



BIOFIZYKA RADIACYJNA

wykład #5

Krzysztof Wojciech Fornalski

Wydział Fizyki, Politechnika Warszawska





PRZYPOMNIENIE Z POPRZEDNIEGO WYKŁADU

ENERGIA PRZEKAZANA (ϵ)

ang. energy imparted to matter

Jest to energia przekazana przez promieniowanie jonizujące materii w danej objętości

$$\epsilon = \sum R_{\text{in}} - \sum R_{\text{out}} + \sum Q$$

Jednostka: [J]

gdzie:

$\sum R_{\text{in}}$ – suma energii, z wyjątkiem energii spoczynkowej cząstek jonizujących, które weszły do danego obszaru;

$\sum R_{\text{out}}$ – suma energii, z wyjątkiem energii spoczynkowej cząstek jonizujących, które wyszły z danego obszaru;

$\sum Q$ – różnica energii uwolnionej w przemianach jąder i cząstek elementarnych, jakie dokonały się w danym obszarze i energii zużytej na wywołanie tych przemian.

Dawka pochłonięta, **D**

- ◆ Jest to energia promieniowania zdeponowana w jednostce masy napromienionej substancji:

$$D = \frac{d\bar{\varepsilon}}{dm}$$

- ◆ Jednostka: **grej** [Gy] $\rightarrow 1 \text{ Gy} = 1 \text{ J/kg}$
- ◆ Jest to najbardziej fizyczne pojęcie dawki

LET (linear energy transfer)

- ◆ Inaczej liniowy przekaz energii, czyli ilość energii zdeponowana na jednostkę przebytej drogi przez cząstkę jonizującą

$$L_{\Delta} = \frac{dE_{\Delta}}{dx}$$

- ◆ Przykładowo: fotony posiadają niskie LET (stąd $w_R=1$), zaś cząstki alfa wysokie LET (stąd $w_R=20$)

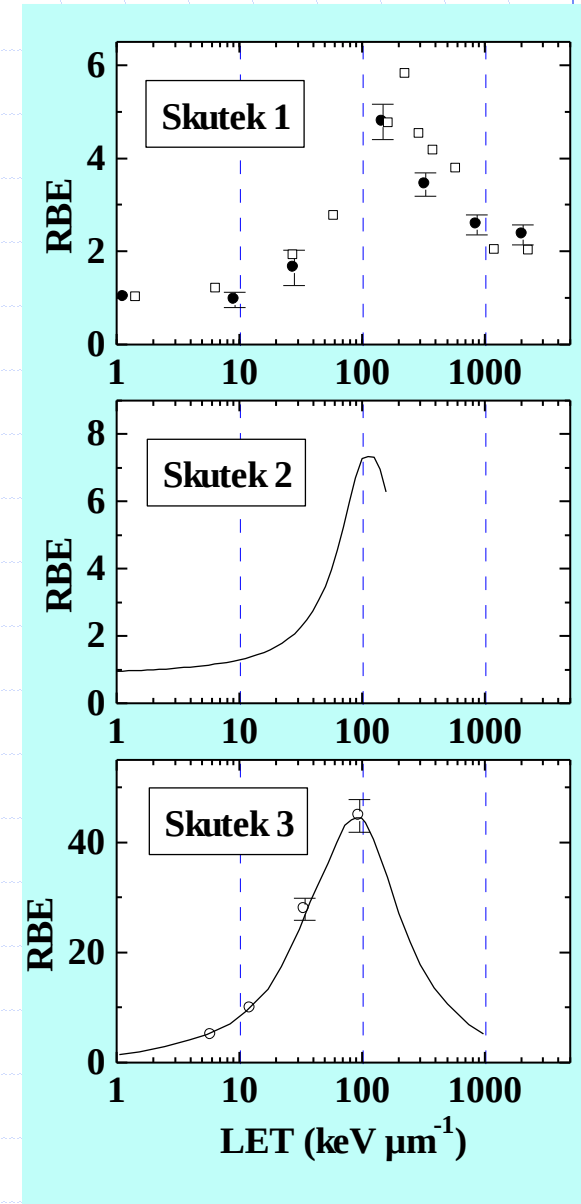
Przykładowe wartości LET

Promieniowanie	Energia	LET [keV/mm]
Prom. X/gamma	250 keV	3,0
	3 MeV	0,3
Co-60	1,17 i 1,33 MeV	0,3
β^-	10 keV	2,3
Neutrony	1 MeV	0,25
	2,5 MeV	20
	19 MeV	7
Protony	2 MeV	16
α	5 MeV	100
Fragm. rozsz.	wysoka	5000

RBE (relative biological effectiveness)

Wartości względnej skuteczności biologicznej - RBE (relative biological effectiveness) zostały określone jako stosunek dawek pochłoniętych dwóch rodzajów promieniowania, jeśli w identycznych warunkach napromienienia, dawki te powodują ten sam, określony efekt biologiczny.

Innymi słowy, jest to wartość dawki promieniowania referencyjnego (dla którego przyjęto $RBE=1$) podzielona przez odpowiednią wartość dawki promieniowania rozpatrywanego, powodująca ten sam skutek.



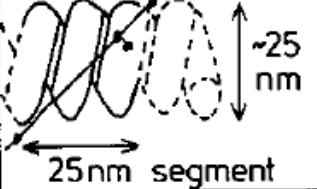
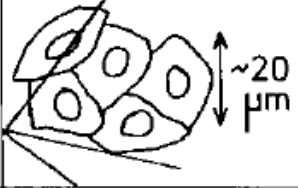
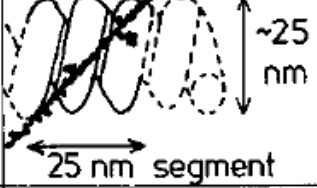
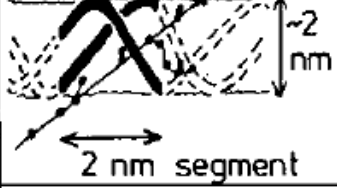
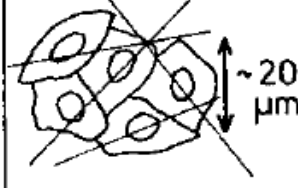
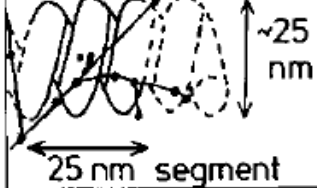


ELEMENTY MIKRODOZYMETRII

Czym jest mikrodozymetria

- ◆ Mikrodozymetria bada przestrzenny i czasowy rozkład energii pochłoniętej w napromienionej materii. W przeciwieństwie do dozymetrii, skupiającej się na makroskopowych wartościach takich jak dawka pochłonięta, mikrodozymetria zajmuje się analizą fizycznych właściwości promieniowania jonizującego, jego oddziaływaniem z materią oraz sposobem deponowania energii, ze szczególnym naciskiem na niejednorodności i stochastyczną naturę oddziaływań promieniowania z materią.

MICROSCOPIC CONSEQUENCES OF 1 cGy ABSORBED DOSE

	Whole tissue	Individual cells	Chromatin fibre (total ~5 cm per cell)	DNA (total ~2 m per cell)	Mean number lethal lesions per cell
<u>External</u> <u>γ-rays</u>		 ~20 μ m	 ~25 nm 25 nm segment	 ~2 nm 2 nm segment	~0.001
Dose uniformity	Uniform Dose = 1 cGy	~ Uniform Dose $\approx$ 1 cGy	Very large fluctuations Doses = 0 to $\sim 10^3$ Gy	Very large fluctuations Doses = 0 to $\sim 10^6$ Gy	
Mean number of tracks	10^9 gram $^{-1}$	~ 50 cell $^{-1}$ No cells unirradiated	~ 10^{-6} segment $^{-1}$ ~20 segments hit cell $^{-1}$	~ 10^{-8} segment $^{-1}$ ~10 segments hit cell $^{-1}$	
<u>Internal</u> <u>^{220}Rn</u> <u>(3 α's)</u>		 ~20 μ m	 ~25 nm 25 nm segment	 ~2 nm 2 nm segment	~0.01
Dose uniformity	Variable Doses = 0 to ~2 cGy	Large fluctuations Doses = 0 to ~30 cGy	Very large fluctuations Doses = 0 to $\sim 10^4$ Gy	Very large fluctuations Doses = 0 to $\sim 2 \times 10^6$ Gy	
Mean number of tracks	~ 10^7 gram $^{-1}$	~ 0.1 cell $^{-1}$ ~90% of cells unirrad.	~ 6×10^{-7} segment $^{-1}$ ~1 segment hit cell $^{-1}$	~ 10^{-8} segment $^{-1}$ ~10 segments hit cell $^{-1}$	
<u>External</u> <u>10 MeV</u> <u>neutrons</u>		 ~20 μ m	 ~25 nm 25 nm segment	 ~2 nm 2 nm segment	~0.005
Dose uniformity	Uniform Dose = 1 cGy	Large fluctuations Doses = 0 to ~5 cGy	Very large fluctuations Doses = 0 to $\sim 5 \times 10^3$ Gy	Very large fluctuations Doses = 0 to $\sim 10^6$ Gy	
Mean number of tracks	~ 10^7 gram $^{-1}$	~ 1 cell $^{-1}$ ~37% of cells unirrad.	~ 4×10^{-6} segment $^{-1}$ ~8 segments hit cell $^{-1}$	~ 10^{-8} segment $^{-1}$ ~10 segments hit cell $^{-1}$	

Istotne jest pojęcie toru cząstki (traku)

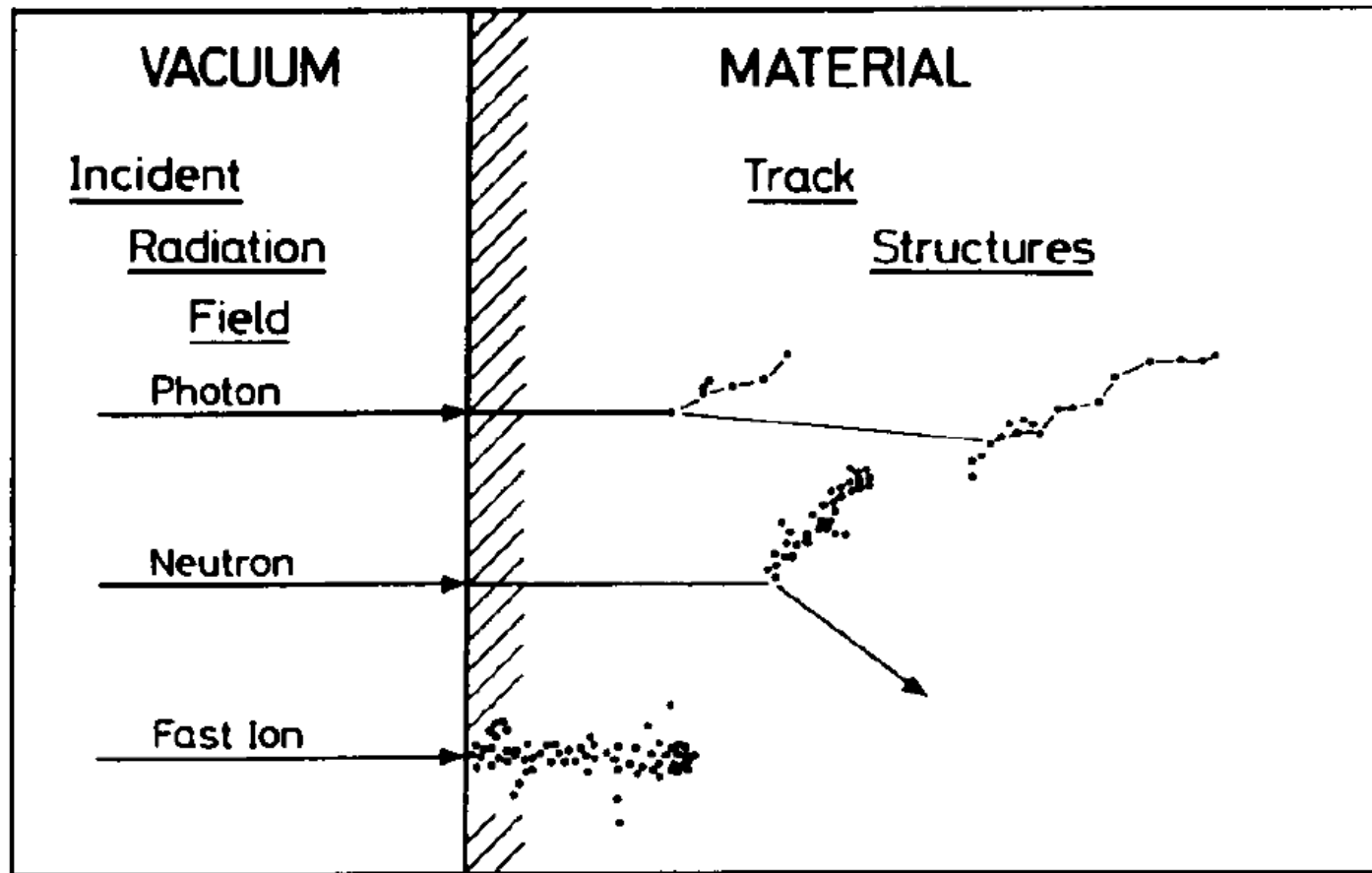
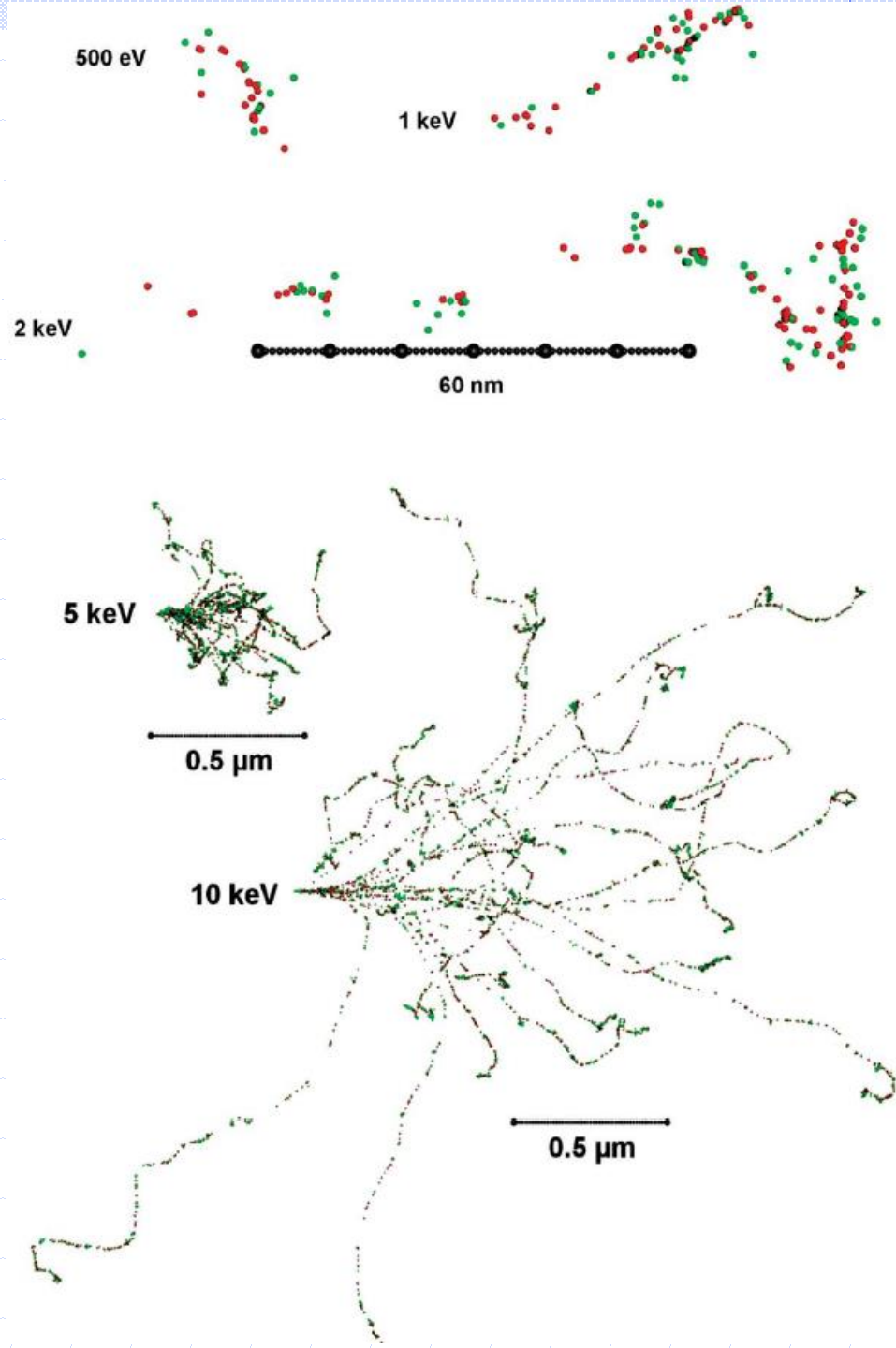
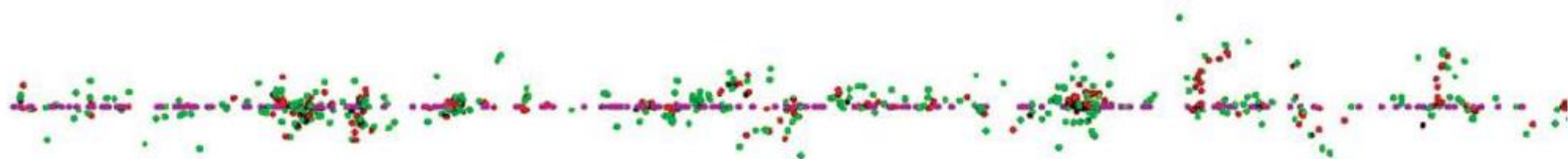


