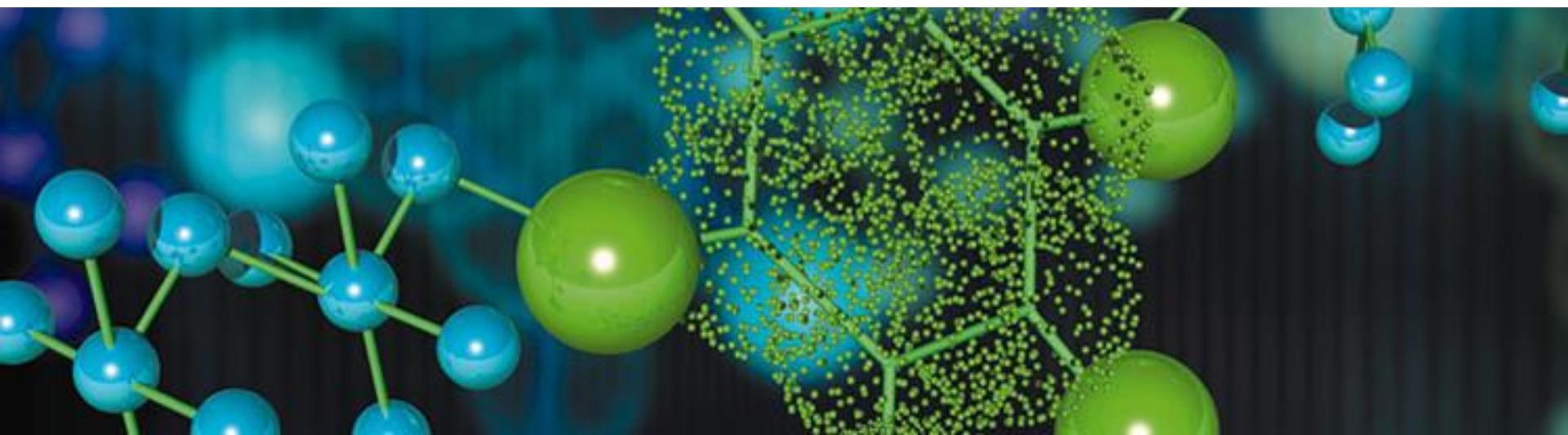




# BIOLOŠKI UČINCI IONIZIRAJUĆEG ZRAČENJA

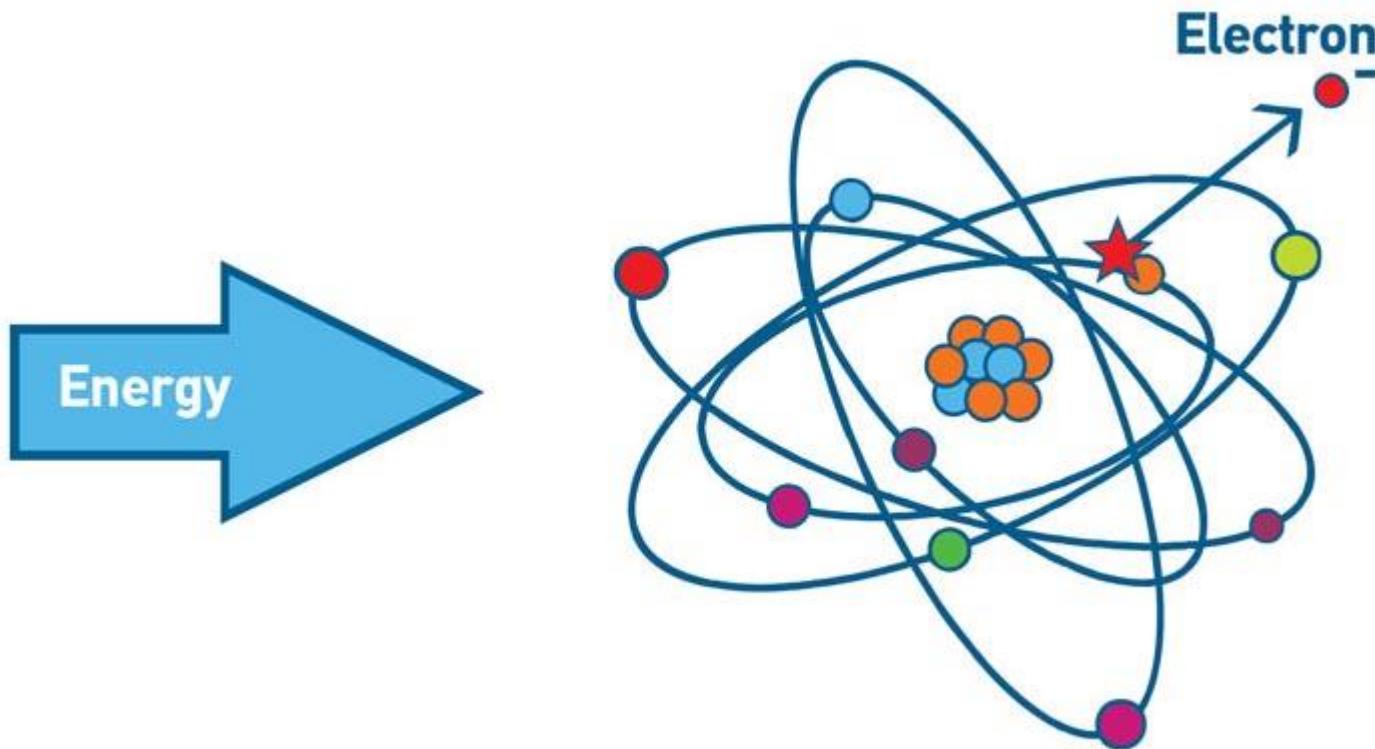
Some evidence indicates ionizing radiation is essential for life (Luckey, 2004)

Alena Buretić-Tomljanović



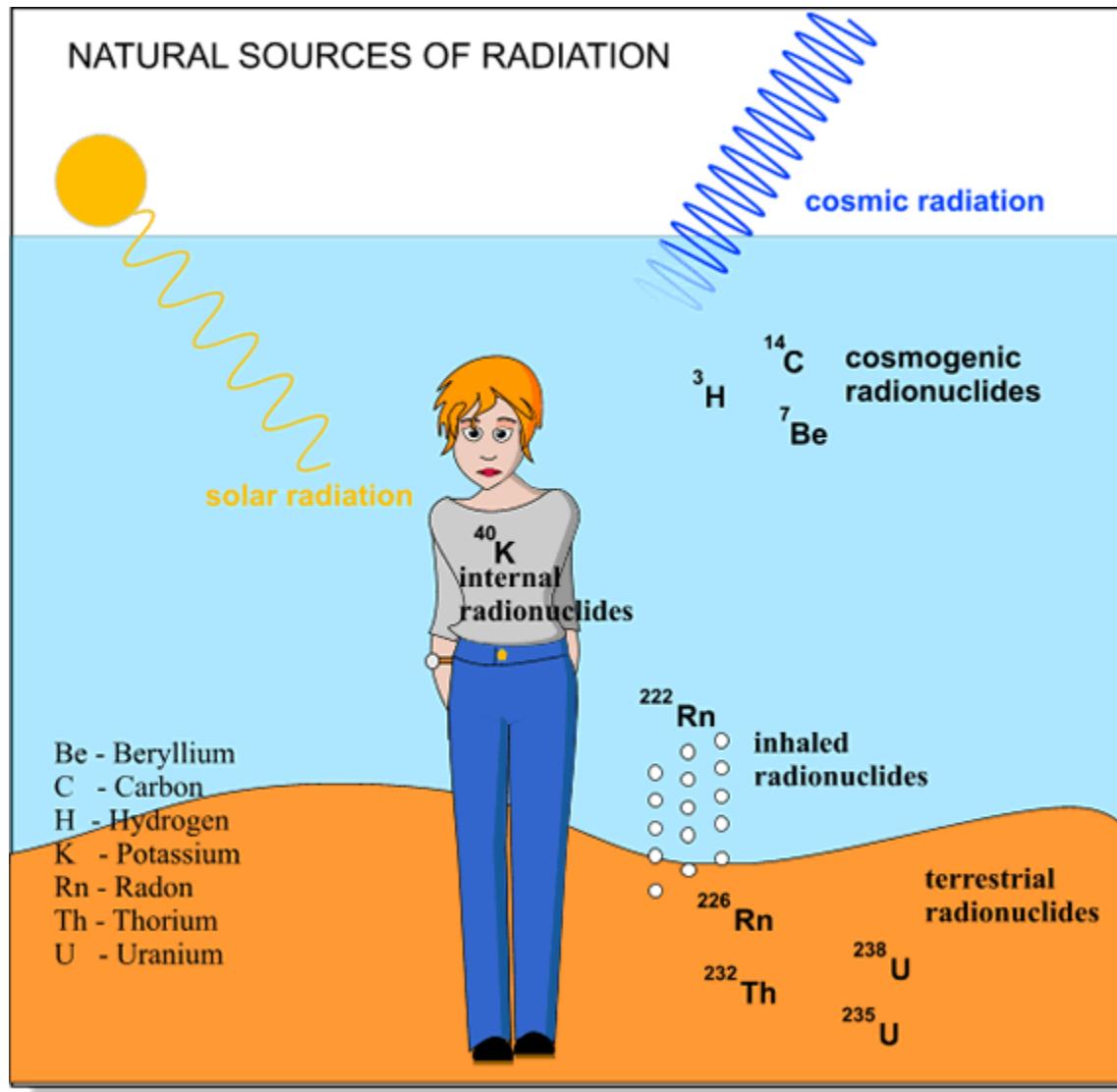
# IONIZIRAJUĆE ZRAČENJE PRENOSI ENERGIJU KOJA MOŽE OŠTETITI KEMIJSKE VEZE U MOLEKULAMA

(ionizacija atoma i nastanak slobodnih radikala)

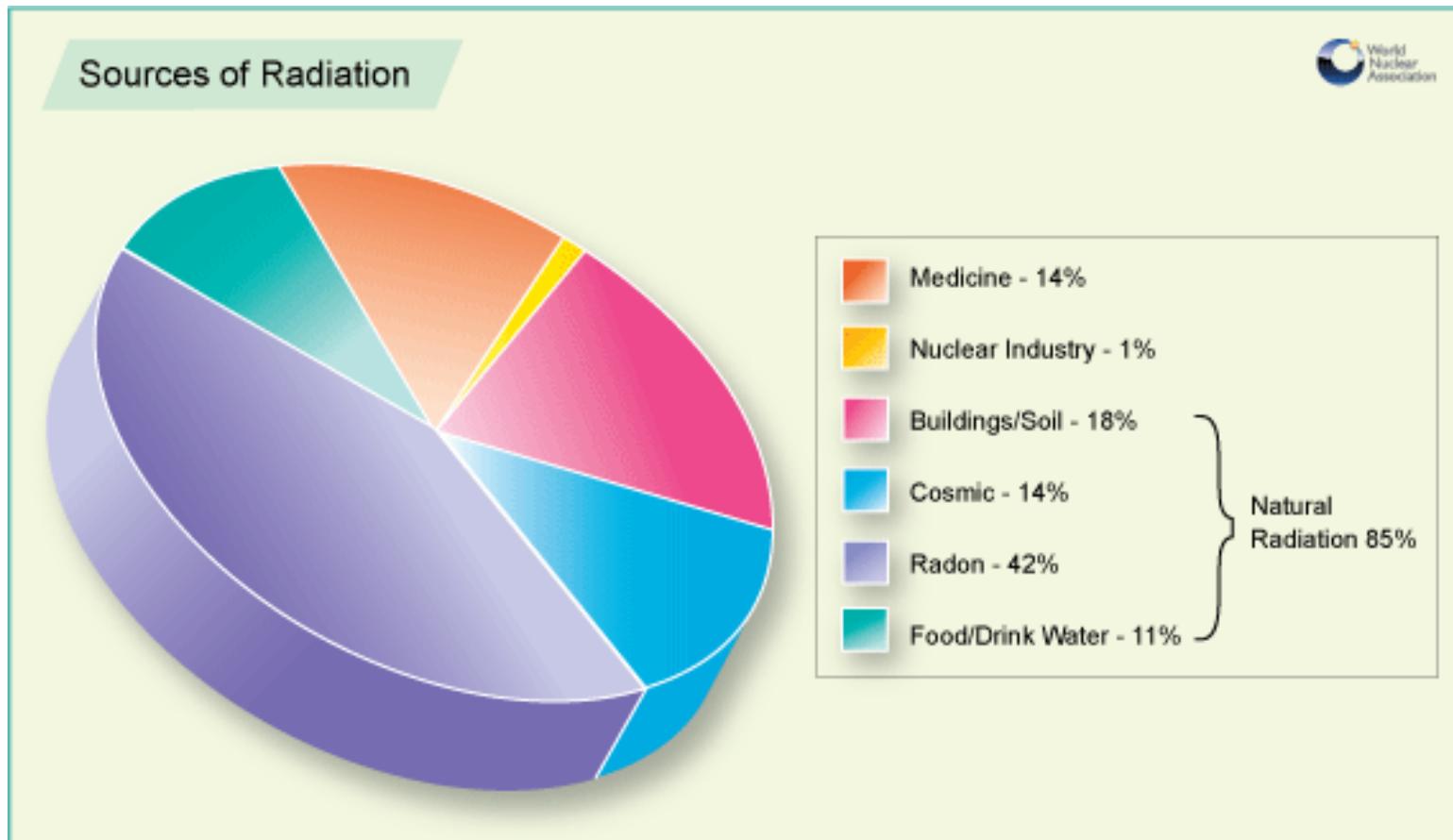


- radikali su kemijski vrlo reaktivni, nestabilni atomi, ioni ili molekule koji posjeduju nespareni elektron

