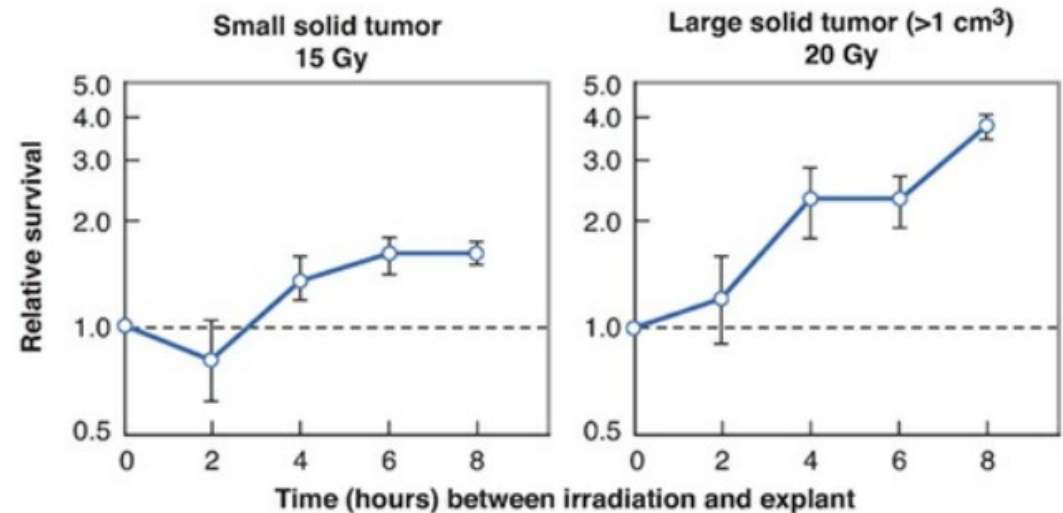
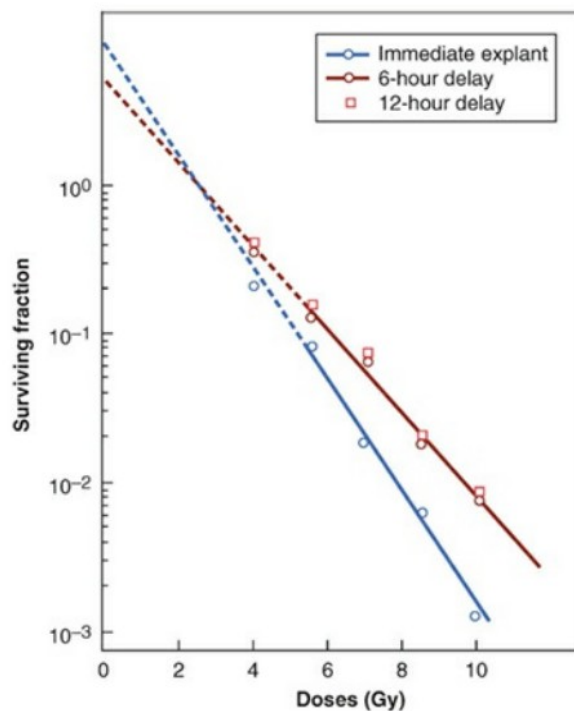


Различита радиоосетљивост у
фазама у циклуса има импликацију
на планирање радиотерапије!

- Радијационо оштећење ћелија може се поделити на
 - Летално
 - Потенцијално летално оштећење
 - Сублетално (поправљиво) оштећење

- Потенцијално летално оштећење ће довести до смрти ћелије уколико се не наметну посебни физиолошки услови који обезбеђују успоравање ћелијског циклуса или заджавање у једној његовој фази

КХЦ

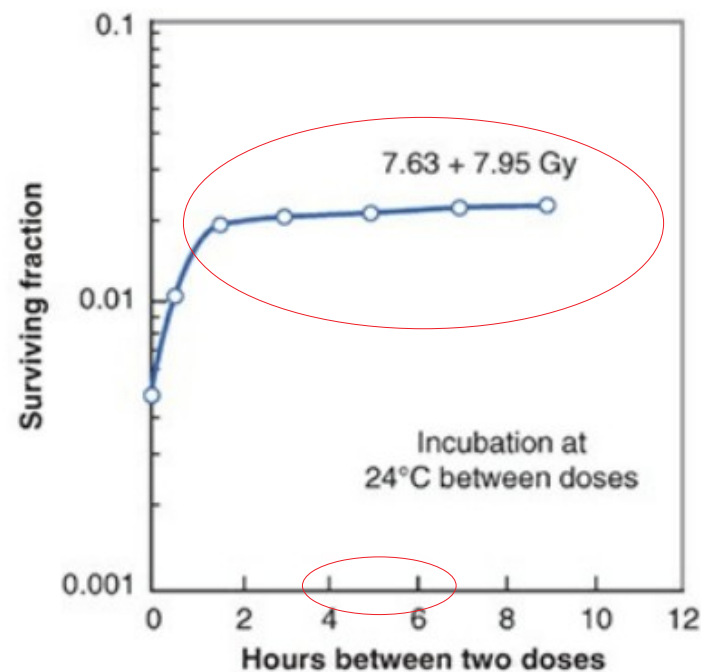


Мишји фибросарком

Ирелевантно за радиотерапију

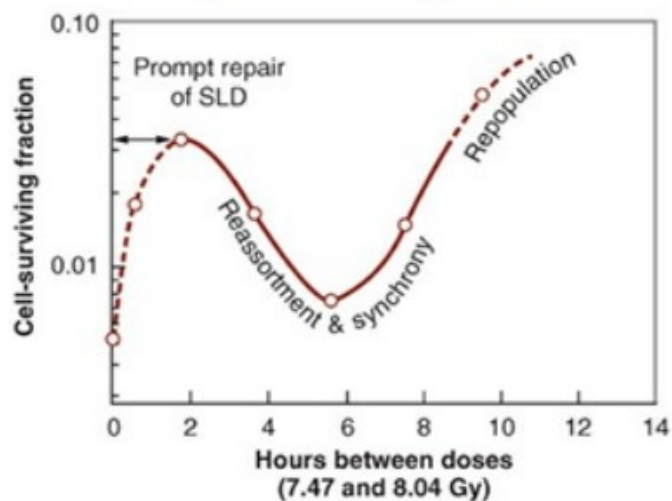
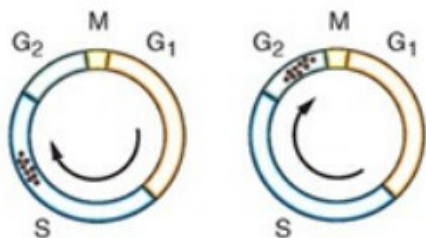
Оправка сублеталног оштећења

- Термин везан за преживљавање ћелија када се зрачење примени у две или више фракција
- Пример. Уколико се доза од 16 Gy примени у једно фракција преживелих ћелија је 0,005. Ако се подели...



- У физиолошким условима...ИСТИ МОДЕЛ...

-



- Већина ћелија које су преживеле примену прве дозе су у S фази
 - после 2 часа су у касној S фази или раној G2 фази (повећана радиорезистивност)
 - после 6 часова ћелије су на граници G2/M где је повећана осетљивост

За овакав облик зависности заслужна су три процеса

промптна оправка оштећења двоструког оштећења DNK

редистрибуција ћелија у циклусу

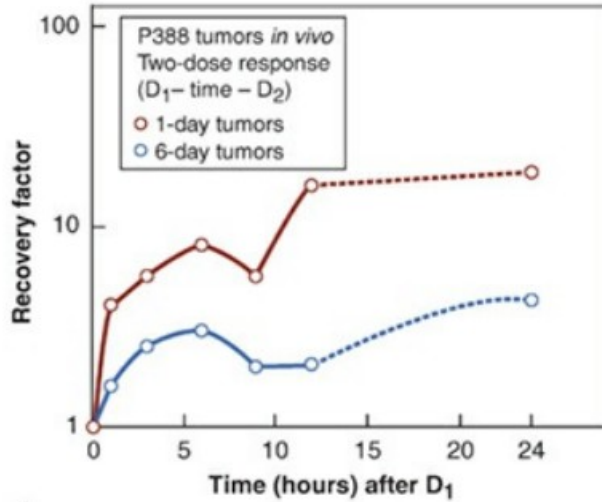
ћелијска репопулација

+ реоксигенација

4R

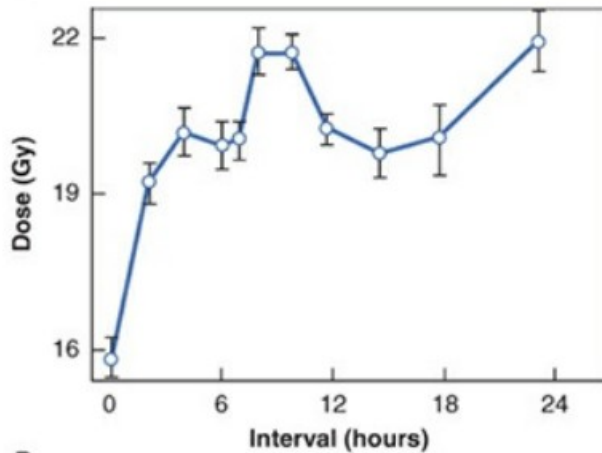
Поправка сублеталних оштећења *in vivo* и фракционисање

ЛИМФ.
ЛЕУК.