FIG. 2. Diagrammatic illustration of the production of tracks of charged particles in material irradiation with neutral particles (photons, neutrons) or heavier ions such as α particles or accelerated heavy ions. (Reproduced with permission from Paretzke, 1987.)

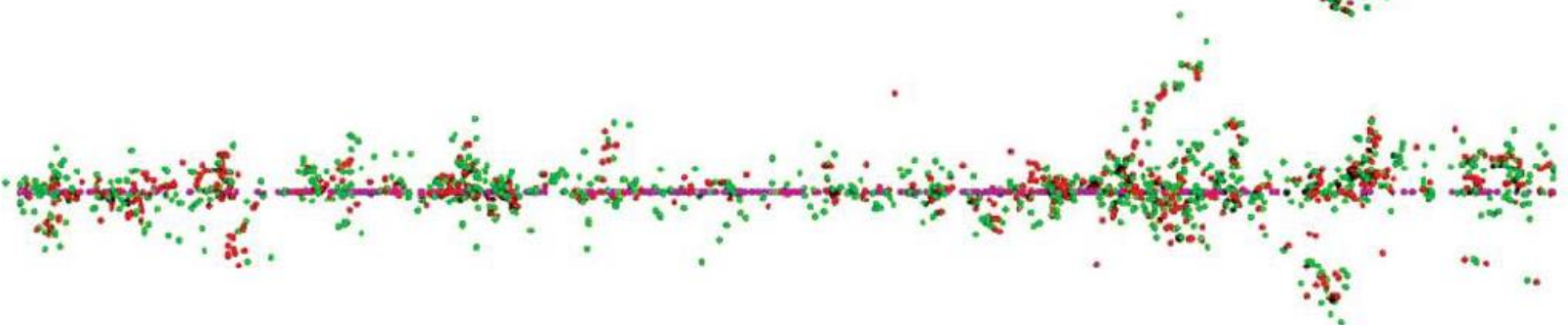
Rys. 1.1. Wyniki symulacji Monte-Carlo oddziaływania elektronów w wodzie. Założono, iż elektrony o zadanej energii biegną od lewej do prawej strony rysunku (przy dwóch różnych skalach długości). Punkty czerwone oznaczają akty jonizacji, a zielone – wzbudzenia. Na podstawie (ICRU, 2011).



0.5 MeV



3 MeV



60 nm

Rys. 1.2. Wyniki symulacji Monte-Carlo oddziaływania protonów (górny tor) oraz cząstek alfa (dolny tor) w wodzie. Założono, iż cząstki o zadanej energii biegną od lewej do prawej strony rysunku. Punkty czerwone oznaczają akty jonizacji, a zielone – wzbudzenia. Na podstawie (ICRU, 2011).

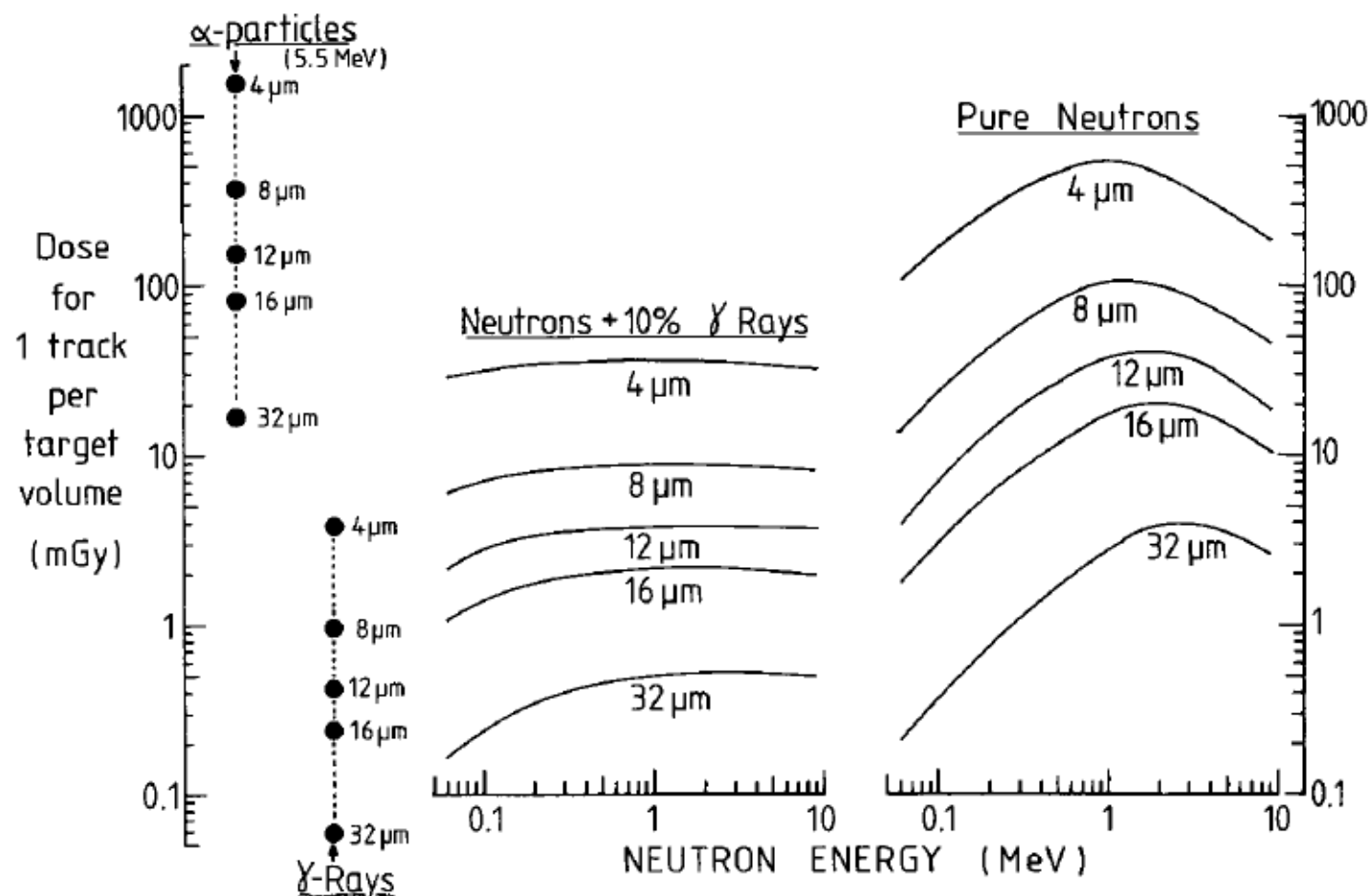


FIG. 5. Absorbed doses that correspond to a mean of 1 track per spherical target volume (representing cells or cell nuclei) randomly distributed throughout medium uniformly irradiated with 5.5-MeV α particles (as from ^{222}Rn), ~ 1 -MeV γ rays, or monoenergetic neutrons (with or without a 10% absorbed dose contribution from γ rays). At these doses individual target spheres will receive 0, 1, 2, etc., tracks with probabilities following a Poisson distribution with a mean of 1. [In all cases the evaluation has included the entire tracks, including those which stop or start in a target sphere. They are based on microdosimetric data computed for pure monoenergetic neutrons with no accompanying γ -ray contamination (Caswell and Coyne, 1976) or α particles (D. T. Goodhead, unpublished calculation) or experimentally measured for γ rays (Booz, 1976).]

