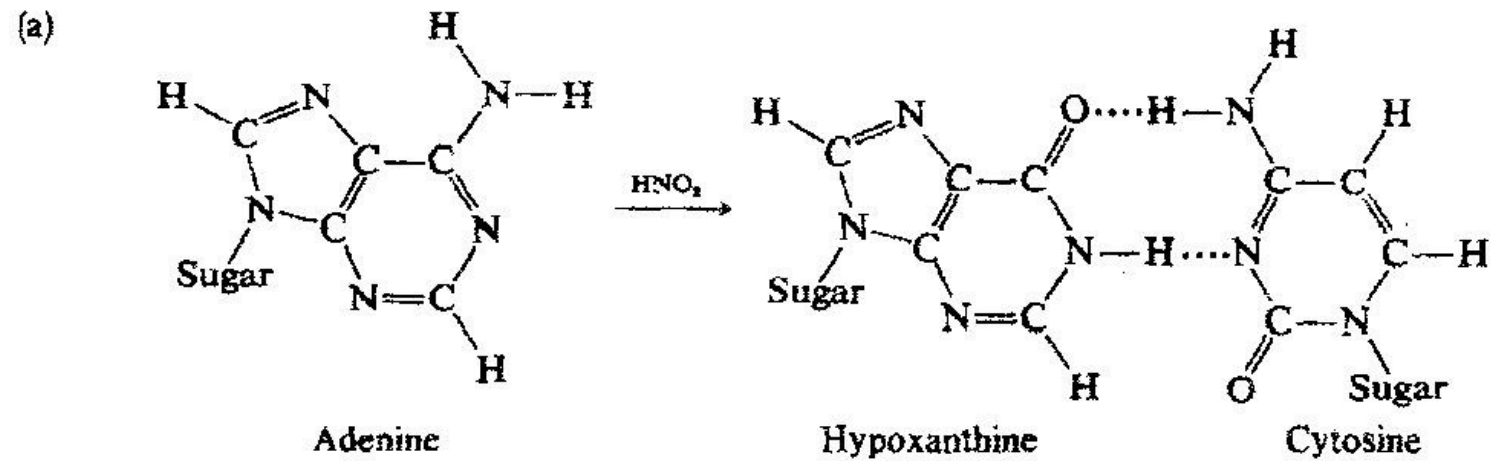
T → Tg; Tg nevede ke změně parování, způsobuje však distorzi dvoušroubovice DNA

C → U; parování U:A namísto C:G → zaměna C:G za T:A

G → 8-oxoG; parování 8-oxoG:A namísto G:C → zaměna G:C za T:A

G → X; parování stejně jako G

Mutageneze
následkem
poškození
(deaminace) bazí
DNA



SHRNUTÍ (DVOUŘETĚZCOVÉ ZLOMY DNA):



- DSB je nejzávažnějším typem poškození DNA
- Před DSB není pro buňku úniku – většina jich vzniká endogenními procesy
- I jediný DSB může být pro buňku smrtelný, není-li opraven nebo je-li neopravitelný
- **Je-li naopak DSB opraven špatně, může vést např. k rakovině**

Základní letální a neletální typy ChA

- Existuje mnoho typů ChA (viz. dříve)
- 3 typy těchto ChA jsou pro buňku letální
 - Dicentrický chromosom
 - Centrický Ring (kruhový chromozóm) (chromozomální aberace)
 - Anafázní most (chromatidové aberace)
- 2 důležité neletální přestavby chromozomů
 - Reciproké translokace
 - malé delece (intersticiální a terminální)
Asociovány s mnoha nádorovými onemocněními (zejména leukémiemi) díky aktivaci protoonkogenů nebo inaktivaci nádorových supresorů

DICENTRICKÝ CHROMOZÓM

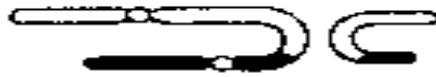
From: Radiobiology for the Radiologist, pg 24



**2 different
pre-replication
chromosomes**

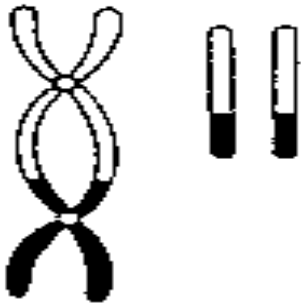


**1 break in
each chromosome**



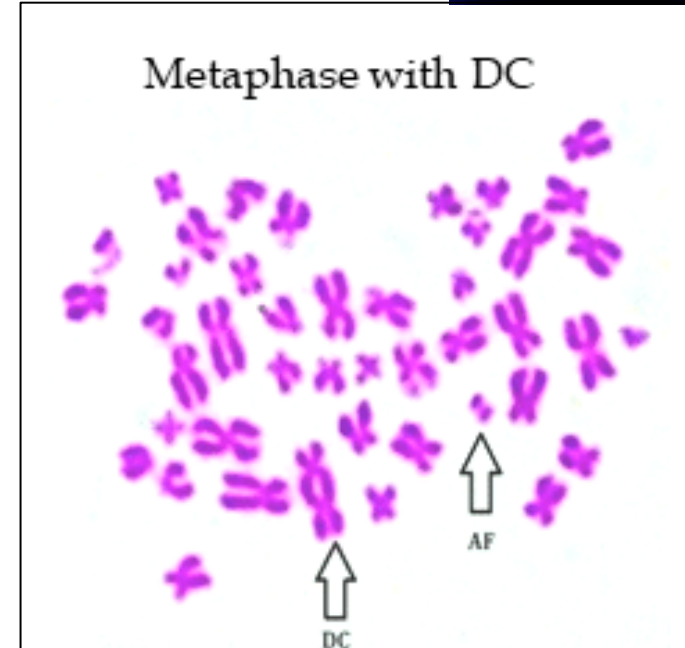
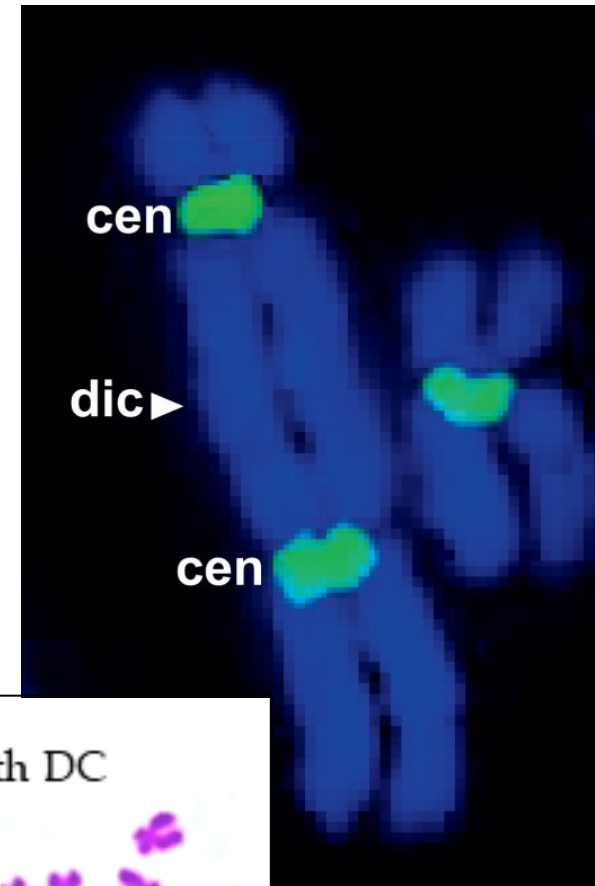
Illegitimate union

Replication (S)

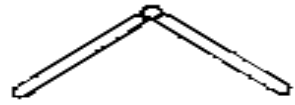


**Dicentric chromosome
plus acentric fragment**

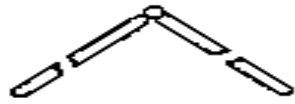
A



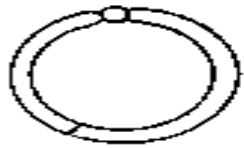
RING CHROMOZÓM



Pre-replication (G1) chromosome



Breaks in both arms of the same chromosome



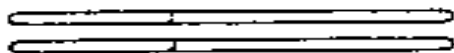
Incorrect union



Replication (S)



Overtapping rings



B

ANAFÁZNÍ MOSTY



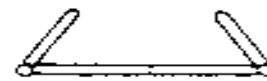
Post-replication chromosome



Break in each chromatid (isochromatid deletion)



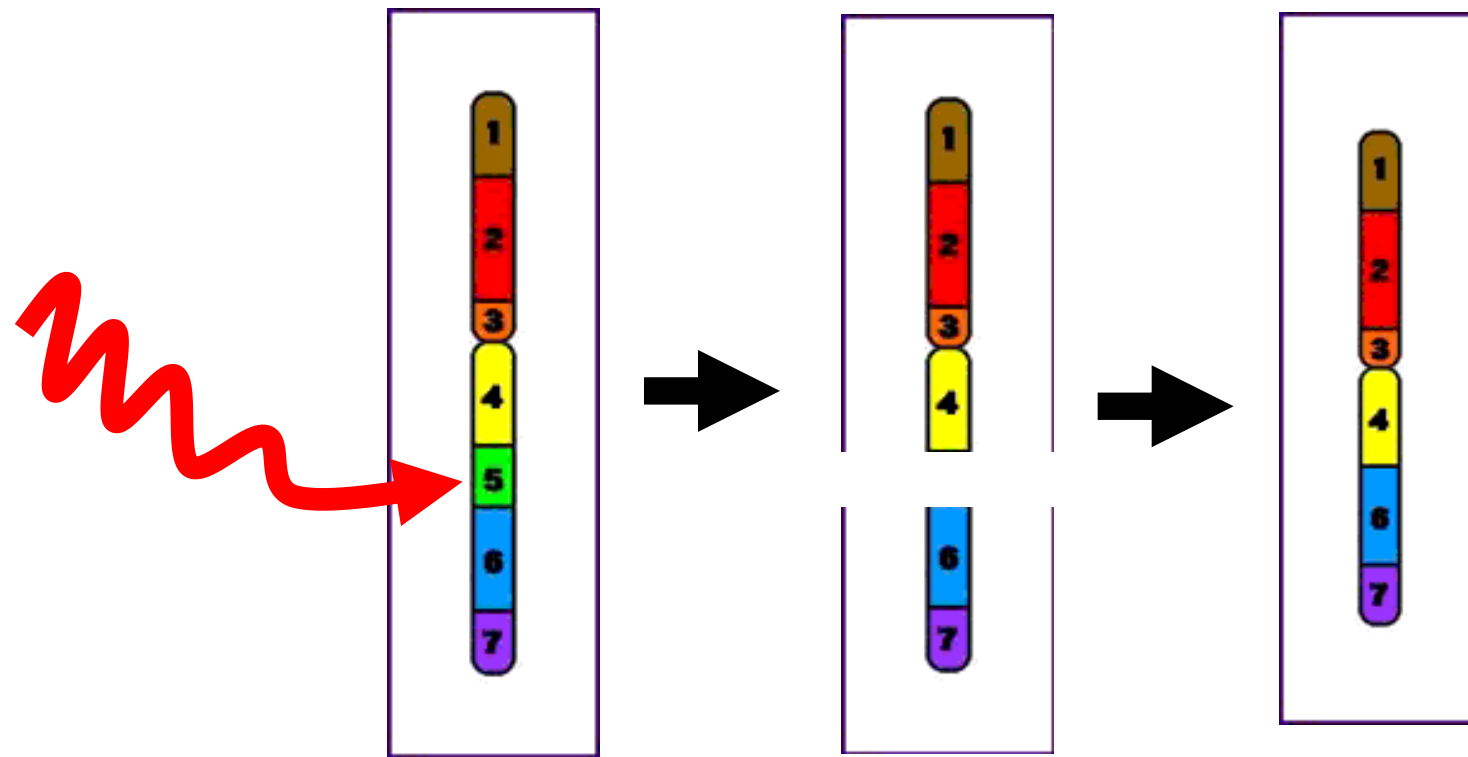
Sister union



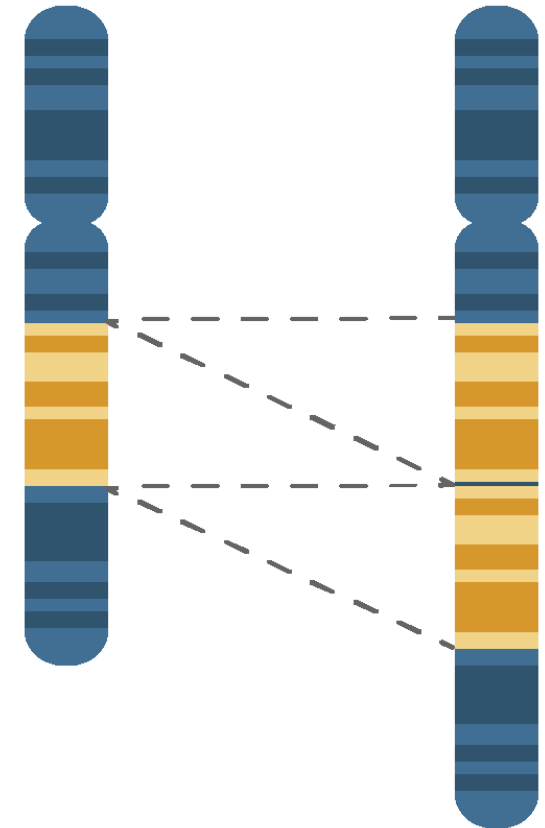
Dicentric chromatid, N.B. symmetrical plus acentric chromatid fragment

