

**Ћелијско преживљавање  
под дејством јонизућег  
зрачења**

# Ћелијско преживљавање

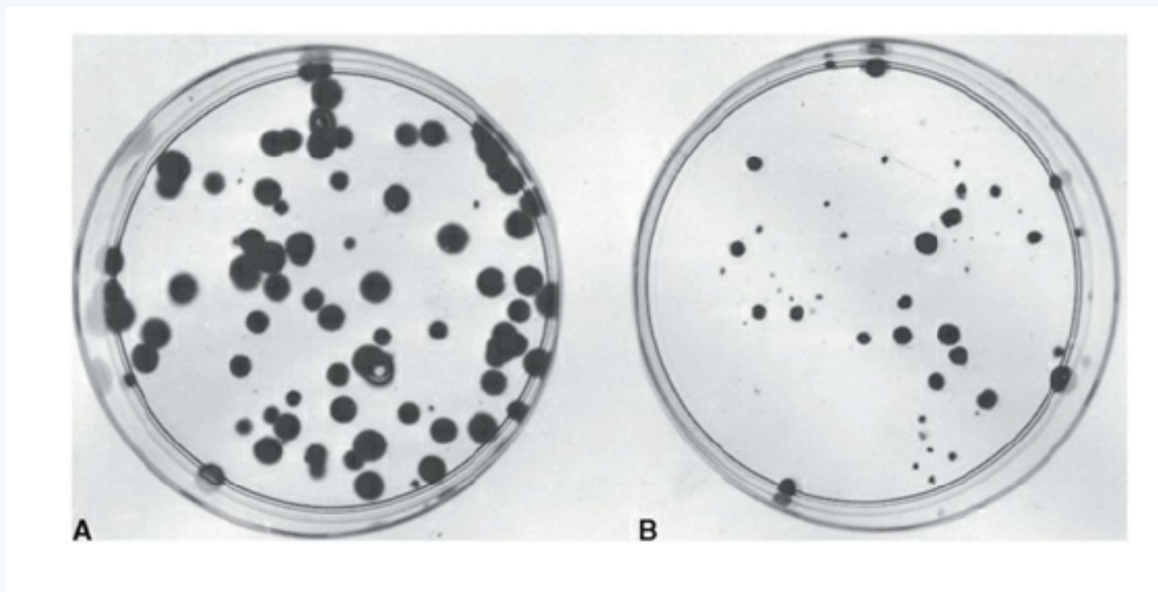
- Зависност броја ћелија које су преживеле у функцији примењене дозе.
- Смрт за различите типове ћелија није “иста”
  - Репродуктивна (митотска)
  - Губитак функције
- Доза која је неопходна да “убије” ћелију зависи од тога да ли се ради о ћелијама које се нормално не деле или се деле.