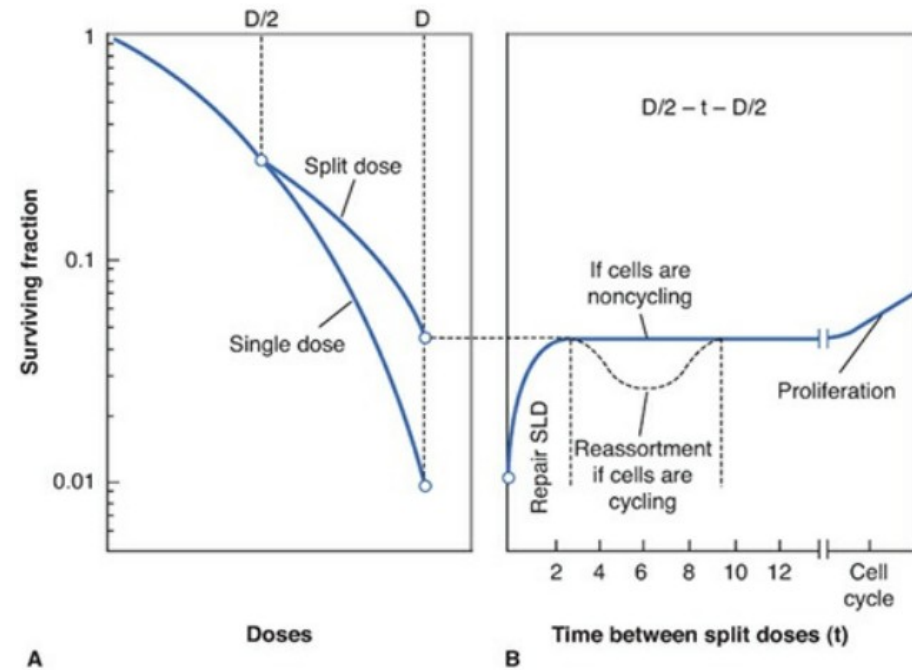


A

КОЖА



B



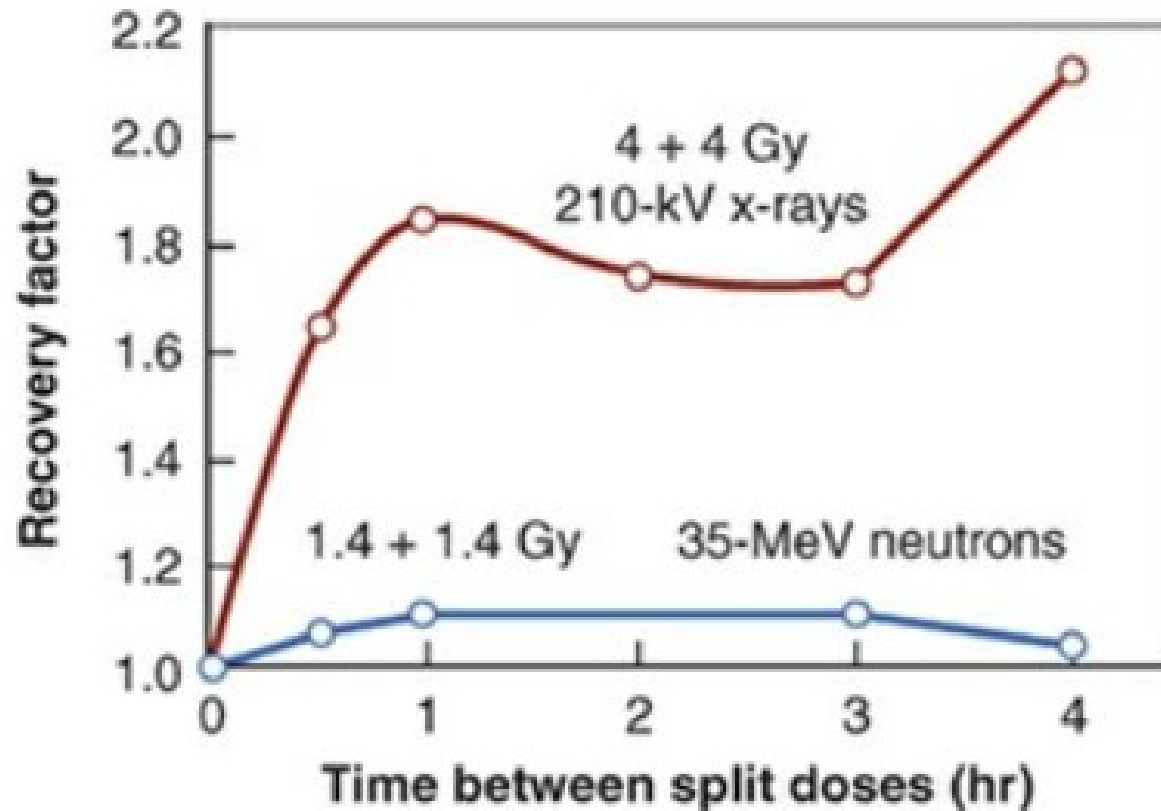
фракционисање

Широко раме на кривој – веће преживљавање.

Са апликацијом сваке фракције понавља се раме на кривој. Ефективно у мултифракцијском режиму крива тежи линеарној зависности.

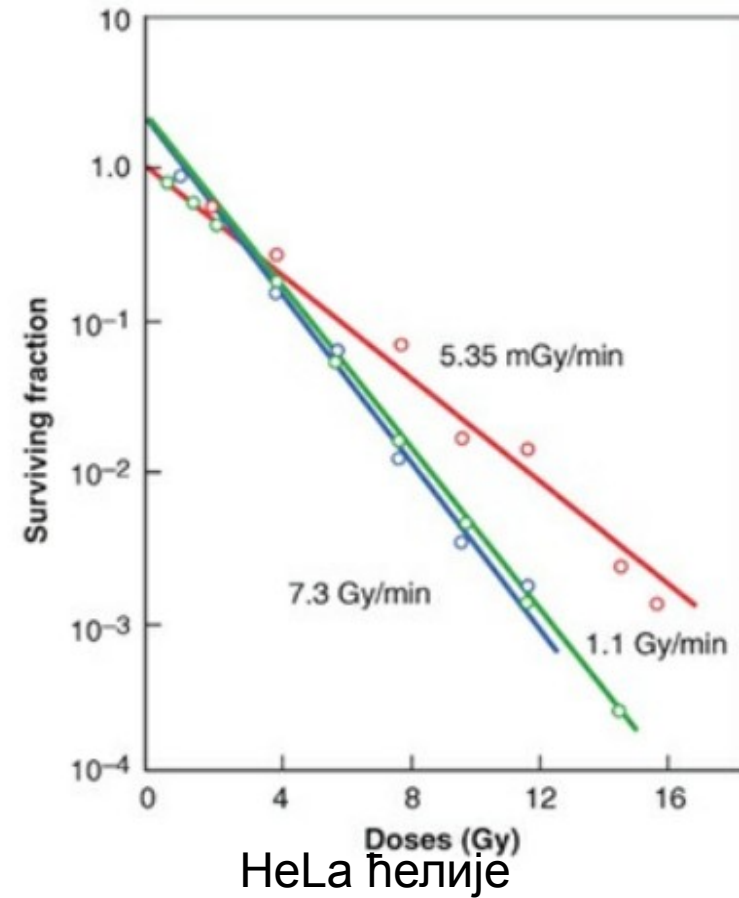
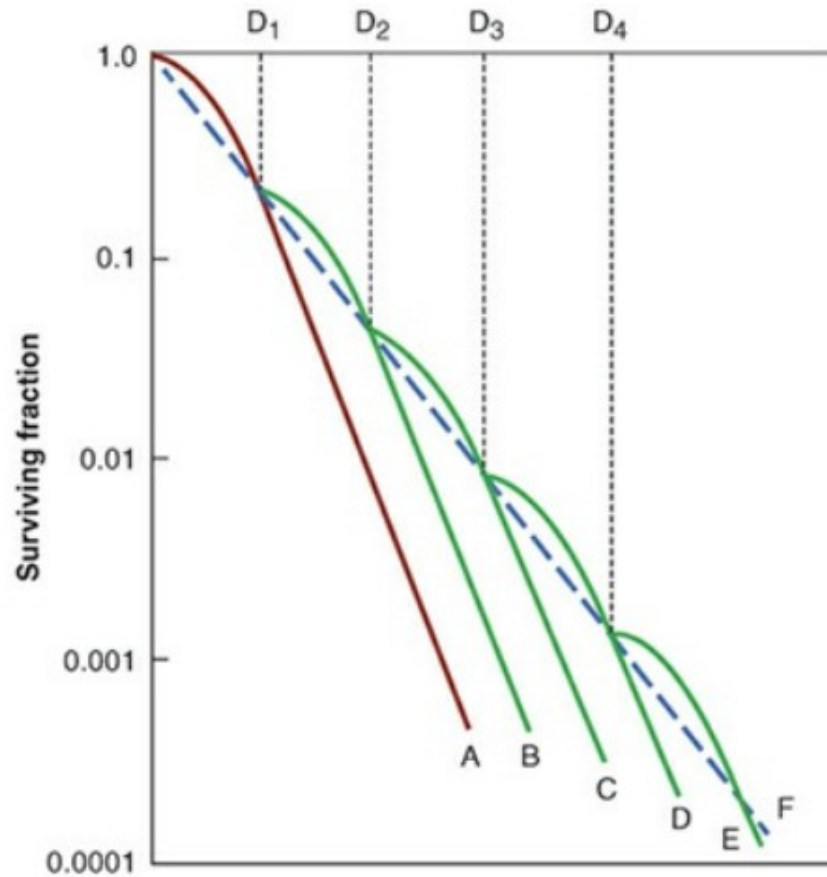
- Два начина оштећења двоструког хеликса
 - дејство једног пролаза електрона
 - Независно од тога да ли се доза примењује у једној или више фракција
 - Последица дејства две честице
 - Зависно од фракционисања, постојање међупериода обезбеђује више времена за поправку, па је мање леталних хромозомских оштећења.
 -

