

Strahlenbiologie Zusammenfassung

Vorlesung 1 (20.04.17)

Überblicks Modul

I

Zellstrukturen

1) Zellmembran

- Phosphorbilayer
- ausgestattet mit Membranrezeptoren
- Rezeptoren, wie EGFR spielen wichtige Rolle bei Strahlenreaktion von Tumorzellen
- nach "Andocken" von zB EGF an EGFR kommt es intrazellulär zu einer Signalkaskade

Genexpression als "zentrales Dogma der Molekularbiologie"

DNA → mRNA → Protein

- über
- a) Transkription : Synthese von Boten- oder messenger-RNA unter Vorgabe der DNA-Sequenz
 - b) Translation : Synthese von Proteinen unter Vorgabe der mRNA-Sequenz

Stammzellsysteme

→ aufgebaut aus

Multipotente Stammzelle

- Fähigkeit zur Selbstreplikation
- in langsamem Zellzyklus

Vorbestimmte Vorläuferzelle

- Fähigkeit zur Selbstreplikation
- in schnellerem Zellzyklus

ausgereifte Funktionszelle

- keine Fähigkeit zur Selbstreplikation
- nicht mehr im Zellzyklus

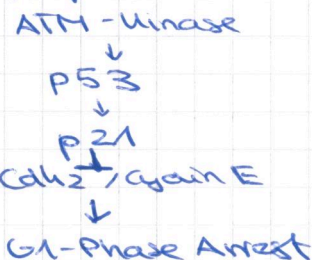
⇒ Tumore entstehen aufgrund mangelnder Differenzierung und damit UNBEGRENZTER ZELLEILUNGSAFÄHIGKEIT

Im normalen Verlauf entsteht aus, sich selbst erneuernder, Stammzelle, Tochterzellen mit begrenzter Teilungsfähigkeit bevor diese endgültig in teilungsunfähige Funktionszellen ausdifferenzieren.

Aber durch genetische Veränderungen kann

- a) die Stammzelle nicht mehr in Vorläufer- ⇒ TUMOR
 - alle differenzieren
 - b) die Vorläuferzelle nicht mehr zu
 - Funktionszellen differenzieren
- ⇒ ENTSTEHUNG

Um den Zellzyklus zu regulieren gibt es versch. Signalwege, vor allem von Bedeutung



Alterung eines Zellsystems

- durch Alterung der Regenerationszellen
- im Normalzustand ausgewogene Zellproliferation und Zelltod
- Regenerative Zellen haben eine begrenzte Teilungsfähigkeit und damit eine begrenzte Regenerationsfähigkeit
- Kontrolle des Zellsystems über

REPLIKATIVE SENESZENZ

= Inaktivierung der proliferativen Kapazität einer Zelle bei erhaltener metabolischer Aktivität

- replikative Seneszenz ist assoziiert mit dem Alterungsprozess und der VERKÜRZUNG DER TELOMERE an den Chromosomenenden
- "vorzeitige Alterung" kann durch zellulären Stress (Hypoxie, Oxygen -Akkumulation, strahleninduzierte DNA-Schäden) ausgelöst werden

Extrazelluläre Matrix (ECM)

- Gesamtheit der Moleküle außerhalb der Plasmamembran von Zellen
- ECM ist nicht statisch, sondern auf molekularer Ebene im Fließgleichgewicht
- ECM-Komponenten werden von Zellen synthetisiert und sezerniert
- Aufgaben der ECM
 - Verankerung von Zellen
 - Formgebung von Geweben
 - Zytokinreservoir
 - Regulation der Genexpression durch Bindung an bestimmte ECM-Komponenten

⇒ ECM-VERMITTELTE SIGNALTRANSDUKTION IN ZELLEN
AUCH VON BEDEUTUNG FÜR STRAHLENREAKTION

Auch das Mikromilieu spielt durch versch. phys. u. chem. Rolle bei Entwicklung maligner Phänotypen
↳ z.B. nach Strahlenexposition

Entstehung eines malignen Tumors

= gekennzeichnet durch invasives Verhalten

↓
Für Durchbruch der Basalmembran muss

- a) Zellbindung an ECM aufgehoben werden
- b) Collagen Typ IV Schicht der Basalmembran aufgelöst werden

MMP-2	Typ IV	(72 kD)	gelatinase A
MMP-9	Typ IV	(92 kD)	gelatinase B

Energieübertragung durch Ionisationsereignisse

- ↳ LET... Linearer Energie Transfer beschreibt Anzahl an Ionisationsereignissen (d.h. Energieabgaben) auf Wegstrecke

α -Strahlung mit höchstem LET!

Demonstrierend muss Strahlenqualität und biologische Wirksamkeit strahlungsartabhängig beschrieben werden.

RELATIVE BIOLOGISCHE WIRKSAMKEIT (RBW)

- bei der Bestimmung des RBW-Wertes bedient man sich der schädigenden Wirkung einer Bezugsstrahlung (Bsp 250kV Röntgenstr.)

$$RBW = \frac{D_{50} \text{ 250kV Röntgenstr.}}{D_{50} \text{ Test-str.}}$$

D_{50} ... Dosis, um 50% der Zellen abzutöten

- vergleicht man α -Strahlung mit β -Strahlung, dann benötigt man 20-fach höhere Dosis an β -Strahlung für gleichen biologischen Effekt → QUALITÄTSFAKTOR 20

QF	α -Strahlen	$q=20$
	Neutronen	$q=5-20$
	Röntgen	$q=1$
	β -Strahlen	$q=1$

Strahlenschäden

→ über:

- | | | |
|------------------------------|---|---|
| a) indirekter Effekt
~70% | → Radikalbildung
Membranschäden, Chromosomenbrüche
Zelltod, Tumorentstehung | ↑ |
| b) direkter Effekt
~30% | → Ionisation führt zu
Chromosomenbruch, dann S.O | |

Strahlenschäden

!! ..	Crosslinks (DNA-Protein und DNA-DNA-Verknüpfungen)	150-200 / Gy / Zelle ~4%
	Einzelstrangbrüche (ESB)	1000 / Gy / Zelle ~20%
	Basenschäden	4000 / Gy / Zelle ~70%
	Zuckerschäden	1000 / Gy / Zelle
	Mehrfachschäden (gehäufte Läsionen) bulky lesions	200-400 / Gy / Zelle ~5%
	DOPPELSTRANGBRÜCHE (DSB)	30-50 / Gy / Zelle ~1%
	DNA-DNA-Verknüpfung (bei hohen Dosen)	30 / Gy / Zelle

!! → DSB & ESB ... linear mit Dosis ...