# PRIRODNI IZVORI IONIZIRAJUĆEG ZRAČENJA

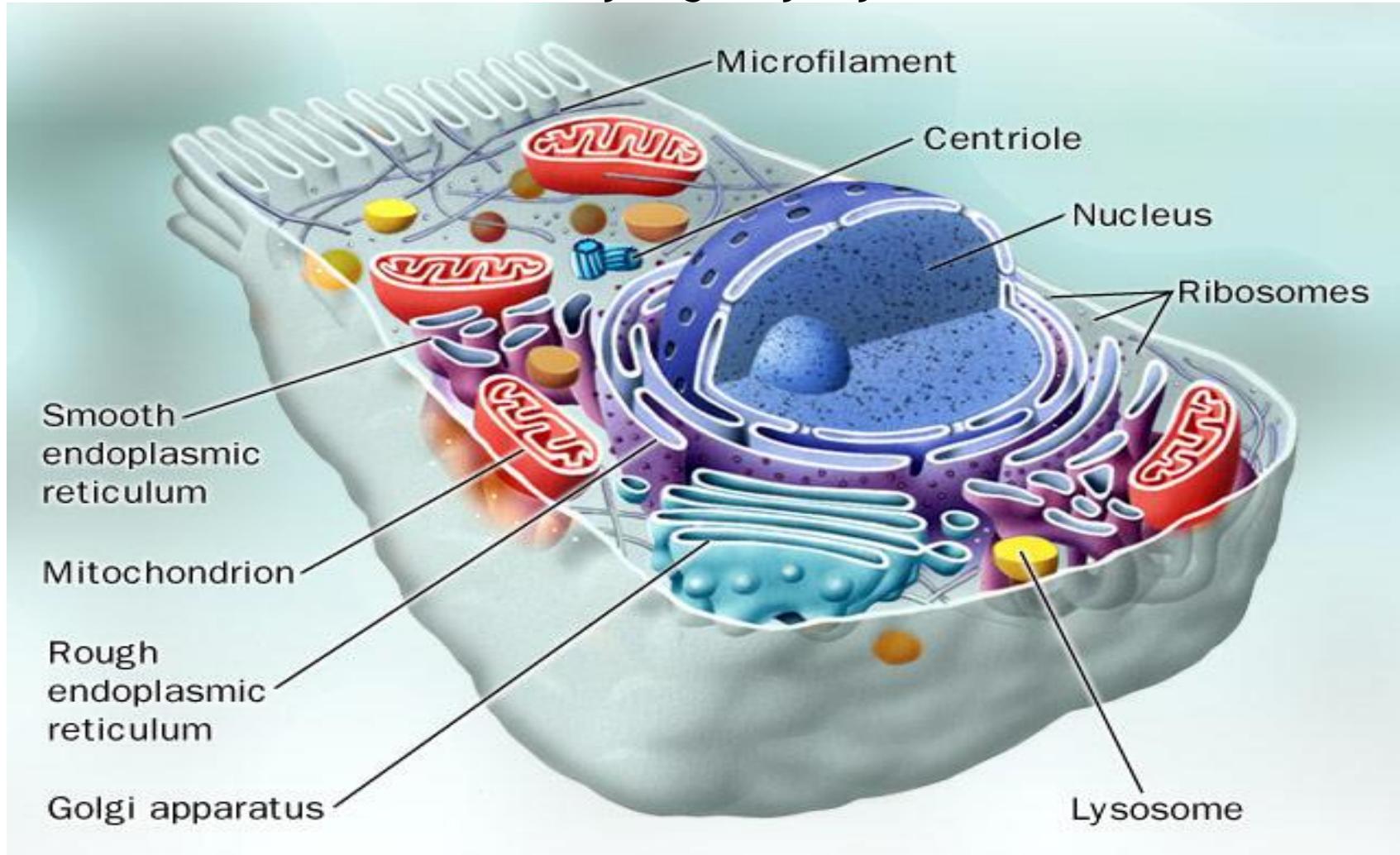


- zračenje stimulira mnogobrojne biološke procese i može potaknuti otpornost prema djelovanju viših doza

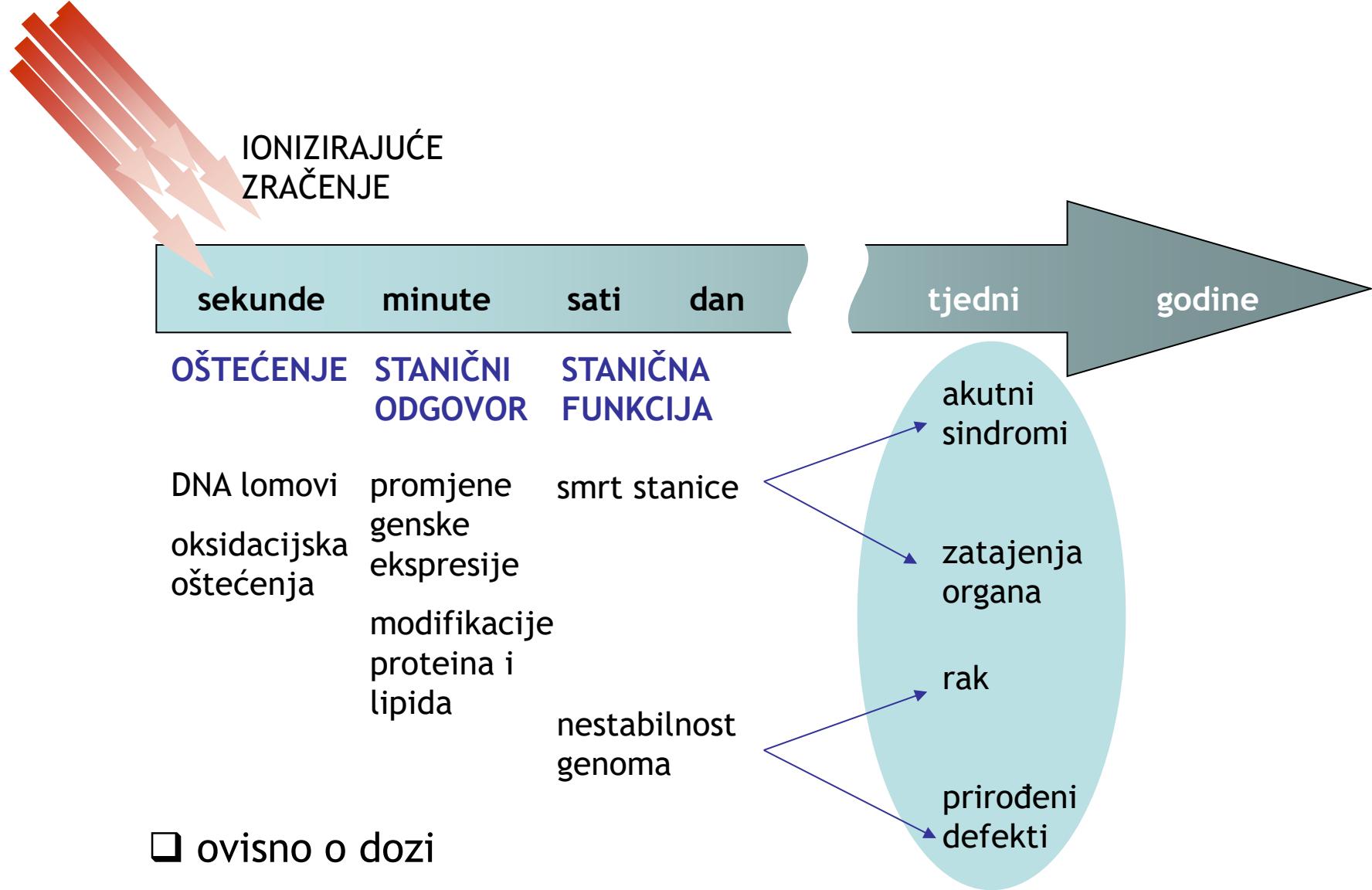


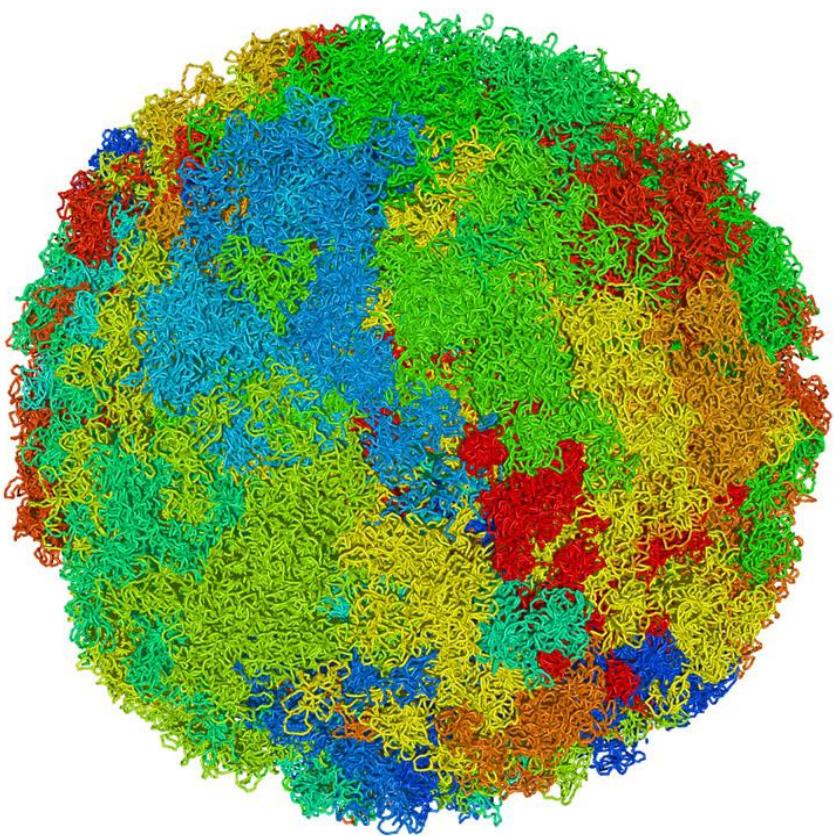
# IONIZACIJA ATOMA UTJEČE NA MOLEKULE, STANICE, TKIVA I ORGANE

- ❖ učinak na makromolekule koje izgradjuju tijelo



# BIOLOŠKI UČINCI IONIZIRAJUĆEG ZRAČENJA





## INTERFAZNI KROMATIN

(dekondenziran, aktivan)

(obavljen jezgrinom ovojnicom,  
transkripcijski popravak)

manje osjetljiv na  
ionizirajuće zračenje

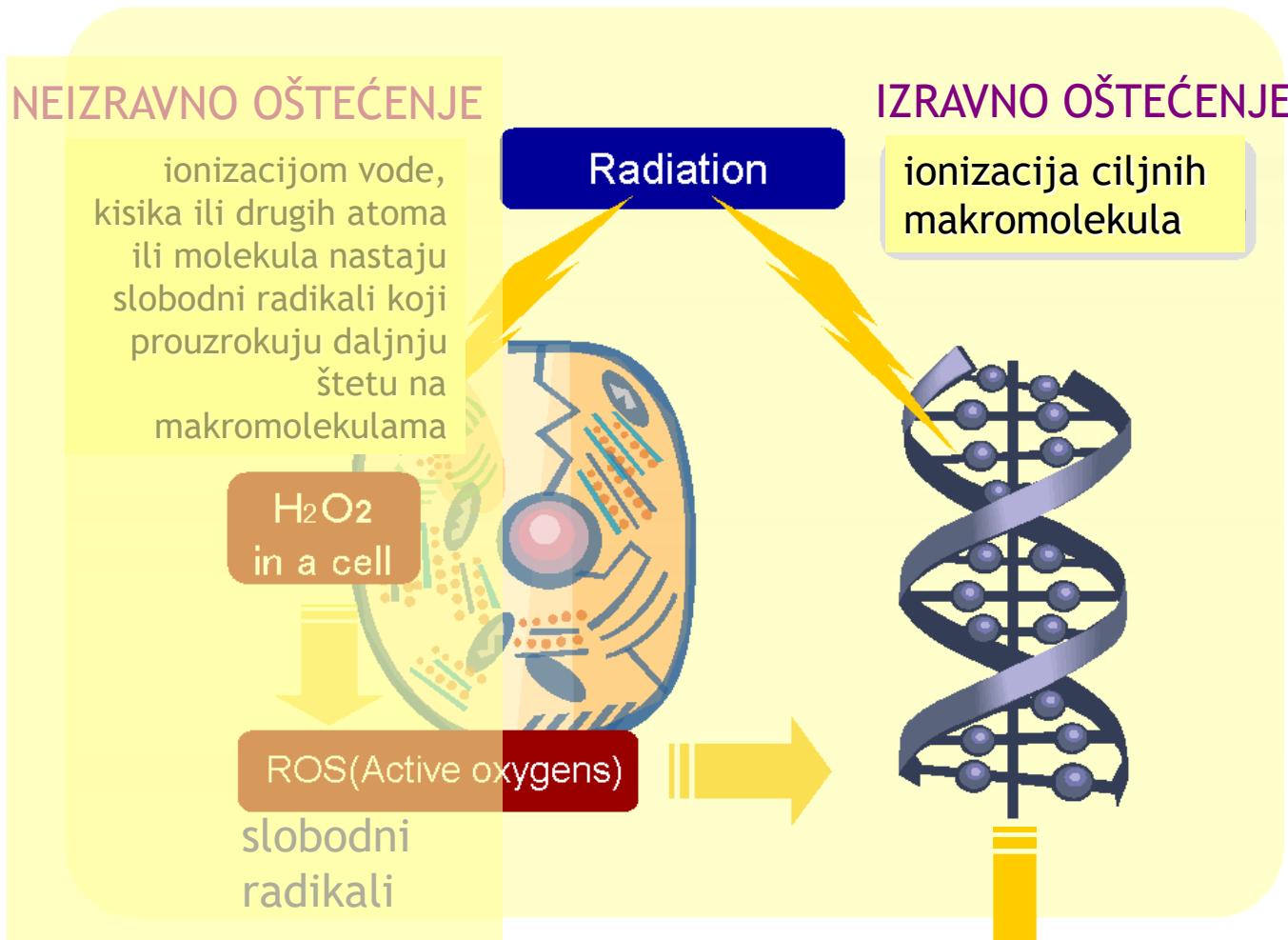
## MITOTIČKI KROMATIN

(kondenziran, ali su kromosomi  
raspršeni u citoplazmi)