Утицај квалитета зрачења



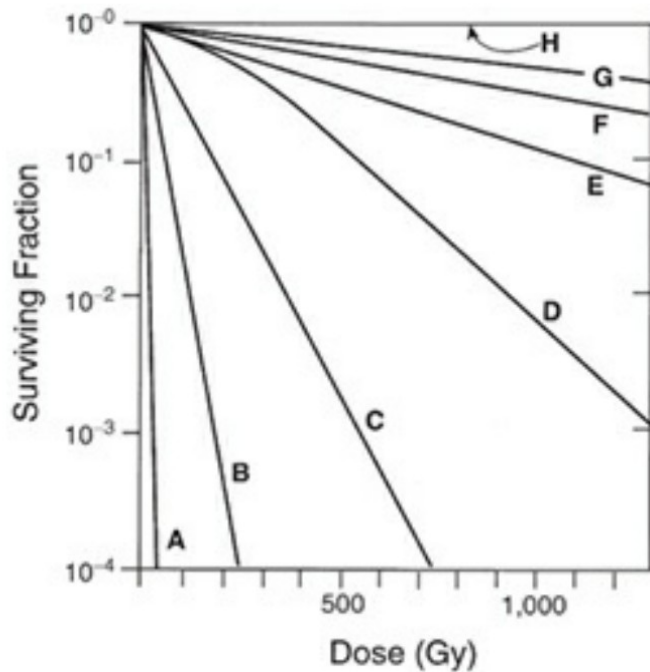
У случају неутрона као да не постоје оправка сублеталног оштећења

Утицај брзине дозе



Виши vs нижи организми

- Зависи од количине присутне ДНК и њене организације
- Правило: једноставнији организам-мање ДНК - већа радиорезистентност

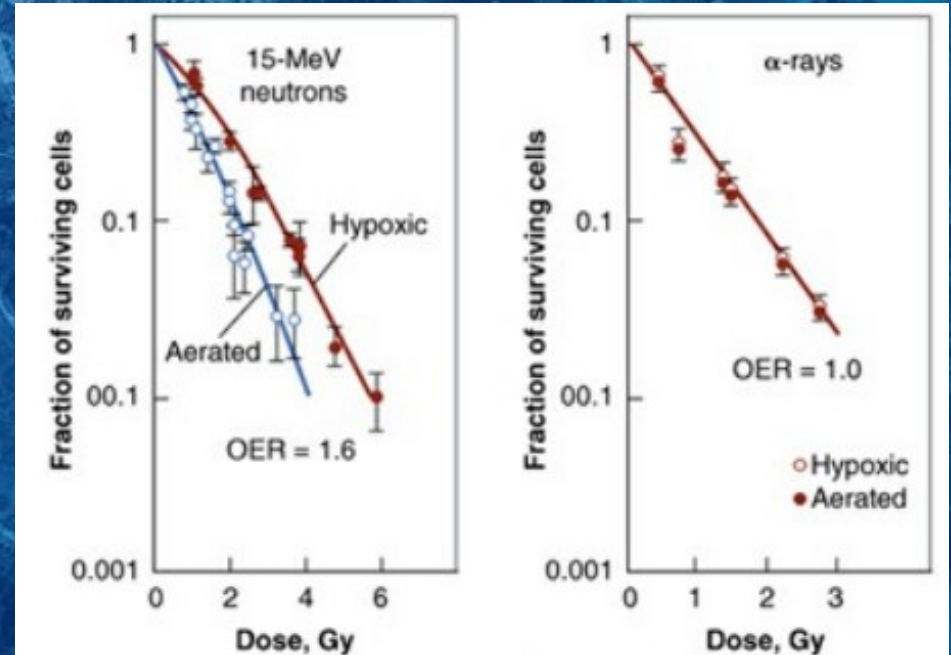
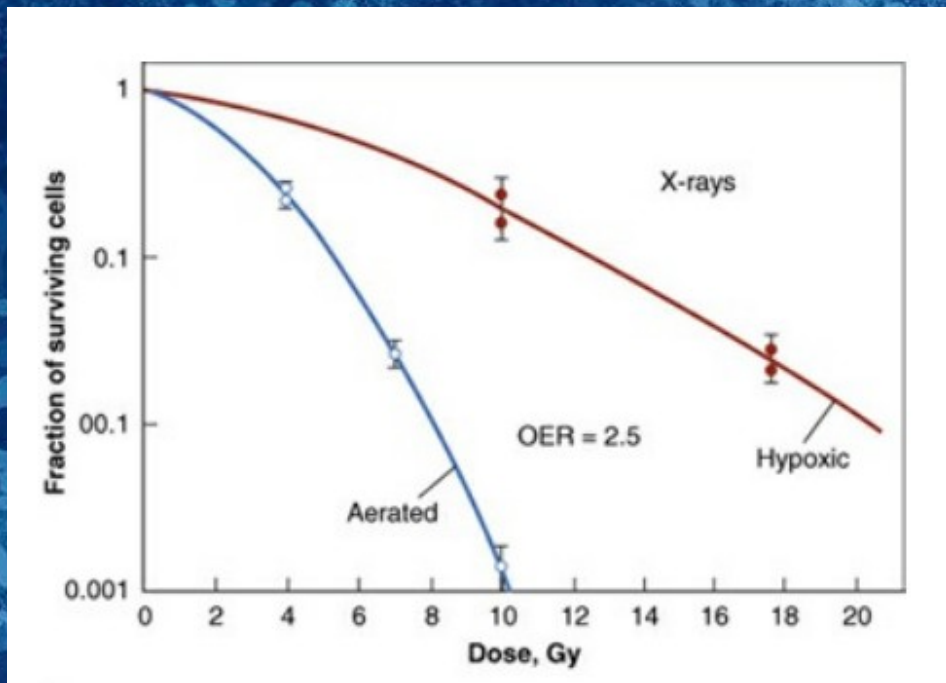
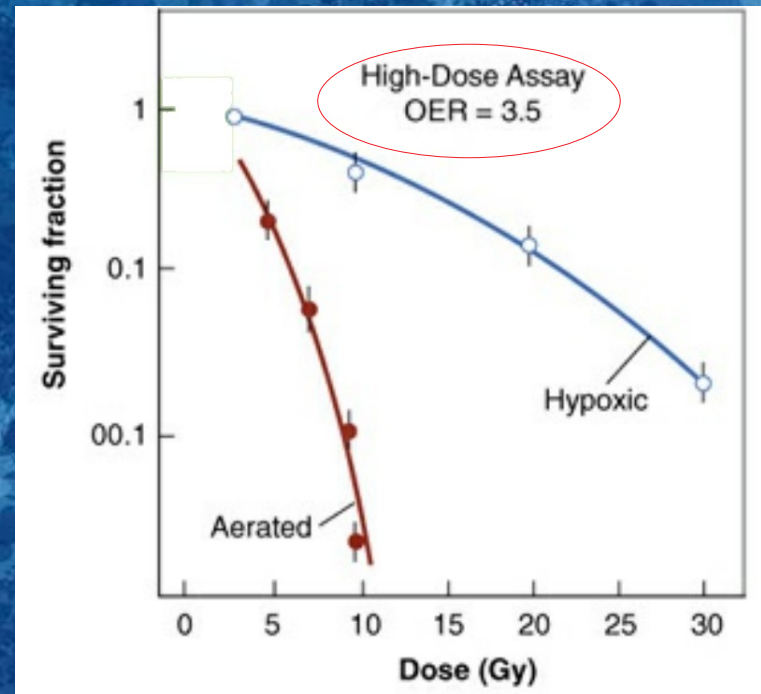
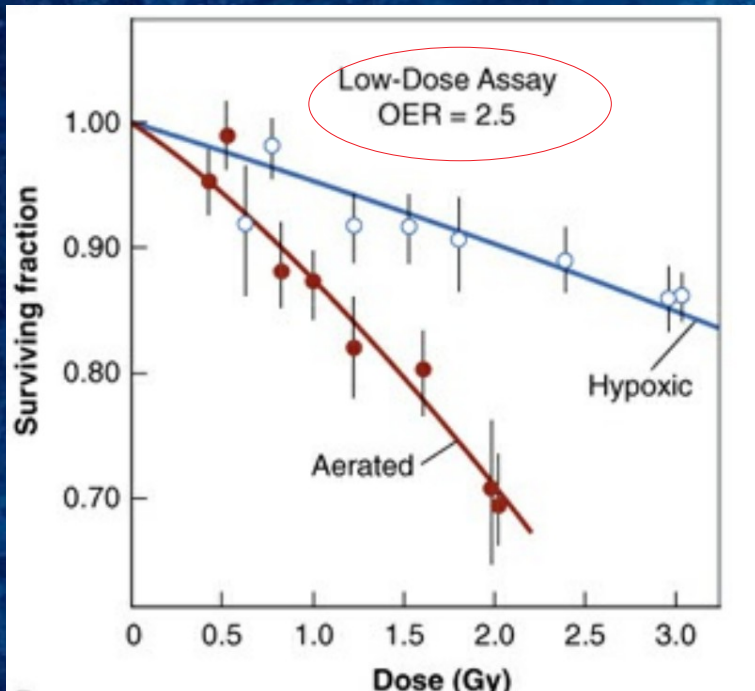


