

The background is a deep blue with a complex pattern of overlapping circles and dots of varying sizes and opacities, creating a textured, almost molecular or network-like appearance. The text is centered and rendered in a bold, white, sans-serif font with a black outline.

**ИНТЕРАКЦИЈА
ЈОНИЗУЈУЋЕГ ЗРАЧЕЊА СА
ДНК**

ДОКАЗИ ДА ЈЕ ДНК МОЛЕКУЛ ГЛАВНА МЕТА У ЋЕЛИЈИ

Код једноставних организама број једноструких (чија је генетска основа један ланац) и двоструких прекида ДНК у директној су корелацији са биолошком инактивацијом

- За више организме корелација између броја оштећења у ДНК и биолошке инактивације је компликованија.
- Могућност поправке оштећења ДНК је блиско повезана са ћелијским преживљавањем.
- Ћелије које као резултат генетског дефекта немају могућност поправке ДНК оштећења осетљивије су на дејство јонизујућег зрачења.
- Хемијске супстанције које блокирају поправку оштећења ДНК, повећавају осетљивост ћелија на јонизујуће зрачење.

Временска скала ефеката дејства јонизујућег зрачења у ћелијама

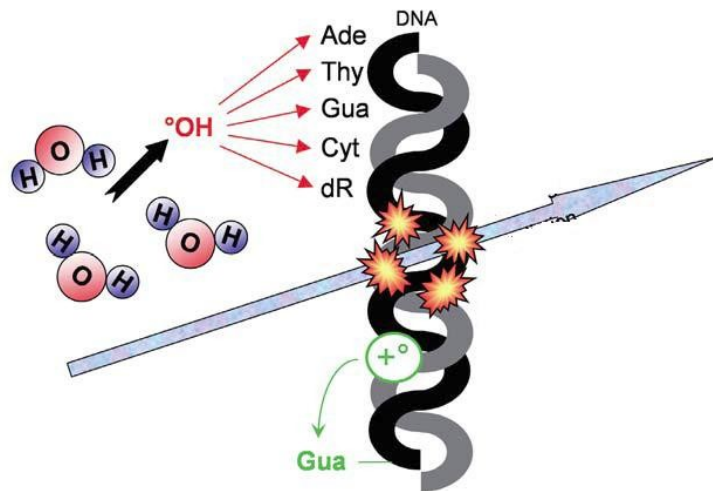
1. Брзе реакције 10^{-10} до 10^{-3} s

- апсорпција енергије
- производња слободних радикала
- напад на ДНК
- хемијска поправка ДНК

2. Биолошки процеси 10^{-3} до 10^4 s

- Ензимска поправка ДНК
- Рециклирање оштећених не-ДНК молекула
- Погрешно-оправљено ДНК оштећење фиксирано у геному
- 3. Биолошке последице 10^4 до 10^9 s
- Генетски ефекти у будућим генерацијама (наследни)
- Соматски ефекти (ћелијска смрт, канцер)

ОШТЕЋЕЊЕ ДНК ПОД ДЕЈСТВОМ ЈОНИЗУЈУЋЕГ ЗРАЧЕЊА



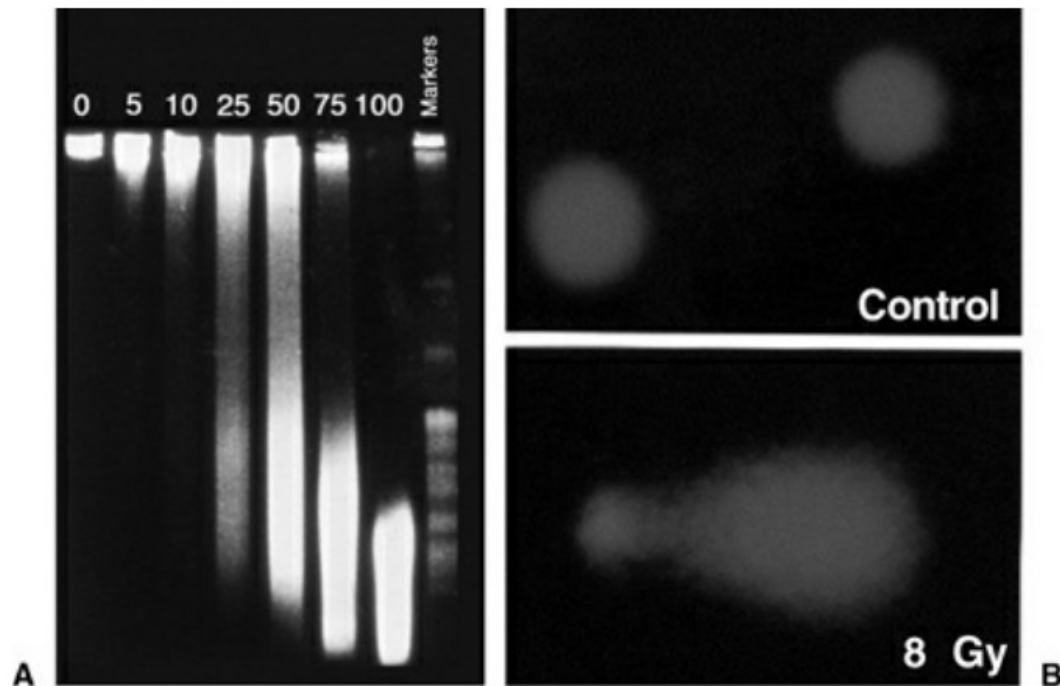
- Једноструки прекиди ланца ДНК
- Двоструки прекиди ланца ДНК
- Хемијска промена азотних база
- Хемијска промена шећерних остатака
- Умрежавање између ланаца ДНК
- Умрежавање између матриксних протеина (хистона) и ланца ДНК

БРОЈ И ТИП ДНК ОШТЕЋЕЊА ПОД ДЕЈСТВОМ ЈОНИЗУЈУЋЕГ ЗРАЧЕЊА

Тип оштећења		број /Gy /диплоидна ћелија
Прекид оба ланца		40
Једноструки прекид ланца		500-1000
Оштећење базе		1000-2000
Оштећење шећера		800-1600
ДНА-ДНА умрежавање		30
ДНА-протеин умрежавање		150

МЕРЕЊЕ УЧЕСТАНОСТИ ПРЕКИДА ЛАНЦА ДНК

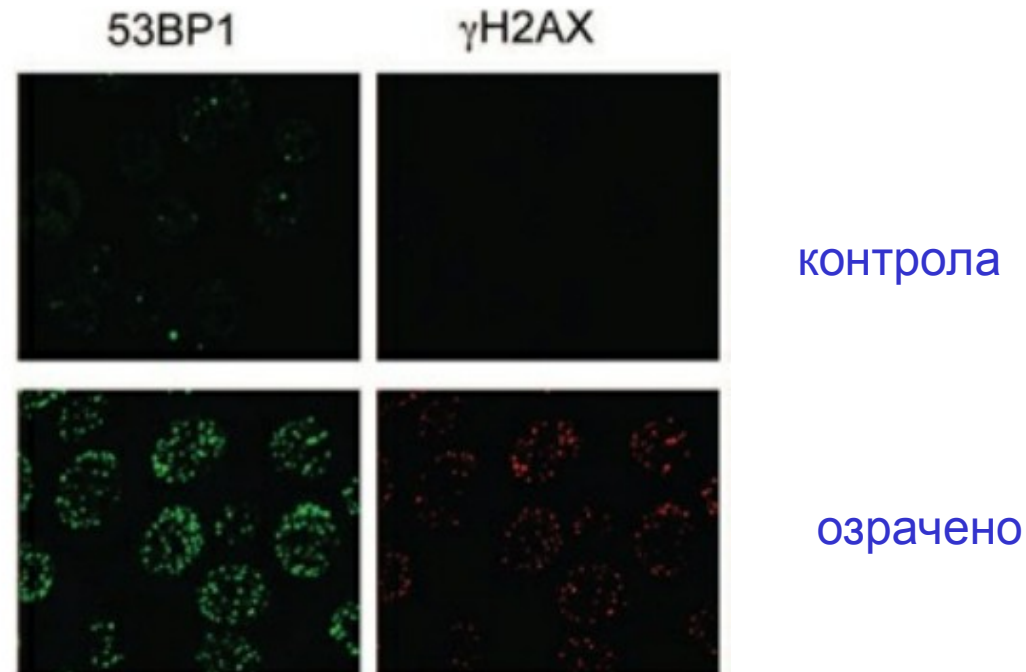
- Више техника од којих су најпопуларније
 - Гел електрофореза са пулсним пољем
 - Електрофореза на једној ћелији



