

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#01]

Л.2: Механізми біологічної дії іонізуючого випромінювання

1. Базові поняття: криві виживання та відносна біологічна ефективність випромінювань.
2. Принципи теорії мішені.
3. Ефективний об'єм мішені.
4. Унікальні та масові структури клітини. Багатоударні мішені
5. Роль цитоплазми і ядра в розвитку радіаційного ураження клітини.
6. Цитоскелет як мішень у разі дії іонізуючих випромінювань.
7. Структурно-метаболічна теорія.

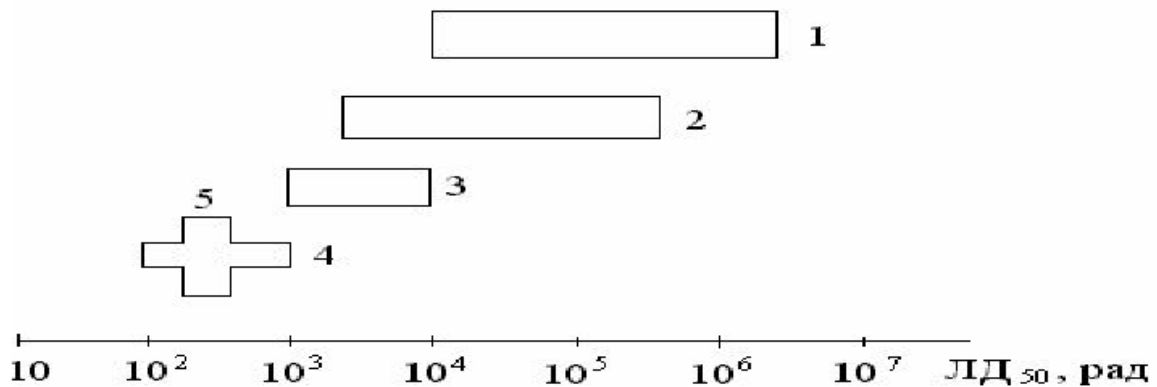
[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#02]

Особливості, які варто враховувати при аналізі радіобіологічних процесів

- **Спадкова дія іонізуючих випромінювань.**
- **Кумуляція доз:** накопичення ефектів.
- **Наявність латентного періоду** (декілька хвилин – десятки років): характерна для опромінення досить невеликими дозами тривалий час .

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#03]

- **Радіочутливість** - головний критерій ефективності дії випромінювання - чутливість біологічних об'єктів до впливу випромінювання.
- **LD₅₀** - доза випромінювання, яка спричиняє загибель половини досліджуваних об'єктів - показник, який найчастіше використовують для кількісної характеристики радіочутливості.
- **Радіорезистентність** - поняття протилежне до радіочутливості.



Радиочувствительность различных организмов: 1 – микроорганизмы; 2 – растения; 3 - холоднокровные животные; 4 – теплокровные животные; 5 – человек.

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#04]

Радіочутливість

Тип	ЛД ₅₀ , Гр	Средняя величина ЛД ₅₀
<u>Простейшие</u>		
Бактериофаги	220 – 8400	3300
Вирусы	62 – 4600	
Бактерии	17 – 3500	
<u>Растения</u>		
Водоросли	300 – 1700	7500
Лишайники	5000 – 10000	
Покрытосеменные	10 – 1500	400
Голосеменные	4 – 150	
<u>Беспозвоночные</u>		
Черви	500 – 1600	900
Насекомые	580 – 2000	
Моллюски	120 – 200	
<u>Позвоночные</u>		
Рептилии	15-500	250
Амфибии	7 – 30	20
Рыбы	6 – 55	
Птицы	6 – 14	
<u>Млекопитающие</u>		
Мелкие	8 – 15	6
Крупные	1,5 – 2,7	
<u>Человек</u>	2,5	2,5

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#05]

Радіобіологічний (енергетичний) парадокс:



10 Гр



$m = 70 \text{ кг}$

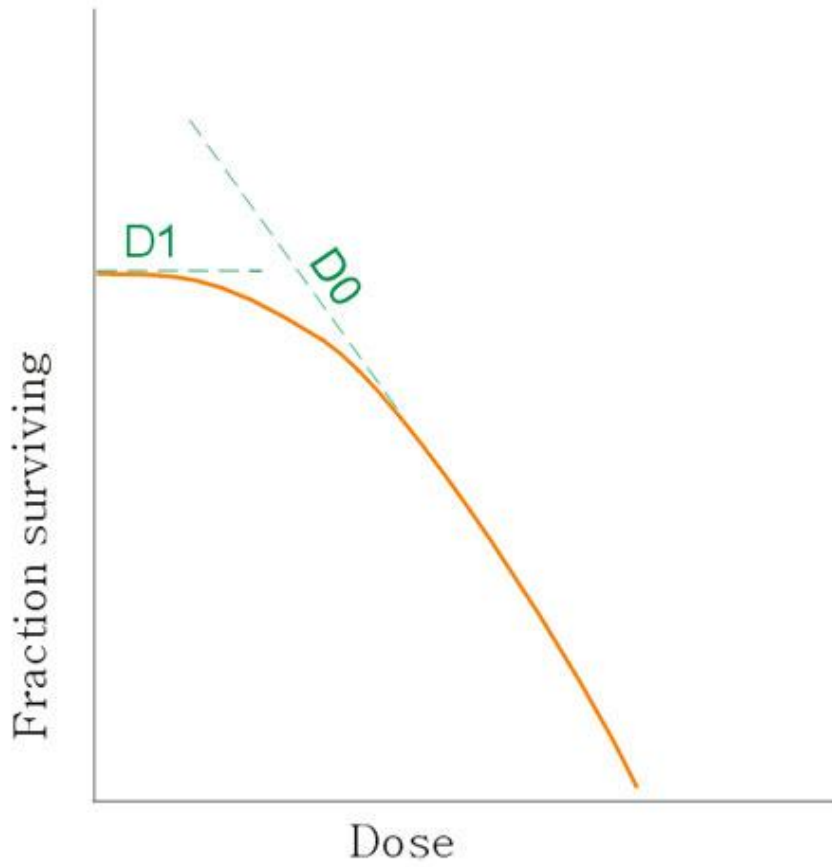
$$\begin{aligned} \text{ЛД}_{100} &= 10 \text{ Гр} = \\ &= 10 \text{ Дж/кг} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 70 \text{ кг} \cdot 10 \text{ Дж/кг} &= \\ &= 700 \text{ Дж} = \\ &= 167 \text{ кал} \end{aligned}$$

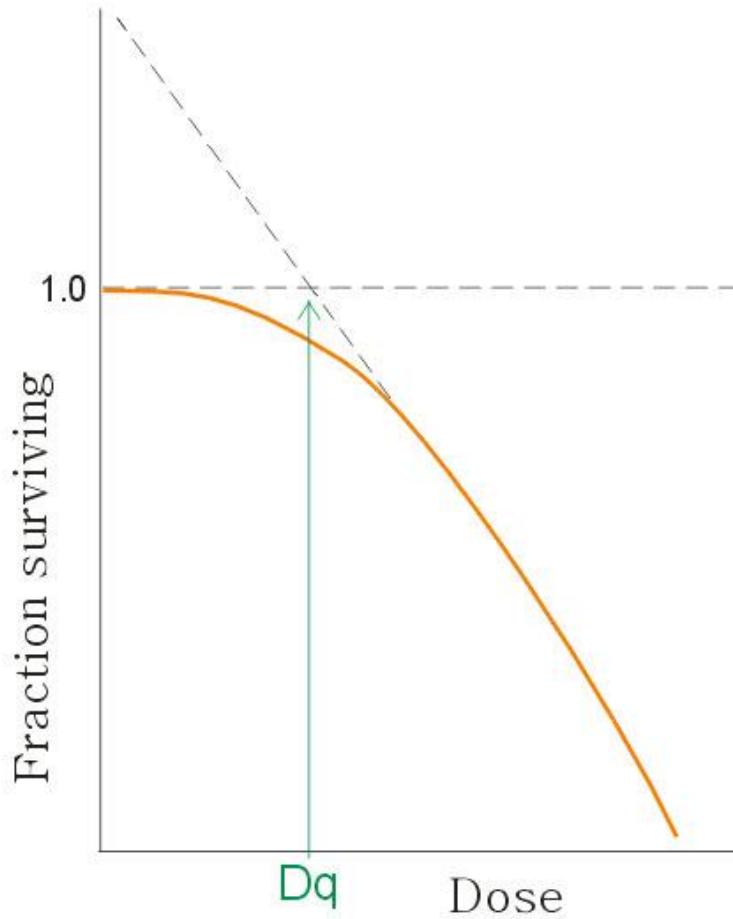


[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#06]

1. Базові поняття



доза, при якій виживання клітин знижується на 37%



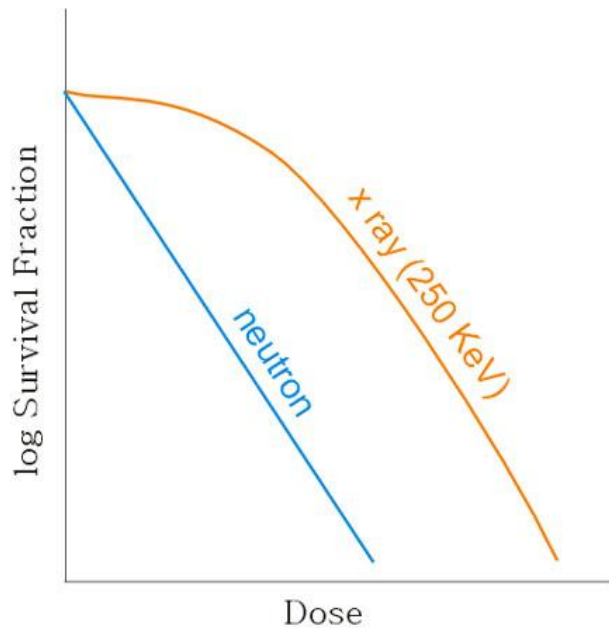
D_0 – показник відносної радіочутливості клітинної популяції (середнє значення для клітин ссавців 1.5 Гр)

D1 – початковий нахил кривої виживання.