2.8x više osjetljiv na  
ionizirajuće zračenje



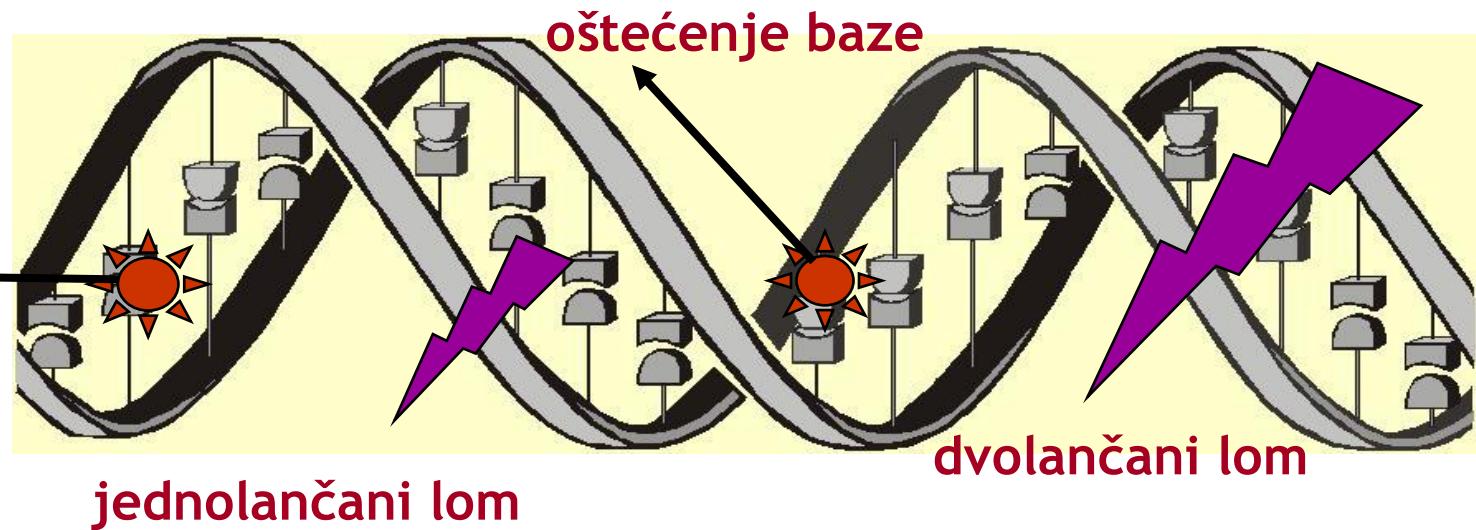
# UČINCI IONIZIRAJUĆEG ZRAČENJA: IZRAVNI I NEIZRAVNI



oštećenje DNA ili neke druge molekule ključne za preživljavanje stanice

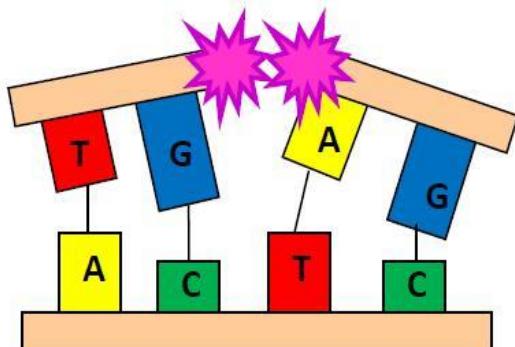
# IZRAVNO OŠTEĆENJE DNA

(dominira uz zračenje visokog LET, npr.  $\alpha$  čestice i neutroni)

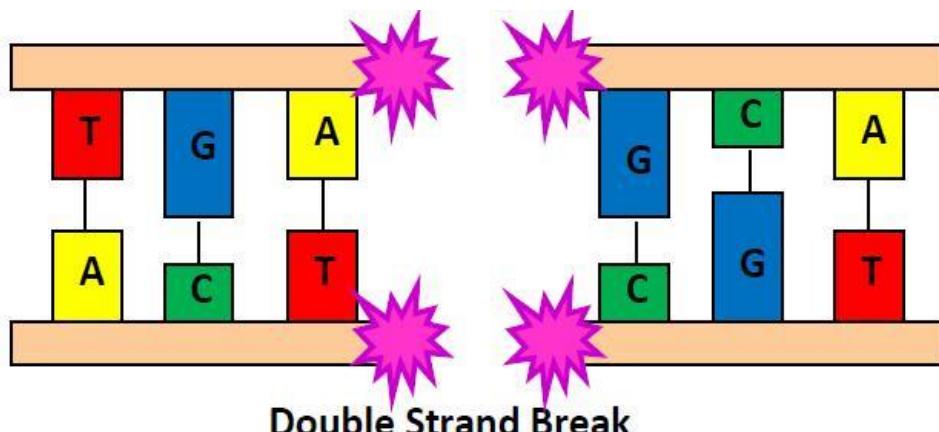


- izravno oštećenje nastupi kada  $\alpha$ ,  $\beta$  čestice ili X-zrake fizički razbiju jednu ili obje fosfatno-šećerne okosnice, vodikove mostove između baza, ili oštećuju same dušične baze

# IZRAVNO OŠTEĆENJE DNA - jednolančani i dvolančani lomovi



Single Strand Break



Double Strand Break

- jl lomovi i modificirane baze se mogu popraviti enzimski izrezivanjem (ekscizijom)

1000/ST./1 GY

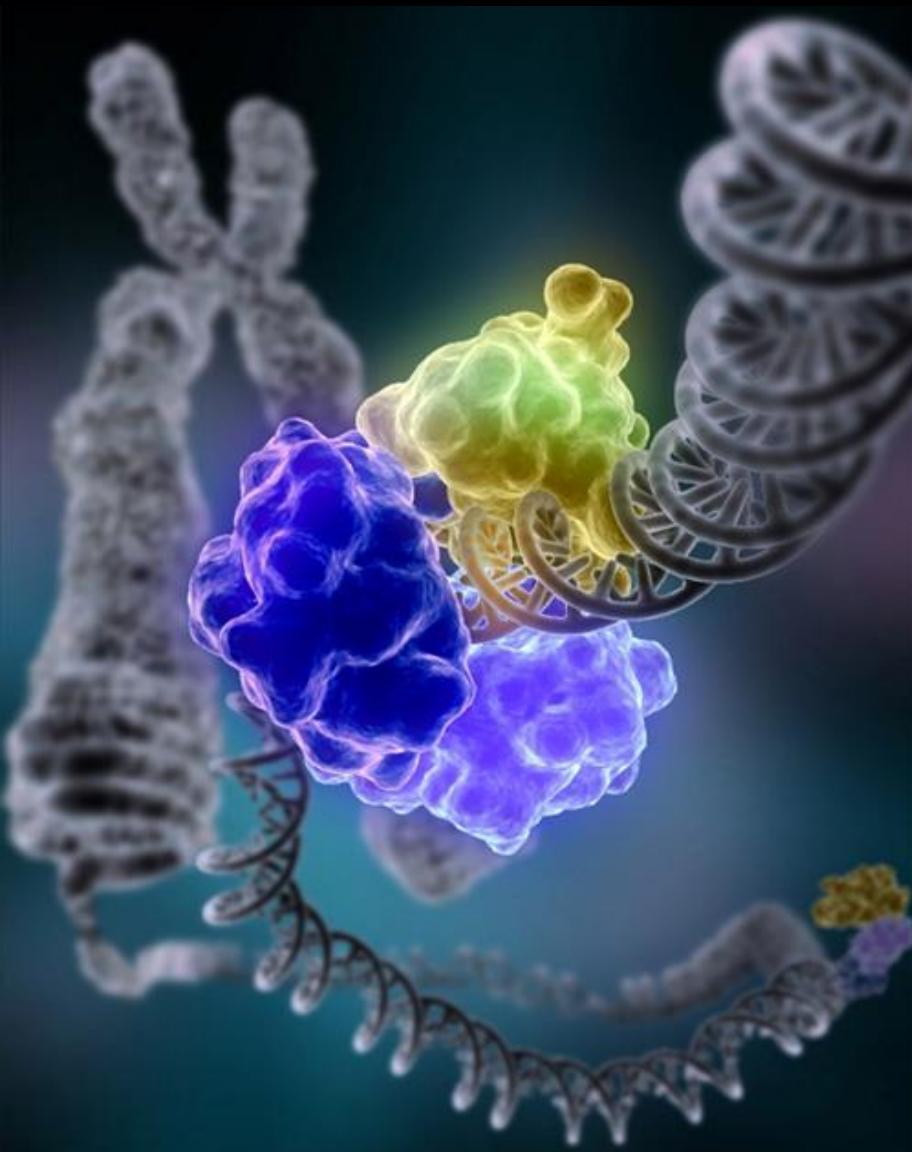
- dl lomovi se teško popravljaju, uzrokuju mutacije i apoptozu

30/ST./1 GY

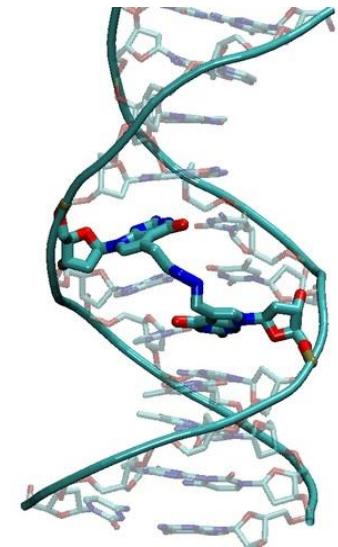
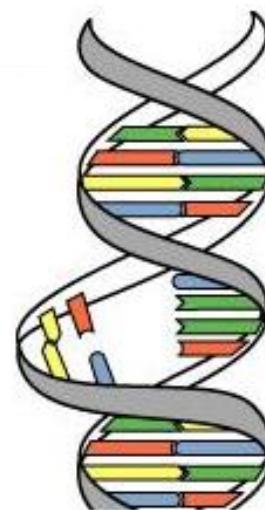
- 1 Gy zračenja prouzroči 100.000 ionizacija u stanici, ošteti 1000 baza, izazove 1.000 jl i 20-40 dl lezija, no zbog efikasnih mehanizama DNA popravka ubije svega 30% ozračenih stanica sisavaca)

# IZRAVNO OŠTEĆENJE DNA

## ukriženo povezivanje (engl. crosslink)



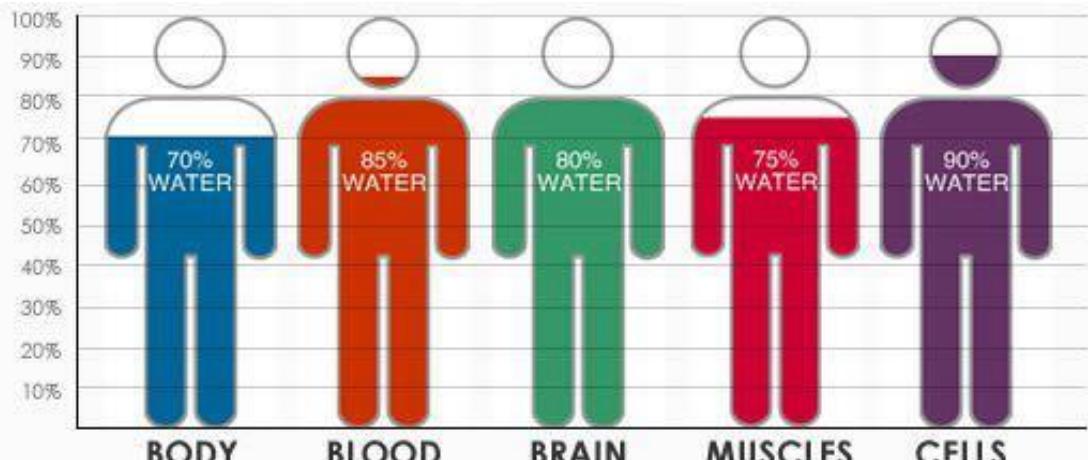
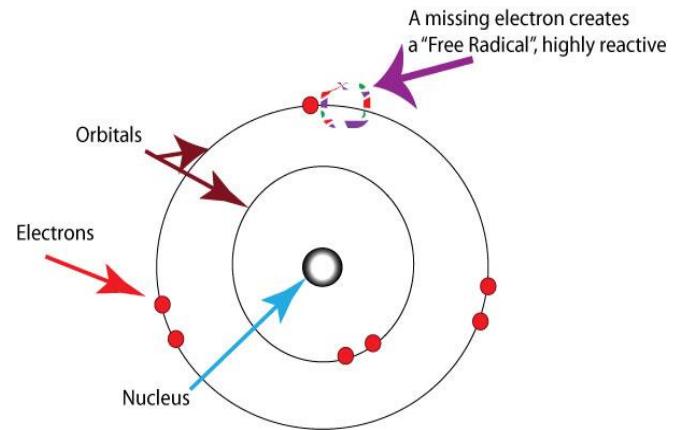
- zahvaća **jedan ili oba DNA lanca**
    - interakcija **DNA - protein**
  - zaustavlja transkripciju i translaciju
- 
- zračenjem uzrokovane **kovalentne interakcije DNA - protein** ostaju dugo stabilne (Nucleic Acids Research, 2012, 1-13)



# NEIZRAVNI UČINCI IONIZIRAJUĆEG ZRAČENJA

(dominiraju uz zračenje niskog LET, npr. X- i  $\gamma$ -zrake)

- najveći dio oštećenja biomolekula nastaje uslijed djelovanja radiolitičkih produkata vode, odnosno, **SLOBODNIH RADIKALA**
- najvažnije su molekule vode koje okružuju DNA u promjeru od **2nm**



- slobodni radikali nastali djelovanjem X-zračenja uzrok su **60%** DNA oštećenja
- najviše (**75%**) neizravnih učinaka zračenja uzrokuju **hidroksilni radikali** ( $\text{OH}^-$ )

- udio vode u organizmu i stanicama

# STANIČNA JEZGRA JE KLJUČNO, IAKO NE I JEDINO MJESTO POGOĐENO ZRAČENJEM

Učinak DNA oštećenja...