DNA - Doppelstrangbruch - Reparatur

- 1) NHEJ-Reparatur NICHT HOMOLOGES ENDJOINING
- End-zu-End-Verknüpfung
 - hauptsächlich in G₁ (G₀) und früher S-Phase
 - fehlerhaft
- (kann aber in allen Phasen auftreten)

Ku70/Ku80 + DNA-PK an Enden

↓
Prozessieren der DNA (Rad50, Mre11, NBS1)

↓
Ligation der Enden (Ligase IV)

- 2) HR-Reparatur HOMOLOGE REKOMBINATION

- Matrizenvorlage: Schwesterchromatide
- nur in später S- und G₂-Phase möglich
- fehlerfrei

MRN-Komplex!

Strahlenfolgen

In früh reagierenden Geweben:

Hämatopoetisches System

- Leukopenie: Untergang der Leukozyten
- Lymphopenie: Untergang der Lymphozyten
- Thrombopenie: Untergang der Thrombozyten

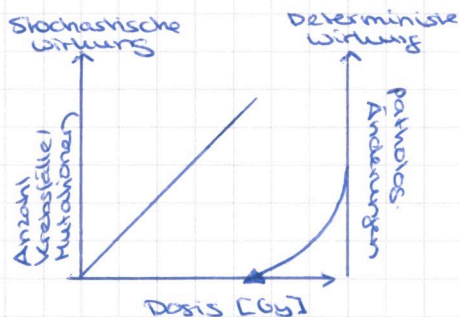
Intestinalsystem

- Untergang von Darmzotten
- ▶ Zusammenbruch der Nahrungsresorption und des Elektrolythaushaltes

Mundschleimhaut

- Mukositis durch Untergang von Schleimhautepithelzellen (97% bei RT im Kopf-Hals-Bereich)

In spät reagierenden Geweben



Stochastische Wirkung

= Maligne Veränderung
(Leukämie, Hautkarzinom, Schilddrüsenkarzinom)

Deterministische Wirkung

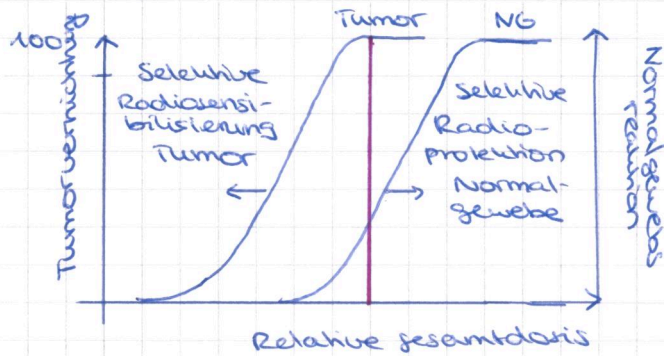
= Degenerative Veränderungen

- Blutgefäße
(Gefäßwandveränderungen)

- Lunge (Fibrosierung, d.h. massive Kollagenablagerungen im interzellulären Raum, die zur Beeinträchtigung in Lungenfunktion führen)
- Auge (Veränderung Linse, Kataraktbildung)

Holthusen-Prinzip

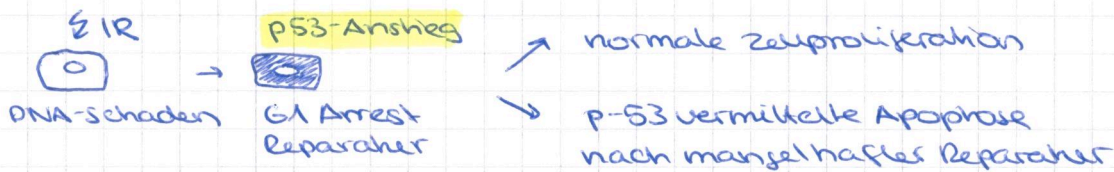
→ Verbesserung der Tumorkontrolle durch selektive Modulation der Radiosensitivität



Ziel:
max
Tumorkontrolle
bei
min
Normalgewebs-
reaktion

Induktion von Tumorzellen durch ionisierende Strahlung

a) normale zelluläre Reaktion



b) Induktion von Tumorzellen

↳ IR schädigt p53-Gen und andere DNA-Bereiche
p53-Mutation → fehlender G1-Arrest, keine Reparatur
→ mitotischer Fehler und folgender Zelltod
oder
→ Zellproliferation mutierter Zellen: klonale Expansion
aneuploider Zellen ⇒ TUMORZELLPROMOTION

Dosisfraktionierung

Prinzip ⇒ Gesundes Normalgewebe kann subletale Schäden in der Pause zwischen 2 Bestrahlungen weitgehend reparieren und sich im Allgemeinen besser erholen als das Tumorgewebe
= ELKIND ERHÖHUNG



⚡ Einzeldosen von $> 2 \text{ Gy}$ sind kritisch wegen Gefahr inakzeptabler Spätfolgen am gesunden Gewebe

Sauerstoffeffekt

! Achtung: Hypoxische Zellen limitieren Radiokurabilität!
→ Fraktionierung genutzt zur Überwindung der Tumorthypoxie
→ Fraktionierung ermöglicht Reoxygenierung von Zellen in hypoxischen Arealen (senkt Resistenz gegen Bestrahlung)

Immunreaktion

- Bestrahlung könnte das Immunsystem bei Tumorbekämpfung unterstützen

ABSKOPALER EFFEKT

- bei Behandlung metastasierender Tumore beobachtet
- bei lokaler Behandlung des Tumors, schrumpft auch Tumor außerhalb des bestrahlten Bereichs
- vermutlich Aktivierung des Immunsystems (v.a. T-zellen und dendritische Zellen)
- selten, aber in Bsp Melanome, Lymphome, Nierenkarzinome

Strahleninduzierte Signalkaskaden (S. 20)

Strahleninduzierte p53-vermittelte Apoptose

IR aktiviert p53!