Dq – квазіпорогова (сублетальна) доза

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#07]

Відносна біологічна ефективність випромінювань



Для порівняння виживання клітин при опроміненні дозою 4-6 Гр:

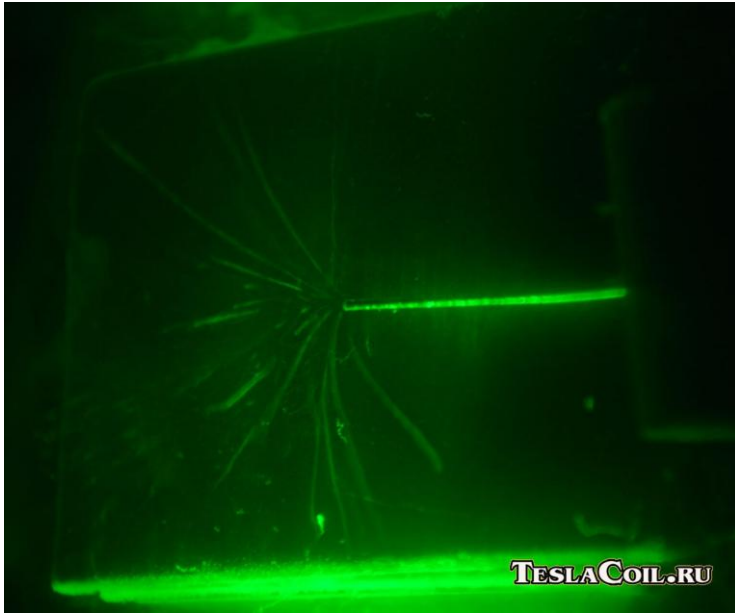
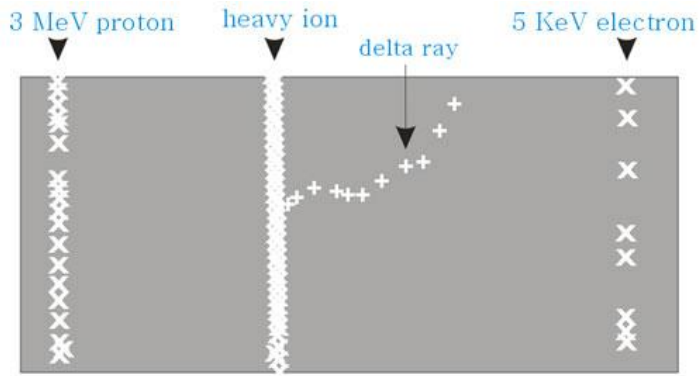
- α-частинки – 0.1%,
- β-частинки – 70-80%,
- Рентгенівське – 70-80%

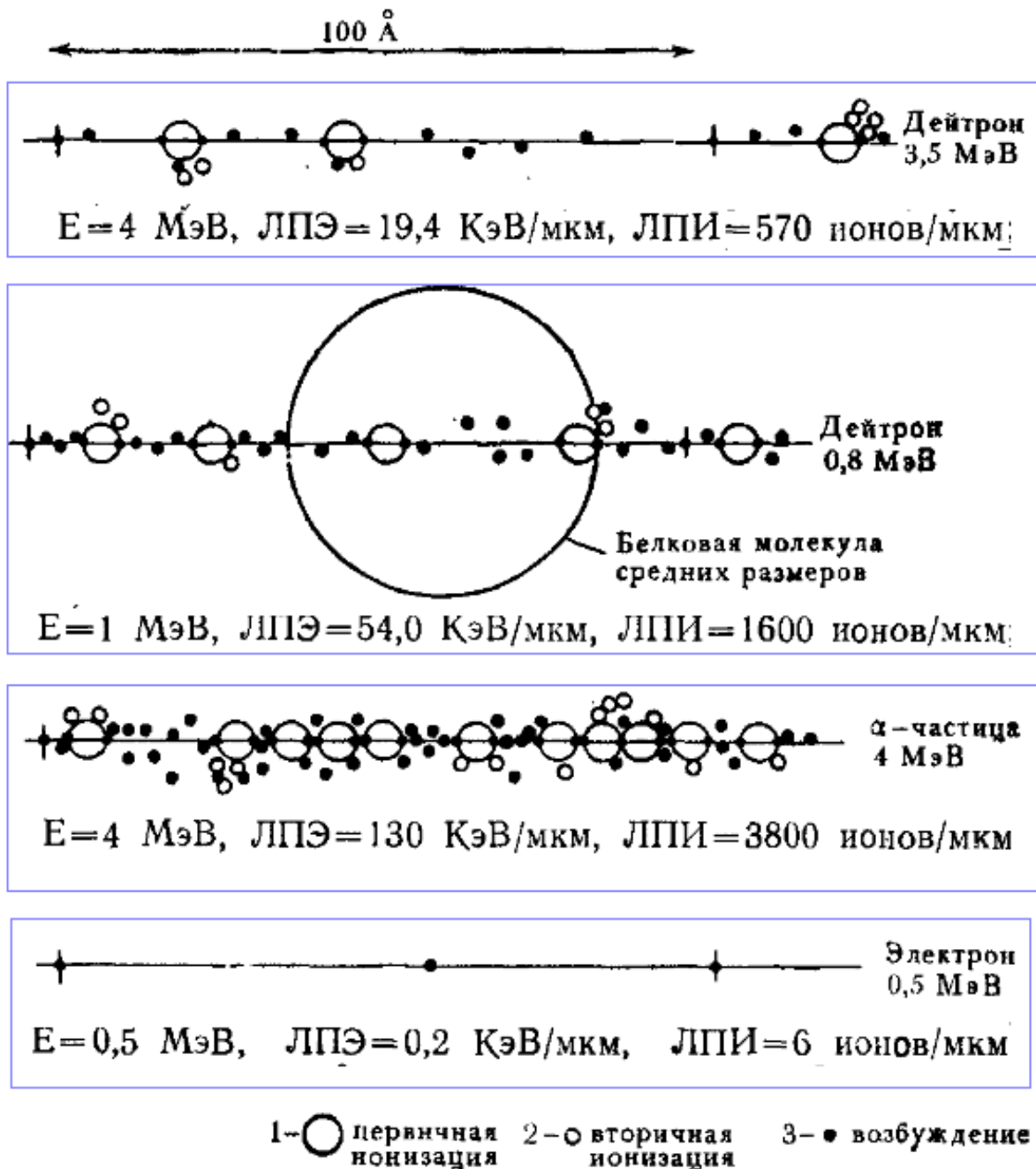
Выживаемость культуры Т-клеток почки человека при действии различных типов ионизирующих частиц (по Барендсену, 1964): 1 — α-частицы с энергией 2,5 МэВ, ЛПЭ = 165 КэВ/мкм; 2 — α-частицы с энергией 27 МэВ, ЛПЭ = 25 КэВ/мкм; 3 — дейтроны с энергией 3,0 МэВ, ЛПЭ = 20 КэВ/мкм; 4 — рентгеновские лучи, 20 кВ, ЛПЭ = 6 КэВ/мкм; 5 — рентгеновские лучи, 250 кВ, ЛПЭ = 2,5 КэВ/мкм; 6 — β-частицы с максимальной энергией 2,2 МэВ, ЛПЭ = 0,3 КэВ/мкм



[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#08]

Траєкторії (треки) частинок в речовині





[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#09]

- Лінійна передача енергії (ЛПЕ, L – linear energy transfer) – енергія, яку передає іонізуюче випромінювання в речовині на одиницю довжини пробігу:

$$L = \frac{dE}{dl} = \frac{\text{енергія, яку передала частинка речовині, KeV}}{\text{відстань, яку пройшла частинка, мкм}}$$

- гальмівна здатність речовини - показник ЛПЕ, незалежний від густини речовини:

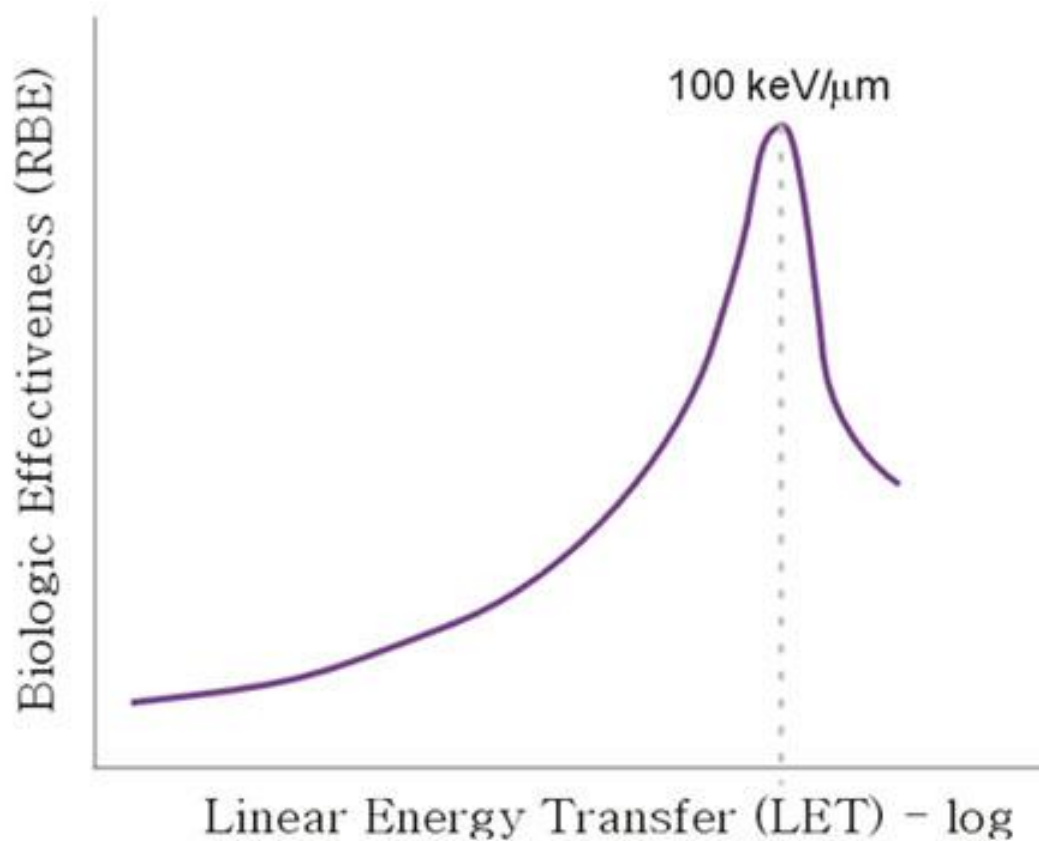
$$L = \frac{dE}{dl \cdot \rho} = \frac{MeV}{cm^2 \cdot z}$$

L пропорційна квадрату заряду частинки.

	High LET	Low LET	
particles	$\left\{ \begin{array}{l} \alpha \\ p \end{array} \right.$	e^-	$\left. \begin{array}{l} \text{"electrons"} \end{array} \right\}$
		$\left. \begin{array}{l} \beta^- \\ \beta^+ \end{array} \right\}$	
		$\left. \begin{array}{l} \gamma \text{ ray} \\ x \text{ ray} \end{array} \right\}$	electromagnetic radiation

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#10]

Зв'язок між біологічною ефективністю та лінійною передачею енергії:



[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#11]

Відносна біологічна ефективність різних видів випромінювань

$$\text{ОБЭ} = \frac{\text{биологическая эффективность исследуемого излучения}}{\text{биологическая эффективность рентгеновского излучения с энергией примерно 200 кэВ}} = \frac{\text{поглощенная доза, необходимая для получения данного биологического эффекта при воздействии рентгеновским излучением 200 кэВ (в грэях)}}{\text{поглощенная доза исследуемого излучения, необходимая для получения того же биологического эффекта (в грэях)}}$$

(100 пар іонів на 1 мкм шляху в воді)

Взвешивающие коэффициенты для отдельных видов излучения.

Вид излучения	Значение W_R
Фотоны (кванты) любых энергий	1
Рентгеновское, гамма	1
Электроны (бета- частицы любых энергий), позитроны	1
Нейтроны с энергией менее 10 кэВ	5
От 10 кэВ до 100 кэВ	10
От 100 кэВ до 2 МэВ	20
От 2 МэВ до 20 МэВ	10
Более 20 МэВ	10
Протоны с энергией более 2 МэВ	5
Альфа – частицы, осколки деления, тяжёлые ядра	20

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#12]

Етапи дії іонізуючих випромінювань на біологічні об'єкти:

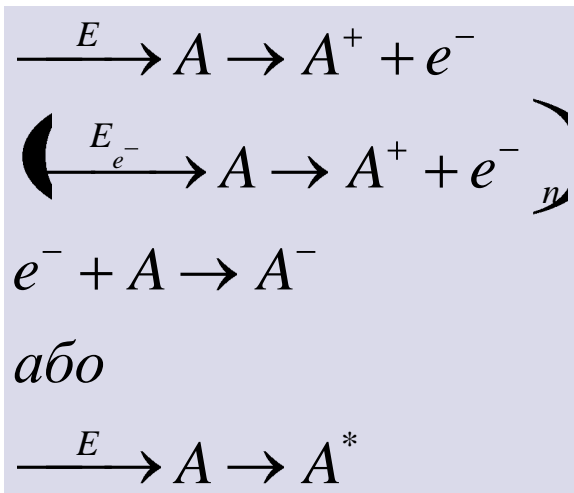
Порядок величини τ	
10^{-13} - 10^{-10}	1. Фізико-хімічний етап: іонізація і збудження атомів і молекул,
10^{-7}	2. Хімічний етап: утворення вільних радикалів,
10^{-6}	3. Біомолекулярний етап: пошкодження білків, нуклеїнових кислот, ліпідів,
Сек.-доби	4. Ранні біологічні ефекти: загибель клітин, організму,
Роки	5. Віддалені біологічні ефекти: пухлини, генетичні аномалії, загибель організму

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#13]

1-й етап дії іонізуючих випромінювань на біологічні об'єкти:

Фізична стадія дії ІВ ($t = 10^{-13}$ с) : вся енергія фотонів і частинок повністю витрачається на іонізацію атомів і молекул тканини:

1 етап – **первинна іонізація**: електрону надається енергія, достатня для виходу за межі атома з наступною іонізацією атомів і молекул:



2 етап – **вторинна іонізація**: вільні електрони, вибиті з атомів речовини іонізуючим випромінюванням, у свою чергу, також здійснюють іонізацію

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#14]

Іонізація біологічних тканин

- На іонізацію атомів H, N, O, C, S, P затрачається 10-15 еВ. На їх збудження затрачається – в декілька разів менше енергії. Загалом, на формування 1 пари іонів витрачається ≈ 34 еВ.
- Таким чином, стехіометрія

іонізовані атоми : збуджені атоми = 1 : (2-4)

Суспензія клітин

Трек $l = 13$ мкм, густина іонізації $= 2.5 \cdot 10^3$ пар іонів/мкм шляху,

Сумарний трек δ -електронів = 26 мкм

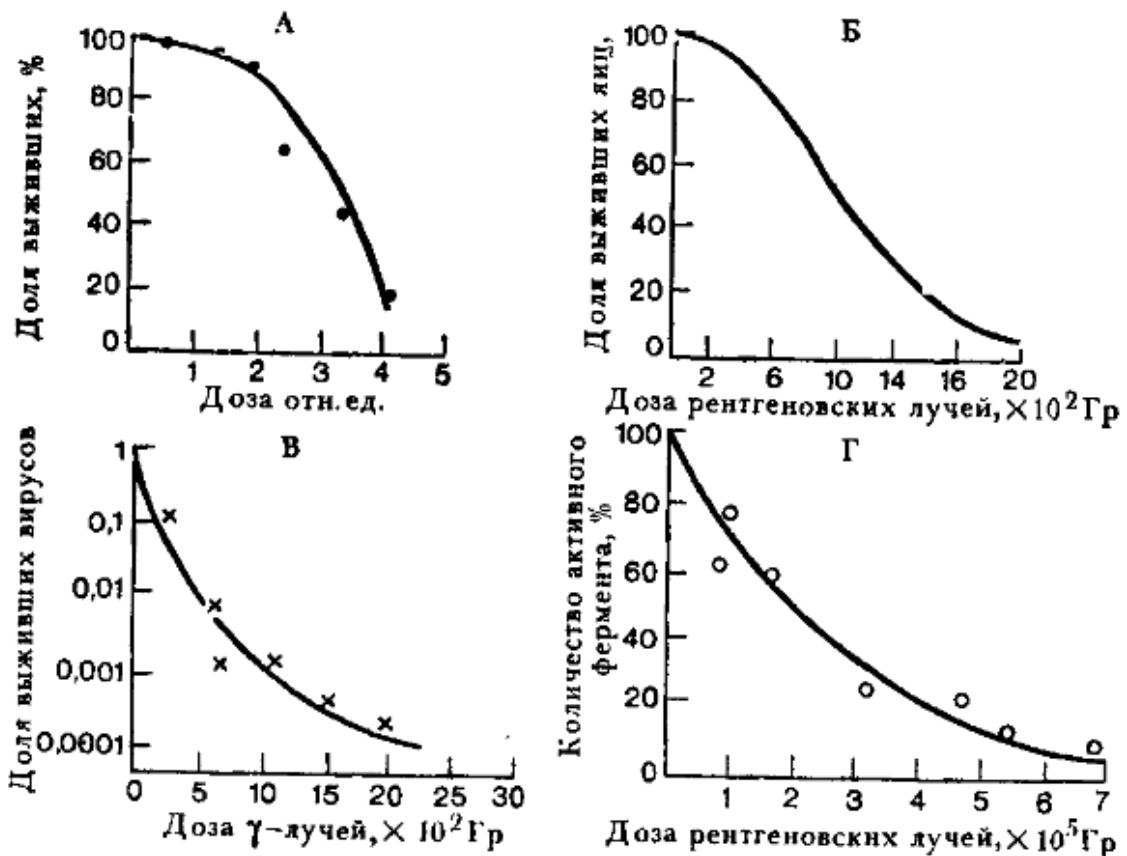
Комптонівська взаємодія індукувала виліт e^- , середня енергія $e^- = 45$ кеВ, густина іонізації $= 8.5$ пар іонів/мкм шляху

