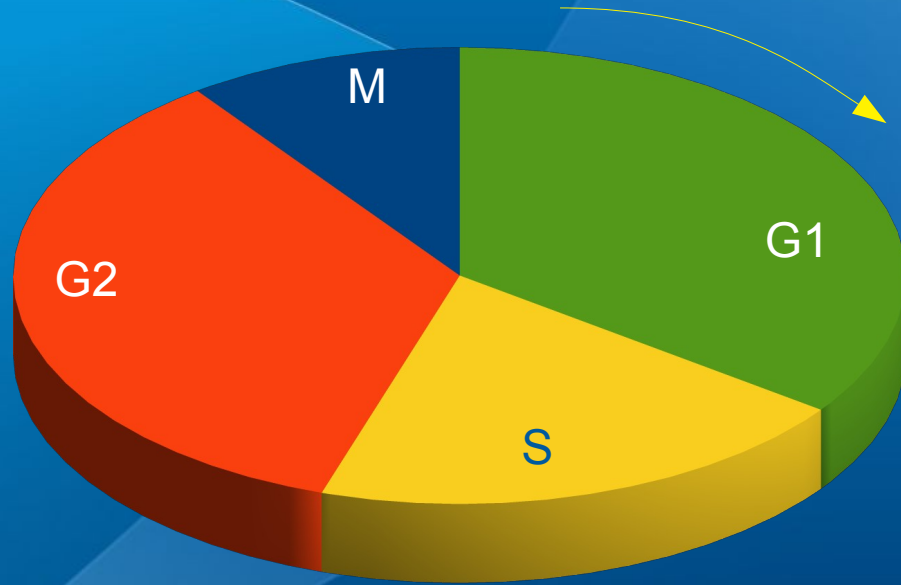


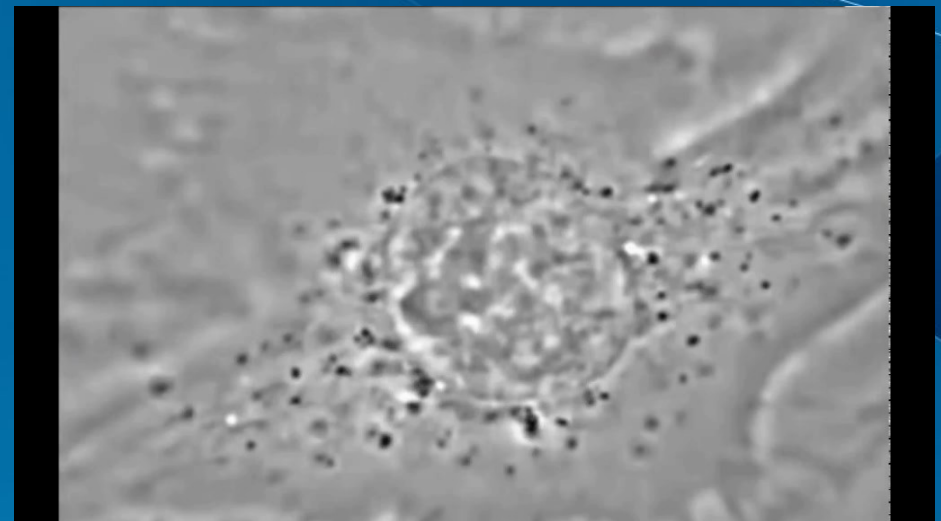
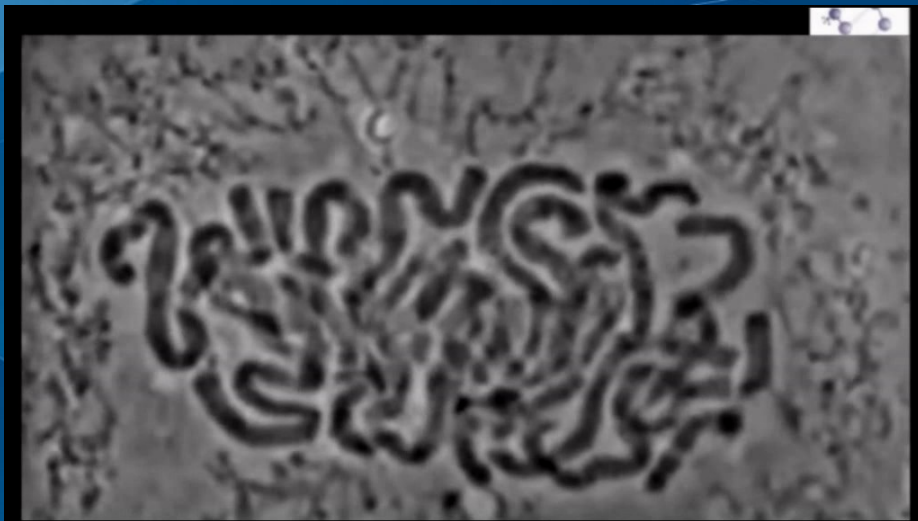
Радиосензитивност ћелија у фазама ћелијског циклуса