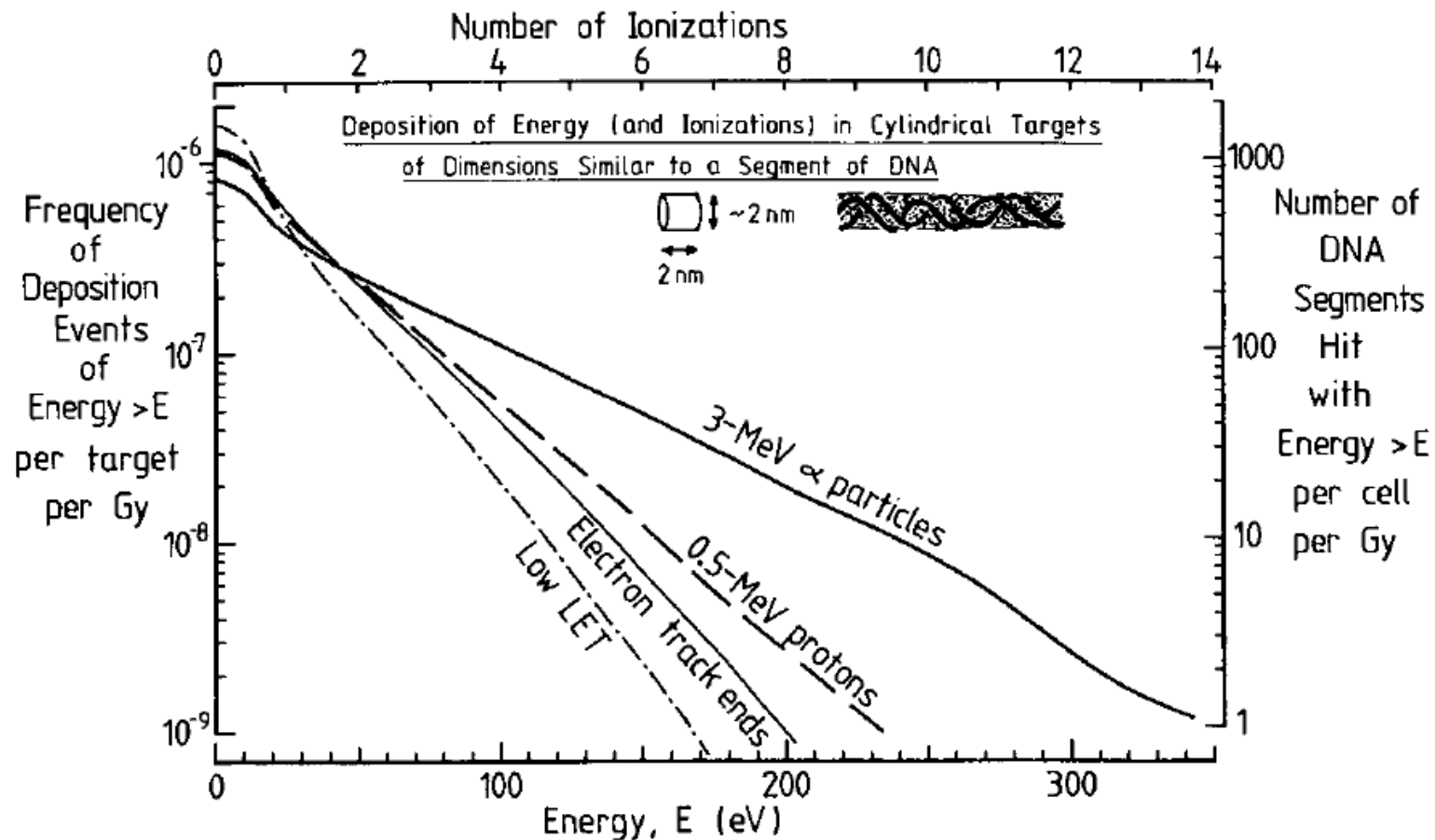
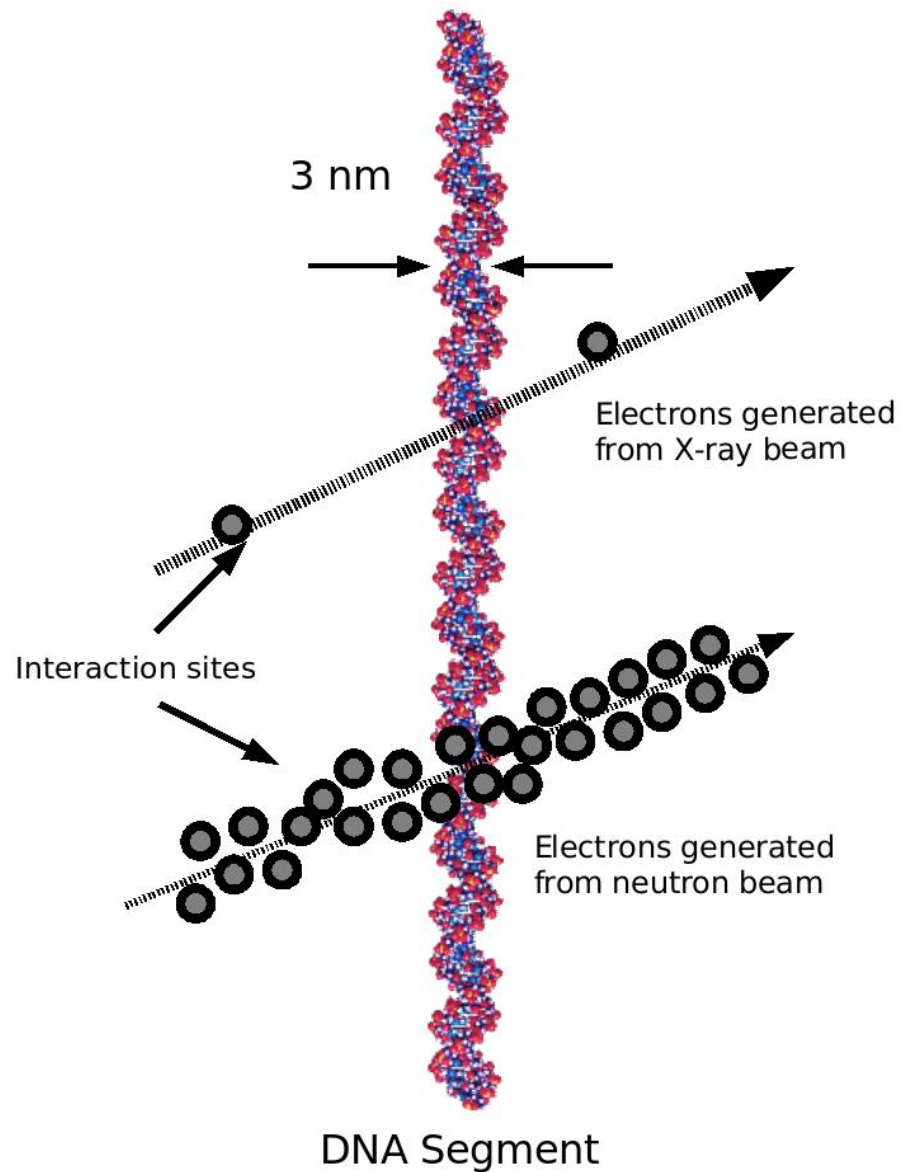


FIG. 6. Absolute frequencies of energy deposition, and numbers of ionizations, in a small (2×2 nm) cylindrical target volume randomly positioned in water irradiated with a selection of radiations. If these targets are identified as DNA then the right-hand axis shows the average number of such depositions in a single cell. The selected radiations are track segments of 3-MeV α particles (such as occur along the tracks of a α -emitting radionuclides, including radon) and 0.5-MeV protons (as along the recoil tracks from fission neutrons) and full slowing-down tracks of 100-keV electrons (giving results typical of conventional low-LET radiations) and 1-keV electrons (as an illustration of low-energy electron "track ends"). [Data as described in Nikjoo *et al.* (1989) and Goodhead and Nikjoo (1989).]

Podstawowe wielkości

- ◆ LET (już definiowaliśmy)
- ◆ **Gęstość jonizacji** – liczba wytworzonych ładunków na jednostkę drogi przebytej przez cząstkę jonizującą



By employing these non-stochastic quantities it is possible to derive the expected energy absorbed per unit mass at a point in the object which is the *absorbed dose*, D . In general D varies in space and time, but because it is a non-stochastic quantity, it can be defined as a point function in differential form:

$$D = \frac{d\bar{\epsilon}}{dm} \quad (I.4)$$

where $d\bar{\epsilon}$ is the mean energy absorbed in dm ; and its temporal variations is expressed by the *absorbed dose rate*, $\dot{D}$, as:

$$\dot{D} = \frac{dD}{dt} = \frac{d^2\bar{\epsilon}}{dm dt} \quad (I.5)$$

In a volume V surrounding the point at which the absorbed dose is equal to D the corresponding stochastic quantity *specific energy*, z , is defined by

$$z = \frac{\epsilon}{\rho V} = \frac{\epsilon}{m}, \quad (I.6)$$

where ρ is the density. $\bar{D}$, the mean value of the absorbed dose D in V is equal to $\bar{z}$, the mean value of the probability distribution $f(z)$ in V .

Mikrodozymetria - wielkości

Stąd popularnie używane wielkości:

- energia właściwa [$\text{Gy} = \text{J/kg}$]: $z = \frac{\varepsilon}{m}$

(co odpowiada dawce pochłoniętej)

- energia liniowa [Jm^{-1}]: $y = \frac{\varepsilon}{l}$

(co jednak nie odpowiada LET, bo tutaj „ l ” dotyczy promienia objętości, w której deponowana jest energia ε , a nie drogi, na której jest tracona. Dlatego parametr „ y ” ma odniesienie geometryczne)



ODDZIAŁYWANIE PROMIENIOWANIA JONIZUJĄCEGO NA POZIOMIE SUBKOMÓRKOWYM

Działanie promieniowania na atomy i cząsteczki

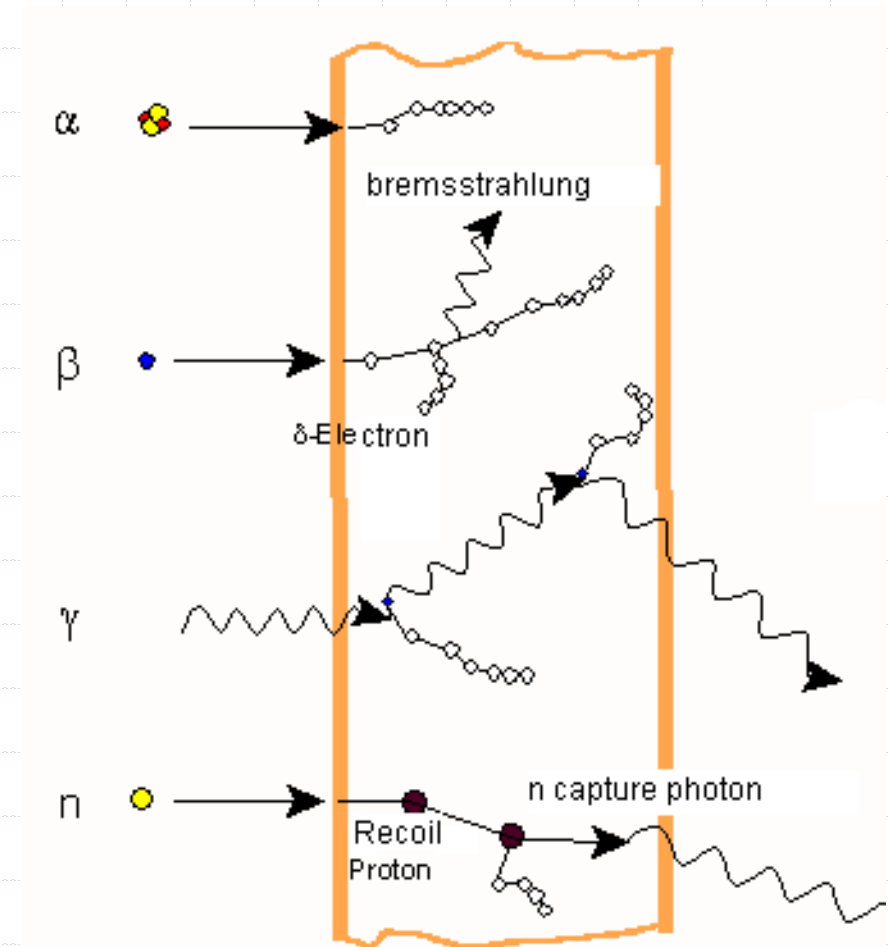
◆ Bezpośrednie:

- Zerwanie lub uszkodzenie wiązań między cząsteczkami lub w samej cząsteczce (między atomami) – powoduje to szereg zmian chemicznych w otoczeniu
- W wyniku oddziaływania promieniowania z atomem może nastąpić jego wzbudzenie (ekscytacja)

Działanie promieniowania na atomy i cząsteczki – c.d.

◆ Bezpośrednie (c.d.):

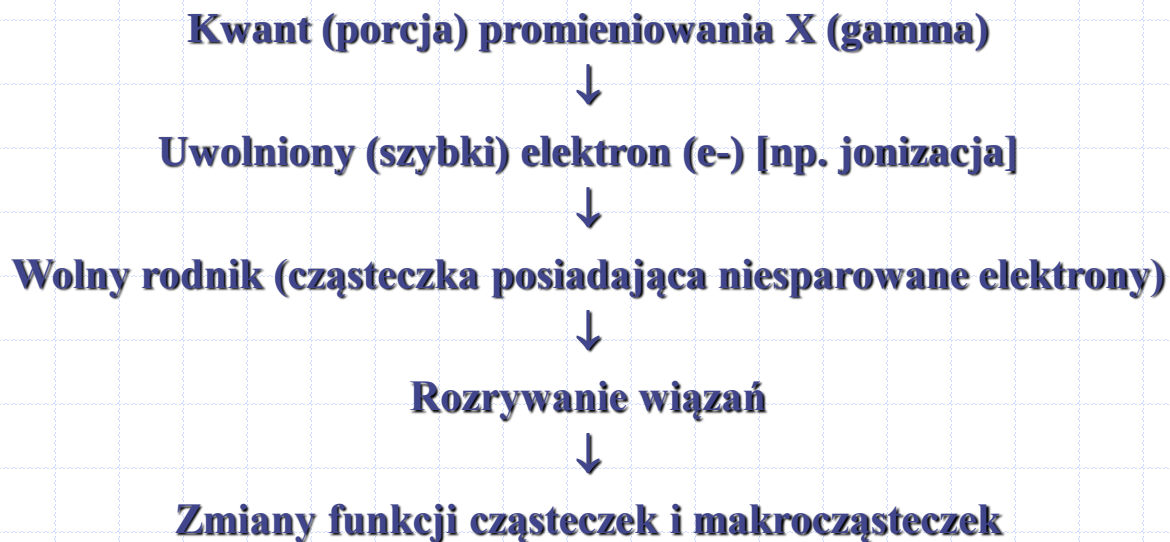
- jonizacja, czyli powstanie dodatnich jonów i swobodnych elektronów – te z kolei mogą przyłączyć się do innych cząsteczek zmieniając strukturę otoczenia
- O jonizacji mówiliśmy praktycznie na wszystkich poprzednich wykładach...