Рентгенівське випромін. $E = 200$ кеВ



[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#15]

Феноменологія дії іонізуючих випромінювань на різноманітні біологічні об'єкти:



Зависимость биологического эффекта от дозы облучения: А — гибель инфузорий *Colpidium colpoda* через 2 часа после облучения (Крутер, 1926), Б — гибель яиц аскариды после облучения в аэробных условиях (Браун, Хольтузен, 1929), В — инактивация вируса табачной мозаики γ -лучами (Ли, Смит, 1940), Г — инактивация сухой рибонуклеазы (Ли др., 1944)

При min дозі спостерігається деяка кількість вражених об'єктів (клітин, молекул фермента, вірусів), а при max дозі — навпаки — ще є деяка кількість невражених об'єктів

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#16]

Уявлення про механізм біологічної дії іонізуючих випромінювань

Кількісні концепції:

- Принцип влучення і теорія мішені,
- Стохастична гіпотеза і ймовірнісна модель радіаційного враження

Якісні концепції:

- Гіпотеза первинних радіотоксинів і ланцюгових реакцій,
- Структурно-метаболична гіпотеза

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#17]

Гіпотеза

“точкового

нагрівання”

як індуктора вражень біологічних об'єктів іонізуючими випромінюваннями (Ф. Дессауер, 20-ті рр. 20-го ст.)

1. ІВ має дуже малу об'ємну густину (порівняно з неіонізуючими випромінюваннями енергетично еквівалентної дози),
2. Усі ІВ володіють енергією, яка значно перевищує енергію хімічних зв'язків,

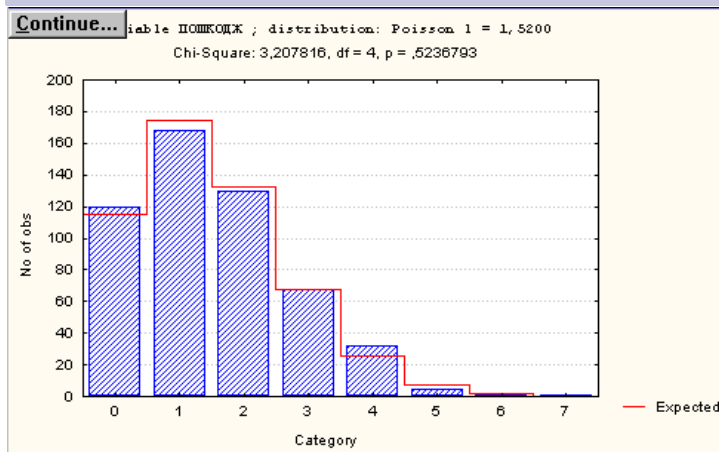
3. Біологічні об'єкти (зокрема, клітини) складаються з частин, які мають різну функціональну важливість,
4. При опроміненні відбувається локальне нагрівання окремих мікрооб'ємів ("точкове тепло"), яке може призводити практично до будь-яких змін в їх структурі,
5. Оскільки розподіл "точкового тепла" є суто статистичним, то кінцевий ефект опромінення буде залежати від потрапляння випадкових дискретних порцій енергії в життєво важливі мікрооб'єми всередині об'єкту (клітини). Ймовірність такого потрапляння залежить від дози ІВ. Таким чином, навіть дуже мала доза з малою ймовірністю може викликати екстремальний біологічний ефект.

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#18]

Базові твердження, які лягли в основу принципу влучення і концепції мішені (мішеней)

- Іонізуючі випромінювання переносять енергію у дискретному вигляді,
- Акти взаємодії випромінювання з об'єктом (**влучення**) не залежать один від одного і розподілені за законом Пуассона:

$$P_n(k) = \frac{a^k}{k!e^a}, \text{ де } a \approx N_0 p$$



- Ефект настає, коли число потраплянь в певну чутливу область об'єкта (**мішень**) становить не менше, ніж **n**.

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#19]

2. Теорія мішені. Принципи теорії мішені.

Принцип влучення і мішені: в організмах можна виділити частини з надзвичайною (порівняно з іншими частинами) чутливістю до іонізуючого випромінювання, влучення в які призводить до враження всього об'єкта.

Мішень — чутлива частина об'єкта (наприклад, ДНК клітини), влучення в яку іонізуючого випромінювання призводить до враження усього об'єкта.

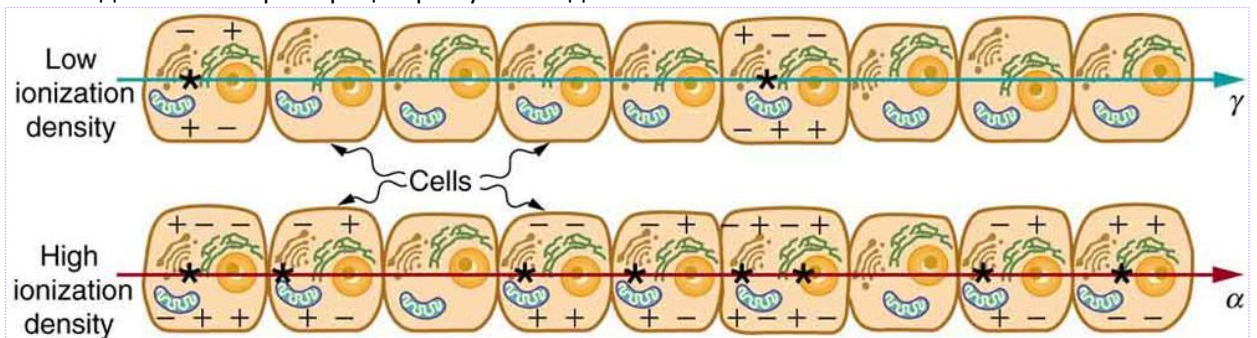


М.В. Тимофеев-Рессовський, 1946 р.

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#20]

Одноударна мішень

- Одноударна мішень: влучення в певну чутливу область (мішень), під час якого відбувається одиничний перенос деякої мінімальної кількості енергії, достатньо для досягнення і реєстрації ефекту пошкодження.



- Нехай ми опромінюємо систему, яка складається з N_0 об'єктів, кожен з яких має мішень (з площею перерізу s і об'ємом v).
- Нехай для інактивації системи достатньо, щоб трек ІВ пройшов через переріз мішені (ця подія - **потрапляння**)
- Такі передбачення експериментально підтверджуються для ІВ з високою щільністю іонізації (α -випромінювань)

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#21]

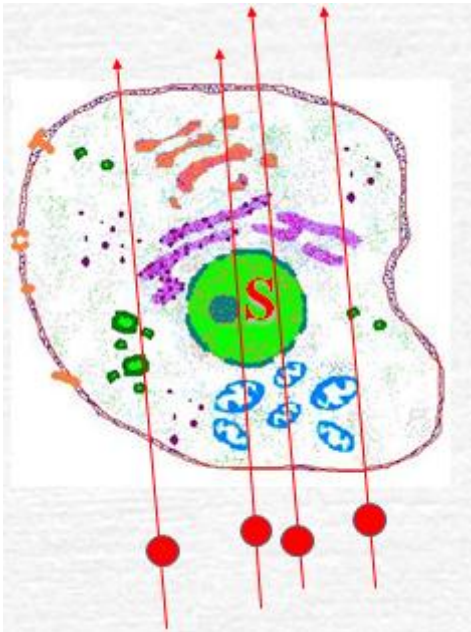
Кількісні закономірності теорії мішені:

- Коли траєкторії частинок розподіляються в межах мішені випадковим чином, то ймовірність n -потраплянь в мішень:

$$P_n(k) = \frac{a^k}{k!e^a}, \text{ де } a \approx N_0 p$$

a –найімовірніша (і середня) кількість потраплянь в мішень

- Коли D – середня кількість частинок, які пролітають через одиничний переріз s (і s – переріз мішені), тоді



[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#22]

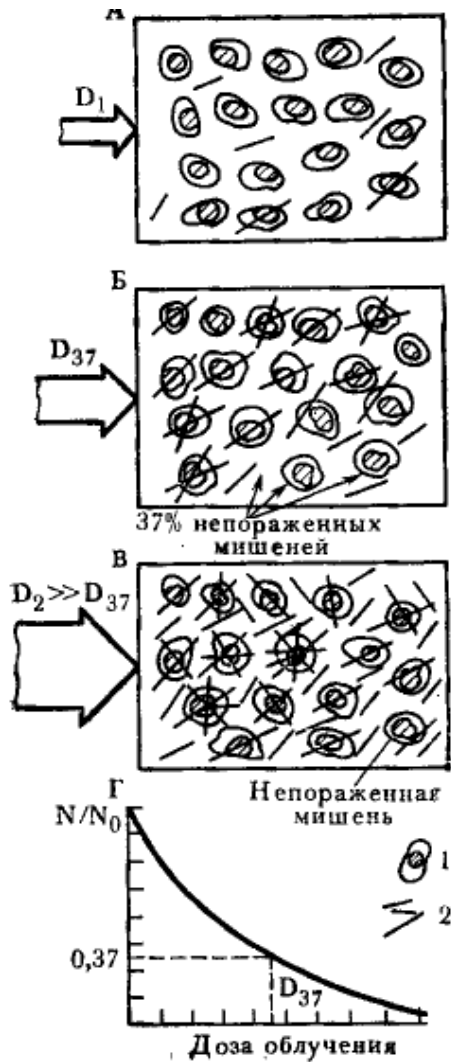
Кількісні закономірності теорії мішені (продовження):

- Коли N_0 – загальна кількість об'єктів (клітин тощо) в опромінюваній системі, а N – кількість клітин, в які не влучило ІВ (“вижили”), то ймовірність непотрапляння (N/N_0) (при $n=0$):

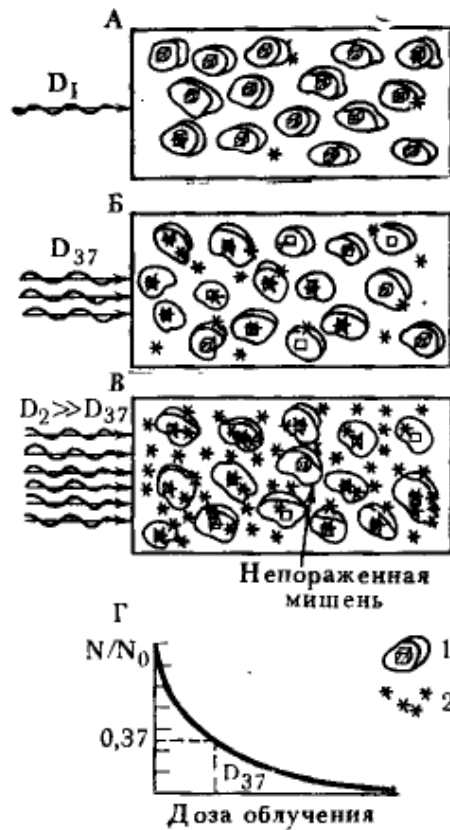
$$\frac{N}{N_0} = \frac{(sD)^0}{0!e^{(sD)}} = e^{-sD}$$

- При $sD=1$ виживають 37% об'єктів. Відповідна доза –
- D_{37} – доза ІВ, яку називають: 37%-ова, інактивуюча, середня летальна.
- За цих умов теоретично на 1 мішень припадає 1 частинка ІВ.

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#23]



Зависимость между числом пораженных мишеней и поглощенной дозой: 1 — объект с мишенью сечением S , 2 — треки частиц



Зависимость между числом непораженных объектов и дозой γ - или рентгеновского облучения: 1 — объект с мишенью объемом V , 2 — акты ионизации

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#24]

3. Эффективный об'єм мішені

- Коли розглянути електромагнітні ІВ, які характеризуються значно меншою густиною іонізації, можна визначити також **ефективний об'єм одноударної мішені**.
- Нехай в системі є N_0 об'єктів з мішенню об'ємом v , причому для її інактивації достатньо одної іонізації. Ймовірність потраплення в мішень n -разів описується законом:

$$P_n(k) = \frac{a^k}{k!e^a}, \text{ де } a = vD$$

- Знову, при $n=0$:

$$\frac{N}{N_0} = \frac{(vD)^0}{0!e^{(vD)}} = e^{-vD}$$

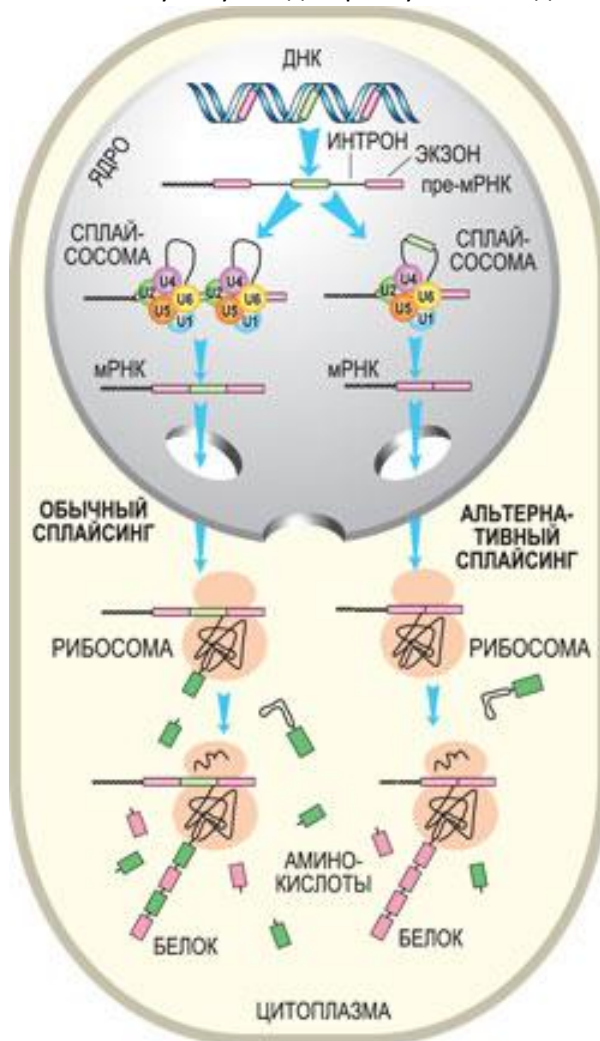
Аналогічно: при $vD=1$ маємо дозу D_{37} і можемо визначити ефективний об'єм мішені:

$$v = 1 / D_{37}$$

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#25]

4. Унікальні та масові структури клітини. Багатоударні мішені.

- Надійність біологічної системи – це її здатність виконувати специфічні функції з заданими характеристиками протягом необхідного періоду часу.
- Надійність клітини як біологічної системи в значній мірі залежить від неушкодженості **унікальних структур клітини** – зокрема, ДНК, яке знаходиться в одиничній копії (особливо, у випадку гаплоїдних клітин).
- Інші макромолекули формують **масові структури клітини** (зокрема, це РНК), оскільки вони можуть бути відтворені у непошкодженому стані.



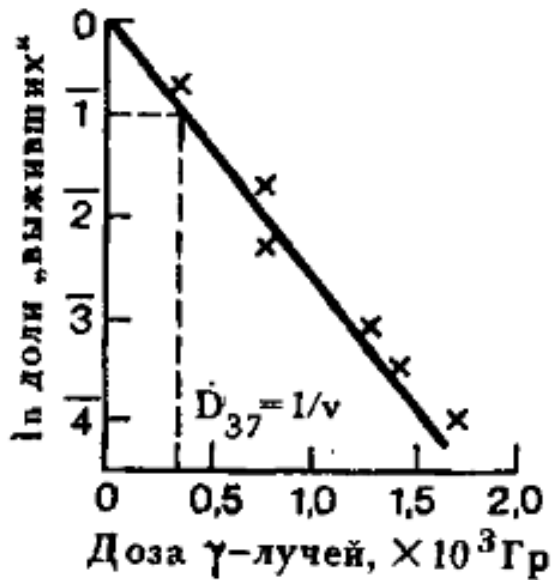
[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#26]

Одноударні та багатоударні мішені

- Критерії одноударності мішені:

1- лінійність графіка в координатах $[\ln(N/N_0) ; D]$:

2- ефект, який спричиняє певна поглинута доза не залежить від потужності дози і від того, якими частинами об'єкт отримував дозу,



Коли умова не виконується – має місце кумулятивний ефект

3- при однаковому ефекті доза, яка його спричиняє, зростає при переході від ІВ з низькою до ІВ з високою густиною іонізації