–

# Одређивање ћелијског преживљавања

- *In vitro* експерименти на ћелијским културама

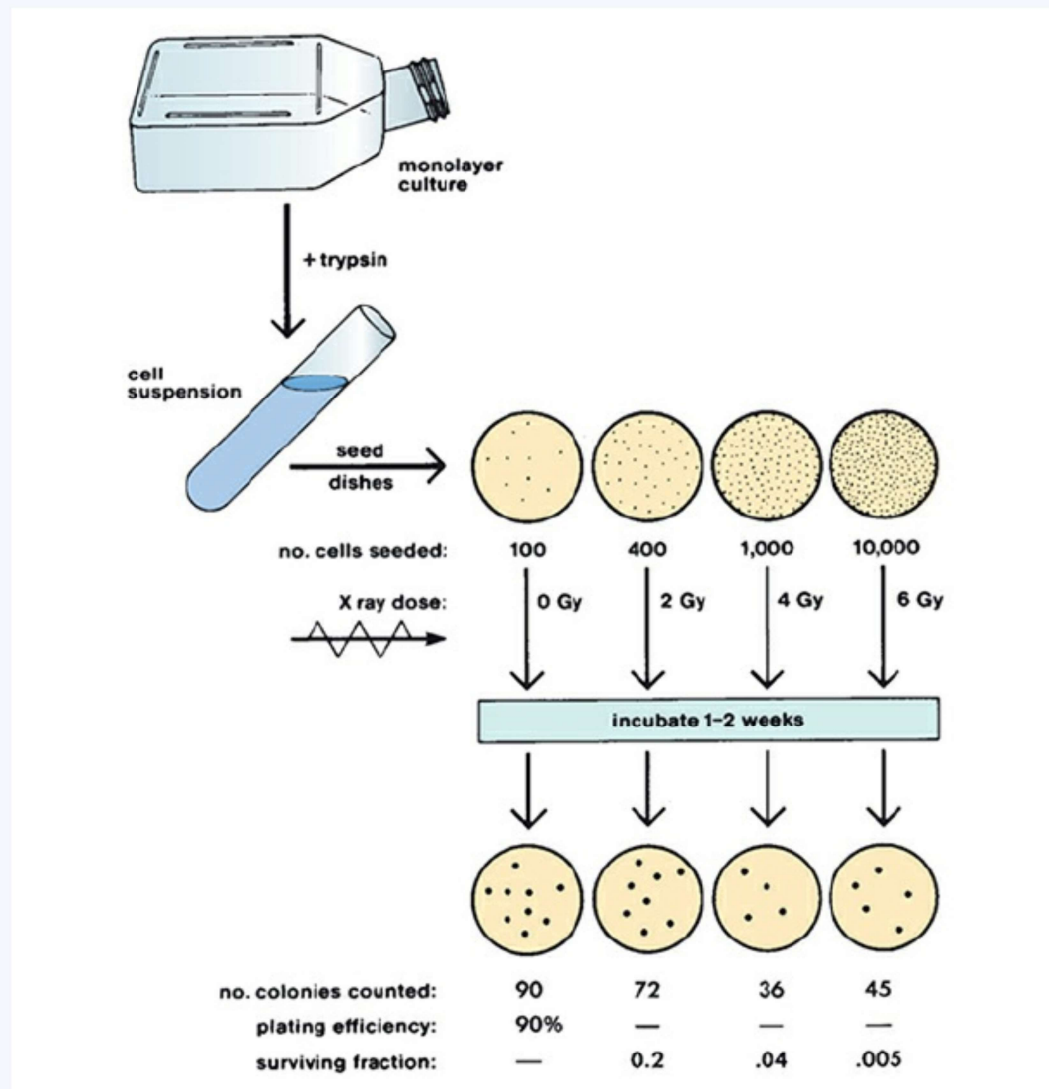
- 



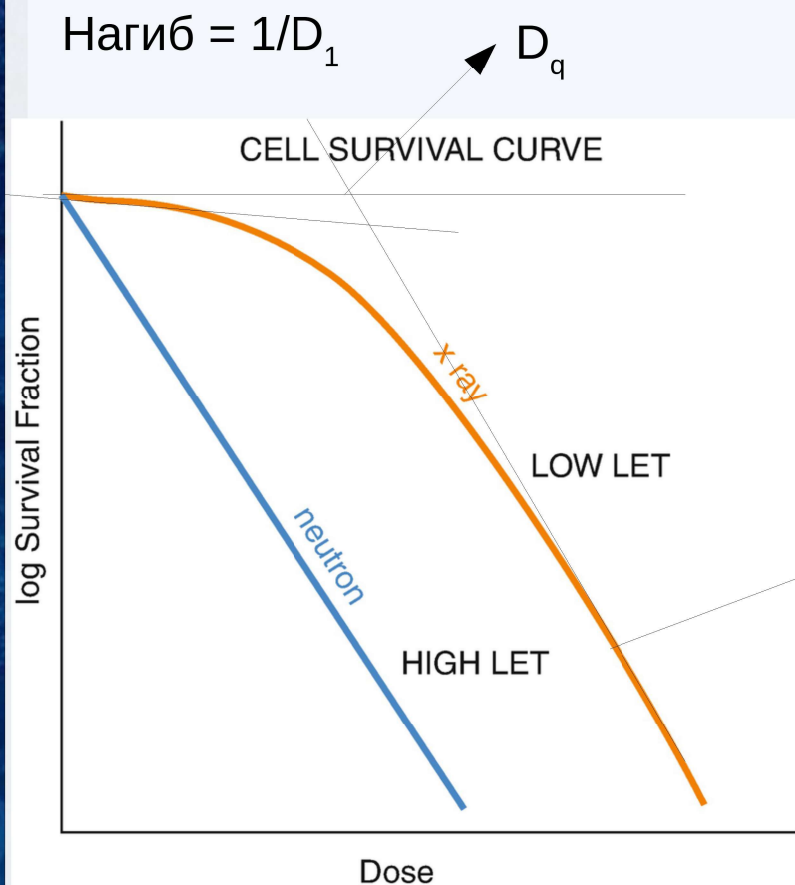
Ефикасност засађивања = број формираних колонија / број посејаних ћелија

$$\text{Преживела фракција} = \frac{\text{број формираних колонија}}{\text{број засејаних ћелија} \times \text{ефикасност засејавања} / 100}$$

