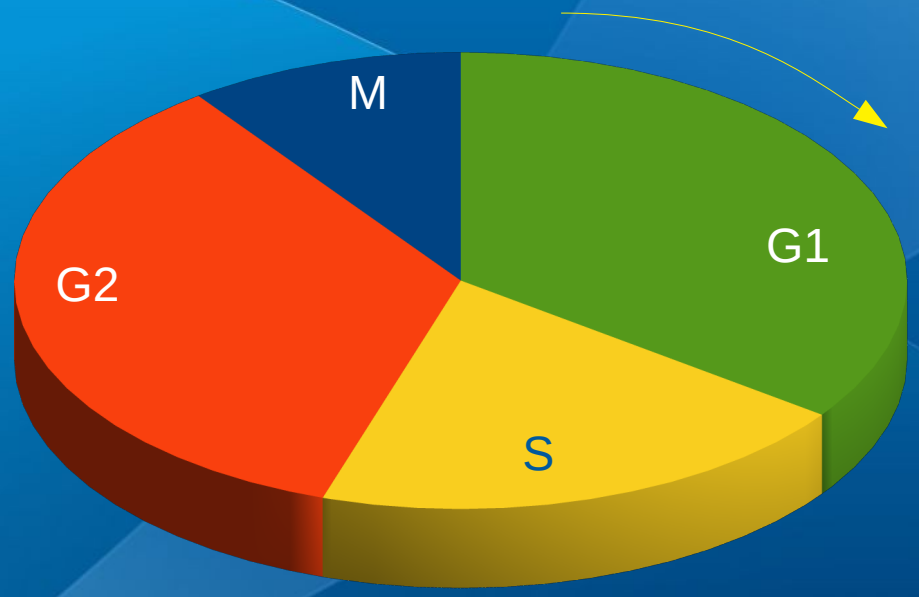
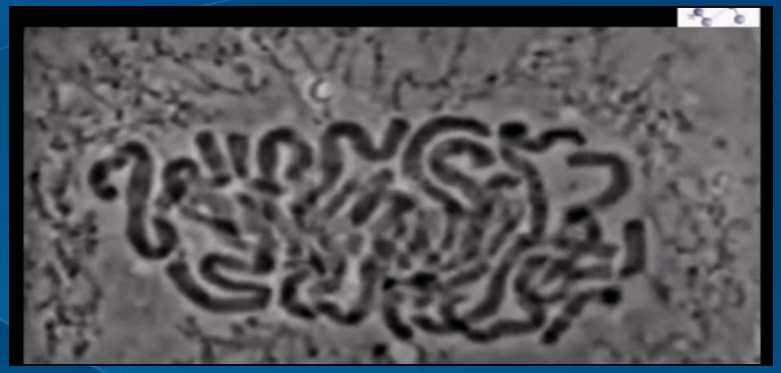
Радиосензитивност ћелија у фазама ћелијског циклуса

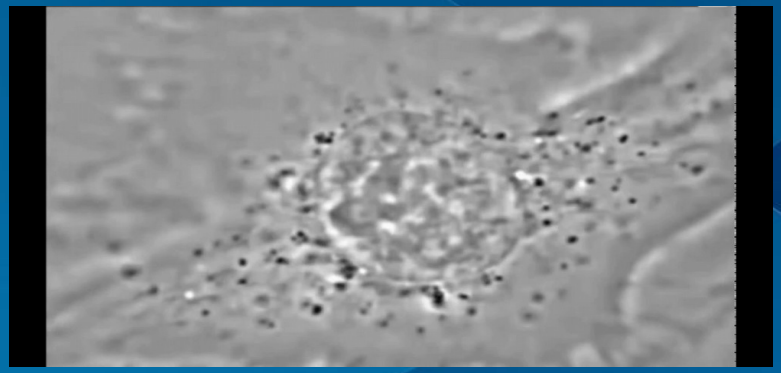
Подсећање ћелијски циклус



- M – митоза ~1 час
- G1 фаза – Припрема за S фазу
- S фаза – Синтеза DNK
- G2 фаза – Припрема за митозу

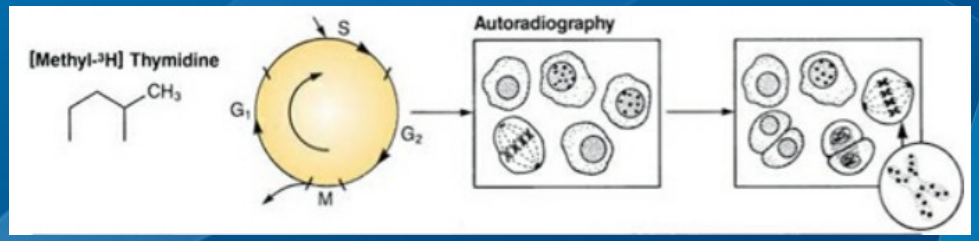
Само је M фазу могуће уочити помоћу специфичног бојења и микроскопа

