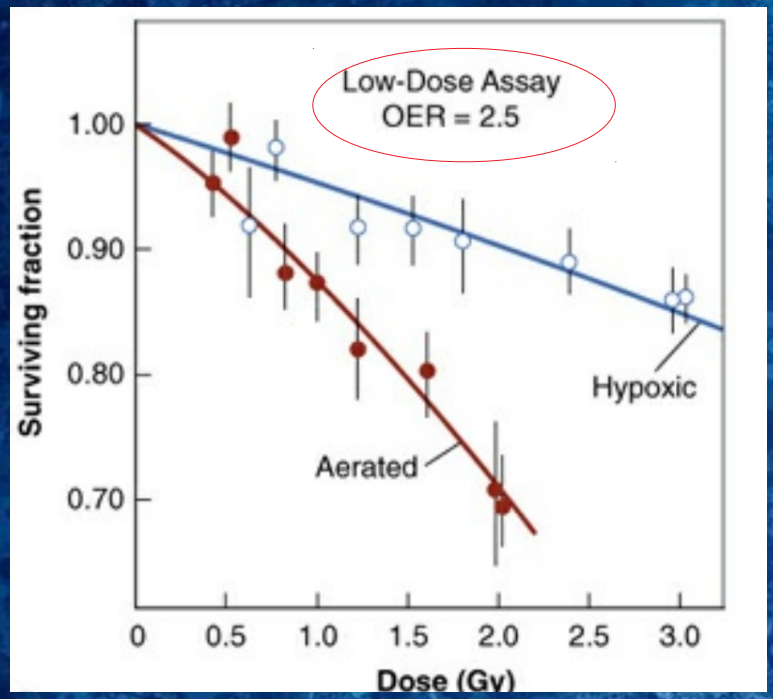
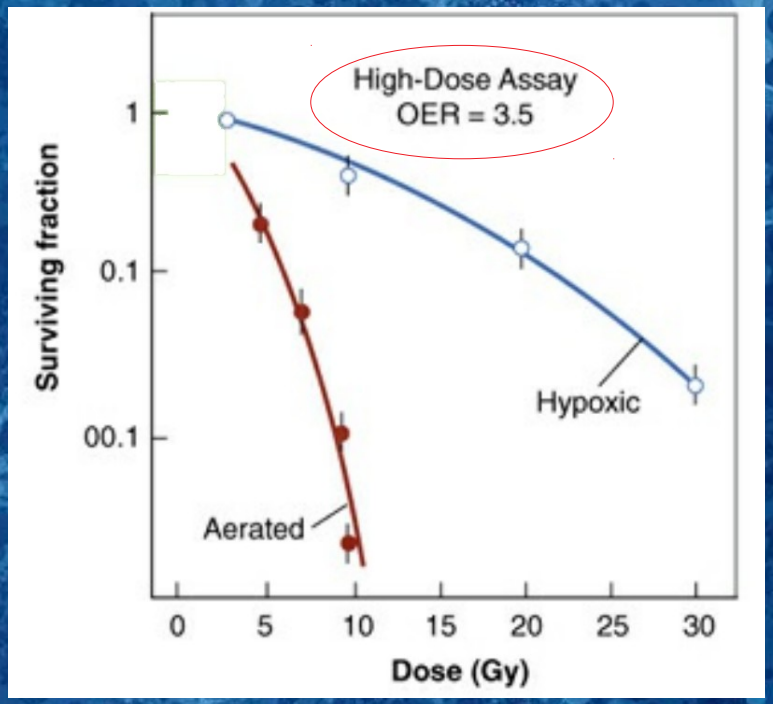
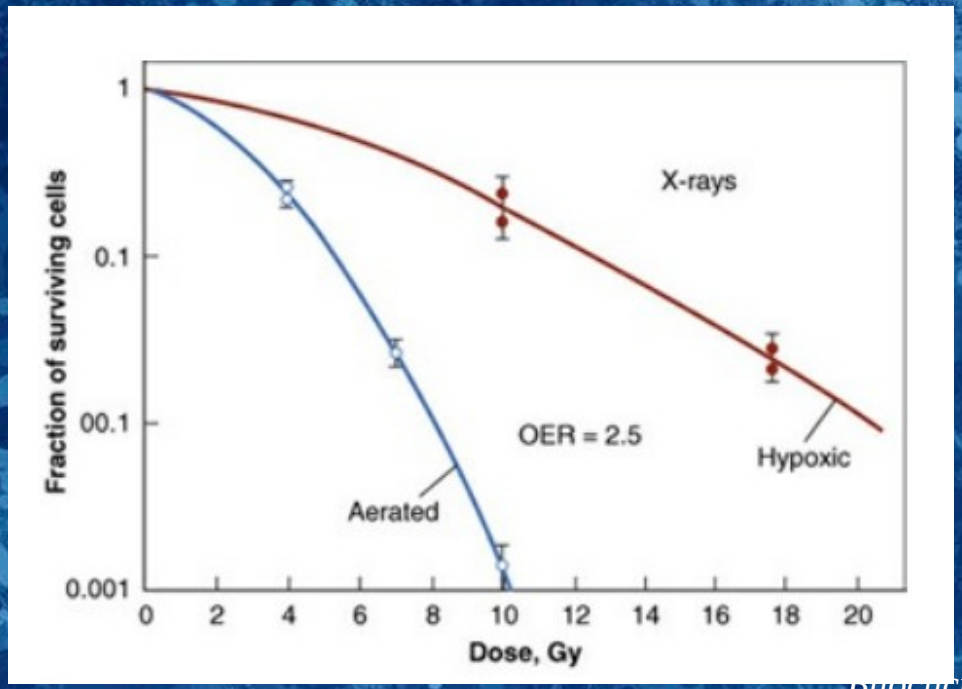
Ефекат кисеоника на ћелијско преживљавање