Подсећање ћелијски циклус



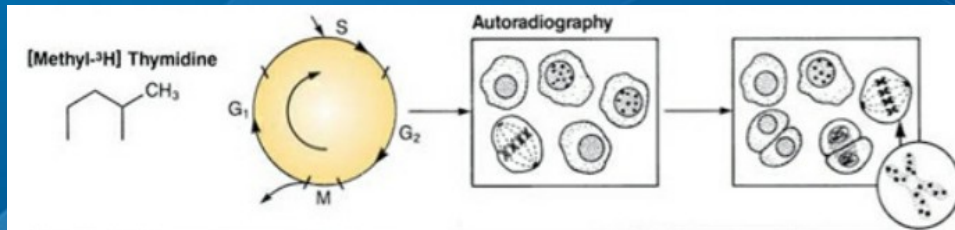
- M – митоза ~1 час
- G1 фаза – Припрема за S фазу
- S фаза – Синтеза DNK
- G2 фаза – Припрема за митозу

Само је M фазу могуће уочити помоћу специфичног бојења и микроскопа

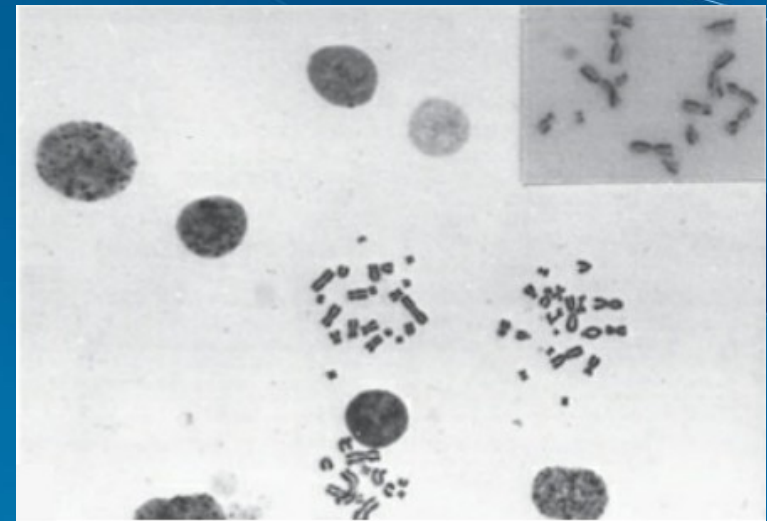
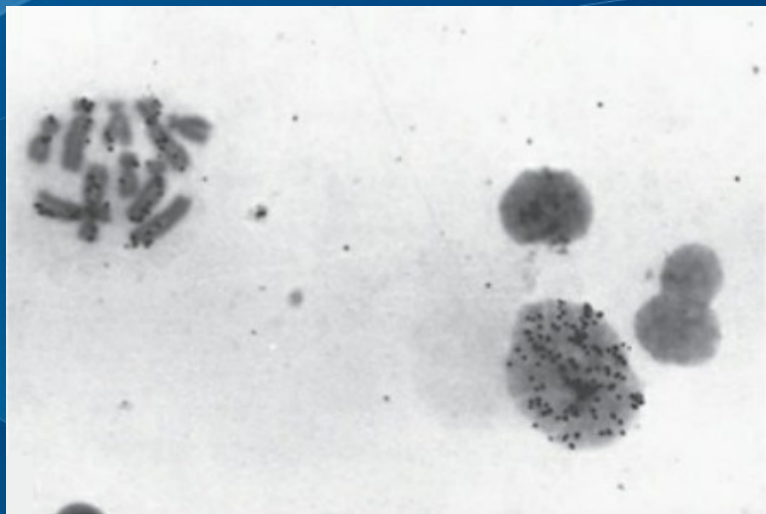
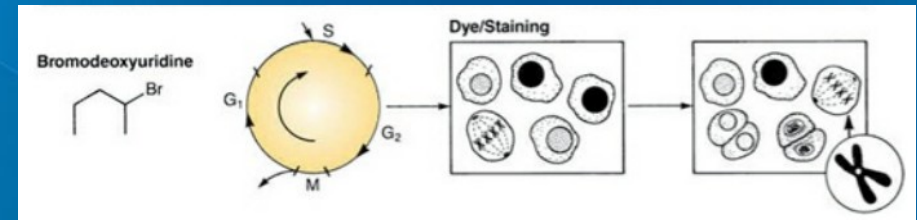


Како знамо да постоје остале фазе ћелијског циклуса?