- Induktion pro-apoptischer Proteine: Bax, Puma
- p53 Beteiligung an Bildung des Apoptosoms
- Aktivierung der Caspase 9 auch kontrolliert durch anti-apoptische Proteine (Bsp Bcl-2)
- Balance pro- und anti-apoptischer Proteine variiert stark zwischen Zelltypen und Tumoren

- viele Tumore sind aufgrund der p53-Mutation unfähig Apoptose zu induzieren (Verlust Schutzmechanismus)

- ⚡ Fibroblasten zeigen trotz p53-Induktion im Gegensatz zu Lymphozyten und Thymozyten nie Apoptose nach IR!

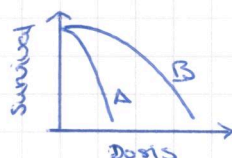
Mitotische Katastrophe & reproduktiver Zelltod

- Folge abnormer Mitose aufgrund unreparierter DNA-Schäden
 - häufig nach IR
 - charakteristisch:
 - vielkernige Riesenzellen
 - unkondensierte Chromosomen
 - Chromosomenaberrationen
 - Aneuploidie, Polyploidie
 - Mikronuklei
 - Verlust oder Unfähigkeit Zytokinese

- ⇒ Tod ausgelöst durch Verlust des replikativen Potenzials oder genetischem Materials

Quantifizierung von Strahlenschäden

Koloniebildungstest



Bestimmung von Überlebensfähigkeit
Klonogener Aktivität
Intrinsisches Strahlenempfindl.
Dosis-Wirkungsbeziehung

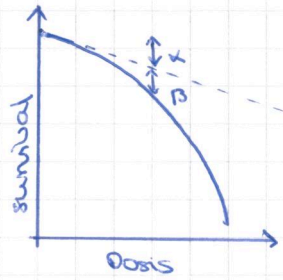
(A strahlenempfindlicher als B)

γ-H2AX Fokus Test

- Fluorochrom markierter AK bindet an Phosphatgruppe am Histone 2A, 121 Schaden

L-Q-Modell

(in vivo & in vitro)



Überlebenskurven nach L/Q Modell sind gleichmäßig gebeugt, ohne geraden Anteil im niedrigen oder hohem Dosisbereich.
→ Form der Kurve ist definiert durch Verhältnis α/β

$\frac{\alpha}{\beta} = Gy = \text{Dosis}$, bei der linearer Beitrag der Strahlung (αD) gleich groß ist wie quadr. Beitrag (βD^2)

- 1) Bei kleinem α/β -Verhältnis überwiegt Krümmung der Kurve, die Schulter ist groß
→ gute Erholungsfähigkeit
- 2) Bei großem α/β -Verhältnis überwiegt linearer Abfall, Schulter ist klein
→ geringe Erholungsfähigkeit

Direkter und indirekter Strahleneffekt

Indirekte Wirkung

- Strahlung interagiert zunächst mit Wasser, es entstehen freie Radikale
- dominierend bei Strahlung mit niedrigem LET (ca 70% der Schäden durch Röntgen-, γ - und Elektronenstrahlung)
- kann durch Radiosensitizer oder Protektoren modifiziert werden

Direkte Wirkung

- Energieabsorption und biologische Wirkung erfolgen im selben Zielmolekül
- vorherrschend bei Strahlung mit hohem LET (Neutronen & α -Strahlung)
- kann nicht durch Radiosensitizer oder Protektoren modifiziert werden

Radioprotektoren

a) Radikalfänger

- Substanzen mit Thiol- (Sulphydryl-, Mercapto-) Gruppe

b) Substanzen, die Zellantwort modulieren

⇒ GLUTATHION (GSH) besteht aus 3 Aminosäuren: Glutaminsäure, Cystein und Glycin und ist in fast allen Zellen enthalten (gehört zu wichtigsten Antioxidans-wirkenden Stoffen im Körper)

Reduziertes GSH besitzt freie Thiolgruppe und kann e^- auf ROS übertragen und sie unschädlich machen!

→ GSH kann helfen, Proteine & Membranlipide vor oxidativem Stress zu schützen

Amifostin

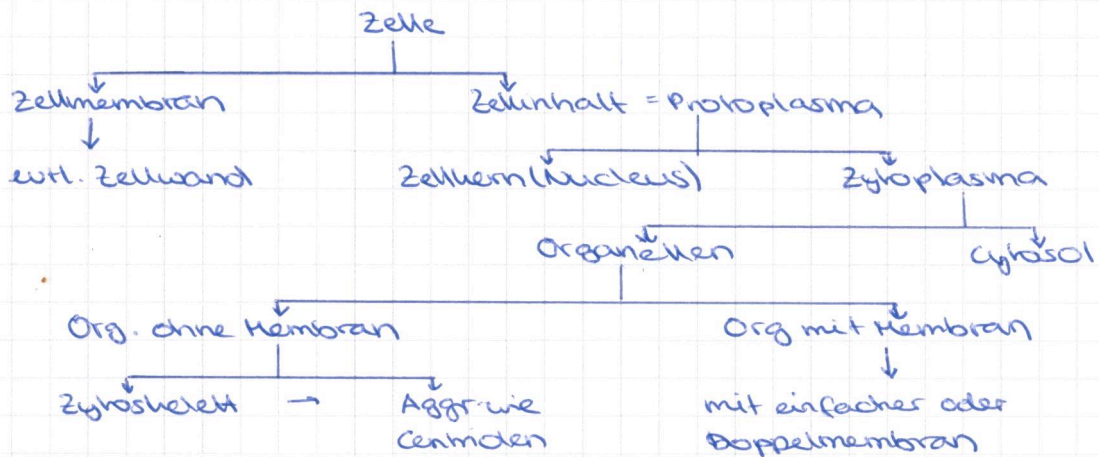
- radio protektiv in Normalgewebe (relativ selektiv)
- Grund: schlechte Blutversorgung vieler Tumore
niedriger pH-Wert im Tumor (durch Gewebsazidose durch anaerobe Glykolyse)
alkalische Phosphatasen im Tumor weniger exprimiert

