

Радиопротектори и радиосензитајзери

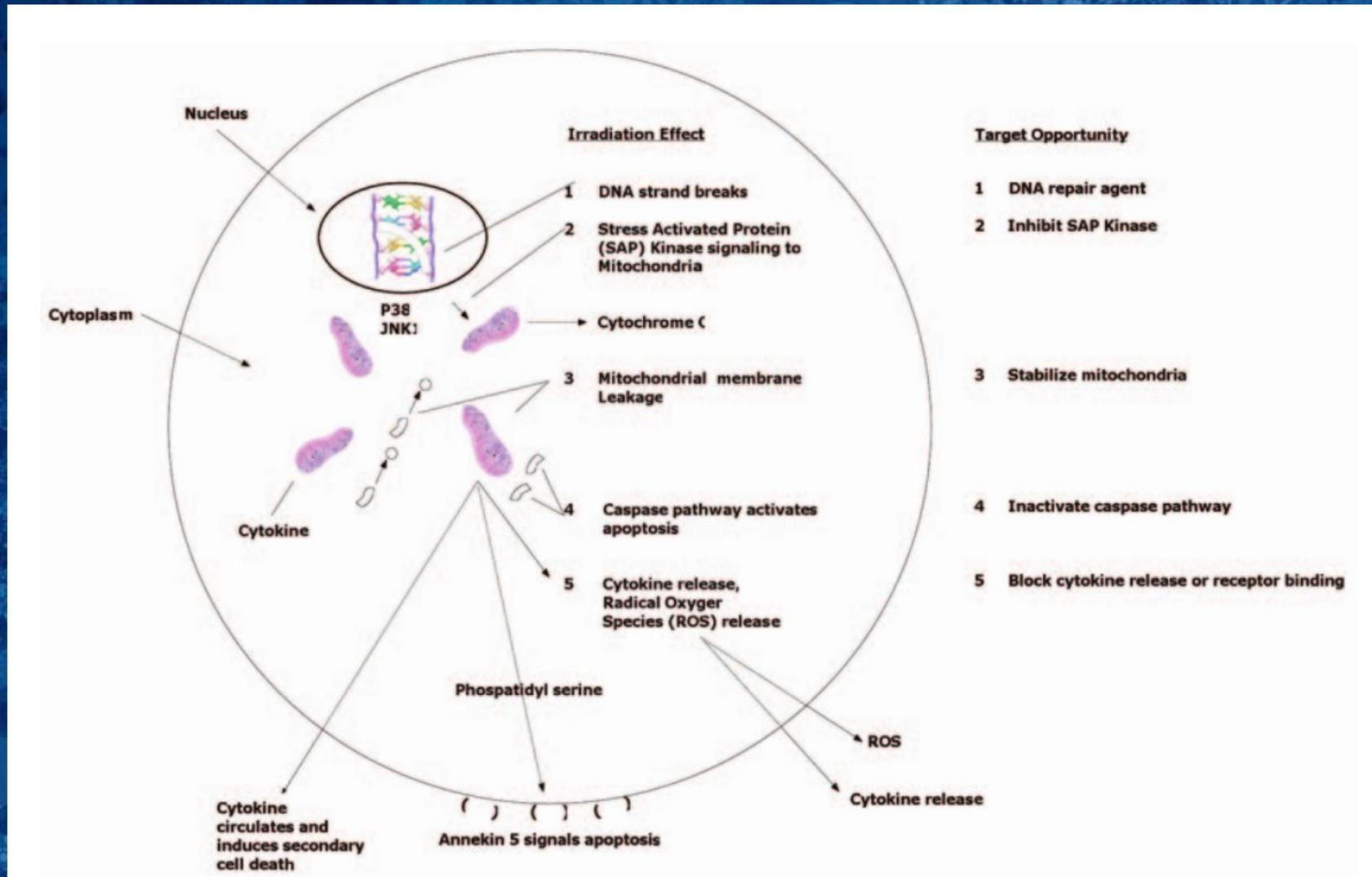
Модулисање одговора ткива/органа/организма на јонизујуће зрачење

- Живи организми поседују специфичне системе за уклањање реактивних врста и фактора
- На одговор живог система на излагање ј.з. могуће је утицати преко различитих егзогених хемијских и физичких агенаса.
- Супстанце/агенси које умањују ефекте дејства јонизујућег зрачења на здраво ткиво називају се **радиопротективним агенсима**.
- Супстанције/агенси који појачавају ефекат дејства јонизујућег зрачења у (пожељно) патолошком ткиву називају се **радиосензитајзерима**.

