



# Βασικές αρχές ακτινοβιολογίας

Δέσποινα Σπυροπούλου

Επίκουρη Καθηγήτρια

Ακτινοθεραπευτικής Ογκολογίας

Ιατρικό Τμήμα Πανεπιστημίου Πατρών

# Σκοποί ενότητας

- Κατανόηση των μηχανισμών δράσης της ιοντίζουσας ακτινοβολίας στα κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των μηχανισμών επιδιόρθωσης και του κυτταρικού θανάτου
- Παρουσίαση των εφαρμογών της ακτινοβιολογίας στην ακτινοθεραπεία



Επανάληψη αρχών ακτινοφυσικής...

# Αρχές ακτινοφυσικής

Η απορρόφηση της ενέργειας της ακτινοβολίας από ένα βιολογικό υλικό έχει σαν αποτέλεσμα είτε τη **διέγερση** είτε τον **ιοντισμό** του ατόμου ή του μορίου

# Αρχές ακτινοφυσικής

- Όταν το ηλεκτρόνιο ενός ατόμου ή μορίου πηγαίνει σε υψηλότερο ενεργειακό επίπεδο, χωρίς το ηλεκτρόνιο να απορρίπτεται, τότε το φαινόμενο καλείται **διέγερση**
- Αν η ακτινοβολία προσδώσει στο ηλεκτρόνιο αρκετή ενέργεια, ώστε να απορρίψει ένα ή περισσότερα ηλεκτρόνια τροχιάς από το άτομο ή το μόριο, το φαινόμενο καλείται **ιοντισμός** και η ακτινοβολία καλείται ιοντίζουσα

# Αρχές ακτινοφυσικής

- Το κύριο χαρακτηριστικό των ιοντιζουσών ακτινοβολιών είναι η εντοπισμένη έκλυση μεγάλων ποσοτήτων ενέργειας (αρκετά υψηλότερων από αυτές που απαιτούνται για τη διατήρηση ενός χημικού δεσμού)
- Οι ιοντίζουσες ακτινοβολίες διακρίνονται σε ηλεκτρομαγνητικές και σωματιδιακές

# Ηλεκτρομαγνητικές ακτινοβολίες

- Τα περισσότερα πειράματα ακτινοβιολογίας έχουν γίνει είτε με ακτίνες X είτε με ακτίνες  $\gamma$
- Οι ακτίνες X και  $\gamma$ , δεν διαφέρουν ως προς τη φύση τους και τις ιδιότητές τους
- Η διάκρισή τους βασίζεται στον τρόπο παραγωγής τους: **οι ακτίνες X δημιουργούνται έξω από τον πυρήνα, ενώ οι  $\gamma$  παράγονται μέσα στον πυρήνα**
- Πρακτικά, αυτό σημαίνει ότι οι ακτίνες X παράγονται από την ακτινολογική λυχνία, ενώ οι  $\gamma$  εκπέμπονται από ραδιενεργά ισότοπα

# Ηλεκτρομαγνητικές ακτινοβολίες

- Οι ακτίνες Χ αποτελούνται από φωτόνια
- Όταν οι ακτίνες Χ απορροφούνται από το κύτταρο, τότε αποθηκεύεται σε αυτό ενέργεια ανομοιόμορφα, σε διακριτά πακέτα, καθένα από τα οποία είναι αρκετά μεγάλο για να σπάσει ένα χημικό δεσμό και να πυροδοτήσει μια αλυσίδα γεγονότων που ολοκληρώνεται με μια **βιολογική αλλαγή!**



# Σωματιδιακές ακτινοβολίες

- **Ηλεκτρόνια:** μικρά αρνητικά φορτισμένα σωματίδια που μπορούν να επιταχυνθούν με ταχύτητα που πλησιάζει την ταχύτητα του φωτός, με τη βοήθεια συσκευών, όπως το βητατρόνιο ή ο γραμμικός επιταχυντής (έχουν ευρέα χρήση στην ακτινοθεραπεία)
- **Πρωτόνια:** θετικά φορτισμένα σωματίδια με μάζα σχεδόν 2000 φορές μεγαλύτερη από αυτή των ηλεκτρονίων. Εξαιτίας της μάζας τους χρειάζονται πολύπλοκα και ακριβά μηχανήματα
- **α-σωματίδια:** είναι πυρήνες ατόμων ηλίου και αποτελούνται από δύο πρωτόνια και δύο νετρόνια. Κύρια πηγή τους είναι το ραδόνιο

# Μια άλλη ταξινόμηση των ιοντιζουσών ακτινοβολιών...

- 1) Άμεσα ιοντίζουσες
- 2) Έμμεσα ιοντίζουσες

# Άμεσα ιοντίζουσες ακτινοβολίες

- Όλα τα φορτισμένα σωματίδια που αναφέρθηκαν παραπάνω είναι άμεσα ιοντίζοντα.

Αυτό σημαίνει ότι εάν το κάθε σωματίδιο έχει αρκετά μεγάλη κινητική ενέργεια, μπορεί να τροποποιήσει τη δομή του «απορροφητή» μέσω του οποίου περνά, και να προκαλέσει στη συνέχεια χημικές και βιολογικές μεταβολές

# Έμμεσα ιοντίζουσες ακτινοβολίες

- Οι ακτίνες  $X$  και  $\gamma$  είναι έμμεσα ιοντίζουσες:

δεν προκαλούν χημικές και βιολογικές μεταβολές από μόνες τους, αλλά μόνο όταν απορροφηθούν από το υλικό μέσω του οποίου περνούν - αλληλεπιδρώντας με άλλα άτομα ή μόρια μέσα στο κύτταρο!

# Έμμεση δράση ακτίνων X

## Αλυσίδα γεγονότων

- 1) Προσπίπτον φωτόνιο ακτίνων X
- 2) Ταχέως κινούμενο ηλεκτρόνιο
- 3) Ιοντίζουσα ρίζα
- 4) Ελεύθερη ρίζα
- 5) Χημικές αλλαγές από σπάσιμο δεσμών
- 6) **Βιολογικά αποτελέσματα!**

Το στάδιο μεταξύ του σπασίματος των χημικών δεσμών και της έκφρασης του βιολογικού αποτελέσματος μπορεί να διαρκέσει ώρες, ημέρες ή και χρόνια!

# Ορισμός της ακτινοβιολογίας

- Η ακτινοβιολογία μελετά τις επιδράσεις της ιοντίζουσας ακτινοβολίας στο κύτταρο, στους ιστούς, στα όργανα και στο ανθρώπινο σώμα  
*(The branch of biology that studies the effects of radiation on living organisms)*
- Τα αποτελέσματα της ακτινοβιολογικής έρευνας υποστηρίζουν όλες τις εφαρμογές των ιοντιζουσών ακτινοβολιών-ιατρικές και μη

# Η συμβολή της ακτινοβιολογίας στην ιατρική

- Κατανόηση των βιολογικών μηχανισμών
- Ανάπτυξη νέων θεραπευτικών μεθόδων
- Καλύτερη προστασία των έμβιων όντων

# Ιοντισμός και παραγωγή ελεύθερων ριζών

- Οι έμμεσα ιοντίζουσες ακτινοβολίες (ακτίνες X και  $\gamma$ ) έχουν ως αποτέλεσμα την παραγωγή *ελεύθερων ριζών!*



# Ελεύθερες ρίζες - Ορισμός

- Ελεύθερη ρίζα είναι ένα ελεύθερο (μη δεσμευμένο) άτομο ή μόριο, το οποίο έχει ένα αζευγάρωτο (δεν σχηματίζει ζεύγος με άλλο ηλεκτρόνιο με αντίθετο spin) τροχιακό ηλεκτρόνιο στην εξωτερική στοιβάδα.  
(Ένα τροχιακό ηλεκτρόνιο όχι μόνο περιφέρεται γύρω από τον πυρήνα ενός ατόμου, αλλά επίσης, περιστρέφεται γύρω από τον δικό του άξονα. Η περιστροφή αυτή μπορεί να γίνεται είτε με τη φορά των δεικτών του ρολογιού είτε αντίστροφα)

# Ελεύθερες ρίζες

- Σε ένα άτομο ή μόριο με ζυγό αριθμό ηλεκτρονίων, οι περιστροφές των ηλεκτρονίων εξισορροποούνται ανά δύο.
- Αυτό σημαίνει, ότι για κάθε ηλεκτρόνιο που περιστρέφεται με τη φορά των δεικτών του ρολογιού, υπάρχει κάποιο άλλο που περιστρέφεται αντίστροφα – η κατάσταση αυτή χαρακτηρίζεται από **υψηλό βαθμό χημικής σταθερότητας!**
- Αντίθετα, σε ένα άτομο ή μόριο με μονό αριθμό ηλεκτρονίων, υπάρχει ένα ηλεκτρόνιο στην εξωτερική του στοιβάδα, για το οποίο δεν υπάρχει ηλεκτρόνιο με αντίστροφη περιστροφή – αζευγάρωτο ηλεκτρόνιο – η κατάσταση χαρακτηρίζεται από **υψηλό βαθμό χημικής αστάθειας!**

# Ελεύθερες ρίζες

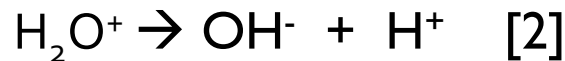
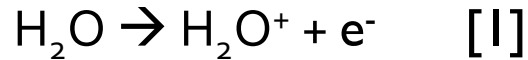
- Είναι λοιπόν κατανοητό ότι η σταθερότητα απαιτεί ζυγό αριθμό ηλεκτρονίων στην εξωτερική στοιβάδα!
- Ως εκ τούτου, **οι ελεύθερες ρίζες είναι βραχύβιες και εξαιρετικά δραστικές!!!**

## Πιο απλά...

- Ας σκεφτούμε τι συμβαίνει όταν η ακτινοβολία αλληλεπιδρά με ένα μόριο νερού (δεδομένου ότι το 80% ενός κυττάρου αποτελείται από νερό)...
- Ως αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης με ένα φωτόνιο ακτίνων Χ ή γ ή ένα φορτισμένο σωματίδιο, όπως ένα ηλεκτρόνιο ή πρωτόνιο, το μόριο του νερού μπορεί να ιονισθεί