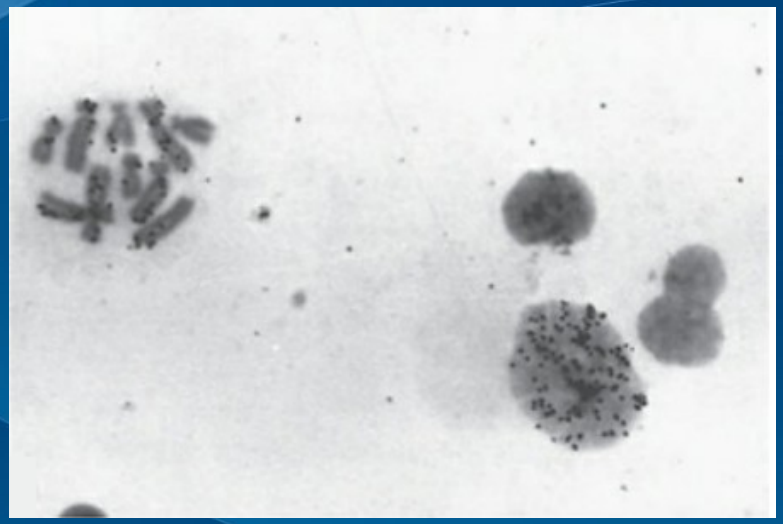




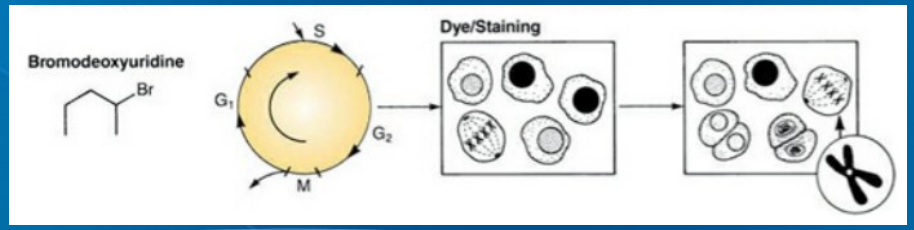
Како знамо да постоје остале фазе ћелијског циклуса?

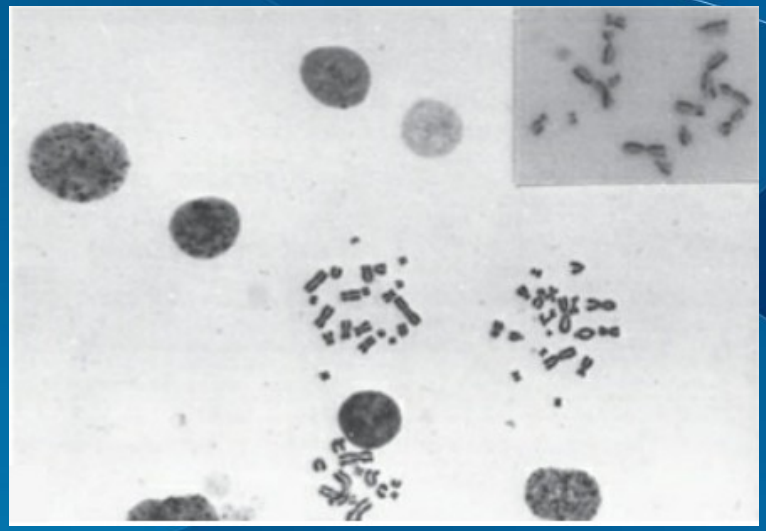
- Експерименти за тимином обележеним са тритијумом





- Експерименти са бромо-деоксиуридином. Специфично бојење са Гимзом





Времена трајања фаза у циклусу зависе од типа ћелије

- Ћелије кинеског хрчка vs HeLa ћелије

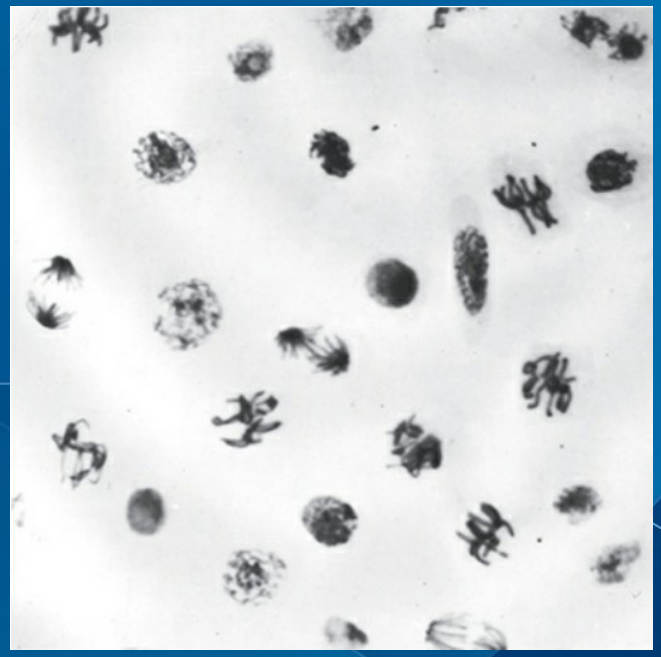
Фаза	КХЦ	HeLa
S	6	8
G1	1	11
M	1	1
G2	3	4
Укупно циклус	11	24