Подела радиопротективних агенаса

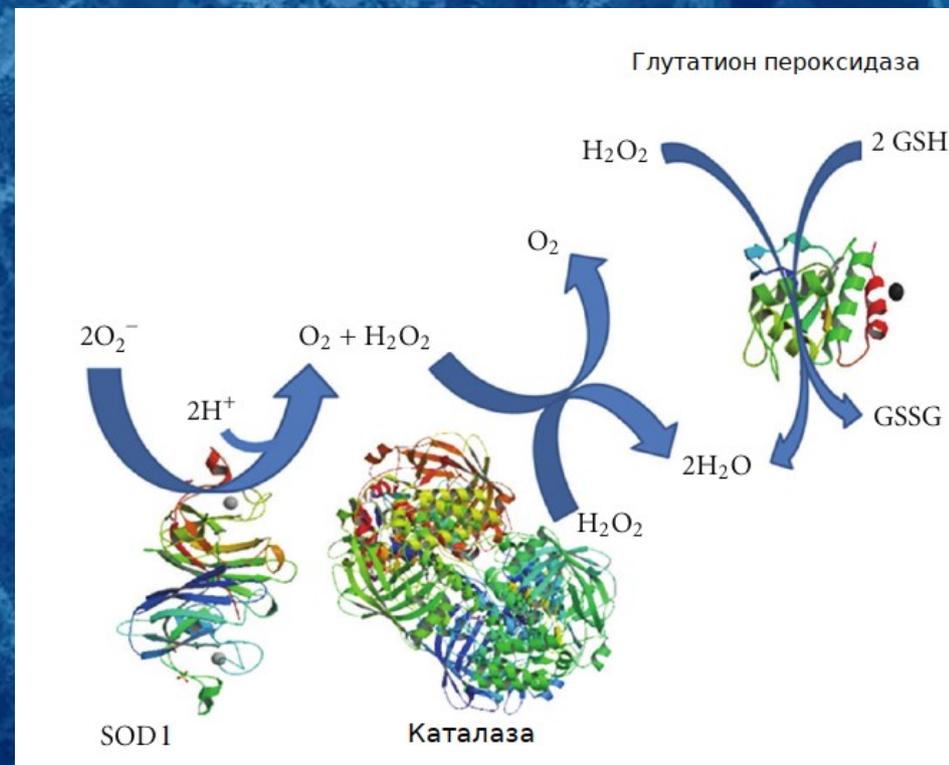
- Радиопротектори
 - Примењују се непосредно пре зрачења. Улога – елиминација реактивних врста насталих до ~ 1 ms након зрачења.
- Митигатори/модулатори одговора
 - агенси који се примењују у тренутку озрачивања или између његовог завршетка и појаве симптома у здравом ткиву.
- Терапеутици
 - Агенси који ублажавају ефекте третмана јонизујућим зрачењем и дају се по испољавању симптома

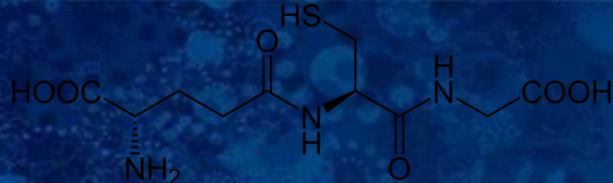
Механизам реакције ткива на јонизујуће зрачење и места у механизму где могу деловати радиопротектори



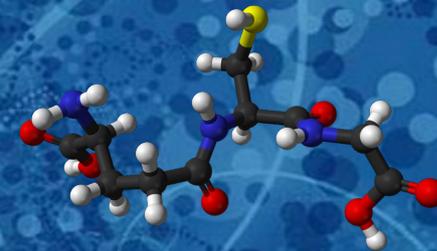
Својствени (унутрашњи) радиопротектори

- Глутатион
- Супероксид дизмутаза
- Каталаза
- Глутатион пероксидаза
- Мелантонин
- Металотионеини





Глутатион



- 0,5-10 mmol у цитосолу и органелама
- Синтетише се у два корака
 - л-глутамат+цистеин (катализовано глу-цис лигазом)
 - + глицин (катализовано глутатион синтетазом)

Са РОС

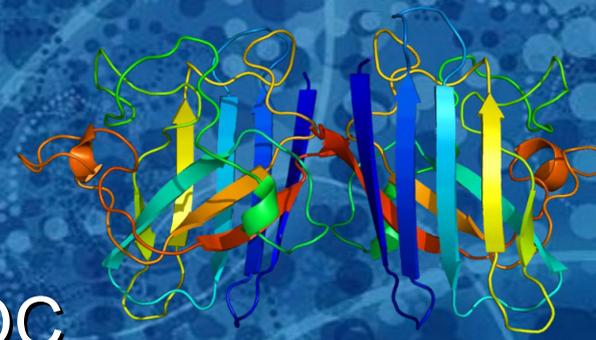


Са слободним радикалима

- $\text{GSH} + \text{R}\cdot \rightarrow 0,5 \text{ GSSG} + \text{RH}$
- У нормалном физиолошком стању организма $\text{GSH}/\text{GSSG}=9:1$
- Редукција овог односа указује на оксидативни стрес
- Реоксидација

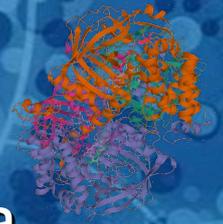


Супероксид дисмутаза



- Улога: каталише редукцију/оксидацију РОС
- Три типа :
 - SOD1 (цитосол, органеле) Zn, Cu хомодимер
 - SOD2 (митохондрије) Mn, Fe тетрамер
 - SOD2 (екстраћелијски медијум) Zn, Cu тетрамер
- Механизам уклањања РОС
$$\text{Cu}^{2+}\text{-SOD} + \text{O}_2^{\bullet-} \rightarrow \text{Cu}^+\text{-SOD} + \text{O}_2$$
- $$\text{Cu}^+\text{-SOD} + \text{O}_2^{\bullet-} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{Cu}^{2+}\text{-SOD} + \text{H}_2\text{O}_2$$