- **Техника детекције радијационо индукованих фокуса**

- Користе се антитела на H2AX и 53BP1 протеине

-

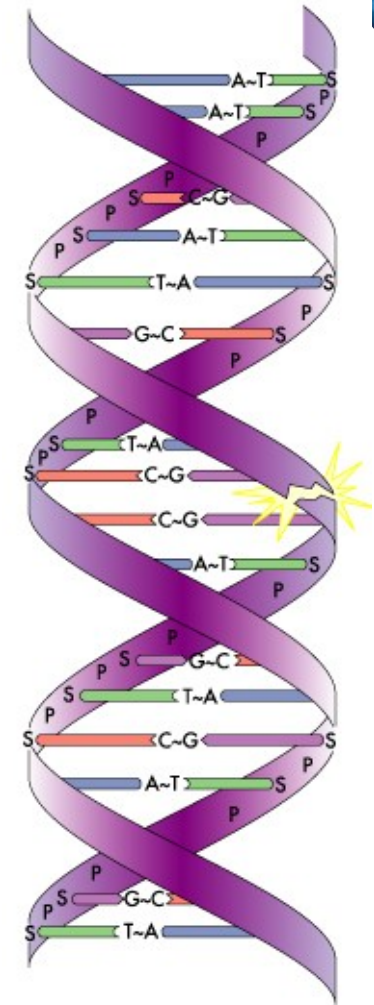


ОШТЕЋЕЊЕ ДНК ПОД ДЕЈСТВОМ ПРИМАРНО ГЕНЕРИСАНИХ OH^\bullet РАДИКАЛА

- Време живота OH^\bullet радикала је кратко; у том периоду овај радикал може да мигрира пар нанометара ($\sim 3,5 \text{ nm}$) пре него што реагује
- Попречни пресек ДНК хеликса има сличне димензије, тако да само хидроксилни радикали који настану у његовој непосредној близини могу да изазову оштећење или прекид/е ланца

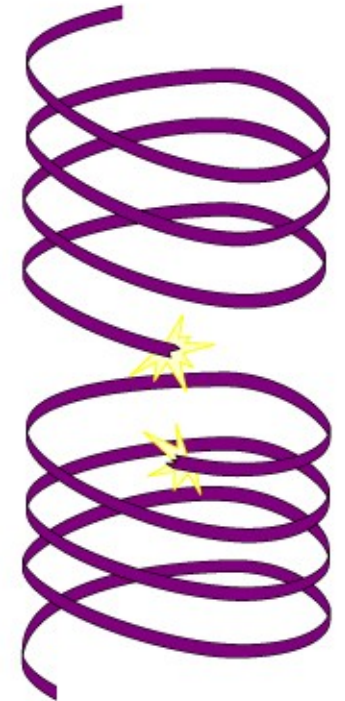
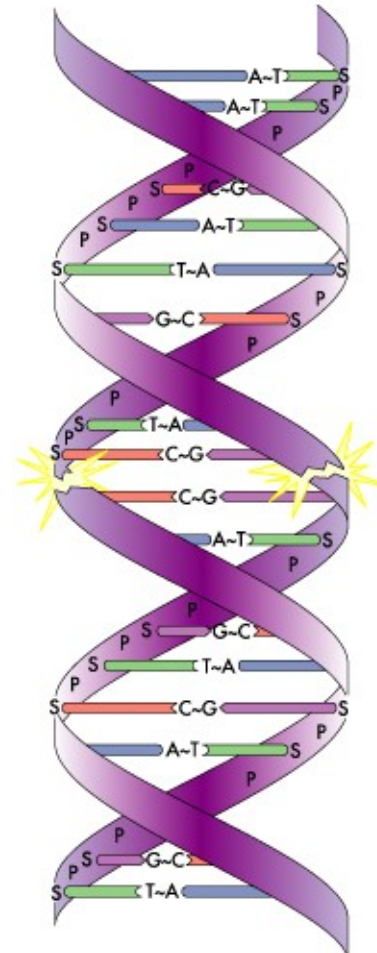
ЈЕДНОСТРУКИ ПРЕКИД ЛАНЦА

- Дешава се као последица напада OH^\bullet радикала на дезоксирибозни остатак у ланцу ДНК
- Дејством секундарних електрона
- Реакцијом дезоксирибозног остатка са радикалом насталим од азотне базе
- Оштећење је поправљиво (error free repair)



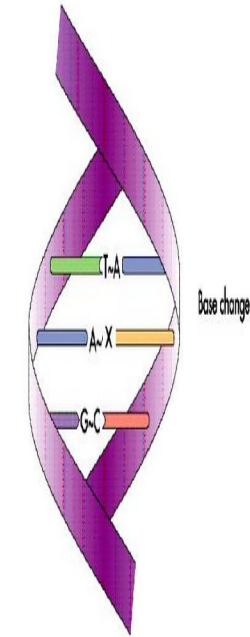
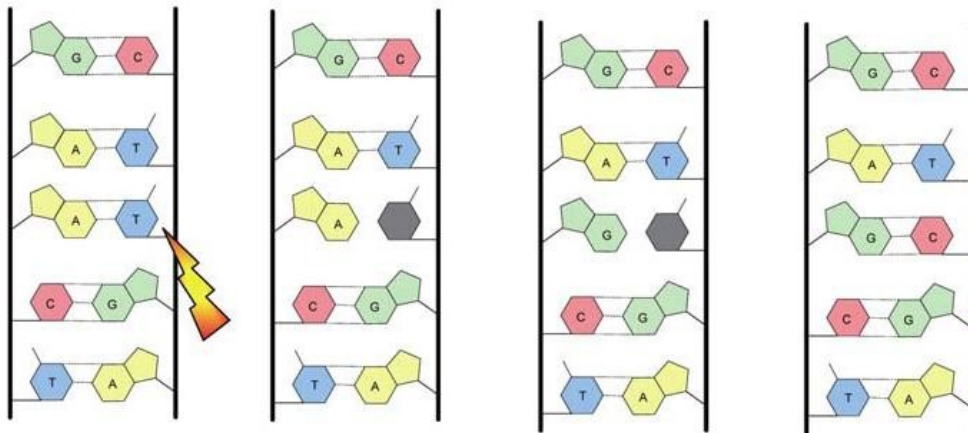
ПРЕКИД ОБА ЛАНЦА ДНК

- Дешава се услед пролаза секундарне наелектрисане честице/ца
- Доводи до прекида хромозома
- Овакво оштећење је тешко поправљиво – поправка је подложна грешкама
- Уколико овакав догађај не доведе до смрти ћелије, долази до озбиљних промена у генетском материјалу