C

DELECE INTERSTICIÁLNÍ

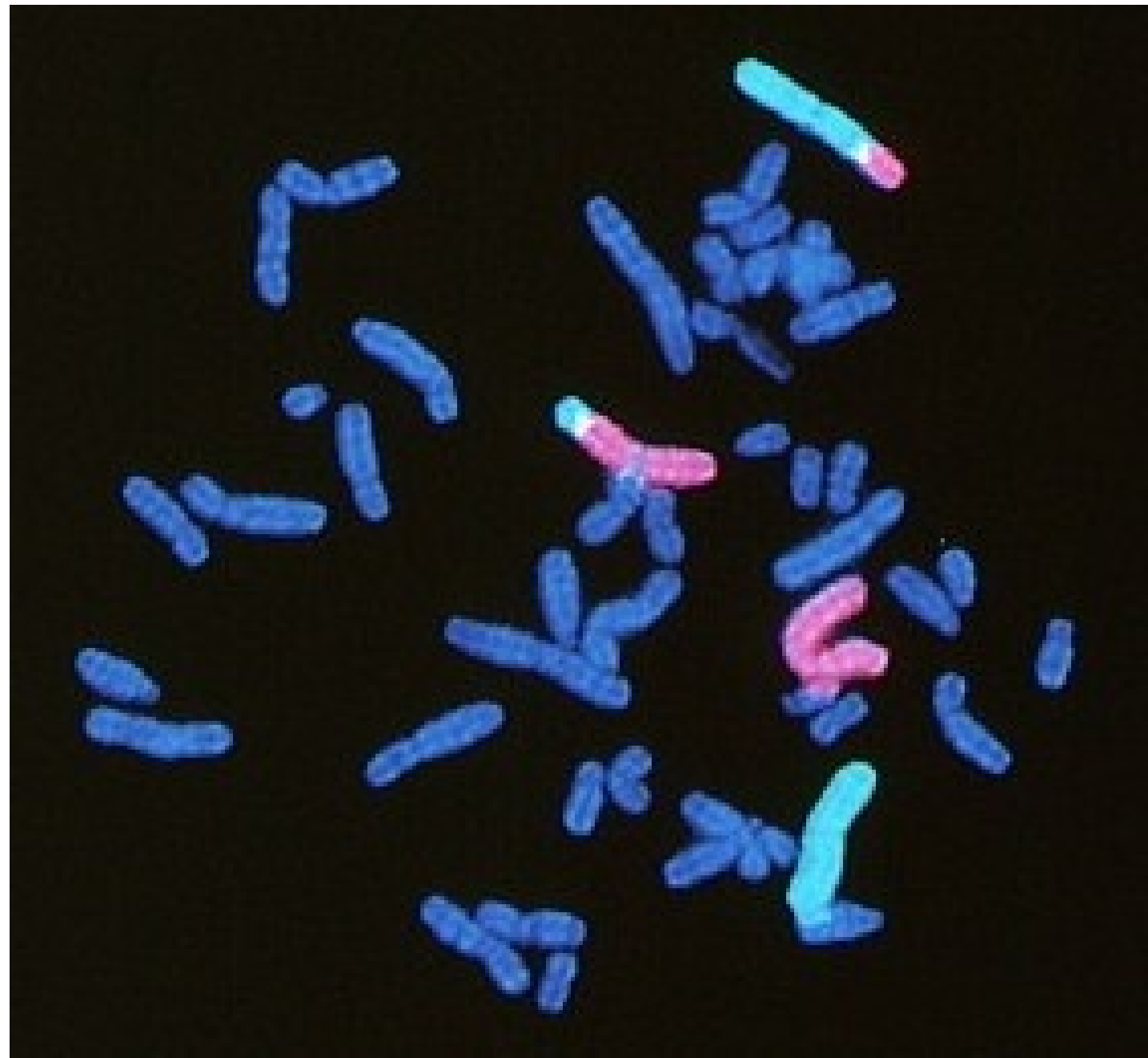
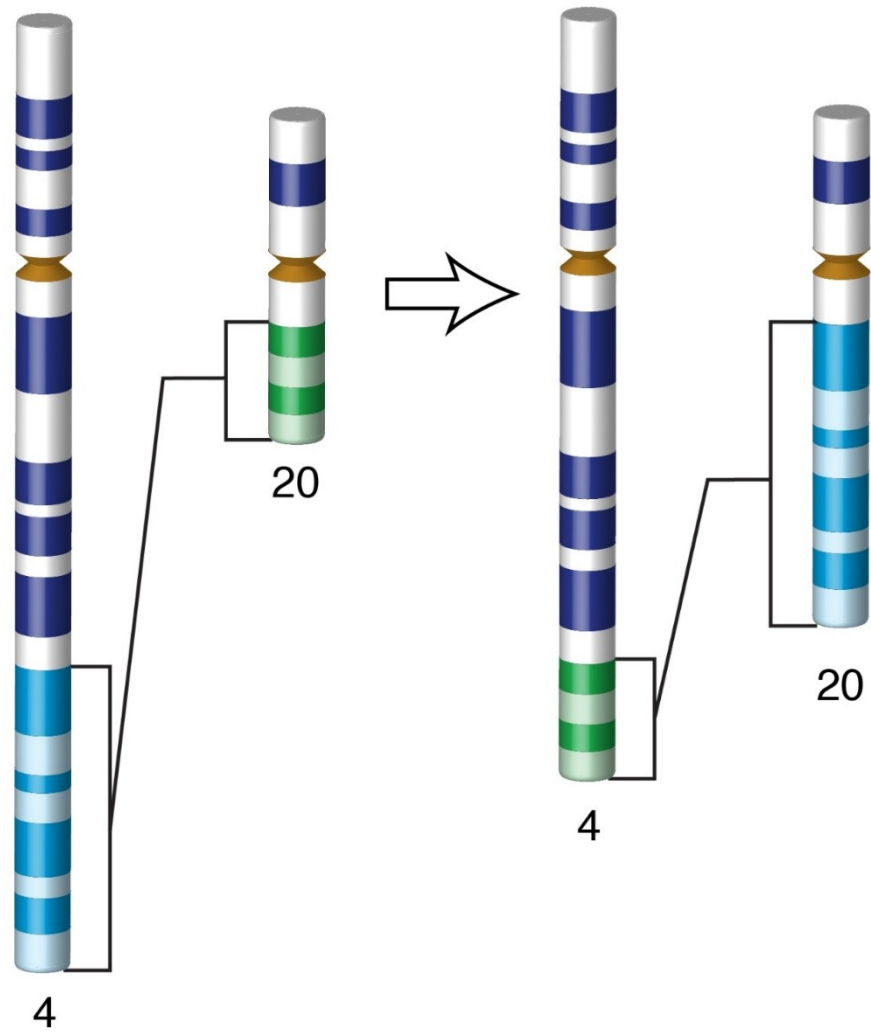


Duplication

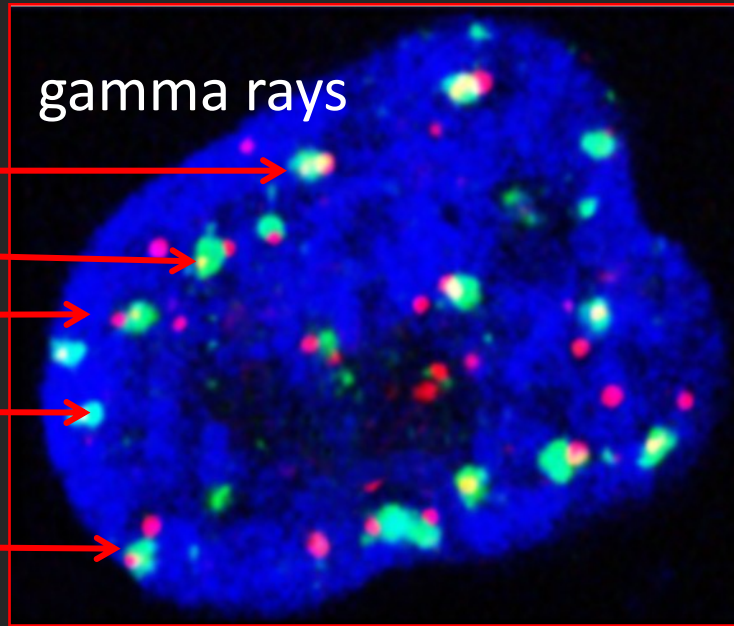
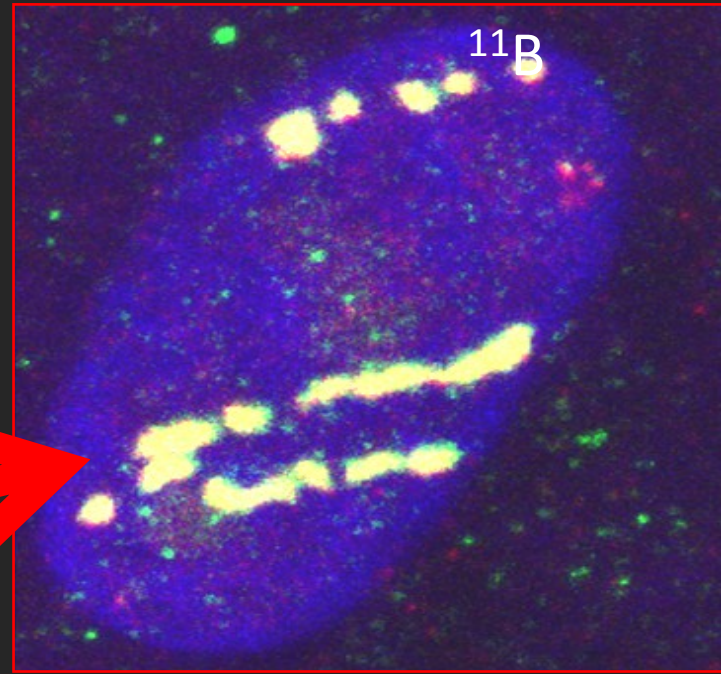


komplexní poškození v postižené oblasti nebo dva DSB v blízkosti

Translocation

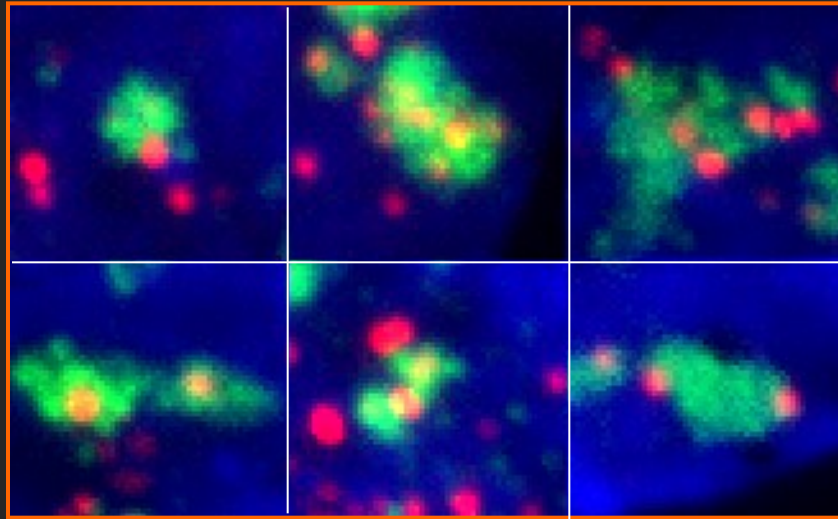


Poškození při stejné dávce (1 Gy)