Каталаза



- Тетрамер, могуће је наћи у свим живим ћелијама
- Један молекул каталазе може конвертовати милионе молекула пероксида
-
- Претпостављени механизам

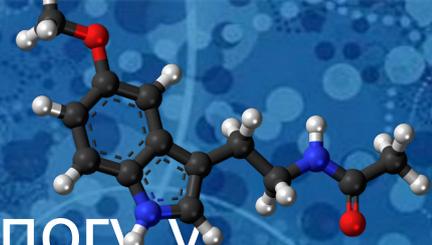


Глутатион пероксидазе

- Фамилија ензима са различитим локализацијама – најчешће у цитоплазми (GPX1). У активном месту садржи селен.
- Улога редукција липидних пероксида и водоник пероксида преко конверзије GSH у GSSG
- Механизам



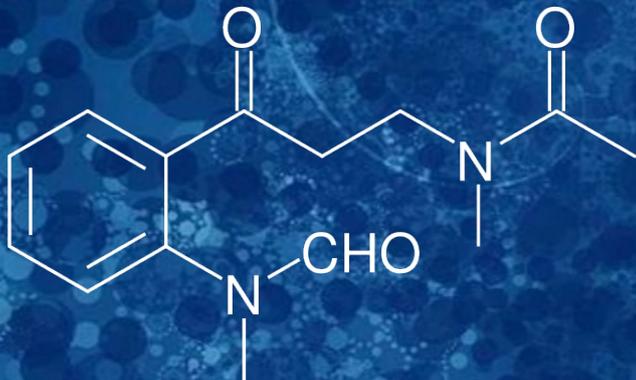
Мелантонин



- Хормон који лучи пинеална жлезда и има улогу у регулацији циркадијалног ритма.

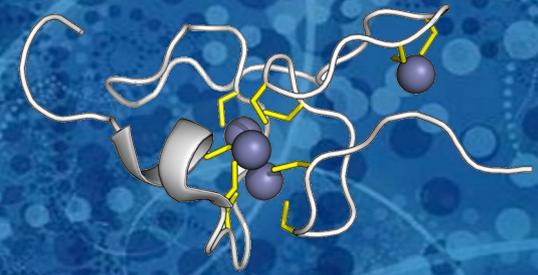


N1 – ацетил- N2 формил-
5 -метокси кинурамин



+ O₂⁻

Металотионеини



- Протеини мале молекулске масе (500-4000 D) код којих 1/3 састава чине цистеински остаци
- Цистеински остаци могу да везују различите метале као што су цинк, бакар, селен, кадмијум, жива, сребро...
- Експресија ових протеина зависи од концентрације доступних метала.
- Слободне SH групе могу да реагују са ROS и OH радикалима дониарајући им водоник и тако их преводе у стабилна једињења

Зашто и поред присуства интерних радиопротектора постоји јака реакција организма на J.3?

Излагање J.3. производи велику концентрацију ROS и осталих реактивних врста која вишеструко превазилази капацитете интерних радиопротектора, па је неопходна употреба егзогених вештачких и природних радиопротектора.

Основни критеријуми за избор радиопротектора

- Треба да штити здраво ткиво а да при том не утиче на третман патолошког ткива зрачењем.
- Да се преференцијално распоређује у здравом ткиву
- Да га организам добро толерише и да има ниску токсичност.
- Ефикасност радиопротектора – фактор редукције дозе

$$DRF = \frac{\text{Доза коју је потребно применити у присуству радиопротектора}}{\text{Доза коју је потребно применити за третман}}$$

* за постизање истог ћелијског преживљавања

Општи механизми дејства радиопротектора

- Превенција формирања високореактивних врста
- Детоксикација врста произведених јонизујућим зрачењем.
- Стабилизација ткива
- Убрзавање процеса оправке оштећених молекула (првенствено ДНК)

Сулфхидрилна једињена (тиоли)

- Највише испитивана једињења
- Велики број ових једињења (око 4000) је синтетисан у Walter Read Army Research центру (носе ознаку WR-*) и разликују се по дужини ланца и присуству/одсуству хидроксилне групе.
- Структурни аналози цистеина
- Најефикаснијим су се показали они који на једном крају ланца имају базну, најчешће амино групу, а на другом крају SH групу.
- SH група је у препарату заштићена фофатном групом која се у организму ензимски уклања.

Амифостин WR 2721 (Ethyol[®])



- Има кратко време полуживота у крви па се примењује 15 минута пре озрачивања.
- Више се концентрује у здравим ткивима што је последица
 - Мање експресије алкалне фосфатазе у туморима
 - Слабог протока крви у туморима
- Поред примарног дејства уклањања реактивних врста доводи до хипоксије у здравим ткивима чиме их посредно штити.