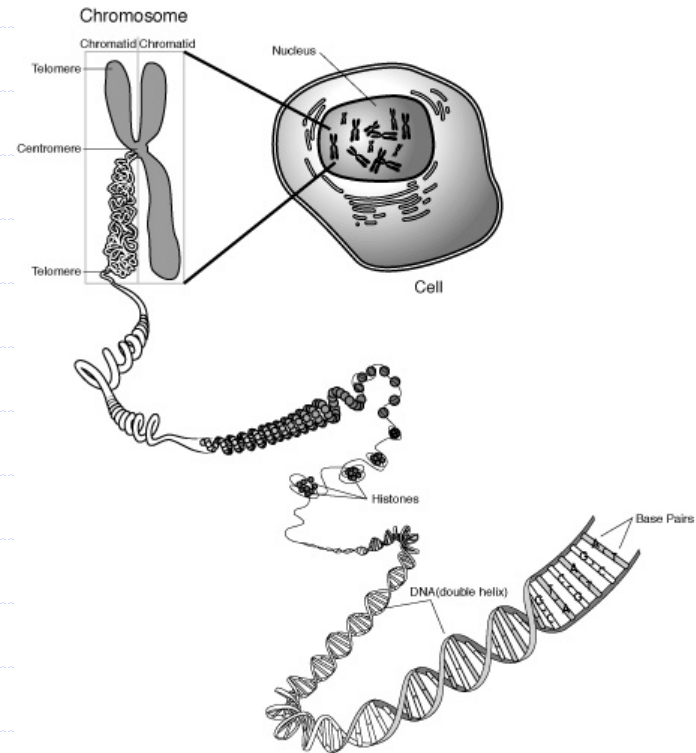
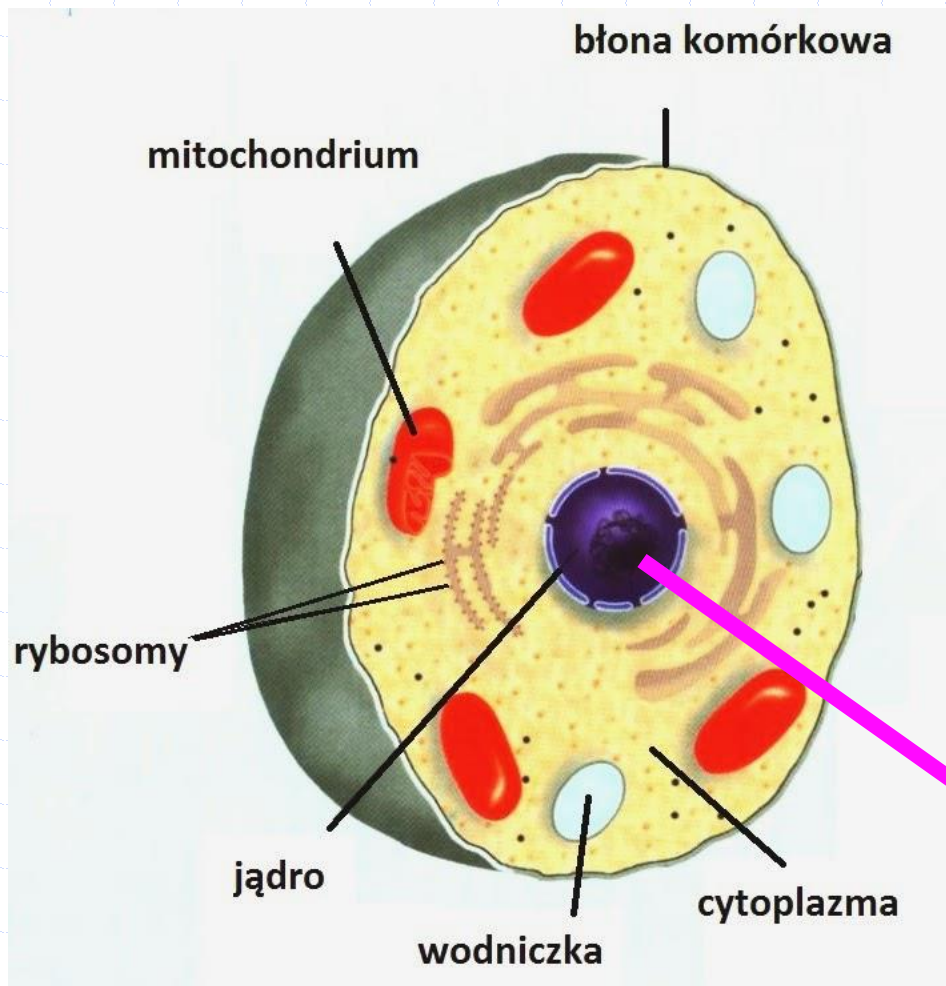
Działanie promieniowania na atomy i cząsteczki – c.d.

◆ Pośrednie

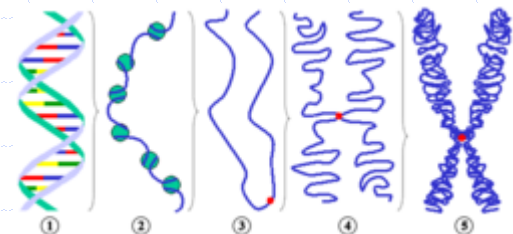
- Promieniowanie gamma oraz X może **indukować wolne rodniki**, które następnie mogą zmieniać funkcje makrocząsteczek



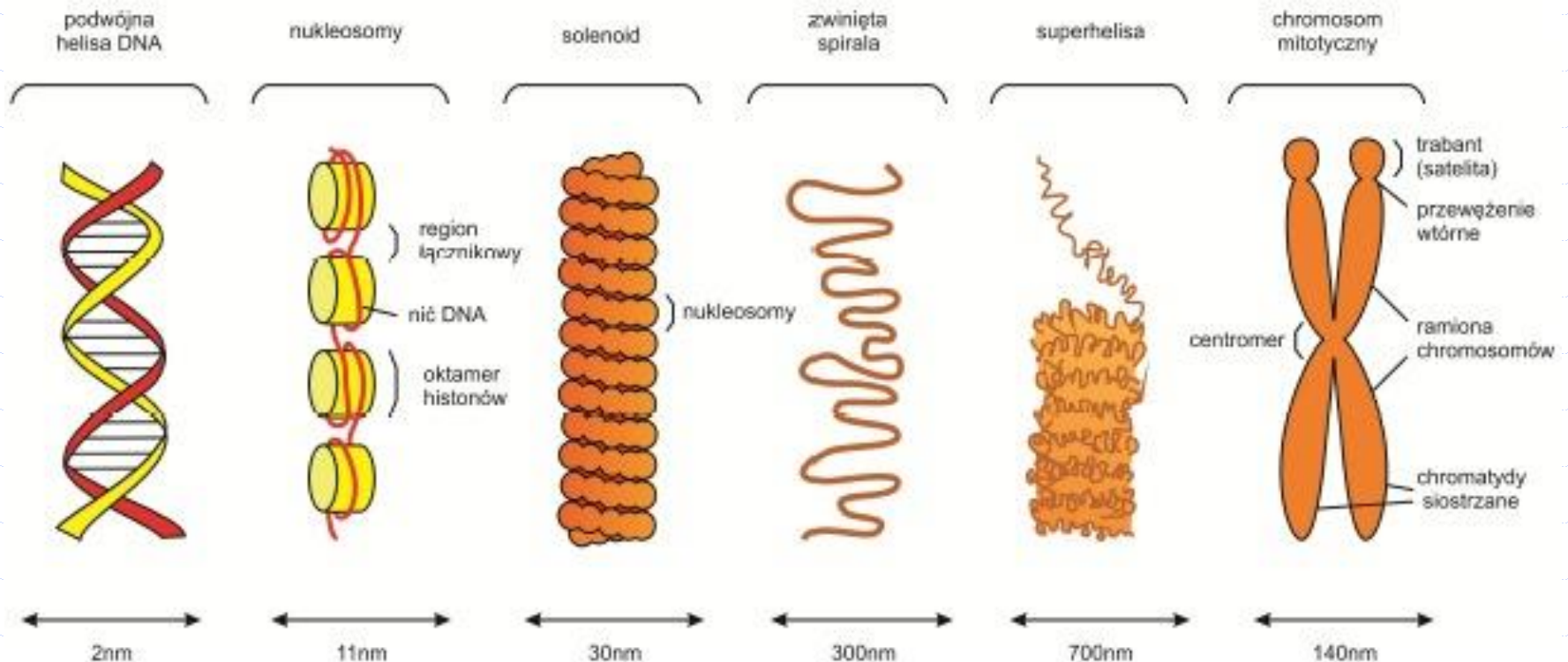
Budowa komórki - przypomnienie



<http://www.accessexcellence.org/AB/GG/chromosome.html>

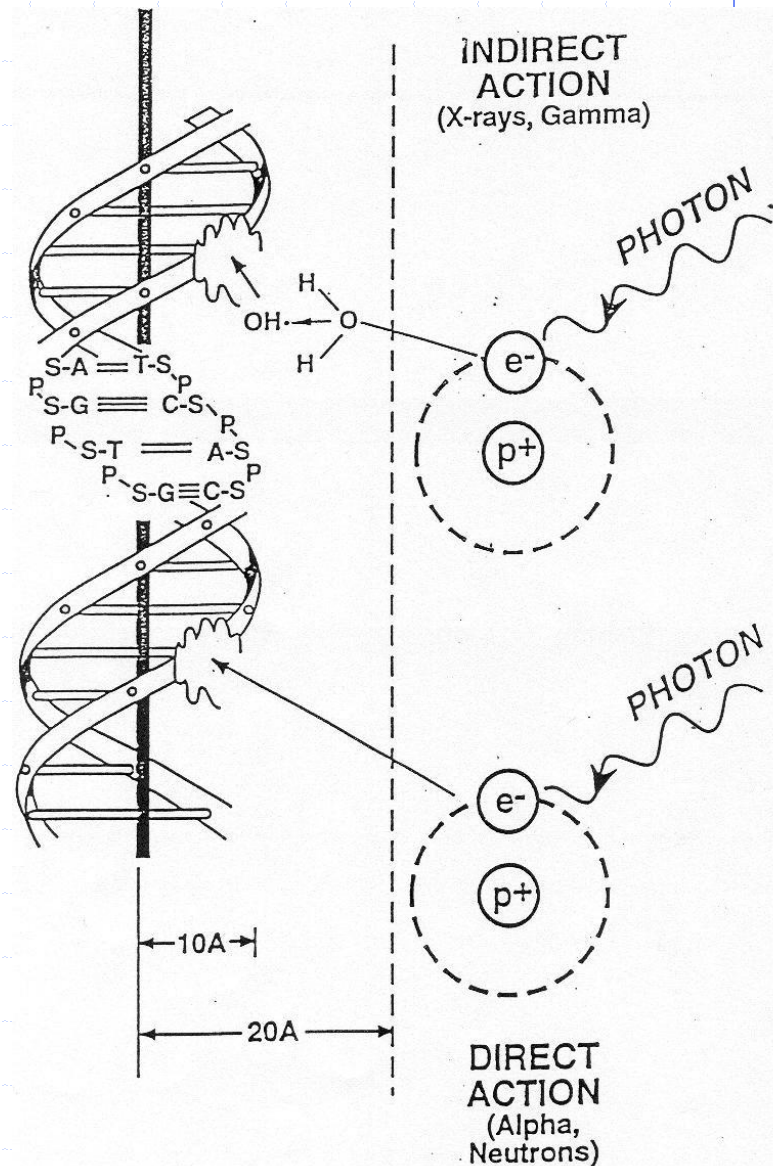


Budowa DNA - przypomnienie



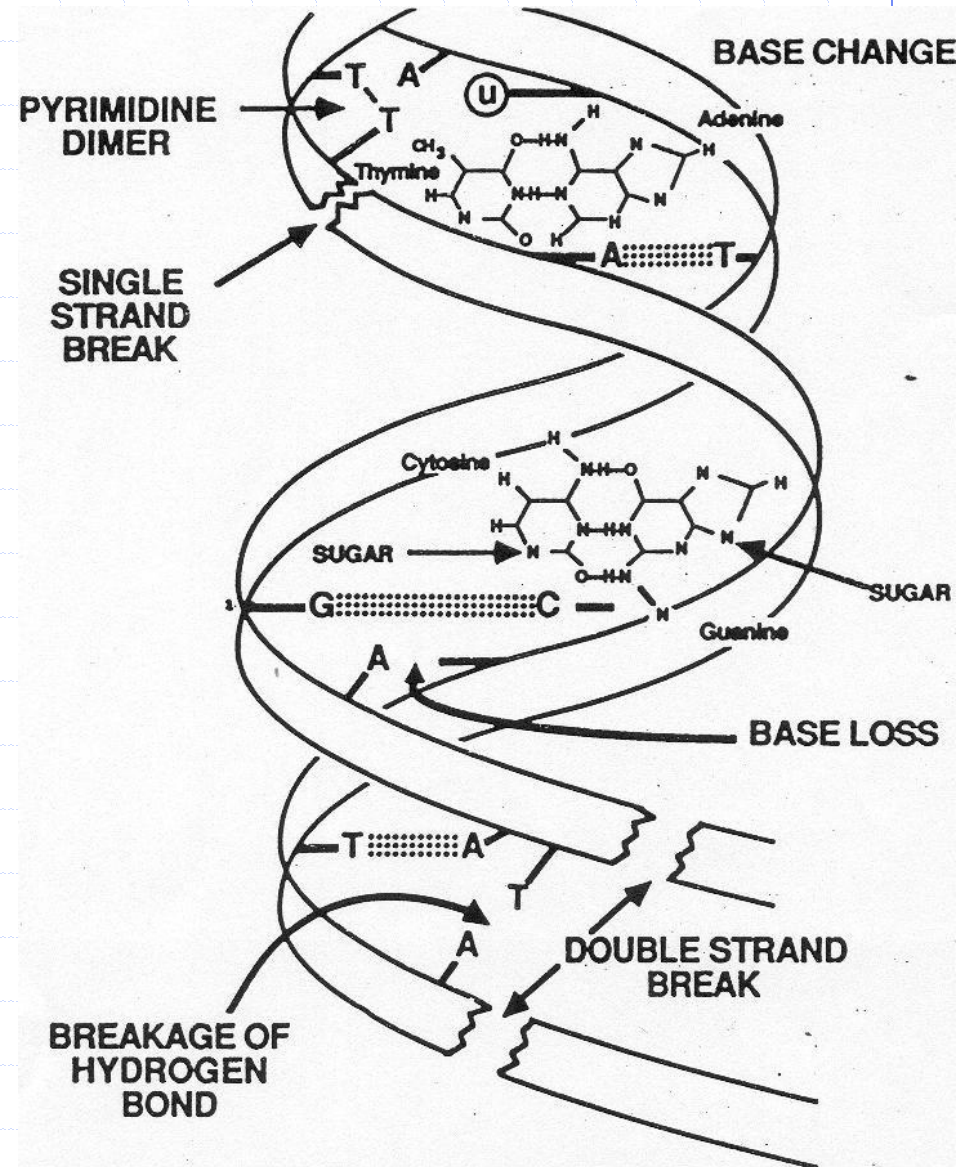
Efekty wewnątrzkomórkowe

- ◆ Podstawowym efektem działania promieniowania na składowe komórki jest **uszkodzenie łańcucha DNA**
- ◆ Uszkodzenie DNA może być bezpośrednie (poprzez trafienie przez cząstkę) lub pośrednie poprzez oddziaływanie z wolnym rodnikiem powstałym w wyniku wcześniejszych reakcji