⇒ von den in Tumoren vorherrschenden sauren Phosphatasen wird Amifostin nicht dephosphoryliert

II

Vorlesung 2 (04.05.2017) Zellstrukturen mit Funktion

Gliederung höherer Zellen



Aufbau menschlicher Zellen

- kleinste Baueinheit eines Organismus
- Träger der Lebenserscheinungen
- zsm. mit zwischen den Zellen gelegenen Material bauen sie Strukturen des Körpers auf
- alle Tier- und Pflanzenspezies nach relativ einheitlichem Bauplan der Zellen
- Größe menschl. Zelle variiert nach Funktion
 - Nervenzellen 0.12 mm - 0.2 mm (Fortsätze bis 1m)
 - Glinzellen 4-5 μ m
 - Spermien 3-5 μ m
 - Erythrozyten 7-5 μ m
- Gesamtanzahl 10^{14} Zellen (~ 4 Mio km)
Besiedlung Mensch mit 10^{15} Bauteilen

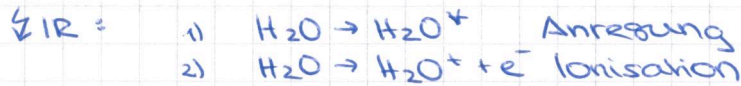
Strukturen eukaryotischer Zellen

Zytoplasma

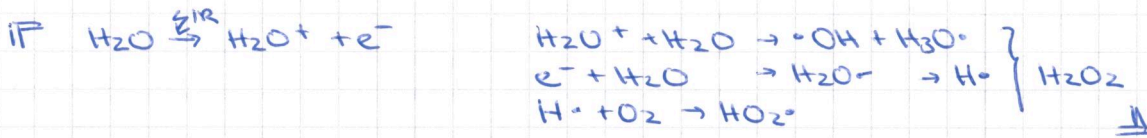
- = das gesamte, den Zellkern umgebende Innere der Zelle
- besteht zu 70% aus Wasser und zu ca 30% aus Protein
- 10.000 versch. Proteinarten

**STRAHLENBIOLOG BEDEUTUNG, DA ZU 70% AUS WASSER
» RADIKALBILDUNG**

⇒ Radiolyse des Wassers durch IR



Das Hydroxid-Ion H_2O^+ reagiert sehr schnell (10^{-14} sec) mit cytosolischem Wasser



Zellmembran

- Abgrenzung der Zelle nach außen (Schutzwehr)
- notwendig für Aufrechterhaltung des Ionengleichgewichts
- notwendig für geregelten Transport von Salzen und Nährstoffen
- und für geregelte Kommunikation mit Nachbarzellen

Aufbau



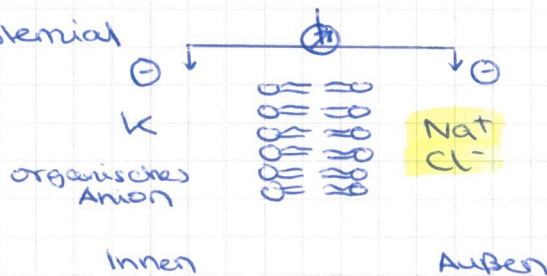
Phospholipid-Doppelschicht mit Proteinen



R.. Zucker oder oligosaccharid (hydrophil)

F.. Fettsäurereste (hydrophob)

Membranpotential



- Spannungsdiff.
 zwischen Zell-
 innerem und
 -äußerem

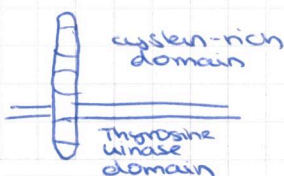
⇒ Je nach Zelltyp beträgt Ruhemembranpotential -100 bis -50 mV, bei den meisten Nervenzellen ~ -70 mV

Bei Zellmembranschäden durch Radikale u. Peroxide entsteht unkontrollierter Ionenfluss >> Membranpotential geht verloren >> Zelltod

Rezeptor-Signalkaskade über second-messenger-System (G-Protein-Komplex)

↳ Membranrezeptoren wie EGFR spielen wichtige Rolle bei Strahlenreaktion

ErbB-Genfamilie



ErbB-1 → Her, EGFR

(EGF, TGFα, HB-EGF, Epirregulin, Amphiregulin)

ErbB-2 → Her2

ErbB-3 → Her3

(Hereguins)

ErbB-4 → Her4

(NRG2/3, Hereguins, b-cellulin)

(ErbB1-ErbB2)
ErbB2-ErbB3

ErbB-Signalkaskaden

IR $\rightarrow$ EGFR $\rightarrow$ PI3K $\rightarrow$ nukleartargets
Ras $\rightarrow$ $\downarrow$
DNA-PK $\rightarrow$ DNA-repair $\rightarrow$ radioresistance

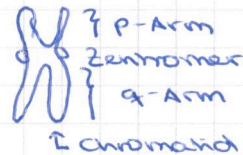
Zellkern (Nucleus)

- mit Ausnahme der Erythrozyten haben alle eukaryotischen Zellen einen Zellkern
- Zytoplasma und Kern ergänzen sich zur Funktionseinheit Zelle
- Zellkern beinhaltet nahezu gesamtes genetisches Material
- Steuerungszentrale der allg. Zellfunktionen

Aufbau Kernmembran + Kernporen
Nukleolus
Chromosomen
Chromatin

$\rightarrow$ Nukleolus (Kernkörperchen) wird Struktur im Zellkern bezeichnet, die hauptsächlich aus Ribonukleinsäure (RNA) und Proteinen besteht. Nukleolus ist beteiligt an Ribosomenproduktion.