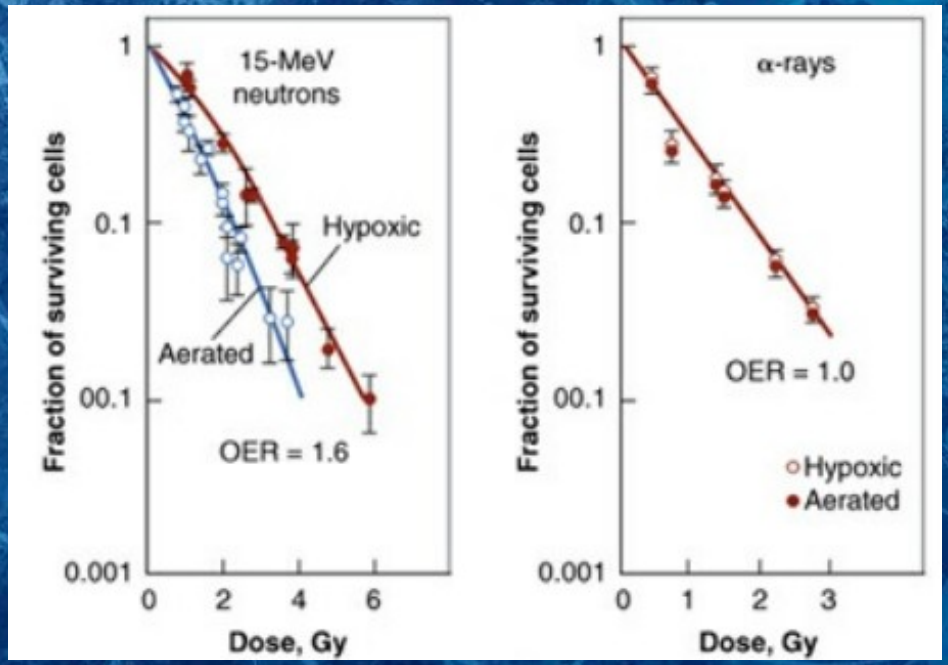
Фактор кисеоничног појачања (oxygen enhancement ratio OER)

- 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 чстице
-


Low-Dose Assay
OER = 2.5
Surviving fraction
1.00
0.90
0.80
0.70
Hypoxic
Aerated
0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
3.0
Dose (Gy)


High-Dose Assay
OER = 3.5
Surviving fraction
1
0.1
00.1
Hypoxic
Aerated
0
5
10
15
20
25
30
Dose (Gy)


Fraction of surviving cells
1
0.1
00.1
0.001
X-rays
OER = 2.5
Hypoxic
Aerated
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
Dose, Gy

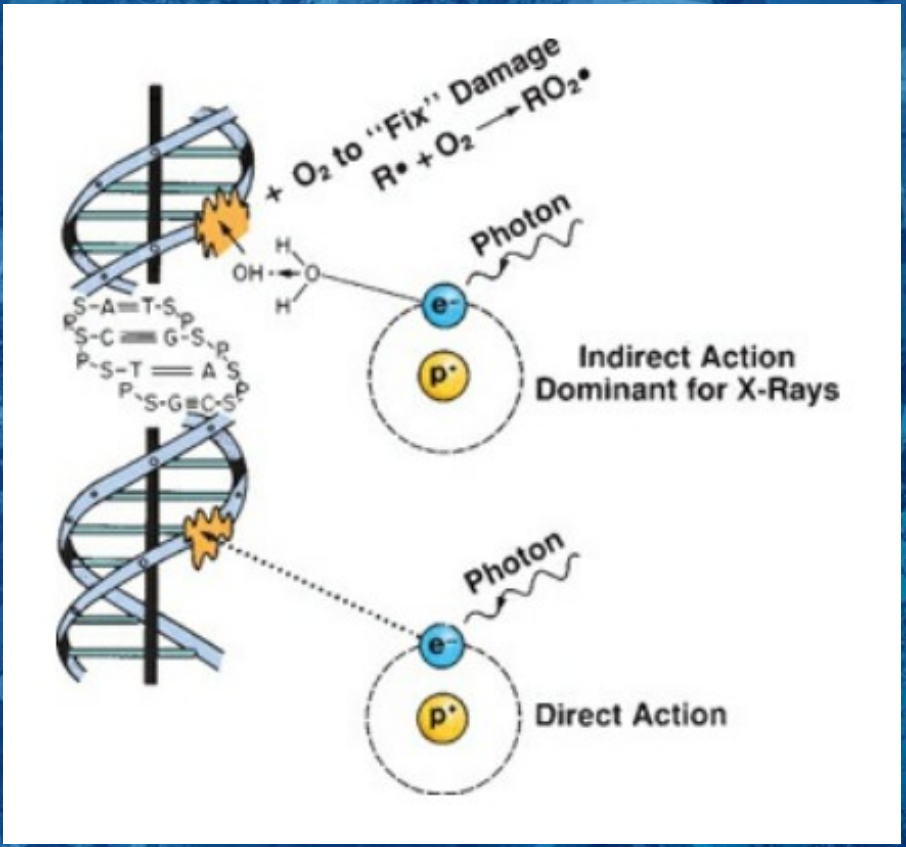

15-MeV
neutrons
Fraction of surviving cells
1
0.1
00.1
0.001
Hypoxic
Aerated
OER = 1.6
0
2
4
6
Dose, Gy
α-rays
Fraction of surviving cells
1
0.1
00.1
0.001
OER = 1.0
Hypoxic
Aerated
0
1
2
3
Dose, Gy