Pęknięcia DNA

- ◆ Pęknięcia łańcucha DNA mogą być **jednoniciowe** lub **dwuniciowe**, gdy obie helisy na raz uległy zerwaniu, a także **uszkodzenia bazy** między nićmi
- ◆ Najbardziej niebezpieczne (ale też najrzadziej spotykane) są pęknięcia dwuniciowe, gdyż grozi to całkowitemu rozerwaniu całego łańcucha



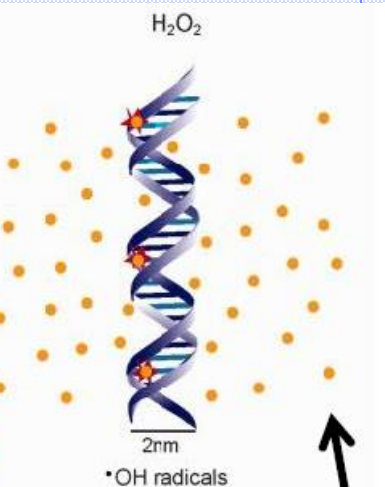
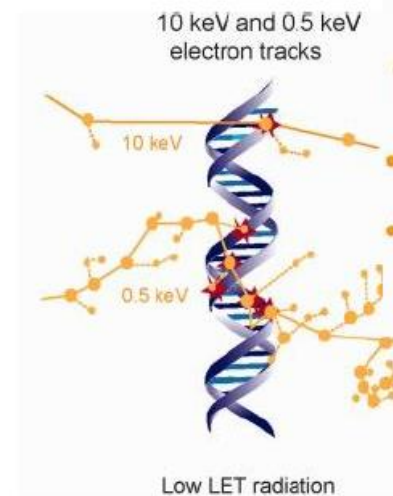
Działanie promieniowania

- ▶ uszkodzenia pośrednie i bezpośrednie (LET)

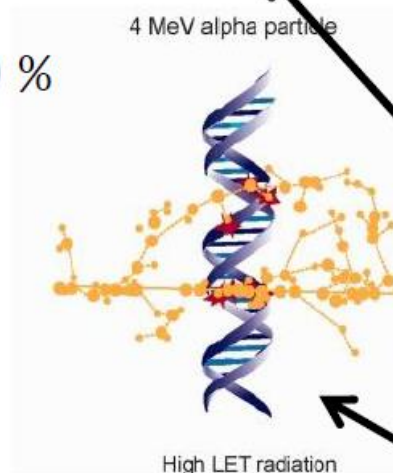
~20 % bezpośrednich efektów:

~80 % pośrednich

~ 4 uszkodzenia na komórkę/1 mGy
(na ~ 150 RS)



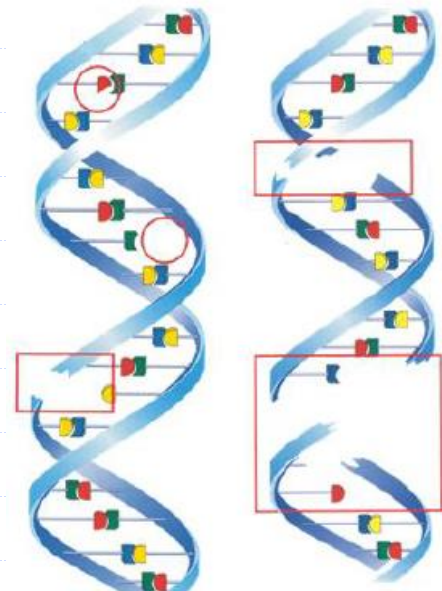
wolne rodniki pochodzące z procesu radiolizy cząsteczki wody



ścieżka jonizacji elektronów (niski LET)

ścieżka jonizacji cząstki alfa (wysoki wsp. LET)

- zmiany zasad ~75 %
- pojedyncze pęknięcia ~ 20 %
- podwójne pęknięcia ~ 1 %
- krzyżowanie nici ~ 5 %



Statystyka uszkodzeń popromiennych w komórce przy napromieniowaniu dawką **1 Gy** promieniowania gamma

Rodzaj uszkodzenia	Liczba w komórce
Pęknięcia dwuniciowe	40
Pęknięcia jednoniciowe	500-1000
Zmiana (uszkodzenie) zasady w DNA	1000-10000
Zmiana (uszkodzenie) cukru w DNA	800-2000
Wiązania krzyżowe DNA-DNA	30
Wiązania krzyżowe DNA-białko	150

Porównanie z metabolizmem

◆ 1 Gy wywołuje ~100 000 aktów jonizacji. Tyle samo ataków na DNA dochodzi od naturalnego metabolizmu komórki w ciągu każdej sekundy

rodzaj uszkodzenia	uszkodzenia w komórce na 1 Gy	uszkodzenia spontaniczne w komórce na godzinę
pęknięcie podwójnoniciowe	40	
pęknięcie pojedynczoniciowe	1000	5000
utrata zasady	950	1500
uszkodzenie zasady	950	1250

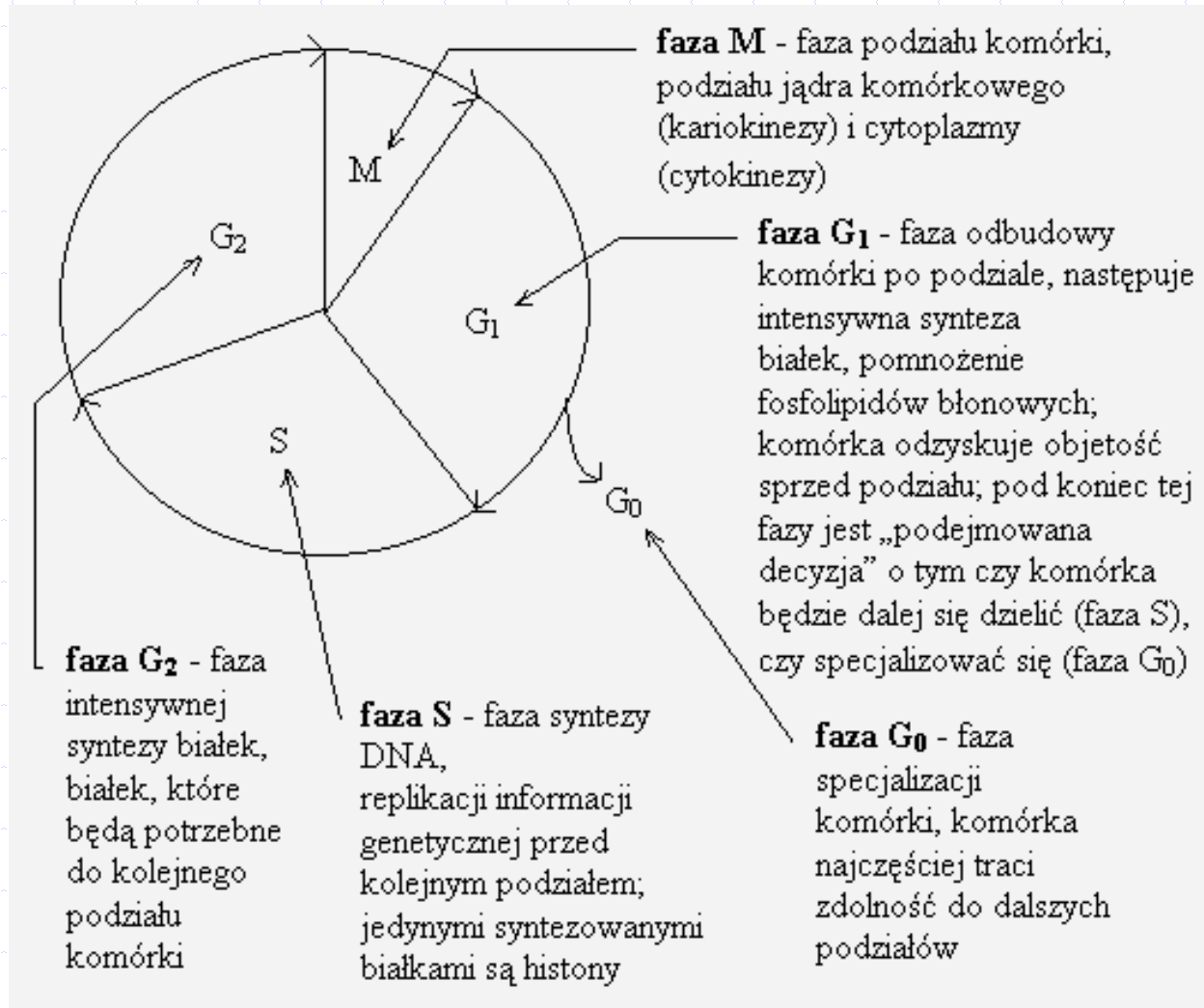
Co się dalej dzieje z DNA?

- ◆ Po uszkodzeniu DNA przez promieniowanie lub pośrednio przez wolny rodnik może nastąpić:
 - śmierć komórki
 - samonaprawa i powrót do stanu wyjściowego
 - nieprawidłowa naprawa i mutacja

Mutacje mogą doprowadzić do tzw. **aberracji chromosomowych**, czyli zaburzeń polegających na zmianie struktury lub liczby chromosomów (to będzie omówione dalej).

Najpierw jednak omówmy naprawę.

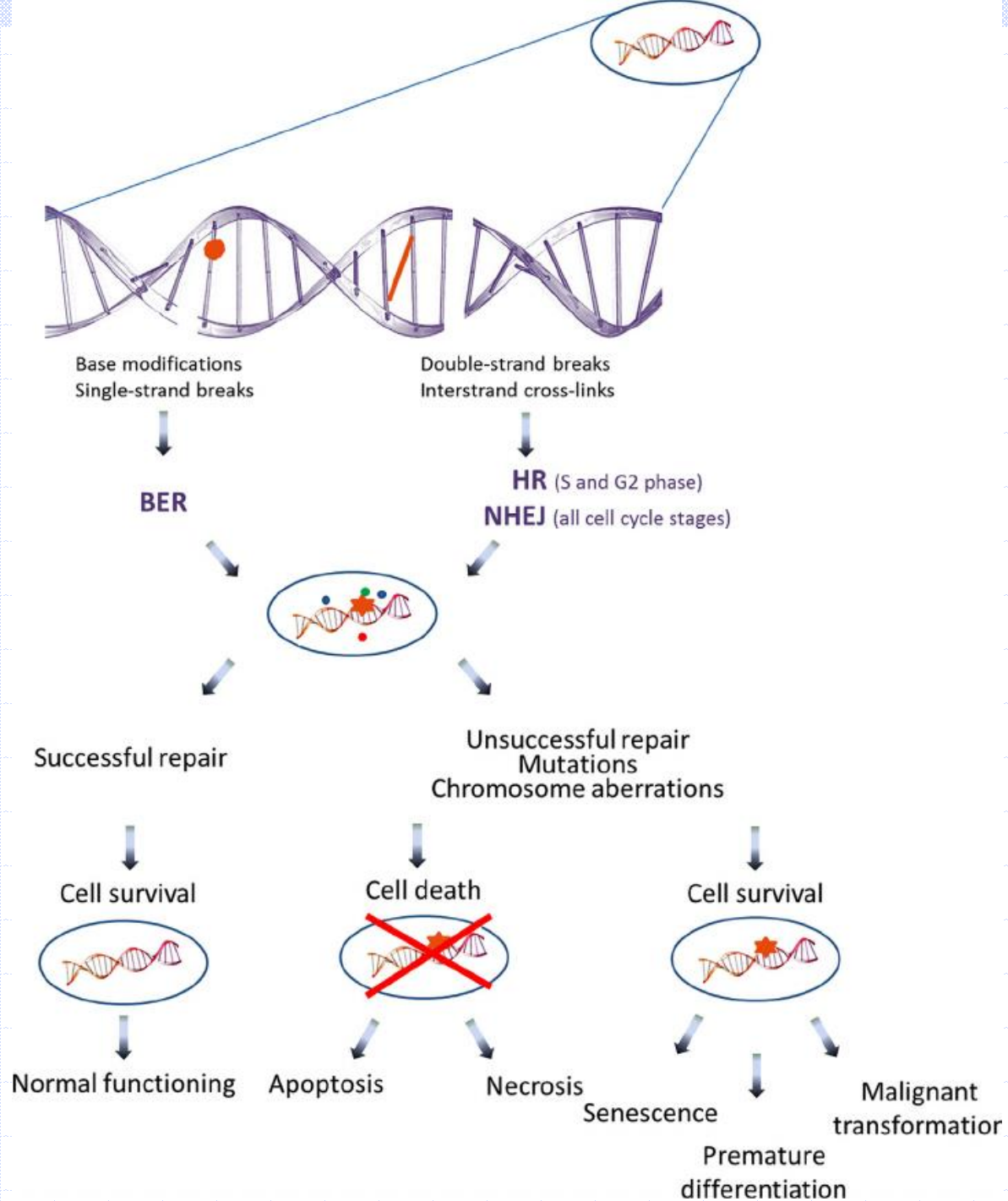
Fazy cyklu komórkowego



Fazy cyklu komórkowego

- ◆ Szybkość cyklu jest inna dla różnych typów komórek, np. komórki szpiku kostnego mają krótki cykl (szybko się namnażają), komórki kości długi cykl (wolno się namnażają)
- ◆ To determinuje wrażliwość danego typu komórek na promieniowanie – czy komórka ma dużo czy mało czasu na naprawę
- ◆ Uszkodzenie komórki w odpowiednim miejscu w odpowiednim momencie cyklu powoduje jej śmierć