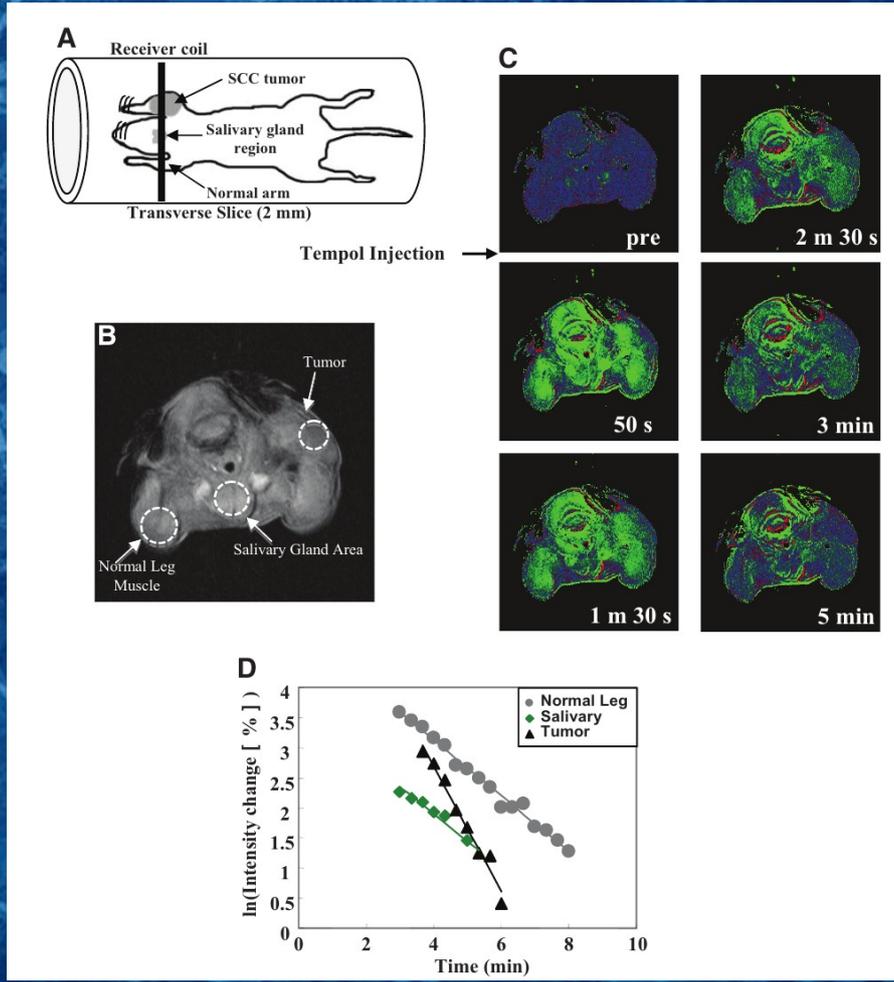
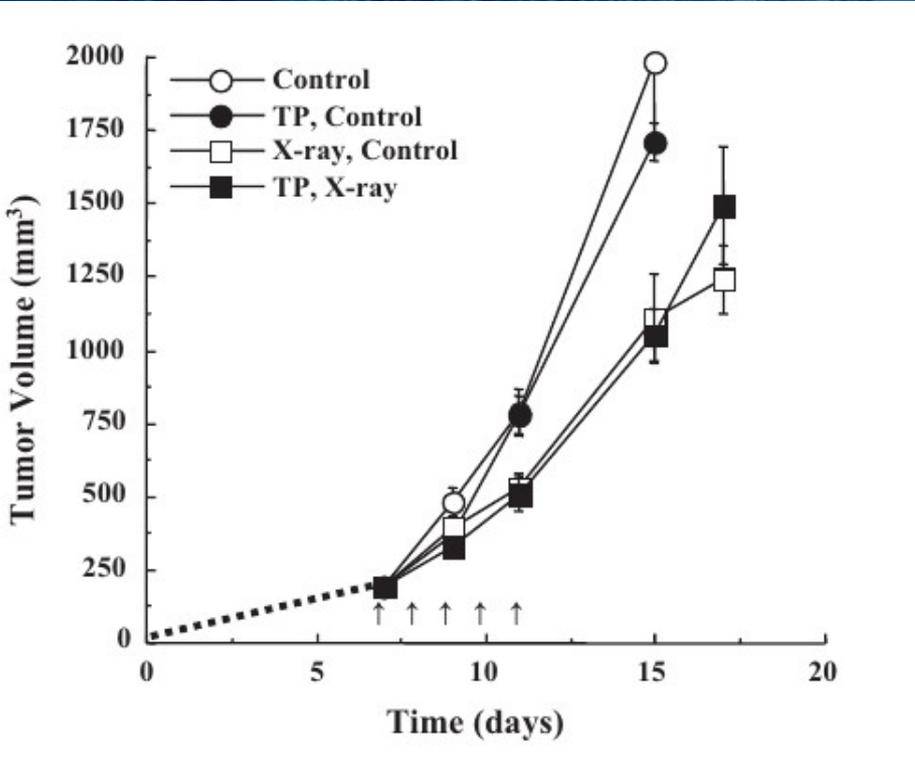
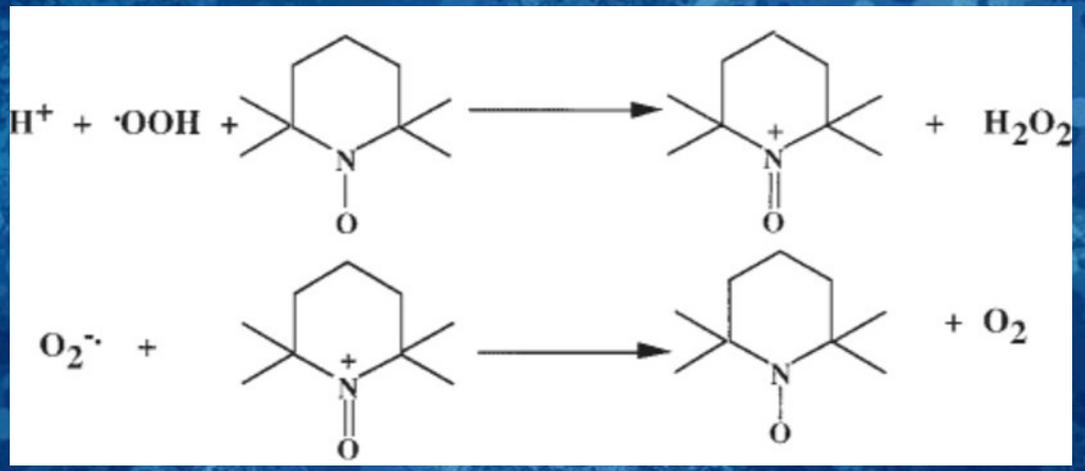
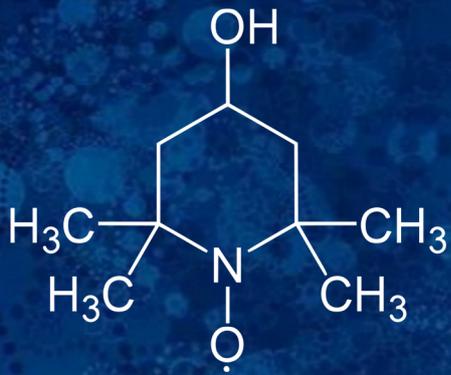
- Редукује акутну и одложену ксеростомију, мукозитис, дисфагију, дерматитис, пнеумонитис...
- Амифостин као блокатор мутагенезе
-