- 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

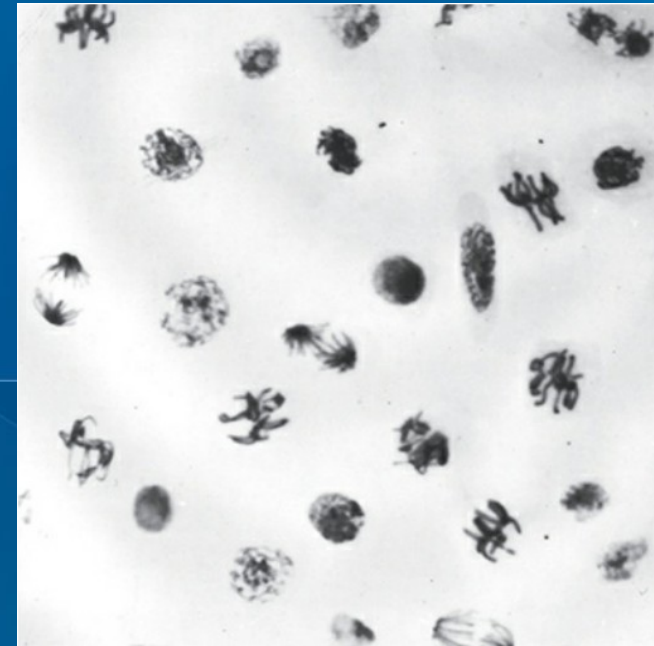
Регулација ћелијског циклуса

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

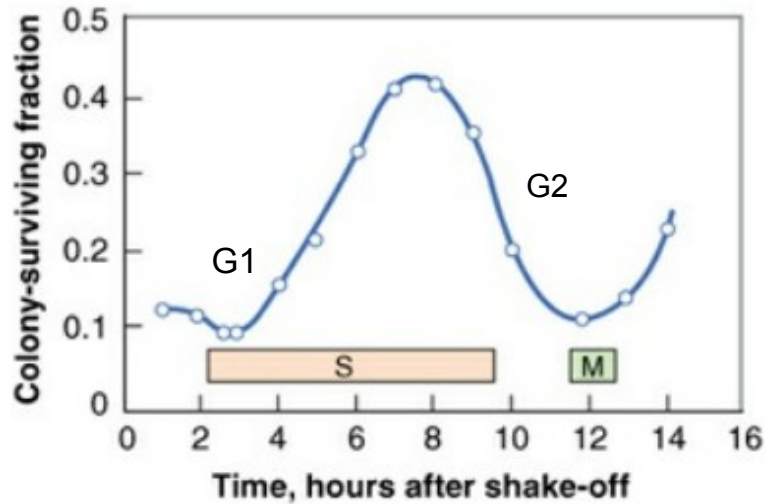
•

Испитивање радиорезистентности ћелија у различитим фазама ћелијског циклуса

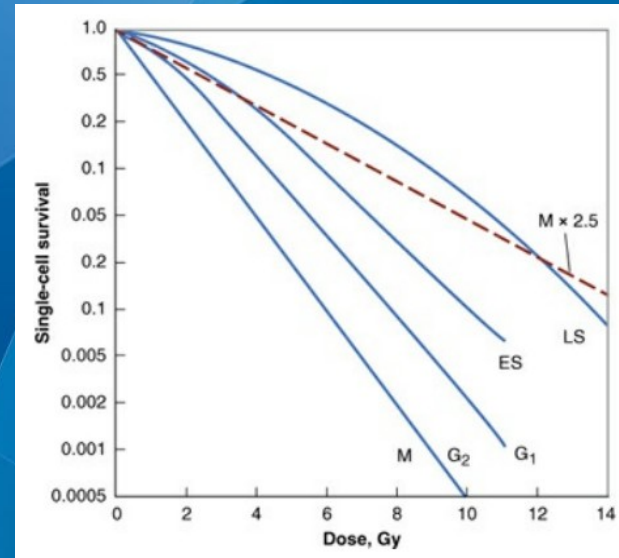
- Неопходно добијање изохроних култура ћелија
 - Прикупљање ћелија које су у МИТОЗИ
 - Примена дихидроксид урее на ћелијску културу
 - Резултат – све ћелије имају исту стартну позицију, па се озрачивњем ћелијских култура у одређеним временима може испитивати ефекат дејства зрачења на поједине фазе.



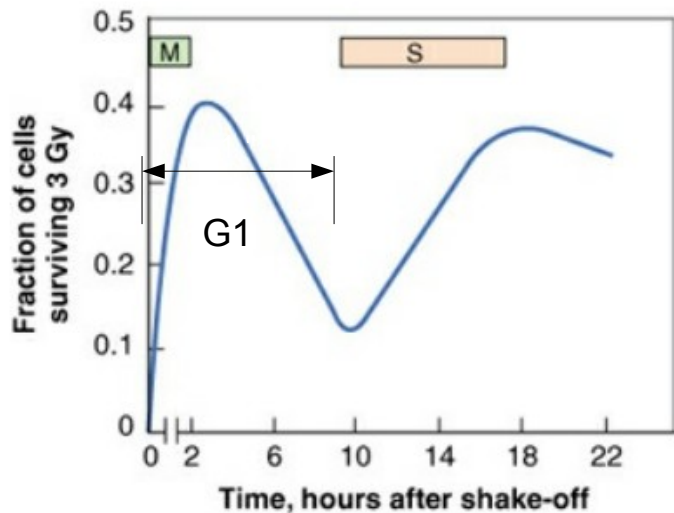
Ефекти зрачења на ћелије у синхроним културама