Регулација ћелијског циклуса

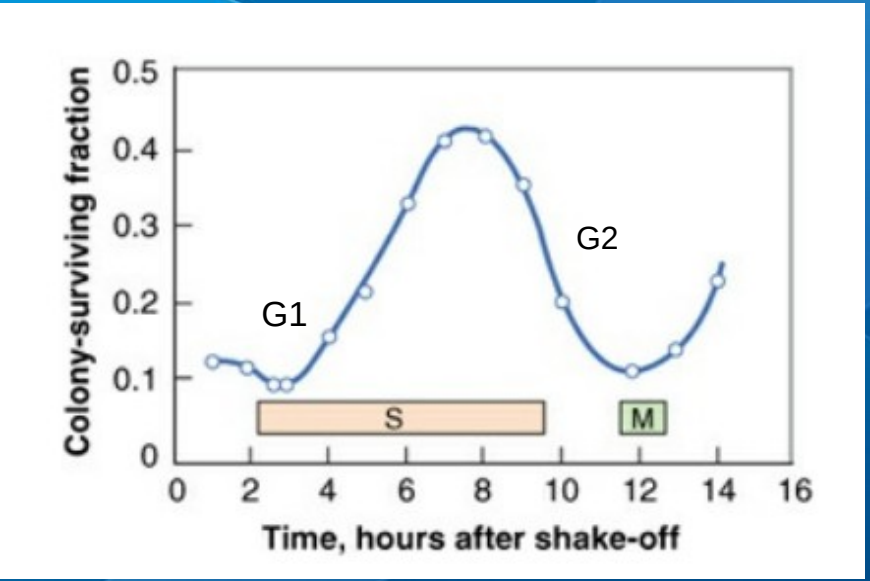
- Циклус регулисан преко више циклин зависних киназа које каталишу фофорилацију протеина који учествују у ћелијском циклусу.
- Иназе се активирају везивањем циклина, реверзибилно деактивирају фосорилацијом тирозинског остатка у активном месту за везивање АТР.
- Иреверзбилно се инхибирају после завршеног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

Испитивање радиорезистентности ћелија у различтим фазама ћелијског циклуса

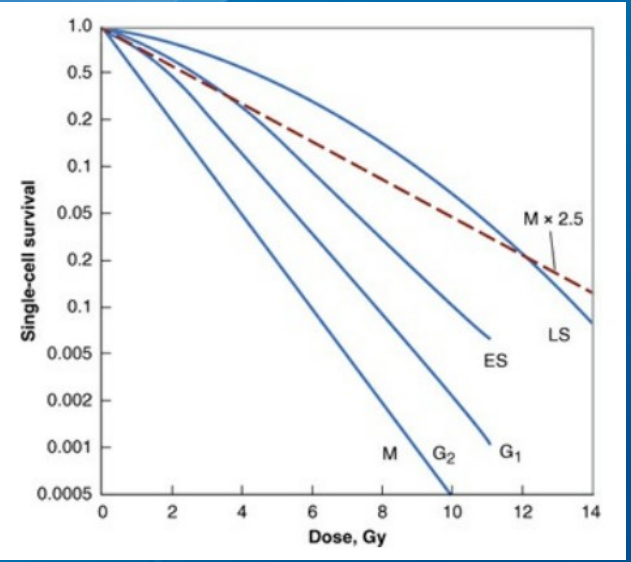
- Неопходно добијање изохроних култура ћелија
  - Прикупљање ћелија које су у митози
  - Примена дихидрокси урее на ћелијску културу
  - Резултат – све ћелије имају исту стартну позицију, па се озрачивњем ћелијских култура у одређеним временима може испитивати ефекат дејства зрачења на поједине фазе.



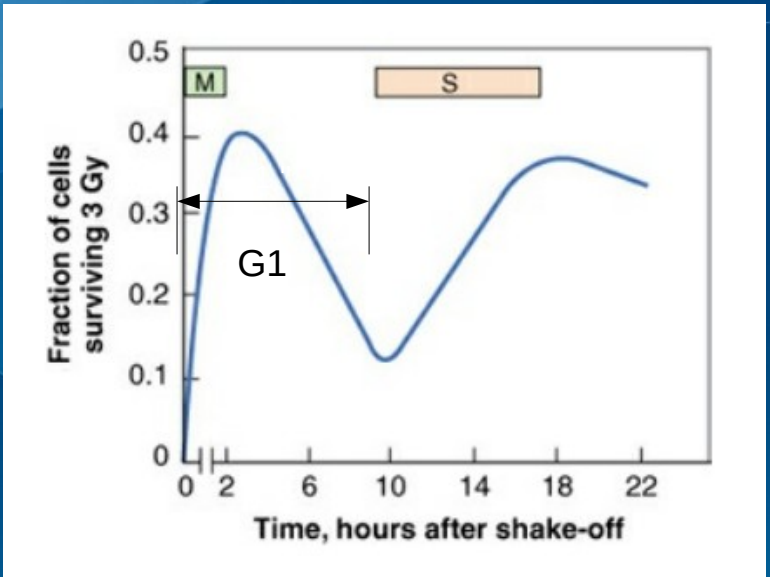
Ефекти зрачења на ћелије у синхроним културама