- А - ћелије сисара
- Б – *Escherichia coli*
- Ц - *Escherichia coli* B/C
- Д – квасац
- Е- макрофаг
- Ф – *Bacillus megatherium*
- Г – Вирус кромпира
- Д- *M. radiodurans*

Ефекат кисеоника на ћелијско преживљавање

Фактор кисеоничног појачања (oxygen enhancement ratio OER)

- OER = Однос доза које дају исти терапијски ефекат у присуству и одсуству кисеоника.
- Зависи од примењене дозе и фазе циклуса у којем се ћелије налазе
- Највећи је у S фази, а најмањи у G1 фази. Зависи од типа зрачења које се примењује
 - Највећи је за слабо јонизујуће зрачења
 - =1 за алфа зрачење и теже наелектрисане честице

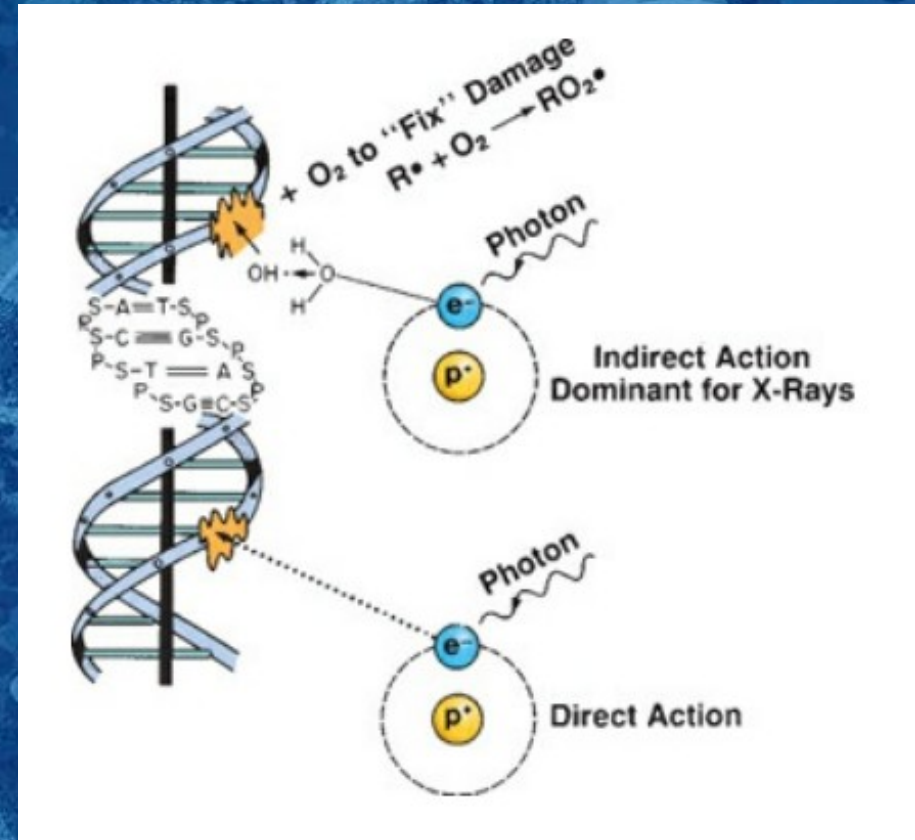


Кисеоник треба да буде присутан у времену озрачивања или...