Амифостин у радиотерапији

- Различита експресија алакалне фофофатазе у здравом (изражена) и тумору представља основ за примену амифостина у радиотерапији.
- Међутим за сада је одобрен само за ублажавање симптома ксеростомије код третмана канцера главе и врата.
- Нуспојаве коришћења у многоме ограничавају примену.

Нитроксиди

- Стабилни нитроксидни радикали који доводе до редукције реактивних врста.
- Најпознатији је темпол.
- Показано је да се у активном облику више задржава у ткивима него у туморима у којима бива тренутно редукован у неактивни хидроксиламин.
- Не утиче на одговор тумора на зрачну терапију
- Пошто је парамагнетик могуће га је *in vivo* пратити помоћу МРИ



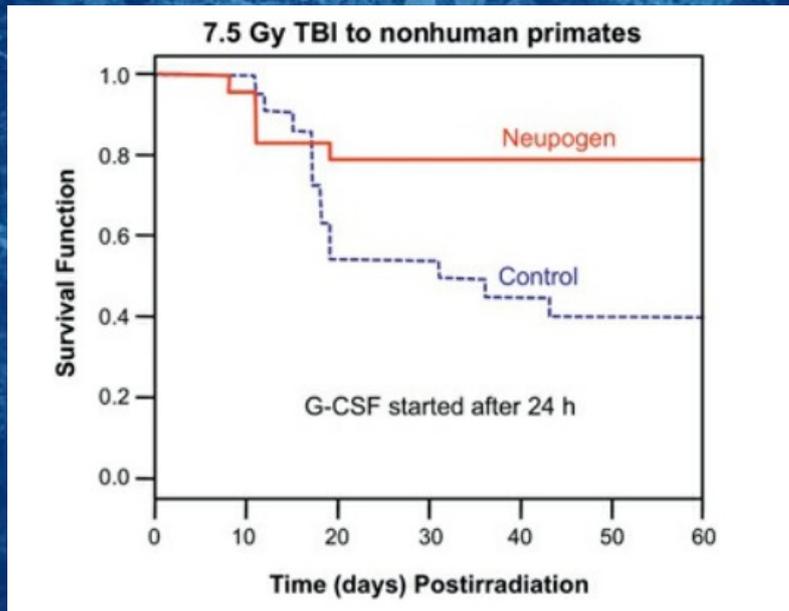
Радиопротектори у фази испитивања

- PRC-210

Митигатори – модификатори одговора

FDA одобрени стимулатори гранулоцитних колонија

- Неупоген (филграстим)
- Неуласта (PEG филграстим)
- Леукин (саграмостим)



У случају ингестије радионуклида

- Калијум јодид за елиминацију (истискивање радиоактивног јода)
-
- Гвожђе хексацијано ферат – везивање ^{137}Cs у гастроинтестиналном тракту
-
- EDTA за уклањање тешких радионуклида из крви (U, Pu...)