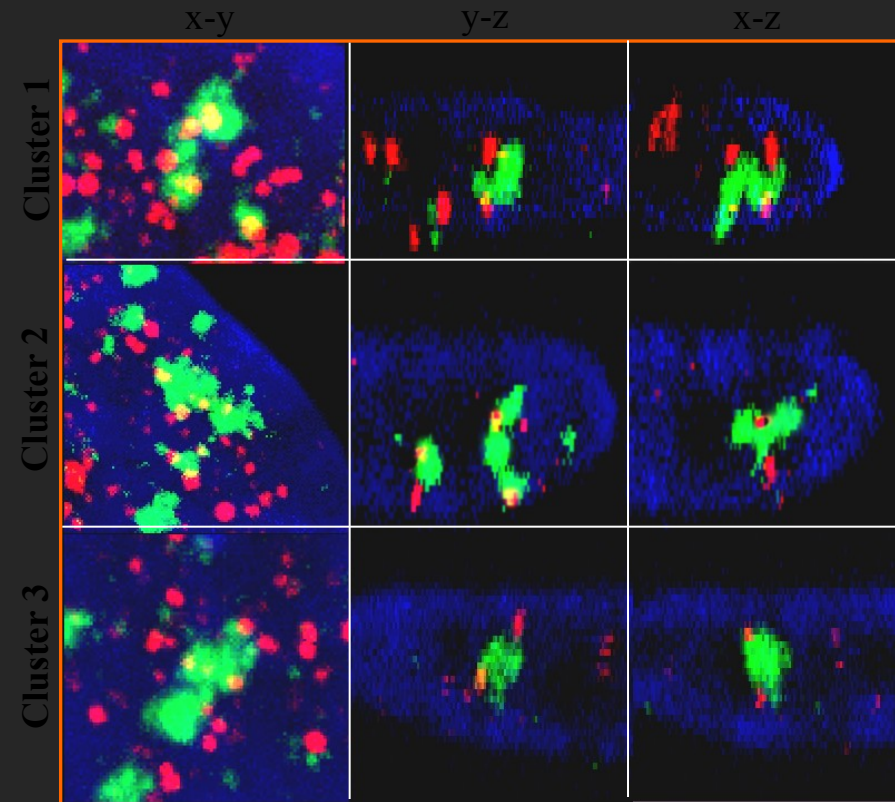


Klastry DSB následkem reparačních procesů → translokace

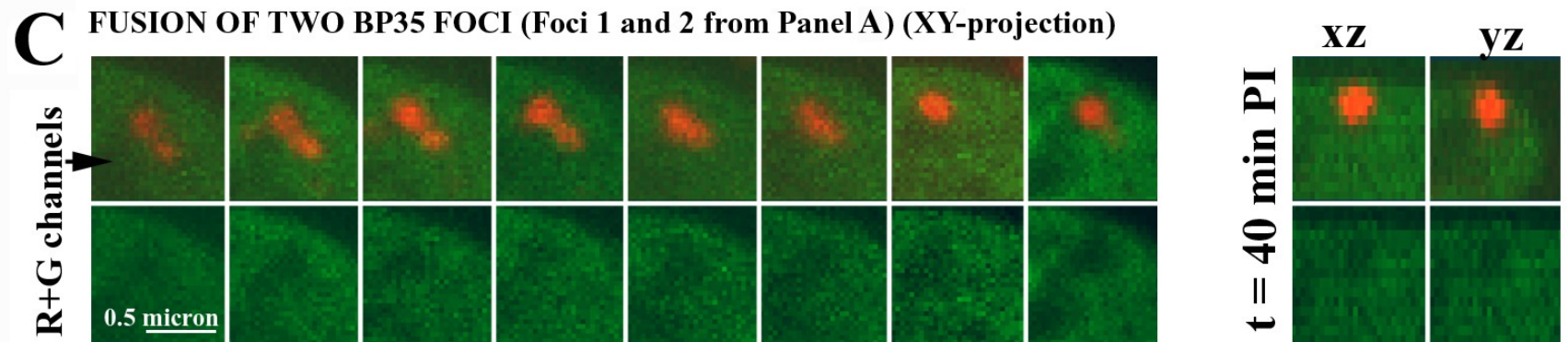
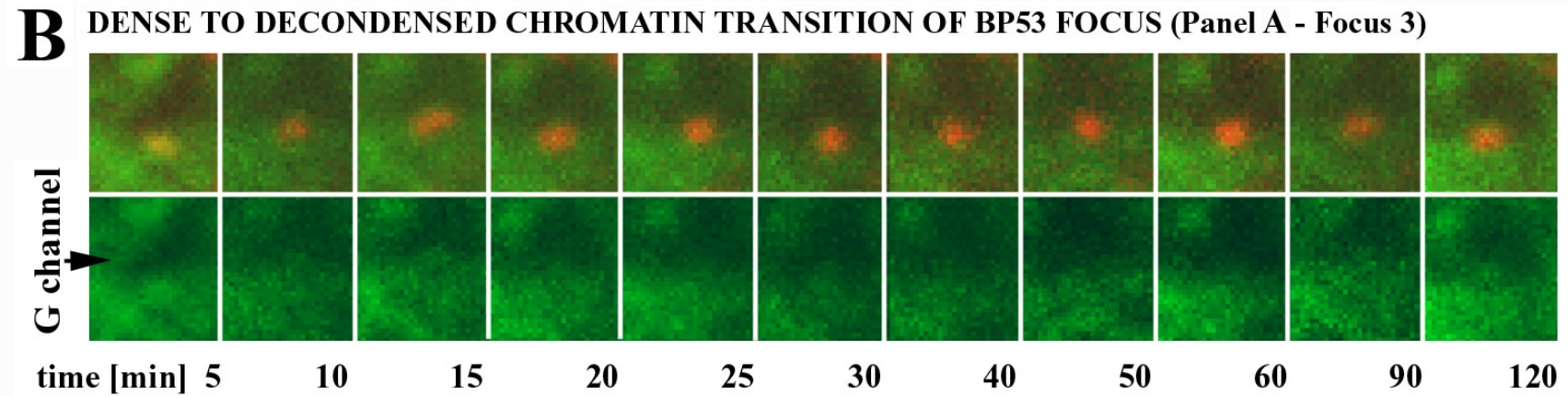
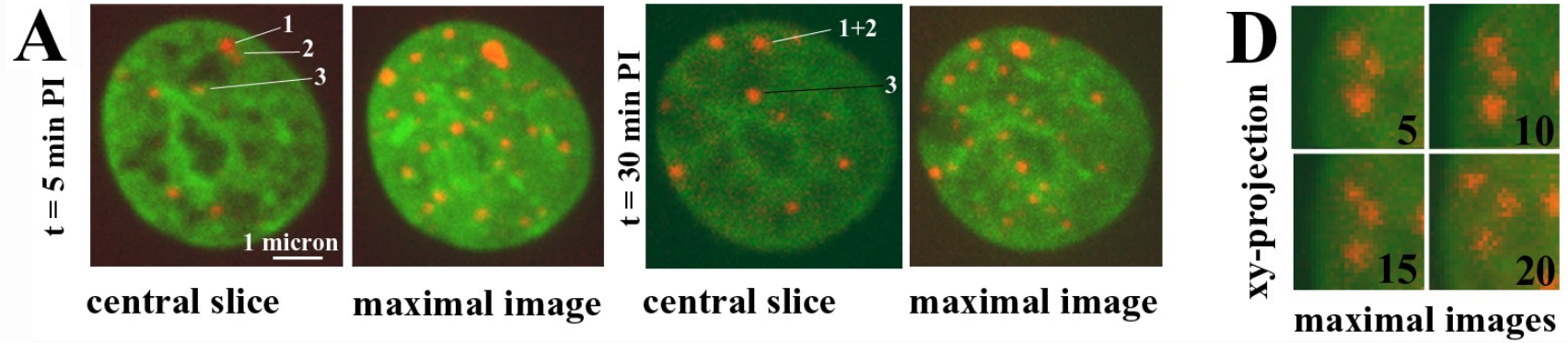
x-y (all figures)



3D-Projections



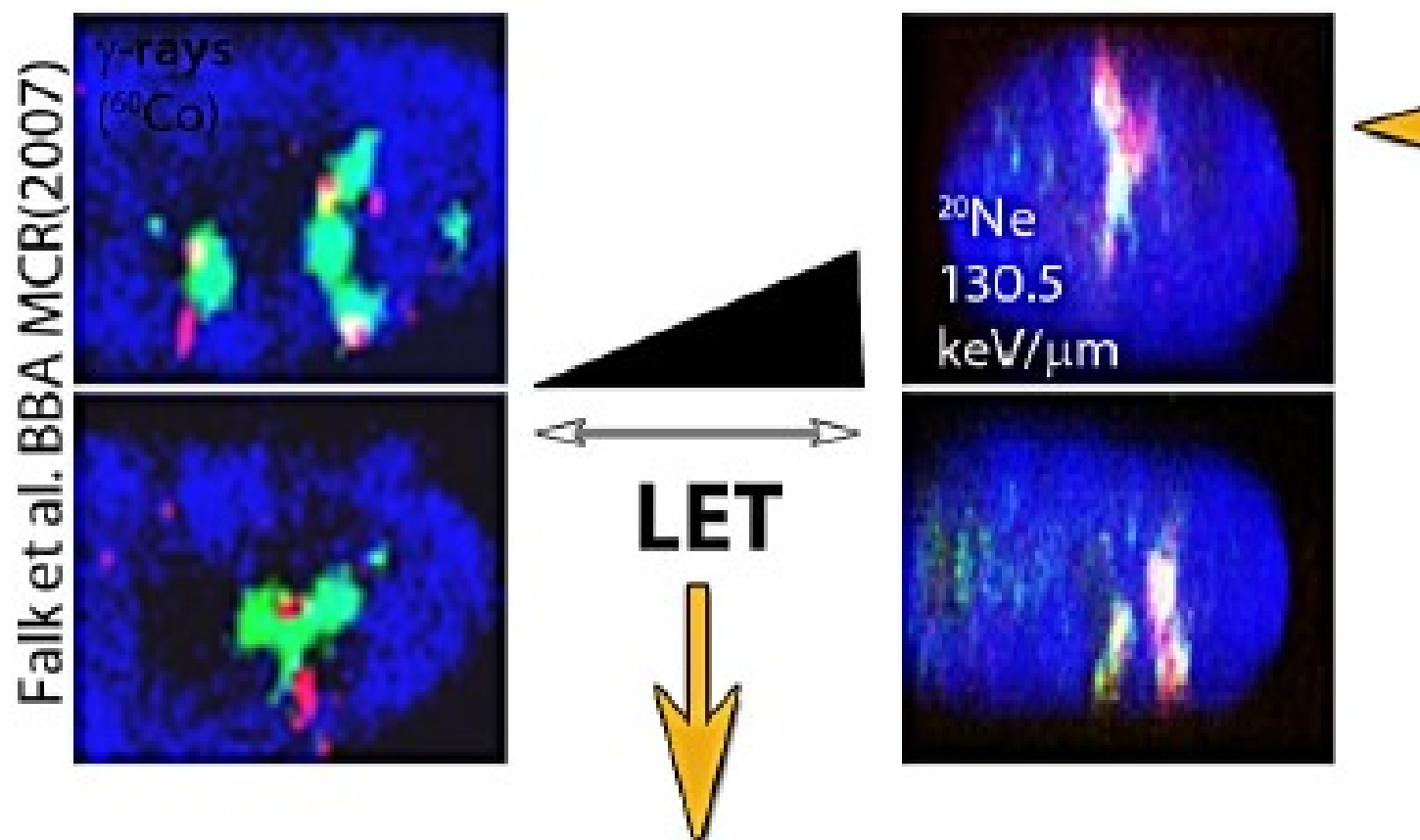
Pohyb DSBs z hustých chromatinových domén do řídkých pozorovaný na živých buňkách, dvojitě transfekovaných konstrukty s 53BP1-RFP a H2B-GFP (human MCF7 cells, 1.0 Gy)



IRIF CLUSTERS PRODUCED BY DSB REPAIR

D SECONDARY CLUSTERS

HIGHER-ORDER CLUSTERS



Nové typy radioterapie

Accelerated ion	Geometry (°)	LET (KeV/um)	Energy (MeV/nuklon)
¹¹ B	90	134,85	8,4
	10	138,9	8,11
²⁰ Ne	90	136,33	50,02
	41	130,5	47,51
¹² C	90	10	1 000

Protony

paprsky gama

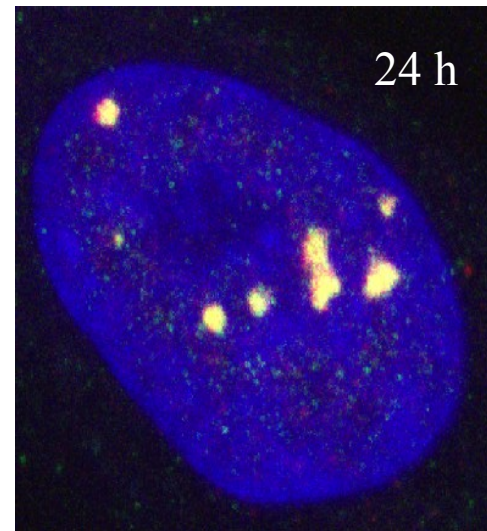
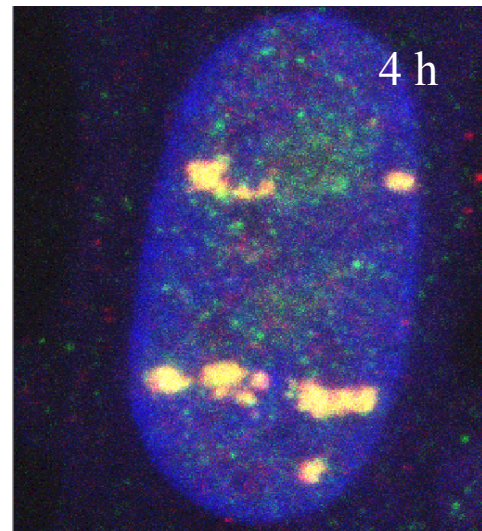
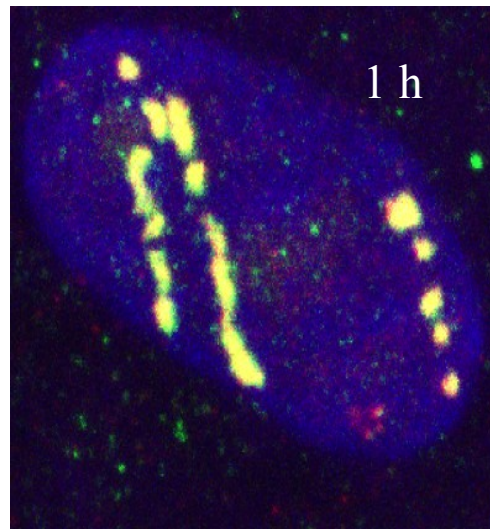
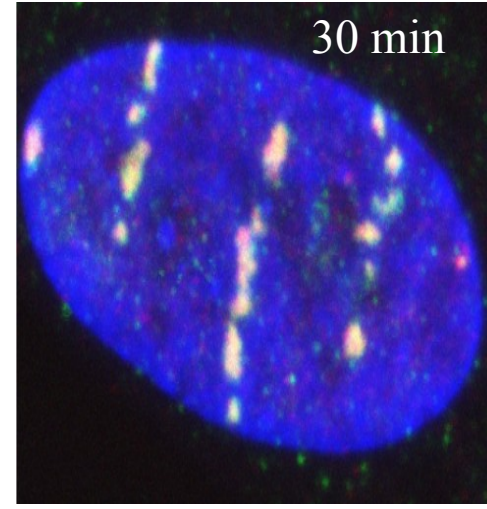
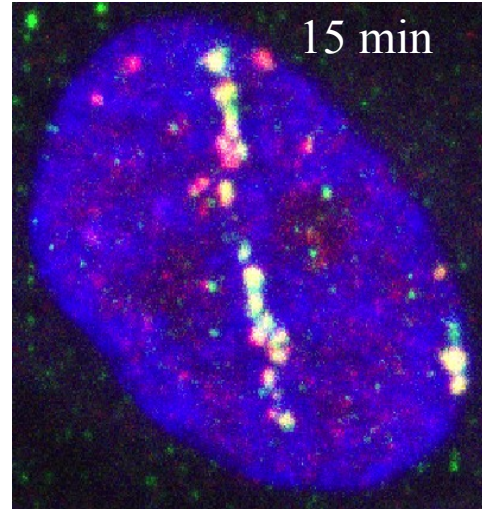
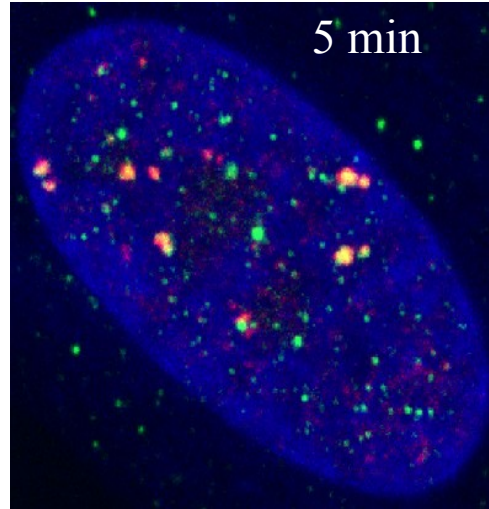
4 (p+ 10 MeV)

0,25 (60Co)