# Ελεύθερες ρίζες

## Ιοντισμός νερού:

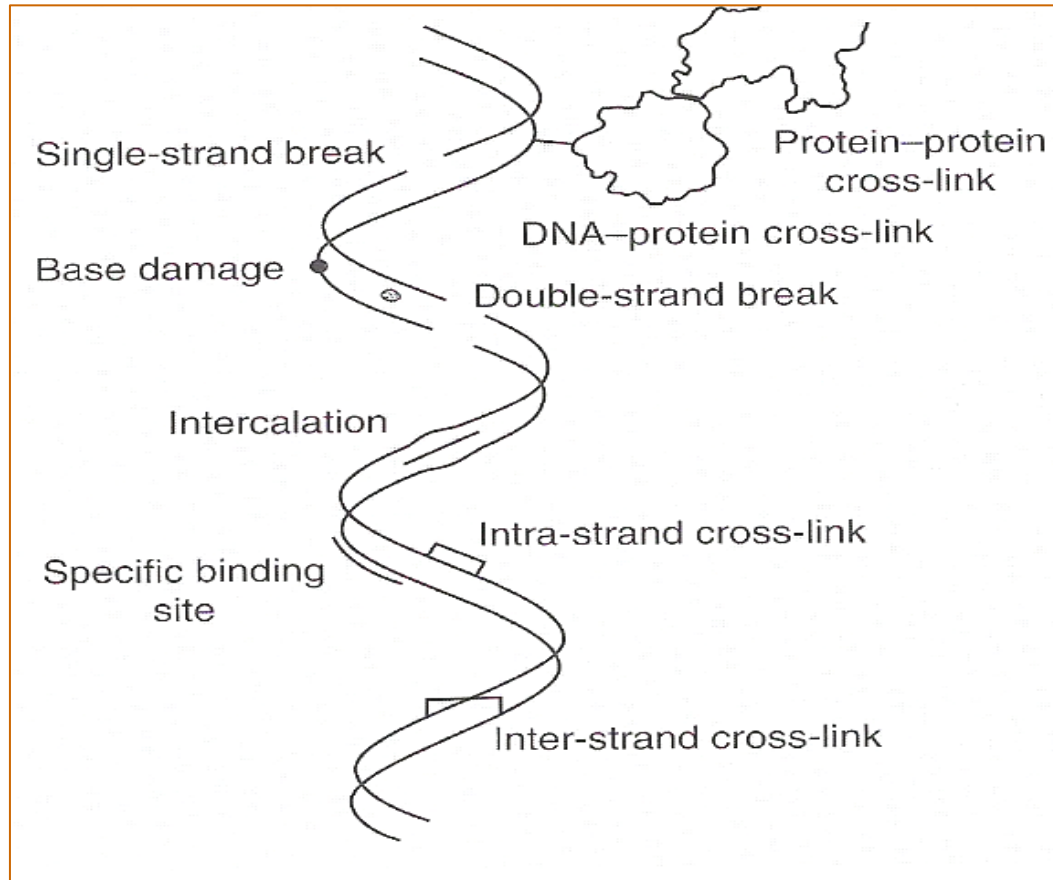


- Το διεγερμένο μόριο νερού είναι θετικό ιόν και ελεύθερη ρίζα.
- Το νερό (αντίδραση 2) διαμέσω του ιοντισμού του, δίνει ένα διεγερμένο μόριο νερού, το οποίο με διάσπαση δίνει θέση στην υδρογονική ρίζα  $\text{H}^+$  (κατιόν υδρογόνου) και στην υδροξυλική ρίζα  $\text{OH}^-$
- Η υδροξυλική ρίζα  $\text{OH}^-$  έχει 9 ηλεκτρόνια, (συνεπώς ένα από αυτά είναι αζευγάρωτο) άρα είναι μια ελεύθερη ρίζα μεγάλης δραστηριότητας (λόγω του ασύζευκτου ηλεκτρονίου) που μπορεί να διαχέεται στο «περιβάλλον» και να προκαλεί βλάβη στο DNA...

# Πρακτικά...

- Η απορρόφηση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας από την ύλη δημιουργεί δευτερογενή ηλεκτρόνια, που με τη σειρά τους δημιουργούν τις ελεύθερες ρίζες
- Εάν ένα οργανικό μόριο (π.χ DNA) βρεθεί μέσα στην τροχιά των ελεύθερων ριζών θα παραχθούν οργανικές ρίζες που ως ασταθείς και με υψηλό ενεργειακό περιεχόμενο θα μετασχηματιστούν γρήγορα, *προκαλώντας μεταβολή-βλάβη στο οργανικό μόριο!*
- **Η βλάβη αυτή είναι έμμεση**, αφού η προσβολή των οργανικών μορίων είναι αποτέλεσμα της επίδρασης σε αυτά των ελεύθερων ριζών που παράγονται από την ραδιόλυση του ύδατος

# Ακτινική βλάβη του DNA



# Ακτινική βλάβη του DNA

- Η μέχρι σήμερα έρευνα στην ακτινοβιολογία καθιστά σχεδόν βέβαιο ότι το DNA των χρωμοσωμάτων είναι ο «κύριος στόχος» που πρέπει να καταστραφεί, ώστε να επέλθει ο κυτταρικός θάνατος
- Το πιο ευαίσθητο τμήμα του DNA είναι οι *βάσεις της πυριμιδίνης*
- Άλλα σημαντικά μόρια του κυττάρου είναι:  
*Τα ένζυμα των κυτταρικών μεμβρανών*  
*Οι πρωτεΐνες των κυτταρικών μεμβρανών*



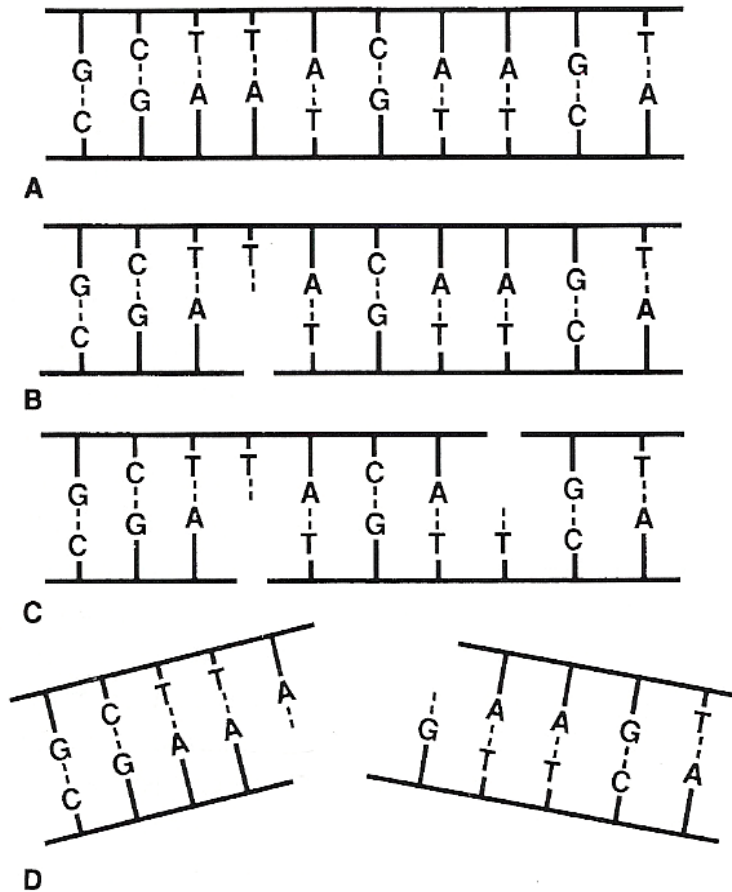
# Ακτινική βλάβη του DNA

- Η ακτινοβολία επιφέρει πολλών ειδών βλάβες στο μόριο του DNA
- Πολλές από αυτές το κύτταρο τις **επιδιορθώνει**
- Άλλες, τις **μεταβιβάζει στους απογόνους** (εφόσον είναι βιώσιμο μετά την ακτινοβολία)
- Ένα μικρό σχετικά ποσοστό των βλαβών, οδηγεί στον **κυτταρικό θάνατο**

# Οι προκαλούμενες ακτινικές βλάβες του DNA οφείλονται:

- 1) Σε βλάβη μιας βάσης η οποία συμβαίνει κυρίως στις πυριμιδινικές βάσεις (κυτοσίνη, θυμιδίνη και ουρακίλη)
- 2) Σε σπασίματα (ανοίγματα) μονής αλυσίδας ή κλώνου
- 3) Σε σπασίματα και στους δύο κλώνους

# Βλάβη του DNA



- A = ανέπαφο
- Β = σπάσιμο μονής αλυσίδας
- Γ = σπάσιμο και των δύο κλώνων της αλυσίδας
- Δ = σπάσιμο και των δύο κλώνων στο ίδιο μέρος (διπλόκλωνο)

# Αποτελέσματα δράσης ιοντίζουσας ακτινοβολίας στο DNA

- **A)** τα προκύψαντα ανοίγματα μπορούν να αποκατασταθούν, να επανασυνδεθούν στην αρχική τους μορφή και επομένως, στην επόμενη μίτωση δεν θα παρατηρηθεί εσφαλμένο χρωμόσωμα
- **B)** το σπάσιμο μπορεί να αποτύχει να επανασυνδεθεί και να αναδειχθεί στην επόμενη μίτωση μια ανωμαλία που καταμετράται σαν διαγραφή
- **Γ)** τα σπασμένα άκρα μπορεί να επανασυνδεθούν με άλλα τυχαία σπασμένα άκρα και να αναδείξουν χρωμοσώματα που εμφανίζονται στην επόμενη μίτωση πολύ παραποιημένα

# Κυτταρικός κύκλος και ακτινοβολία

- Τα βιολογικά αποτελέσματα της ακτινοβολίας στα κύτταρα εξαρτώνται και από την κυτταρική φάση του κύκλου που βρίσκονται όταν ακτινοβολούνται
- Τα κύτταρα είναι πιο ευαίσθητα στην ακτινοβολία όταν βρίσκονται στις φάσεις M και G2 και πιο ανθεκτικά προς το τέλος της φάσης S

# Ακτινική βλάβη του DNA

- Οι βλάβες που έχουν σχετιστεί περισσότερο με τον κυτταρικό θάνατο, είναι οι DSB (ρήξη διπλής αλυσίδας)
- Όμως, δεν είναι όλες οι DSB θανατηφόρες, αφού μερικές μπορεί να επιδιορθώνονται από το κύτταρο
- Θανατηφόρες είναι οι DSB που βρίσκονται κοντά με άλλες DSB αλλά και με SSB (ρήξη μονής αλυσίδας)
- Αυτές οι μαζικές βλάβες ονομάζονται θέσεις πολλαπλών τοπικά βλαβών (Local Multiply Damaged Sites LMDS)