Преглед радиопротектора

Радиопротектори	пример	механизам
Сулфхидрилна једињења	Амифостин (WR2172) Цистеин, цистеинамин, глутатион, АЕТ	Заробљавање слободних радикала, донација водоничног атома
Антиоксиданси	Tempase, Hoechst 33342, витамини А,Е і С, TMG, Мелатонин	Заробљавање слободних радикала
АСЕ инхибитори	Каптоприл, Еланоприл, Пенциламин, Пентоксифиллин, L-158, 809	Инхибиција протеазе, антиоксидација, инхибиција синтезе колагена
Цитопротективни агенси	Mesna, Deksraxoksan, Amifostin	Редукује токсичност хемотерапеутика, смањује нефротоксичност
Металоелементи	Манган хлорид, соли кадмијума, бизмут субнитрат	Индукција металотионина
Имуномодулатори	Гама интерферон, полисахариди AM5, AM218, мртве ћелије Lactobacillus-a, Broncho-Vaxom , Трехалоза дикориномиколати	Стимулација имуног система, повећана продукција цитокина
Липополисахариди и простагландини	-	Синтеза простагландина, повећан ниво цикличног AMP, поправка DNK
Биљни екстракти	Куркумин, Оријентин, Вицинин	Заробљавање слободних радикала
Лиганди који се везују за DNK	Hoechst 33342	Електрон трансфер, заробљавање слободних радикала
Остало	Мелатонин, Карнозин, Темпас, Темпол	заробљавање слободних радикала, антиоксиданси

Радиопротектори и регулатори

Категорија	Генеричко име	Специфична примена	FDA статус
Нутрацеутикали-изофлавоноиди	Genisten (4,5,7 трихидрокси изофлавоноид) BIO300™	Преживљавање и системска заштита органа (к. сржи, црева, плућа)	IND
Имуномодулатор TLR5 агонист	CBLB502 (флагелин из Salmonella typhimurium) Entolimod™	Повећање преживљавања и заштита к. сржи и цревног епитела у аним. моделима	IND
Метаболит кортикостероида	5-AED (андрост-5-ене-3-бета, 17-бета диол) Neumune™	Повећање преживљавања и заштита к. сржи	IND
Кортикостероид	BDP/SGX201 (кортикостероид-беклометазон 17, 21 дипоропионат) OrbeShield™	Ублажавање радијационо индукованог енетеритиса и повећање преживљавања	IND
Хватач слободних радикала миметик мезопрофирина	AEOL 10150 (Mn профирин SOD мимик)	Превенција оштећења плућа, позитивна регулација имуног система	IND
Рекомбинантни фактор раста	Rhu G-CSF (филграстим) Neupogen™	Хематопатолошке индикације, стимулација продукције неутрофила, смањење ризика од озбиљних инфекција	IND
Рекомбинантни фактор раста	Pegfilgrastim, Neulasta®	Хематопатолошке индикације, стимулација продукције неутрофила	Одобрен
Рекомбинантни цитокини	Rhu IL-12 (HemaMax™)	Повећање преживљавања и заштита к. сржи и цревног епитела.	expIND
5-хидрокси триптамин агонист	Granisetron, Kytril®	Минимизација емезиса (повраћања) насталог као последица акутног излагања Ј.З.	Одобрен
Хемијски протектори	Амифостин WR2721 (2-(3-аминопропил) аминоетилфосфоротиоат) Ethyol®	Цитопротекција и системска заштита органа (к. сржи, црева, плућа)	Одобрен
Цитокини и фактор раста	Palifermin, Kerivance®	Стимулација диференцијације и пролиферације ћелија, оправке ДНК и уклањање слободних радикала	Одобрен

*FDA – USA Food and Drug Administration

Радиосензитајзери

- Радиосензитајзери су агенси који сами по себи не поседују терапијски ефекат, већ појачавају терапијски ефекат јонизујућег зрачења Основни проблем је како учинити хипооксичне ћелије тумора осетљивијим на јонизујуће зрачење
- Њихово дејство је базирано на
 - Повећавању осетљивости хипооксичних ћелија агенсима који опонашају ефекат кисеоника или повећавају њихово опскрбљивање кисеоником.
 - Инкорпорацији радио-осетљивих халогених деривата тимидина у ДНК, што се дешава само код ћелија подложних брзој деоби (пролиферација)
 - Инактивацији протеина који учествују у поправци ДНК
 - Продукцији цитотоксичних супстанци радиолизом сензитајзера
 - Индукцији јонизујућег зрачења на локацији лезије (терапија неутронским захватом $^{10}\text{B}(n, \alpha)$)