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

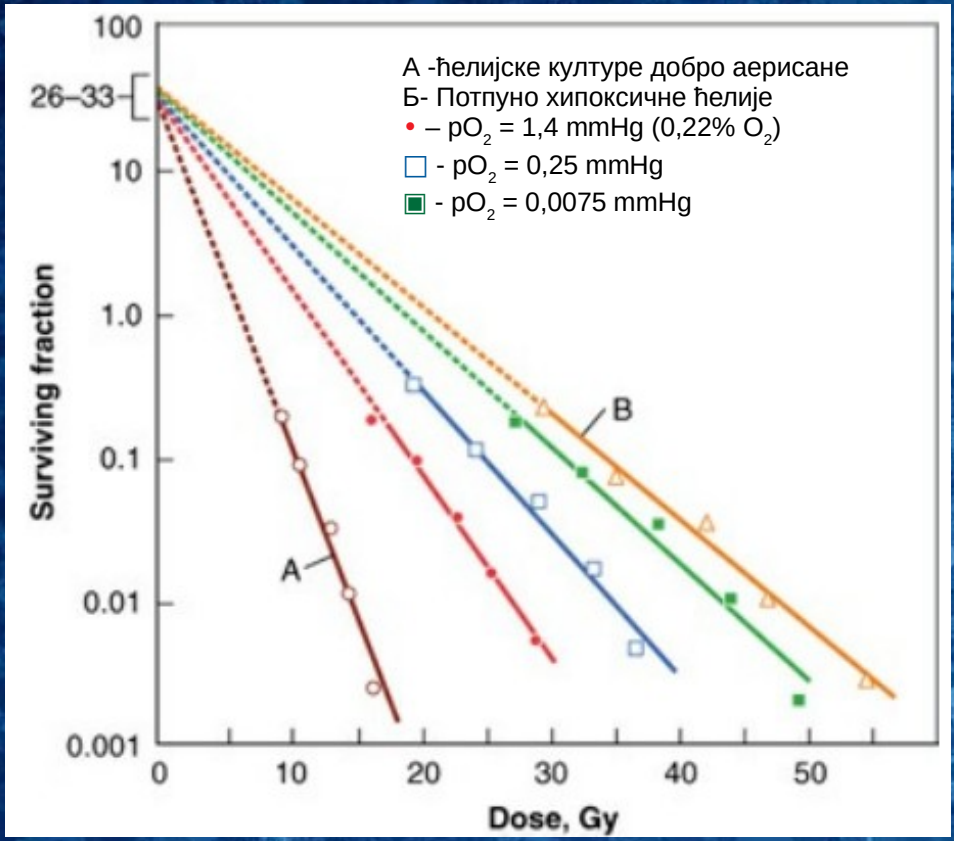
- O_2 мора бити присутан у току озрачивања или максимално неколико милисекунди након озрачивања.
- Како знамо > на основу експеримената са контролисаном пулсном применом кисеоника и применом микросекундног пулса зрачења.
- Из овога следи да кисеоник интерагује са релативно дугоживећим ($t \sim 10^{-5}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

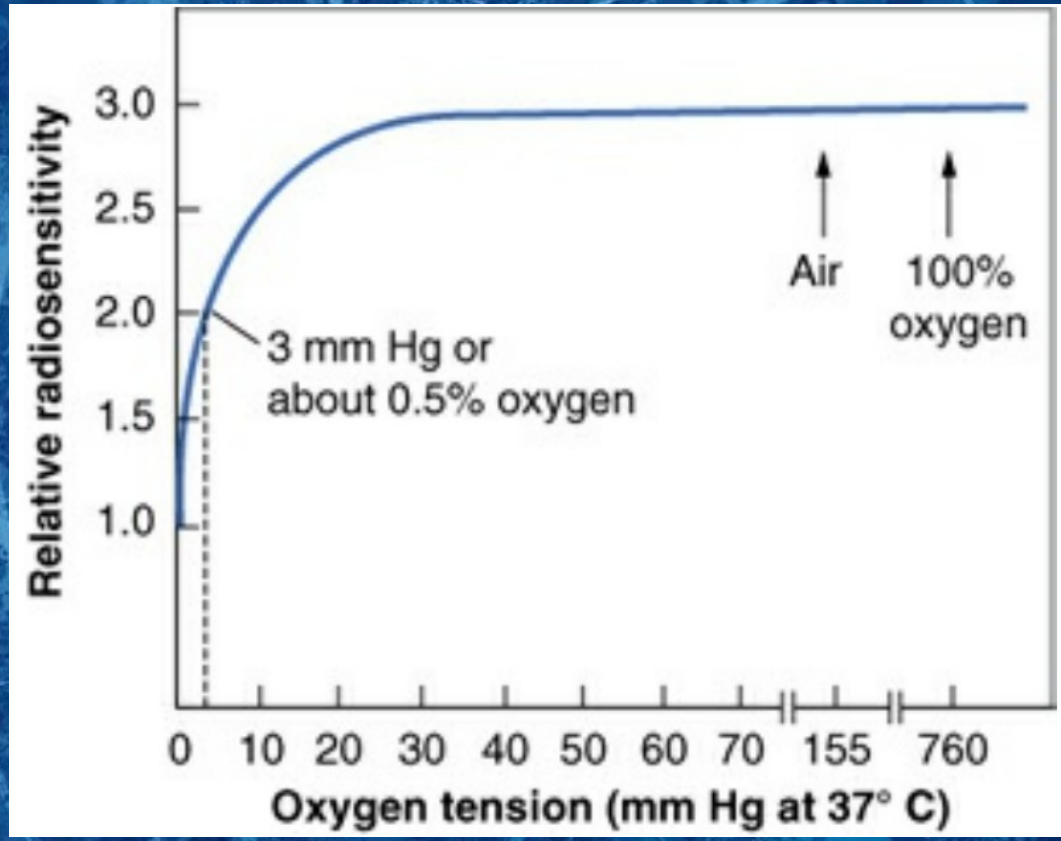
- Скала догађај при проласку зрачења кроз материју
- 10^{-15} Стварање брзих наелектрисаних честица које...
- У сударима стварају секундарне јонске парове чије је време живота ~10^{-10} s.
- Секундарни електрони интерагују са ДНК правећи прекиде ланца/ланаца ДНК и органске радикале $t_{života}$~10^{-5} 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?