# Εργαστηριακές τεχνικές για την ανίχνευση της βλάβης του DNA

- Προσοχή στις μορφολογικές παρατηρήσεις με **ηλεκτρονικό μικροσκόπιο!**
- **Μέθοδοι μοριακής βιολογίας:** κατακρήμνιση σε διαβαθμισμένη πυκνότητα σαγχαρόζης, έκπλυση με ουδέτερο φίλτρο, τεχνική κατακρήμνισης πυρηνίσκων, ηλεκτροφόρηση παλλόμενου πεδίου σε πήκτωμα, ηλεκτροφόρηση ενός κυττάρου σε πήκτωμα



***Δράση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας  
στα χρωμοσώματα***



# Χρωμοσωμικές βλάβες από την ακτινοβολία

Η ιοντίζουσα ακτινοβολία μπορεί να προκαλέσει τις εξής μεταβολές στα χρωμοσώματα:

- 1) Γονιδιακές (ή εστιακές) μεταλλάξεις
- 2) Ποσοτικές μεταβολές του DNA
- 3) Χρωμοσωμικές μορφολογικές μεταβολές

# Χρωμοσωμικές βλάβες από την ακτινοβολία

- **Γονιδιακές μεταλλάξεις:** είναι μεταβολές του γενετικού κώδικα που ή επιφέρουν κυτταρικό θάνατο ή μεταβιβάζονται στους απογόνους
- **Ποσοτικές μεταβολές του DNA:** έχουν συνέπεια τη δημιουργία πολυπλοειδικών γιγαντοκυττάρων
- **Χρωμοσωμικές μορφολογικές μεταβολές:** γίνονται ορατές κατά τη μίτωση (μετάφαση) του κυττάρου. Η ακτινοβολία προκαλεί θραύσεις σε διάφορα τμήματα των χρωμοσωμάτων. Τα άκρα των κομματιών που προκύπτουν έχουν τη τάση να προσκολλώνται σε άλλα κομμάτια, όχι όμως και σε ακέραια χρωμοσώματα (ειδικές τεχνικές χρώσεως με Giemsa ανιχνεύουν ακόμα και πολύ μικρές αλλοιώσεις στα χρωμοσώματα)

# Χρωμοσωμικές βλάβες από την ακτινοβολία

- Μπορεί να συμβούν τα εξής:
  - 1) Να μην γίνει καμία επανένωση και απλά να εξαλειφθεί ένα τμήμα του χρωμοσώματος άρα και του γενετικού υλικού
  - 2) Τα τμήματα που αποκόπηκαν, να ξαναενωθούν, αποκαθιστώντας τη βλάβη
  - 3) Τα τμήματα των χρωμοσωμάτων να ενωθούν με διάφορους συνδυασμούς και να προκύψουν «χρωμοσώματα» με παράδοξη μορφολογία

# Χρωμοσωμικές βλάβες από την ακτινοβολία

- Δακτυλιοειδείς σχηματισμοί με ή χωρίς κεντρόμερο
- Ασύμμετρα χρωμοσώματα με ένα ή δύο κεντρόμερα (δικεντρικά)
- Αναστροφές τμημάτων
- Συμμετρικές εναλλαγές μεταξύ δύο χρωμοσωμάτων
- Κ.λ.π

# Χρωμόσωμα με δύο κεντρομερή



2 διαφορετικά  
χρωμοσώματα πριν  
την αντιγραφή

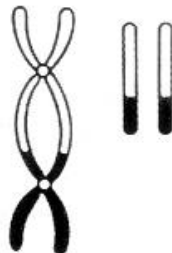


1 θραύση σε κάθε  
χρωμόσωμα



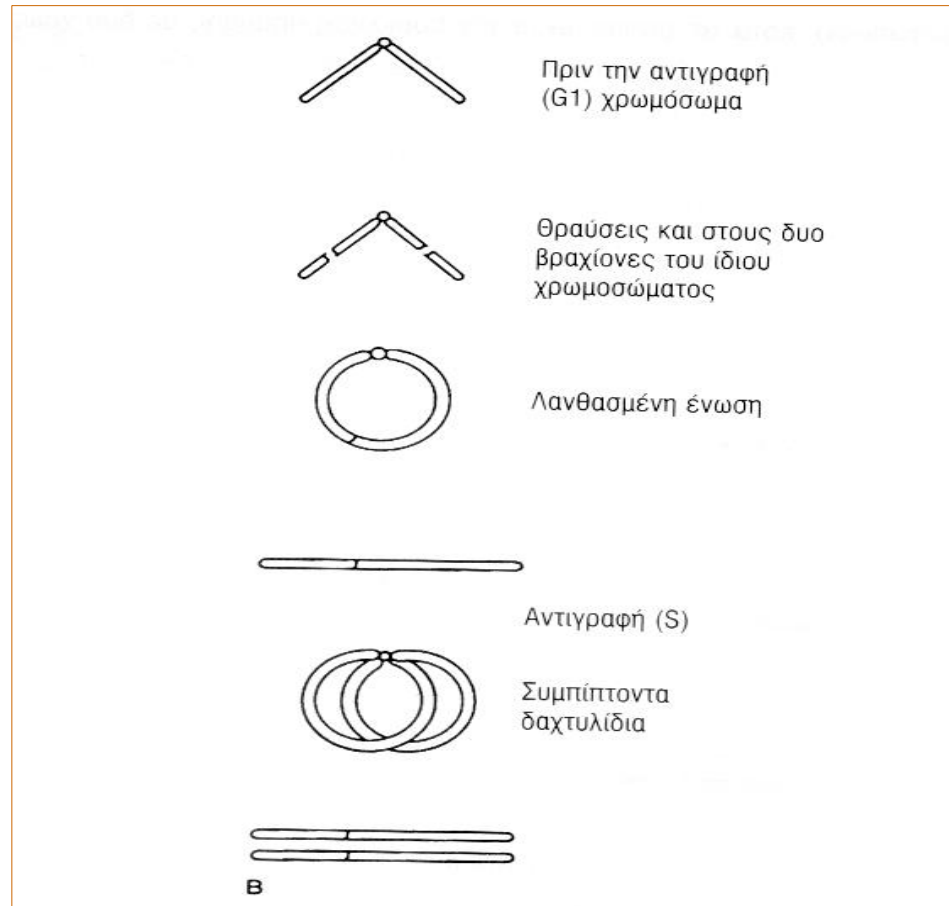
Λανθασμένη ένωση

Αντιγραφή (S)



Χρωμόσωμα με δυο  
κεντρομέρη και  
θραύσμα χωρίς  
κεντρόμερος

# Χρωμόσωμα σε σχήμα δακτυλιδιού



# Εργαστηριακές τεχνικές για την ανίχνευση της βλάβης των χρωμοσωμάτων

- Καρυότυπος (κοινό μικροσκόπιο)
- Τεχνική αδρανοποίησης φθορισμού in situ (FISH)



*Δράση της ιοντίζουσας  
ακτινοβολίας στις μεμβράνες*



# Δράση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας στις μεμβράνες

- Οξείδωση λιπιδίων και αποδόμηση υδατανθράκων
- Διαταραχές διαπερατότητας
- Διαταραχή στα σημεία επαφής της πυρηνικής μεμβράνης και του DNA
- Ενεργοποίηση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (απόπτωσης) μετά από βλάβη της (μιτοχονδριακής) μεμβράνης

# Άλλοι μηχανισμοί

- Ενεργοποίηση γονιδίων με αποτέλεσμα:
  - α) ενεργοποίηση μονοπατιών πρωτεϊνικής κινάσης
  - β) επαγωγή μηχανισμών επιδιόρθωσης
  - γ) πρόκληση γενετικής αστάθειας
- Δράση της ακτινοβολίας στο RNA και σε ένζυμα
- Δράση στον εξωκυττάριο χώρο

# Φαινόμενο «εκ συμπαθείας», «εκ διαφυγής» (bystander effect)

Μη ακτινοβολημένα κύτταρα παρουσιάζουν βιολογικά φαινόμενα όμοια με εκείνα που εμφανίζονται σε γειτονικά (παριστάμενα), ακτινοβολημένα κύτταρα

Τα ακτινοβολημένα κύτταρα «εκπέμπουν σήματα ή παράγοντες» που δρουν στα γειτονικά μη ακτινοβολημένα

Άγνωστη η κλινική σημασία

Ακτινοβολία χαμηλών δόσεων

# Τύχη των ακτινοβοληθέντων κυττάρων

- Χωρίς καμία βλάβη συνεχίζουν τη ζωή τους!
- Πλήρης επιδιόρθωση των βλαβών μέσω ενζυμικών μηχανισμών
- Θάνατος!