# ПОСТУПАК ПРИ ОДРЕЂИВАЊУ ПРЕЖИВЉАВАЊА ЋЕЛИЈА



# Крива ћелијског преживљавања



- Мултициљни модел

$$\ln(n) = \frac{D_q}{D_0}$$

- Линеарно-квaдратни модел

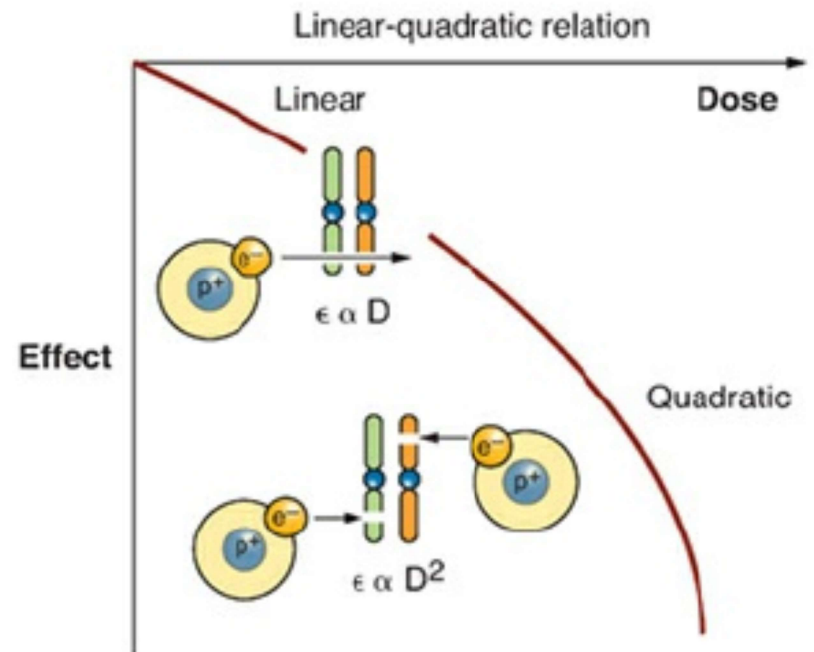
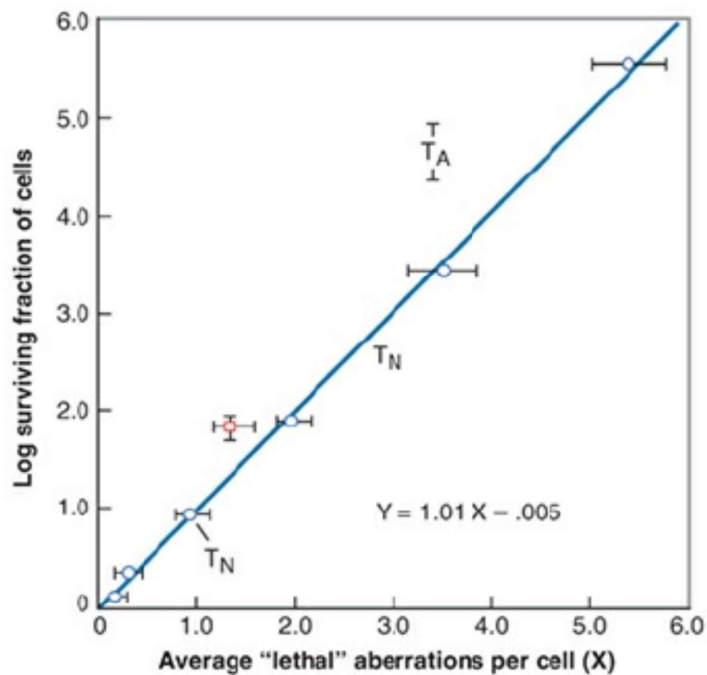
$$S = e^{-\alpha D - \beta D^2}$$

# “И суседи пате”

- Зрачење на мора директно да “погоди” ћелију да би она умрла (*bystander* ефекат)
- Најподложније ћелије које су непосредном контакту са изложеном ћелијом.
- Механизам није у потпуности разјашњен

# Смрт ћелије

- Апототска смрт – покретање већ постојећих заштитних механизма.
- Митотска смрт – немогућност деобе (везана директно за летална хромозомска оштећења)



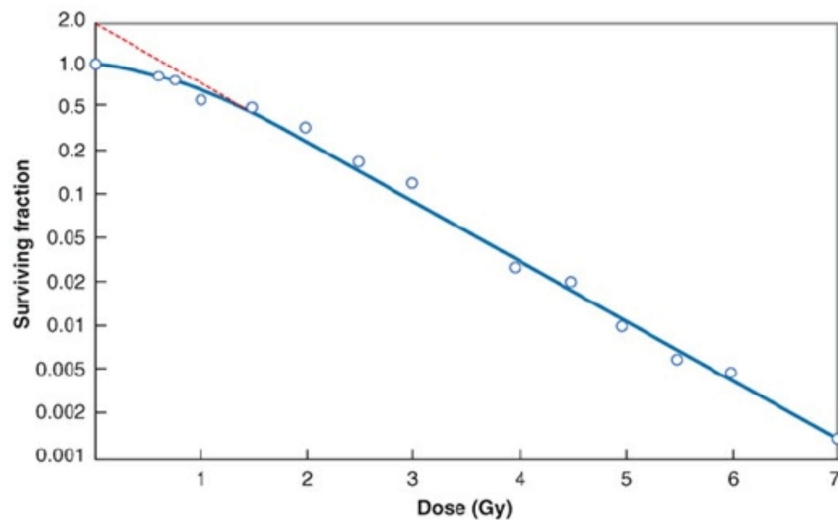
# Аутофагија и “замрзнутост”