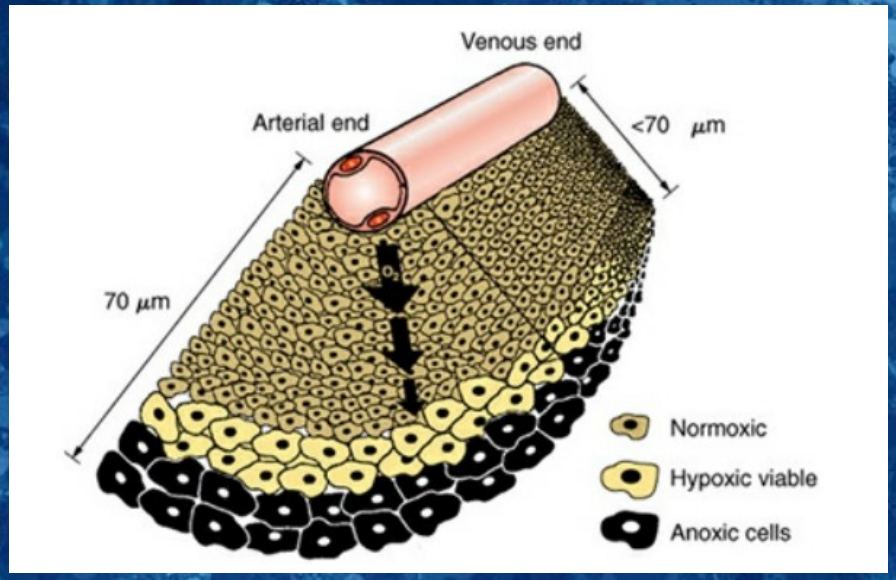


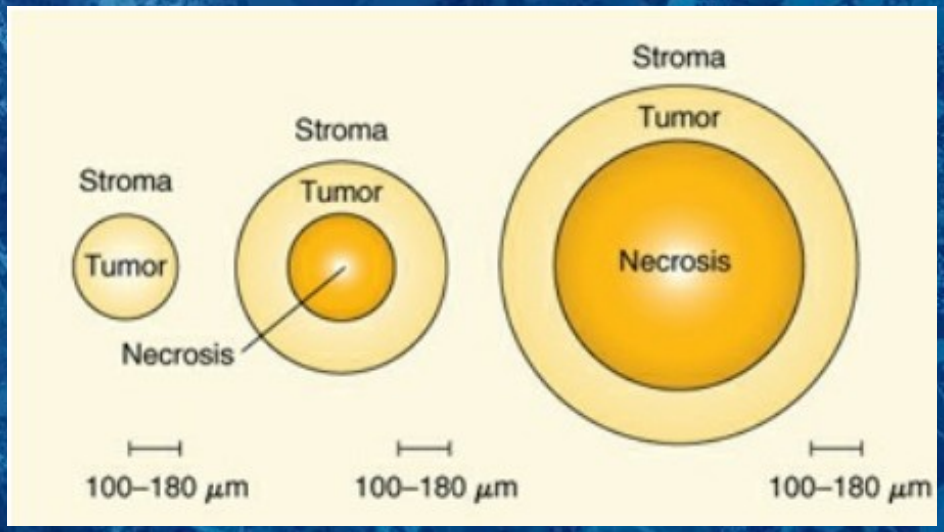
При концентрацији кисеоника 2% крива се поклапа са кривом А

pO_2 у ткивима варира између 1-100 mmHg

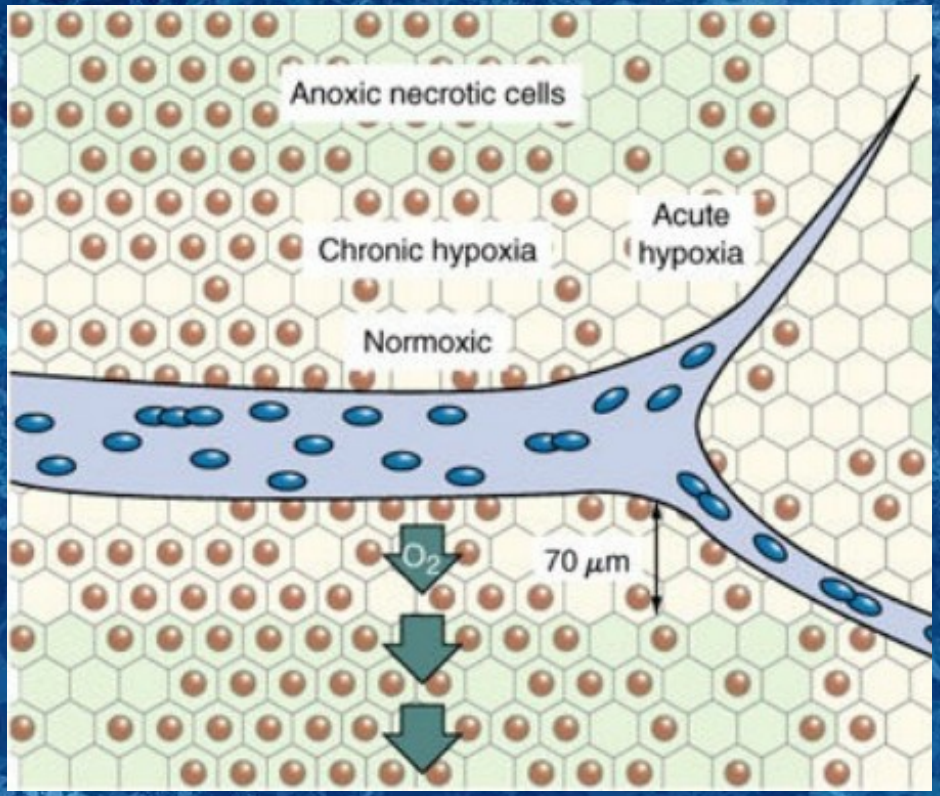
Акутна и хронична хипооксија и ефекти зрачења