ОШТЕЋЕЊЕ (ДЕЛЕЦИЈА) БАЗЕ

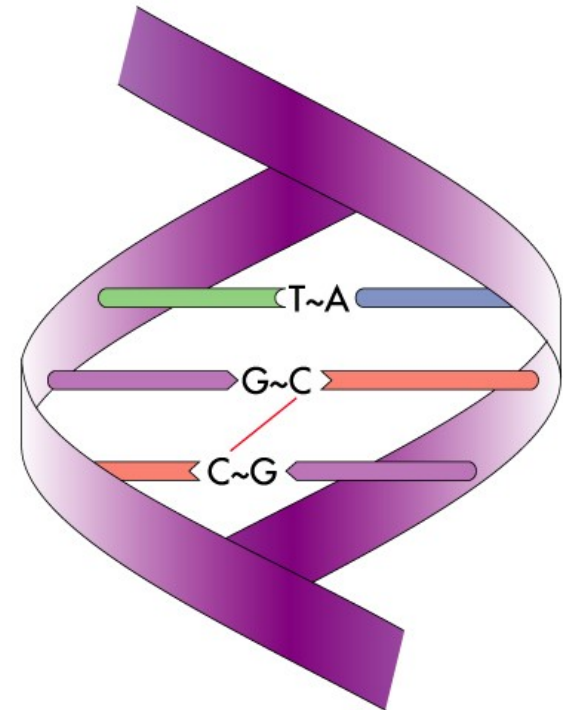
- Тешко поправљиво оштећење
- Узрок мутација



Мутација због
оштећења једне
базе

УМРЕЖАВАЊЕ У ДНК ХЕЛИКСУ

- Настаје као последица проласка наелектрисане честице
-
- Углавном настаје између истих база
-
- Ометена репликација ДНК

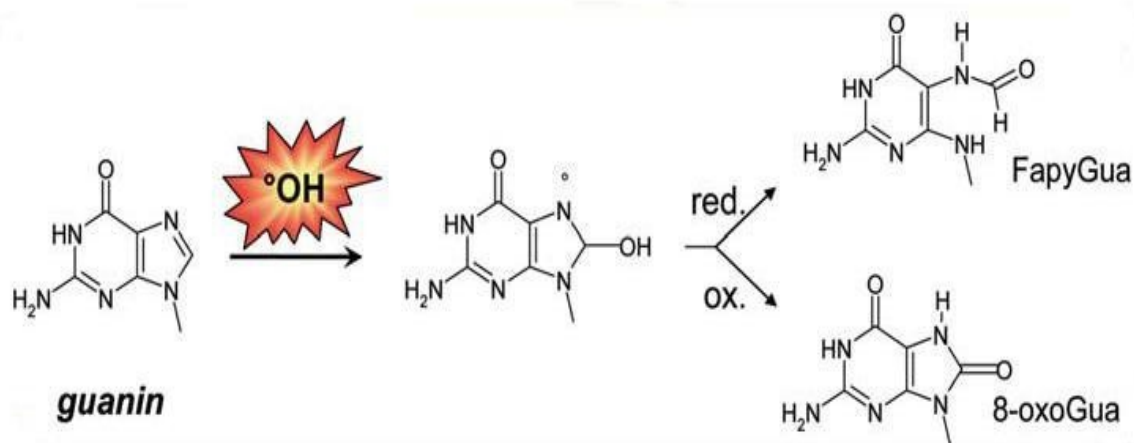


Механизми оштећења ДНК

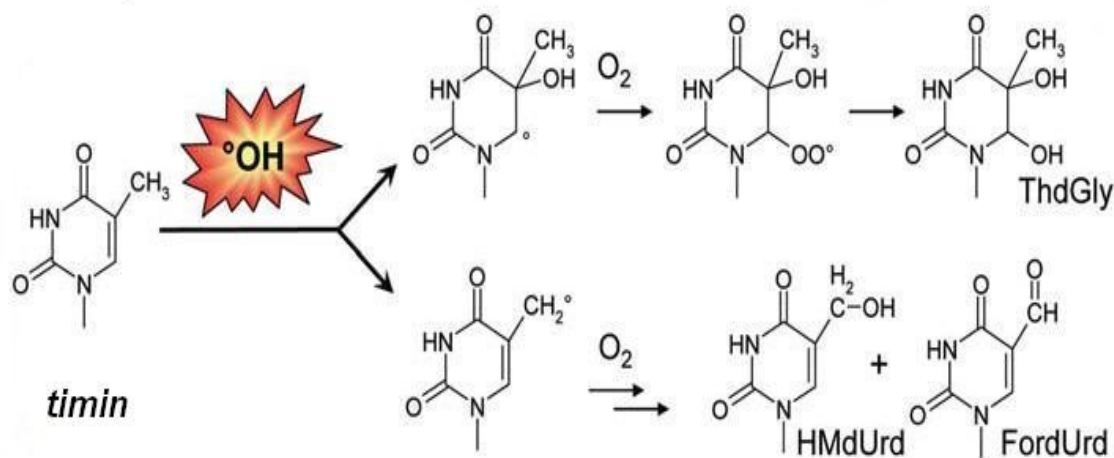
РЕАКЦИЈЕ СА ОН• РАДИКАЛИМА

Дифузија је одлучујући степен у механизму

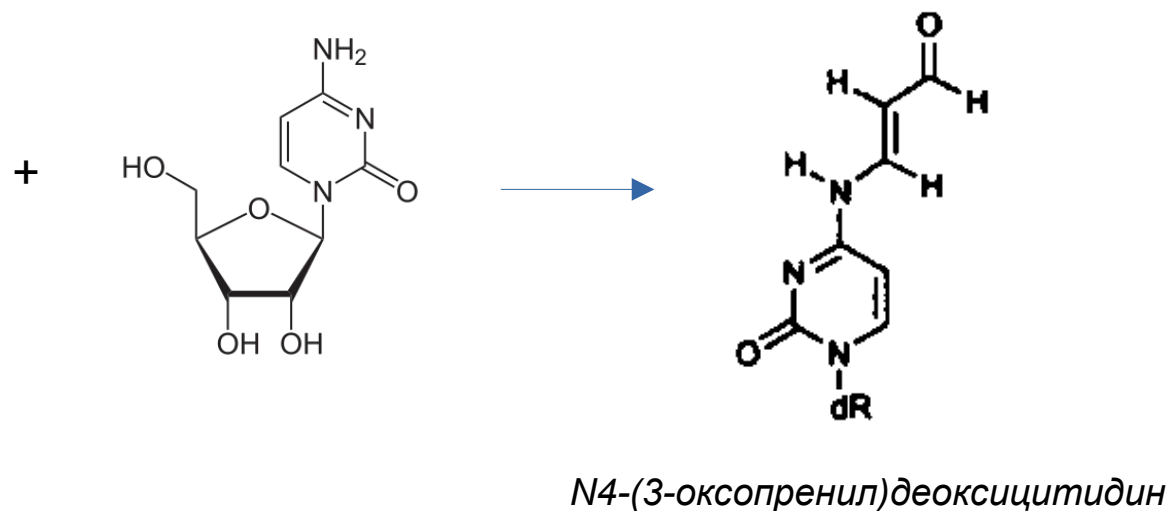
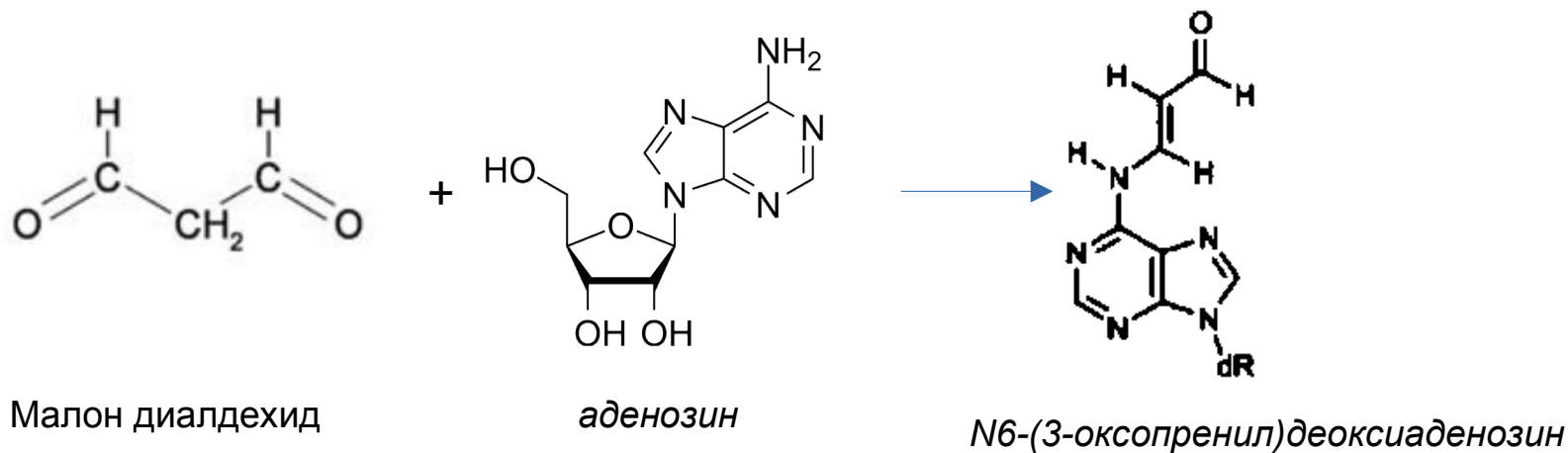
У интеракцији са пуринским базама (аденин, гуанин) доминантна је адиција ОН• радикала у положају С8 (напад на двоструку везу) при чему настаје 8-хидрокси-7,8-дихидропурин-7-ил радикал. Овај радикал даље подлеже оксидацији при чему се добија 8-оксо-7,8-дихидропурин. Компетитивна редукција доводи до отварања имидазолског прстена и настајања формаמידопиримидина (*FapyGua*)