## NEMOGUĆNOST POPRAVKA

nemogućnost replikacije i transkripcije  
(zaustavljeni rast st. i sinteza proteina)



## APOPTOZA



leukocitopenija, sterilitet, eritem, katarakta, fetalne anomalije

## POPRAVAK S GREŠKOM

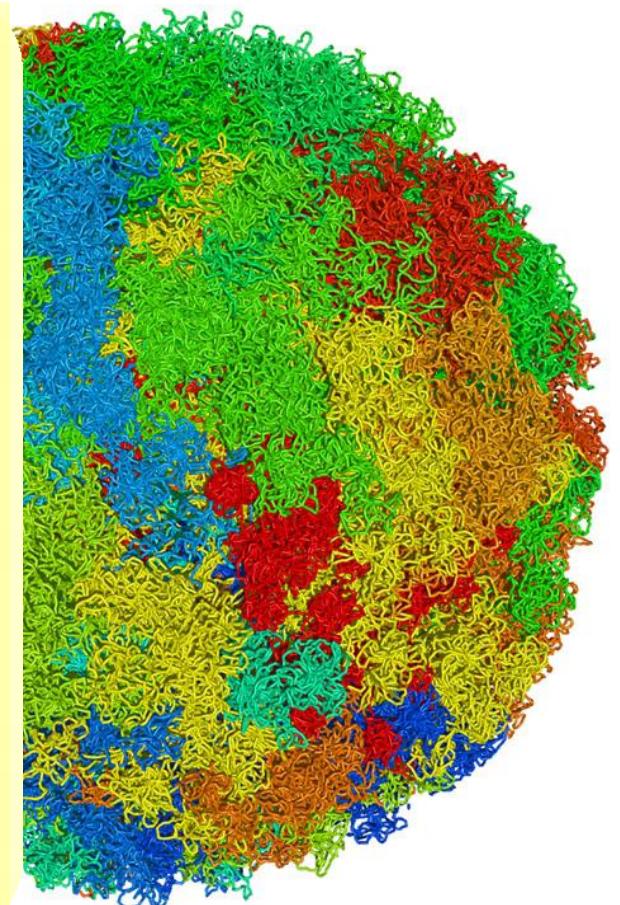
promijenjena genetička informacija rezultira pojavom varijante



## MUTACIJA

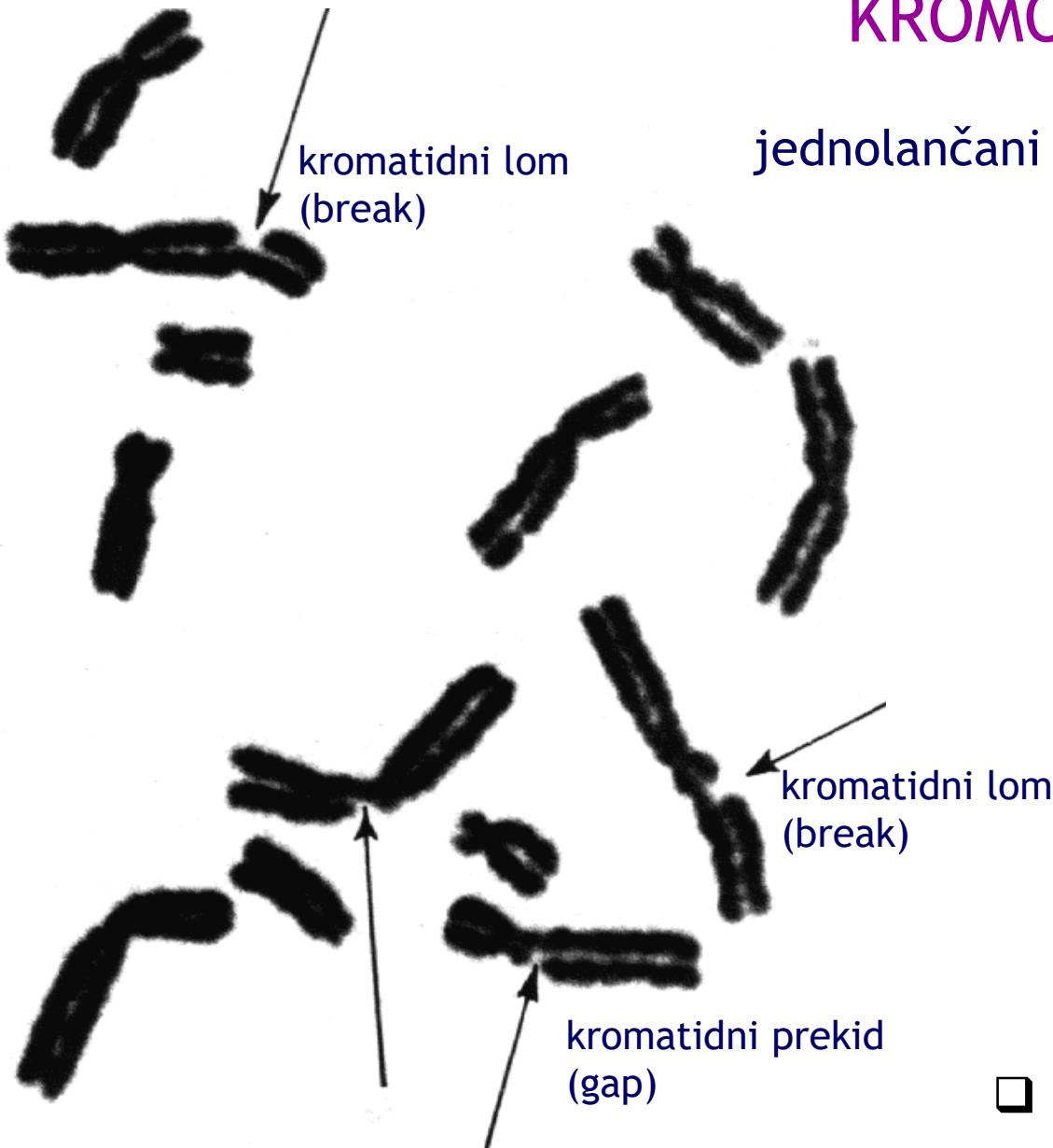


nasljedni učinci, rak



# JEZGRA: KROMOSOMSKI LOMOVI

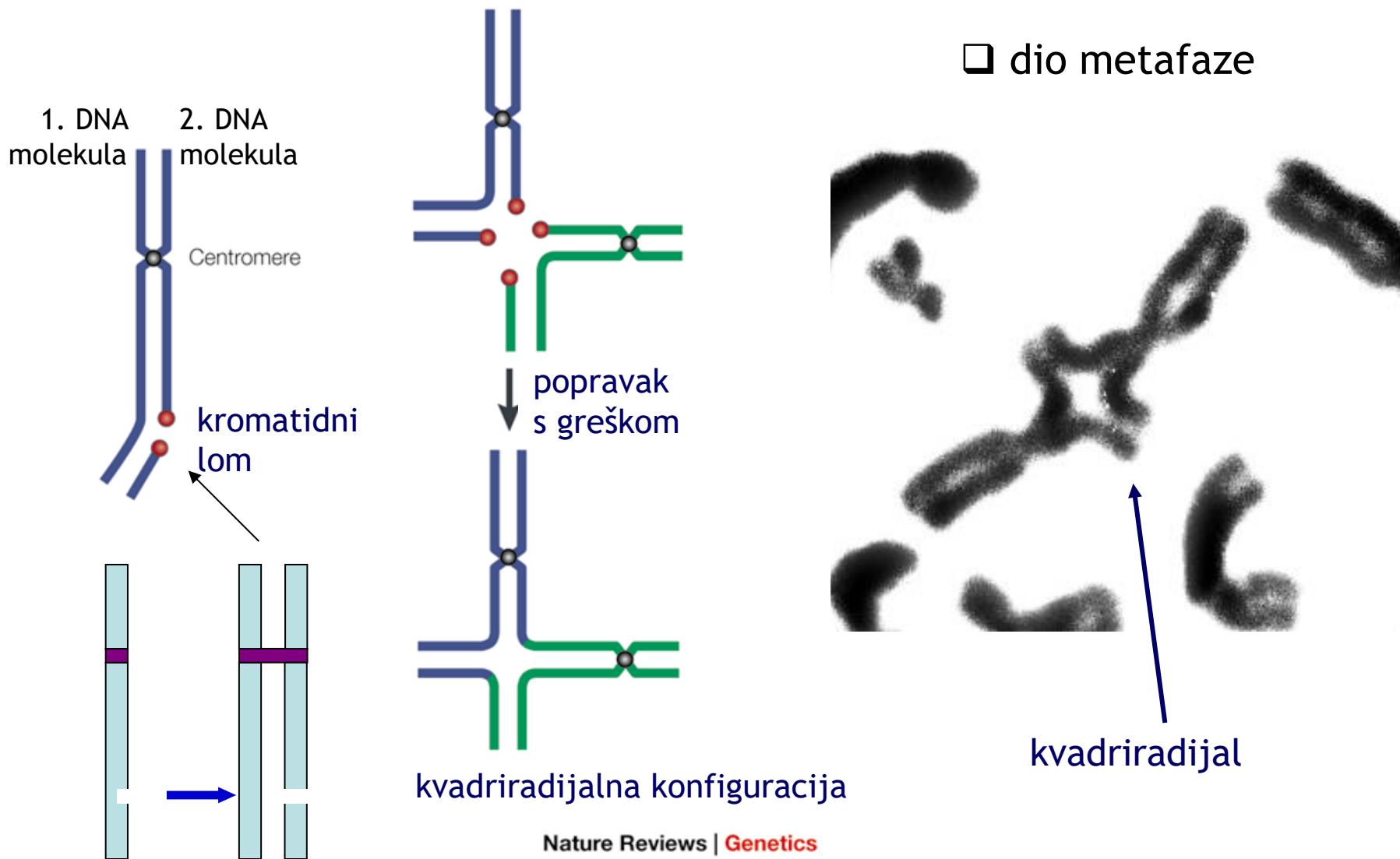
(u stanicama u diobi  
jednolančani DNA lomovi generiraju  
oštećenja kromatida)



dio metafaze

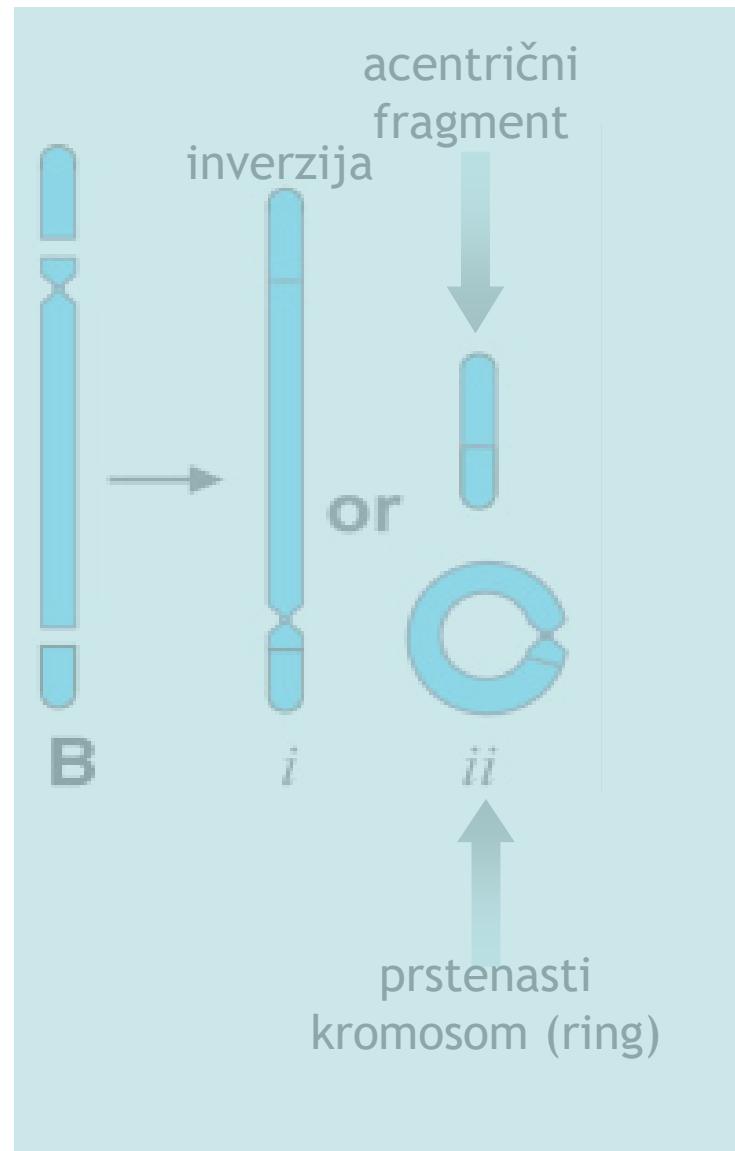
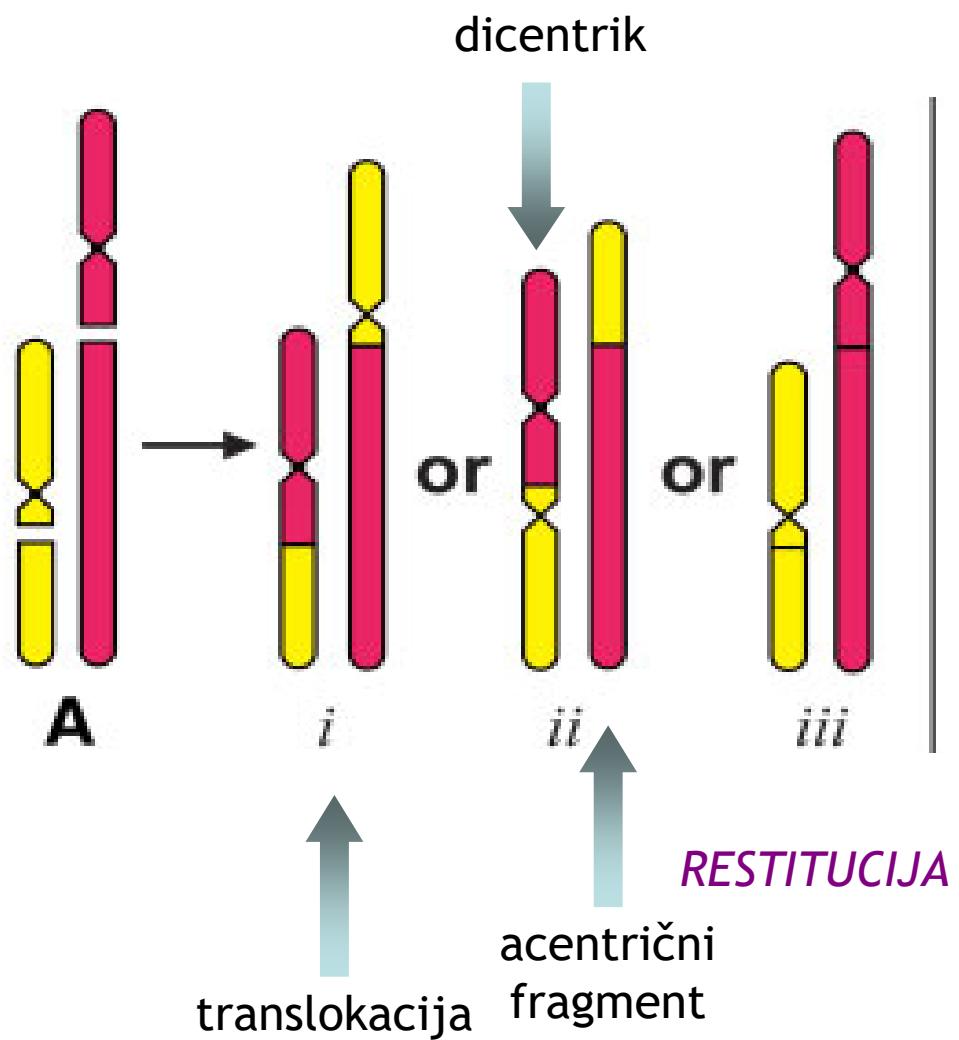
# POPRAVAK jl DNA LOMOVA S GREŠKOM