*Είδη κυτταρικών βλαβών και η  
επιδιόρθωσή τους από το κύτταρο*

# Είδη κυτταρικών βλαβών

- Υπο-θανατηφόρες
- Θανατηφόρες
- Δυνητικά θανατηφόρες

# Υπο-θανατηφόρες

- Βλάβες στο κύτταρο οι οποίες δεν είναι επαρκείς σε αριθμό ή δεν είναι αρκετά σοβαρές για να το σκοτώσουν
- Δεν είναι επαρκής ο αριθμός των χτυπημάτων που δέχθηκε ο στόχος (θεωρία του στόχου)
- Σε χαμηλές δόσεις το ποσοστό τους είναι αυξημένο και το κύτταρο μπορεί να επιβιώσει επιδιορθώνοντας τη βλάβη

# Θανατηφόρες

- Δεν μπορούν να διορθωθούν,  
οδηγώντας στο **θάνατο!**



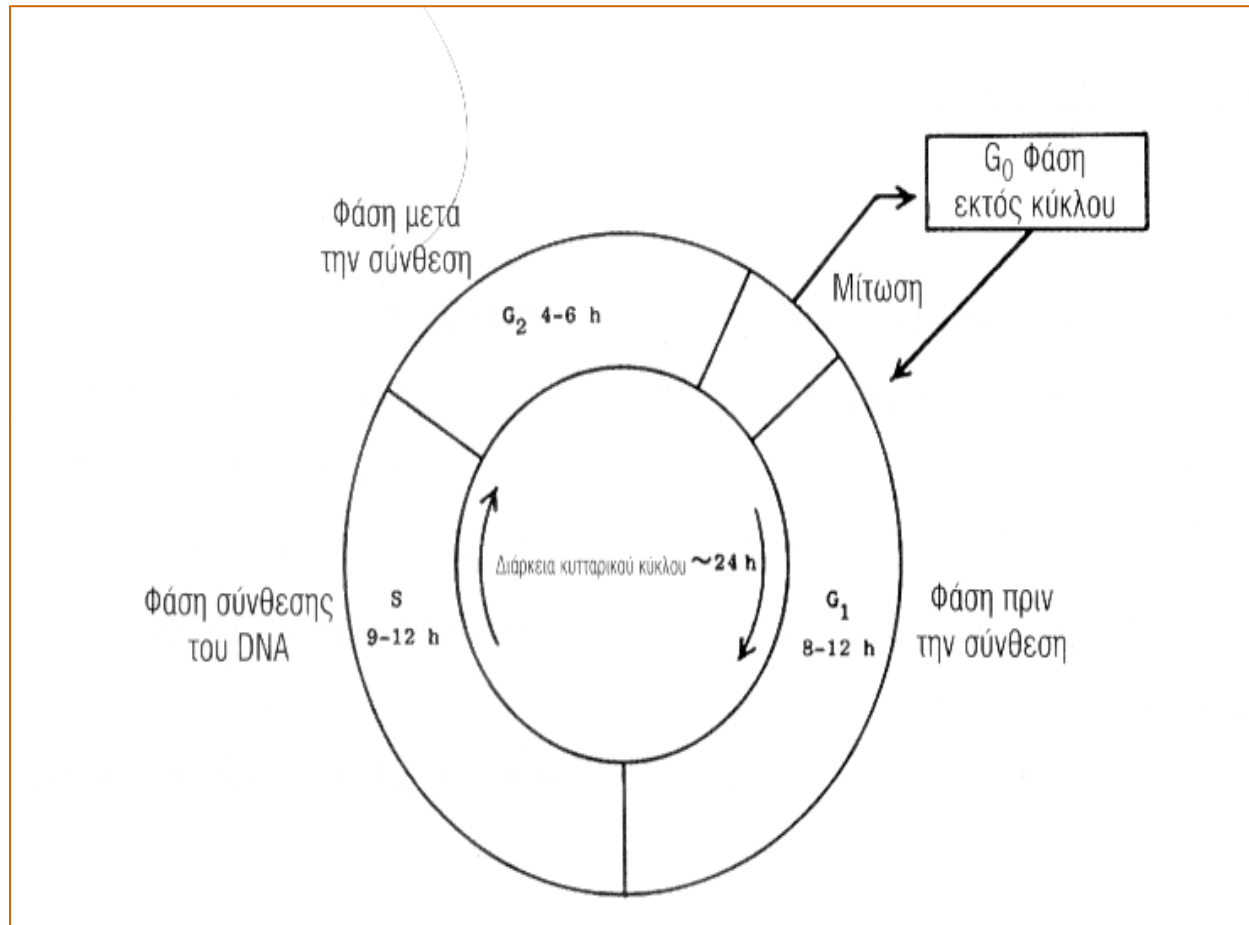
# Δυνητικά θανατηφόρες βλάβες

- Μπορούν να γίνουν θανατηφόρες μετά από αδυναμία σωστής επιδιόρθωσης DNA ή απελευθέρωσης ενζύμων ή βλάβης των μεμβρανών
- Η βλάβη αυτή επιδιορθώνεται ή παγιώνεται με κατάλληλη παρέμβαση στο περιβάλλον του κυττάρου μετά την ακτινοβολία (post-irradiation conditions)
- Εμφανίζεται εάν δεν επιτραπεί στα κύτταρα να πολλαπλασιασθούν για **6** ή περισσότερες ώρες (π.χ. καλλιέργεια σε φυσιολογικό ορό) και εκφράζεται σαν 'αύξηση' στην επιβίωση



*Επιδιόρθωση των κυτταρικών  
βλαβών μετά από ακτινοβολία*

# Κυτταρικός κύκλος



# Επιδιόρθωση των κυτταρικών βλαβών μετά από ακτινοβολία

*Όταν ένας κυτταρικός πληθυσμός εκτεθεί σε μία δόση ιοντίζουσας ακτινοβολίας, για το κάθε κύτταρο μπορεί να επέλθει διαφορετικό βιολογικό αποτέλεσμα:*

Η ακτινοβολία θέτει σε λειτουργία ταυτόχρονα μηχανισμούς κυτταρικής βλάβης και επιδιόρθωσης της βλάβης

# Επιδιόρθωση των κυτταρικών βλαβών μετά από ακτινοβολία

Οι βλάβες που προκαλούνται στα κύτταρα μπορούν να καταταγούν σε τρεις κατηγορίες, που διαφέρουν μεταξύ τους κυρίως «ποσοτικά»:

- 1) Θανατηφόρος βλάβη (lethal damage)**
- 2) Υποθανατηφόρος βλάβη (sublethal damage)**
- 3) Δυνητικά θανατηφόρος βλάβη (potentially lethal damage)**

# Επιδιόρθωση των κυτταρικών βλαβών μετά από ακτινοβολία

- **Θανατηφόρος βλάβη:** μη αντιστρεπτή (αδύνατη η επιδιόρθωση) και εξορισμού οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο
- **Υποθανατηφόρος βλάβη:** κάτω από φυσιολογικές συνθήκες μπορεί να επιδιορθωθεί, μέσα σε ώρες, εκτός εάν προστεθεί μία νέα, επιπλέον υποθανατηφόρος βλάβη (π.χ 2<sup>η</sup> δόση ακτινοβολίας), με την οποία μπορεί να αθροισθεί και να προκαλέσει θανατηφόρο βλάβη

# Επιδιόρθωση των κυτταρικών βλαβών μετά από ακτινοβολία

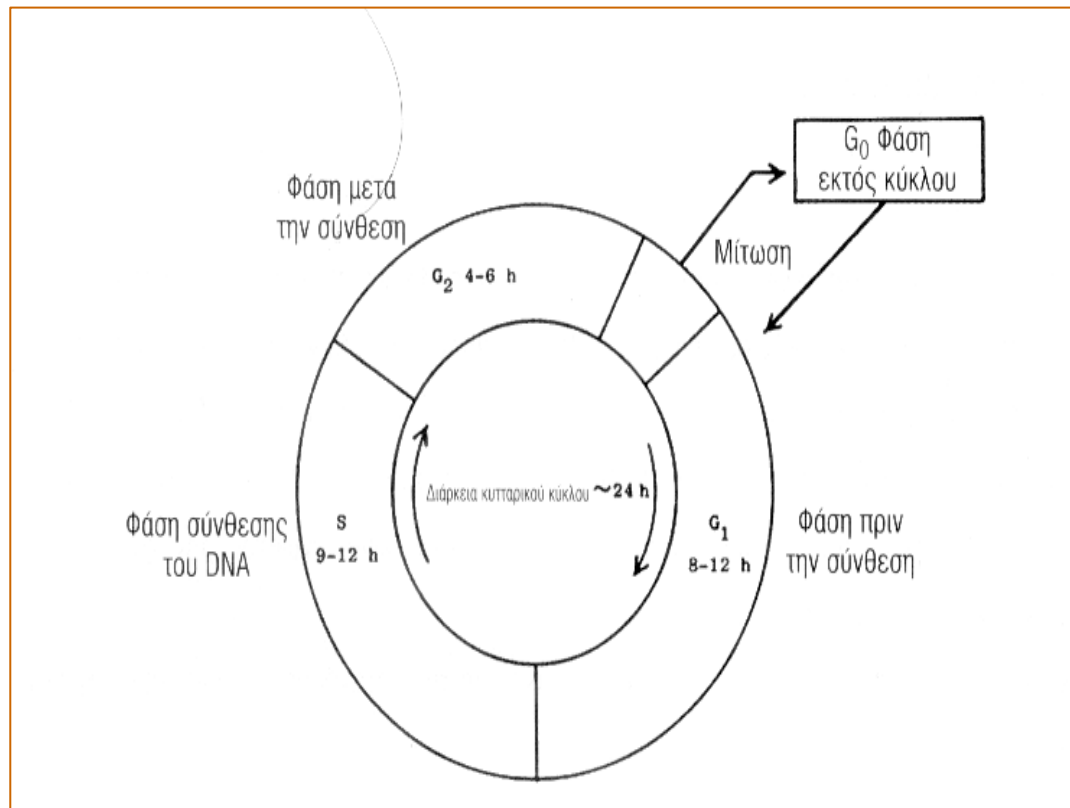
- Μερικά κύτταρα μπορεί να έχουν αθροίσει βλάβες που από μόνες τους δεν είναι θανατηφόρες. Με την πάροδο του χρόνου και την παροχή ενέργειας και θρεπτικών συστατικών, τα κύτταρα μπορούν να επιδιορθώσουν αυτές τις βλάβες
- Ωστόσο: η μοριακή βάση της υποθανατηφόρου βλάβης και της επιδιόρθωσής της δεν είναι πλήρως κατανοητή

# Επιδιόρθωση των κυτταρικών βλαβών μετά από ακτινοβολία

- **Δυνητικά θανατηφόρος βλάβη:** είναι η βλάβη που μπορεί να επιδιορθωθεί, εάν οι συνθήκες που επικρατούν στο μικροπεριβάλλον του κυττάρου μετά την ακτινοβόληση, το επιτρέπουν.
- Καλείται δυνητικά θανατηφόρος βλάβη γιατί κάτω από φυσιολογικές συνθήκες προκαλεί κυτταρικό θάνατο
- Αν όμως, η κυτταρική επιβίωση αυξηθεί, σαν αποτέλεσμα της μεταβολής των συνθηκών του περιβάλλοντος μετά την ακτινοβόληση, τότε η δυνητικά θανατηφόρος βλάβη δυνατόν να επιδιορθωθεί



# Επιδιόρθωση των κυτταρικών βλαβών μετά από ακτινοβολία



# Φάση κυτταρικού κύκλου

- Τα κύτταρα είναι πιο **ακτινοευαίσθητα** στη φάση M και G<sub>2</sub>
- Τα κύτταρα είναι πιο **ακτινοάντοχα** στο τέλος της φάσης S