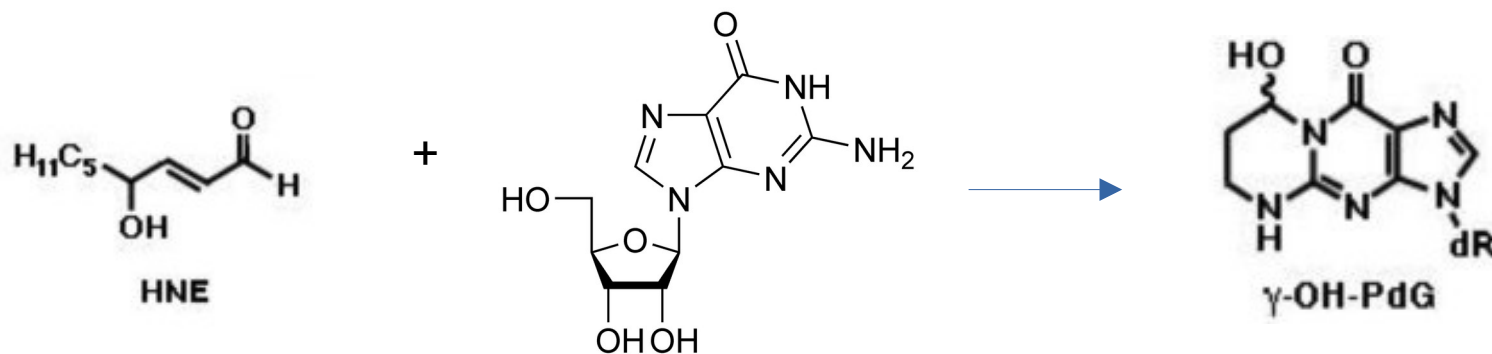
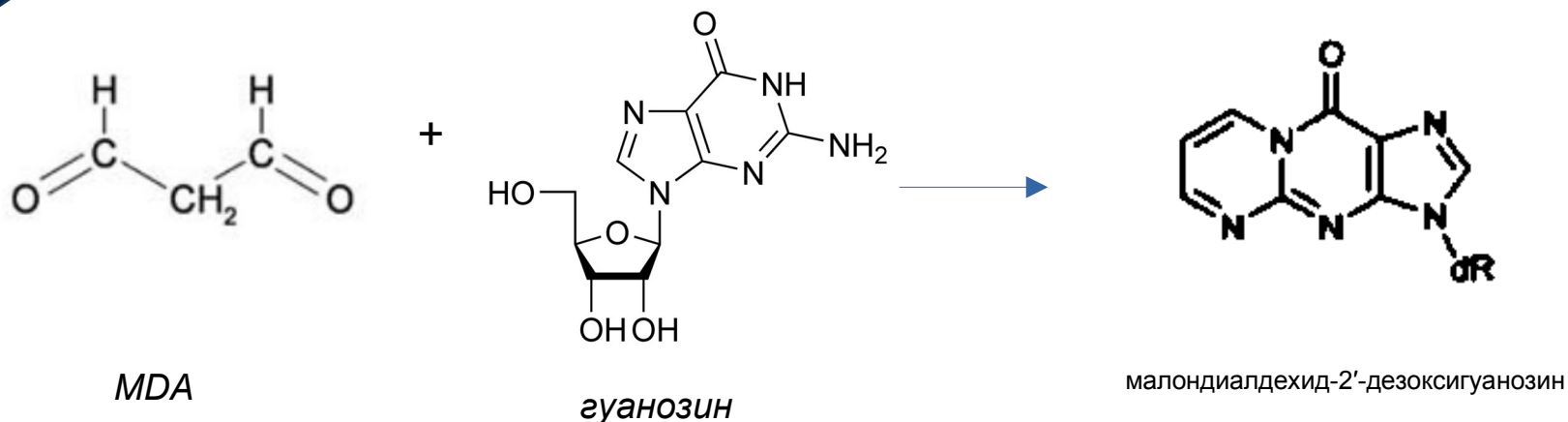
У интеракцији са пиримидинским базама (тимин, цитозин) долази до адиције $\text{OH}\cdot$ радикала у положају С5 и конкурентског процеса абстракције водоника са метил групе, што доводи до формирања угљенично центрираних радикала. Они даље подлежу оксидацији, при чему се као крањи производ у првом случају добија 5,6-хидрокси-5,6-дихидропиримидин, а у другом смеша 5-(хидроксиметил)-2'-деоксиуридина (HMdUrd) и 5-формил-2-деоксиуридина (FordUrd).



ОШТЕЋЕЊЕ НУКЛЕОТИДА/ЗИДА у РЕАКЦИЈАМА СА ПРОИЗВОДИМА ЛИПИДНЕ ПЕРОКСИДАЦИЈЕ

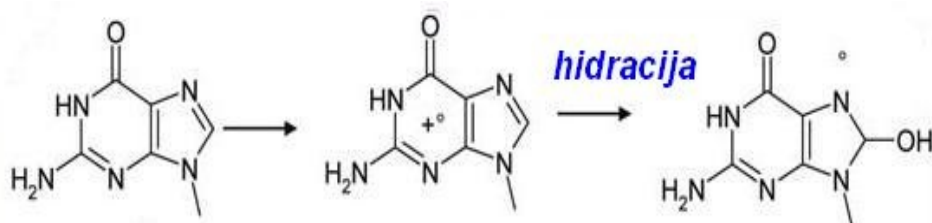


ОШТЕЋЕЊЕ НУКЛЕОТИДА/ЗИДА у РЕАКЦИЈАМА СА ПРОИЗВОДИМА ЛИПИДНЕ ПЕРОКСИДАЦИЈЕ



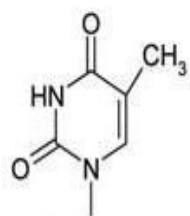
Такође регистроване су модификације нуклеотида узроковане реакцијама са акролеином.