Różne scenariusze

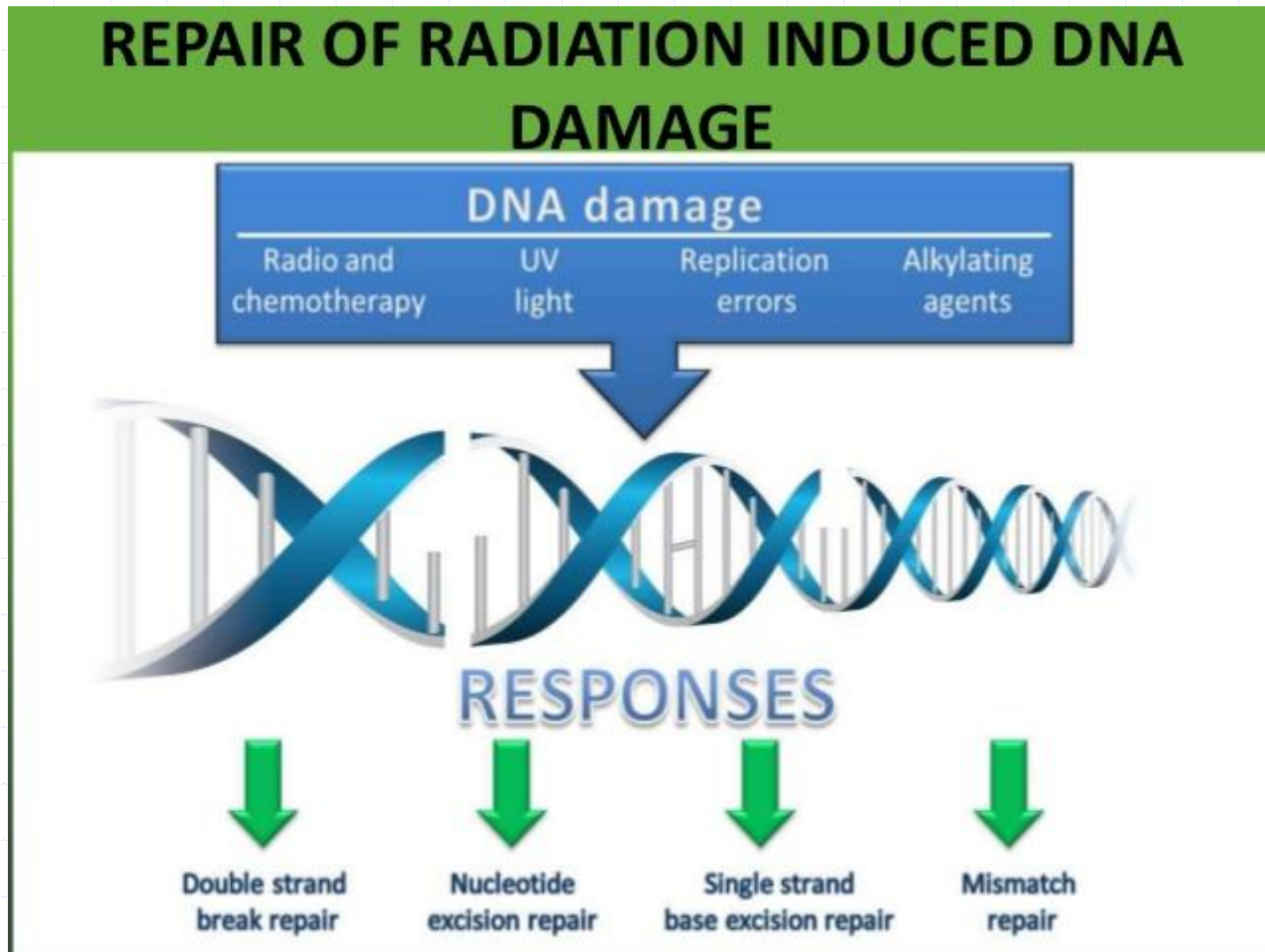


Naprawa DNA

- ◆ Łańcuch DNA może być naprawiony przez odpowiednie enzymy naprawcze
- ◆ Prawdopodobieństwo skutecznej naprawy zależy od:
 - stężenia (liczby) tych enzymów
 - sprawności enzymów (ta jest różna dla różnego wieku, predyspozycji, chorób, płci etc.)
 - fazy cyklu komórkowego

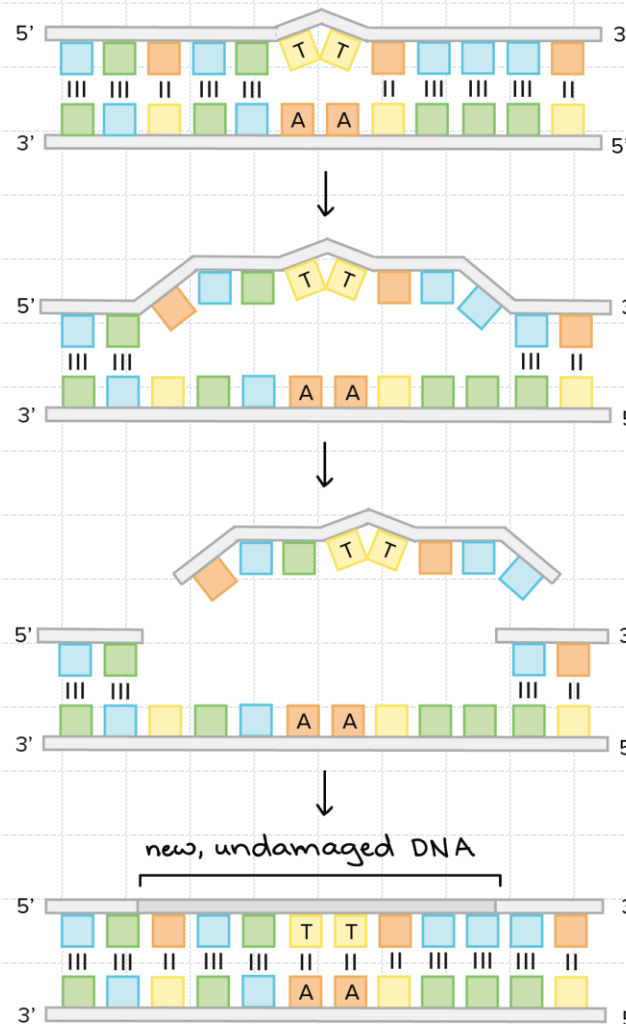
Próba naprawy DNA

- bardzo skuteczne mechanizmy



Naprawa uszkodzeń jednoniciowych i bazy

- ◆ Jest stosunkowo prosta i niesie niewielkie ryzyko błędu



UV radiation produces a thymine dimer.

Once the dimer has been detected, the surrounding DNA is opened to form a bubble.

Enzymes cut the damaged region out of the bubble.

A DNA polymerase replaces the excised (cut-out) DNA, and a ligase seals the backbone.

Najgroźniejsze są uszkodzenia podwójnoniciowe (DSB)

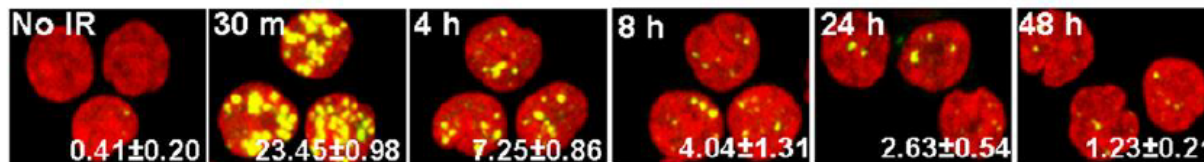
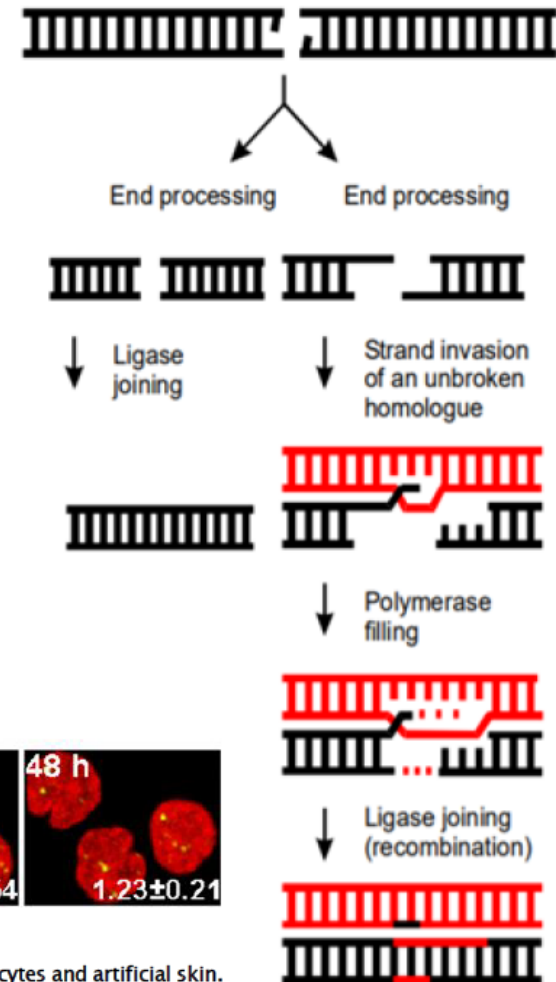
Mechanizm naprawczy DSB

Łączenie niehomologicznych końcówek DNA

- naprawa pęknięć obu nici DNA
- ryzyko połączenia niewłaściwych cząsteczek DNA

Rekombinacja homologiczna

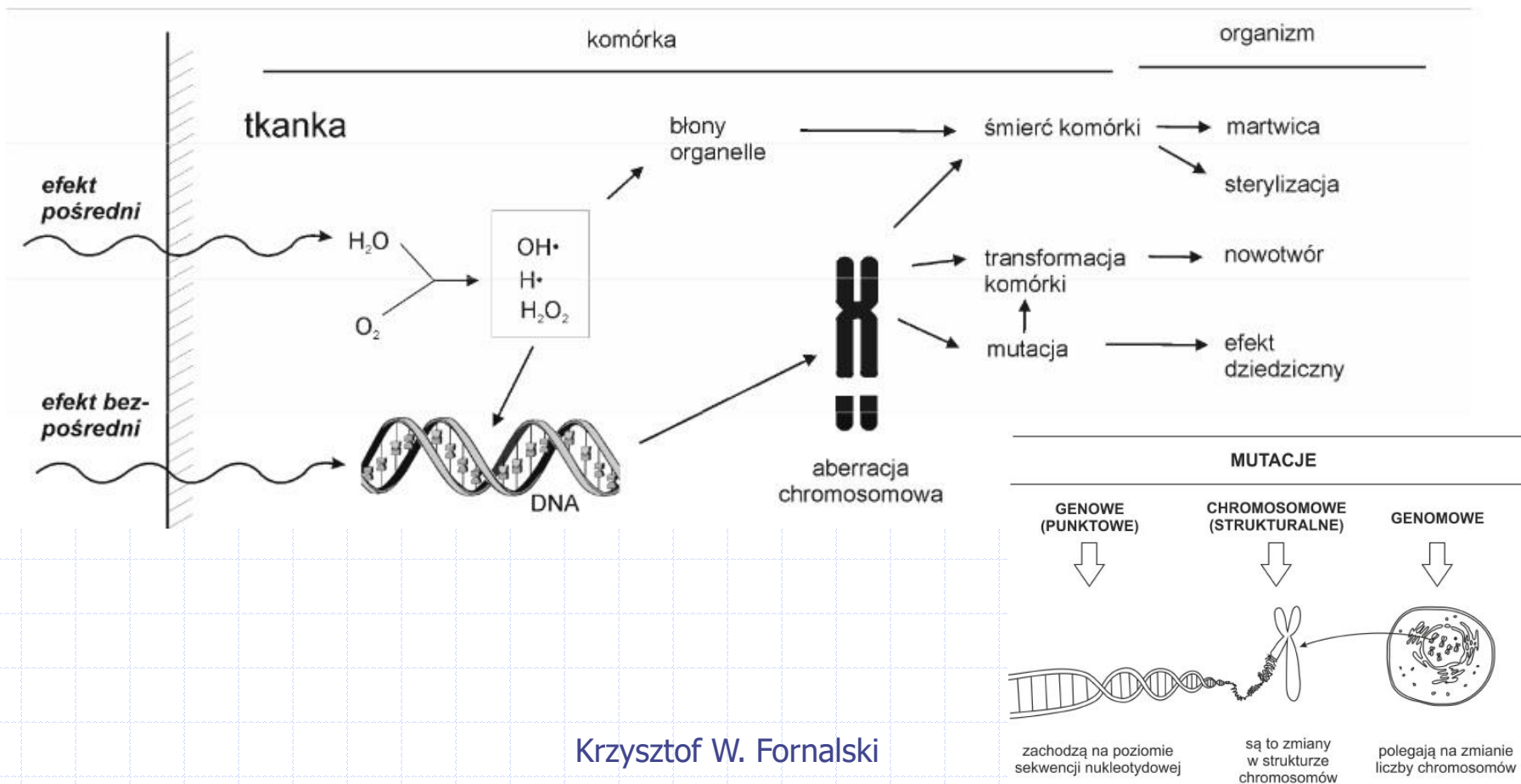
- utworzenie heterodupleksu
- przemieszczanie się rozgałęzienia
- rozłączenie rozgałęzienia (poziome lub pionowe)



γ -H2AX as a biomarker of DNA damage induced by ionizing radiation in human peripheral blood lymphocytes and artificial skin. C.E. Redon, J. S. Dickey, W. M. Bonner, and O. A. Sedelnikova. Adv Space Res. 2009; 43(8): 1171–1178.