30 MeV, 15 MeV

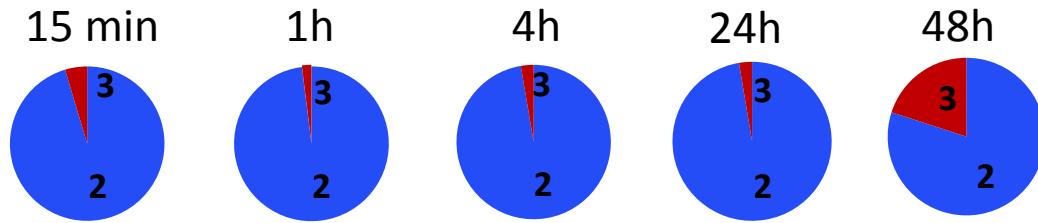
1,25 MeV

11B

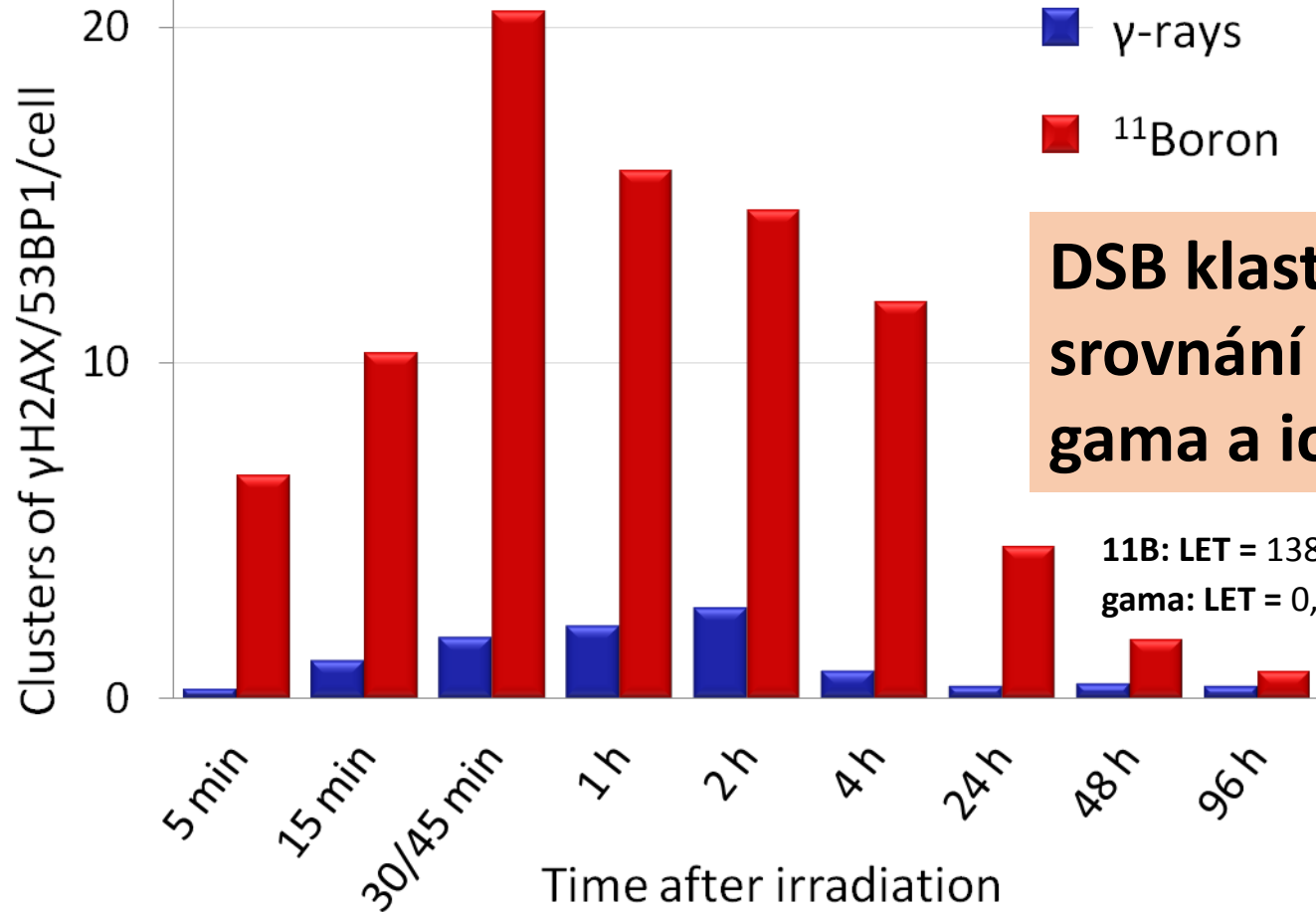
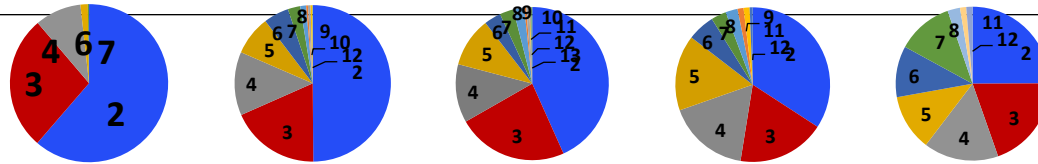




γ -rays



^{11}B ions



■ γ -rays

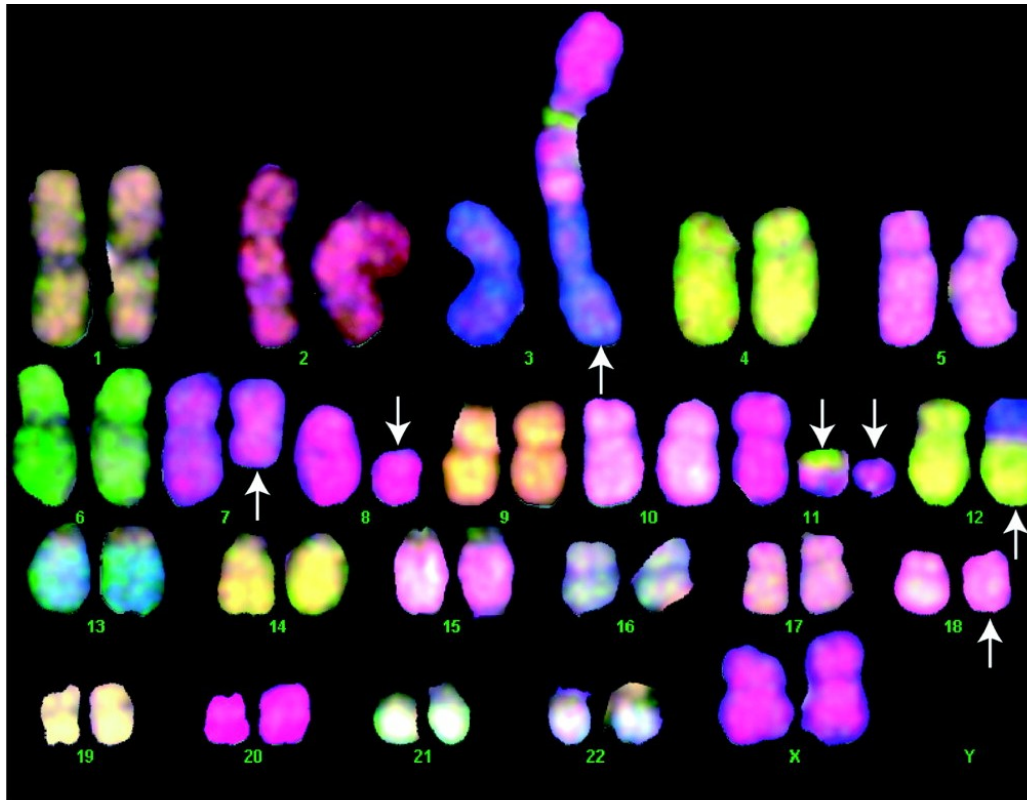
■ ^{11}B Boron

**DSB klastry
srovnání pro paprsky
gama a ionty ^{11}B**

^{11}B : LET = 138,9 keV/ μm , E = 8,11 MeV/n
gama: LET = 0,25 keV/ μm , E = 1,25 MeV

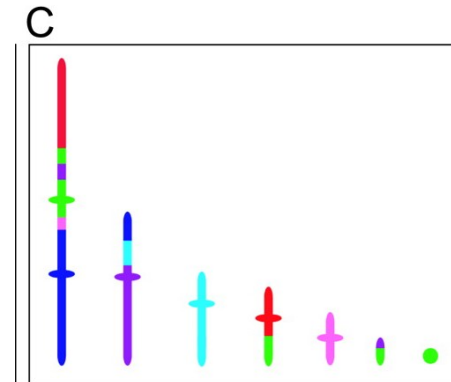
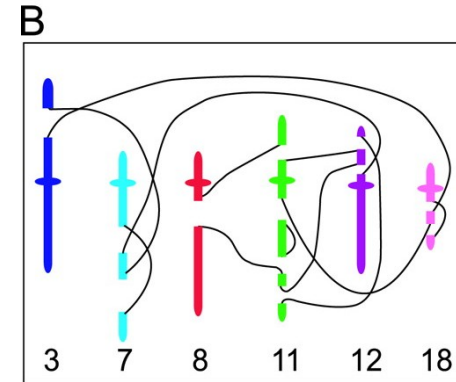
Hustě ionizující záření

- KOMPLEXNÍ CHROMOSOMÁLNÍ TRANSLOKACE
- často intra-chromosomální nebo mezi blízkými lokusy