# Επιδιόρθωση του DNA

- Τα κύτταρα διαθέτουν συγκεκριμένους, ενζυμικούς επιδιορθωτικούς μηχανισμούς που ενεργοποιούνται μόλις διαπιστώσουν βλάβη του DNA (ιδιαίτερα το σπάσιμο των δύο αλυσίδων)
- Ανακριβής επιδιόρθωση θραύσης της μιας έλικας δυνατόν να οδηγήσει σε μετάλλαξη
- Ο χρόνος επιδιόρθωσης διαρκεί περίπου 4 – 5 ώρες

# Επιδιόρθωση του DNA με εκτομή

## ❖ **Πρώτη φάση** επιδιόρθωσης:

- Δράση τοποϊσομερασών I και II – έκπτυξη DNA

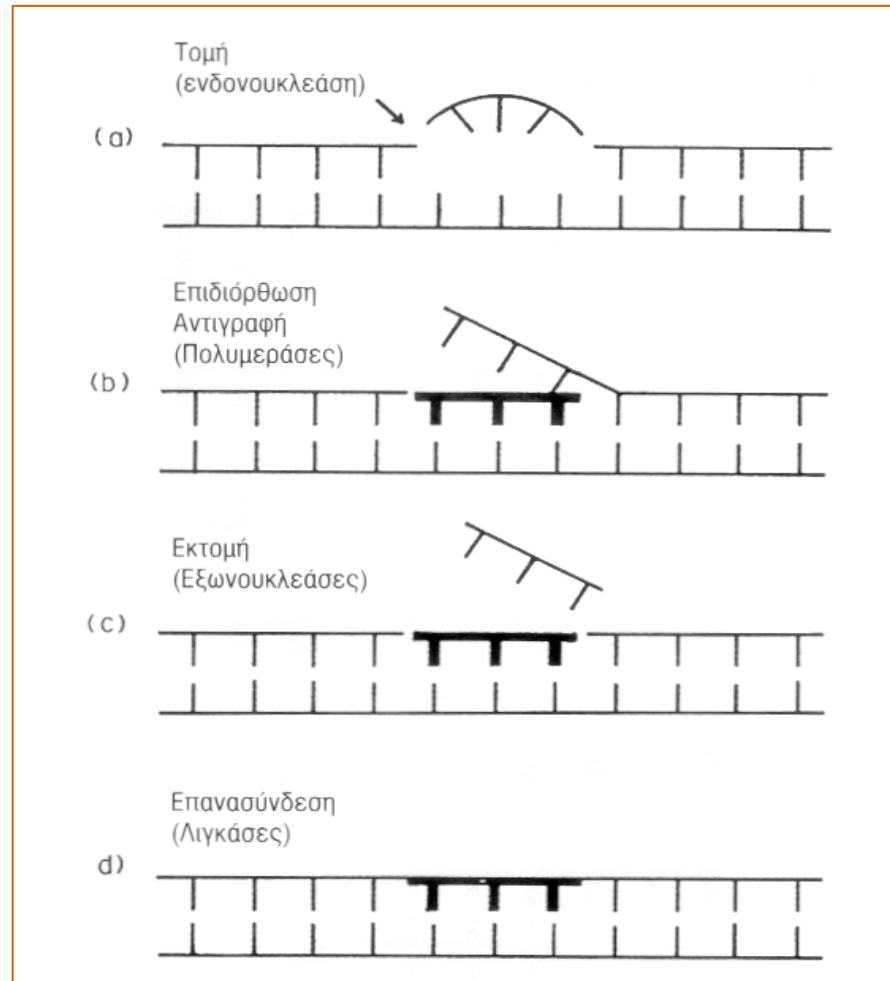
## ❖ **Δεύτερη φάση** επιδιόρθωσης:

- Δράση ενδονουκλεασών – απομάκρυνση παθολογικού DNA

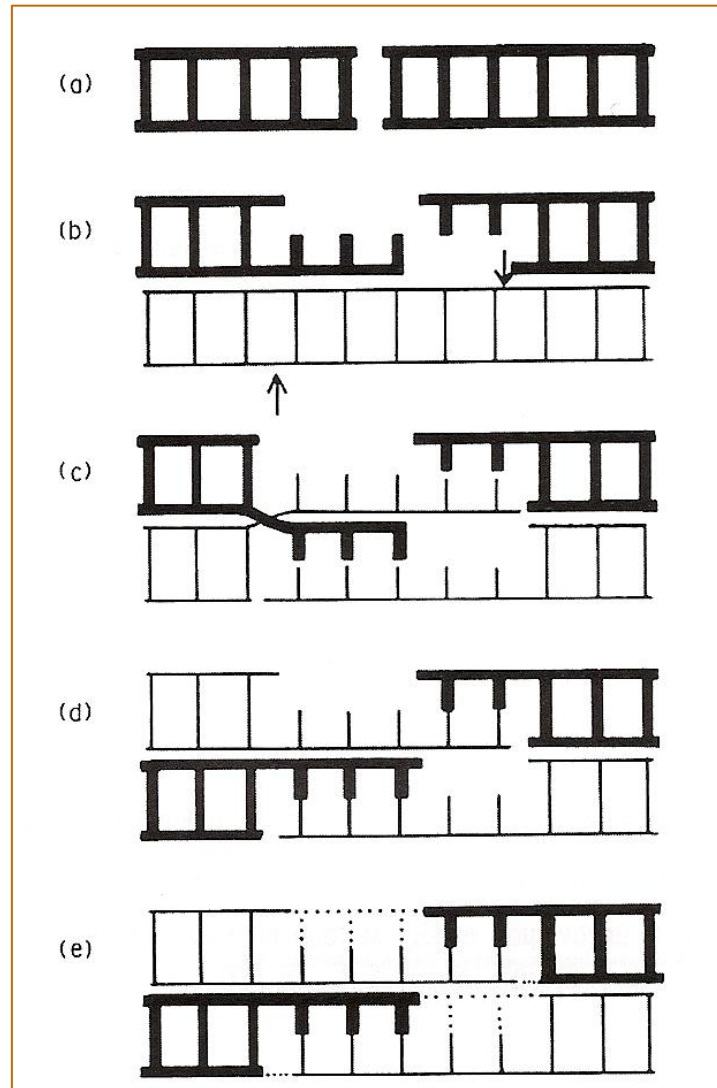
## ❖ **Τρίτη φάση** επιδιόρθωσης:

- Δράση πολυμερασών, εξωνουκλεασών και λιγκασών – αντικατάσταση του παθολογικού DNA με νέο, χρησιμοποιώντας σαν πρότυπο την άθικτη έλικα

# Επιδιόρθωση του DNA



# Επιδιόρθωση του DNA



# Κλινική διάσταση

- Ακτινοευαίσθητα είναι τα κύτταρα που δεν μπορούν να επιδιορθώσουν το διπλό σπάσιμο της αλυσίδας του DNA

# Βιολογικά αποτελέσματα ακτινοβολίας...

- Τα βιολογικά αποτελέσματα της ακτινοβολίας στα κύτταρα εξαρτώνται **και** από την κυτταρική φάση του κύκλου που βρίσκονται όταν ακτινοβολούνται
- Τα κύτταρα είναι πιο ευαίσθητα στην ακτινοβολία όταν βρίσκονται στις φάσεις **M** και **G<sub>2</sub>** και πιο ανθεκτικά προς το τέλος της φάσης **S**





# *Κυτταρικός Θάνατος*

# Ξεκάρθρη έννοια?

- Είδη κυτταρικού θανάτου:

1) Αναπαραγωγικός (ή μιτωτικός ή μιτωτική καταστροφή)

2) Προγραμματισμένος (θάνατος κατά τη μεσόφαση ή απόπτωση)

3) Θάνατος λόγω γήρανσης

# Κυτταρικός θάνατος

**Αναπαραγωγικός :** για τα αναπαραγόμενα κύτταρα, σαν κυτταρικός θάνατος ορίζεται η απώλεια της ικανότητας πολλαπλασιασμού

- Αφορά κύτταρα ικανά να διαιρεθούν και που εκτίθενται σε χαμηλές ή μέτριες δόσεις ακτινοβολήσης (<50 Gy)
- Μετά από τη θανατηφόρο βλάβη, τα κύτταρα πεθαίνουν είτε κατά τη διαίρεσή τους, ή αργότερα, σαν αποτέλεσμα ανεπιτυχούς διαδικασίας να διαιρεθούν
- Η αναστολή της αναπαραγωγικής ικανότητας των κυττάρων ενός όγκου, ισοδυναμεί με τη θεραπεία του

# Κυτταρικός θάνατος

- **Προγραμματισμένος ή απόπτωση (θάνατος κατά τη μεσόφαση):** δεν περιορίζεται σε κύτταρα που πολλαπλασιάζονται- το κύτταρο πεθαίνει χωρίς να πολλαπλασιαστεί
- Η ιοντίζουσα ακτινοβολία επάγει την απόπτωση των καρκινικών και φυσιολογικών κυττάρων (κυρίως κυττάρων αιμοποιητικού και λεμφικού)
- Είναι απαραίτητη η έκθεση σε σχετικά μεγάλες δόσεις ακτινοβολήσης (>50Gy)

Μέσω:

Ενεργοποίησης p53

Ενεργοποίησης ενζύμων (κασπάσες)

Απευθείας δράσης στη μεμβράνη των μιτοχονδρίων

Επαγωγής TNF $\alpha$

# Φαινόμενο γήρανσης (**Senescence, SIPS**) (*Suzuki & Boothman*)

- Μηχανισμός πρόληψης πολλαπλασιασμού κυττάρων που έχουν υποστεί κακοήθη εξαλλαγή (δηλ. δεν αναπτύσσει όγκο, αλλά γερνάει)
- Το 'τρίτο' είδος κυτταρικού θανάτου που μπορεί να προκαλέσει η ιοντίζουσα ακτινοβολία
- Φυσιολογικά και καρκινικά κύτταρα
- Δοσοεξαρτώμενο φαινόμενο

## Συμπερασματικά, οι βιολογικές δράσεις της ιοντίζουσας ακτινοβολίας στο κύτταρο οφείλονται:

- ✓ ΟΙ ΑΚΤΙΝΕΣ Χ ΔΡΟΥΝ ΕΜΜΕΣΑ
- ✓ ΚΥΡΙΩΣ ΜΕΣΩ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ [60% ΤΩΝ ΒΛΑΒΩΝ]
- ✓ 30% ΤΩΝ ΒΛΑΒΩΝ: ΑΜΕΣΗ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΔΕΥΤΕΡΕΥΟΝΤΩΝ  $e^-$
- ✓ ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΤΟΥ DNA
- ✓ ΔΙΠΛΟ ΣΠΑΣΙΜΟ ΤΟΥ DNA
- ✓ ΥΠΑΡΞΗ ή ΟΧΙ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ



*Καμπύλη επιβίωσης*

# Σκοποί ενότητας

- Πως η καμπύλη επιβίωσης εξηγεί τους μηχανισμούς δράσης της ιοντίζουσας ακτινοβολίας στα κύτταρα και ποιοι είναι οι παράγοντες που την επηρεάζουν



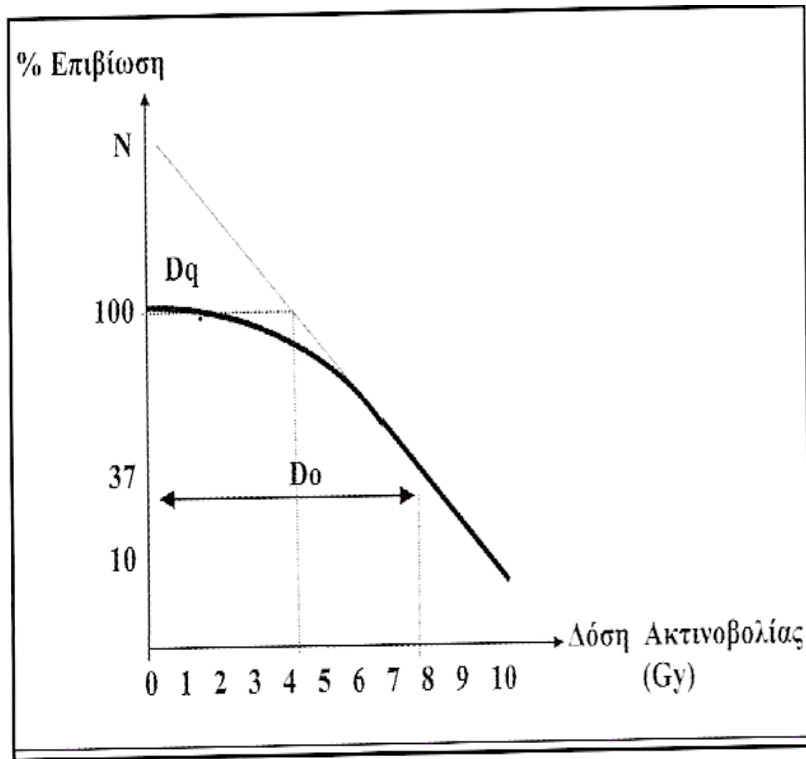
# Τι είναι η καμπύλη επιβίωσης;

- ❖ Διάγραμμα που παριστά **ποσοτικά** ένα βιολογικό φαινόμενο: “Πόσα κύτταρα (από ένα δεδομένο κυτταρικό πληθυσμό) επιβιώνουν μετά από την έκθεσή τους σε συγκεκριμένη δόση ακτινοβολίας;”
- ❖ Απαραίτητο εργαλείο στην ακτινοβιολογία – ακτινοθεραπεία – ακτινοπροστασία : “Από το εργαστήριο στην κλινική”

# Τι εκφράζει η καμπύλη επιβίωσης?

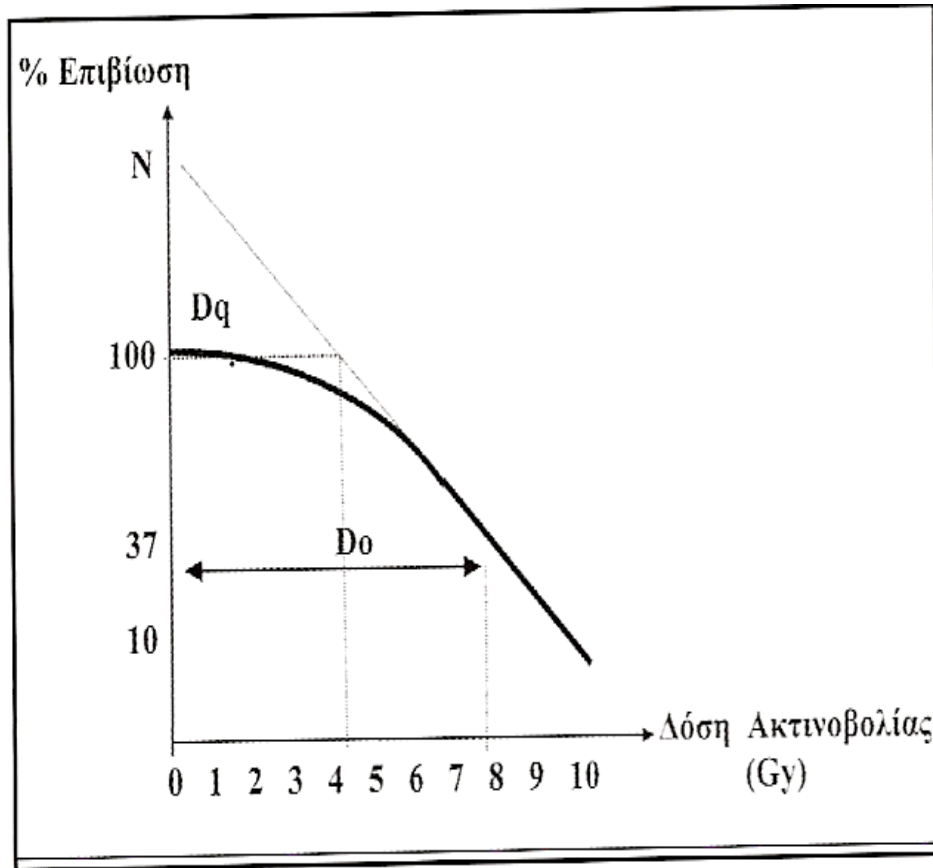
- *Τη σχέση μεταξύ του κλάσματος των κυττάρων που διατηρούν την ικανότητα πολλαπλασιασμού και της απορροφούμενης δόσης*

# Παράμετροι καμπύλης επιβίωσης



- Οι καμπύλες επιβίωσης συντάσσονται σε κλίμακες, όπου το οριζόντιο σκέλος είναι γραμμικό και το κάθετο λογαριθμικό
- Στον οριζόντιο άξονα αναφέρονται οι δόσεις της ακτινοβολίας, ενώ στο κάθετο τα κύτταρα που επιβιώνουν μετά από κάθε δόση

# Παράμετροι καμπύλης επιβίωσης

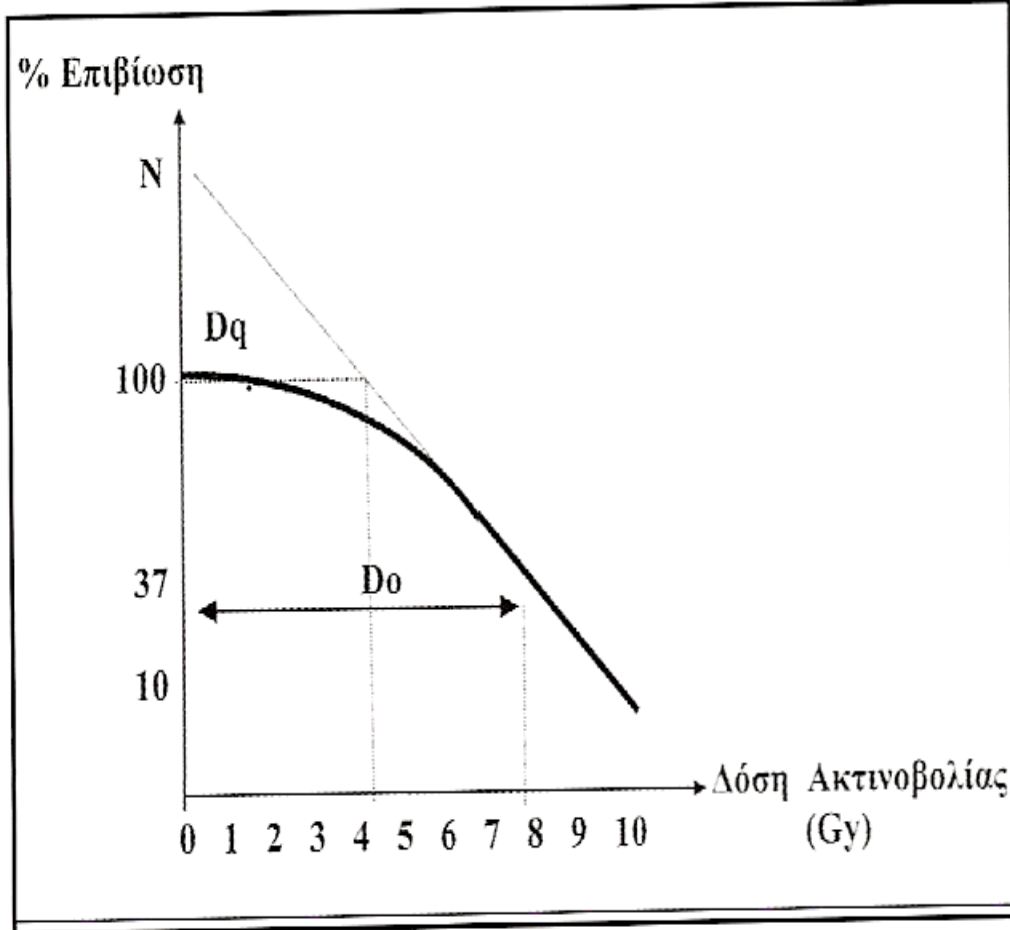


✓  **$N$  ( $n$ )** είναι ο αριθμός προσεκβολής και δηλώνει τον αριθμό των ευαίσθητων θέσεων που πρέπει να κτυπηθούν

✓ Εάν προεκταθεί το ευθύγραμμο τμήμα της καμπύλης και συναντήσει τον κάθετο άξονα, τότε το σημείο της τομής καλείται αριθμός προσεκβολής ( **$n$** ) και αντιστοιχεί στο αριθμό των ευαίσθητων θέσεων του κυττάρου που πρέπει να χτυπηθούν