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#27]

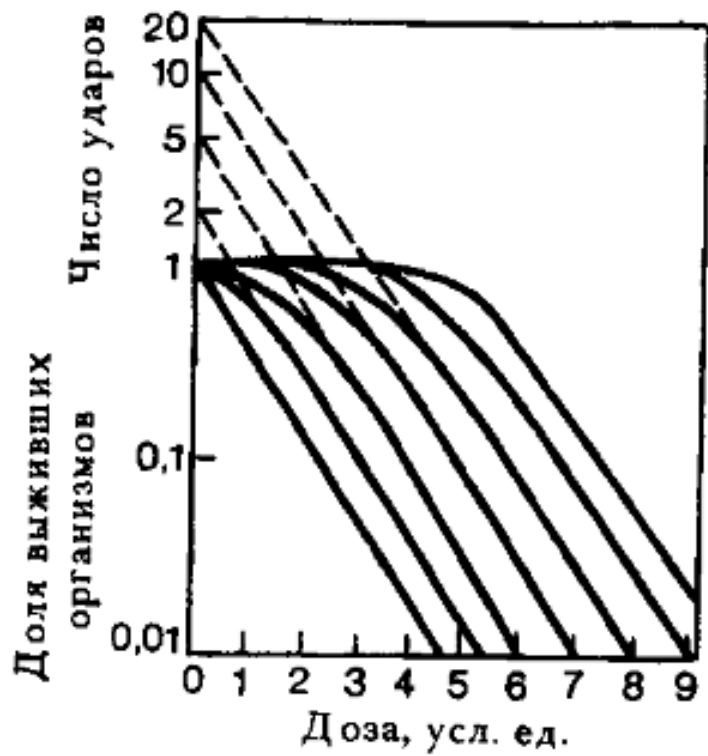
Багатоударні мішені

Критерії багатоударності мішені:

- 1- лінійність графіка в координатах $[\ln(N/N_0) ; D]$ втрачається:
Чим вища “ударність” мішені, тим більш виражене “плече”

2 – теоретична залежність:

$$\frac{N}{N_0} = e^{-aD} \sum_{k=0}^{n-1} \frac{(aD)^k}{k!}$$



[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#28]

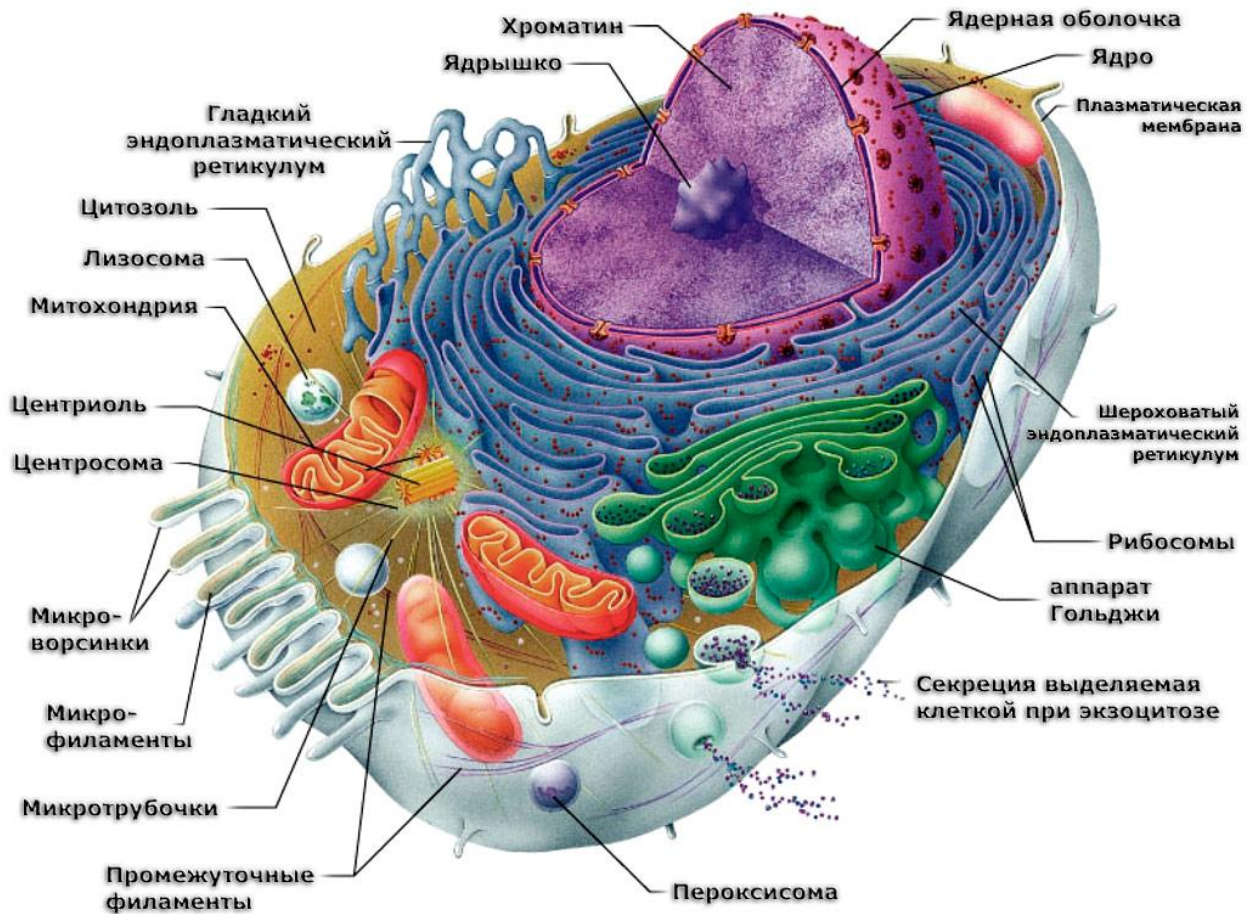


Рис. Зовсім уніфікована клітина

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#29]

Загальна схема клітинної відповіді на дію іонізуючих випромінювань:

EFFECTS OF IONIZING RADIATION ON CELLULAR RESPONSE SYSTEMS

RADIATION SENSORS / ROS, RNS AMPLIFIERS



SIGNAL TRANSDUCTION

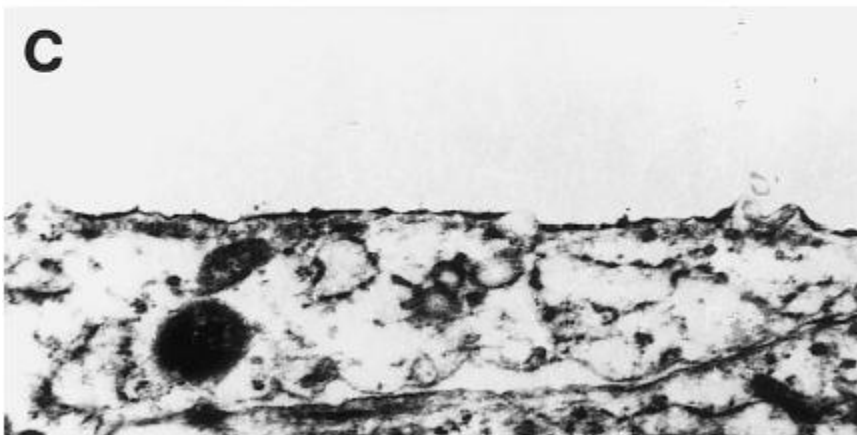
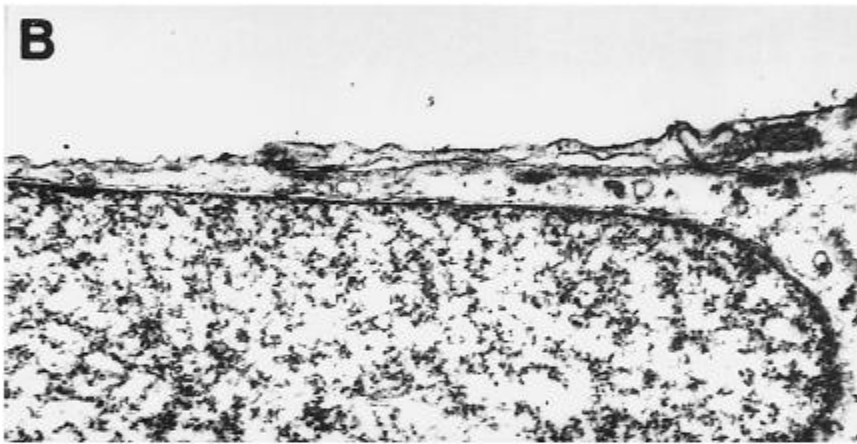