6,6 Gy x-зрачење ,КХЦ

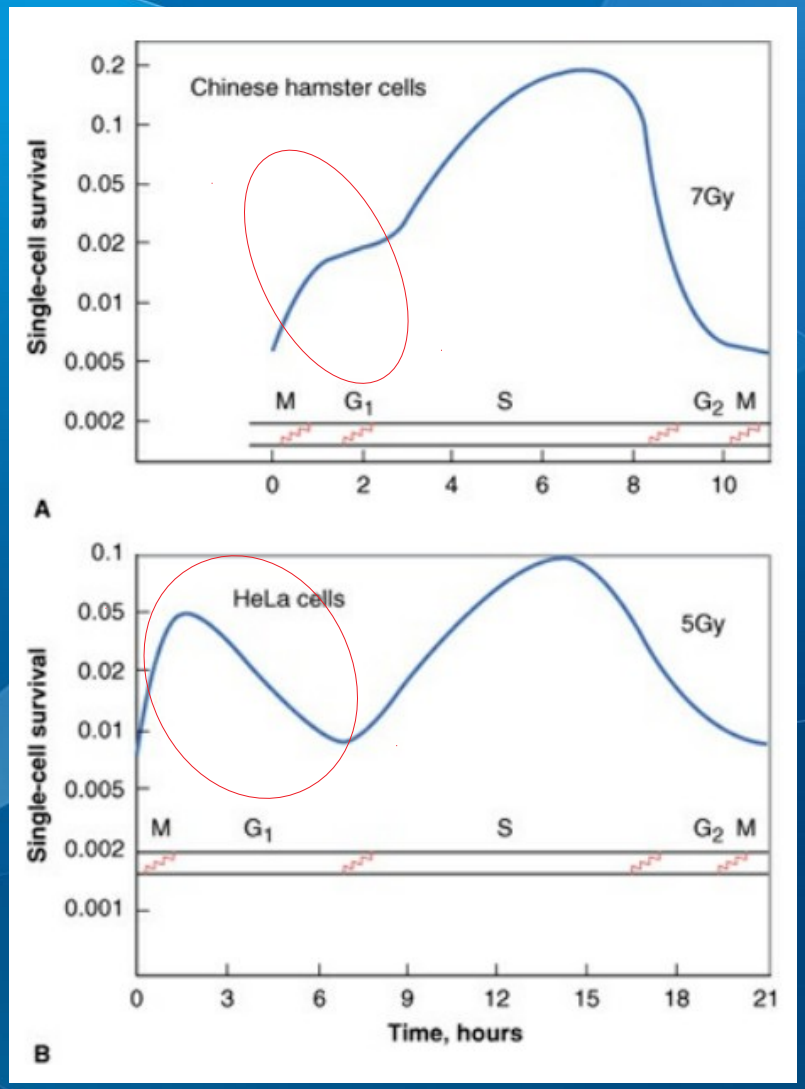


Ћелије најосетљивије у фази митозе, најмање осетљиве у касној S фази.



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

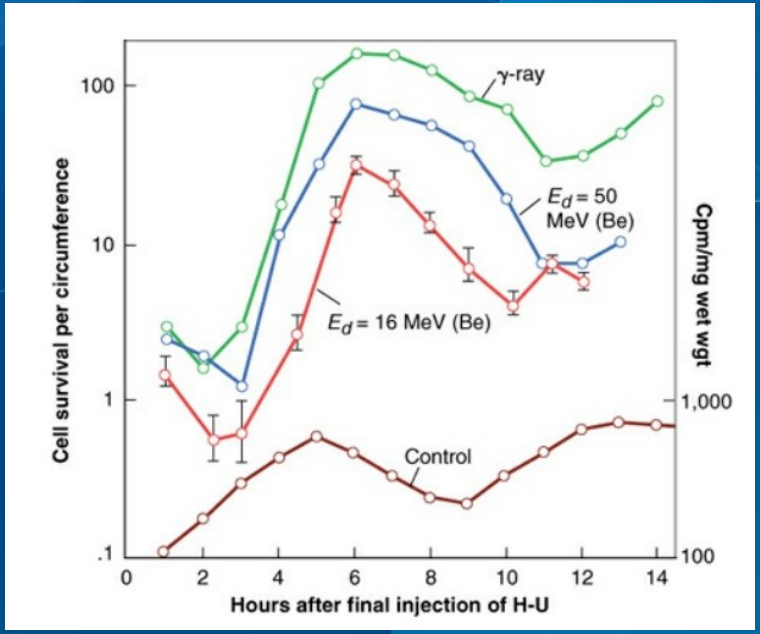
Контролне тачке/гени у ћелијском циклусу

- Озрачене ћелије заустављају се у касној G2 фази циклуса – радиоосетљивом делу.
- Контролна тачка, регулисана p34 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 различитм фазама циклуса

- Испитиване ћелије које облажу крипте у танком цреву КХ (нарочито осетљиве на зрачење)
- Примењује се ињективање дихидрокси урее 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

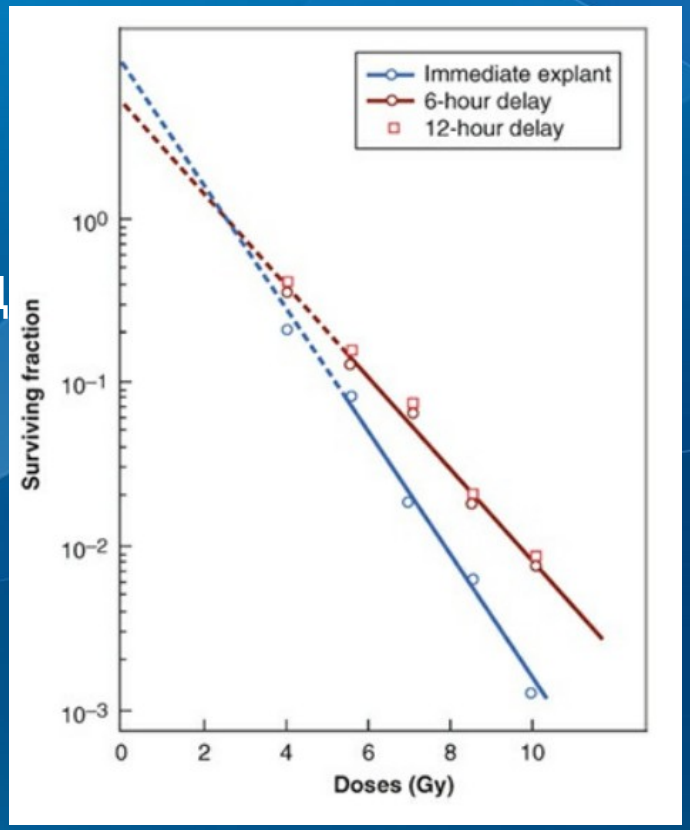
Различита радиоосетљивост у фазама у цилуса има импликацију на планирање радиотерапије!