ДИРЕКТАН УТИЦАЈ ЗРАЧЕЊА НА АЗОТНЕ БАЗЕ

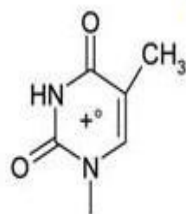


guanin

8-хидрокси-7-гуанидил радикал

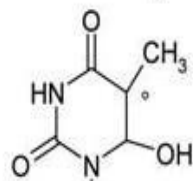


timin



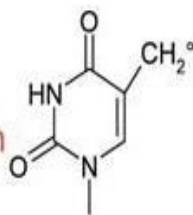
**radikalски
katjoni**

hidracija



6-хидрокси-5,6-дихидротимид-5-ил радикал

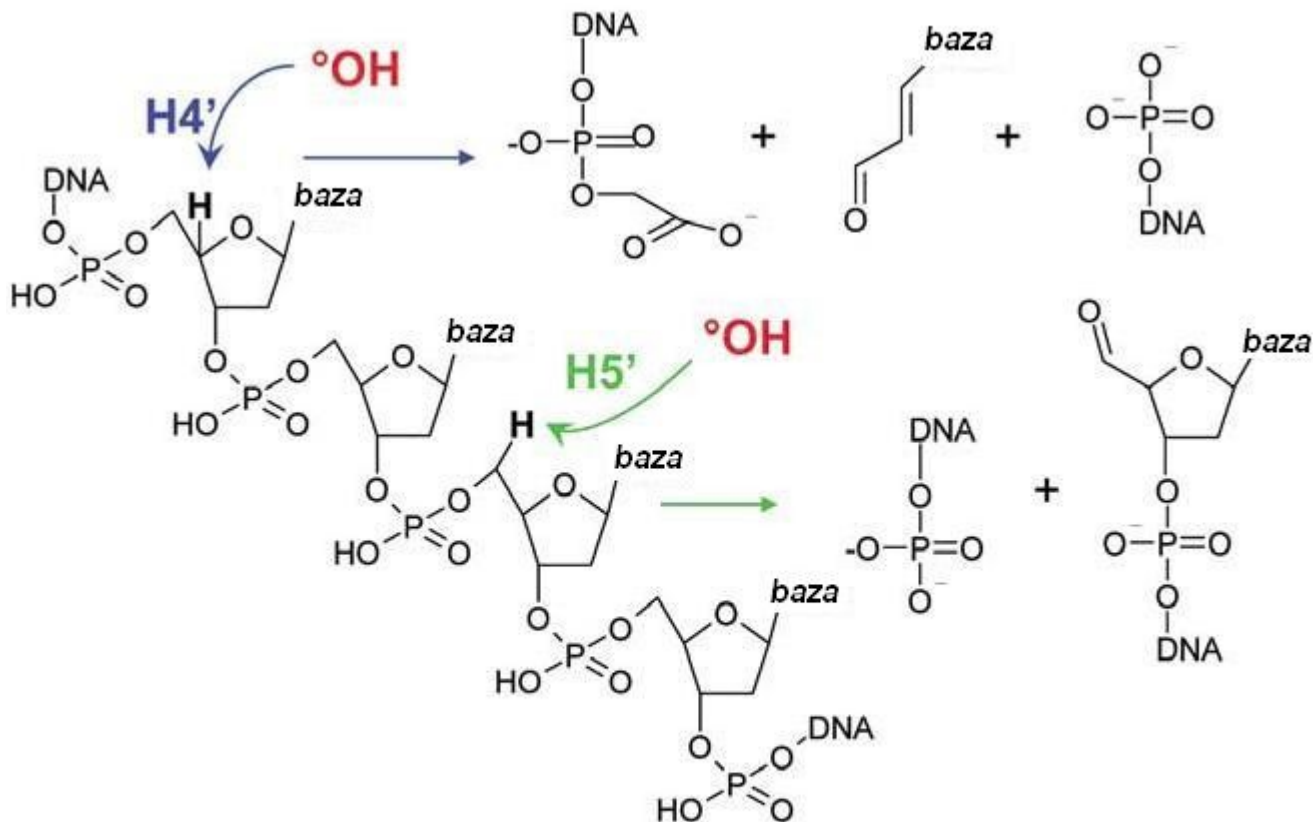
deprotonation



метил-центрирани тимил радикал

Радијационо-индуковано оштећење у олигонуклеотидима и двоструком ДНК хеликсу

Оштећење 2-дезоксирибозе у ДНК ланцу дешава се путем абстракције водоника са положаја C4' или C5', што у већини случајева доводи до прекида ДНК ланца



РАДИЈАЦИОНО ИНДУКОВАНО ОШТЕЋЕЊЕ ДНК - ПРЕГЛЕД

Испитивања са излагањем изоловане ДНК јонизујућем зрачењу у медијуму засићеном кисеоником показала су да су главни производи измењени гуанидин - 8-оксо-7,8-дихидрогуанин, као и HMdUrd i FordUrd.

У редукционој средини добијају се исти продукти као и у случају изолованих азотних база.

Двоструко оштећење азотне базе у ланцу ДНК се дешава када настали пиримидински или пурнински радикал реагује са суседном азотном базом. Тако оксидовани тимил радикал (перокси тимил радикал) може да реагује са суседним гуанином дајући 8-оксоGua/dF тандем оштећења.

Примарно настало позитивно наелектрисање (“шупљина”) може мигрирати у ДНК ланцу, ко не буде заробљено на локацији која показује најнижи јонизациони потенцијал (као што је нпр. ГГ дублет). Тако се стварно оштећење може јавити далеко од места јонизације.

РАДИЈАЦИОНО ОШТЕЋЕЊЕ ДНК У ЋЕЛИЈАМА ИЗЛОЖЕНИМ ЈОНИЗУЈУЋЕМ ЗРАЧЕЊУ

Подаци су ретки, због тога је фреквенција оштећења ниска (1 на милион база) и што је тешко издвојити довољне количине ДНК неопходне за анализу.

после излагања ДНК α - или гама-зрачењу Једноструки : двоструки прекиди ланца = 25:1

Пуринске и пиримидинске базе, са изузетком аденина су подједнако подложне оштећењу

Ефикасно настајање продукта редукције радикала у ћелијској ДНК указује да се она налази у окружењу са релативно малом концентрацијом кисеоника

ХИЈЕРАРХИЈА ОПРАВКЕ ДНК

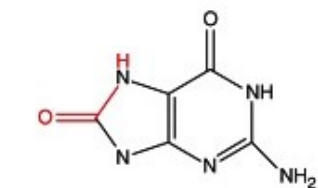
- **Корекција оштећења**
 - дејство специфичних ензима за специфично оштећење т.ј. дејство алкил трансфераза
- **Поправка недостатка базе**
 - Један нуклеотид (апурински/апиримидински)
- **Поправка погрешног спаривања**
 - Едитовање матрице: погрешна спаривања/петље
 - ?механизам прекида ланца
- **Поправка недостатка нуклеотида**
 - Исечак дела ланца
- **Поправка прекида оба ланца ДНК**
 - Нехомолого спривање
 - Хомолога рекомбинација

МЕХАНИЗМИ ОПРАВКЕ ОШТЕЋЕЊА ДНК

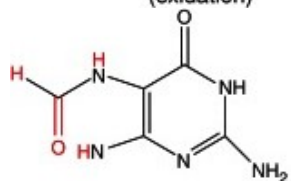
- Оправка исецањем базе (BER)
- Оправка исецањем нуклеотида (NER)
- Оправка погрешног спаривања (MMR)
- Оправка двоструког прекида ланца ДНК
-
- Сваки од механизма садржи кораке:
 - Препознавање оштећења
 - Верификација оштећења
 - Поправка оштећења
 - Синтеза недостајућег дела ланца ДНК
 - Верификација поправке

BER МЕХАНИЗАМ ПОРАВКЕ

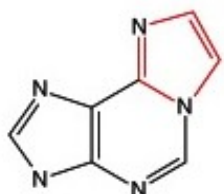
Механизам намењен поправци малих оштећења на азотним базама као што су деаминација, оксидација и алкилација.