6,6 Gy x-зрачење ,KXЦ

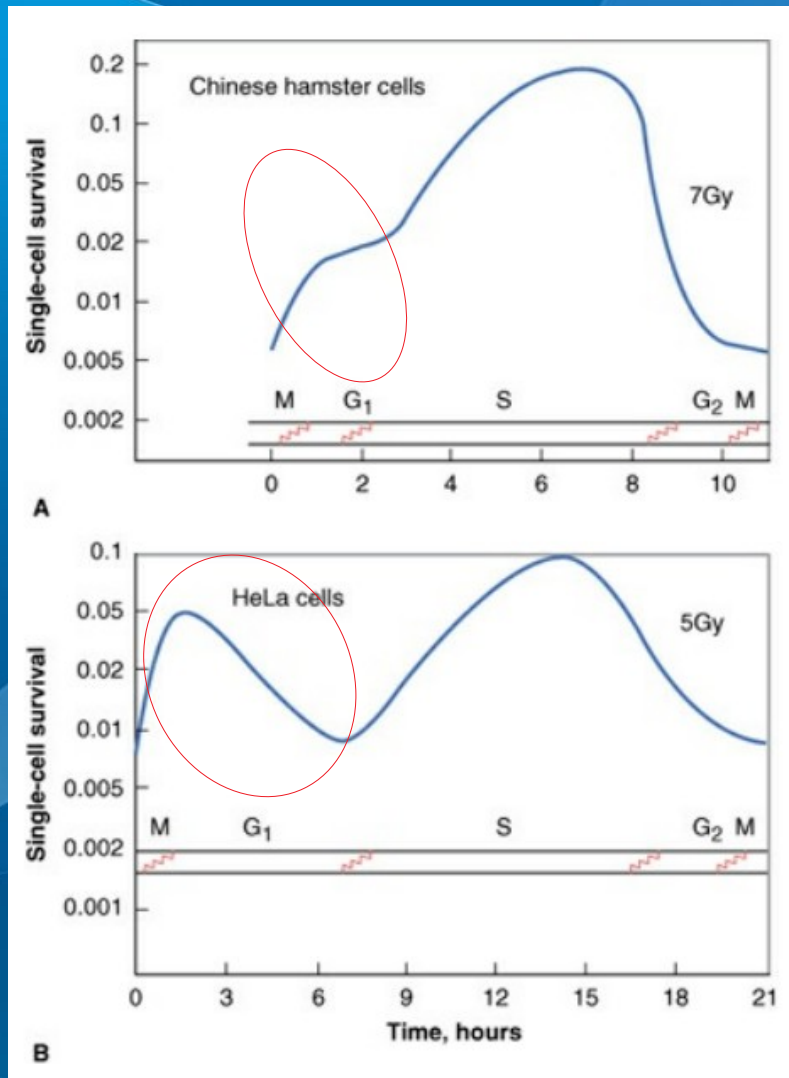


Ћелије најосетљивије у фази митозе, најмање осетљиве у касној S фази.



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

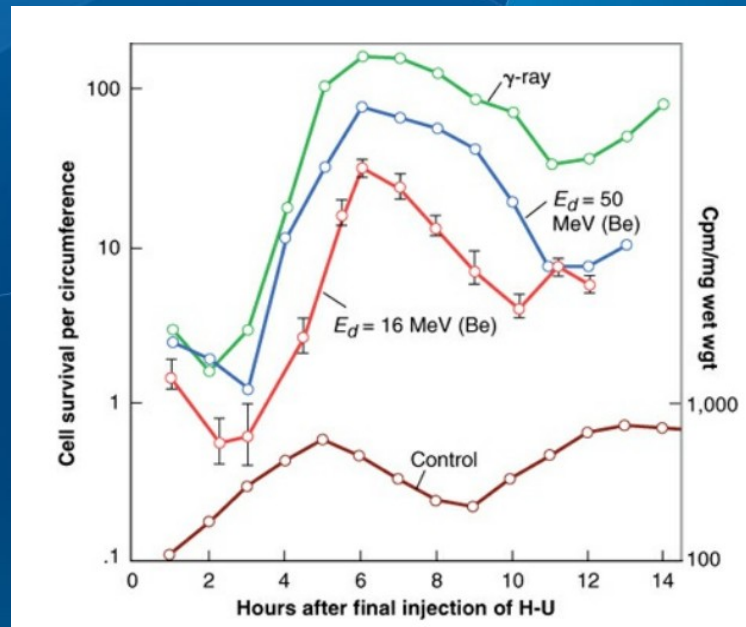
Контролне тачке/гени у ћелијском циклусу