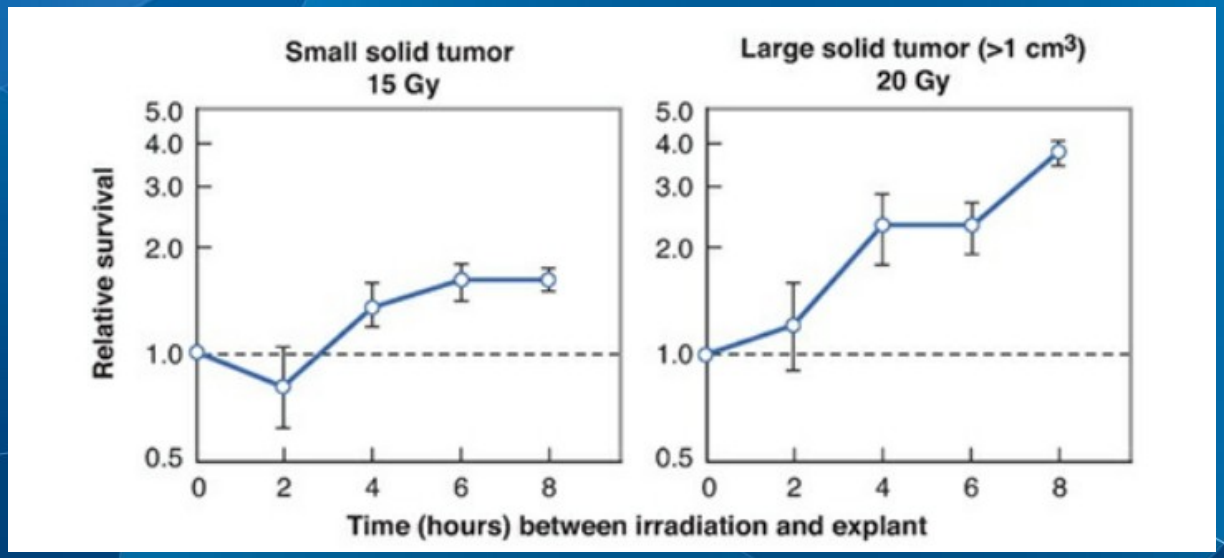
Терапијски режим и фракционисање радиотерапије