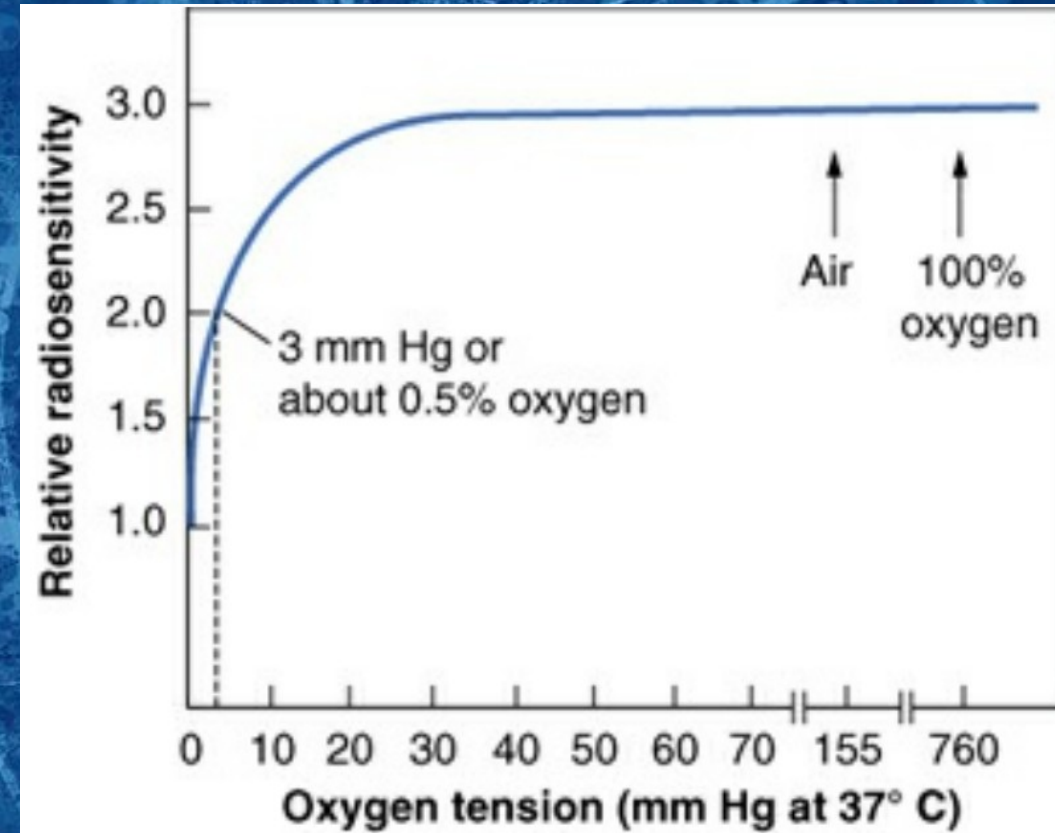
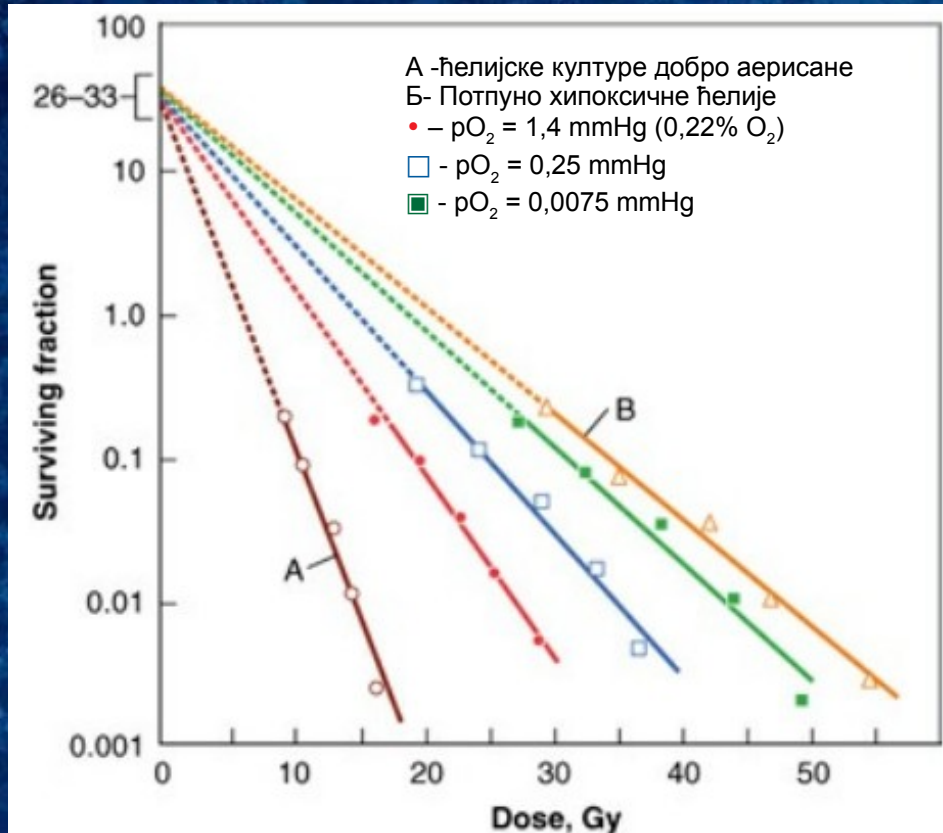
- O_2 мора бити присутан у току озрачивања или максимално неколико милисекунди након озрачивања.
- Како знамо > на основу експеримената са контролисаном пулсном применом кисеоника и применом микросекундног пулса зрачења.
- Из овога следи да кисеоник интерагује са релативно дугоживећим ($t \sim 10^{-5} - 10^{-3}$ s) активним врстама.

- Скала догађај при проласку зрачења кроз материју
- 10^{-15} Стварање брзих наелектрисаних честица које...
- У сударима стварају секундарне јонске парове чије је време живота $\sim 10^{-10}$ s.
- Секундарни електрони интерагују са ДНК правећи прекиде ланца/ланаца ДНК и органске радикале $t_{\text{života}} \sim 10^{-5}$ s
- Оваква оштећења су у великом проценту оправљива али...

- Кисеоник реагује са органским радикалима $R\cdot$ и гради перокси радикале $ROO\cdot$.
- На тај начин се фиксира оштећење
- Оваква оштећења ДНК су неопорављива!



Потребна концентрација кисеоника?

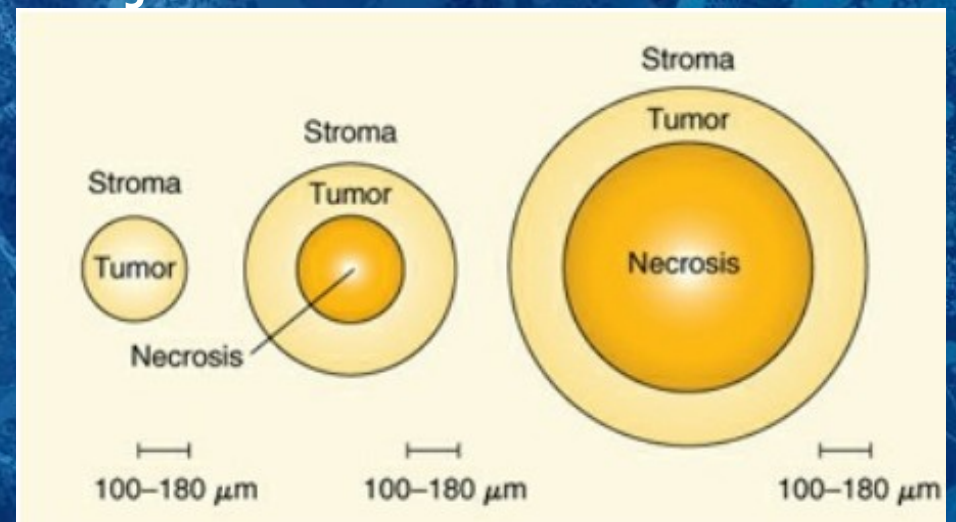
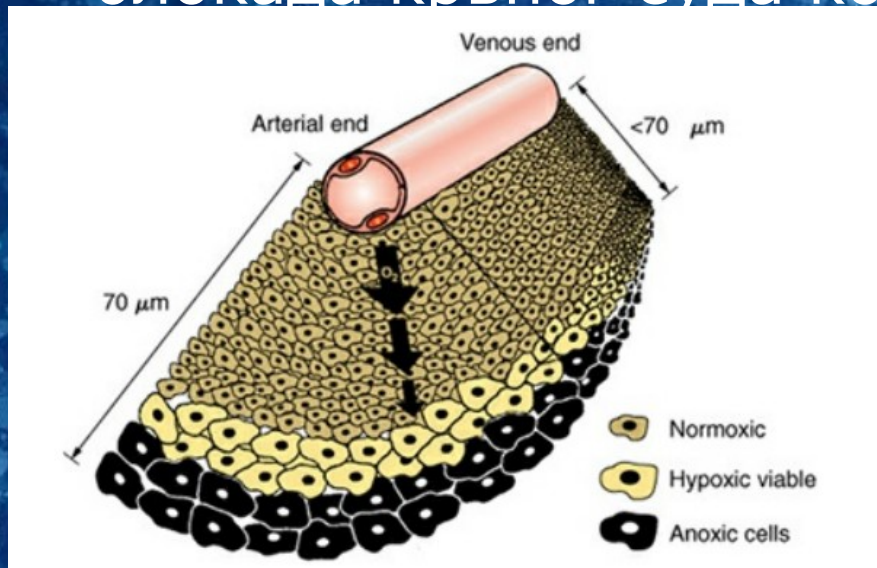