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

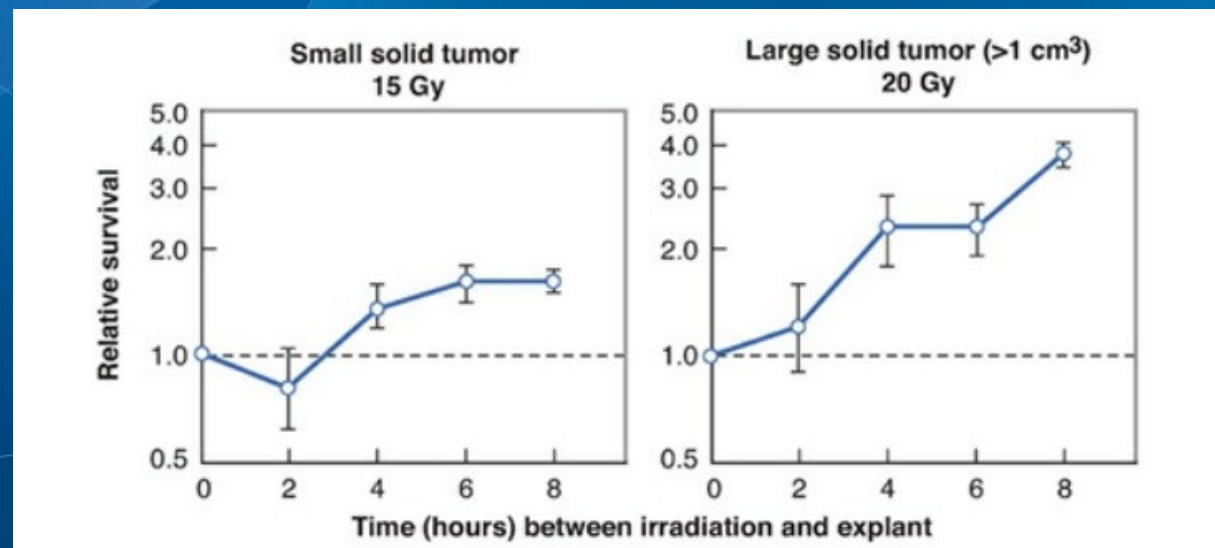
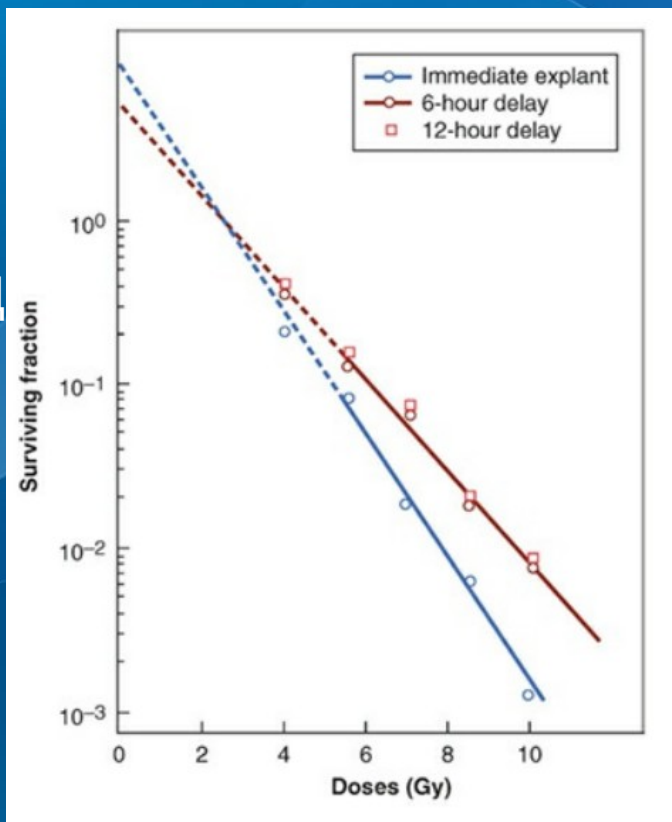
Различита радиоосетљивост у
фазама у циклуса има
импликацију на планирање
радиотерапије!