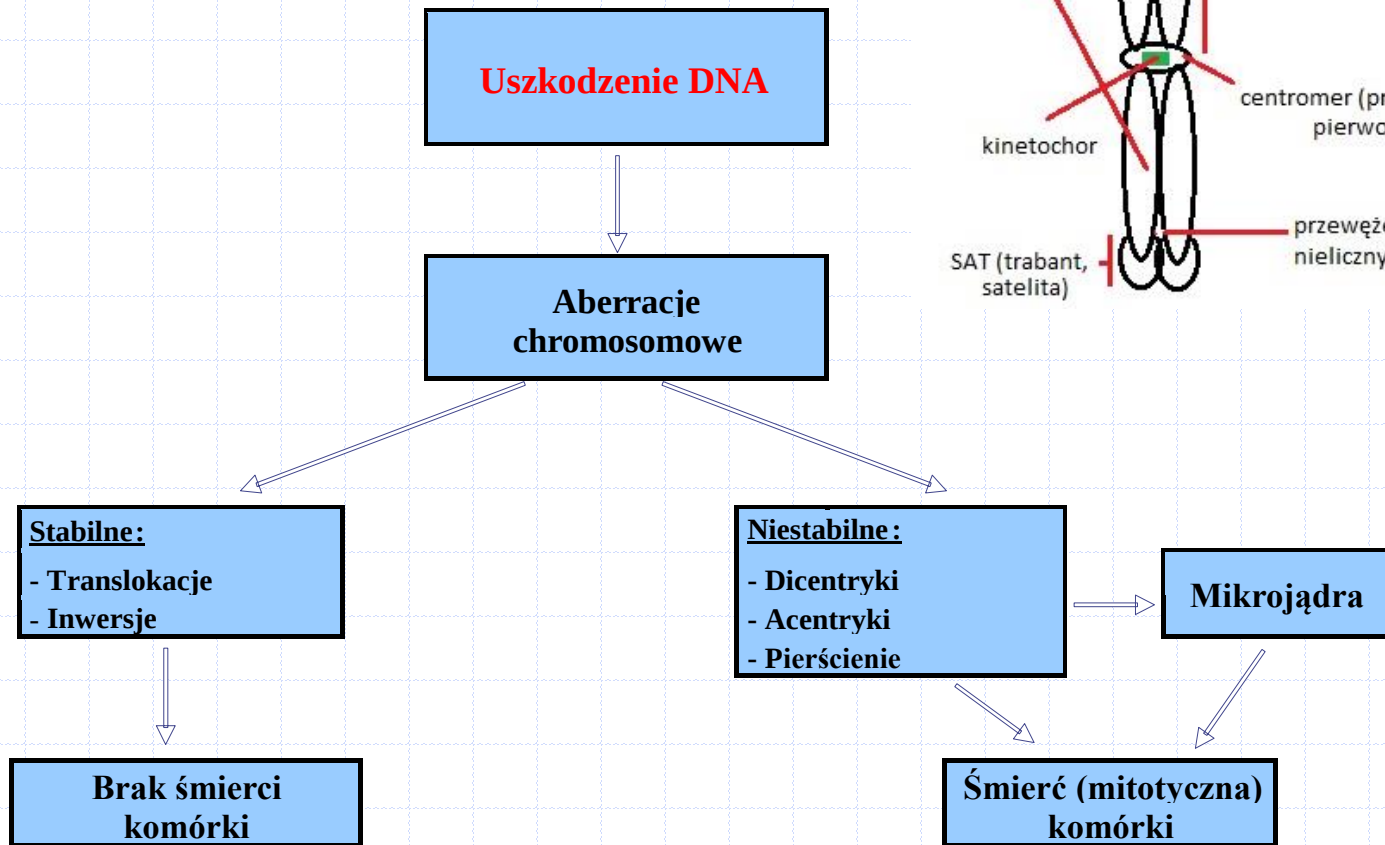
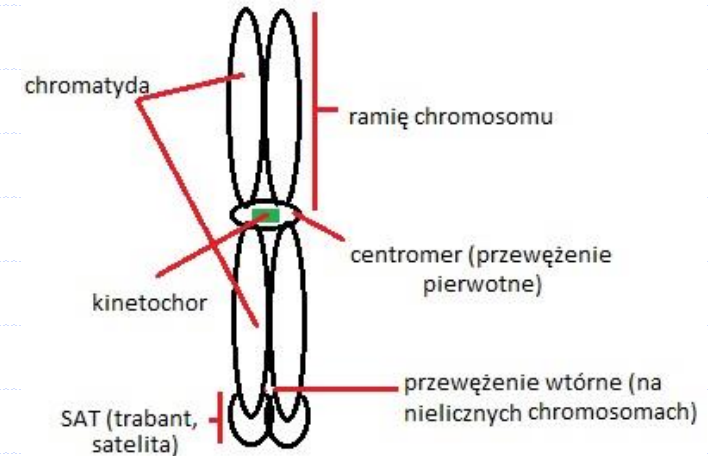
Aberracje chromosomowe jako skutek nieprawidłowej naprawy DSB

Łańcuch zdarzeń w komórce narażonej na działanie promieniowania jonizującego

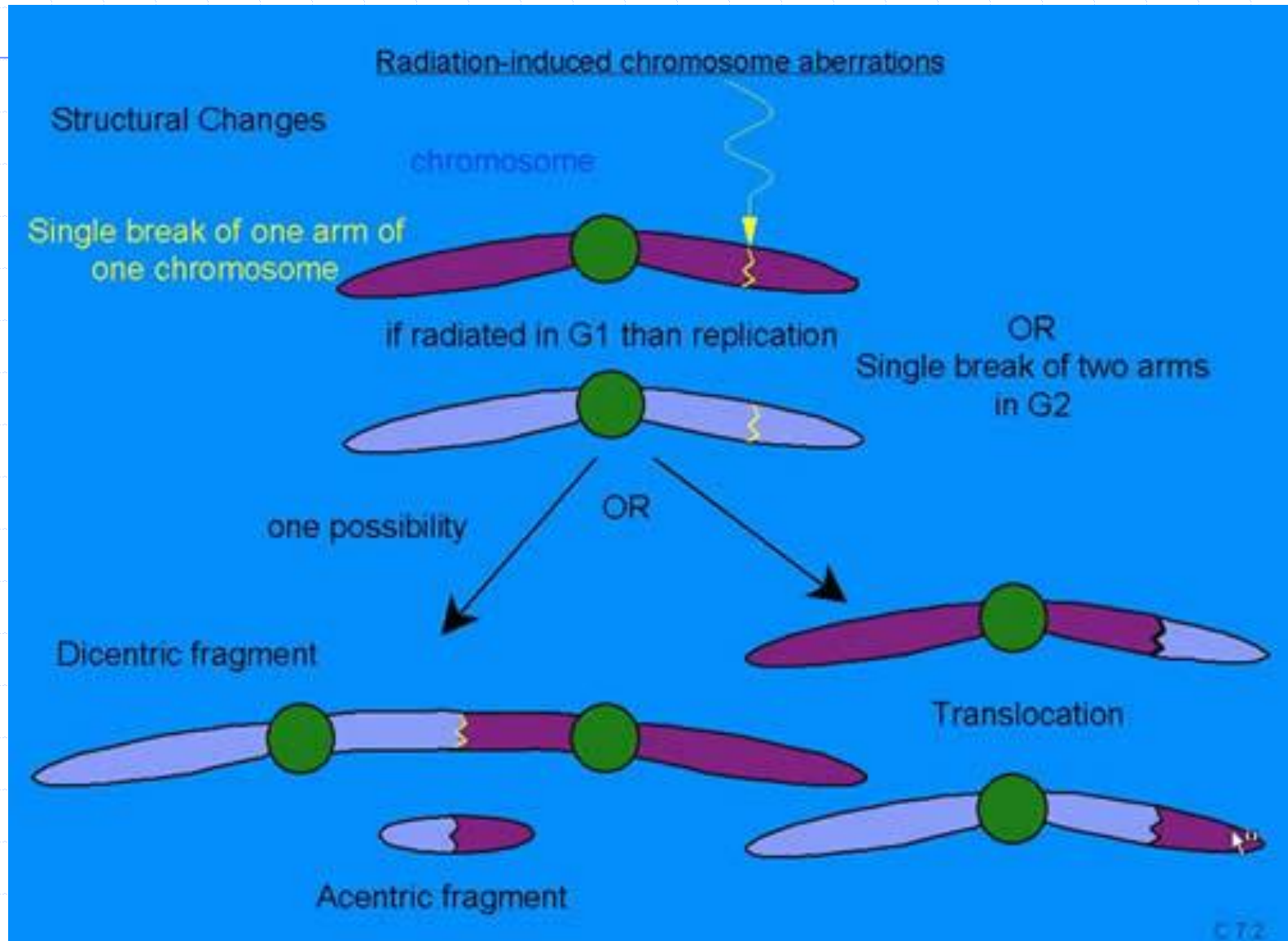


Popromienne aberracje chromosomowe

chromosom:



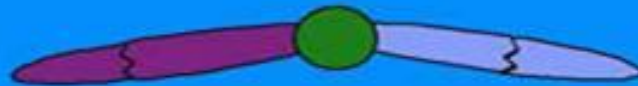
Aberracje chromosomowe



Aberracje chromosomowe

Radiation-induced chromosome aberrations

Structural Changes



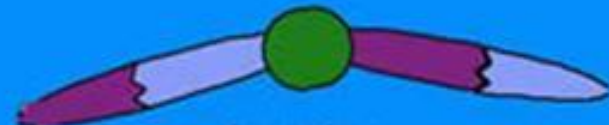
Single break of both arms of a chromosome

Structural Changes



Ring formation

Single break of both arms of a chromosome

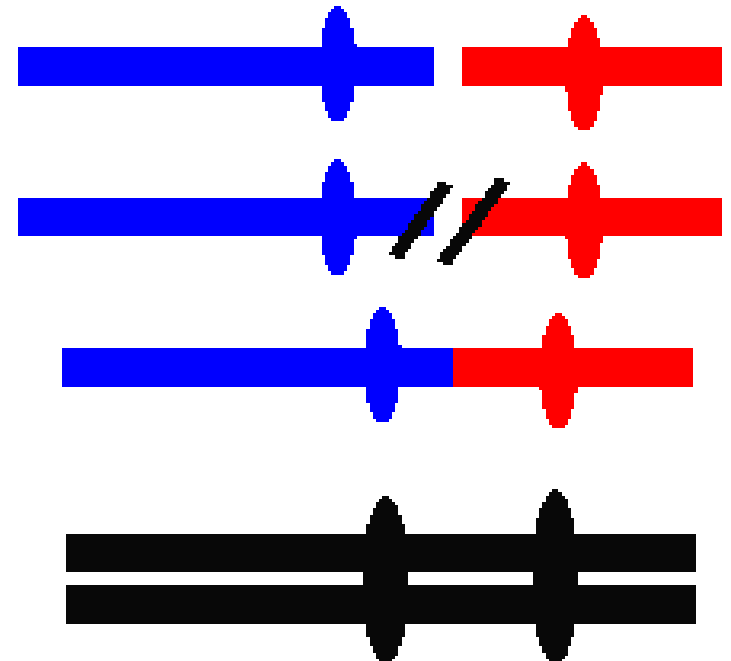
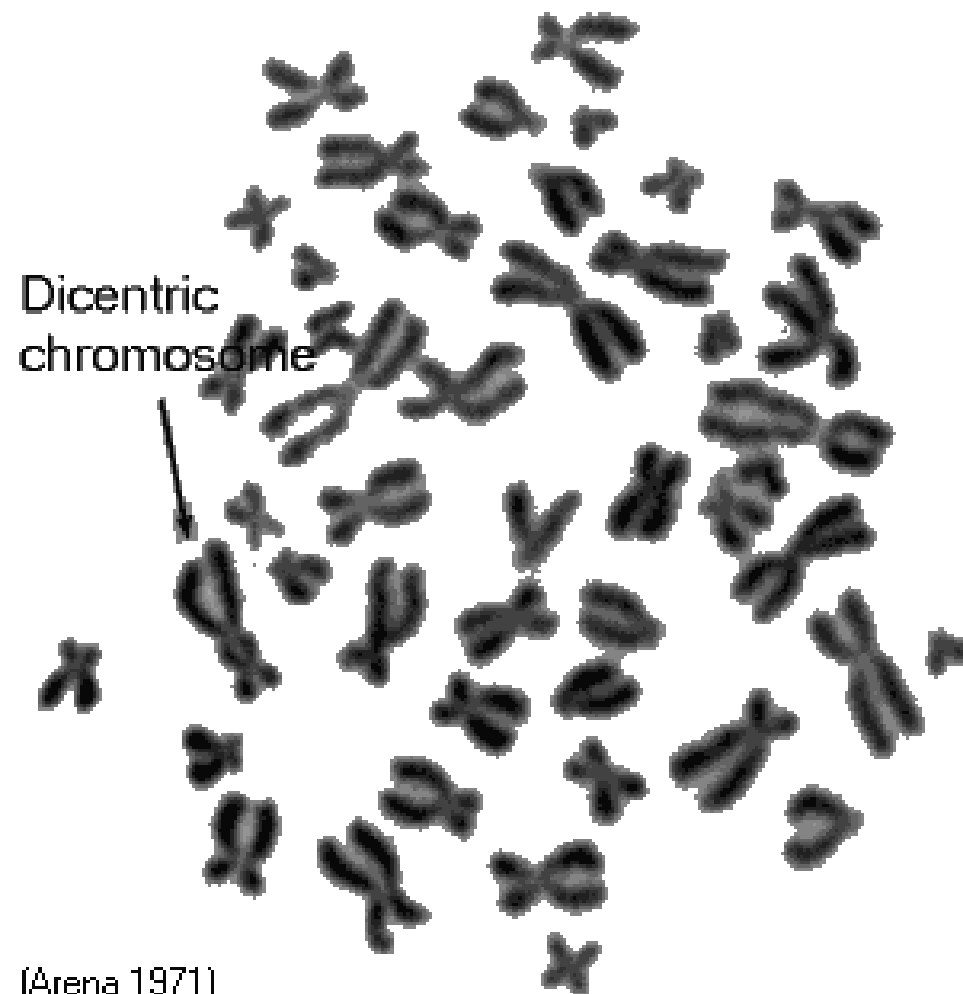