Aufbau Chromosome



(DNS-Faden ist um Histone gewickelt)

DNA

Form einer Doppelhelix durch komplementäre Aneinanderreihung von Nukleobasen [T-A, G-C]

DNA- und Chromosomen-schäden

Chromosomen $\rightarrow$



TRANSLOCATION



DIZENTRISCHES CHROMOSOM

DNA $\rightarrow$

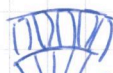
Einzelstrangbruch, DSB, Basen- und Zuckerschäden, bulky lesions, DNA-Protein Quervernetzung (cross link)

Strukturen im Zellkern

$\Rightarrow$ genetisches Material, d.h. Desoxyribonukleinsäure (DNA) liegt im Zellkern je nach Organisationsform im Komplex mit Proteinen (Chromatin) entweder als

- HETEROCHROMATIN**: stark verdichtet und gut färbbares Chromatin, DNA ist stark an Histone und Nicht-Histone-Proteine gebunden
- EUCHROMATIN**: aufgelockertes, helles Chromatin, die meisten, in Form von Genexpression aktiven DNA-Abschnitte kommen hier vor

Struktur Kernpore



annulärer, luminaler und säulenförmige Untereinheit

Endoplasmatisches Retikulum (ER)

- ausgehend von der Kernhülle bildet das ER ein Membransystem im Zytoplasma
- besetzt mit Ribosomen ist das ER ein Transportsystem für neu gebildete Proteine

Aufbau



- ER ist mit Ribosomen besetzt
- 2 gegenüberliegende Membranen bilden Spaltrium (30-50 nm) der mit Pericoplasma ausgefüllt ist

- ! Aufgabe: Zisternen des ER dienen dem Transport von Proteinen (Eiweißmolekülen) innerhalb der Zelle und dem Export nach außen.

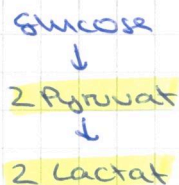
Mitochondrium

- Mitochondrien kommen in allen Zellen vor, in hoher Zahl speziell in Zellen mit hoher Stoffwechselaktivität
- Mitochondrien sind Kraftwerke einer Zelle, d.h. sie dienen der Energiegewinnung
- beinhalten spezielle Enzyme des Stoffwechsels
- Mitochondrien haben eigene DNA und Ribosomen
- ATP ist 'universeller Treibstoff der Zelle', wird für Zellteilung, Muskelarbeit und Gehirnleistung benötigt auch für DNA-Schadensreparatur

Formen Energiegewinnung

a) ANAEROB

- differenzierte Zellen in Abwesenheit von O_2
- ! und Tumorzellen auch mit O_2

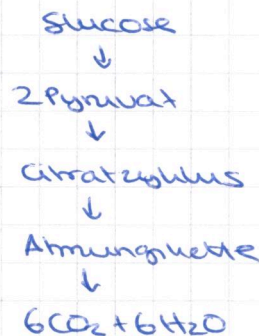


2 ATP (ineffizient)

normal unterdrückt O_2 diesen Vergärungsstoffwechsel (Pasteur-Effekt)

b) AEROB

- diff. Zellen in Gegenwart von O_2



38 ATP (hocheffizient)

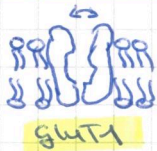
⇒ TUMORZELLEN vergären Glukose zu Milchsäure auch wenn Sauerstoff da ist (WARBURG-EFFEKT)
= aerobe Glykolyse

- ineffizienter Glukoseabbau
- kompensiert durch große Menge von Glukose die abgebaut wird
- gewonnene Energie ist gleich
- entstehendes Laktat führt zu
 - Matrix-Abbau > Invasion & Metastasierung
 - HIF1α Stabilisierung > Angiogenese
 - > Radioresistenz

• Inaktive Mitochondrien

- inhibieren Apoptose
- führen zu Resistenz gegen Chemotherapie

Glukose-Transport in Zelle



- 1) Glukose bindet an Rezeptor (nach außen offen)
- 2) Transportprotein verändert Konformation
- 3) Glukose ist im Inneren freigelassen

→ klinischer Ansatz: Blockade Glukosetransport mit Phlozin, reduziert klonogenes Überleben von Tumorzellen
außerdem verhindert Phlozin DNA-Reparatur in Tumorzellen, es bleiben mehr residuelle Strahlenschäden zurück

Lysosom

- kugelförmige, membranumgebene Organelle ($\varnothing$ 25 nm - 2 μ m)
- dienen dem Abbau "gealterter", falscher oder geschädigter Makromoleküle
- wichtige Funktion bei Nahrungsmangel-Situationen (Recycling)
- enthält hydrolysierende Enzyme für intrazelluläre Verdauungsvorgänge (Bsp. zerlegt Protein $\rightarrow$ Peptide $\rightarrow$ Aminosäuren)

AUTOPHAGIE

= Prozess in Zellen, mit dem sie eigene Bestandteile abbauen (degradieren) und verwerten. Autophagie wird durch versch. exogene Faktoren induziert, Bsp. auch durch IONISIERENDE STRAHUNG

- a) bei Tumorenbildung reduzierte Autophagie
 $\hookrightarrow$ fördert Tumorentstehung
- b) später gesteigerte Autophagie
 $\hookrightarrow$ fördert Tumorzellüberleben (Schutz gegen Medikamente, IR)

Schema Autophagie

- 1) Induktion
- 2) Bildung Isolationsmembran
 $\rightarrow$ Autophagosom
- 3) Annäherung und Fusion mit Lysosom
- 4) Abbau und Recycling im Autolysosom

Peroxisom

- dem Lysosom ähnliche, runde bis ovale Körperchen (Microbodies) mit Durchmesser 0,2 - 0,5 μ m
- enthalten oxidative Enzyme (Oxidasen, Peroxidasen) und Katalasen, die Wasserstoffperoxid bilden und andererseits in Wasser spalten

$H_2O_2 \rightarrow$ bei vielen physiolog. Prozessen gebildet (Oxidation von Aminosäuren)
 $\rightarrow$ chemisch aggressiv $\rightarrow$ muss entgiftet werden (Peroxidasen zuständig)