CELL CYCLE CONTROL
DNA DAMAGE REPAIR



CYTOPROTECTION
SURVIVAL

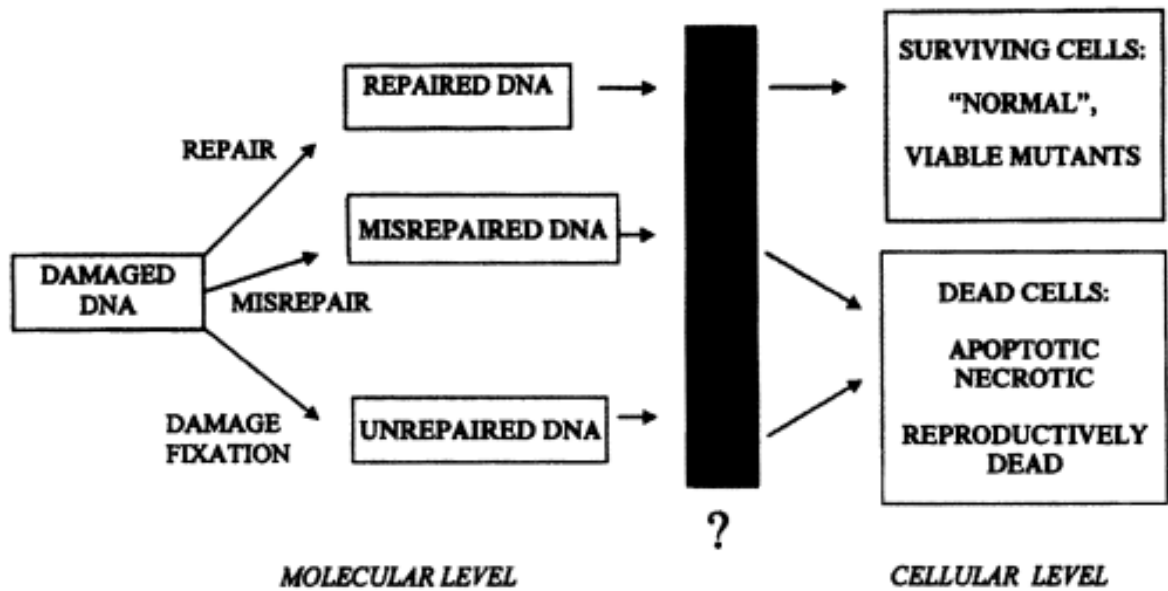
CYTOTOXICITY
DEATH: APOPTOSIS/
REPRODUCTIVE DEATH



Binding of CF on (a) non-exposed primary human fibroblasts and (b) 10 min; (c) 1 h 2.5 Gy X-irradiation. Bar: 0.5 μ m.

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#30]

Центральна догма радіобіології

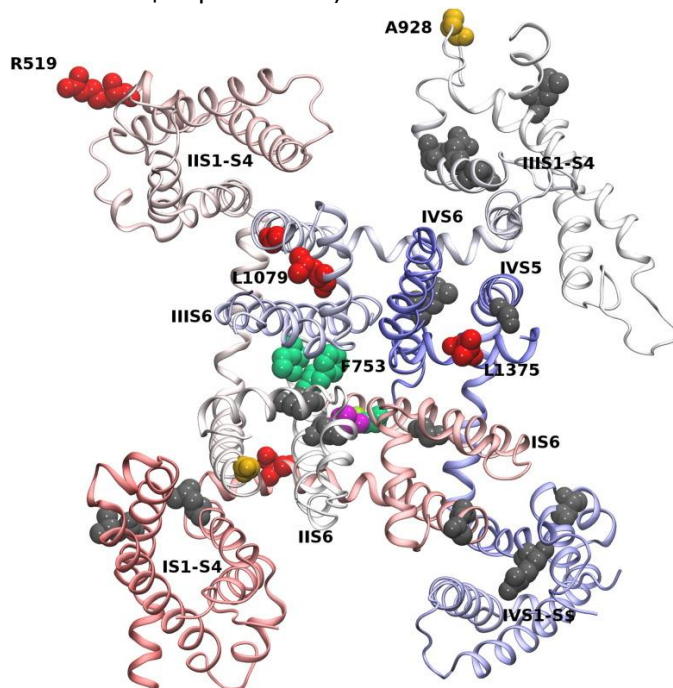


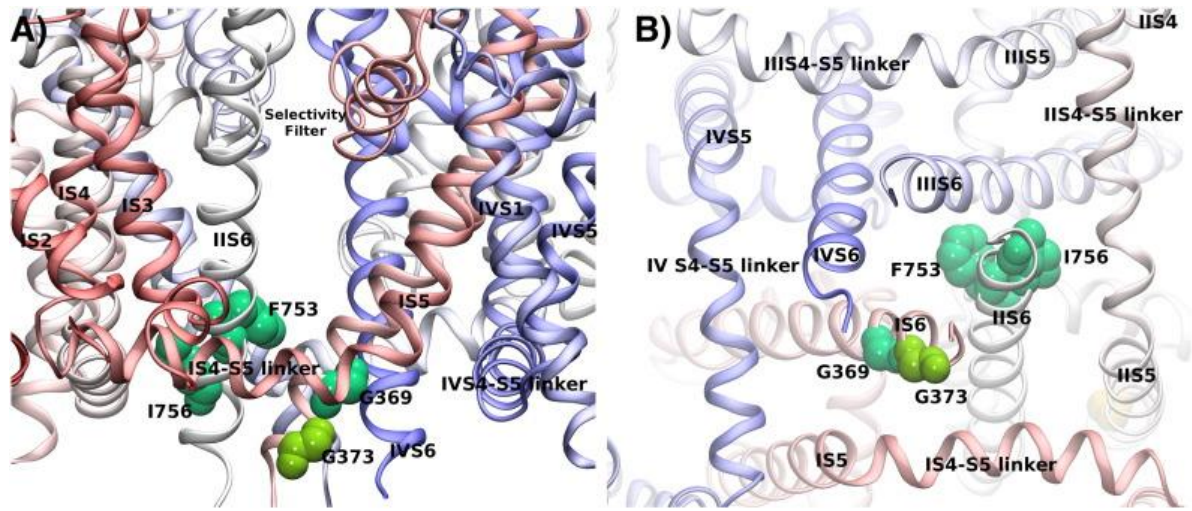
The “central dogma” of radiation biology: DNA damage and repair studied at the molecular level are causally related to the radiation effects studied at the cellular level. The detailed mechanisms are in the “black box”.

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#31]

5. Роль цитоплазми і ядра в розвитку радіаційного ураження клітини

Білкові макромолекули цитоплазми: пошкодження первинної структури (руйнування амінокислот) -> порушення вторинної структури -> зміна конформації -> порушення функції (зокрема, при зміні активного центра ензимів)





[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#32]
 Загальна схема пошкодження і відновлення ДНК