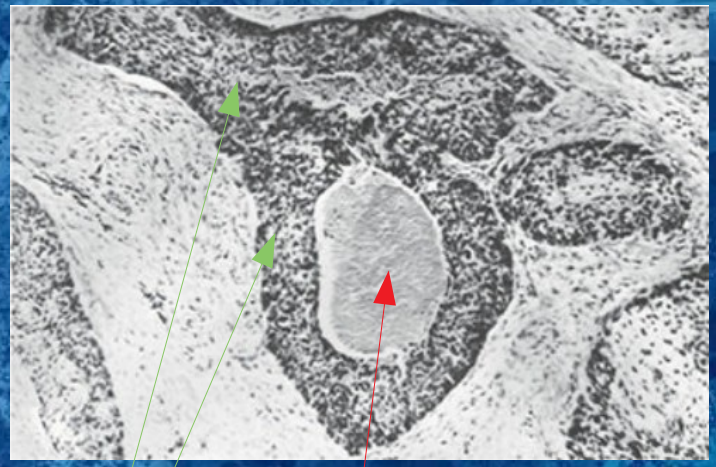
- Хронична хипооксија ћелија се јавља услед немогућности да кисеоник допре до ћелија удаљенијих од крвног суда. Да ли ће до ње доћи јако зависи од брзине дифузије и кисеоника кроз ткиво и потрошње кисеоника од стране ћелија које се налазе непосредно уз крвни суд.
- Акутна хипооксија се јавља када постоји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





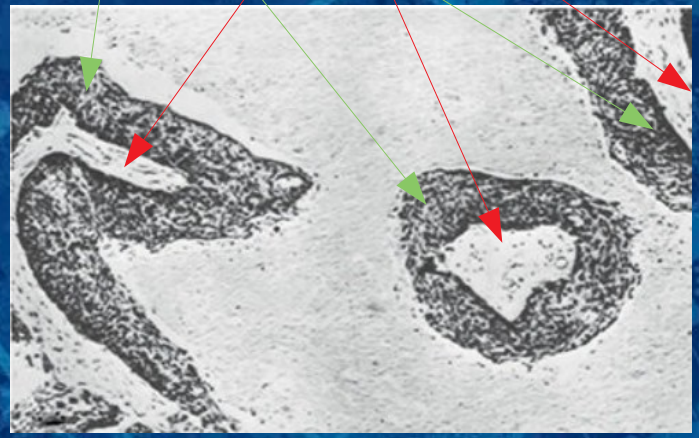
- Кисеоник може да дифундује од крвног суда радијално у дијаметру од 70 микрометара, што се поклапа са ширином слоја вијабилних ћелија.
-