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

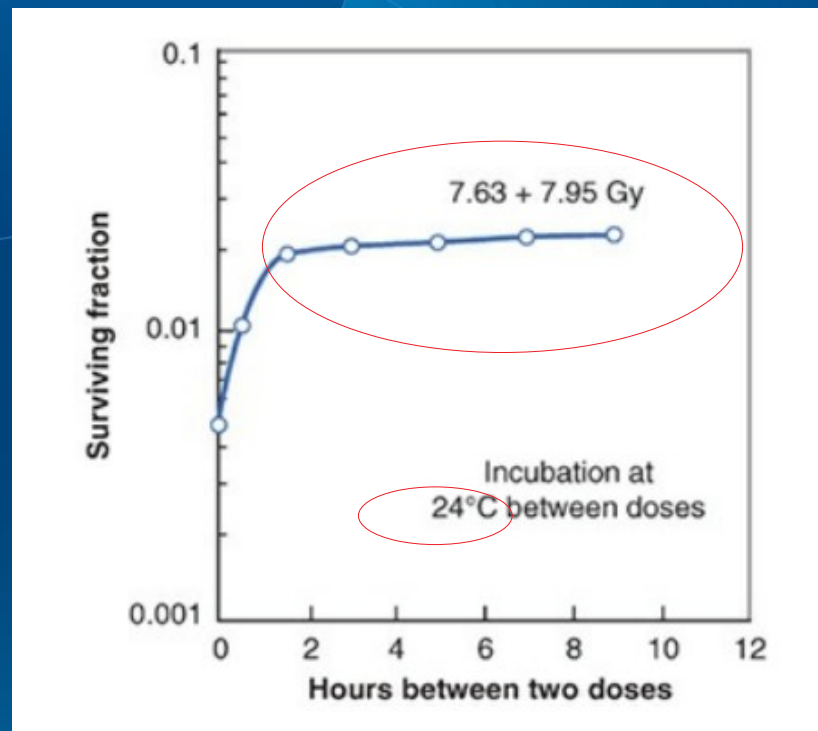


Мишји фибросарком

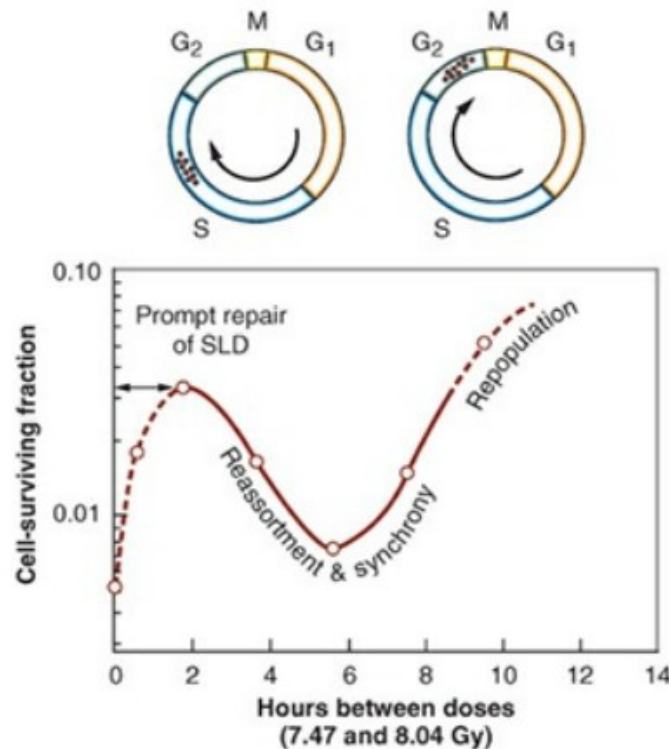
Ирелевантно за радиотерапију

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

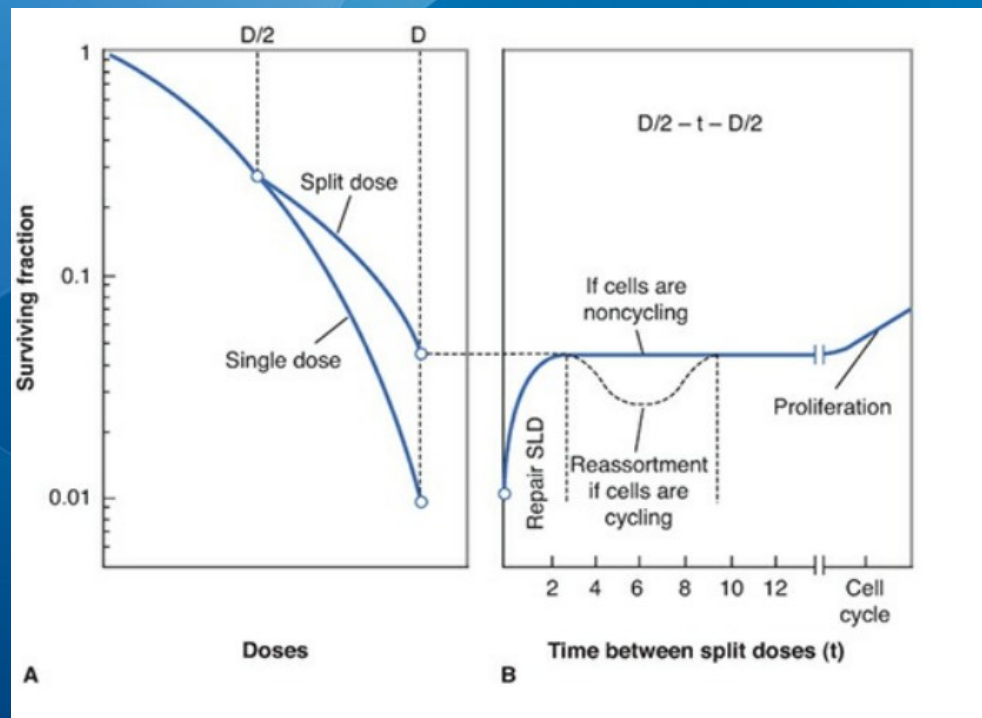
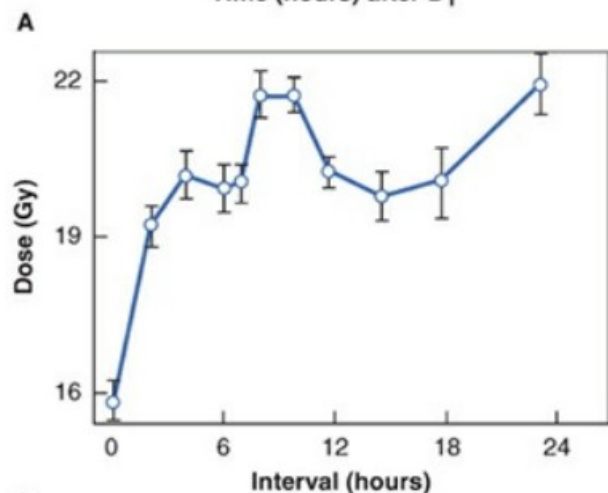
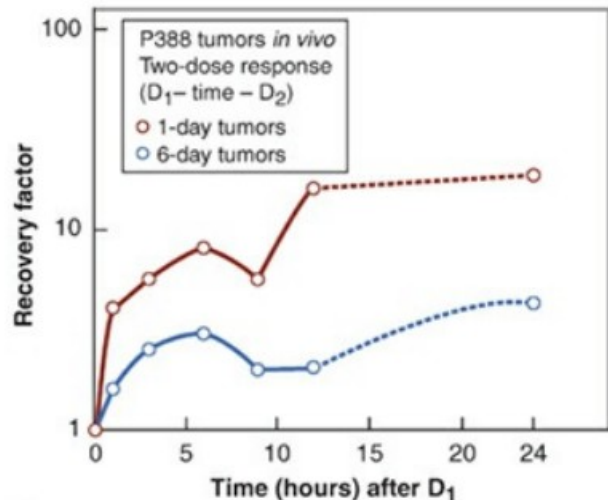
За овакав облик зависности заслужна су три процеса
 промптна оправка оштећења двоструког оштећења DNK
 редистрибуција ћелија у циклусу
 ћелијска репопулација