Inversion

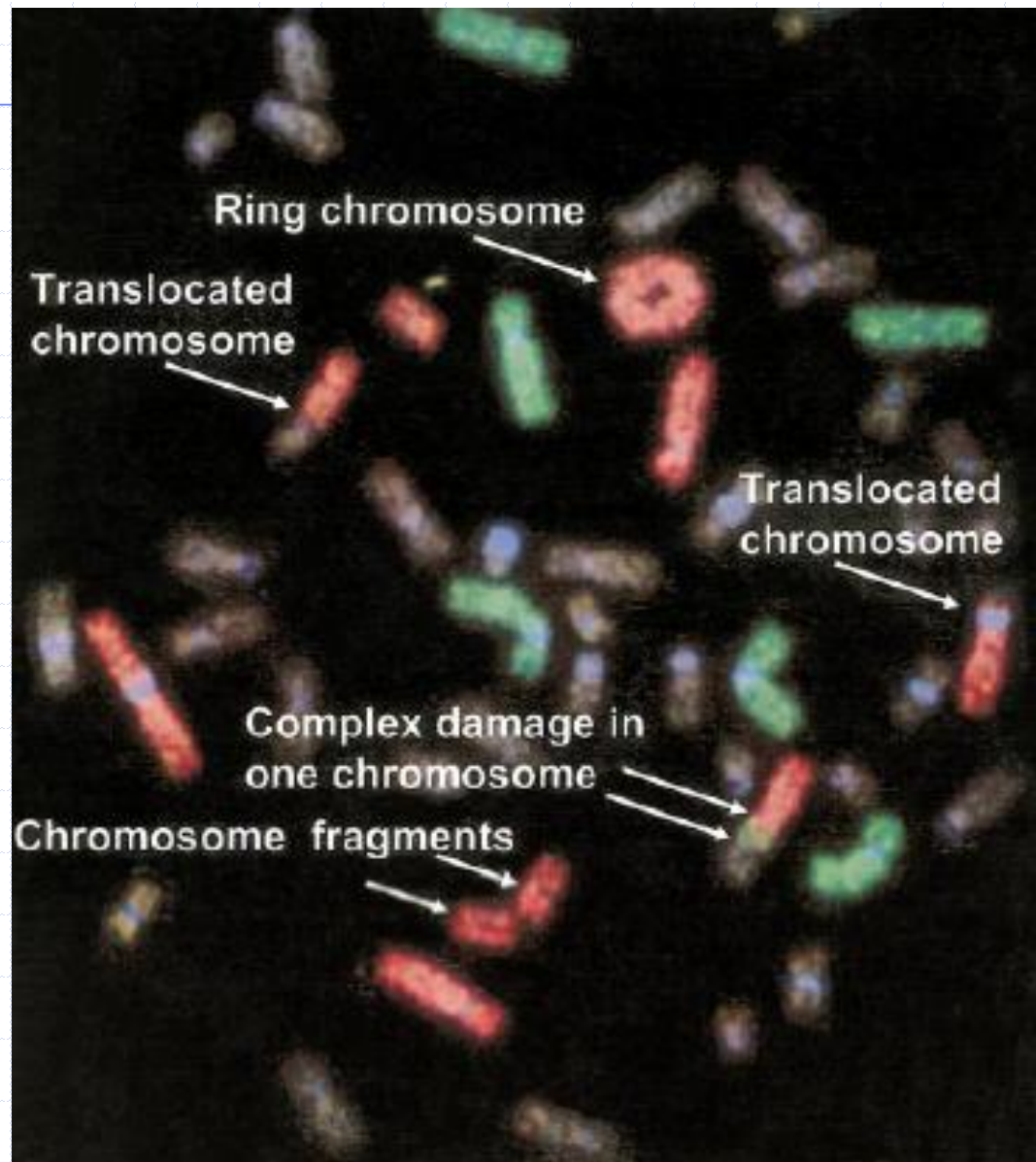


Acentric fragment

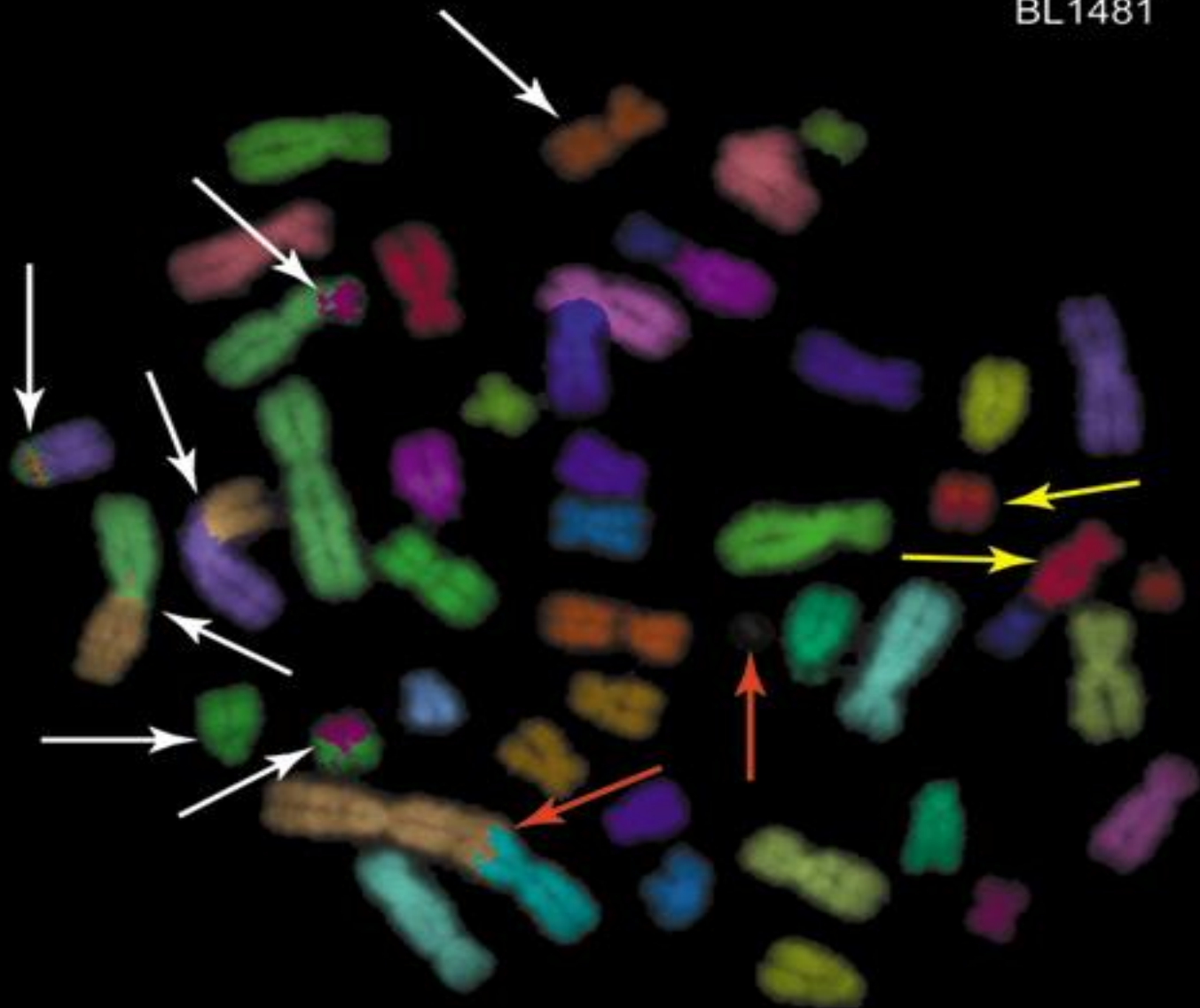
Chromosomy dicentryczne



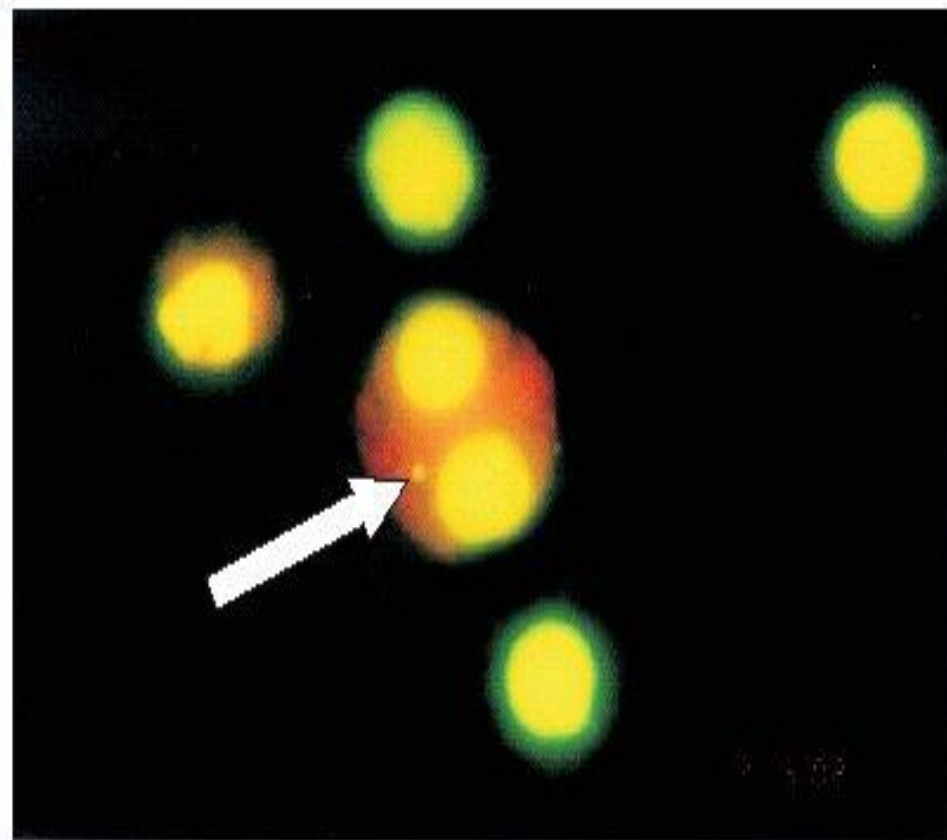
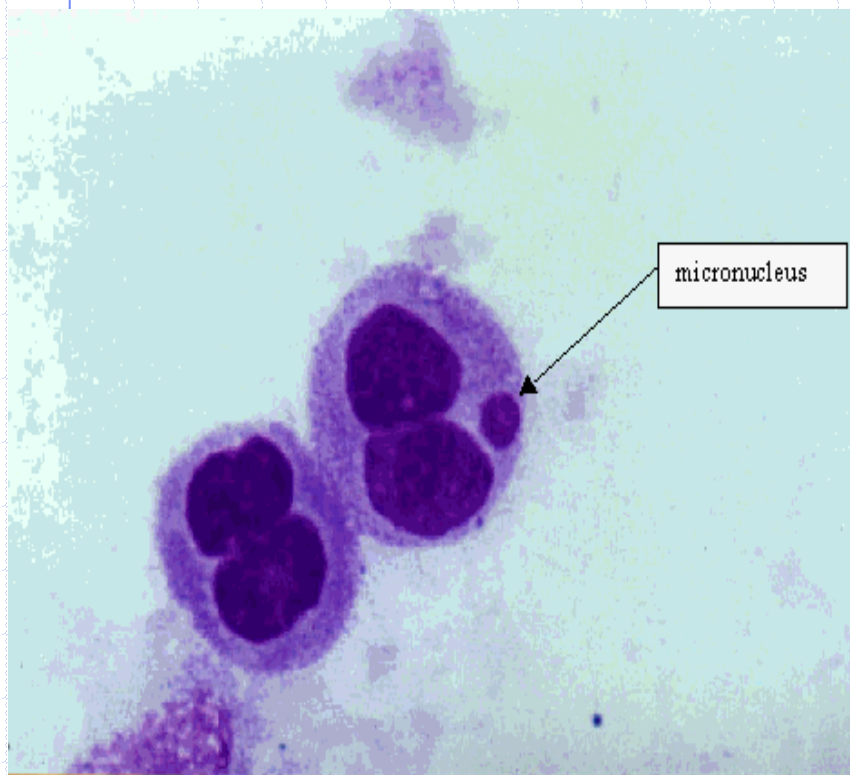
Przykłady aberracji przy użyciu markerów



BL1481



Mikrojądra



Naturalne mierniki dawki promieniowania

- ◆ Ilość **dicentryków, translokacji** oraz **mikrojąder** zależy od otrzymanej dawki
- ◆ Dzięki temu, iż zmiany te obecne są w organizmie przez długi czas, można na tej podstawie oszacować wielkość otrzymanej dawki promieniowania
- ◆ W tym celu bada się ilość aberracji w limfocytach krwi

Cytogenetyczne metody dozymetrii biologicznej

- ◆ Badając limfocyty krwi pod kątem obecności aberracji chromosomowych należy pamiętać o tym, że:
 - Aberracje pojawiają się po pewnym czasie, w zależności od częstotliwości przemian komórkowych
 - Aberracje są dobrym i precyzyjnym dozymetrem, ale ta metoda jest zawodna dla małych dawek, poniżej 150 mSv (ze względu na tło w postaci aberracji naturalnych)
 - Aberracje potrafią utrzymywać się w organizmie nawet do kilku miesięcy, dzięki czemu bez problemu można przeprowadzać regularne badania
 - Zliczanie aberracji jest jednak pracochłonne, gdyż wymaga to bezpośredniej pracy ludzkiej – jak do tej pory komputery nie radzą sobie z tego typu problemami
 - Metoda ta jest powszechnie stosowana na świecie
 - Są pewne różnice w metodach liczenia dicentryków, translokacji i mikrojąder