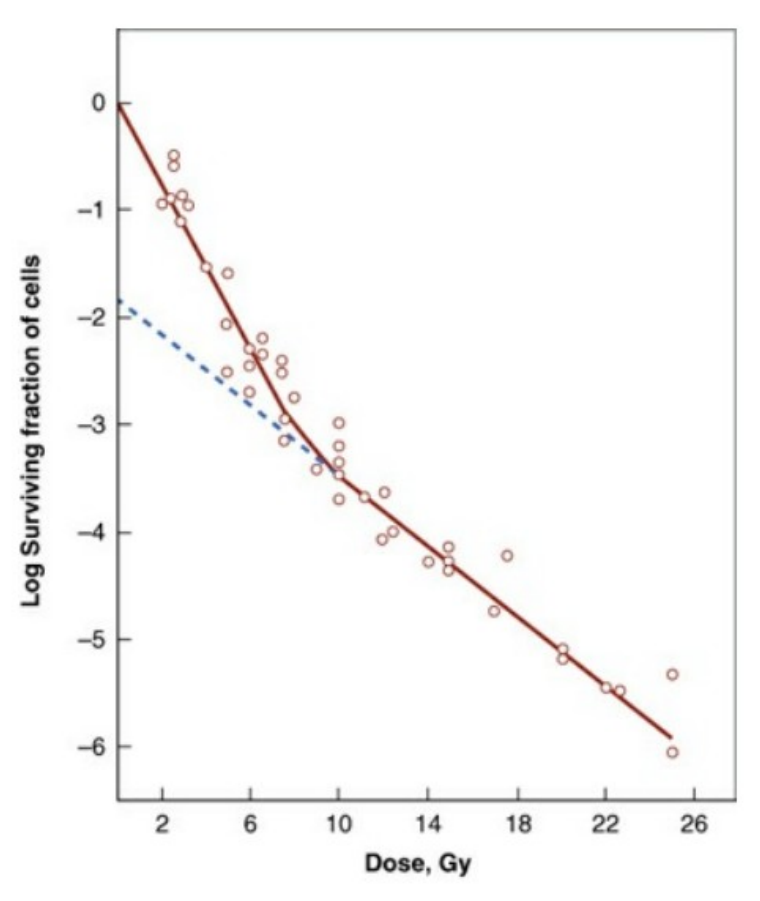
Вијабилне ћелије

некроза



Хипооксичне ћелије у тумору експериментални доказ

- Одговор солидног субкутаног лимфосаркома на различите примењене дозе



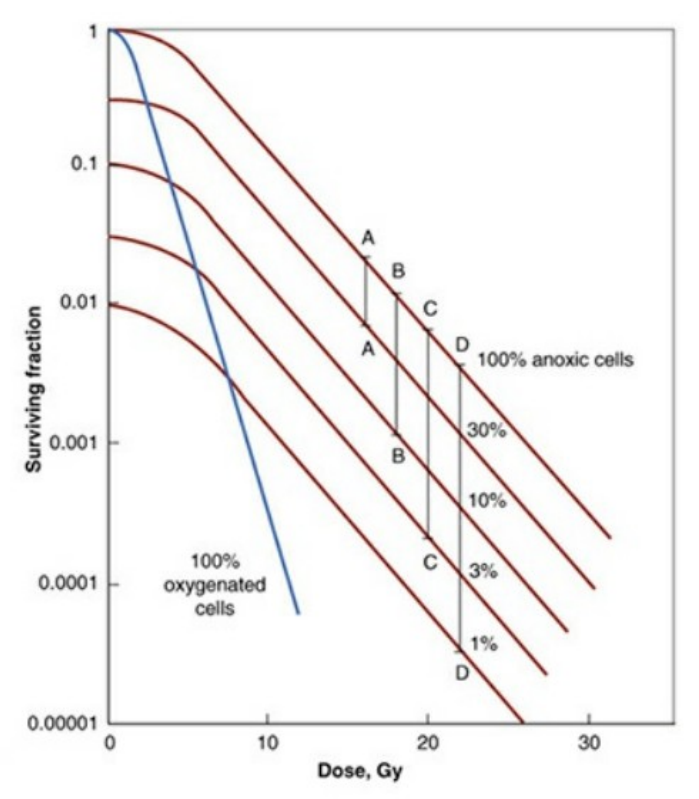
•Нагиб првог дела криве (0-8 Gy) односи се на деструкцију оксигенованих ћелија.

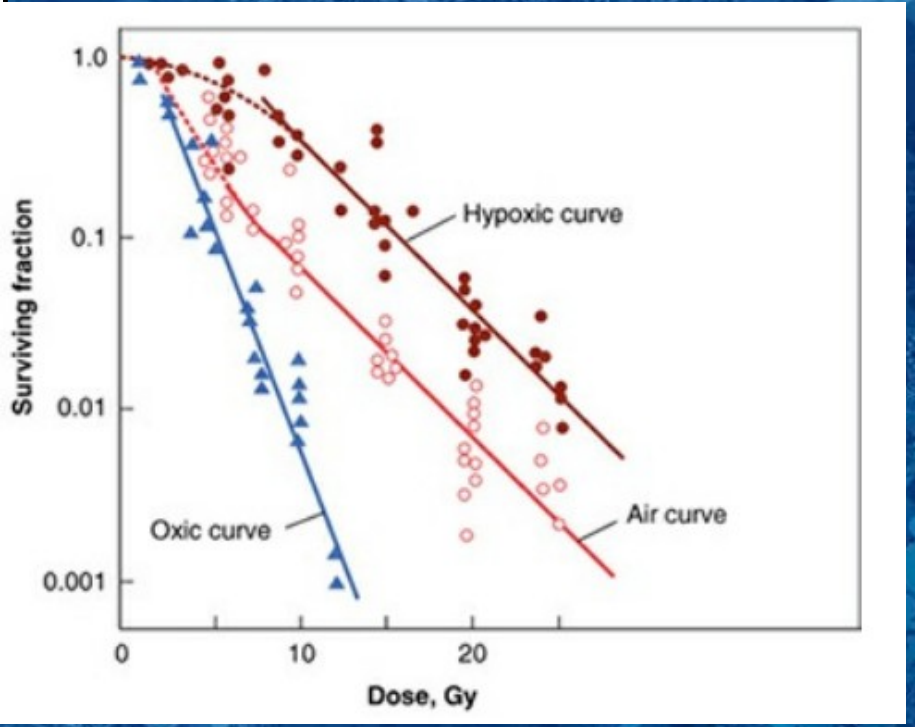
•Нагиб другог дела криве -деструкција хипооксичних ћелија

•

•Екстраполација другог дела криве на y-осу даје нам фракцији 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