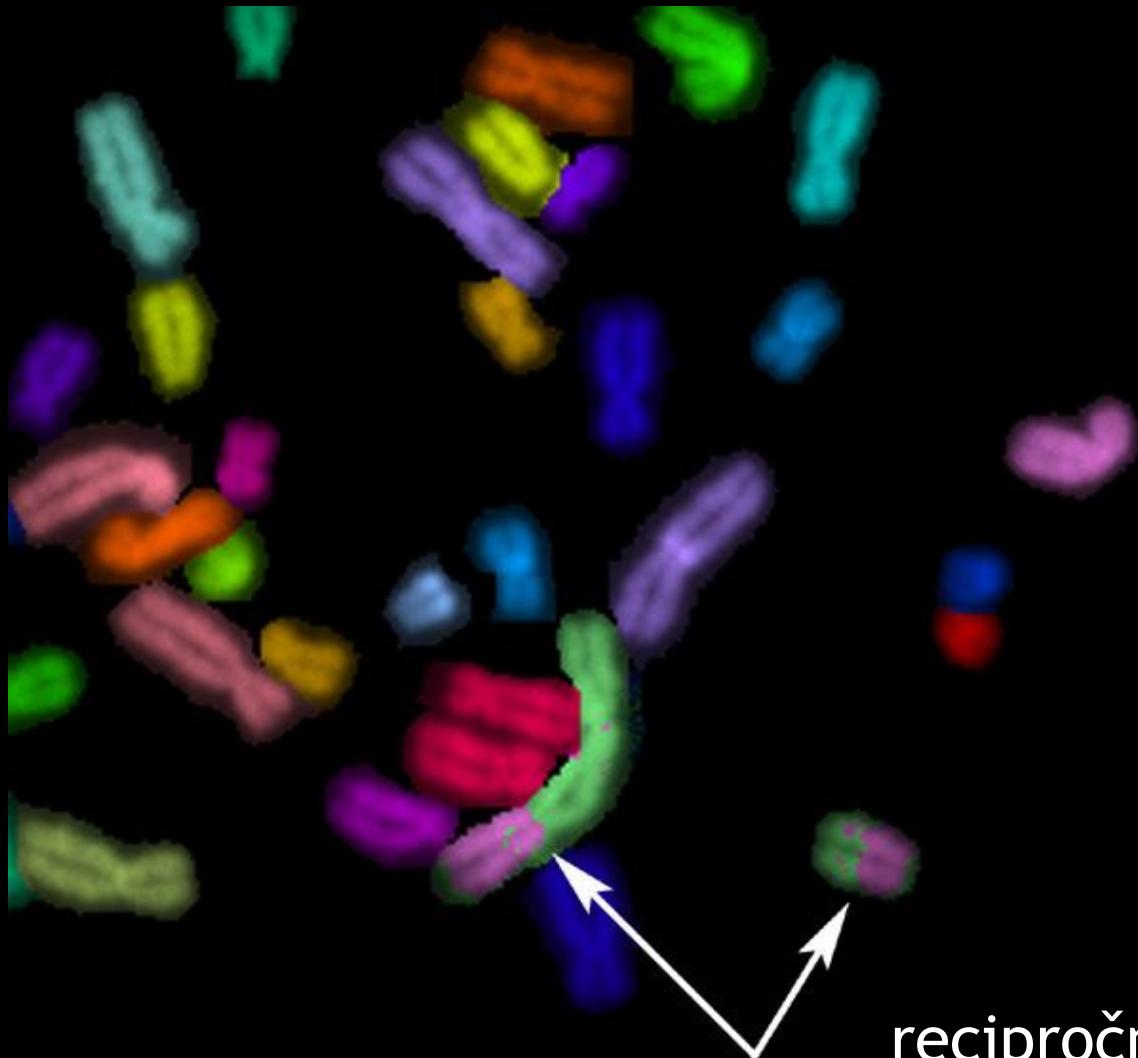
## (indukcija genomske nestabilnosti)



# DVOLANČANI LOMOVI I GREŠKE DNA POPRAVKA

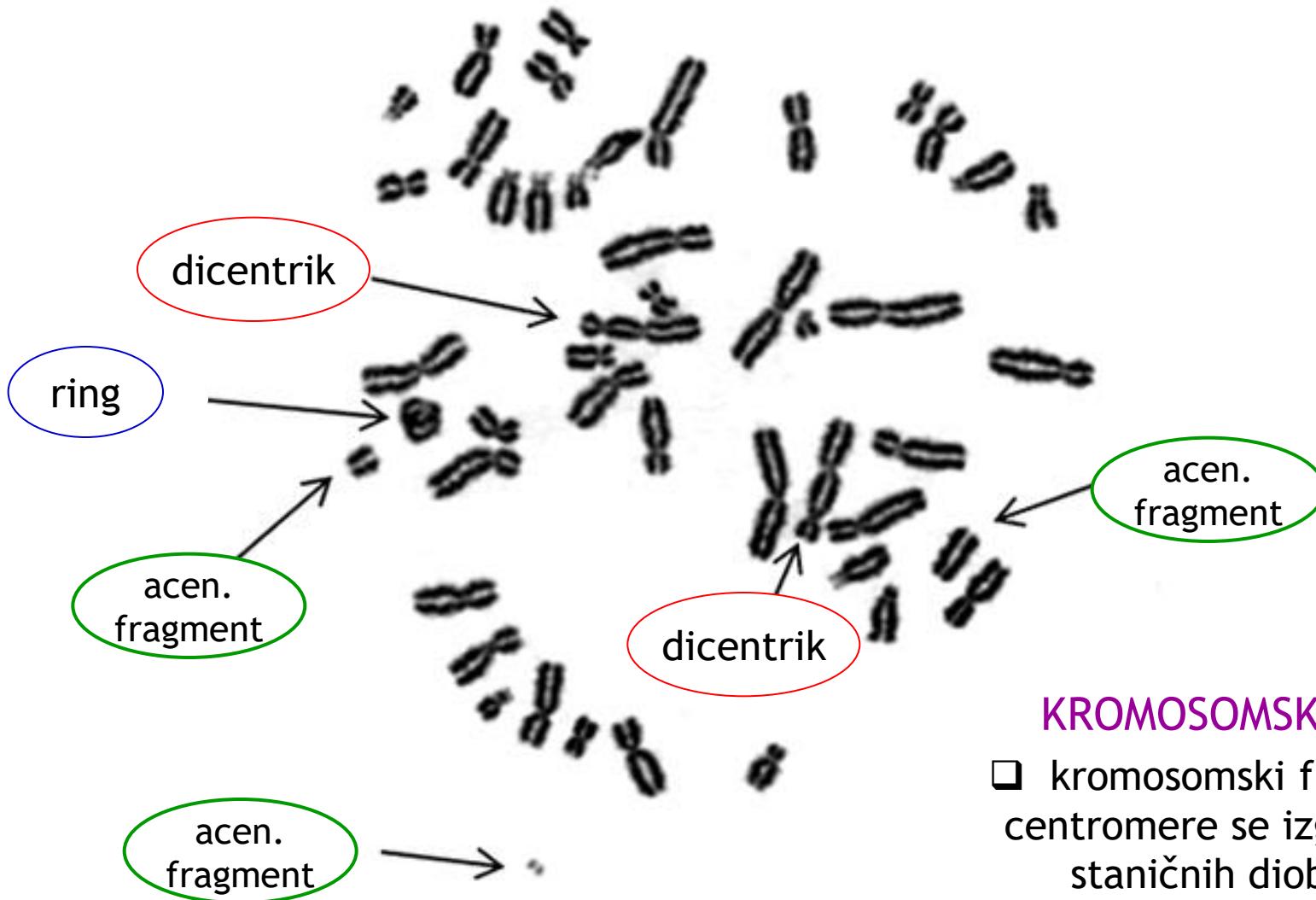
(jednostavne kromosomske mutacije; indukcija genomske nestabilnosti)





recipročna translokacija  
( metoda mFISH)

# METAFAZA. LIMFOCITI PERIFERNE KRVI ČOVJEKA OZRAČENI GAMA ZRAČENJEM (5 GY; IZVOR: $^{60}\text{Co}$ )



## KROMOSOMSKE MUTACIJE

- kromosomski fragmenti bez centromere se izgube tijekom staničnih dioba - DELECIJE

# BIOLOŠKI UČINCI IZLOŽENOSTI NISKIM DOZAMA ZRAČENJA - zračenje je fizički mutagen i karcinogen

## GENETIČKI

povišena stopa spontanih mutacija u germinativnim stanicama; izražavaju se na potomstvu osobe izložene zračenju (ovi su učinci slabo dokumentirani)

## SOMATSKI

izražavaju se na osobi koja je primala niske doze zračenja; primarna posljedica je **RAK** (ovi su učinci dobro dokumentirani)

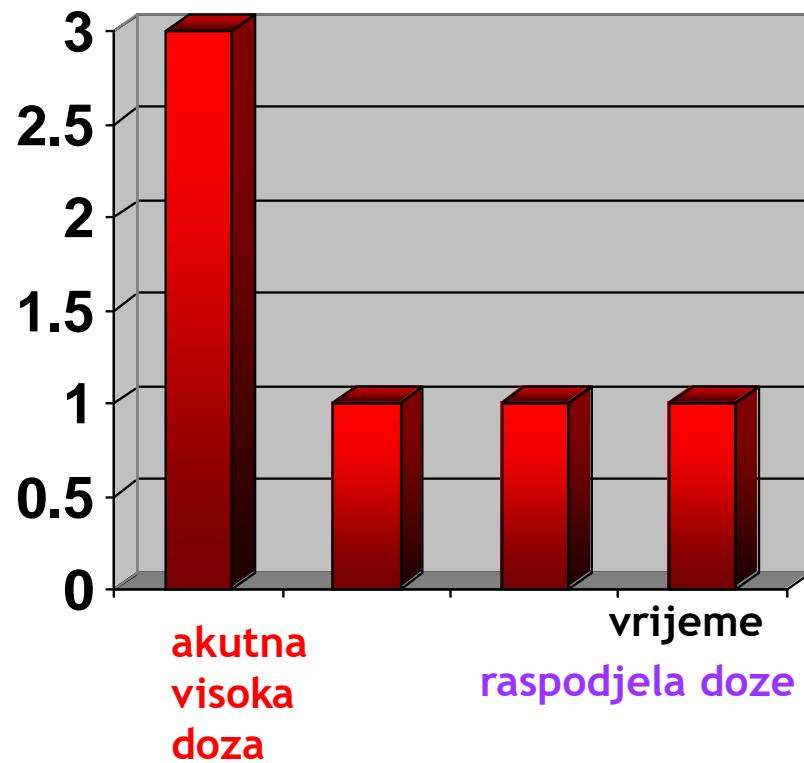
## IN - UTERO

izražavaju se na embriju/fetusu nakon rođenja; radi se o **somatskim učincima** budući da su posljedica ozračivanja embrija/fetusa, a ne reproduktivnih stanica roditelja

# ČIMBENICI KOJI UTJEĆU NA STUPANJ OŠTEĆENJA ORGANIZMA (pri niskim dozama)

- UKUPNA DOZA
- BRZINA DOZE
- VRSTA ZRAČENJA
- IZLOŽENA POVRŠINA TIJELA
- VRSTA OZRAČENIH STANICA
- ŽIVOTNA DOB OSOBE
- ZDRAVSTVENI STATUS
- TEMPERATURA
- GENETIČKA PREDISPOZICIJA

# UKUPNA DOZA I BRZINA DOZE



- akutno primljene doze** (stanična smrt, oštećenja tkiva i organa - **Akutni Radijacijski Sindrom**)
- kronično primljene doze** (profesionalna izloženost, pozadinsko zračenje, oštećenja na st. razini, učinci se izražavaju godinama kasnije )
- biološki učinak je slabiji uz niže primljene doze**

**GENETIČKA PREDISPOZICIJA** (povećana osjetljivost pojačava učinke niskih doza zračenja te učestalost pojave raka kao posljedice)

uloga varijacija gena uključenih u:

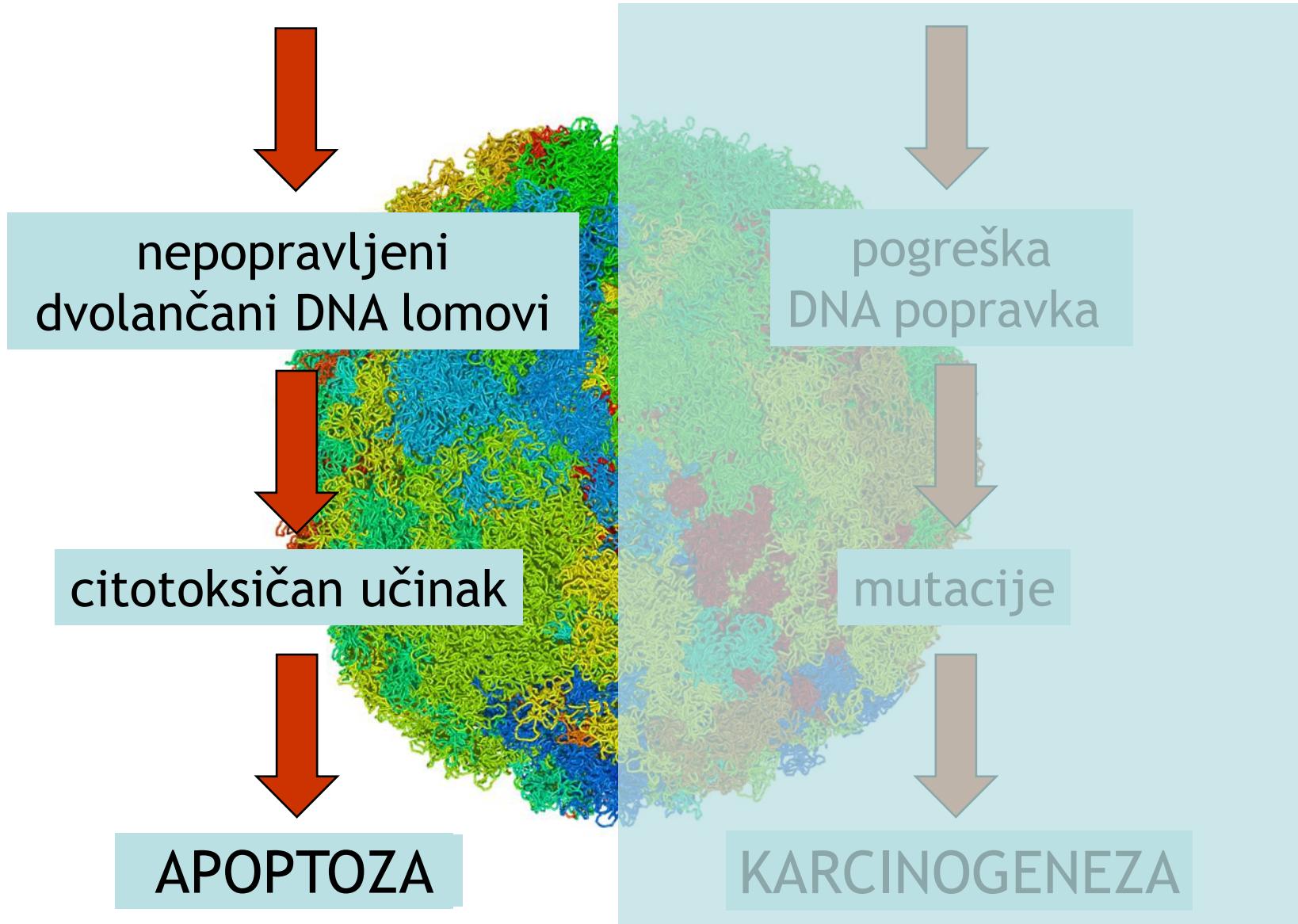
- detekciju citoplazmatskih i oštećenja DNA (**SENZORNI PROTEINI**)
- stanični odgovor & DNA popravak
- obranu od oksidacijskog stresa (enzimi za **NEUTRALIZACIJU SLOBODNIH RADIKALA**)
- upalni odgovor
- kontrolu staničnog ciklusa (**PROTO-ONKOGENI I TUMOR-SUPRESORSKI GENI**)
  
- neki rijetki genetički sindromi: Bloomov sindrom, Ataxia telangiectasia,...

# RADIJACIJSKA KARCINOGENEZA

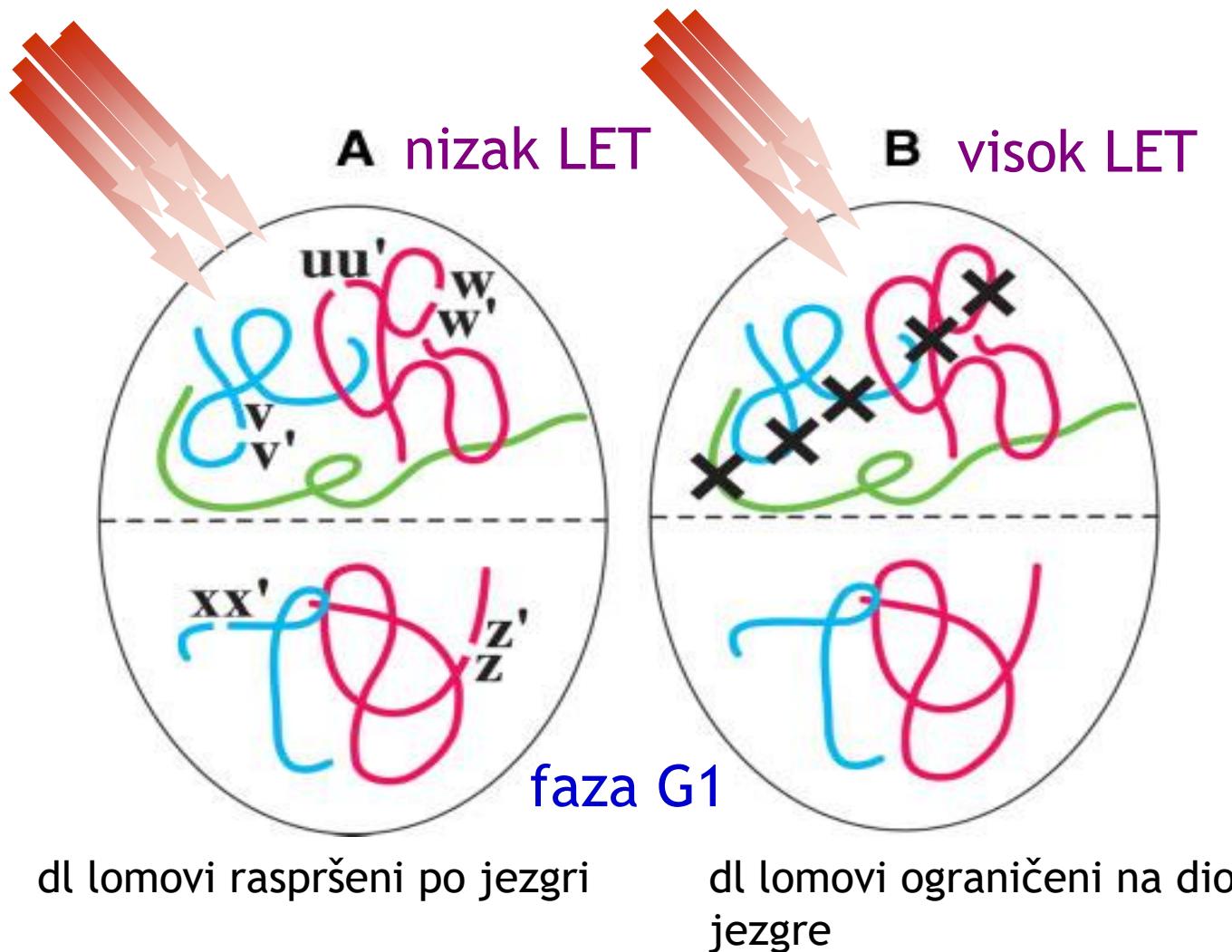
## glavni stohastički učinak ionizirajućeg zračenja -

- maligne bolesti uzrokovane zračenjem ne razlikuju se od onih potaknutih drugim uzrocima
- epidemiološke studije uglavnom nemaju dovoljnu statističku snagu za procjenu rizika uslijed izloženosti vrlo malim dozama ionizirajućeg zračenja

# POGREŠNO POPRAVLJENI dl DNA LOMOVI SU GLAVNI STANIČNI, KROMOSOMSKI, MUTAGENI I ONKOGENI UČINCI IONIZIRAJUĆEG ZRAČENJA

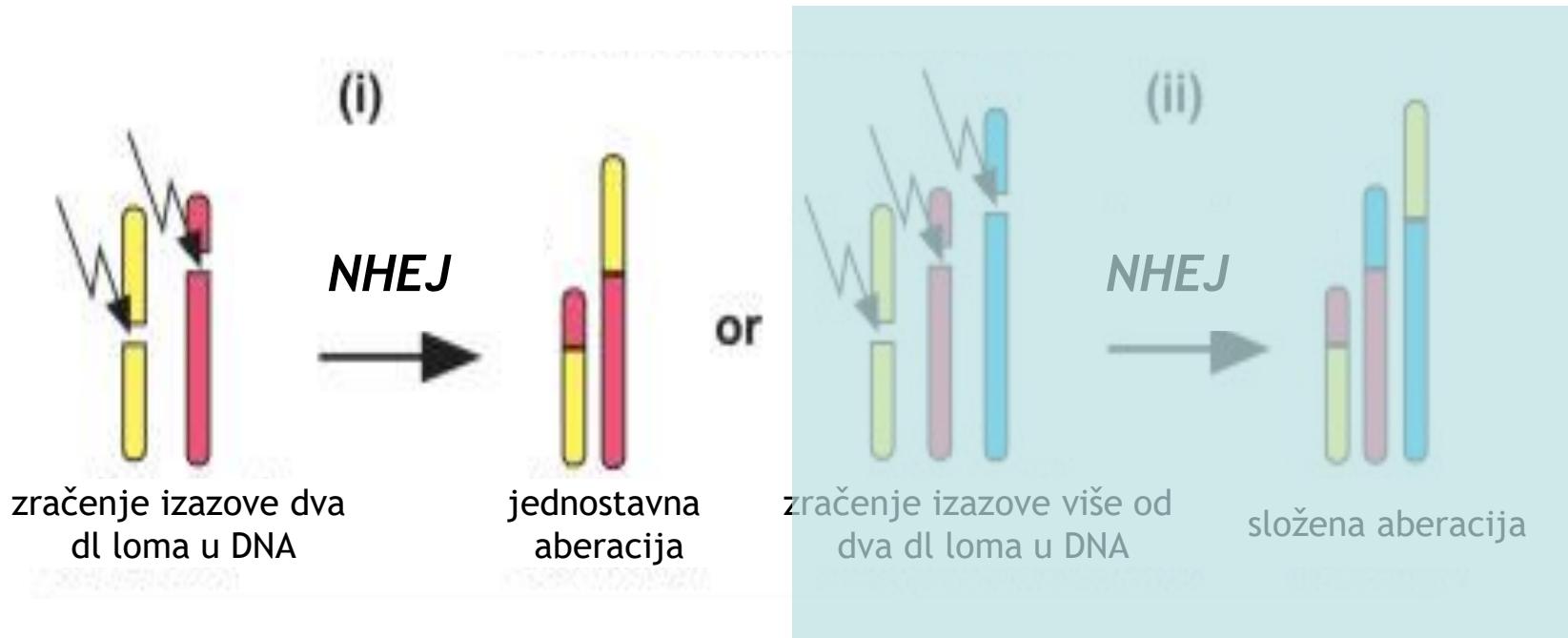


# SPEKTAR KROMOSOMSKIH ABERACIJA OVISI O VRSTI ZRAČENJA, BRZINI DOZE I ARHITEKTURI GENOMA



- kromosomi su ograničeni na teritorije i slabo su pokretni unutar jezgre
- da bi došlo do nehomologne interakcije mesta lomova moraju se nalaziti blizu jedno drugome