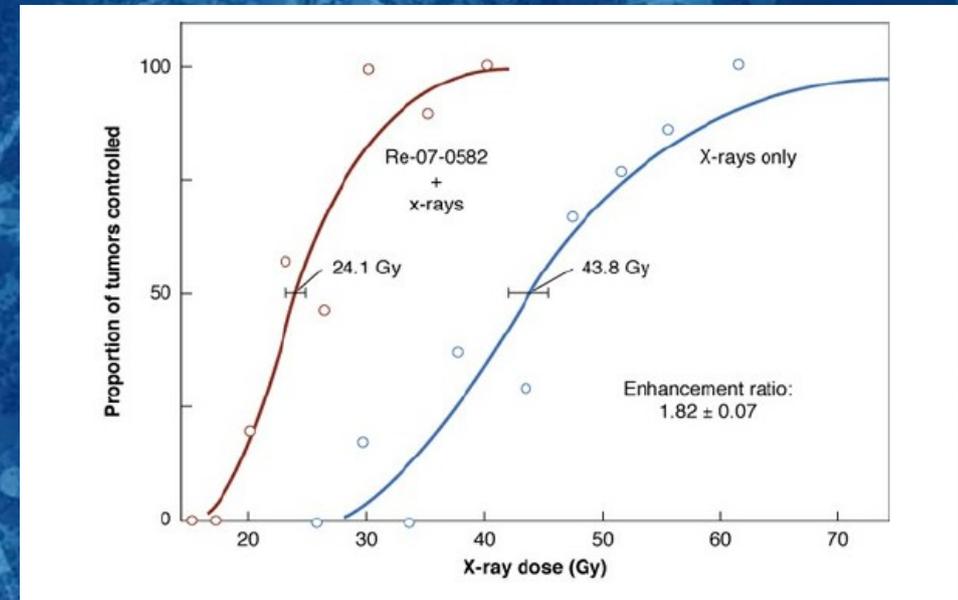
- Ефикасност радиосензитајзера (РС) се дефинише преко терапеутског појачања које се дефинише као релативно повећање антитуморског дејстава у односу на радиотерапију без примењеног РС агенса.

- Ендогени радиосензитајзери

- Кисеоник
 - Азот моноксид

- Ксенобиотици

- Халогеновани пиримидини
Сензитајзери хипооксичних ћелија



Већина хемотерапијских агенаса су у исто време радиосензитајзери

Ефикасност радиопротектора се дефинише преко фактора терапијског појачања FTE

$$FTE = \frac{\text{Доза коју је потребно применити у присуству радиосензитајзера}}{\text{Доза коју је потребно применити за треман}}$$

АЗОТ МОНОКСИД

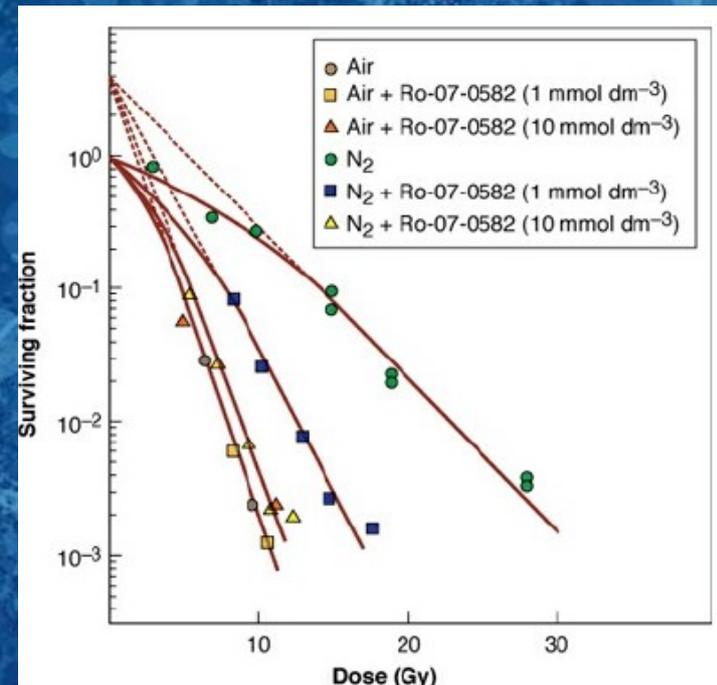
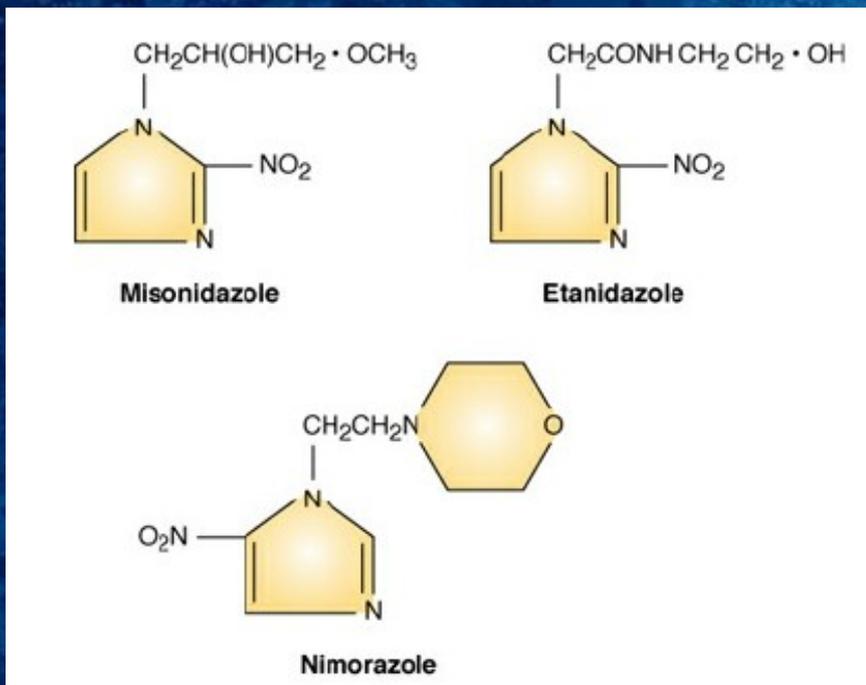
- Садржи неспарени електрон и лако реагује са слободним радикалима
- Реагује са радикалима азотних база у ДНК дајући стабилне врсте
- Повећава принос двоструких прекида ДНК (нејасан механизам)
- Продужава време потребно за оправку ДНК