4R

+ реоксигенација

Поправка сублеталних оштећења *in vivo* и фракционисање

ЛИМФ.
ЛЕУК.



фракционисање

Широко раме на кривој – веће преживљавање.

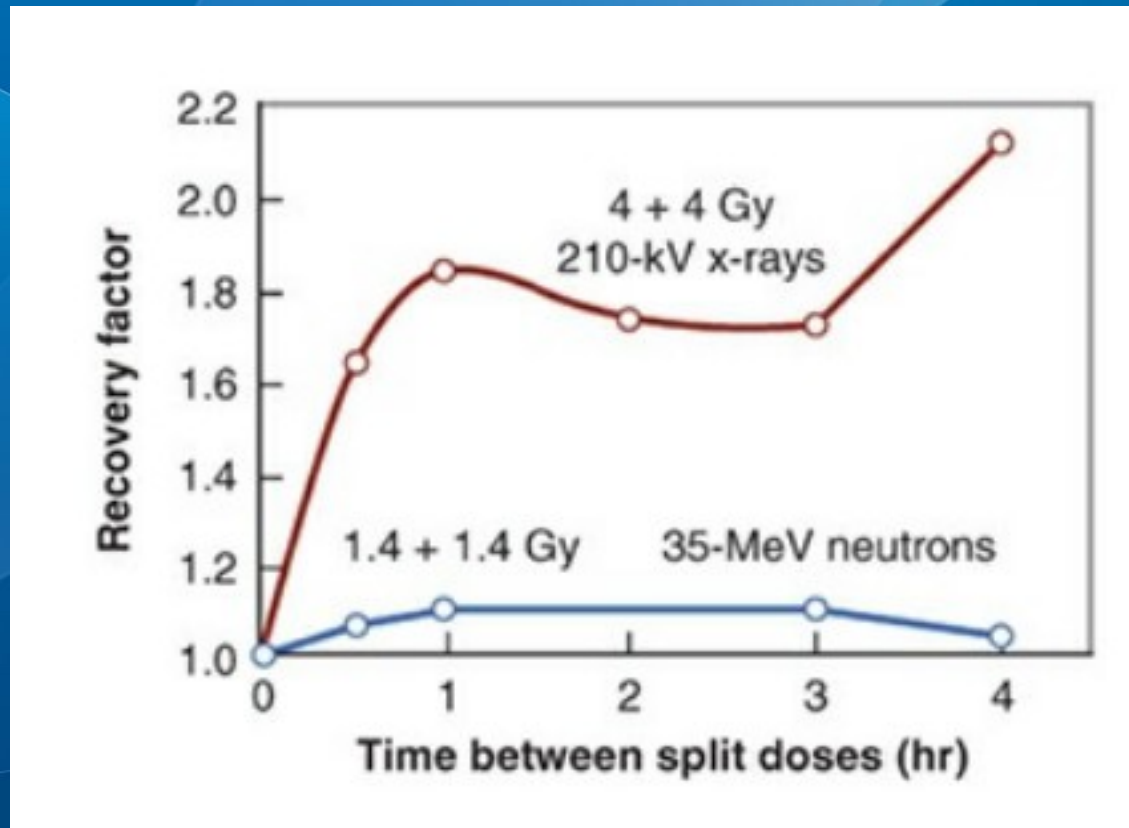
Са апликацијом сваке фракције понавља се раме на кривој. Ефективно у мултифракцијском режиму крива тежи линеарној зависности.

КОЖА

- 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.