- Процес регулисане самопотрошње ћелијског материјала. Може да резултује ћелијском смрћу.
- Процес аутофагије примећен код ћелија радиорезистентних тумора
- У ћелијском циклусу постоје контролни механизми (“checkpoints”) који у случају значајног оштећења ГМ могу да стопирају циклус тако да ћелија остаје у “замрзнутом” стању.
- Неки од ових механизма су код туморских ћелија “покварени” јер постоје мутације одговорних гена.

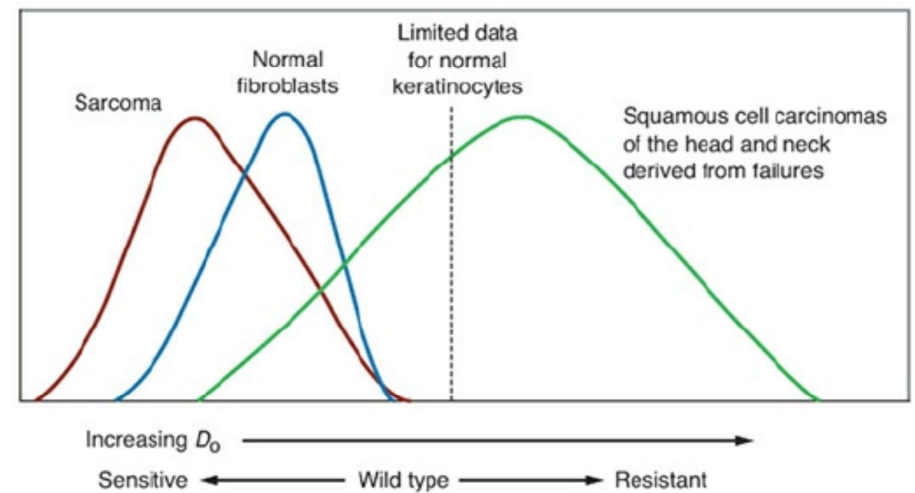


# Експерименти на ћелијским културама и реалност

- Да ли су одраз стварног стања у организму?



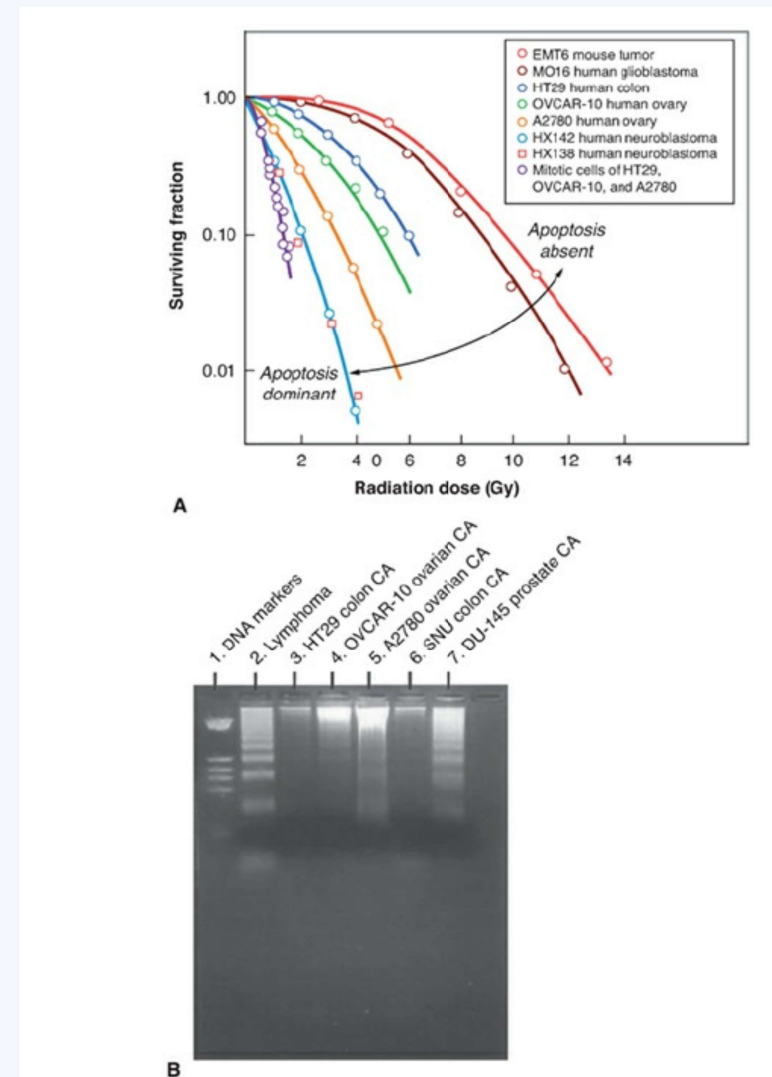
HeLa ћелије



Радиосензитивност и параметри вишециљног модела

# Ћелијско преживљавање и типови ћелијске смрти

- Код радијосензитивних ћелија доминира апоптоза
- Највероватнији сценарио: присутне и апоптоза и митотска смрт