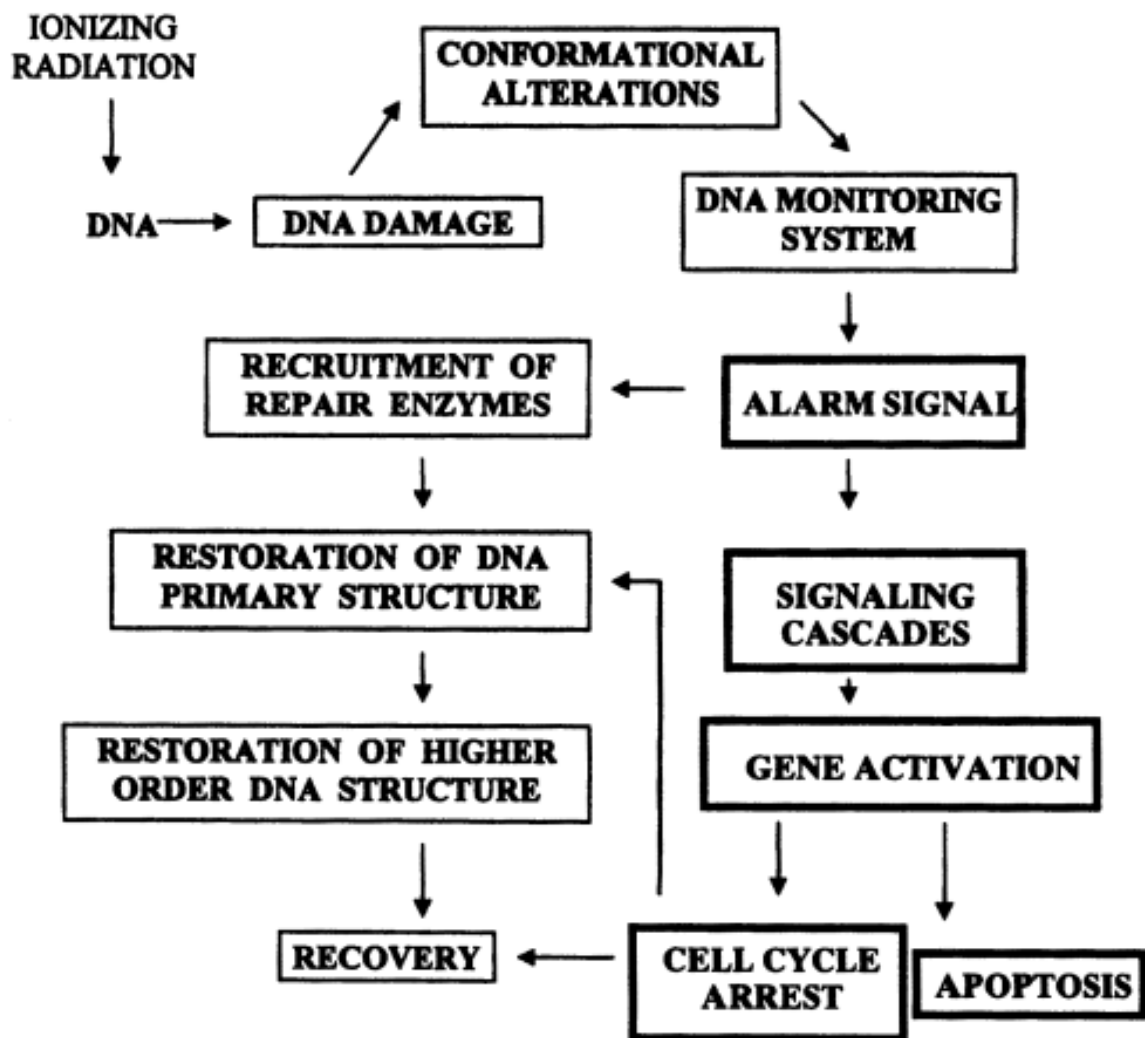


FIG. 2. Two interconnected chains of events in the irradiated mammalian cell. One is the DNA damage-repair-superstructure restoration sequence and the other consists of alarm signal-dependent events.

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#33]

6. Цитоскелет як мішень у разі дії іонізуючих випромінювань.

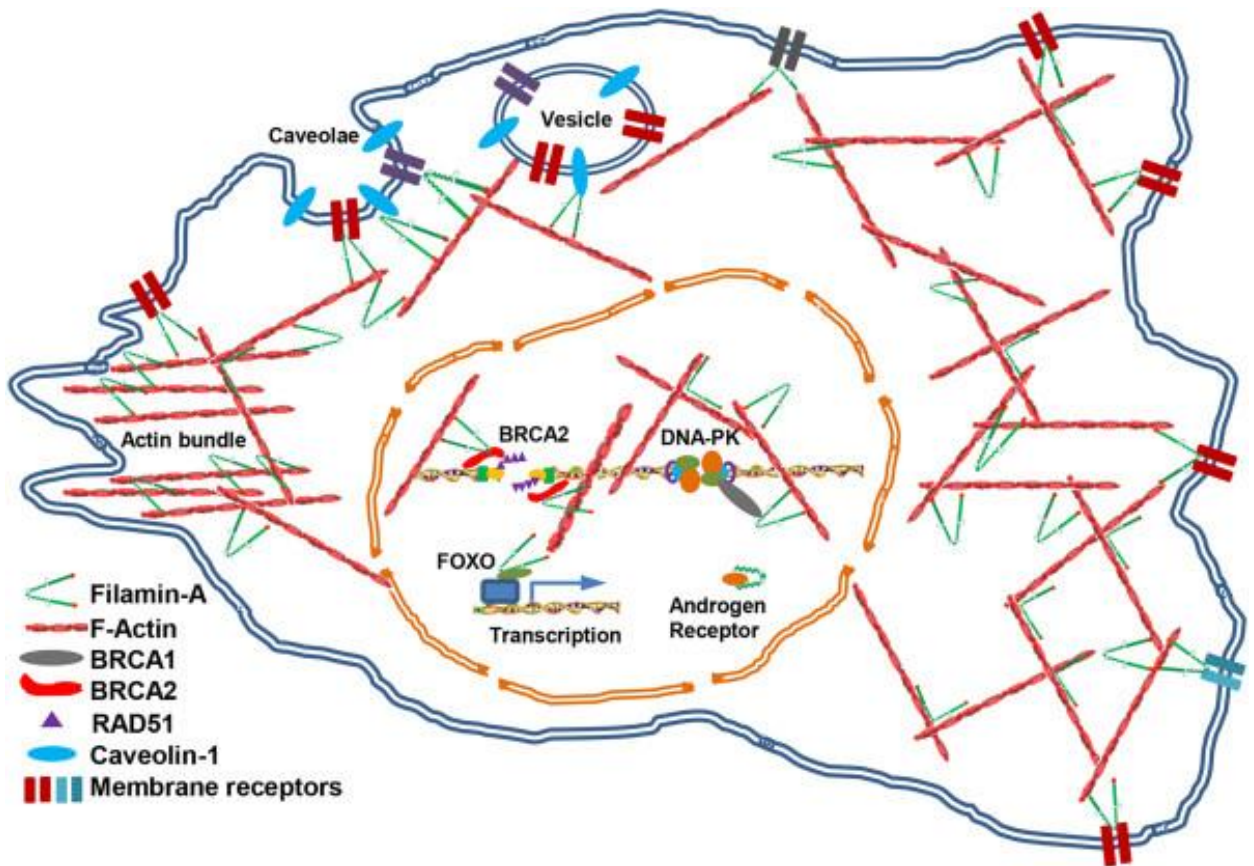


Схема структури цитоскелету нескоротливих клітин

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#34]

Точкова мутація і як наслідок – патологія

Diseases associated with mutations in Ca_v1.2, Ca_v1.3 and Ca_v1.4 LTCCs.

LTCC	Disease/syndrome (abbreviation)	Mutation(s)	Number of affected families/individuals (as far as described clearly in the references)
Ca _v 1.2	Timothy syndrome (TS)	p.Gly402Ser, p.Gly406Arg (exons 8 and 8A)	17 patients (4 case studies), refs. 3, 4
	Brugada syndrome (BS)	p.Ala39Val, p.Gly490Arg, p.Glu850del, p.Glu1115Lys, p.Glu1829_Gln, 1833dupl, p.Val2041Ile,	2 patients, ref. 1
	BS & short QT (SQT)	p.Cys1837Tyr, p.Arg1880Gln, p.Asp2130Asn	9 patients, ref. 2
	Early repolarization syndrome (ERS)		1 patient, ref. 2
Ca _v 1.3	Sinoatrial node dysfunction and deafness (SANDD)	p.403_404insGly	2 Pakistani families/6 affected males, 1 affected female, ref. 6
Ca _v 1.4	Congenital stationary night blindness type 2 (CSNB2)	Exonic mutations (see Table 2) Intronic splice site mutations: IVS4-2A>G, 2387-1(G>C), 2673+3(G>A), 2674-2,3(delCA), 2571+1G>C, IVS24+1G>A, IVS28-1 GCGTC>TGG, 3942+2(T>A), 3942+2(T>A), 4101-1(G>C), IVS40-2A>G	Missense: 33 families, refs. 7–11, 14, 16, 17, 23, 24 Truncations: 24 families, refs. 7–11, 17, 24 Deletions/insertions: 35 families, refs. 7–12, 21, 23 Splice site mutations: 11 families, refs. 9–11
	X-linked retinal disorder (XRD) similar to CSNB2 but more severe phenotype	p.Ile745Thr	1 New Zealand (Maori) family, ref. 16
	Cone-rod dystrophy (CORDX3)	Splice site mutation: IVS28-1 GCGTC>TGG	1 Finnish family/7 affected males, 10 female carriers, 33 non-affected family members, ref. 19
	Åland Island eye disease (AIED)	p.del1211–1247	1 Finnish family/6 samples from affected males, ref. 21
	Night-blindness-associated transient tonic downgaze (NATTD)	p.Trp349stop, p.Gly359Arg, p.Pro1489Arg	8 boys, among those 2 pairs of maternally related half-brothers, 2 cousins, and 2 siblings, ref. 24

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#35]

7. Структурно-метаболична теорія.

Принцип багатофакторності проявів радіобіологічних реакцій, який передбачає наступні спільні властивості:

- 1 – передавання енергії ІВ здійснюється дискретно,
- 2 – ІВ діють не тільки безпосередньо, але й опосередковано,
- 3 – для всіх клітинних структур характерні радіобіологічні ефекти,

4 – генетичні зміни успадковуються,

5 – у клітині одночасно відбувається не лише пошкодження, але й відновлення (репарація),

6 – будь-який радіобіологічний ефект розвивається в часі.

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#36]

Тригер-ефектори

- ☛ **Тригер-ефектори (хінони, гормони тощо)** – речовини, які виникають при опроміненні клітин і, залежно від концентрації, здатні здійснювати депресорну або репресорну дію на геном клітини.

[sheva_medu_mag01_CHUMBALYK_L_2_RB#37]

Основные пределы доз. Основні межі доз

Основные пределы доз

Нормируемые величины	Пределы доз	
	Персонал (группа А)	Население
Эффективная доза	20 мЗв в год в среднем за любые последовательные 5 лет, но не более 50 мЗв/год	1 мЗв в год в среднем за любые последовательные 5 лет, но не более 5 мЗв/год
Эквивалентная доза за год в: хрусталике глаза, коже, кистях и стопах	150 мЗв 500 мЗв 500 мЗв	15 мЗв 50 мЗв 50 мЗв