# MEHANIZMI NASTANKA JEDNOSTAVNIH (i) I SLOŽENIH (ii) KROMOSOMSKIH ABERACIJA



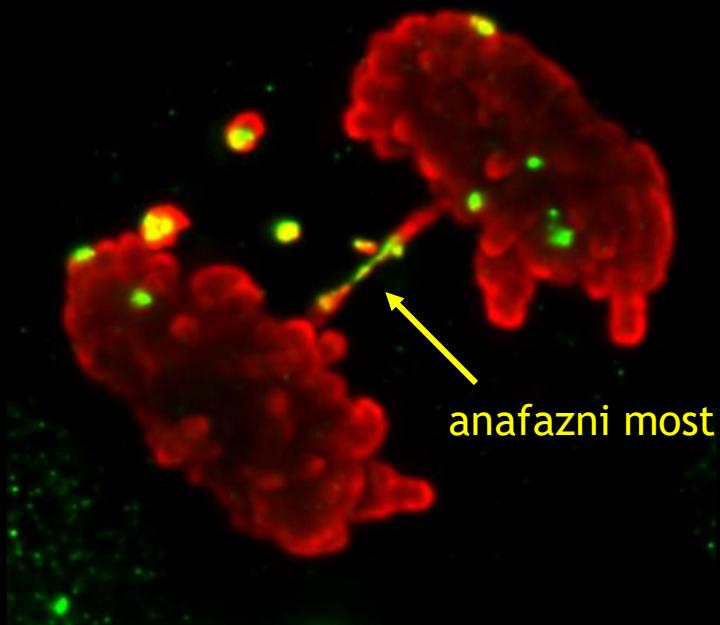
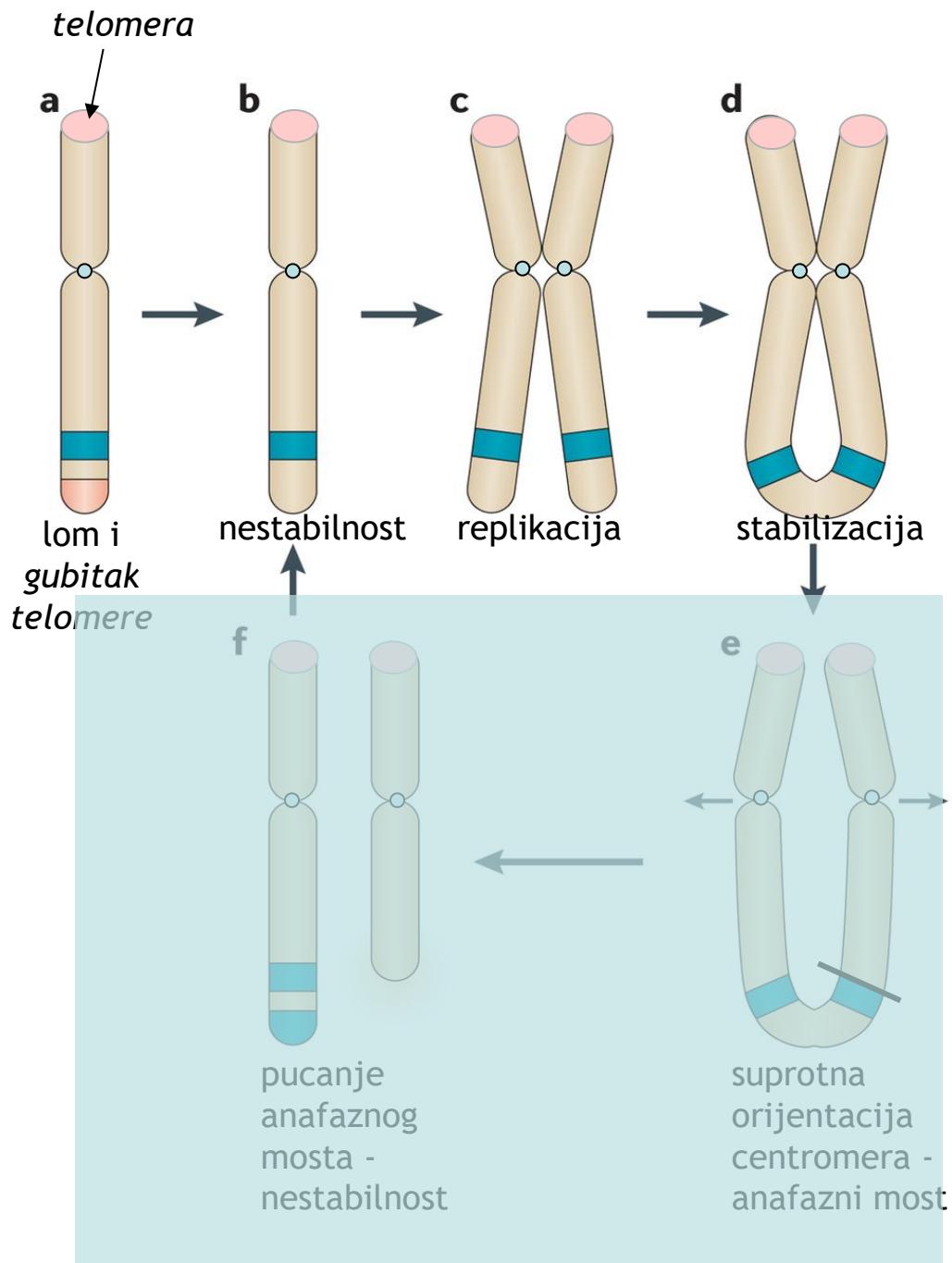
- dvolančani lomovi i pogrešna prespajanja - gubitak normalne funkcije više gena - INDUKCIJA GENOMSKE NESTABILNOSTI

# SLOŽENE KROMOSOMSKE ABERACIJE - veći broj kromosoma zahvaćen dl lomovima izmjenjuje pojedine segmente



□ limfocit periferne krvi čovjeka ozračen gama zrakama doze 4 Gy

# GENOMSKA NESTABILNOST u stanicama raka



# TUMORSKE STANICE ČESTO POKAZUJU NIZ SLOŽENIH KROMOSOMSKIH ABERACIJA - pokazatelji opće genomske nestabilnosti



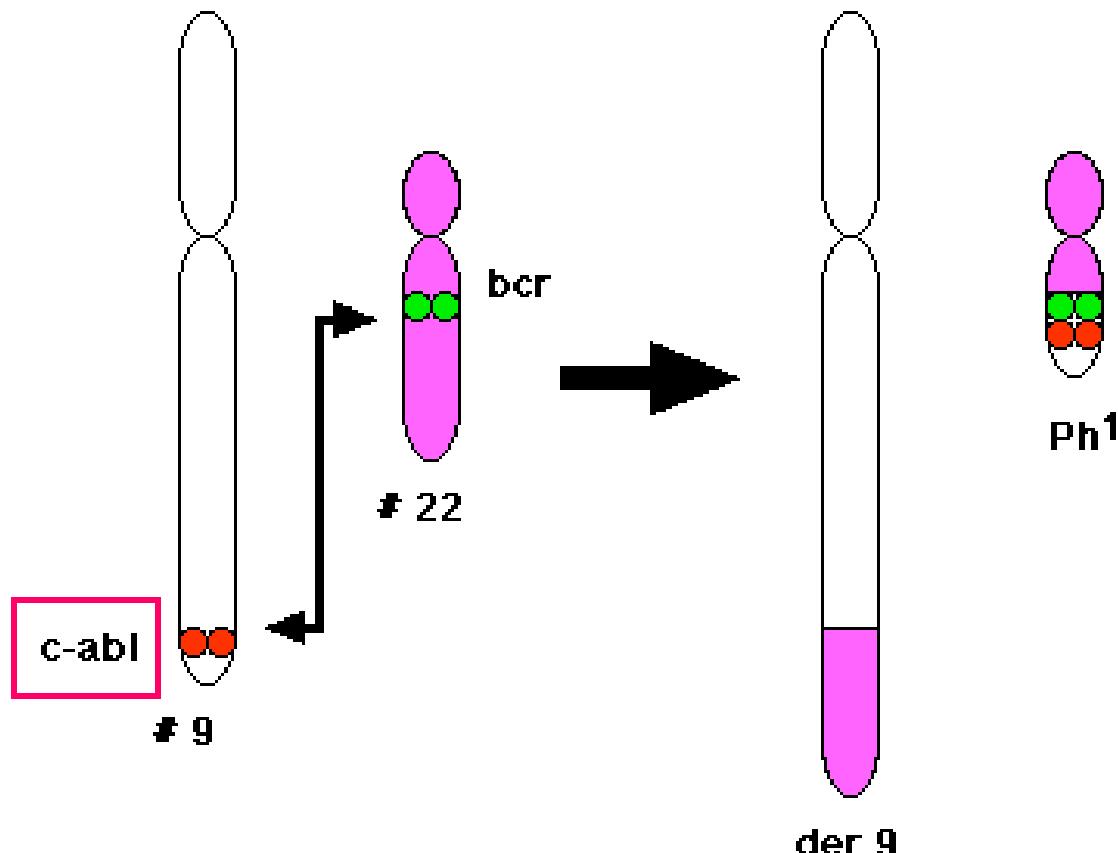
- stanice raka gotovo su uvijek aneuploidne - abnormalna kontrola staničnog ciklusa; nemogućnost detektiranja kromosomskih aberacija i nemogućnost adekvatnog staničnog odgovora (popravka)

UČESTALOST KROMOSOMSKIH ABERACIJA  
POVEĆANA JE PRIJE KLINIČKE EKSPRESIJE RAKA

TRANSLOKACIJE SU UKLJUČENE  
U POJAVU NEKIH MALIGNIH TUMORA

# AKTIVACIJA PROTOONKOGENA *c-abl*

RECIPROČNA TRANSLOKACIJA dugih krakova KROMOSOMA 9 i 22  
kojom nastaje **PHILADELPHIA KROMOSOM Ph<sup>1</sup>**- udružen s pojavom  
kronične mijeloične leukemije



*c-Abl* - protein-tirozin-kinaza uključena u stanično signaliziranje povezano s citoplazmom,  
st.membranom, citoskeletom i jezgrom

# LNT (engl. LINEAR NO-THRESHOLD) HIPOTEZA - model za indukciju raka djelovanjem ionizirajućeg zračenja - SVAKO JE ZRAČENJE ŠTETNO

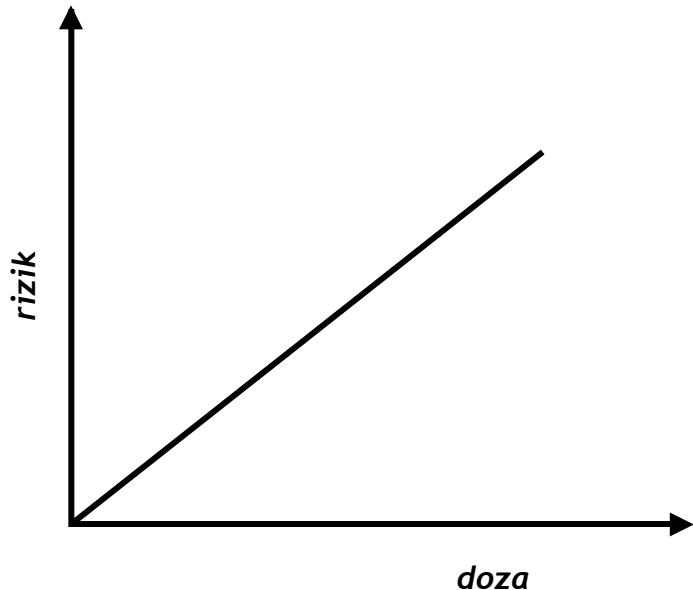
□ ekstrapolira rizik za pojavu raka uslijed visokih doza na niske doze pri čemu je rizik jednak 0% pri dozi od 0 Gy

□ hipoteza polazi od slijedećih pretpostavki:

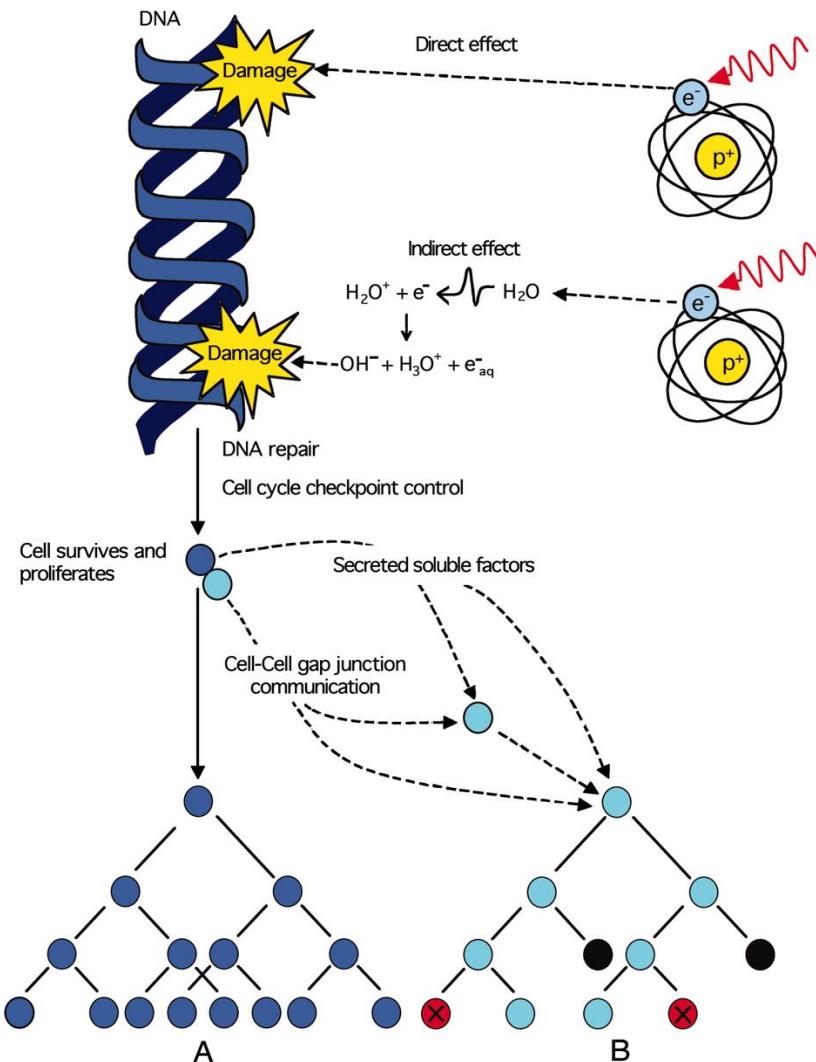
1) *in vivo*, postoji linearna povezanost između doze zračenja i pojave dl DNA lomova pri dozama od 1 mGy do 100 Gy.

2) svaki dl DNA lom ima podjednaku vjerojatnost da potakne karcinogenezu u stanici

3) svaka kancerozna stanica ima jednaku vjerojatnost da se razvije u bolest



# BIOLOŠKI UČINCI IONIZIRAJUĆEG ZRAČENJA PRELAZE OKVIRE JEDNE OZRAČENE STANICE



□ učinke malih doza teško je pratiti, jer je incidencija raka zbog drugih uzroka u populaciji visoka

□ kod niskih doza učinak susjednih stanica dominira - upravlja ukupnim učinkom na organizam

# PROCJENA RIZIKA ZA RADIJACIJSKU KARCINOGENEZU UVJETOVANU NISKIM DOZAMA ZRAČENJA

mora uzeti u obzir:

- osjetljivost stanica/organizma na ionizirajuće zračenje (radiosenzitivnost)
- adaptivni odgovor stanica/organizma
- učinak susjednih stanica (engl. bystander effect)



Gross L (2007) Paradox Resolved? The Strange Case of the Radiation-Resistant Bacteria.