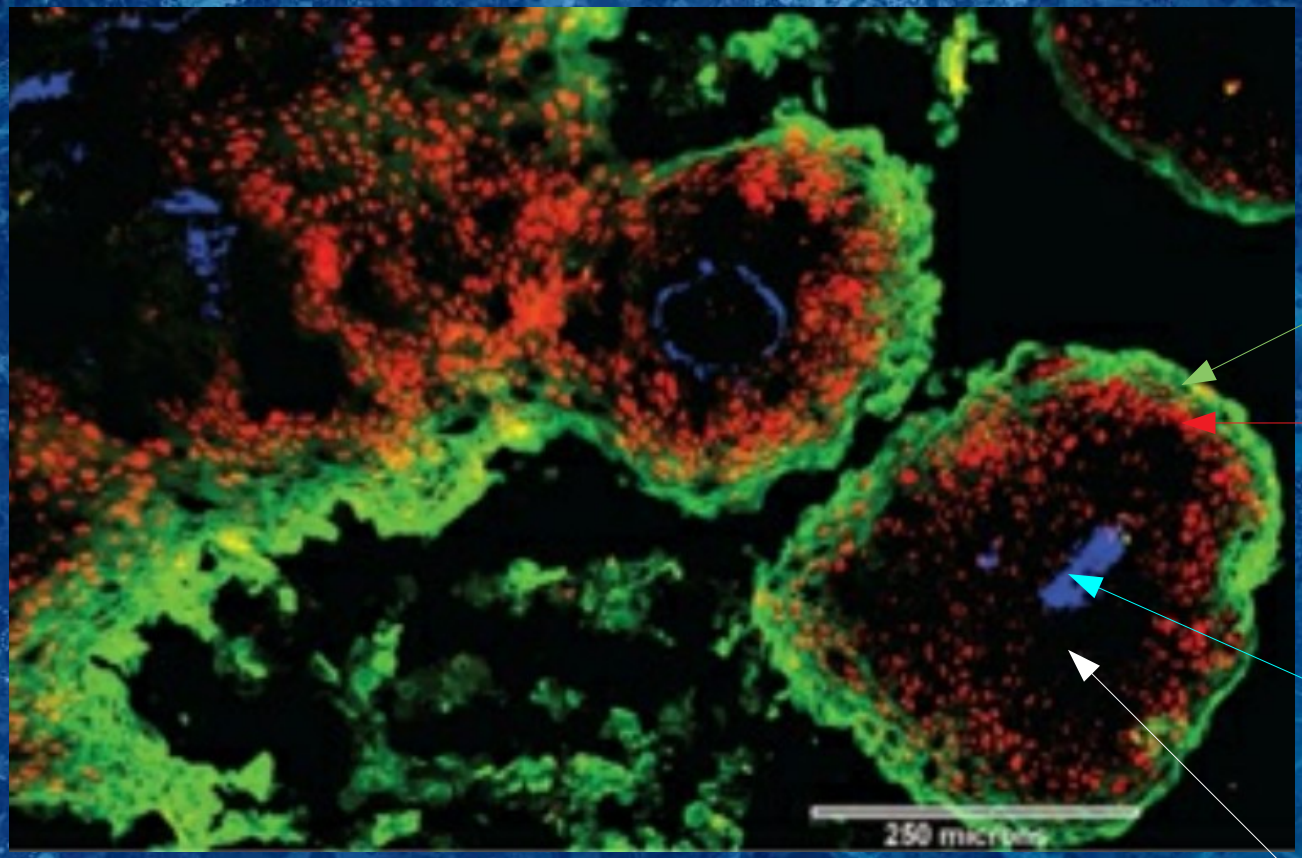
• Криве које одговају туморима са различитим уделима хипооксичних ћелија се налазе између крајњих. Вертикално растојање за исту дозу између кривих је проценат хипооксичних ћелија у ткиву.