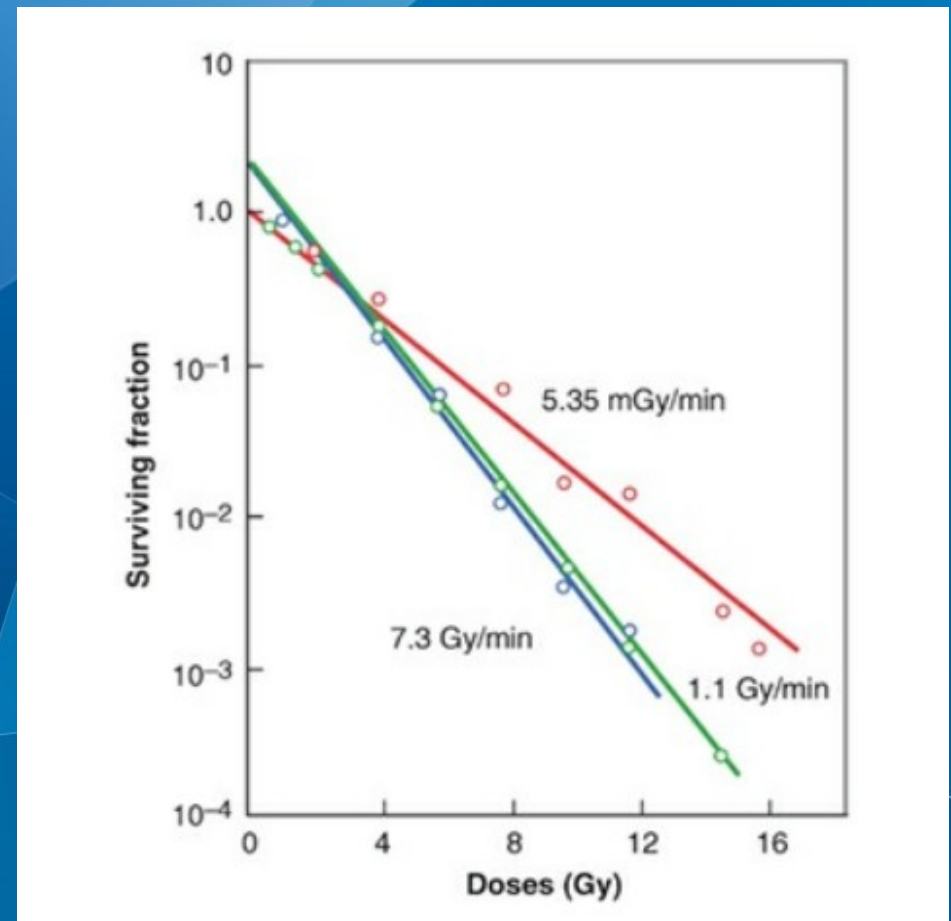
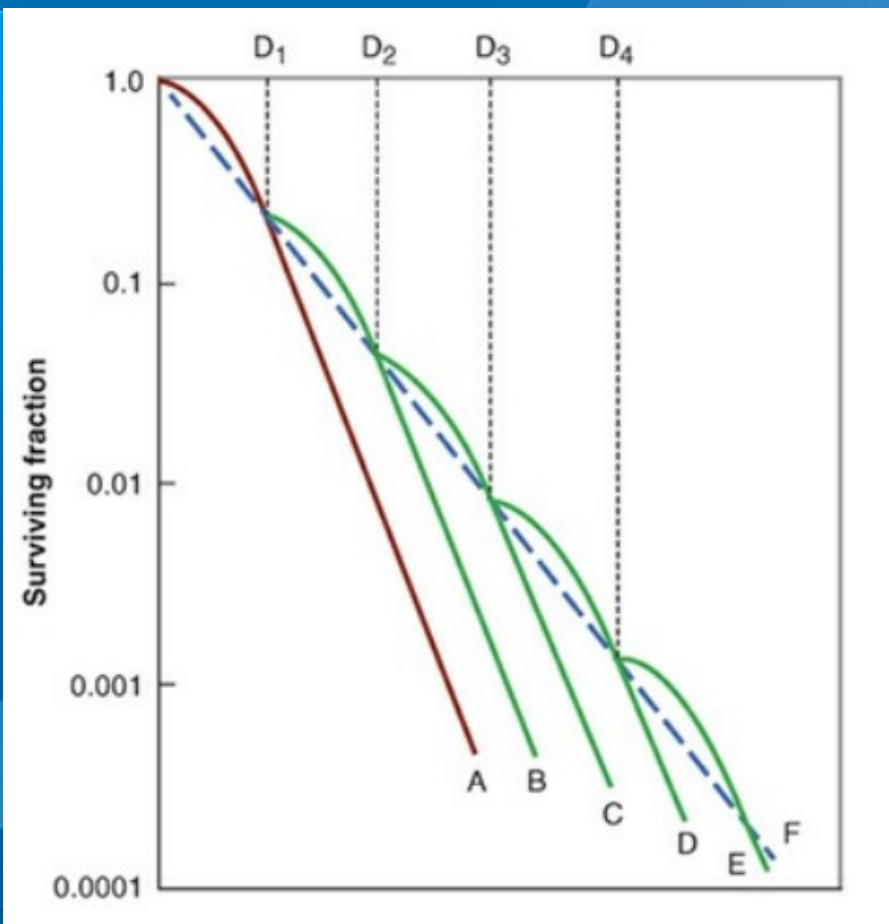
-

Утицај квалитета зрачења



У случају неутрона као да не постоје оправка сублеталног оштећења

Утицај брзине дозе



HeLa ћелије