# Синдроми повезани са повећаном радиоосетљивошћу

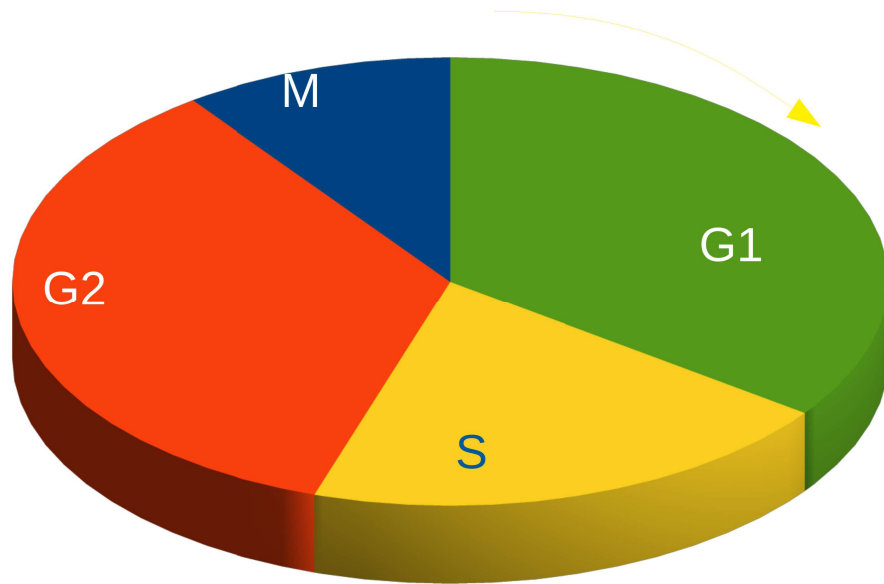
- Атаксија-телангиекстазија
- Секелов синдром
- Синдром Нијмегеновог ломљења
- Фанконијева анемија
- Верндер синдром
- Ротмунд- Томпсонов синдром

# Протоћелије (stem) су више осетљиве на зрачење?

- Да, али само у здравом ткиву
- У радиорезистентним туморима поседују јаке механизме одбране од слободних радикала створених зрачењем

# **Радиосензитивност ћелија у фазама ћелијског циклуса**

# Подсећање ћелијски циклус



M – митоза ~1 час

G1 фаза – Припрема за S фазу

S фаза – Синтеза DNK

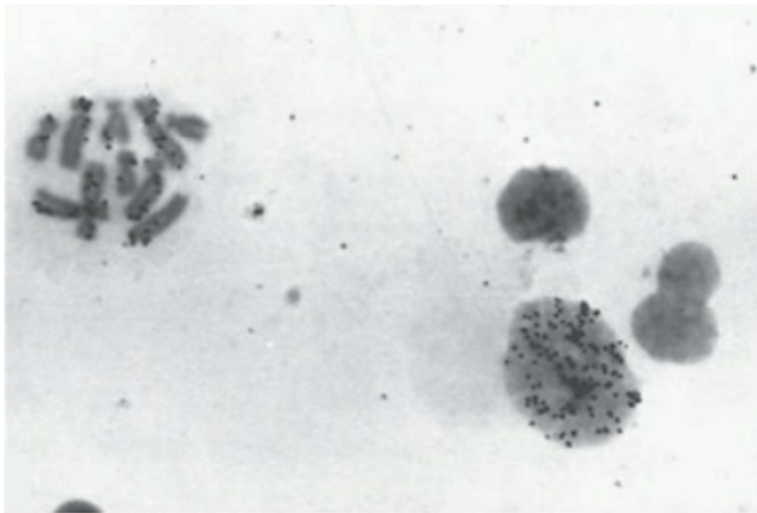
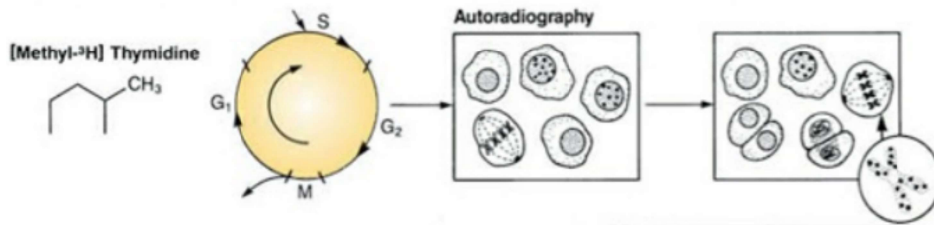
G2 фаза – Припрема за митозу