Peroxidasen

Ribosomen

- Ribosomen hängen weitestgehend morphologisch und funkt. mit Erbsen können aber auch im Zytoplasma vorkommen
- Ribosomen $\varnothing$ 15-20 nm
- liegen sie einzeln vor, sind sie inaktiv zusammengefasst zu Polyribosomen sind sie aktiv als Proteinfabrik
- Ribosomen bestehen zu 40% aus rRNA und zu 60% aus Proteinen

Aufbau ribosomale Untereinheiten 60S UE + 40S UE

Proteinbiosynthese

- Transkription der DNA im Zellkern = mRNA
- an Ribosomen Translation in AS an t-RNA
- AS-Kette zu Protein

Radio-biologische Bedeutung microRNA

- sind z.T. strahleninduzierbar
- können Genexpression von Proteinen steuern, die Einfluss auf zelluläre Strahlensensibilität / -resistenz nehmen
- IR induziert oder reprimiert microRNAs
- IR induziert microRNAs der ErbB-Signalwege
miR205: activation anti-apoptotic genes

Zusammenfassung

- viele zelluläre Strukturkomponenten, Organellen und molekularbiologische Prozesse können durch Strahlung verändert werden und beeinflussen dadurch positiv oder negativ die Strahlenreaktion von Normal- und/oder Tumorzellen
- Aufklärung dieser Prozesse ermöglicht gezielte Beeinflussung z.B. Radioprotektion

Vorlesung 3 (11.05.2017) Molekulare Zellbausteine

III

Zusammensetzung menschl. Körper

→ Wasser	60%	
Proteine	20%	
Lipide	15%	
Polysaccharide	1%	(Kohlenhydrate, Zucker)
Nucleinsäuren	1%	
Mineralstoffe	5%	

Durch geeignete Variation ist Bildung sehr großer Zahl verschieden artiger Einzelmoleküle mit spez. chem. Eigenschaft möglich.

PROTEINE: für Aufbau aller Proteine 20 Aminosäuren erforderlich (untersch. Aneinanderreihung)

NUCLEINSÄUREN: bestehen aus 4 Nucleotiden
Reihenfolge bestimmt Eigenschaften

POLYSACCHARIDE: aus 11 Monosacchariden, die einzeln zu Oligosacchariden oder zu langkettigen,

LIPIDE: chemische Esterverbindungen versch. Fettsäuren mit Alkohol glycerin

Kohlenhydrate

- nach allgemeiner Formel $C_x(H_2O)_y$ aufgebaut
- Grundeinheit sind einfache Zuckermoleküle (Monosaccharide)
- unverzichtbare Nahrungsquelle für Energie- und Synthesestoffwechsel (u.a. Gehirn & Erythrozyten)
- für Versorgung der Organe / des Gehirns muss im Blut konstante Glukosekonzentration aufrechterhalten werden (falls nicht über Nahrung, Spaltung Glykogen in Leber oder Muskulatur in Glukosemoleküle)
- bei länger andauerndem Kohlenhydratmangel kann Glukose auch in Leber aus Aminosäuren synthetisiert werden

Lipide

- nur schwer in Wasser löslich, ideale Membranbausteine
- in organischen Lösungsmitteln (Benzol, Chloroform, Aceton) sehr gut löslich
- wichtigste Vertreter sind Fette, DEPOTFETTE dienen als Reservestoff
- auch als Druckpuffer für inner Organe (Bsp Nieren) und zur Wärmeisolierung

Proteine

- Makromoleküle unendl. Größenklassen (15 - 1000 kD)
- a) wasserlösliche Komponenten intra- und extrazellulären Flüssigkeiten

→ Enzyme, Signalmoleküle
Transportproteine, Antikörper

- b) wasserunlösliche Komponenten

→ Strukturproteine
Haare, Horn, Muskelfasern

- 20 Aminosäuren bilden Grundbausteine
essenzielle AS

Phenylalanin	Phe	F
Isoleucin	Ile	I
Lysin	Lys	K
Leucin	Leu	L
Methionin	Met	M
Threonin	Thr	T
Valin	Val	V
Thryptophan	Trp	W

- Aminosäuren werden über Peptidbindung, d.h. durch Verbindeg der Amino-Gruppe der einen AS und Carboxyl-Gruppe der anderen AS ein Dipeptid
- durch Peptidbindungen mit weiteren AS werden kettige Oligopeptide oder großkettige Polypeptide gebildet
- Peptidbindung bedingt, dass Beweglichkeit sehr eingeschränkt ist » keine freien Knäuel sondern Anordnung in regelmäßigen Strukturen (Primärstruktur)

! Primärstruktur, Sekundärstruktur, Tertiärstruktur

AS-Kette

α -Helix

Faltung α -Helix in 3D

(Primärstruktur = Aminosäuresequenz, Sekundärstruktur = lokale Faltung, Tertiärstruktur = globale Faltung)

Nucleinsäuren

DNA - Desoxyribonukleinsäure

→ beinhaltet komplette genetische Information

RNA - Ribonukleinsäure

→ benötigt um genetische Info in einzelne Eiweißmoleküle zu übersetzen

Bestandteile der DNA

Nukleobasen

GUANIN ↔ CYTOSIN

ADENIN ↔ THYMIN

Purinbasen

Pyrimidinbasen

↳ Bindung über Wasserstoffbrücken

Jede Nukleobase hat nur eine Möglichkeit sich zu paaren

Phosphorsäure

Zucker

(Desoxyribose)

→ Struktureinheit Desoxyribonukleotid

- Phosphorsäurerest

- Nukleobase

- Desoxyribose (am C2-Atom anstelle von OH nur Wasserstoff)

→ Nukleotide eines DNA-Strangs werden mittels des am C-5' Atom der Desoxyribose befindlichen Phosphorsäurerest durch 3'-5'-Bindung verbunden

Aufbau Chromosom

- Chromosom besteht aus 2 Chromatiden

- ein Chromatid besteht jeweils aus 1 DNA-Doppelstrang

- DNA-Doppelstrang ist von Hüllproteinen umgeben

⇒ 1 Chromosom beinhaltet 2 DNS-Doppelstränge!