- 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



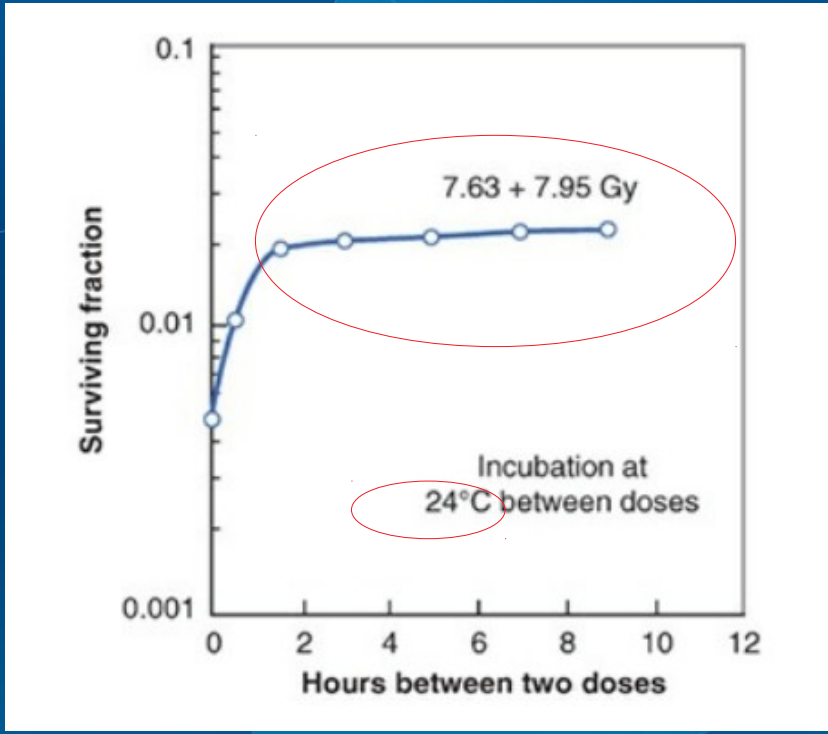


Мишји фибросарком

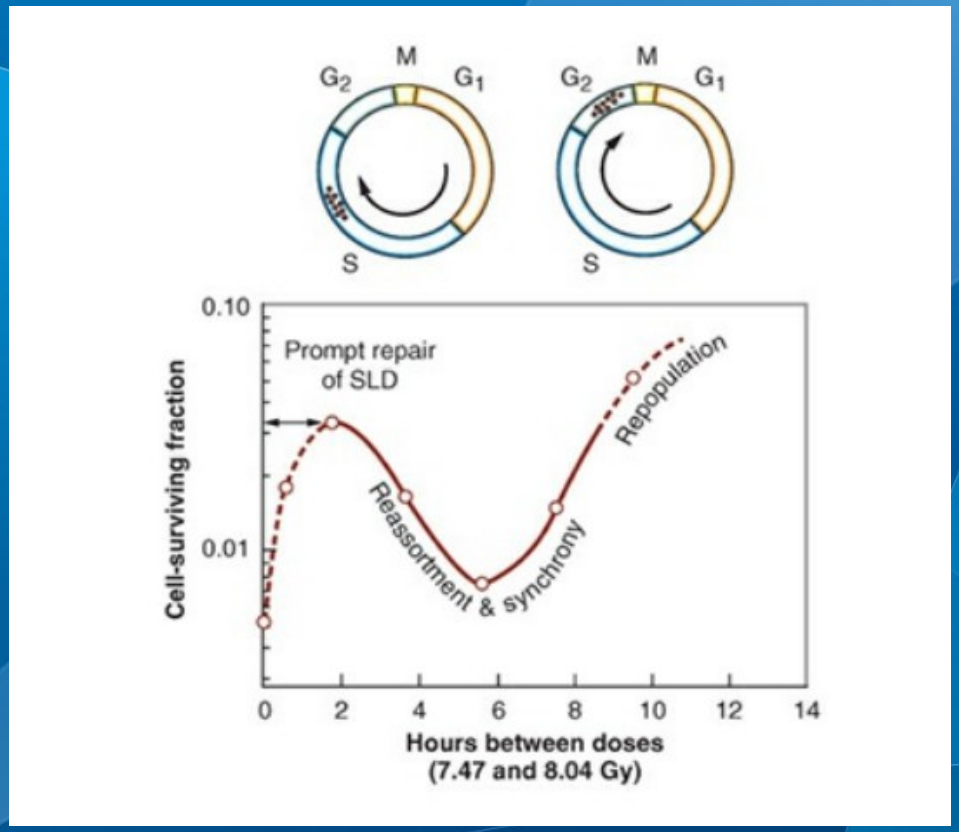
Ирелевантно за радиотерапију

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

4R

промптна оправка оштећења двоструког оштећења DNK
редистрибуција ћелија у циклусу
ћелијска репопулација