*Само је M фазу могуће уочити помоћу специфичног бојења и микроскопа*

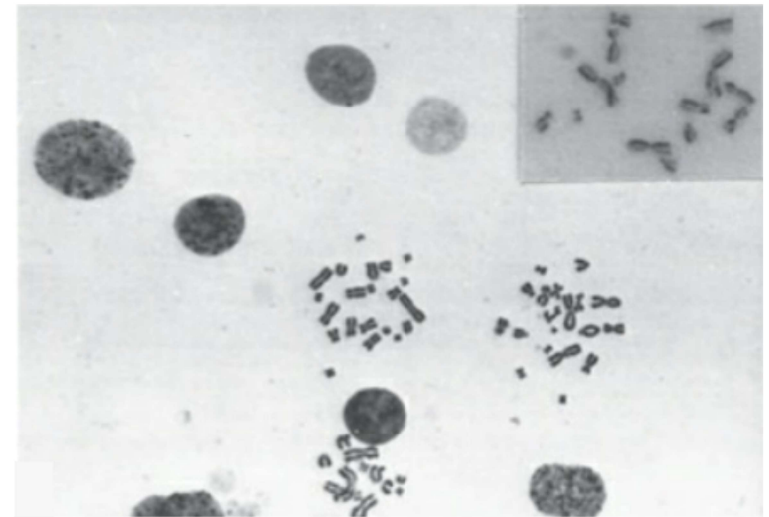
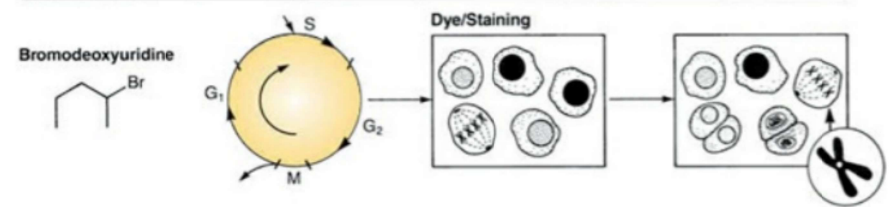