При концентрацији кисеоника 2% крива се поклапа са кривом А

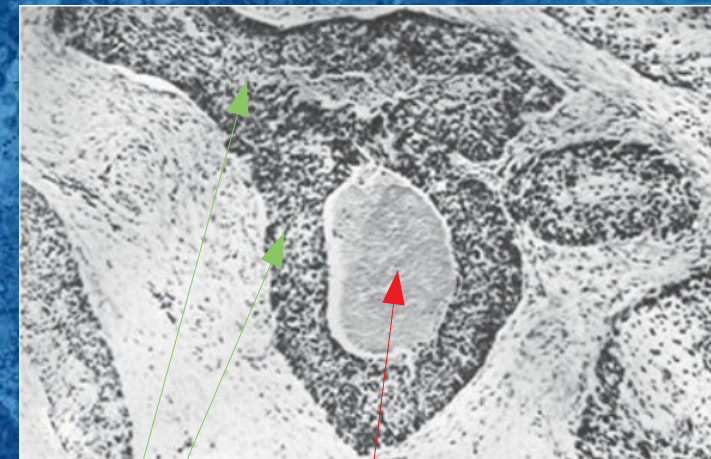
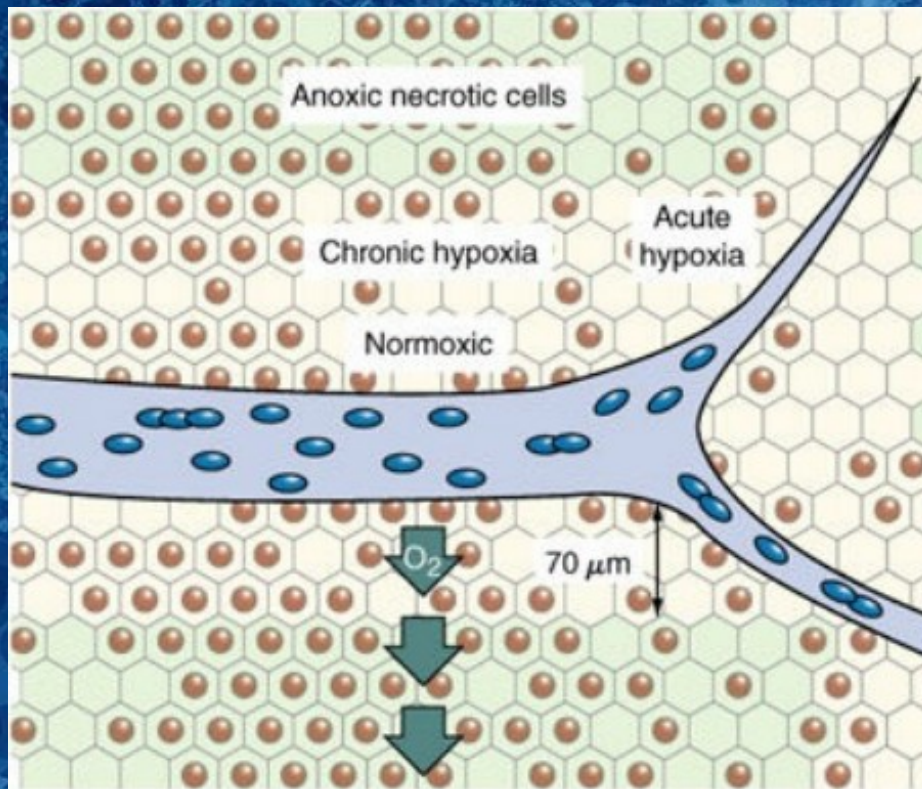
pO_2 у ткивима варира између 1-100 mmHg

Акутна и хронична хипооксија и ефекти зрачења

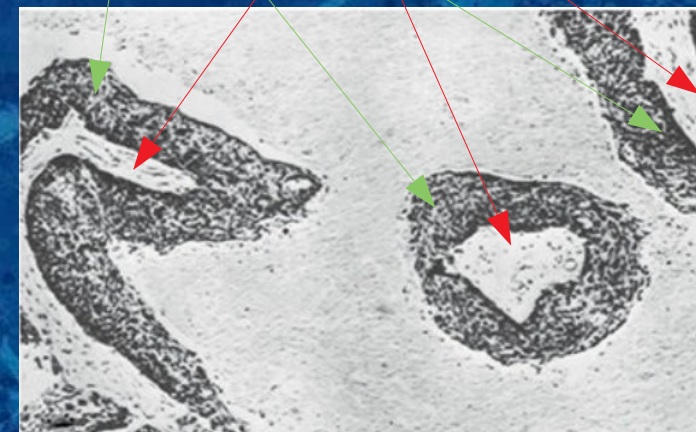
- Хронична хипооксија ћелија се јавља услед немогућности да кисеоник допре до ћелија удаљенијих од крвног суда. Да ли ће до ње доћи јако зависи од брзине дифузије и кисеоника кроз ткиво и потрошње кисеоника од стране ћелија које се налазе непосредно уз крвни суд.
- Акутна хипооксија се јавља када постоји привремена блокада крвног суда који напаја ткиво.



- Кисеоник може да дифундује од крвног суда радијално у дијаметру од 70 микрометара, што се поклапа са ширином слоја вијабилних ћелија.

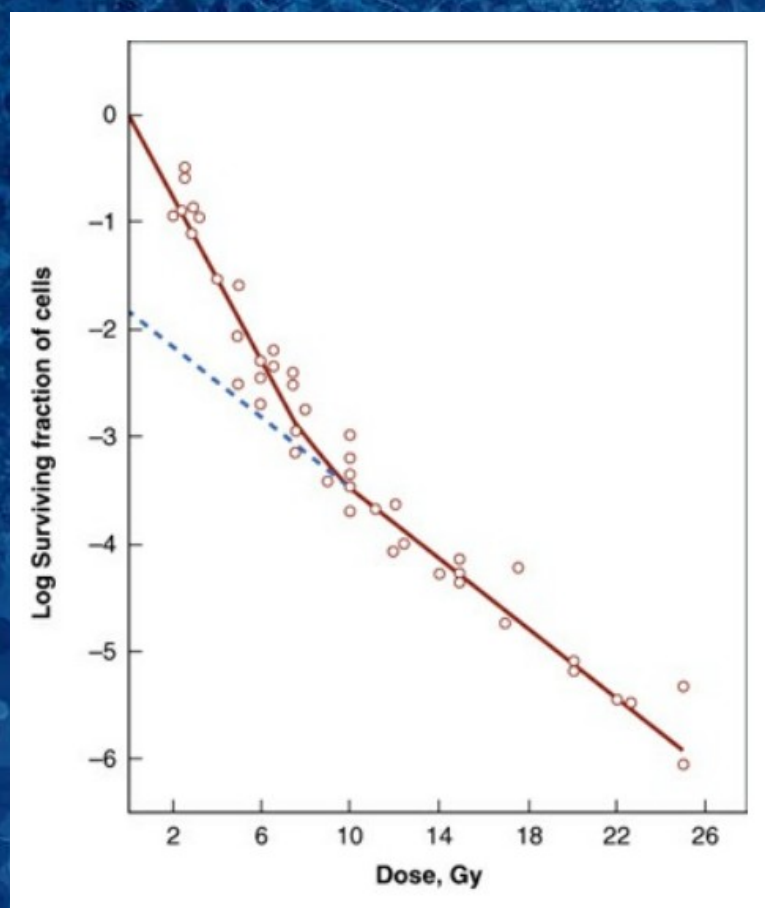


Вијабилне
ћелије
некроза



Хипооксичне ћелије у тумору експериментални доказ

- Одговор солидног субкутаног лимфосаркома на различите примењене дозе

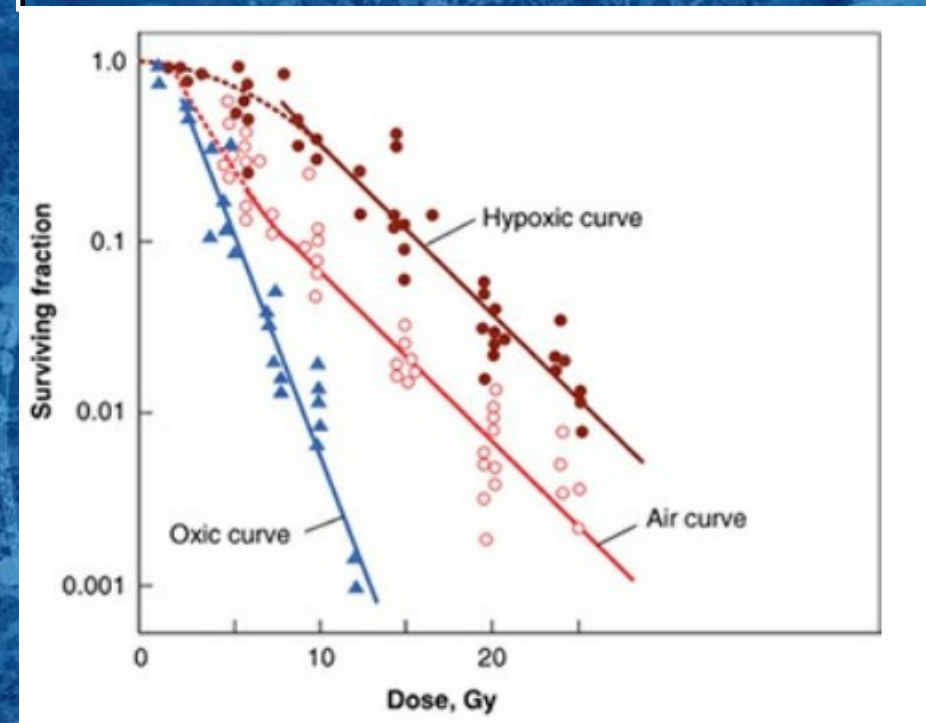
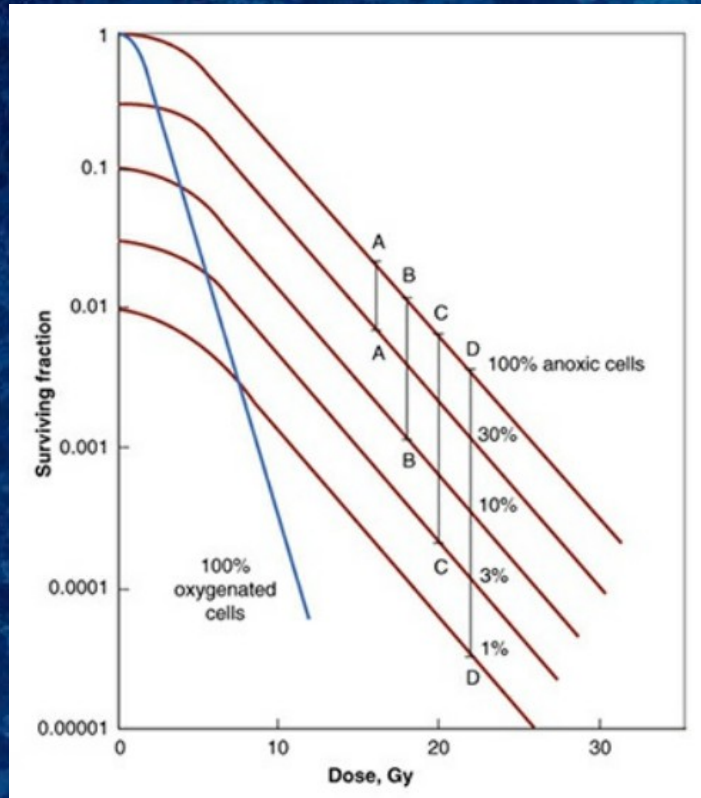