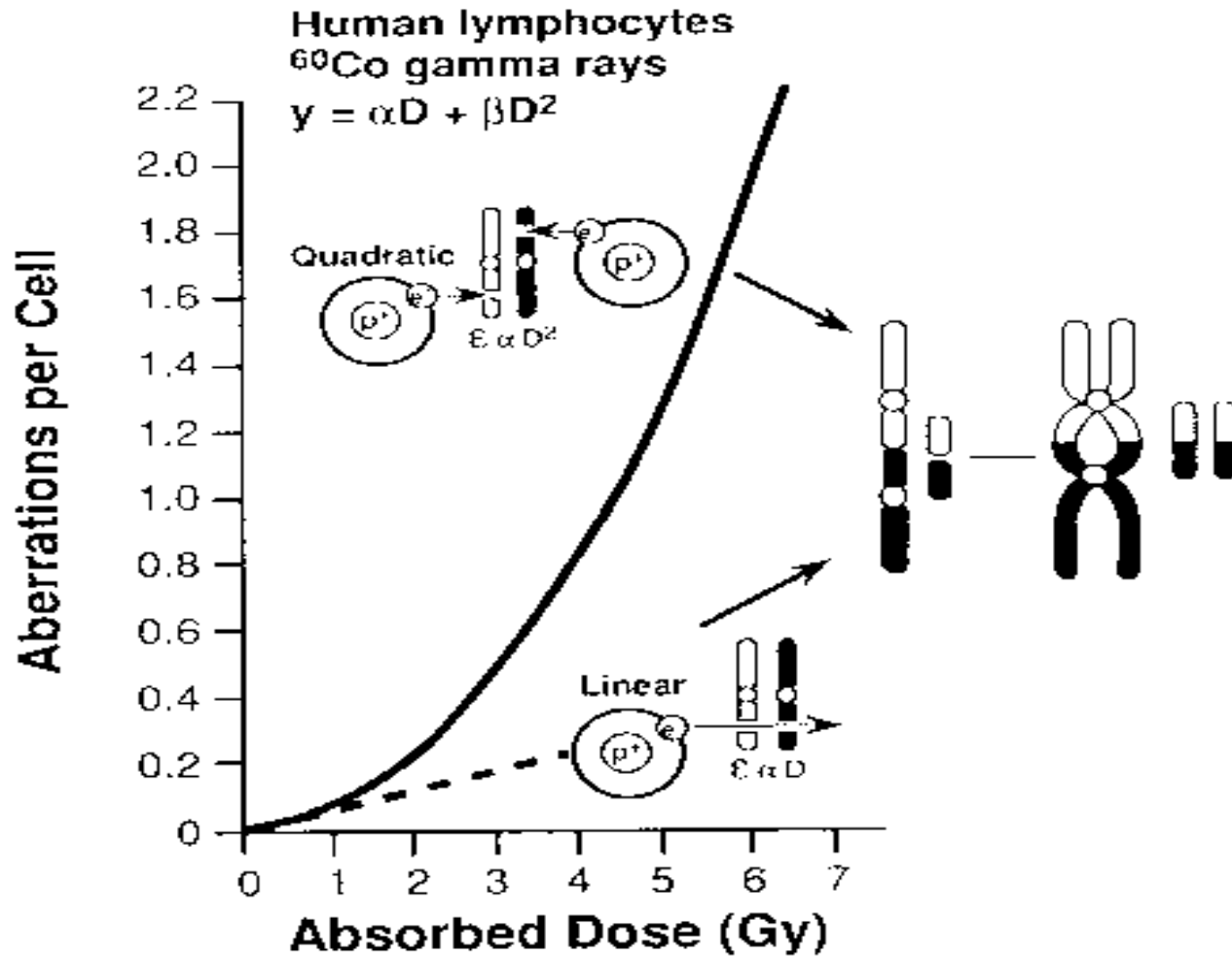


Anderson R M et al. PNAS 2002;99:12167-12172

Falk M: Indukce chromozomálních aberací ionizujícím zářením různých kvalit



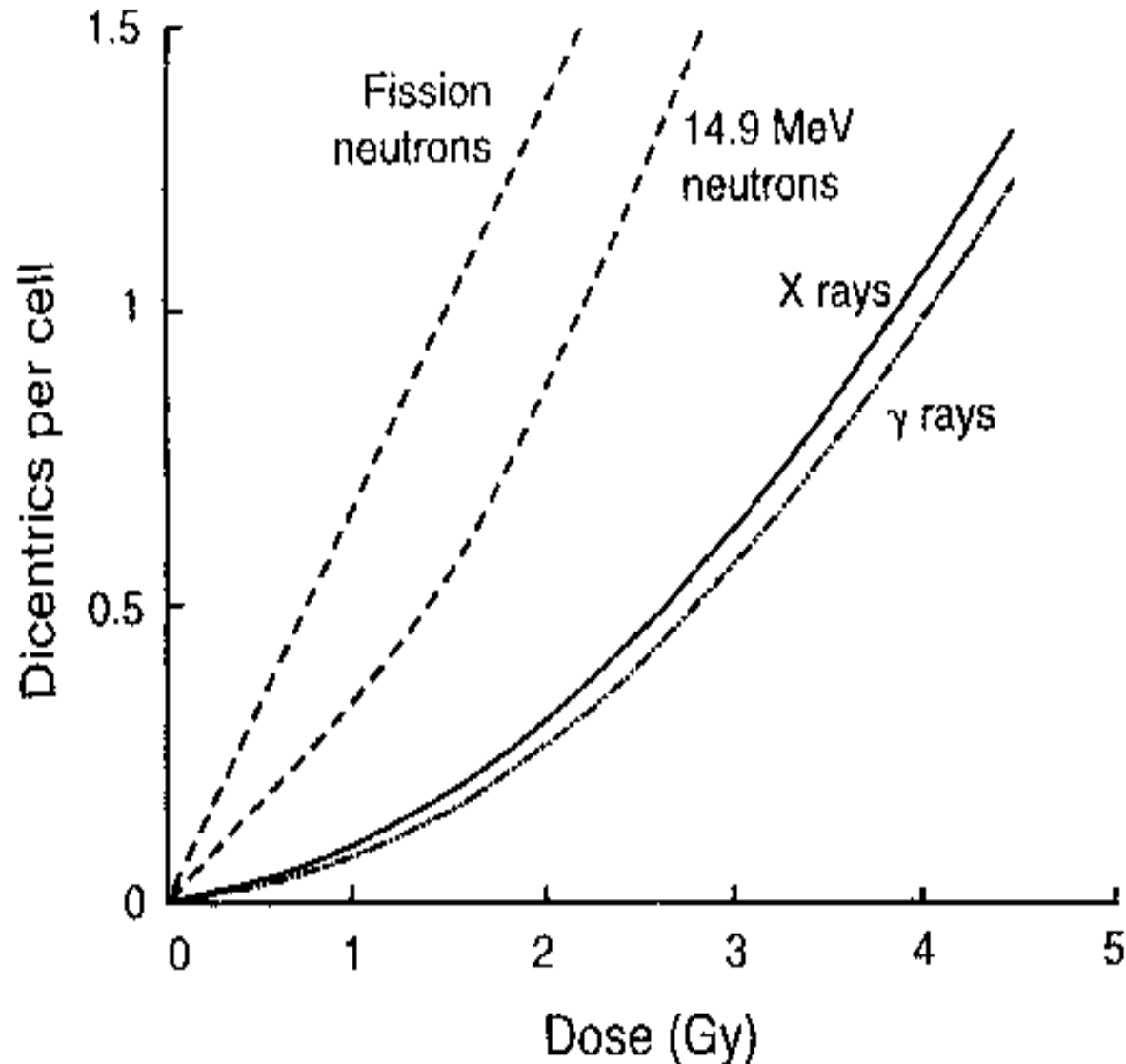
DOSE-RESPONSE CURVES



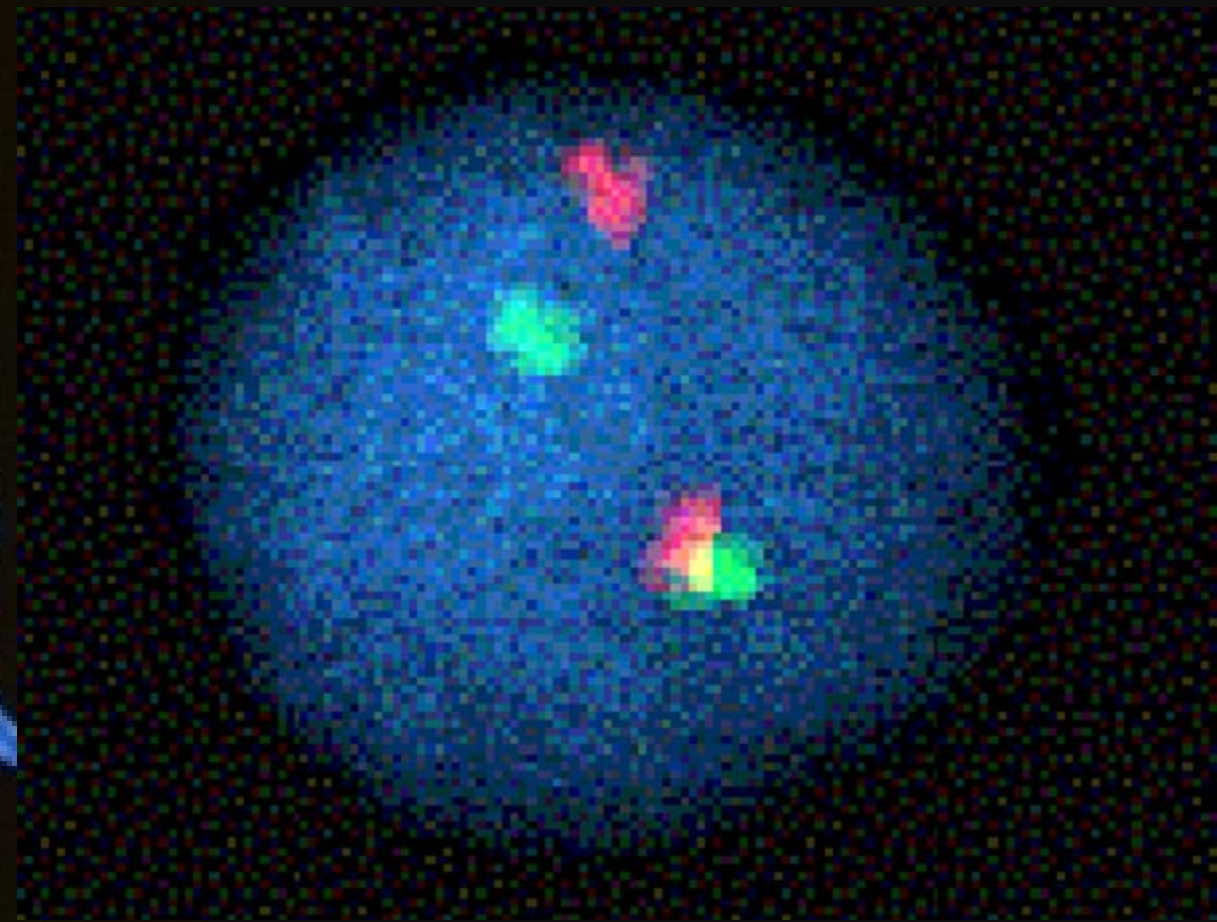
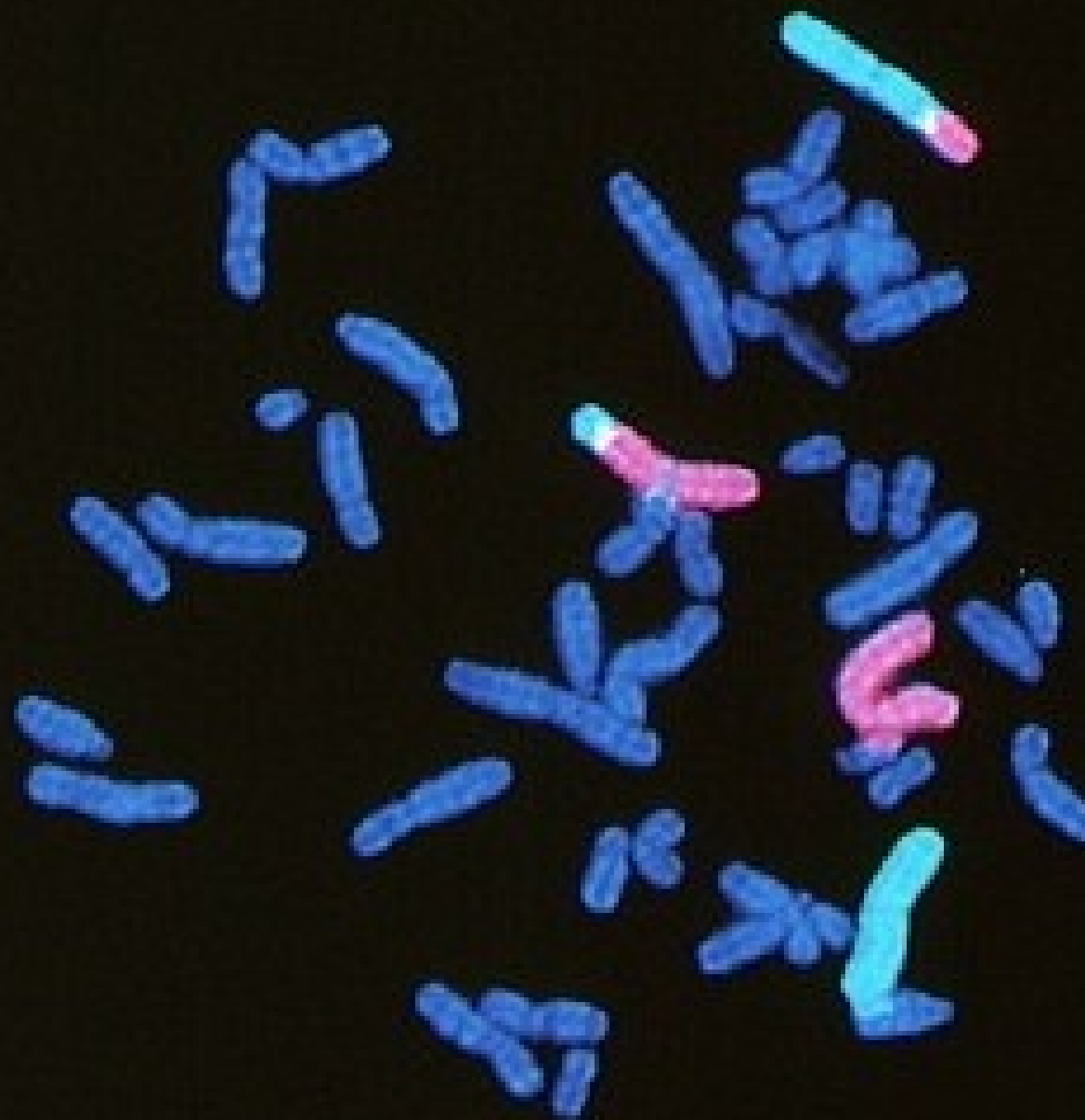
$Y = c + \alpha D + \beta D^2$
where Y is yield of dicentrics/cell,
 D is dose(Gy) and c, α, β are fitted
constants

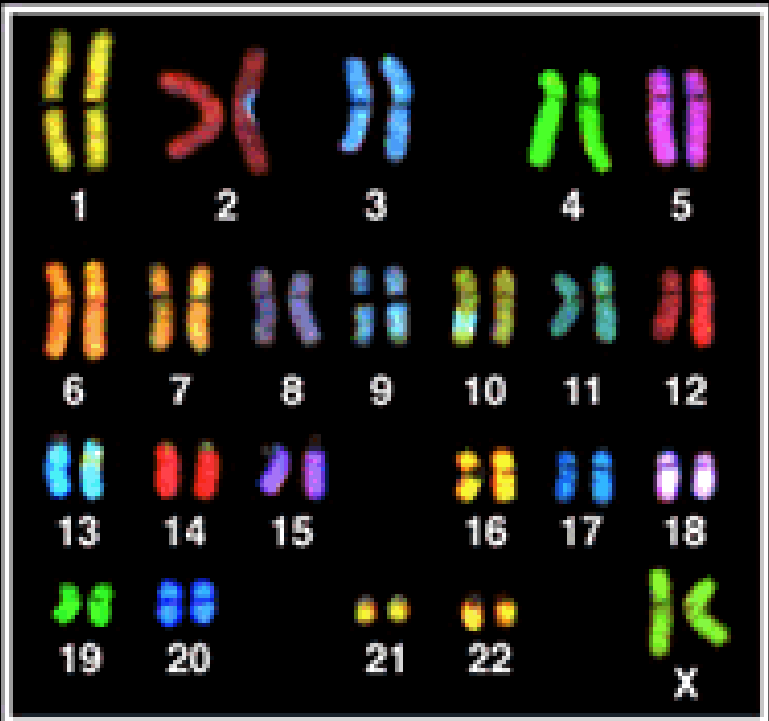
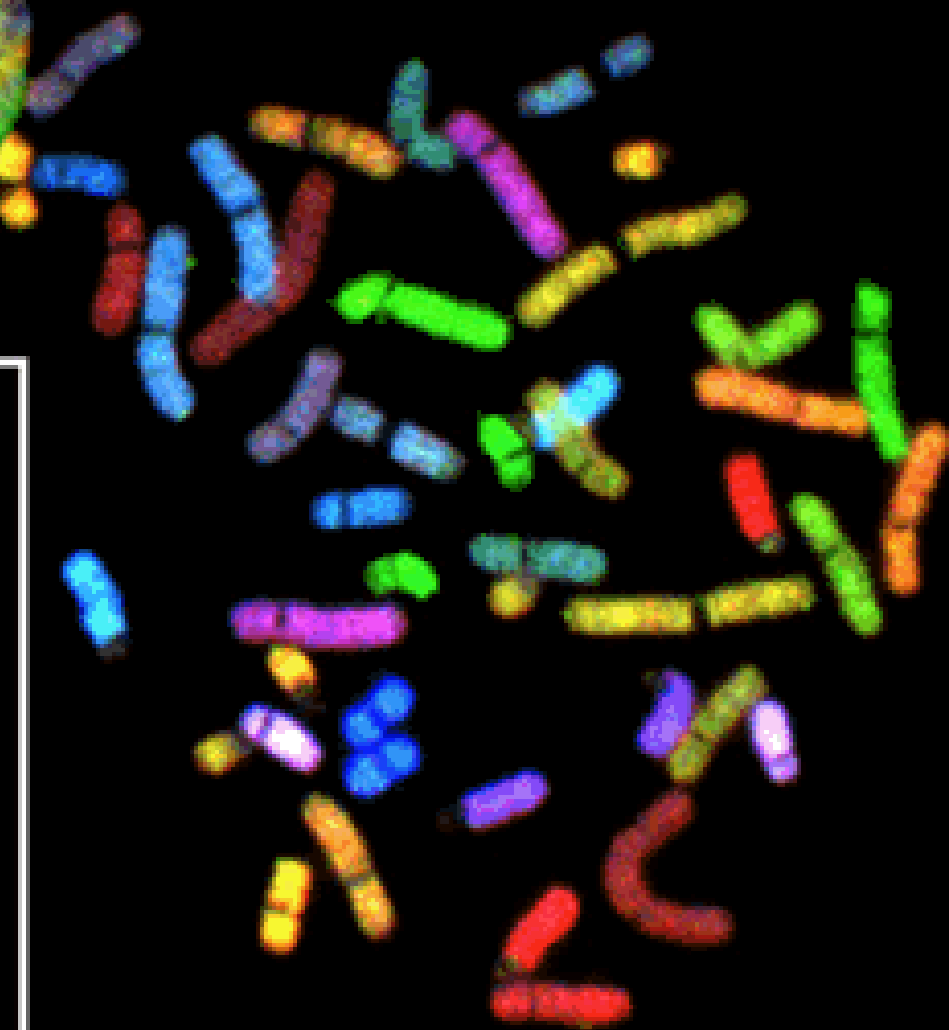
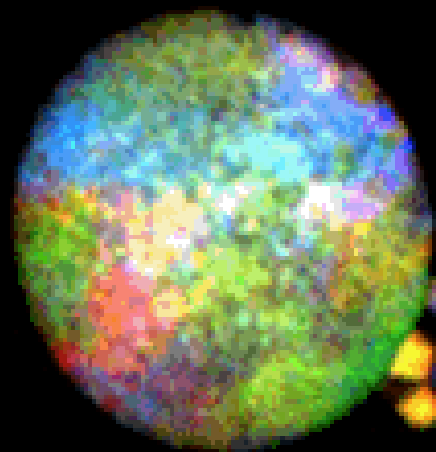
From: Radiobiology for the
Radiologist, pg 30