# Како знамо да постоје остале фазе ћелијског циклуса?

Експерименти за тиминим обележеним са тритијумом



Експерименти са бромодеооксиуридином.  
Специфично бојење са ГИМЗОМ



# Времена трајања фаза у циклусу зависе од типа ћелије

- Ћелије кинеског хрчка vs HeLa ћелије

Фаза	КХЦ	HeLa
S	6	8
G1	1	11
M	1	1
G2	3	4
Укупно циклус	11	24

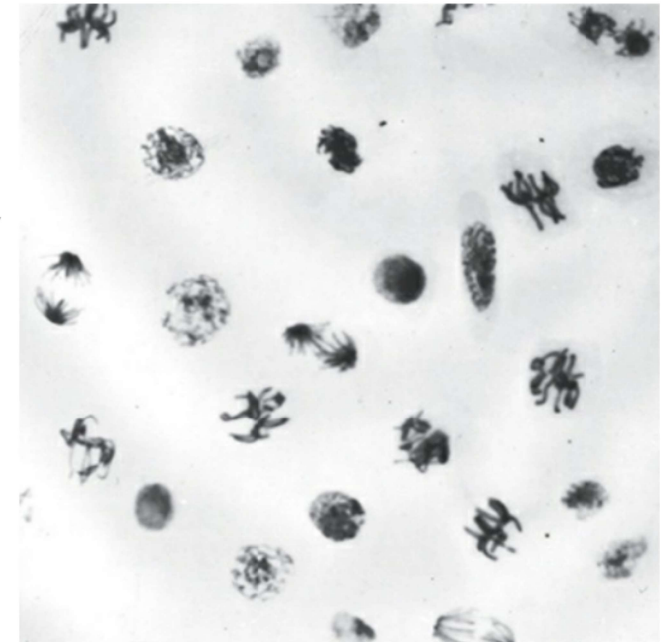


# Регулација ћелијског циклуса

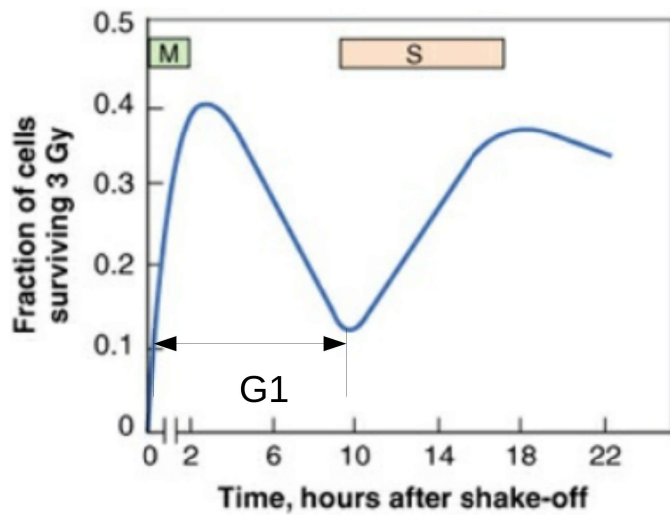
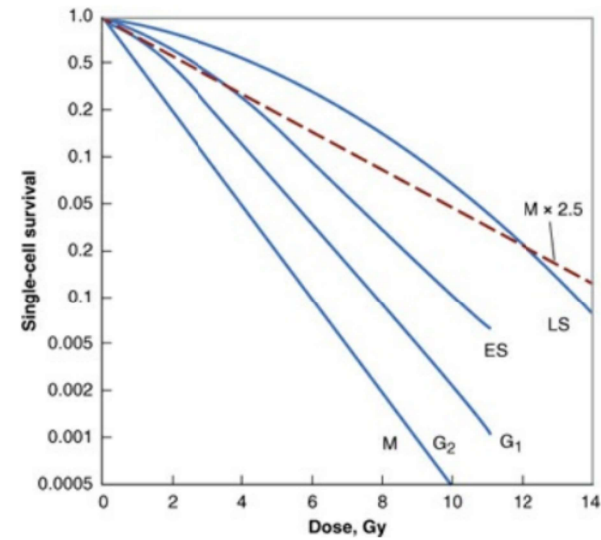
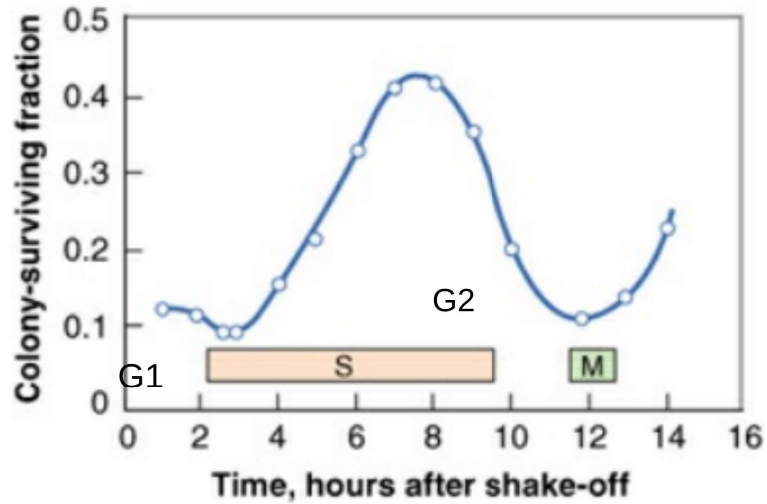
- Циклус регулисан преко више циклин зависних киназа које каталишу фосфорилацију протеина који учествују у ћелијском циклусу.
- Киназе се активирају везивањем циклина, реверзибилно деактивирају фосфорилацијом тирозинског остатка у активном месту за везивање АТР.
- Иреверзбилно се инхибирају после завршеног ћелијског циклуса деградацијом подјединице задужне за везивање циклина.
-

# Испитивање радиорезистентности ћелија у различитим фазама ћелијског циклуса

- Неопходно добијање изохроних култура ћелија
  - Прикупљање ћелија које су у митози
  - Примена дихидрокси урее на ћелијску културу
  - Резултат – све ћелије имају исту стартну позицију, па се озрачивњем ћелијских култура у одређеним временима може испитивати ефекат дејства зрачења на поједине фазе.