(Solenoidstruktur S. 14)

Zellzyklus

G1-Phase → RNA- und Proteinsynthese

S-Phase → Synthese von DNA (Replikation der Chromosomen)

G2-Phase

M-Phase (Mitose)

- in G1-Phase beinhaltet jedes Chromosom nur einen DNA-Doppelstrang

- in S-Phase wird DNA repliziert, dann jeweils 2 DNA-Ds in Chromosom, in jedem Chromatid einer aufgewickelt

- in Mitose werden Chromatiden eines jeden Chromosoms getrennt und zu Zell-Pol gezogen

Prophase → Metaphase → Anaphase → Telophase → Zellteilung (Mitose)

Replikation der DNA muss hoch akkurat ablaufen, damit die Informationsfolge der DNA-Basenpaarungen erhalten bleibt!

↳ Voraussetzungen: aufgespreizter DNA-Doppelstrang
freie, ungebundene Desoxyribonukleotide
d.h. gleiche Anzahl an Adenin-Thymin /

- aufgespreizter DNA-Doppelstrang, d.h. der jeweilige DNA-Einzelstrang dient als Vorlage oder Matrize zur Anlagerung und Aneinanderreihung der komplementären Desoxyribonukleotide
- Aufspreizung benötigt Enzym **HELICASE**
- Anlagerung der Desoxyribonukleotide benötigt Enzym **DNA-POLYMERASE**

Helicase

- Öffnet unter Energieverbrauch den DNA-Doppelstrang
- dabei $ATP \rightarrow ADP + P_i$

Fehler bei DNA-Replikation führen zu

- Basen Mismatch
- Replication Slippage
 - normale Replikation
 - DNA Polymerase kommt an direkten Sequenz-Repeats zum stoppen
 - DNA Polymerase wird kurzzeitig vom DNA-Strang entfernt
 - Backtrack slippage: DNA Polymerase setzt sich wieder vermehrt auf DNA-Strang und wiederholt die Synthese der letzten replizierten kurzen Sequenz

Endprodukt DNA-Replikation

- aus DNA-DS sind 2 DNA-Doppelstränge entstanden

In eukaryotischen Zellen entstehen täglich > 100.000 DNA Schäden

- ↳ durch Replikationsfehler
- IR
- ROS
- Aktylation agents

DNA-Schadensreparatur

- | | |
|----------------------------------|--|
| Basenschäden, Einzelstrangbrüche | → Basen Exzisions Reparatur (BER) |
| Bulky adducts, Thymindimere | → Nucleotiden Exzisions Reparatur (NER) |
| Basen Mismatch | → Mismatch Repair (MMR) |
| Interstrand cross-links | → ICL-Repair (NER, HR) |
| Doppelstrangbrüche | → Homologe Rekomb. Nicht homolog. Endjoining |

RNA

- Adenin ↔ **URACIL** (statt Thymine)
- Guanin ↔ Cytosin

Ribonukleinsäure liegt in menschl. Zellen als Einzelstrang vor. (in Viren auch als Doppelstrang)

⇒ Boten-Nukleinsäure für Synthese von Proteinmolekülen

RNA-Klassen

mRNA - messenger RNA

t-RNA - transfer RNA

r-RNA - ribosomale RNA

microRNA → strahleninduziert oder reprimiert
→ steuern Genexpression von Proteinen, die Strahlensensitivität steuern können

→ induzierte microRNA miR-143
induziert / reprimiert miR-302

(miR205 in ErbB-Kaskade)

IV

Vorlesung #4 (18.05.2017)

Zellsysteme, Hallmarke

Gewebehomöostase

Regenerativer Zellpool

Zellproliferation → Konstanter Zellpool → Zelltod

! Regenerative Zellen haben eine begrenzte Teilungsfähigkeit und damit begrenzte Regenerationsfähigkeit

Zellzyklus

Interphase : Zeitraum zwischen zwei Zellteilungen
G1-, S- und G2-Phase

Mitose : Zellteilung
Karyokinese und Zytokinese

G0-Phase : Ruhephase, in der keine Zellteilung mehr stattfindet
Spezialisierte (diff.) Zellen befinden sich in G0
Stammzellen können lange in G0 verharren

Überprüfung der Zellteilung an Kontrollpunkten

1) Start Punkt nach G1-Phase, vor S-Phase

- beeinflusst von Wachstumsfaktoren
Nährstoffen
(Zellgröße)
DNA-Schäden

2) G2-M-Übergang

- überprüft Zellgröße
DNA Schäden, DNA Replikation

3) Metaphase-Anaphase-Übergang

- überprüft Anheftung der Chromosomen an Spindel

Schäden können zu Zellzyklus-arrest führen

(p53 entscheidend)

⇒ MITOSE IST STRAHLEMPFINDLICHSTE ZELLZYKLUSPHASE

Gewebeerkrankung

- primär der Verlust der Flexibilität und Anpassungsfähigkeit;
d.h. Stoffwechsel kann nicht optimal angepasst werden

KLAUSUR

III

- bei Zellalterung gehen Syntheseleistungen zurück, Gleichgewicht zwischen Auf- und Abbau verschiebt sich langsam in Richtung Abbau (kataboler Prozesse)
- jede Zelle hat spezifische und genetisch determinierte Lebensspanne ("innere Uhr")
 ⇒ TELOMERE der Chromosomenenden verkürzen sich mit jeder Zellteilung

Zelltodformen

Apoptose

= genetisch programmierter Zelltod als Konsequenz der Zellalterung

Ablauf → Chromatin der Zelle wird fragmentiert
 Zelle schrumpft, aber Organellen nicht geschädigt
 Zelle wird fragmentiert
 Apoptotische Körperchen mit intakten Membranen entstehen

- Apoptose ist ein energieverbrauchender Prozess

! Achtung: Apoptose nur in einem Teil der Zellen vorherrschende Strahlenauswirkung

Nekrose

= Zelltod bei Schädigung durch externe Einflüsse, z.B. mechanische Verletzung, Hitzeeinwirkung etc.