- 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!
-
-

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



пимоимидазол

HIF

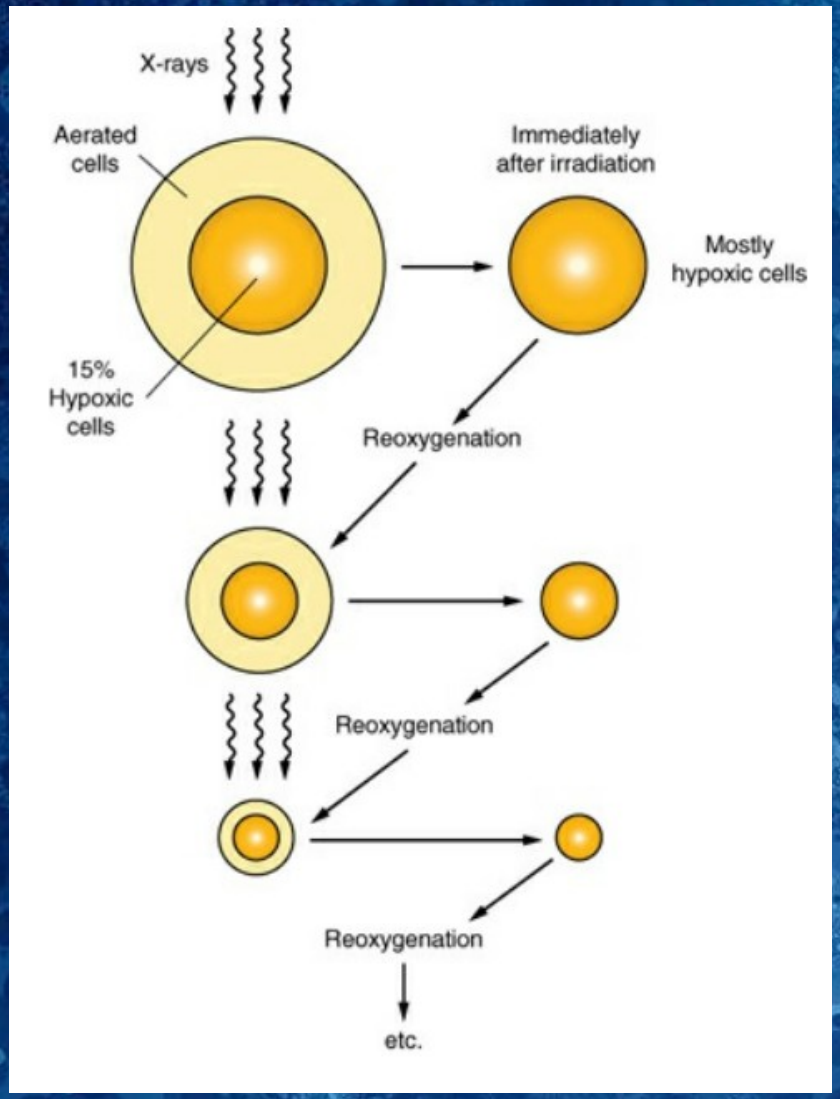
Крвни суд

Добро оксигеноване ћелије

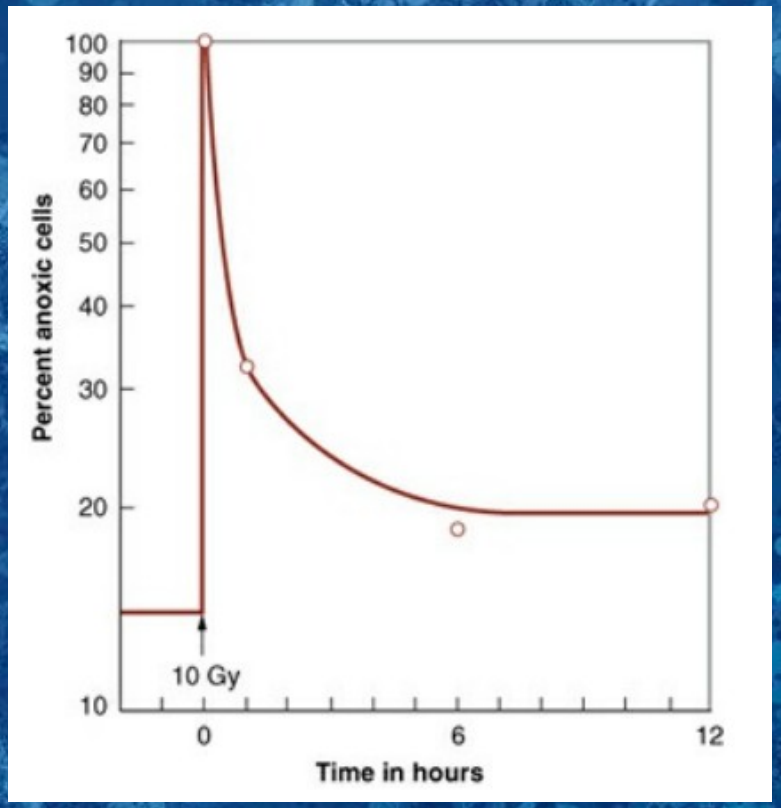
Реоксигенација

- 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 РЕООКСИГЕНАЦИЈЕ!



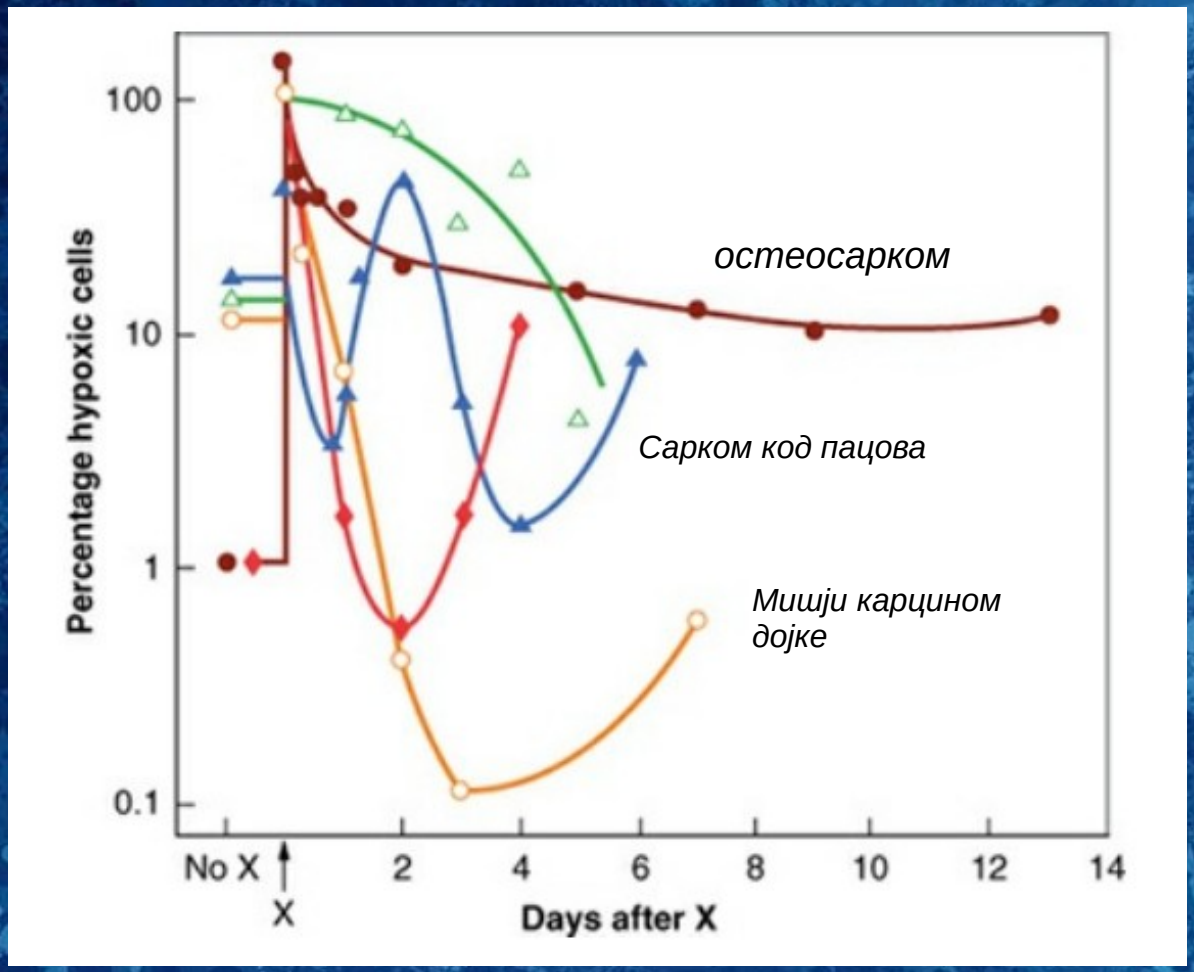
- Динамика реоксигенације



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 уништнене 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 (доксирубицин, блеомицин) који делују на ДНК због тога што је у њима ометена производња радикала

- Низак pH 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
-
  -