- Нагиб првог дела криве (0-8 Gy) односи се на деструкцију оксигенованих ћелија.

- Нагиб другог дела криве - деструкција хипооксичних ћелија

- Екстраполација другог дела криве на у-осу даје нам фракцију хипооксичних ћелија (за овај тумор ~1%)

Удели хипооксичних ћелија у различитим туморима



Поступак:

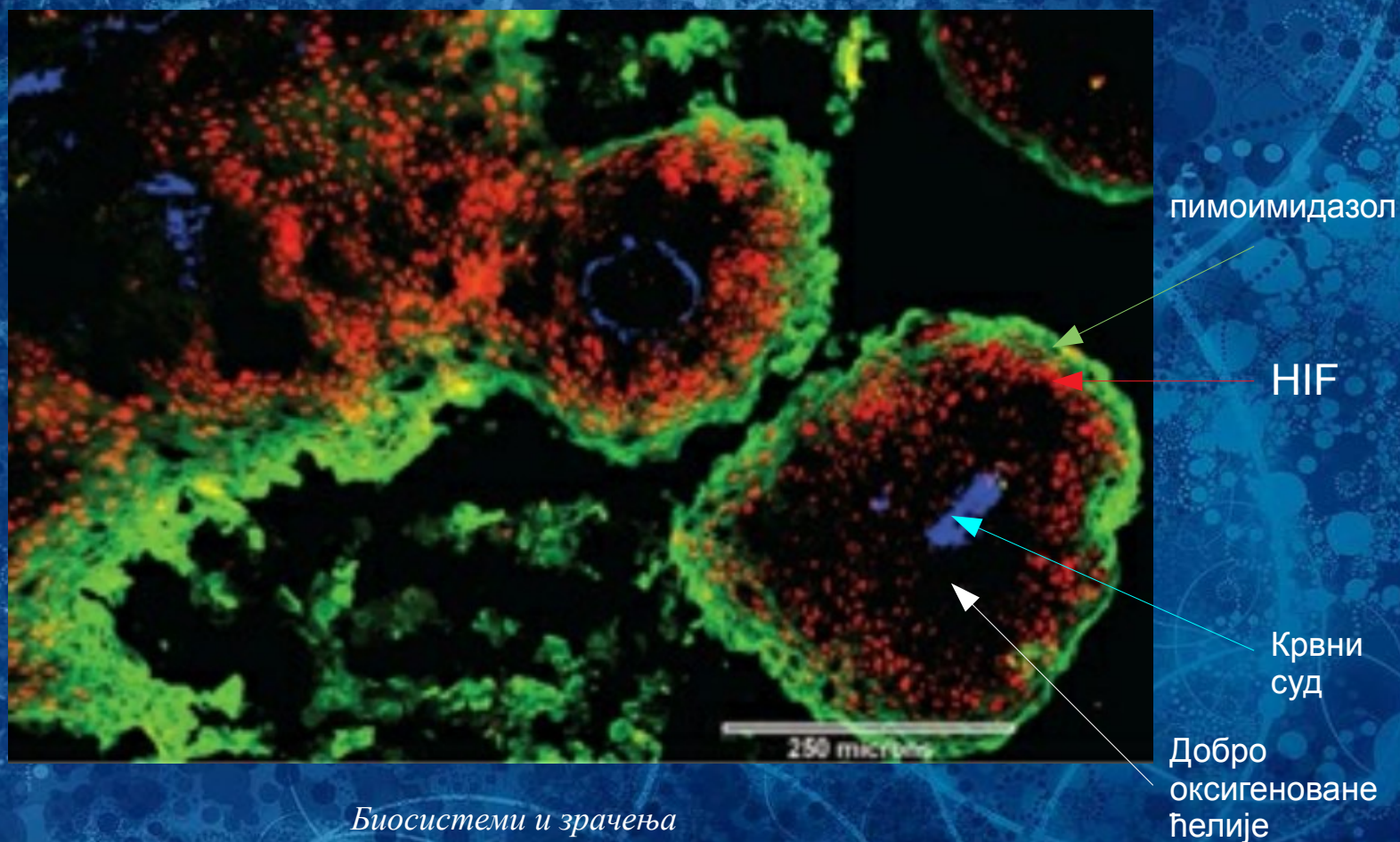
- Добијање криве за ћелије екстраховане из аноксичног тумора (експ. животиња удише чист азот у трајању неколико минута – најгорња крива)
- Животиња удише ваздух нормалног састава – црна крива
- Криве које одговарају туморима са различитим уделима хипооксичних ћелија се налазе између крајњих. Вертикално растојање за исту дозу између кривих је проценат хипооксичних ћелија у ткиву.

- Moulder and Rockwell су проучавали 42 типа тумора и установили да се проценат хипоксичних ћелија креће између 0 и 50%. Већина тумора је имала око 15% хипоксичних ћелија.

Мерење нивоа кисеоника у туморима (одређивање нивоа оксигенације ткива)

- Златни стандард: пробе за *in vivo* одређивање pO_2 (нпр Епендорфова проба)
- Данас замењено са оптичком пробом на чијем се врху налази флуоресцентно једињење осетљиво на нио кисеоника.
- Боје специфичне на хипооксију из класе нитримидазола које се иреверзибилно везују за хипооксичне ћелије– најпознатији пимоимидазол.
- **Удео хипооксичних ћелија је инверзно корелисан са временом преживљавања!**
-