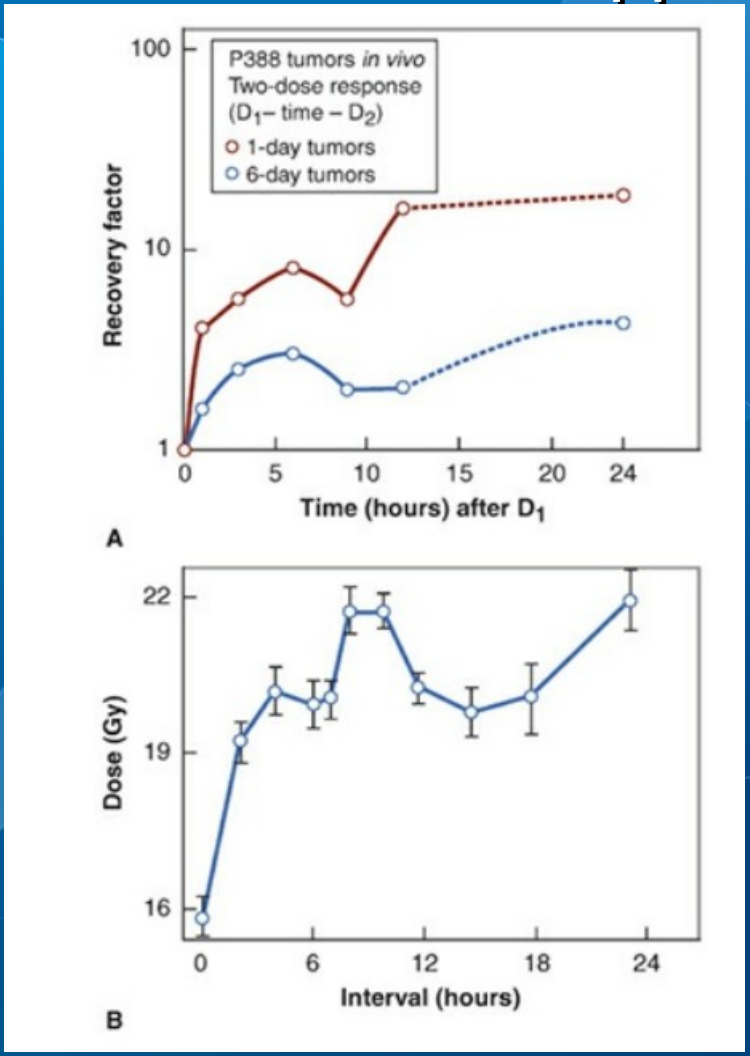
+ реоксигенација

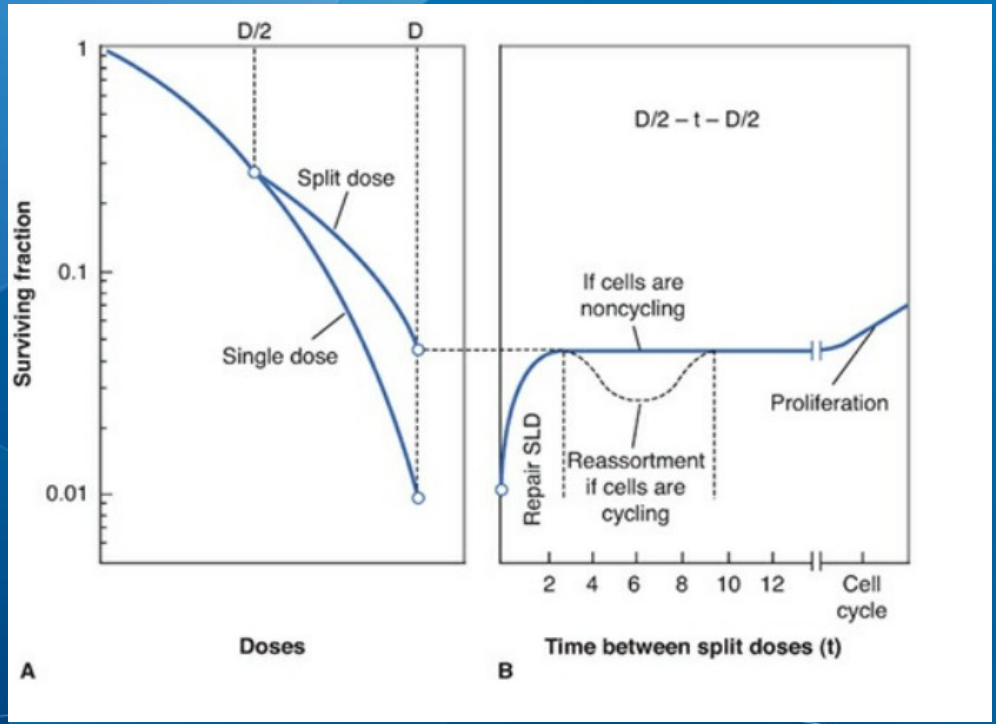
Поправка сублеталних оштећења *in vivo* и фракционисање

ЛИМФ.

ЛЕУК.

КОЖА





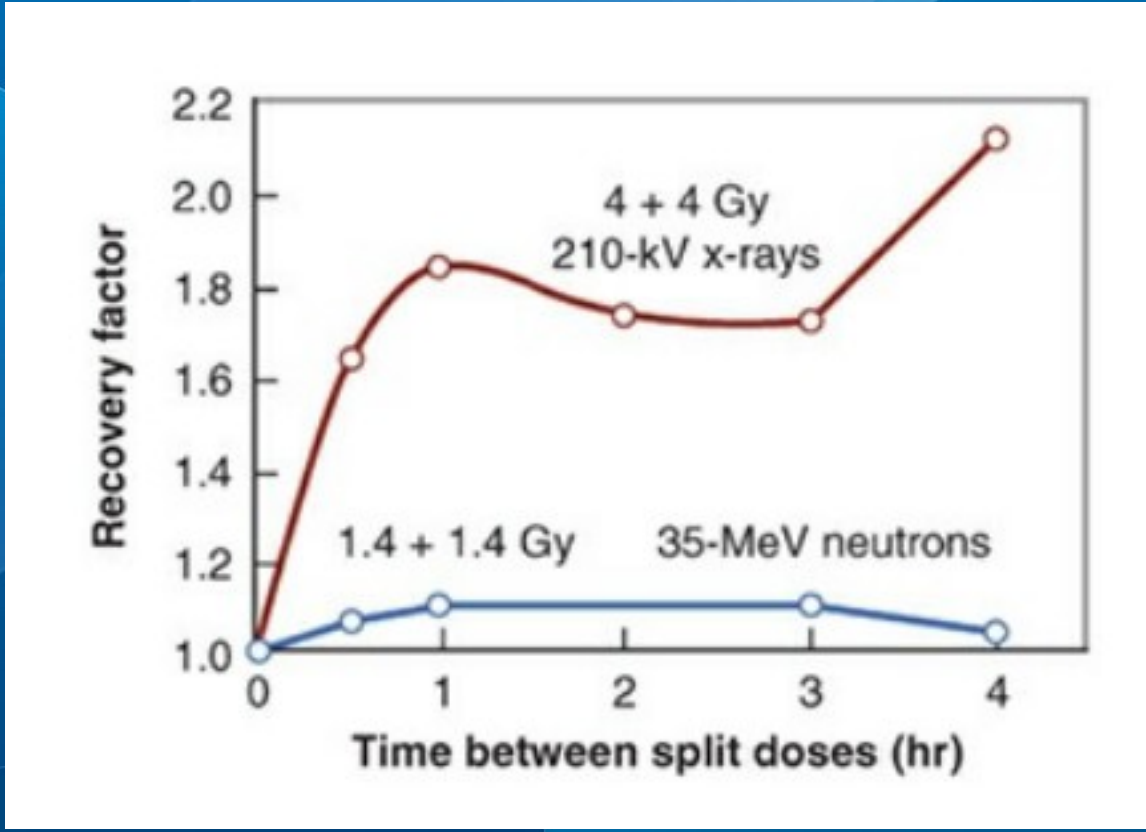
фракционисање

Широко раме на кривој – веће преживљавање.