Халогеновани пиримидини

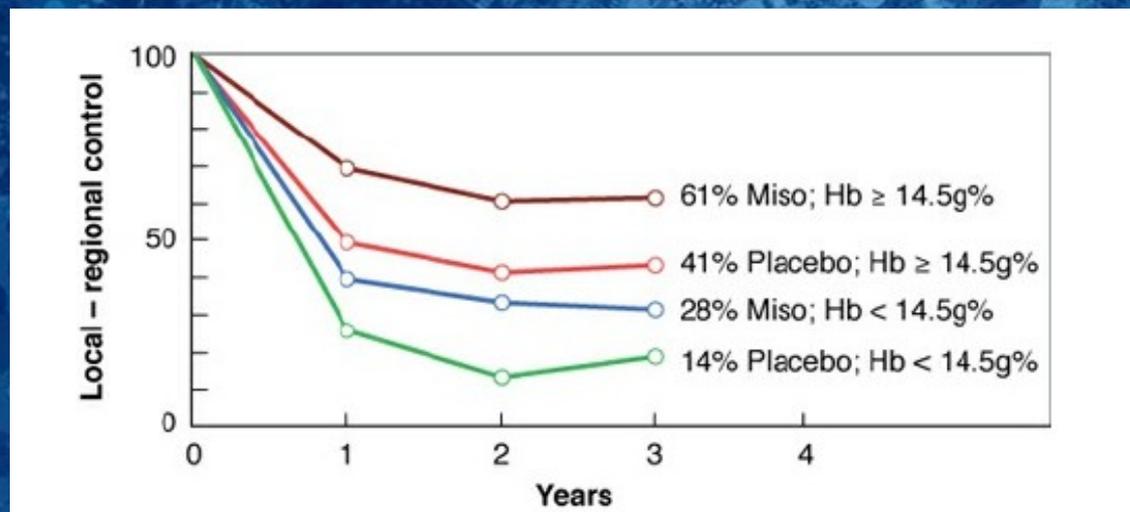
- Ћелије које су у фази синтезе ДНК не могу да разликују тимидин и његове халогеноване аналоге, као што су бромодехидроурдин, јододехидроурдин или флуородехидроурдин/дезоксидехидроурдин, тако да долази до њиховог уграђивања у ДНК. Веза угљеник-халоген се под дејством јонизујућег зрачења раскида дајући угљенично центриран радикал и халоген. Радикал може даље са кисеоником дати перокси радикал и довести до сличног прекида ДНК ланца као у случају дејства хидроксилног радикала.
- У употреби
 - 5-флуорурацил (5-FU)
 - 5-флуоро деозокси урацил
 - Гемцитабин (2',2' дифлуоро- 2' дезоксицитидин)
 - Цапецитабин – “паметни” прекурсор 5-FU (користи различиту активност тимидин фосфорилазе у туморским и здравим ткивима; у туморима долази до брзе конверзије у 5FU)

Агенси осетљиви на хипооксију

- Сензитивизују хипооксична ткива, али не и нормална ткива разграђују тако да лакше дифундују кроз њих.
- То је слободно-радикалски процес; агенс имитира кисеоник у покушају да “поправи” оштећење
- Неки ароматични Н-оксиди (нпр. бензотриазин) који показују селективну токсичност према хипооксичним ћелијама, такође имају особине радиосензитајзера; њихово дејство је слично дејству кисеоника
- Нитроимидазоли мизоимидазол, етанидазол и нимодазол испитивани су у клиничим истраживањима, али није доказана предност њихове примене у комбинацији са радиотерапијом.



Ефекат мизоимидазола



Контрола раста тумора -ефекат мизоимидазола

Радиосензитајзери који мењају ДНК или инхибирају њену оправку

- Двојни ефекат дејства неких хемотерапијских агенаса повезан је са присуством редокс метала (бакар, гадолинијум)
- Цисплатин – хемотерапијски агенс за кога је доказано да има и својства радиосензитајзера
- Бета-лапахон і Camptothecin – инхибирају топоизомеразу и повећавају радиосензитивност меланома

Маркери хипооксичних ћелија

- Нитроимидазоли обележени са β^- радионуклидом. Агенс се непромењен брзо елиминише из ткива са нормалном оксигенацијом, док се хипооксичним ткивима разграђује депонујући радионуклид.
- Посебно су истраживани нитроимидазоли комбиновани са ^{123}I , који могу да служе и за праћење терапије SPECT камерама