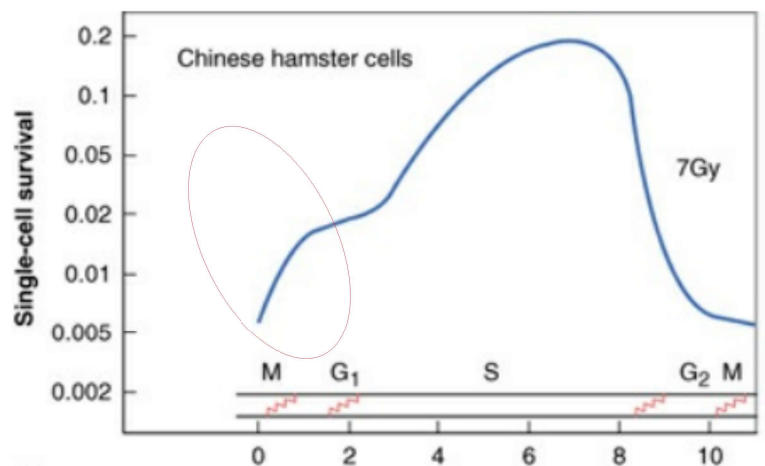


# Ефекти зрачења на ћелије у синхроним културама

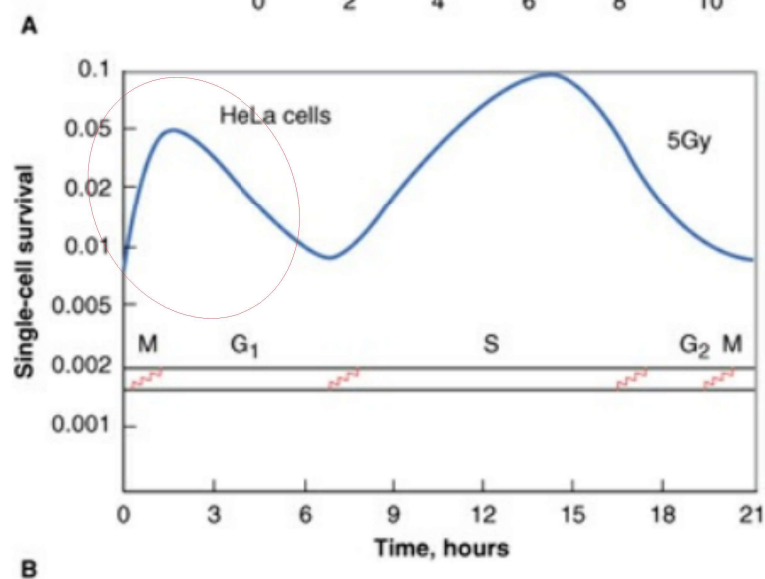


Култура HeLa ћелија, доза 3 Gy

# Ефекти зрачења на ћелије у синхроним културама (2)



•Шта је са G2 фазом?  
„ретроактивна синхронизација”



•Рана фаза слична као и касна S,  
•Касна фаза смањено  
преживљавање

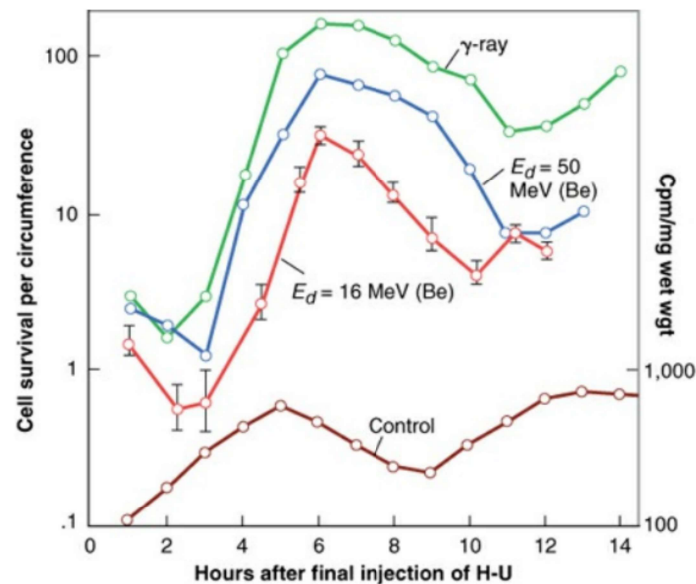
# Контролне тачке/гени у ћелијском циклусу

- Озрачене ћелије заустављају се у касној G2 фази циклуса – радиоосетљивом делу.
- Контролна тачка, регулисана p53 геном обезбеђује да ћелија не улази у митозу са оштећеним хромозомима.
- Уколико је овај механизам дефектан ћелија улази у митозу и
  - Долази до ћелијске смрти или
  - мутагенезе/карциногенезе

- Присуство кисеоника мало утиче на преживљавање у различитим фазама циклуса
  - КПФ
    - у S фази 2,8-2,9
    - у G2 фази 2,3 – 2,4

# Одговор ткива на озрачивање у различитим фазама циклуса

- Испитиване ћелије које облажу крипте у танком цреву КХ (нарочито осетљиве на зрачење)
- Примењује се ињективање дихидрокси уреје у перитонеум хрчка .Ћелије се заустављају на граници G1/S фаза.
- 



Веома сличан одговор као код ћелијских култура

## Како објаснити разлике у радиорезистенцији у различитим деловима циклуса?

- Потпуно објашњење још увек није познато
- Претпоставља се да је везано за оправку двоструког прекида ланца DNK
  - Нехомолого спајање крајева у раним фазама циклуса >>леталне хромозомске аберације
  - Хомолога рекомбинација у касној S фази када постоји образац из друге хроматиде - радиорезистентност



Различита радиоосетљивост у  
фазама у циклуса има  
импликацију на планирање  
радиотерапије!