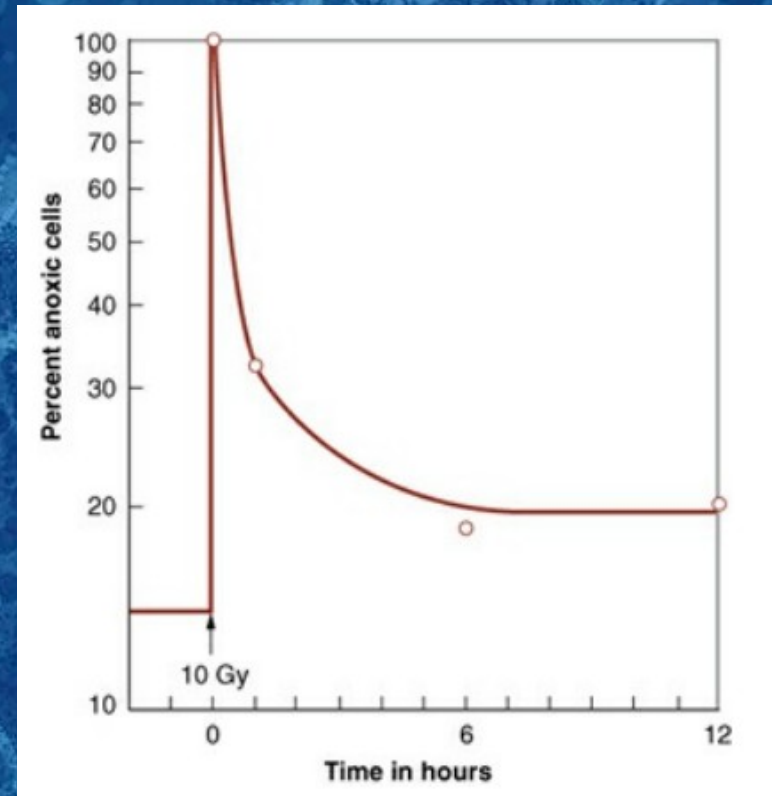
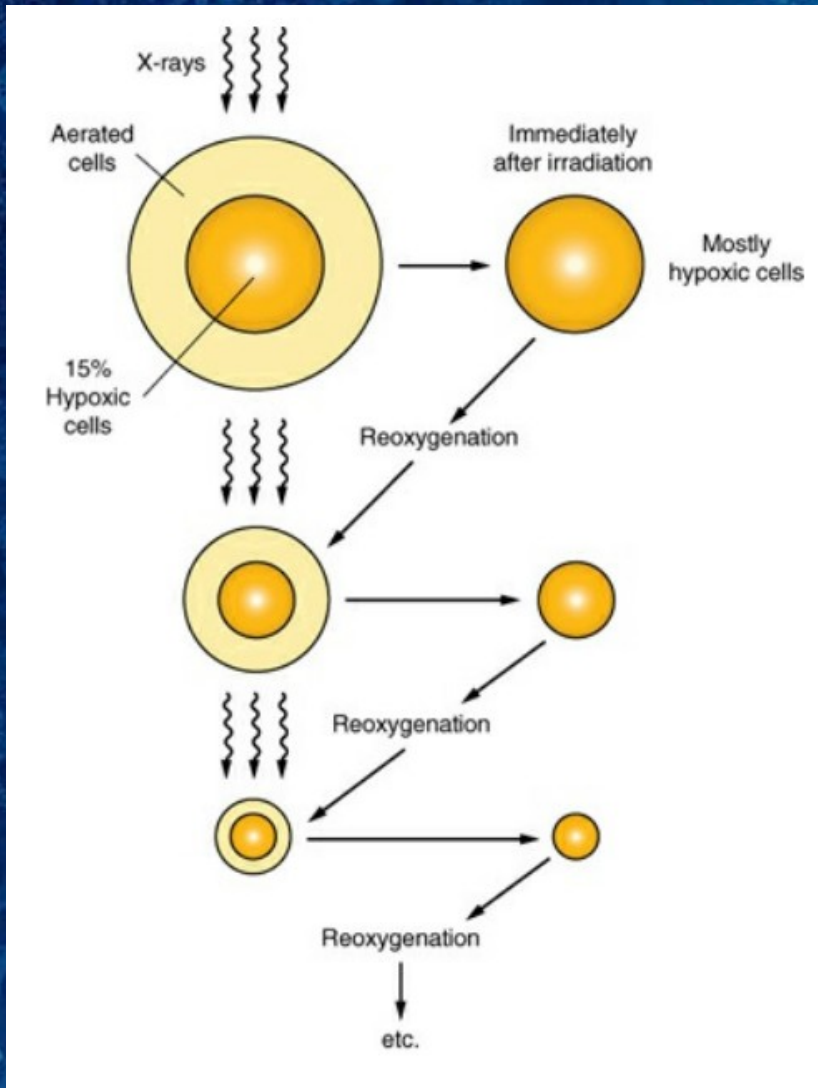
- Эндогене пробе (улазе у ћелије) фактор индуцибилан хипоксијом (HIF).
- Неинвазивне технике одређивања дистрибуције хипоксичних ћелија у тумору базиране на PET пробама као што су F-18-MISO, F-18-EF5, Cu-60-ATSM.



Реоксигенација

- Van Putten and Kallman су одређивали број хипооксичних ћелија у тумору у режиму предавња дозе у фракцијама.
 - Пет фракција од по 1,9 Gy у данима пон-пет. Удео хипооксичних ћелија одређен наредног понедељка ~18%
 - Четири фракције од по 1,9 Gy у данима пон-чет. Удео хипоокс ћелија одређен у петак 14%
- ДОКАЗ ПОСТОЈАЊА РЕОКСИГЕНАЦИЈЕ!**

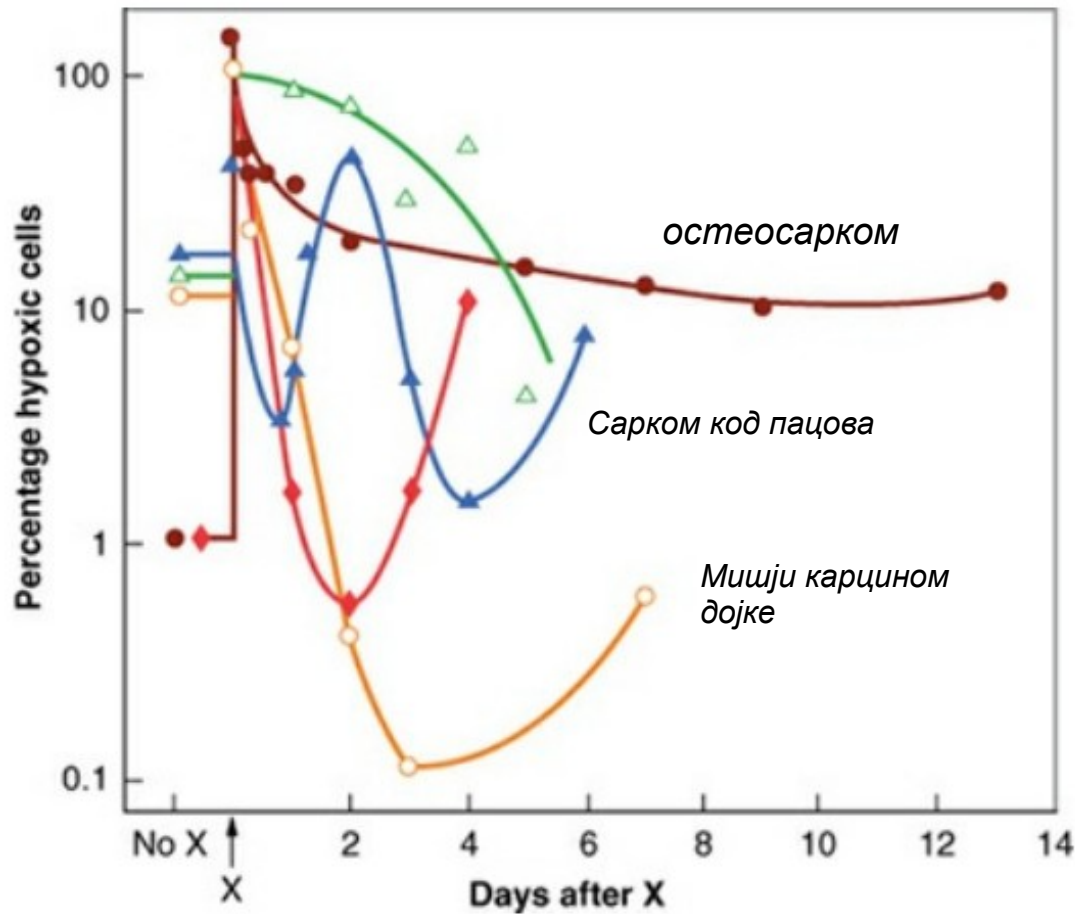
- Динамика реоксигенације



Једнократно дата доза од 10 Gy.
Праћен проценат хипооксичних ћелија.

Динамика реоксигенације није иста за све туморе!

Реоксигенација код различитих типова тумора



• *Механизам реоксигенације*

- Добро оксигеноване ћелије су уништене дејством зрачења и очишћене из тумора
- Тумор се смањује
- Свој хипооксичних ћелија долази у контакт са крвним судом и постају оксигеноване.
- Најчешће су то акутно хипооксичне ћелије

Значај реоксигенације у радиотерапији

- Ако се тумор који садржи хипооксичне ћелије добро реоксигенује тада фракционисање терапије има пуни смисао.
- Познавање кривих реоксигенације је изузетно важно за планирање радиотерапије...
- Што је веома тешко знати за различите врсте хуманих тумора.
-
- Средње решење & искуство: оптимално 60 Gy у 30 фракција сваки други дан.

Хипооксија и резистенција на хемотерапеутике

- Хипооксичне ћелије су отпорније на дејство хемотерапеутика (доксирубин, блеомицин) који делују на ДНК због тога што је у њима ометена производња радикала
- Низак рН у хипооксичним ћелијама утиче на смањење ефикасности неких хемотерапеутика (5-флуор урацила, цисплатина, метотрексата)

Предикција одговора тумора на основу удела хипооксичних ћелија

- Клиничка студија у Немачкој 1990.
 - Пацијенти са $pO_2 < 10$ mmHg краће преживљавање него пацијенти са $pO_2 > 10$ mmHg.
- Канадска студија: хипооксија код цервикалних тумора подстиче малигну прогресију чак и када нема инфилтрације лимфних чворова
- Студија у САД. Код тумора са $pO_2 < 10$ mmHg у 70% случајева дају удаљене метастазе у поређењу са 35% случајева код тумора са $pO_2 > 10$ mmHg