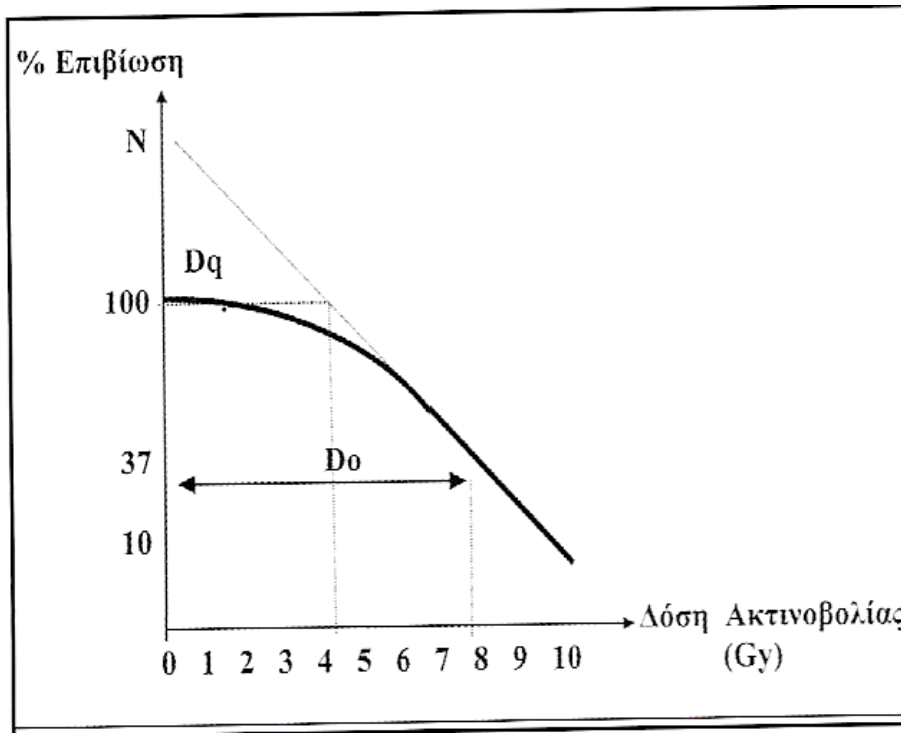
✓ (δηλώνει πόσα ευαίσθητα σημεία έχει κάθε κύτταρο στην ιοντίζουσα ακτινοβολία)

# Παράμετροι καμπύλης επιβίωσης



✓  **$D_o$**  είναι η δόση που απαιτείται για να μειώσει την επιβίωση των κυττάρων κατά 37% ( $1/e$ ). Είναι η δόση που απαιτείται για να προκαλέσει ένα “θανατηφόρο” κτύπημα ανά κύτταρο. Εκφράζει το εκθετικό τμήμα της καμπύλης ή την ενδογενή ευαισθησία.

# Παράμετροι καμπύλης επιβίωσης

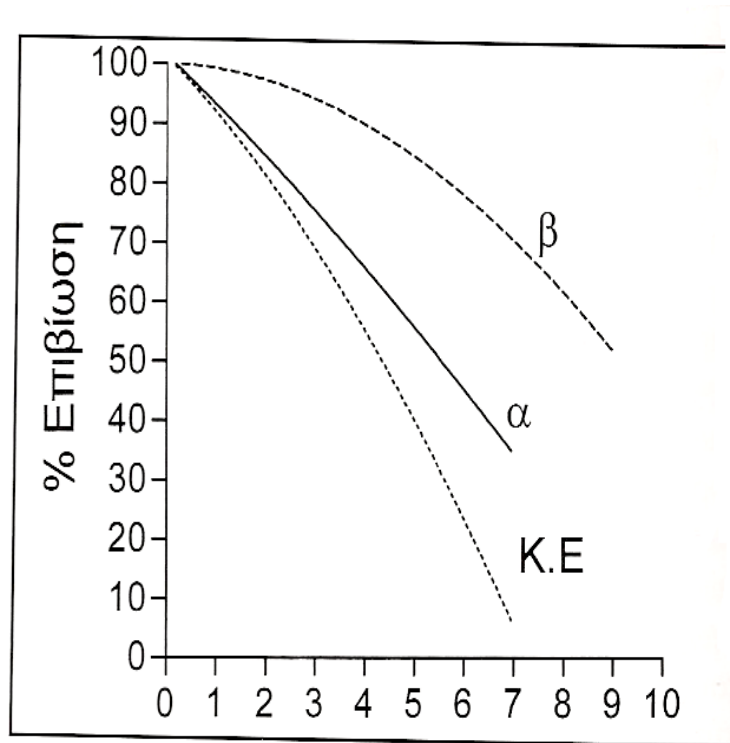


✓  **$D_q$  (quasi-threshold dose)** είναι η δόση κατωφλίου, δηλ. η δόση που χάνεται (αναλώνεται) κατά την επιδιόρθωση της μη θανατηφόρας βλάβης ή η δόση κάτω από την οποία δεν υπάρχει δράση της ακτινοβολίας (που όμως είναι λάθος...). Εκφράζει (όπως και ο αριθμός  $n$ ) το πλάτος του ώμου

# Παράμετροι καμπύλης επιβίωσης

- Σήμερα, για να εξηγήσουμε την καμπύλη επιβίωσης, χρησιμοποιούμε το **γραμμικό – τετραγωνικό πρότυπο**
- Θεωρούμε ότι υπάρχουν δύο συνιστώσες στον κυτταρικό θάνατο που προκαλεί η ακτινοβολία: η μία είναι **ανάλογη της δόσης** και η άλλη είναι **ανάλογη του τετραγώνου της δόσης**.
- Βιολογικά το μοντέλο αυτό εκφράζει τις βλάβες που προκαλούνται στα χρωμοσώματα (δηλ. το διπλό σπάσιμο)

# Το γραμμικό – εκθετικό πρότυπο




Σχήμα 3. Γραμμικό (α) και Εκθετικό (β) τμήμα καμπύλης κυτταρικής επιβίωσης (ΚΕ)

Το αποτέλεσμα της ακτινοβολήσης προέρχεται από τη σύνθεση δύο συνιστωσών: **Στοιχείο «α»** που είναι κυτταρικός θάνατος λόγω βλαβών που δεν διορθώνονται και **στοιχείο «β»** που είναι κυτταρικός θάνατος λόγω βλαβών που μπορούν να διορθωθούν. Η καμπύλη επιβίωσης είναι η συνισταμένη αυτών των δύο καμπυλών.



# Τι κρατάμε από την καμπύλη επιβίωσης στην Ακτινοθεραπεία

- ❖ Το ποσοστό των κυττάρων που επιβιώνει μετά από εφ' άπαξ δόση 2 Gy (**SF2**) (**Surviving Fraction 2Gy**) και που κυμαίνεται μεταξύ 0.03 και 0.8
- ❖ Αποτελεί τον κυριότερο δείκτη εσωτερικής ακτινοευαισθησίας (intrinsic radiosensitivity)



*Ενδογενής ακτινοευαισθησία των  
κυττάρων στην ιοντίζουσα  
ακτινοβολία*

# Ορισμός της ενδογενούς ακτινοευαισθησίας

- ❖ Ορίζουμε τη δόση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας που απαιτείται για να προκαλέσει ένα ορισμένο «ποσό» κυτταρικής βλάβης
- ❖ Πρακτικά εκφράζεται με τον αριθμό των κυττάρων που επιβιώνουν μετά από έκθεσή τους σε δόση ακτινοβολίας 2 Gy και συμβολίζεται με τα αρχικά «**SF<sub>2</sub>**»

# SF<sub>2</sub>

Η δόση των 2Gy χρησιμοποιείται επειδή:

- 1) είναι η πιο συνηθισμένη δόση ανά συνεδρία στην ακτινοθεραπεία
- 2) είναι αρκετά μικρή ώστε να αντικατοπτρίζει την αρχική κλίση των καμπυλών επιβίωσης
- 3) υπάρχουν μελέτες που επιβεβαιώνουν στατιστικά, την αντιστοιχία μεταξύ των τιμών SF<sub>2</sub> και της κλινικής ανταπόκρισης του όγκου

# Τιμές SF2 διαφόρων όγκων

## ΟΓΚΟΣ

## ΤΙΜΗ

- Μελάνωμα 0.69
- Ορθό 0.54
- Παχύ έντερο 0.49
- Παγκρέατος 0.27
- Μικροκυτταρικό Ca πνεύμονος 0.33

# Πρακτικός σκοπός

Η ανάπτυξη μιας προγνωστικής δοκιμασίας που θα επιτρέπει τον συσχετισμό της τιμής SF2 με την κλινική ανταπόκριση του όγκου

# Πως μετράμε την ενδογενή ακτινοευαισθησία ενός όγκου

- Απομόνωση καρκινικών κυττάρων από τον όγκο
- Ακτινοβολία κυττάρων με δόση 2 Gy
- Καλλιέργεια κυττάρων σε ειδικό θρεπτικό Άγαρ
- Μέτρηση αποικιών ή χρωματομετρία ή δοκιμασία καθήλωσης σε ειδικό θρεπτικό υλικό

# Βασικό μειονέκτημα

- Χρονοβόρα διαδικασία !
- Τι μεσολαβεί κατά το χρόνο καλλιέργειας ;



# Παράγοντες που επηρεάζουν το σχήμα της καμπύλης επιβίωσης

- Φάση κυτταρικού κύκλου
- Ρυθμός εκπομπής δόσης
- Συνέργεια με φάρμακα

# Φάση κυτταρικού κύκλου

- ❖ Τα κύτταρα είναι πιο ακτινοευαίσθητα στη φάση M και G<sub>2</sub>
- ❖ Τα κύτταρα είναι πιο ακτινοάντοχα στο τέλος της φάσης S

# Ρυθμός εκπομπής δόσης

- ❖ Μείωση του ρυθμού εκπομπής σημαίνει μείωση του βιολογικού αποτελέσματος
- ❖ Επιδιόρθωση της υποθανατηφόρου βλάβης

# Συμπεράσματα

- ❖ Η καμπύλη επιβίωσης περιγράφει τη σχέση μεταξύ απορροφούμενης δόσης και αριθμού κυττάρων που επιβιώνουν
- ❖ Χρησιμεύει για την εκτίμηση των βιολογικών αποτελεσμάτων της ακτινοβολίας



Κλασματοποίηση της δόσης

(Κερματοποίηση της δόσης)

# Ορισμός κλασματοποίησης

- Η κατάτμηση της συνολικής δόσης σε μικρότερα τμήματα δόσης ονομάζεται «κλασματοποίηση της συνολικής δόσης (fractionation)» και κάθε τέτοιο τμήμα δόσης ονομάζεται «κλάσμα (fraction)»