S rostoucím LET záření mizí kvadratická složka závislosti dávka/počet ChA



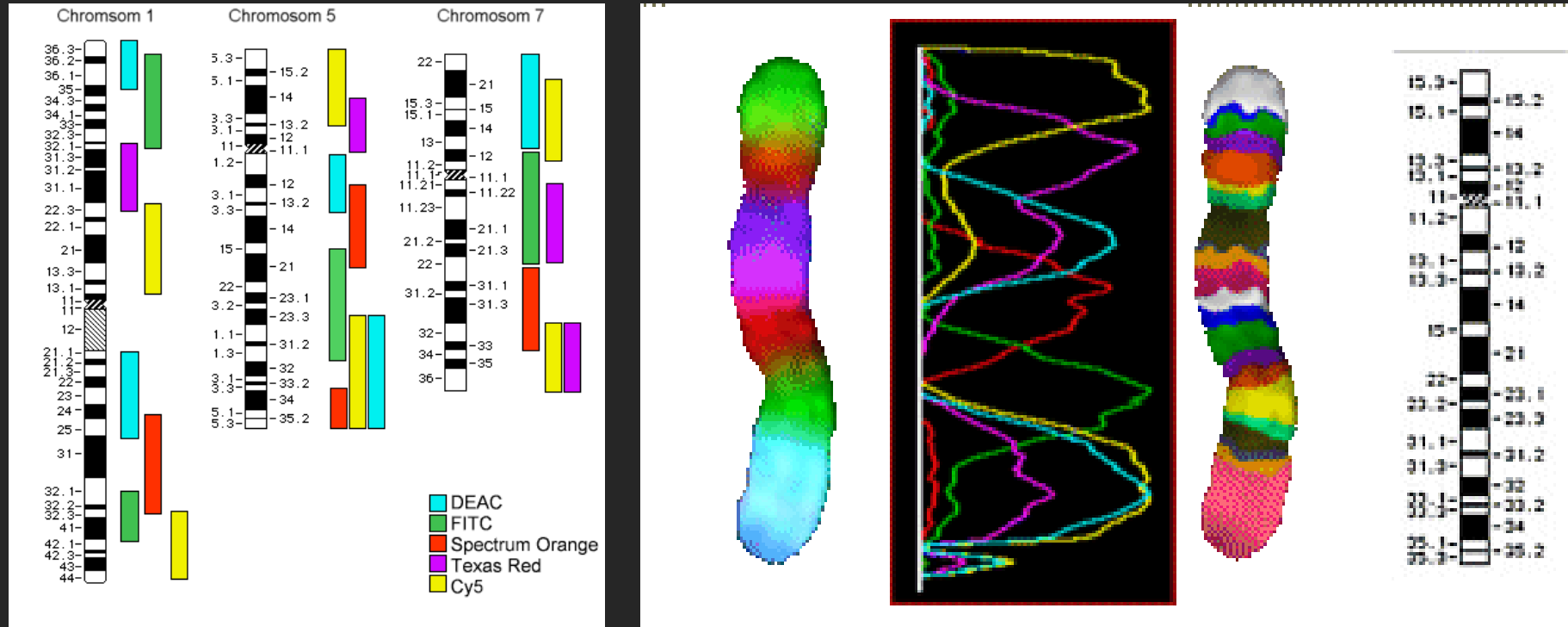
From: The use of Chromosomal Aberrations in Human Lymphocytes for Biological Dosimetry, pg S41





mBANDING

(moderní fluorescenční alternativa k cytologickému pruhování)

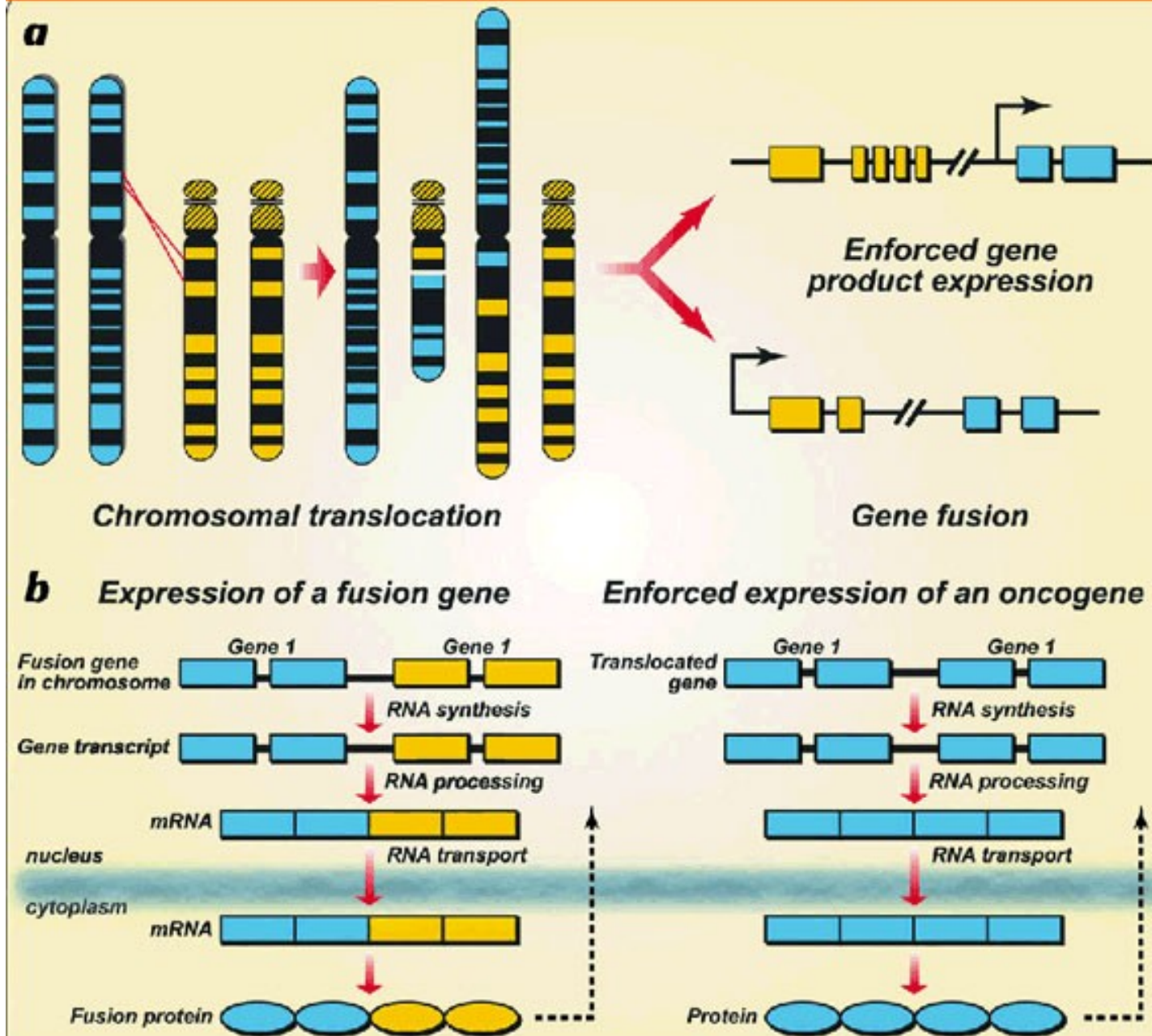


M- banding (**multi-coloured banding**) is introduced primarily for the purpose of observing intrachromosomal alterations. M- banding, a method of colouring a single chromosome with different bands of colour, can be used to detect intrachromosomal mutations. Using this technique, a set pattern of colours is produced along the length of the chromosome. Any change in the order of the colours will indicate an intrachromosomal rearrangement.

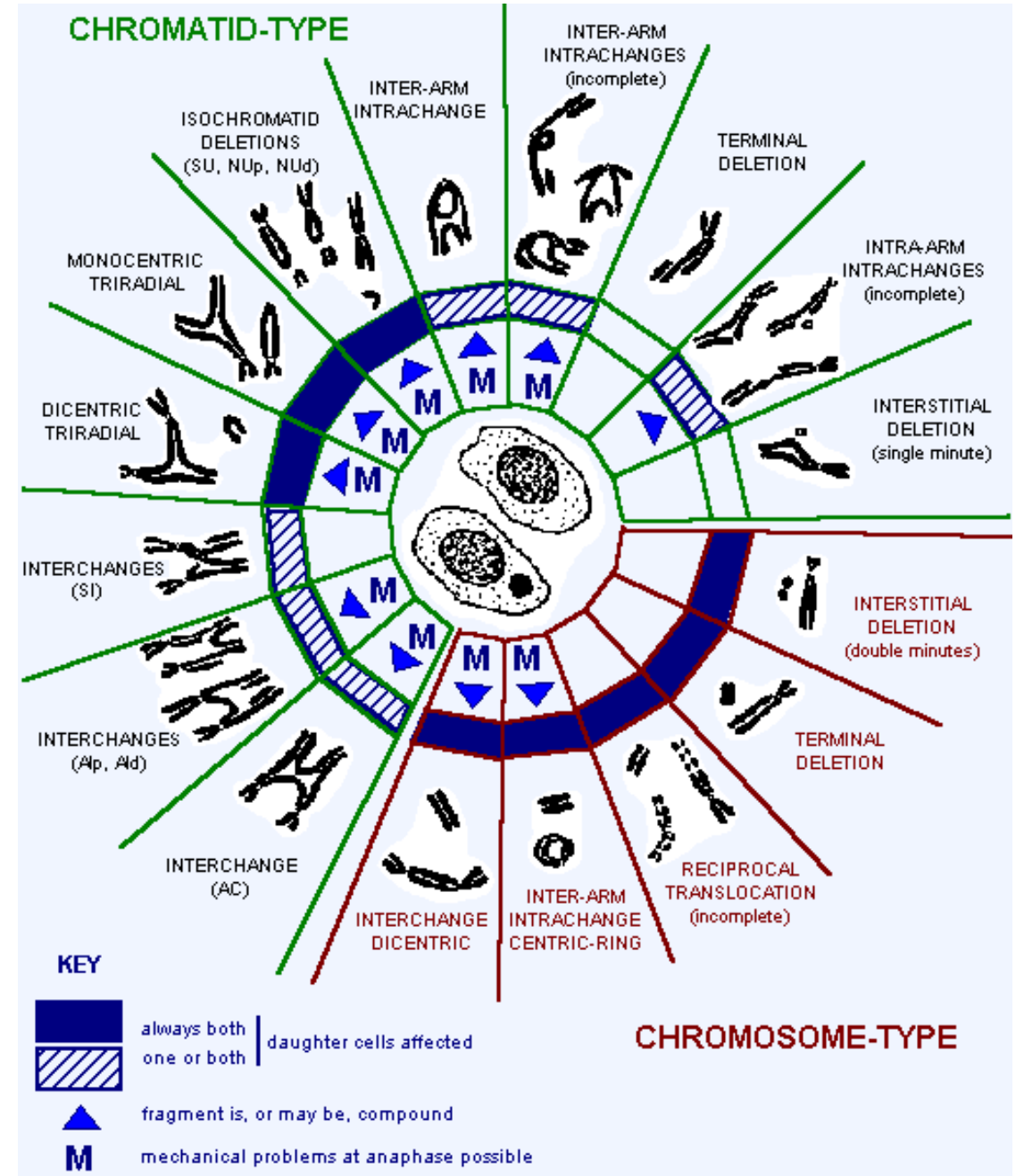
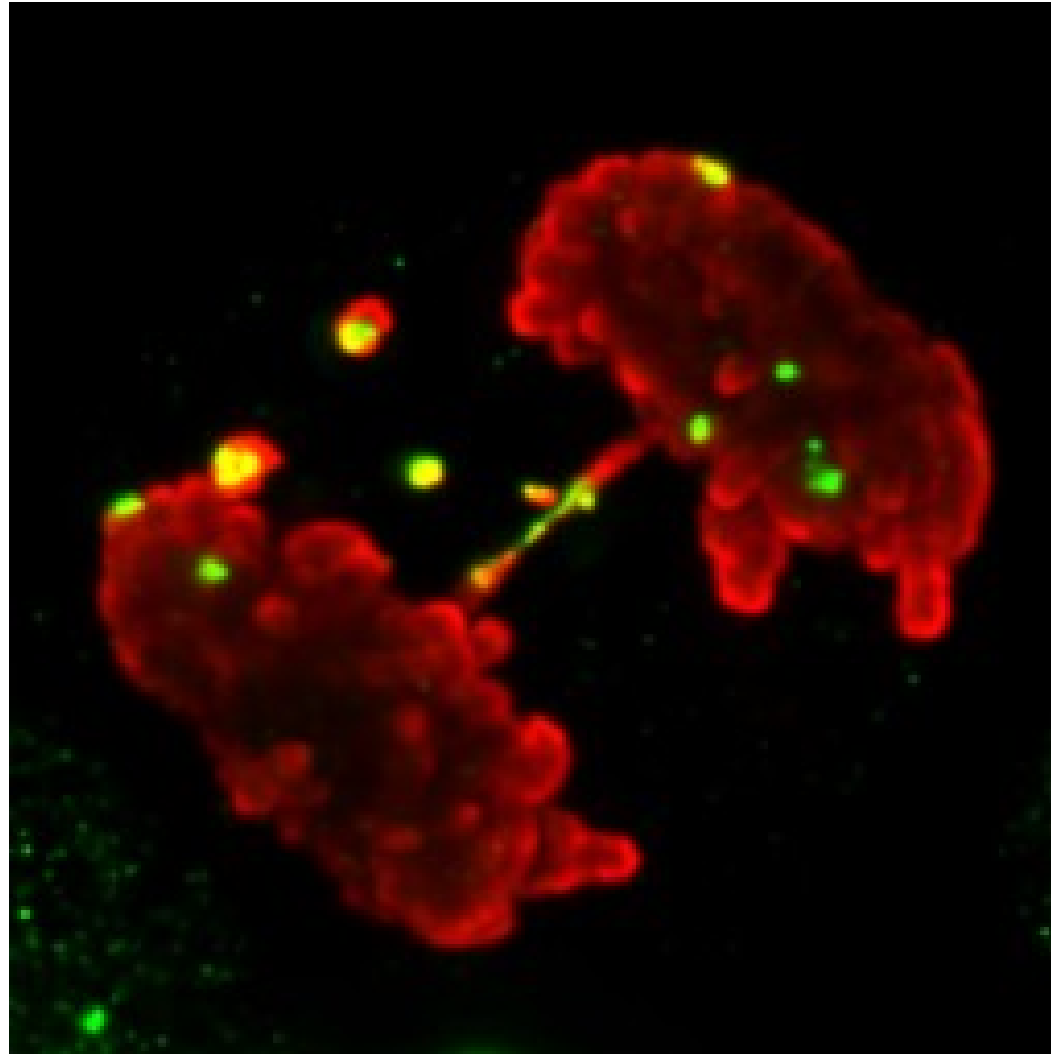
Translokace:
Dva způsoby aktivace
protoonkogenů:

a) zesílená exprese
protoonkogenů →
onkogen

b) exprese mitoticky
aktivnějších fúzních
proteinů (onkogenů)

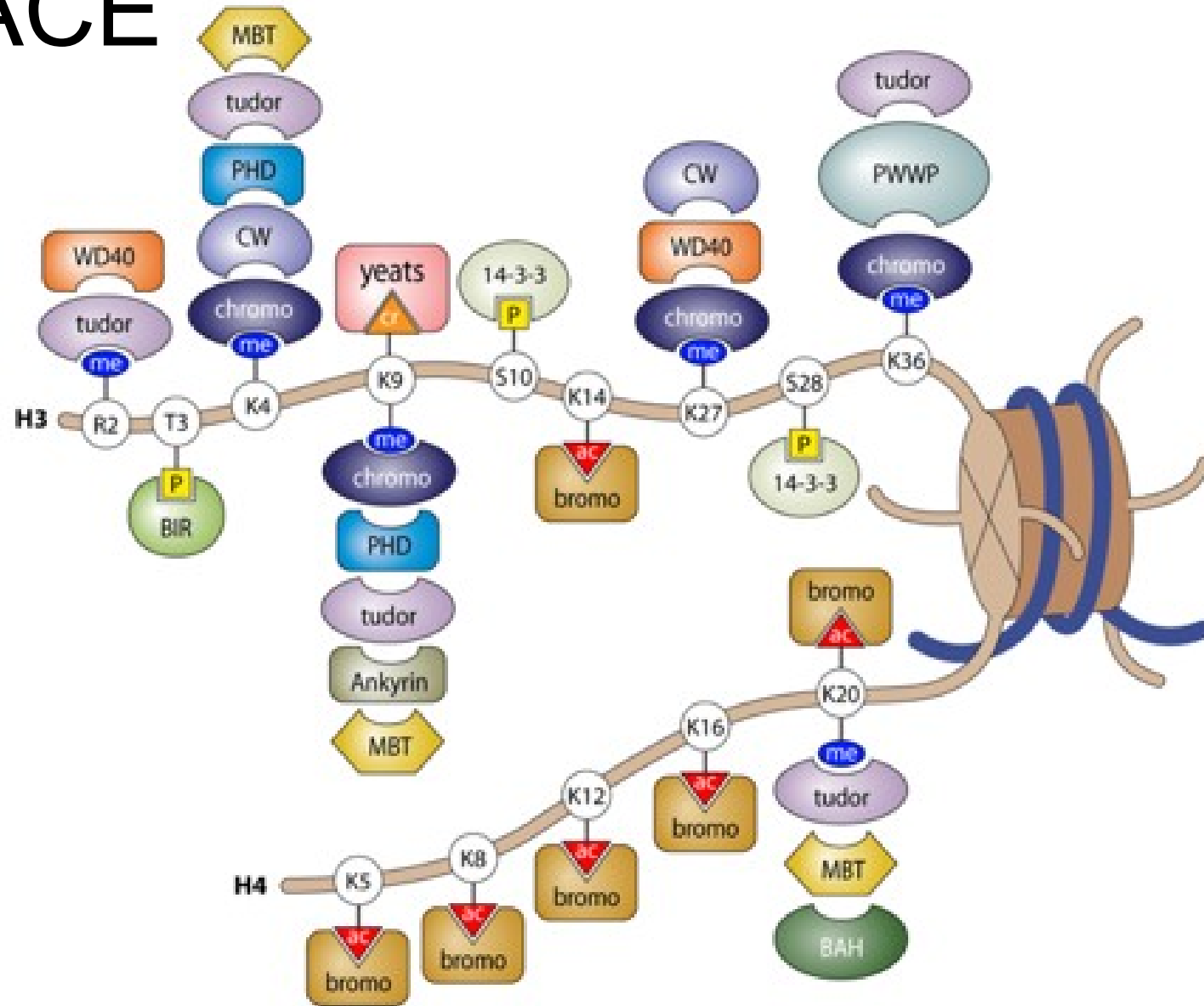


MITOTICKÁ SMRT NEBO TRANSFORMACE BUŇKY

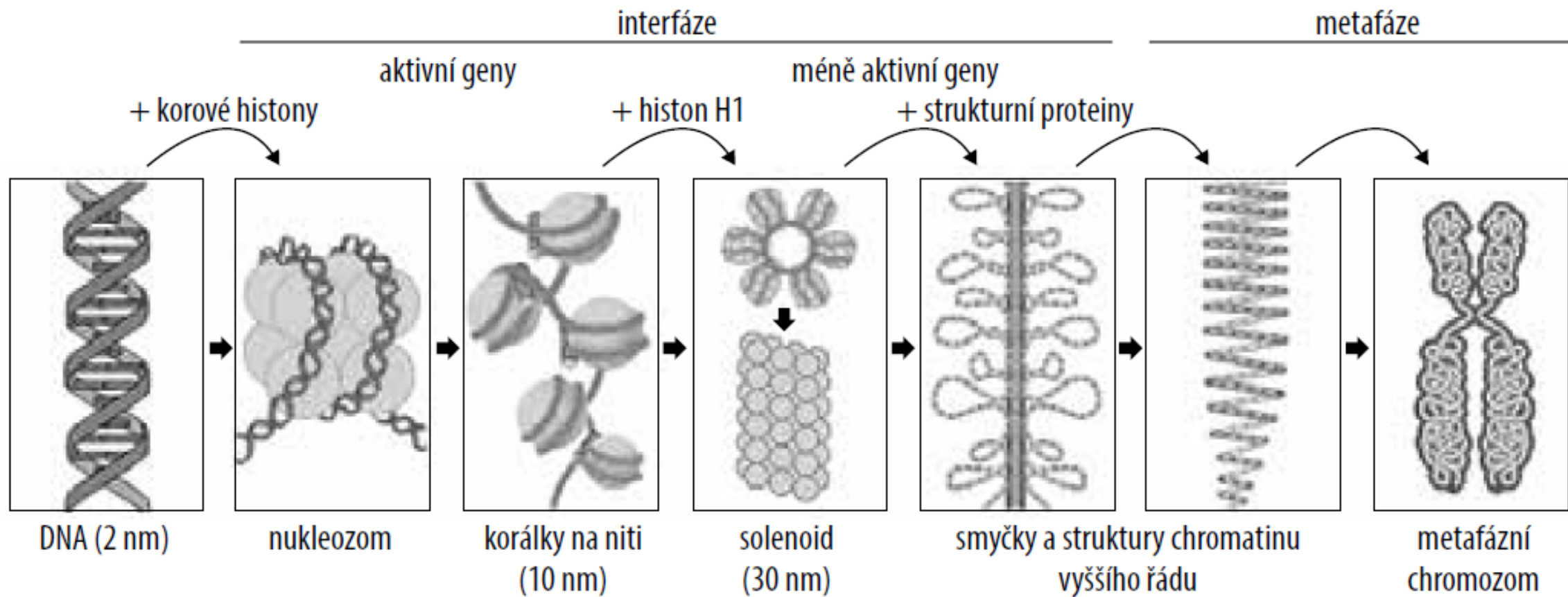


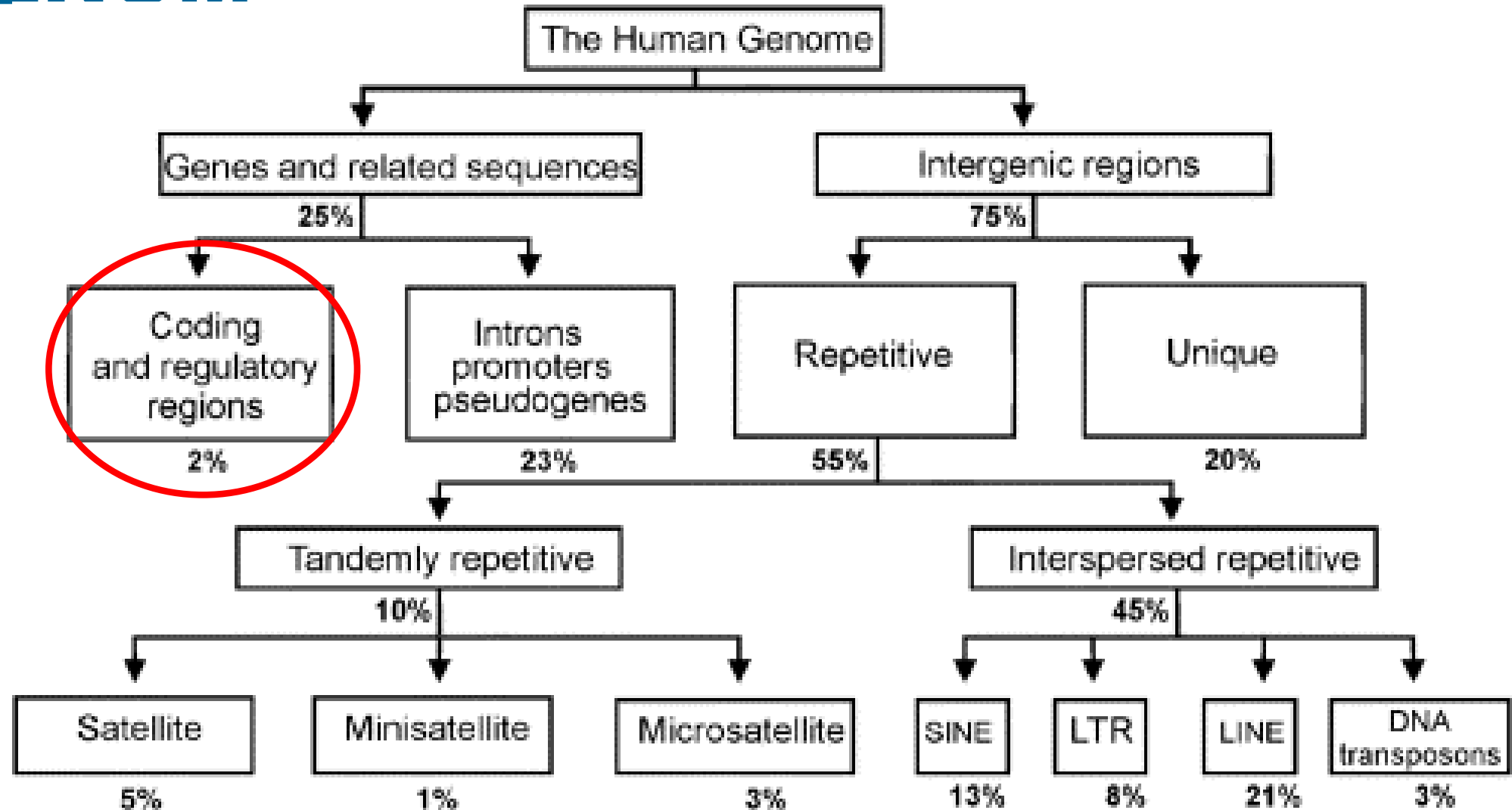
Histone Code 'readers'