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

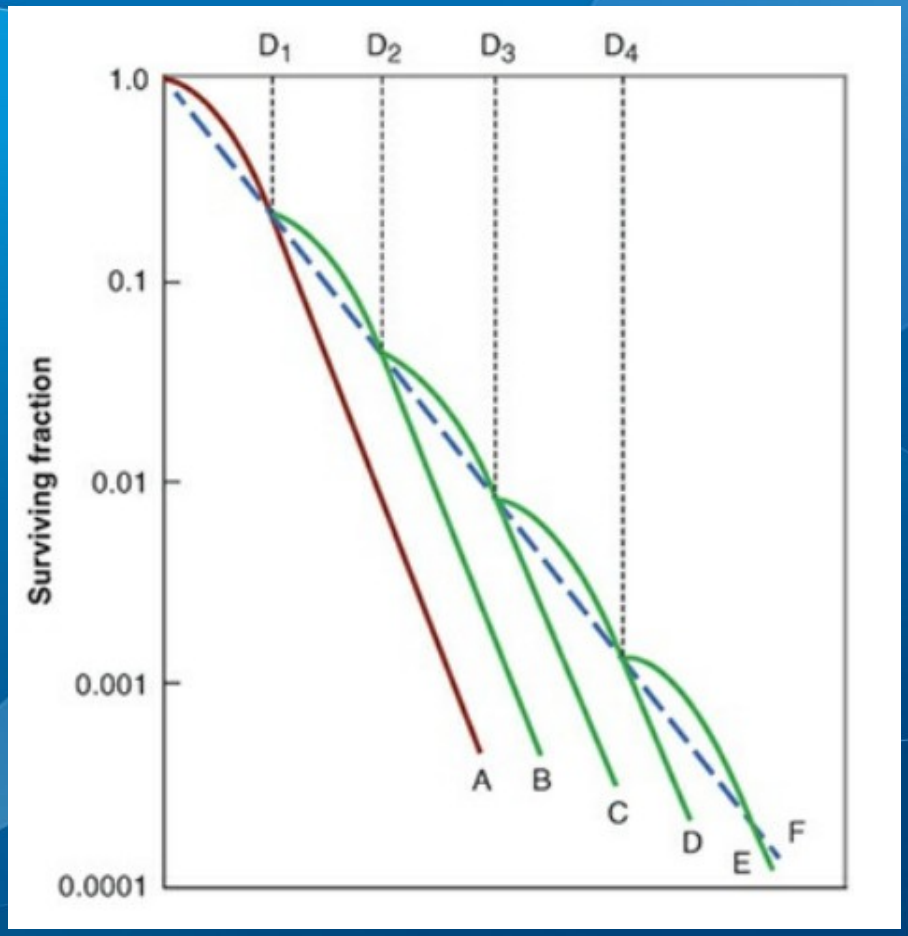
- Два начина оштећења двоструког хеликса
  - дејство једног пролаза електрона
    - Независно од тога да ли се доза примењује у једној или више фракција
  - Последица дејства две честице
    - Зависно од фракционисања, постојање међупериода обезбеђује више времена за поправку, па је мање леталних хромозомских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

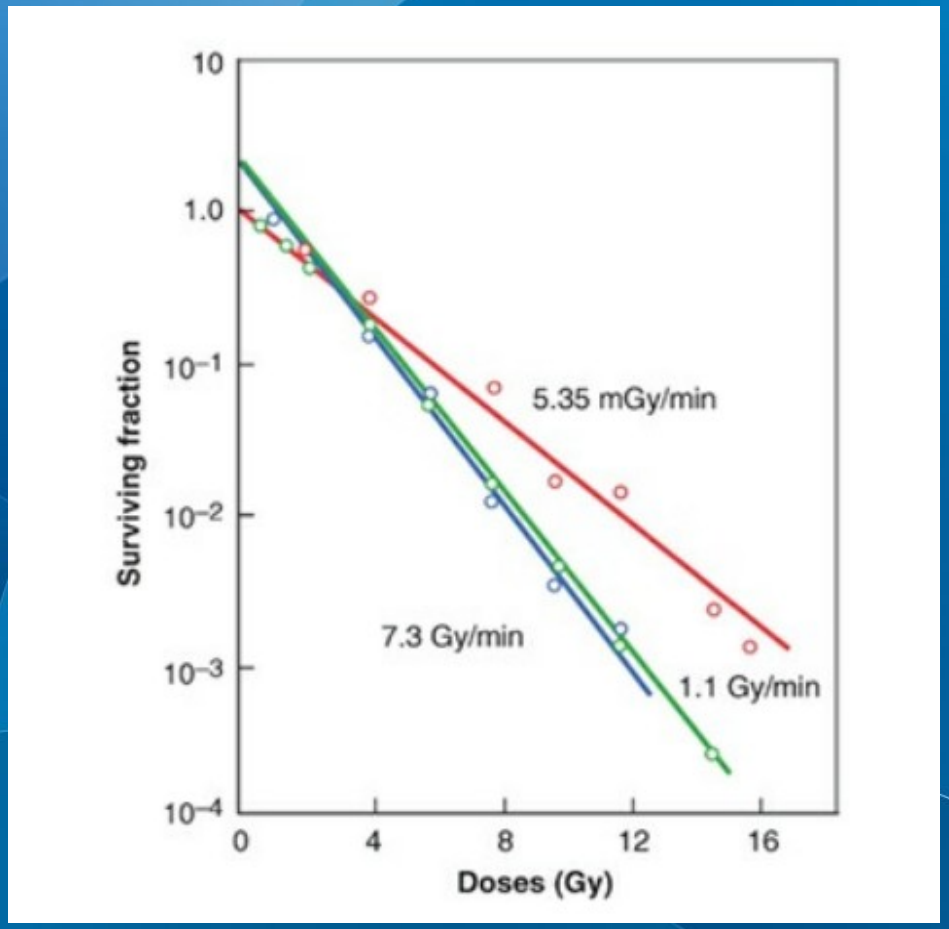
Утицај квалитета зрачења



У случају неутрона као да не постоје оправка сублеталног оштећења

Утицај брзине дозе





HeLa ћелије