# Παράγοντες που επηρεάζουν την επιβίωση μετά από κλασματοποιημένη ακτινοβολία

- ♦ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ
- ♦ ΕΠΑΝΑΠΟΙΚΙΣΜΟΣ
- ♦ ΕΠΑΝΑΚΑΤΑΝΟΜΗ
- ♦ ΕΠΑΝΑΟΞΥΓΟΝΩΣΗ

# Επιδιόρθωση

- ✓ Επιδιόρθωση της υποθανατηφόρου ακτινικής βλάβης με τη βοήθεια ενζυμικών μηχανισμών, εάν το κύτταρο δεν επανακτινοβοληθεί για μερικές ώρες
- ✓ Ώμος της καμπύλης επιβίωσης
- ✓ Η κλασματοποίηση επηρεάζει περισσότερο τους όψιμα ανταποκρινόμενους ιστούς, παρά τους πρώιμα ανταποκρινόμενους και τους (περισσότερους) όγκους



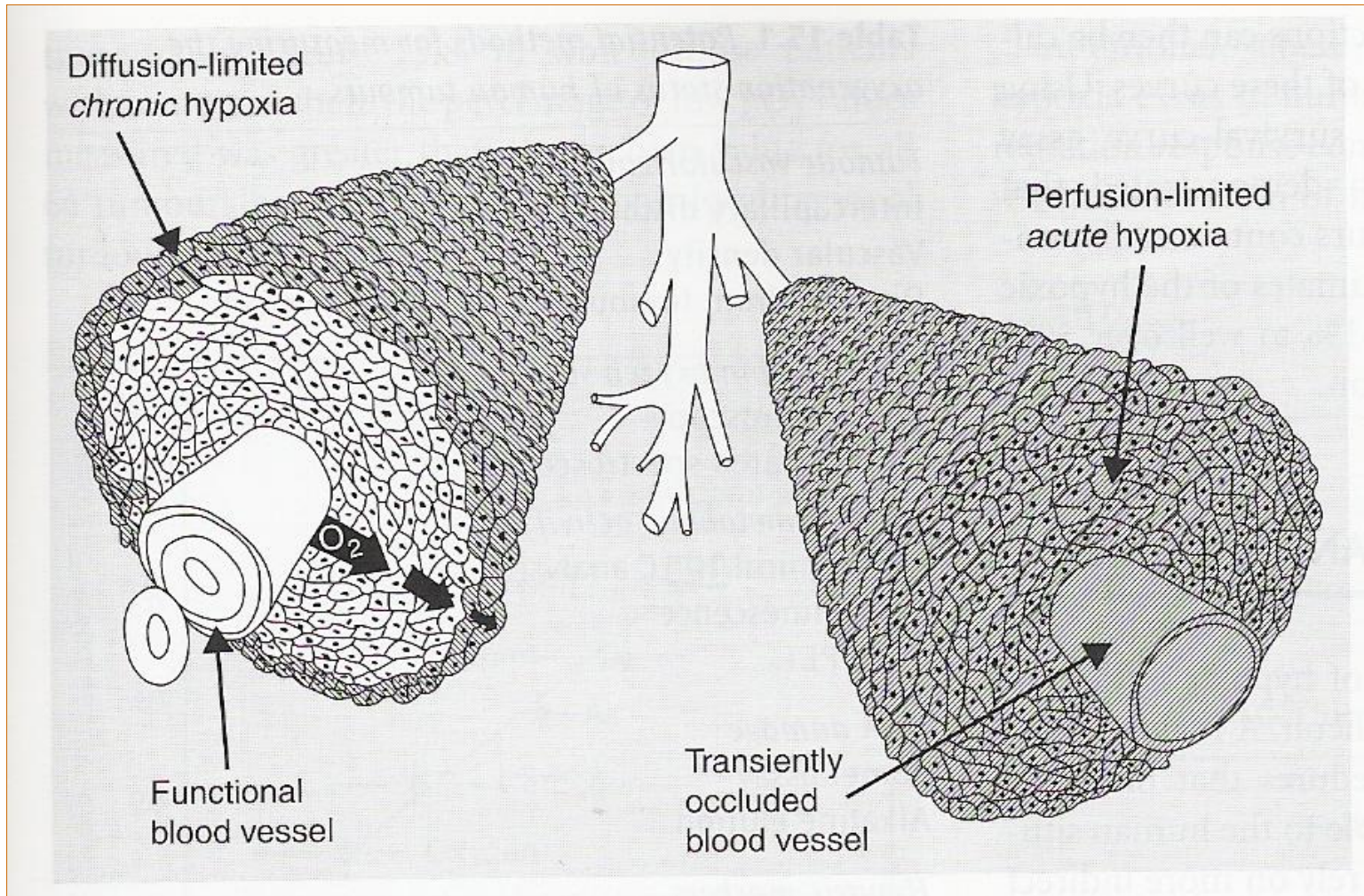
# Επαναποικισμός

- Τα φυσιολογικά κύτταρα (και τα καρκινικά!) που θανατώνονται, αντικαθίστανται με τη βοήθεια ομοιοστατικών μηχανισμών από κύτταρα των διαθέσιμων «κυτταρικών δεξαμενών»
- Τρεις μηχανισμοί:
  - Μείωση του χρόνου του κυτταρικού κύκλου
  - Αύξηση του κλάσματος του κυτταρικού πληθυσμού που πολλαπλασιάζεται
  - Μείωση του ποσοστού απώλειας κυττάρων

# Ανακατανομή

- Με την ακτινοβόληση θανατώνονται «εκλεκτικά» τα κύτταρα που βρίσκονται στις πιο ακτινοευαίσθητες φάσεις του κυτταρικού κύκλου (M, G1)
- Αποτέλεσμα είναι ο συγχρονισμός των υπόλοιπων κυττάρων
- Το φαινόμενο αυτό είναι αμφίβολης κλινικής σημασίας

# Επαναοξυγόνωση



# Βασική εξήγηση για το πώς λειτουργεί η κλασματοποίηση στους φυσιολογικούς ιστούς

- Η κλασματοποίηση επιτρέπει στα φυσιολογικά κύτταρα να επιδιορθώσουν την υποθανατηφόρα βλάβη (repair) και να επαναποικίσουν (repopulation) τον ιστό μεταξύ των κλασμάτων

# Κλασσική ακτινοθεραπεία

- Χορήγηση της συνολικής δόσης σε κλάσματα [συνεδρίες] των 1.8 – 2.0 Gy, ένα κλάσμα ημερησίως, 5 κλάσματα την εβδομάδα



# Πρώιμα-Ώψιμα ανταποκρινόμενοι ιστοί

# Ορισμοί

- Ανάλογα με το χρονικό διάστημα μέσα στο οποίο εκδηλώνονται οι παρενέργειες της ακτινοθεραπείας, οι φυσιολογικοί ιστοί διακρίνονται σε
  - Οξέως ή πρώιμα ανταποκρινόμενους
  - Όψιμα ανταποκρινόμενους
- Κάθε όργανο αποτελείται από πρώιμα και όψιμα ανταποκρινόμενους ιστούς

# Πρώιμες / Όψιμες παρενέργειες της ακτινοθεραπείας

- Πνεύμονας πνευμονίτιδα / ίνωση
- Έντερο εντερίτιδα / στένωση
- Δέρμα ερύθημα / νέκρωση
- Εγκέφαλος οίδημα / νέκρωση



# Τι σημαίνουν όλα αυτά;

- Η συσσώρευση και η επιδιόρθωση των υποθανατηφόρων βλαβών είναι μια συνιστώσα που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στους όψιμα ανταποκρινόμενους ιστούς. Άρα για την εμφάνιση ενός συγκεκριμένου βιολογικού αποτελέσματος ρόλο έχει η δόση ανά κλάσμα!

# Τι σημαίνουν όλα αυτά;

- Στους πρώιμα ανταποκρινόμενους ιστούς το βιολογικό αποτέλεσμα εξαρτάται από τις θανατηφόρες βλάβες, δηλ. περισσότερο από την συνολική δόση της ακτινοθεραπείας

# Υπερκλασματοποιημένη ακτινοθεραπεία

- Χρήση περισσότερων του ενός κλάσματος ημερησίως (π.χ. 2 ή 3), με αύξηση της συνολικής δόσης κατά 15%
- Χορηγούμε ημερησίως 2 κλάσματα των 1.2 Gy το καθένα, στον ίδιο συνολικό χρόνο θεραπείας
- Οι φυσιολογικοί ιστοί χρειάζονται **6 – 8** ώρες για να επιδιορθώσουν τις υποθανατηφόρες βλάβες

# Υποκλασματοποιημένη ακτινοθεραπεία

- ✓ Η χορήγηση δόσεων μεγαλύτερων από 2.2 Gy ανά κλάσμα ημερησίως, ονομάζεται υποκλασματοποίηση της ακτινοθεραπείας
- ✓ Τα σχήματα αυτά έχουν υψηλή όψιμη τοξικότητα !
- ✓ Χρήσιμα ίσως για ανακουφιστική ακτινοθεραπεία από έμπειρους Ακτινοθεραπευτές-Ογκολόγους

## Take home message...

- Οι ακτίνες Χ είναι έμμεσα ιοντίζουσες (προκαλούν βιολογικές, χημικές αλλαγές αλληλεπιδρώντας με άλλα άτομα ή μόρια στο κύτταρο)
- Η ακτινοβιολογία μελετά τις επιδράσεις της ιοντίζουσας ακτινοβολίας στο κύτταρο, στους ιστούς, στα όργανα και στο ανθρώπινο σώμα

# Take home message...

## Οι βιολογικές δράσεις της ιοντίζουσας ακτινοβολίας:

- 1) μέσω της παραγωγής ελεύθερων ριζών
- 2) μέσω βλάβης στο DNA!
- 3) μέσω χρωμοσωμικών βλαβών
- 4) μέσω βλαβών στην μεμβράνη

## Take home message...

- Τα κύτταρα είναι πιο ακτινοευαίσθητα στην ακτινοβολία στις φάσεις **M** και **G2** και πιο ανθεκτικά προς το τέλος της φάσης **S**
- Η καμπύλη επιβίωσης είναι ένα διάγραμμα που παριστά ποσοτικά, πόσα κύτταρα επιβιώνουν μετά από την έκθεσή τους σε συγκεκριμένη δόση ακτινοβολίας