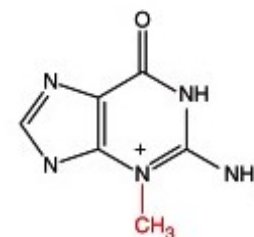
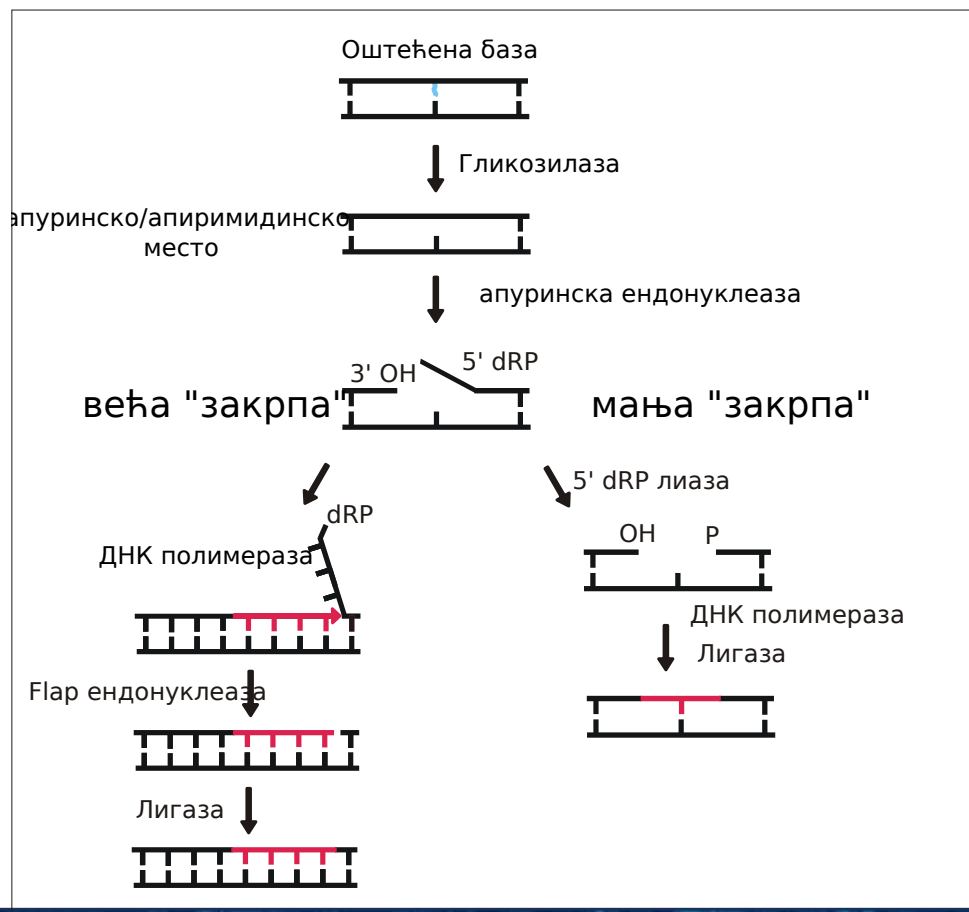
8-Oxoguanine
(oxidation)



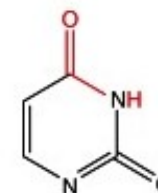
FapyG
(oxidation)



Ethenoadenine
(lipid peroxidation)



3-Methylguanine
(alkylation)



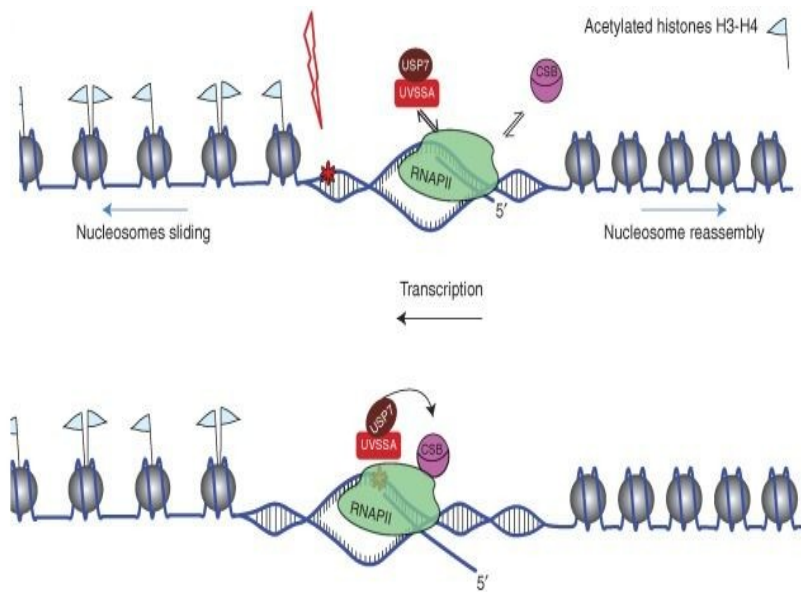
Uracil
(deamination)

NER МЕХАНИЗАМ ПОПРАВКЕ ДНК

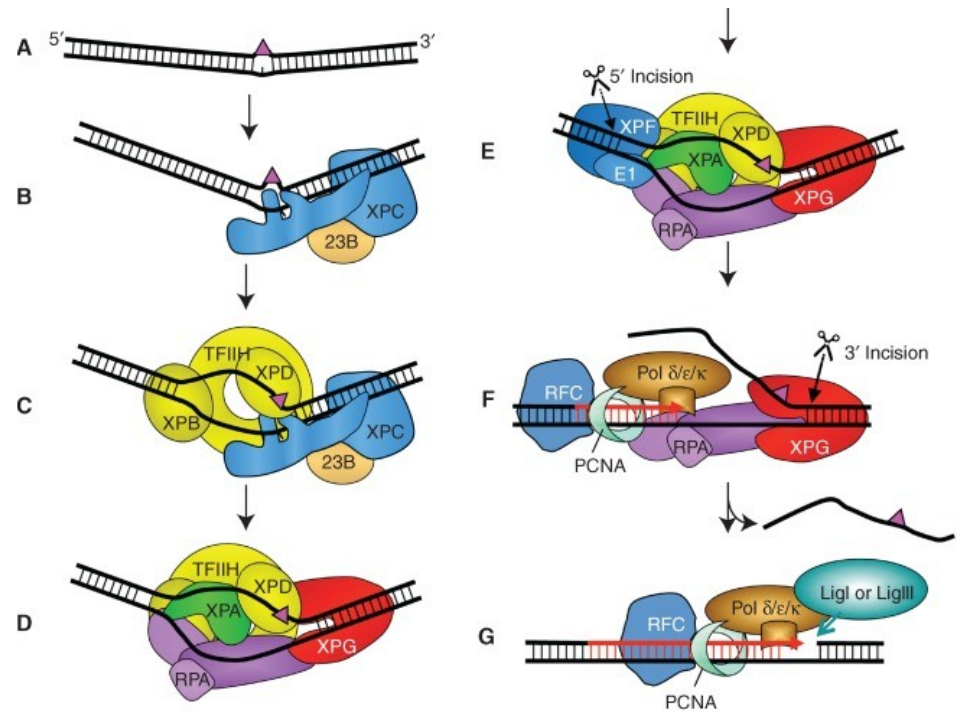
Намењен за уклањање компликованијих лезија у ДНК ланцу, које доводе до већих дисторзија у структури ДНК. Дели се на два механизма:

- Транскрипционо-зависни механизам оправке (TNER)
- Глобални механизам оправке (GNER)
- Разликују се само у иницијалним ступњевима
- Код првог механизма оправка се врши у току самог процеса транскрипције, односно у транскрипционо активном региону

TNER

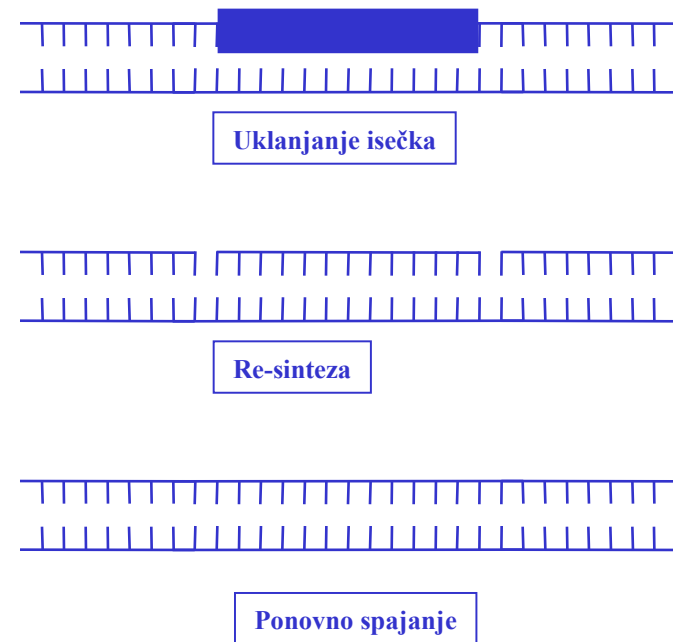
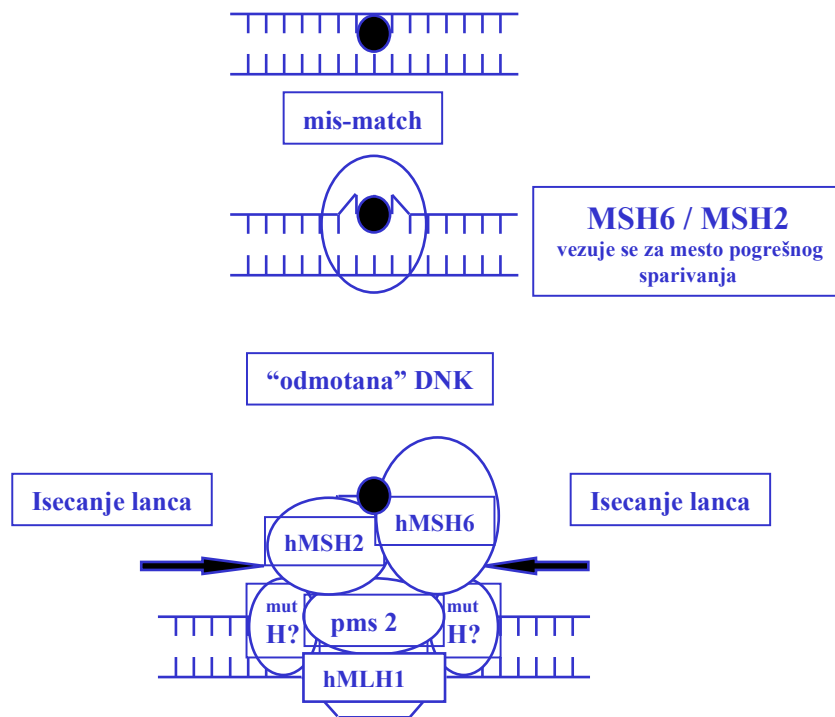