EPIMUTACE

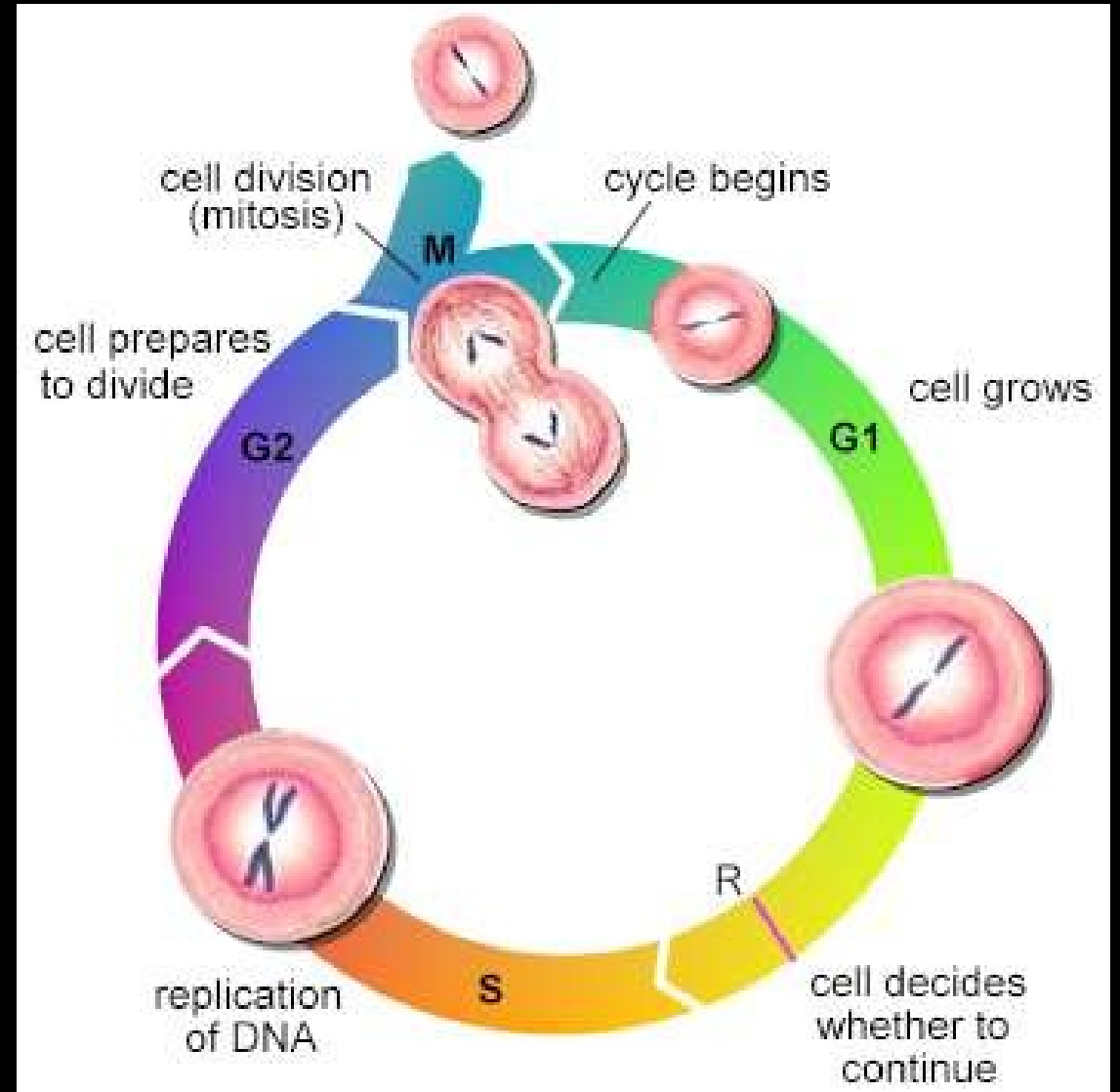
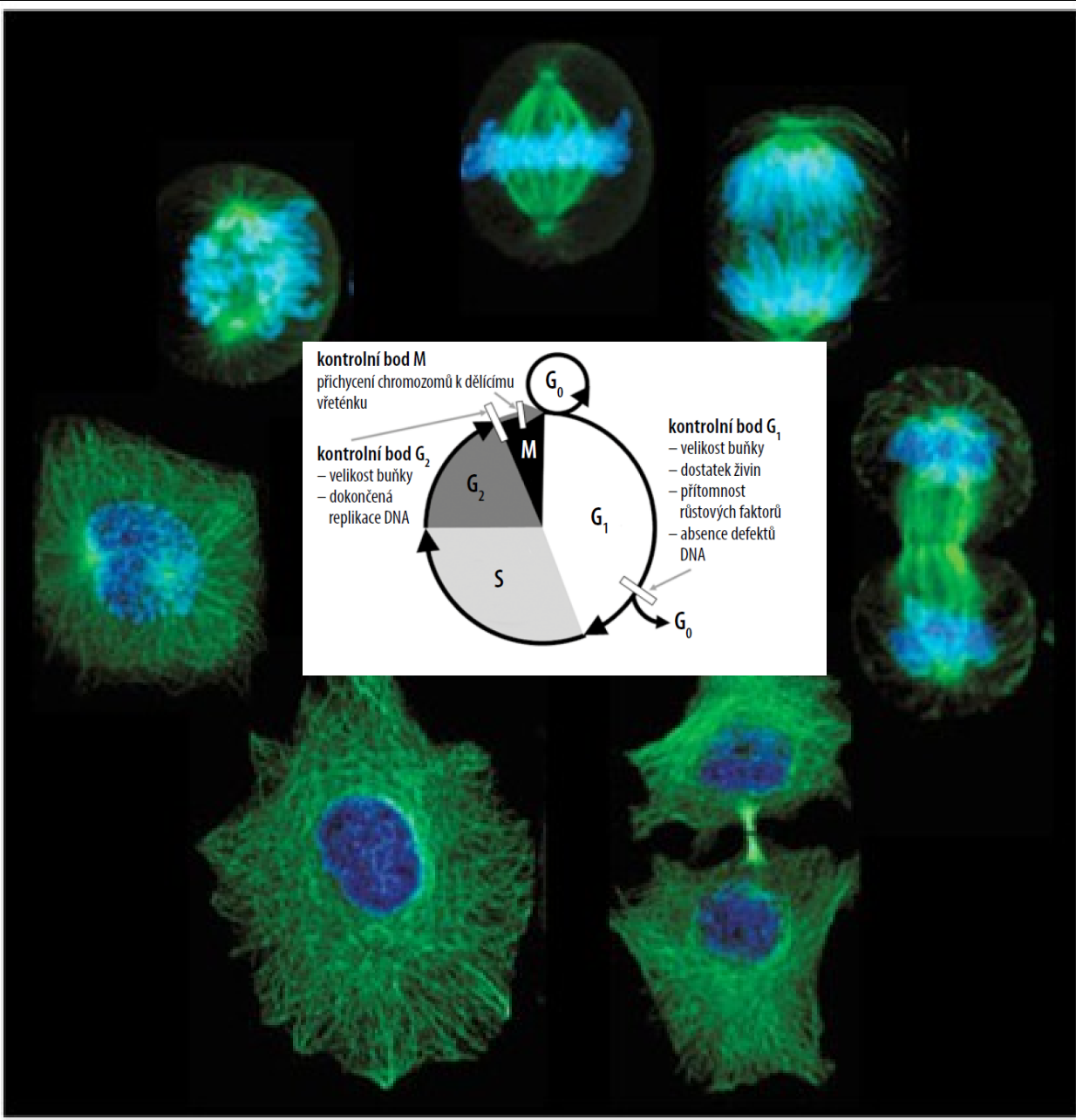


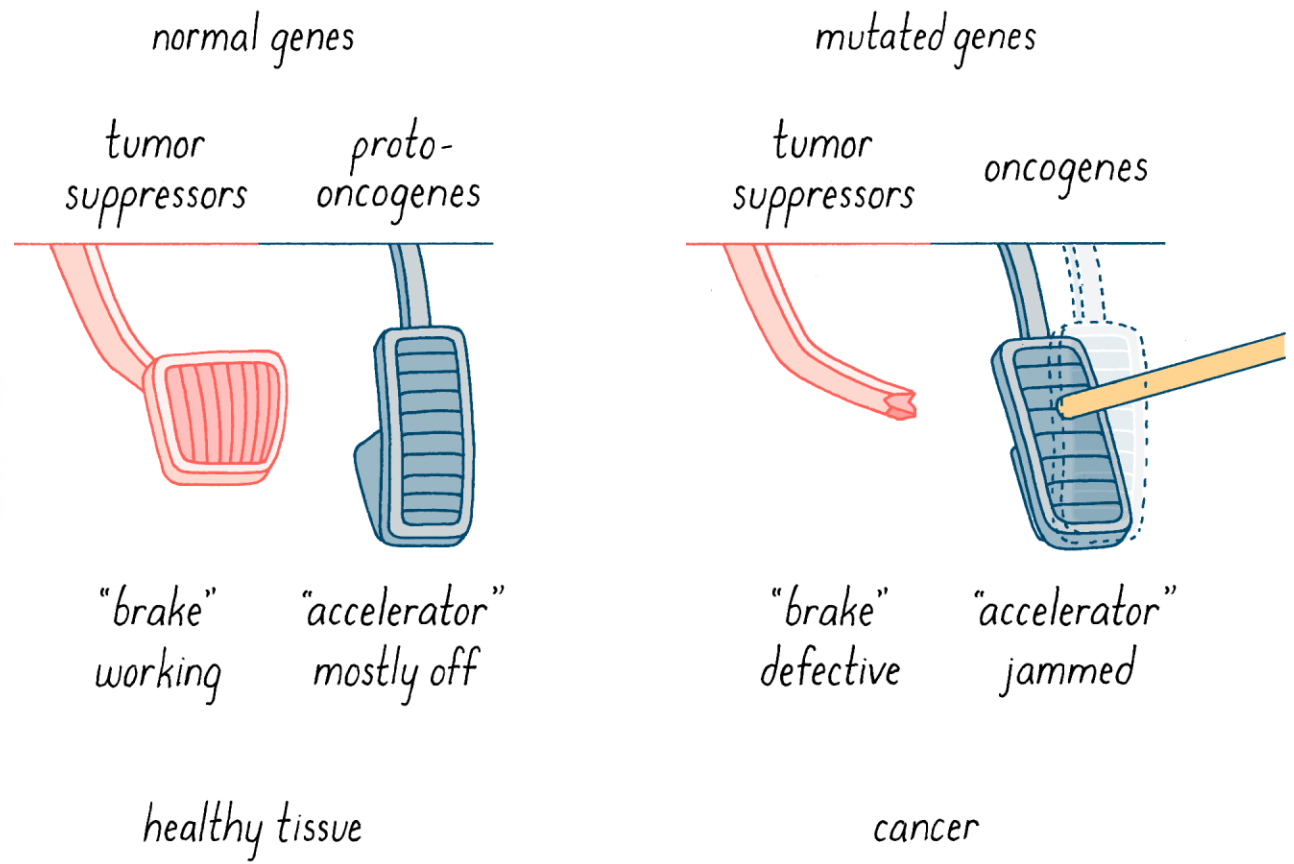
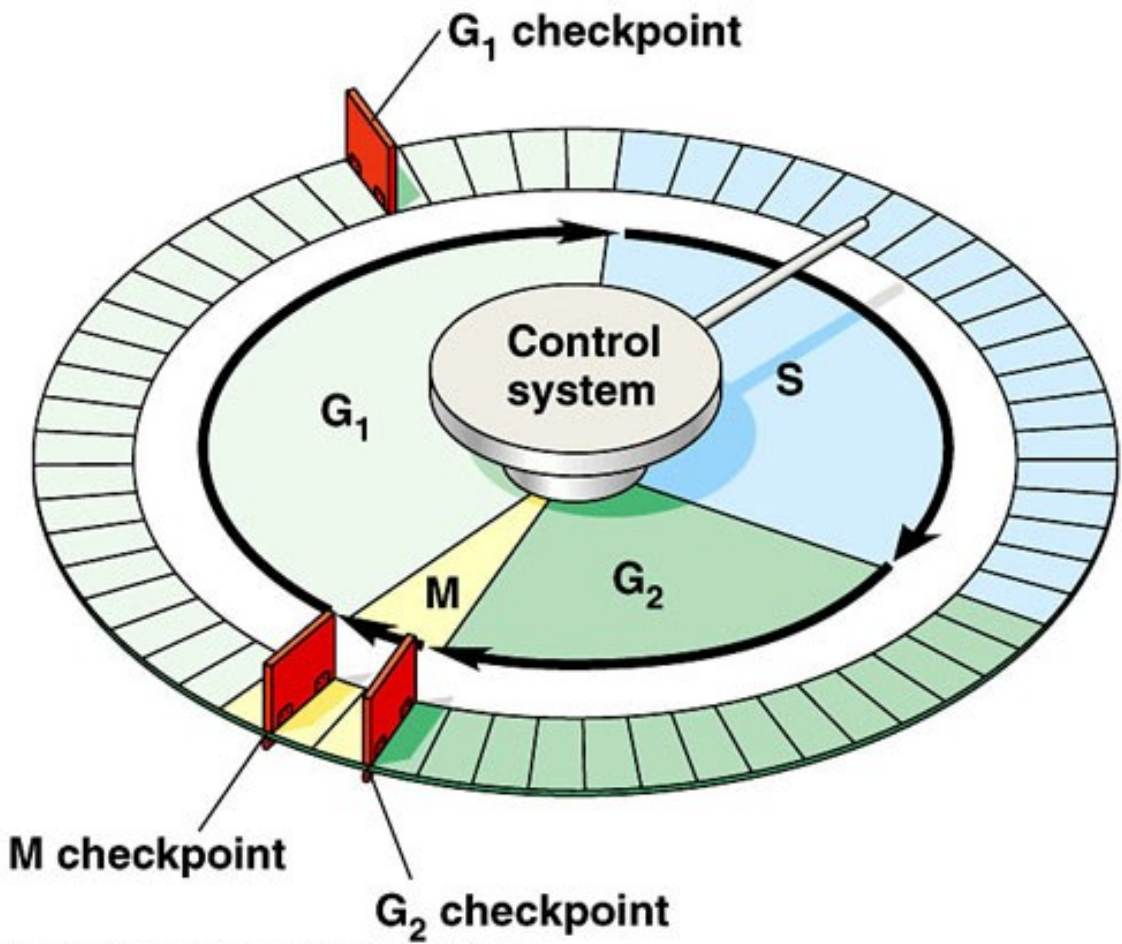
EPIMUTACE





BUNĚČNÝ CYKLUS





Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.