PLoS Biol 5(4): e108. doi:10.1371/journal.pbio.0050108

<http://www.plosbiology.org/article/info:doi/10.1371/journal.pbio.0050108>



### Examples of 2-lesion Chromatid-type aberrations

INTERCHANGE	INTER-ARM INTRACHANGE		INTRA-ARM INTRACHANGE		"BREAK" DISCONTINUITY
<b>A</b>		intra-chromatid (=centric ring)		intra-chromatid interstitial deletion	
	dicentric	(=centric ring)	(=dicentric)	interstitial deletion	isochromatid deletion
<b>S</b>		pericentric inversion		paracentric inversion	
	reciprocal translocation	pericentric inversion	duplication/ deletion	paracentric inversion	(=duplication/ deletion) some are incomplete intra-arm intrachanges

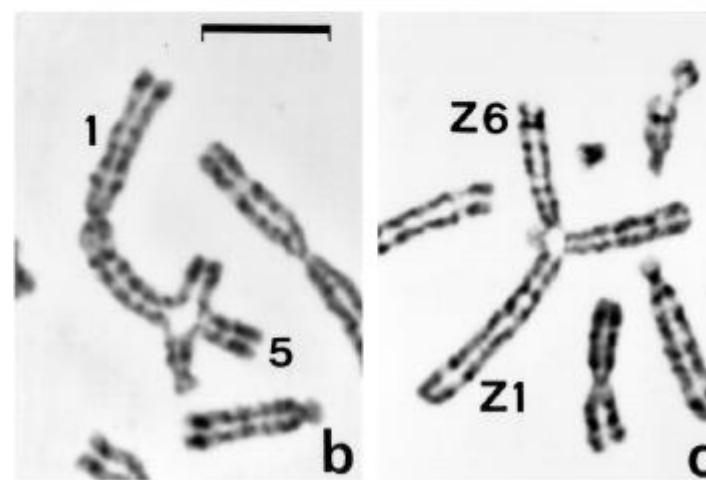
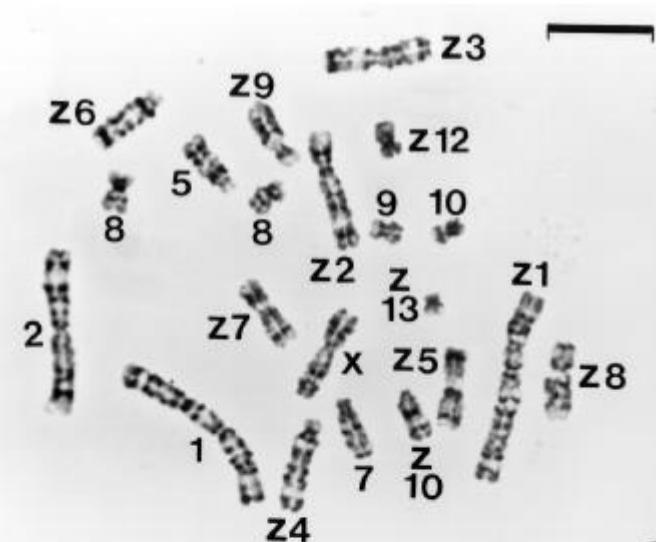
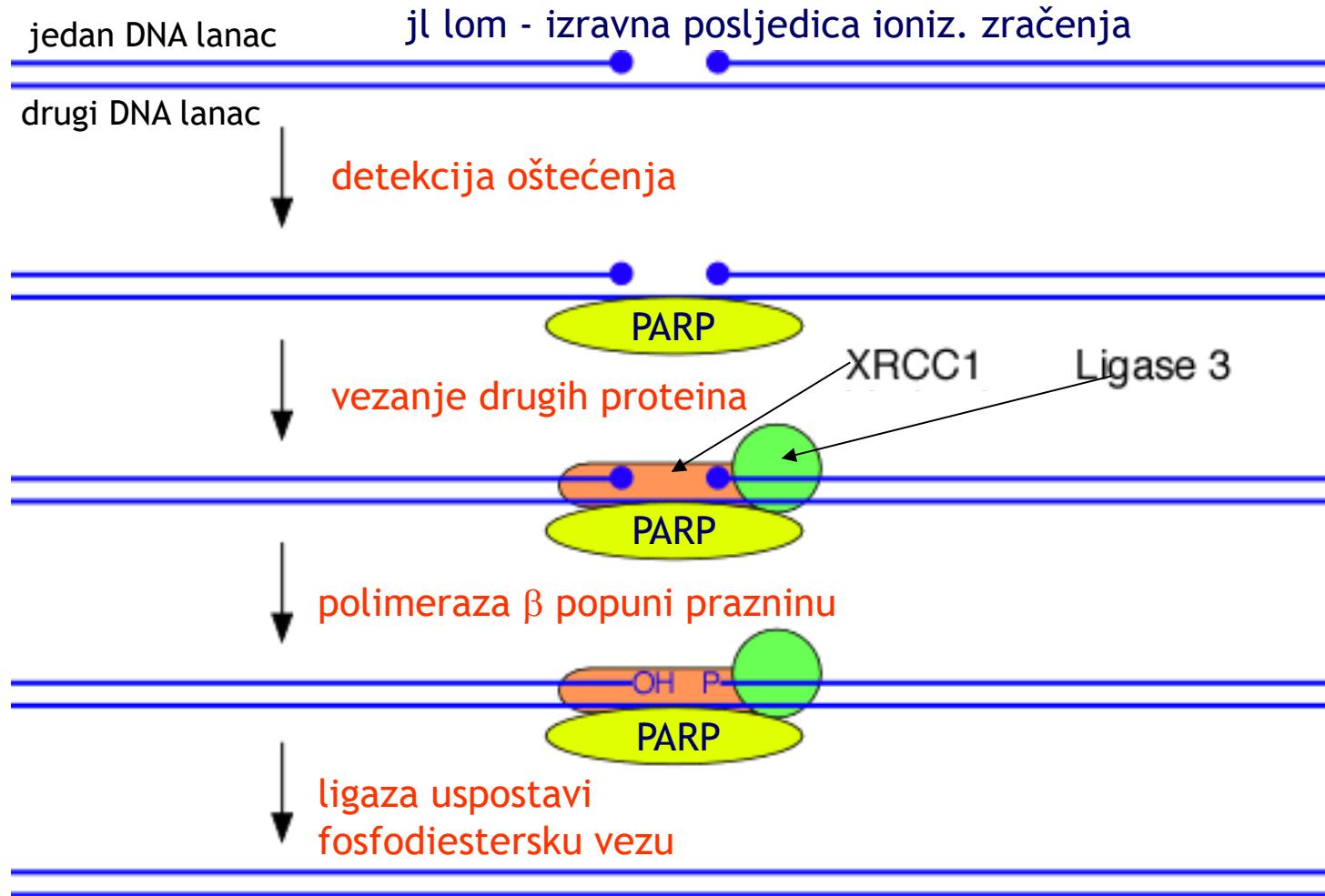
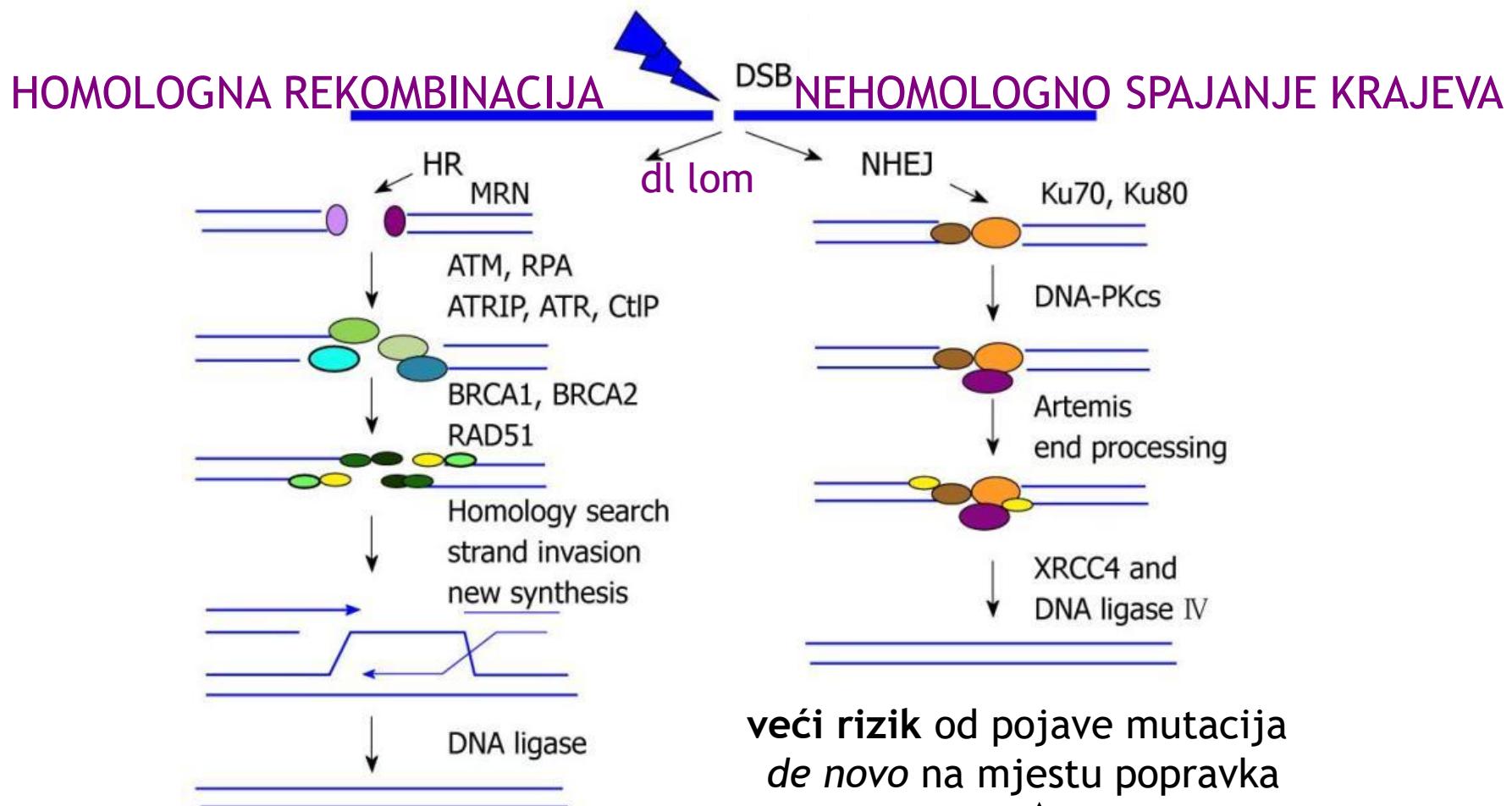


Figure 1 - **a**) G-banded CHO9 metaphase with the single chromosomes indicated. **b**) Chromatid interchange between chromosomes 1 and 5. **c**) Chromatid interchange between chromosomes Z1 and Z6. Bars indicate: **a**) 10 µm; **b,c**) 5 µm.

# POPRAVAK jl DNA LOMOVA u stanicama sisavaca (prije DNA replikacije)



# POPRAVAK DVOLANČANIH (dl) DNA LOMOVA I INDUKCIJA KARCINOGENEZE

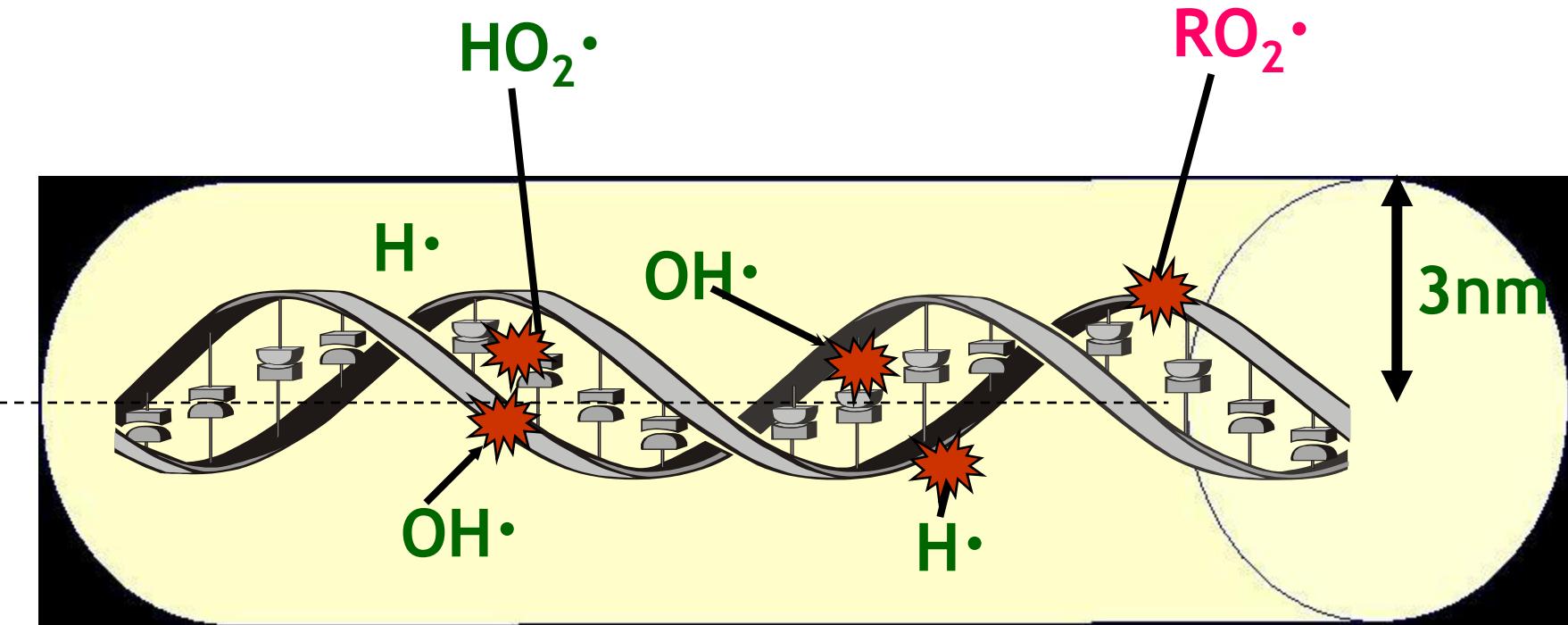


manji rizik za delecije i  
insercije na mjestu loma

veći rizik od pojave mutacija  
*de novo* na mjestu popravka

↑  
**GLAVNI MEHANIZAM  
POPRAVKA dl LOMOVA**

# BIOLOŠKI UČINCI IONIZIRAJUĆEG ZRAČENJA U VELIKOJ SU MJERI ODREĐENI DJELOVANJEM SLOBODNIH RADIKALA



- životni vijek jednostavnih slobodnih radikala je kratak ( $10^{-10}\text{sec}$ ), samo oni radikali koji nastanu na udaljenosti **2-3nm** uokolo DNA mogu prouzročiti indirektne učinke