Механизм оправке

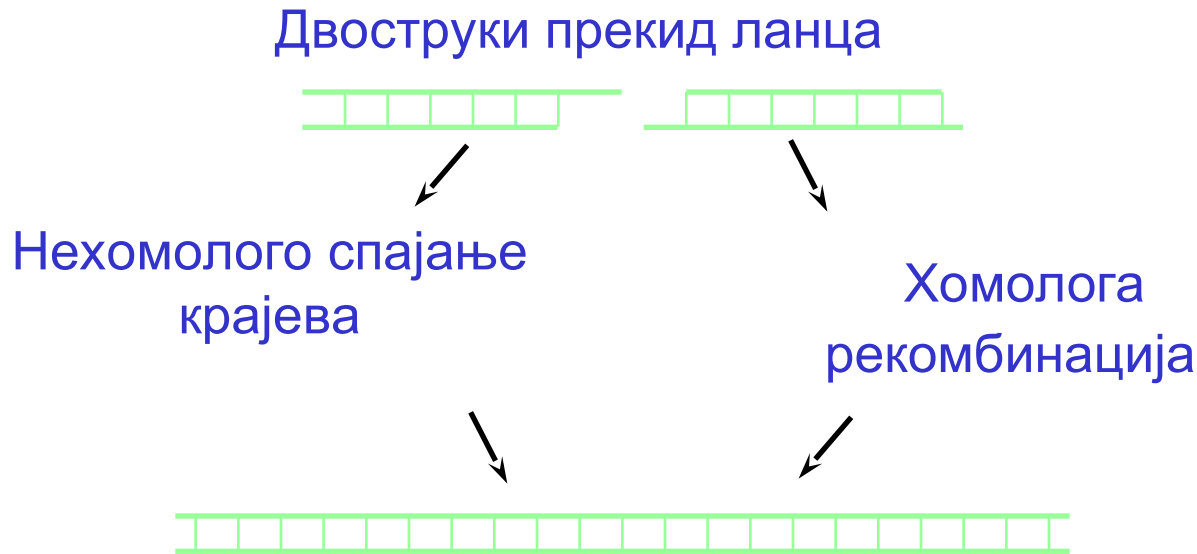


У оправци учествују XPA-
XPG протеини

ПОПРАВКА ПОГРЕШНОГ СПАРИВАЊА



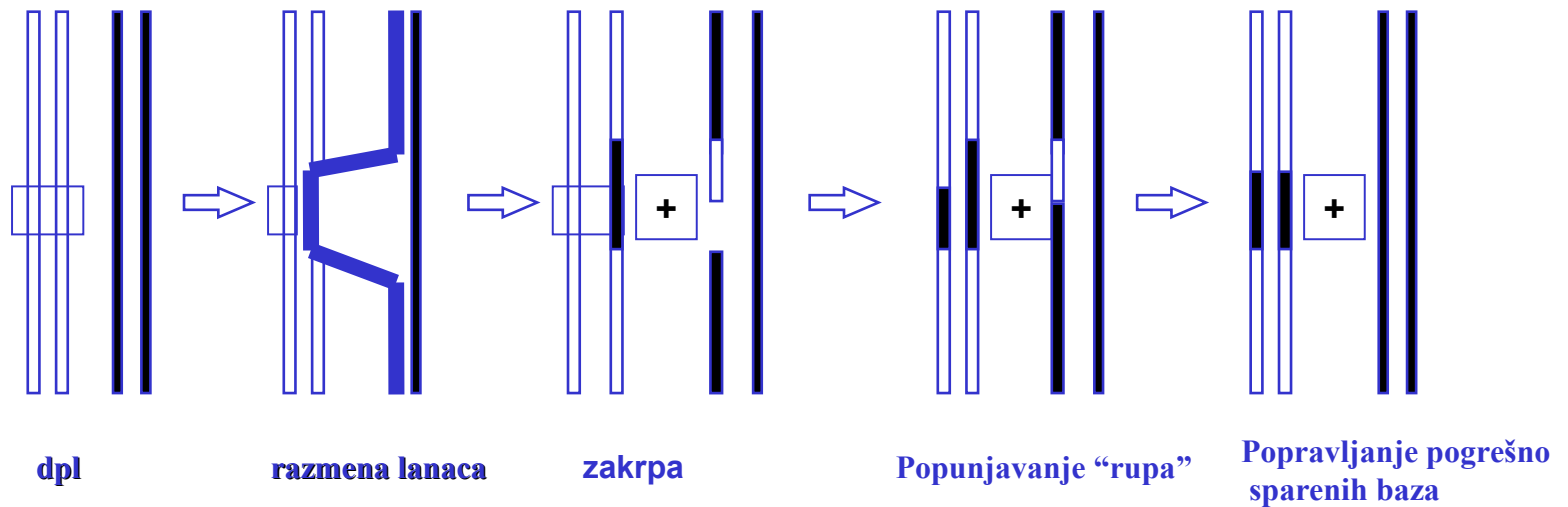
ПОПРАВКА ПРЕКИДА ОБА ЛАНЦА ДНК



Без хомологије
Подложно грешкама
Дешава се у G1 фази

Хомологна матрица
Без грешака у оправци
Дешава се у S/G2 фази

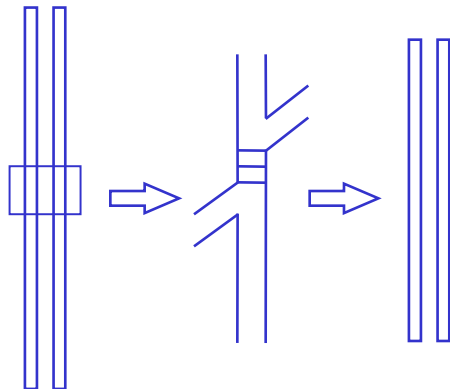
ХОМОЛОГА РЕКОМБИНАЦИЈА



Егзонуклеаза повлачи део једног ланца из интактног хеликса, који се налази у близини места дпл. Затим се ензим *recA* веже са изложени ланац и иницира размену између ланаца. Процес се завршава исецањам дела из интактног ланца и реконструкцијом недостајућих делова ланца у оба дуплекса

НЕХОМОЛОГО СПАРИВАЊЕ

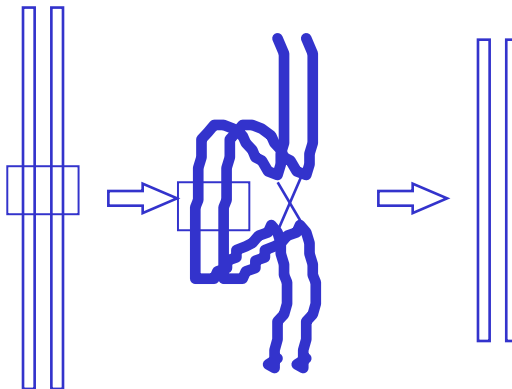
A



Поравнање
на основу
дела ланца

Спаривање и
исечање
остатака

B



ХРОМОЗОМСКЕ АБЕРАЦИЈЕ

- Услед излагања ћелија јонизујућем зрачењу може доћи до настајања прекида у хромозомима
- Одвојени фрагменти су “лепљиви” и могу се придружити “лепљивом” крају ланца
- Настали фрагменти се различито понашају:
 - Може се успоставити оригинална конфигурација
 - Може доћи до трајног одвајања – делеције дела хромозома
 - Фрагменти се могу међусобно спојити и придружити другим хромозомима, што даје јако измењене хромозоме.

ТИПОВИ ХРОМОЗОМСКИХ АБЕРАЦИЈА

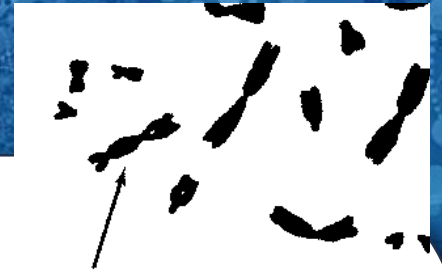
Хромозомске аберације су резултат излагања ћелије јонизујућем зрачењу док се она налази у раној интерфази (G1), пре дупликације генетског материјала.

Хроматидне аберације се јављају у касној интерфази (G2), када је већ дошло до дупликације генетског материјала и када се хромозоми састоје од две нити хроматина.

ПОДЕЛА ХРОМОЗОМСКИХ АБЕРАЦИЈА

- **Леталне аберације**
 - Дицентрични хромозом
 - Циклична аберација хромозома
 - Анафазни мост (хроматидна аберација)
- **Нелеталне аберације**
 - Симетричне транслокације и мале делеције
 - Аберације услед губитка супресор гена и дејстава онкогена

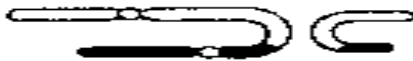
ДИЦЕНТРИЧНИ ХРОМОЗОМ



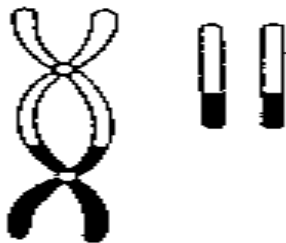
2 различита хромозома пре репликације



Једноструки прекиди у оба хромозома

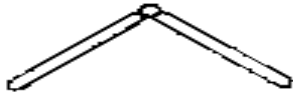
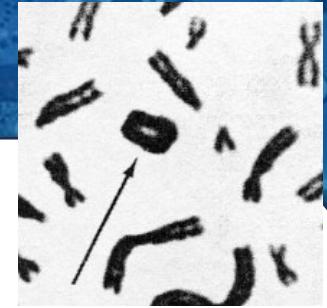


Погрешно („нелегитимно“) спаривање

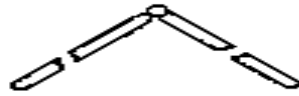


Дицентрични хромозом и ацентрични остаци

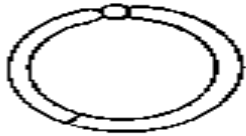
ЦЕНТРИЧНИ ПРСТЕН



Пререпликациони хромозом



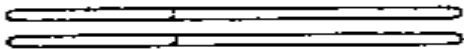
Прекиди у обе гране истог хромозома



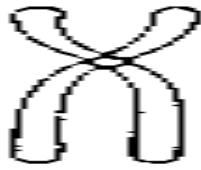
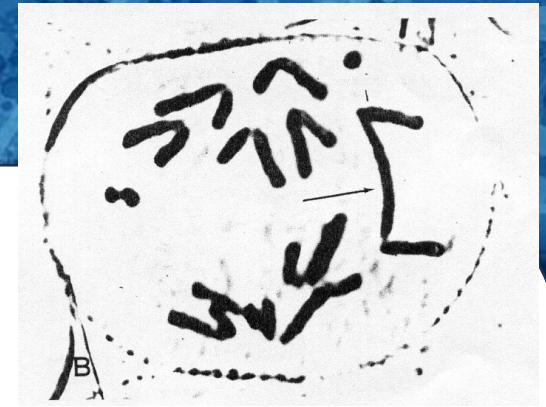
Циклично спаривање



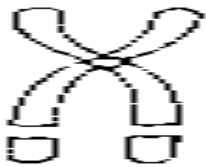
Репликација



АНАФАЗНИ МОСТ



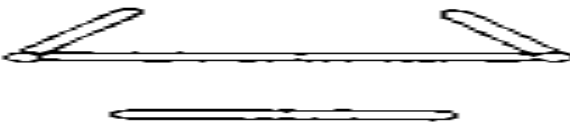
Хромозом после репликације



Прекид у обе хроматиде



Унија хроматида



Дицентрични хромозом

Ацентрични хромозом

Симетричне транслокације

Укључују прекид у 2 хромозома пре репликације, када се фрагменти два хромозома међусобно размењују

Деле се на перичентричне (укључују центромере) и парацентричне (ограничене на једну грану хромозома) инверзије

Транслокације које су повезане са неким малигнитетима изазваним активацијом онкогена (нпр. Буркитов лимфом)