Ablauf → Zelle schwillt an
 Organellen geschädigt, aber Chromatinmuster konserviert
 Zelle schwillt weiter an bis Auflösung der Zellmembran
 Freisetzung des Zellinhalts

Teilungsaktivitäten

Gewebe mit hoher mechanischer Belastung und starker Regenerationsnotwendigkeit
 (Darmepithel, Blutzellsystem, Meibndrüsen)
 haben hohe Teilungsaktivität.

Gewebe mit hoher konstanter physiologischer Belastung
 (Herz, Gehirn, Nerven, Leber, Lunge)
 haben geringe Zellteilungsaktivität.

Bsp Zellumschlagzeit

↳ jede Zelle des Gewebes einmal erneuert

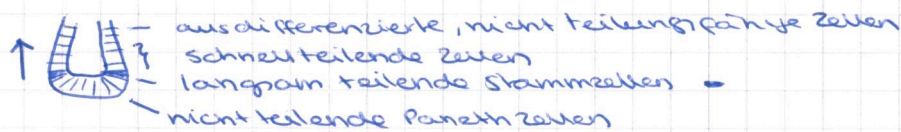
Lippe 14.7 Tage
 Mundhöhle 4.3 Tage
 DÜNNDARM 1.4 Tage

Magen 9.1 Tage
 Dickdarm 8.1 Tage

Gewebe	Teilungsfähigkeit
blutbildendes System Intestinalepithelien Keimdrüsen	} hoch
Hautepithel Epithel Augeröhre	} mittel
Lunge, Leber Niere, Bindegewebe	} niedrig
Herz, ZNS	kaum bis gar nicht

Bsp. Zellsystem der Darmzellen

↳ Zellwanderung von Anfang am Boden der Krypte bis zum Verlust an Zottenspitze ~ 3-5 Tage



Stammzellteilung

a) Stommesische Stammzellteilung

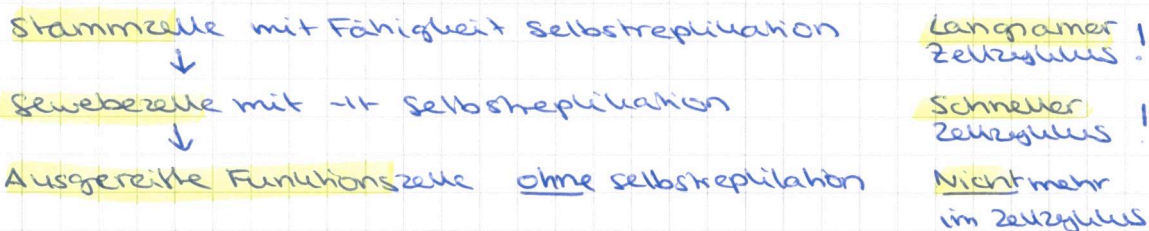
↳ Stammzelle teilt sich in 2 regenerierte Tochter-SZ

Teilungsfähigkeit von Stammzellen weitestgehend unbegrenzt. Im Vergleich zu Vorläuferzellen jedoch sehr langsame Teilung!

b) Asymmetrische Stammzellteilung

↳ Teilung in regenerierte Stammzelle und zur Ausdifferenzierung bestimmte Vorläuferzelle (nach genetisch determinierter Lebensspanne stirbt ausdiff. Funktionszelle ab)

Prinzip Stammzellsystem



⇒ Asymmetrische Teilung von SZ wichtiger Prozess zur Aufrechterhaltung des Zellpools

Kommt es zu irreparablen Zellschaden kann es

- zur kontrollierten Selbstzerstörung
- zur Tumorentstehung

durch Veränderung Teilungsfähigkeit

Klinische Tumorerfassung

→ früheres Stadium 1g (10³ Zellen) } unsichtbare Vorstadien über

3-Stufen-Prozess Krebsentstehung

- | | | |
|----------|--|--|
| 1. Stufe | INITIATIONSPHASE
(Transformation) | → Erste Mutation |
| 2. Stufe | PROMOTIONSPHASE
(Expansion und Redifferenzierung) | → Klonale Expansion der transformierten Zelle, mit schneller Zellteilung führt zu weiteren Mutationen. Diese Redifferenzierung führt zur Tumorbildung. |
| 3. Stufe | PROGRESSIONSPHASE
(Maligne Entartung) | → Weitere Mutationen (>4), Tumorzellen gewinnen Eigenschaft der permanenten Teilung und Fähigkeit zur Metastasierung |

Krebsursachen

- Veränderung genetischen Materials (Vererbung, Fehler in DNA-Replikation)
- Karzinogene Agenzien (Zigarettenrauch, IR, Chemikalien, Viren)

Tumorstammzell-Aspekt

- nicht alle Tumorzellen können isoliert neuen Tumor bilden = **TUMORSTAMMZELLEN**
- Rest = **TUMOR-BULK-ZELLEN**

Prozesse der Krebsentwicklung

- 1) 1. Mutation + genomische Instabilität + epigenetische Modifikationen
- 2) Weitere Mutationen
 - + Erwerb unbegrenzter Teilungsfähigkeit
 - + verbesserter Überlebensfähigkeit auf Stresssituationen
- 3) Mutationen und epigenetische Modifikationen
 - + Angiogene Induktion
 - + erhöhte Proliferations- und Überlebensfähigkeit
 - + Umgehung der Apoptose
- 4) Fortgeschrittener Tumor mit erhöhter Malignität
 - + Invasions- und Metastasierungsfähigkeit

Hallmarks of Cancer

1) UNABHÄNGIGKEIT VON WACHSTUMSSIGNALEN

- um sich teilen zu können brauchen gesunde Zellen externe Signale durch regulierende Wachstumsfaktoren
- Krebszellen brauchen dies nicht, Fähigkeit sich ohne Wachstumsfaktoren zu teilen oder sie selbst zu produzieren

2) INSENSITIVITÄT GEGENÜBER WACHSTUMSINHIBITOREN

- gesunde Zellen reagieren auf wachstumshemmende Signale, wie Zell-Zell-Kontakt (Kontaktregulation)
 - » Gleichgewicht neugebildeter und abgestorbener Zellen
- Eigenschaft in Krebszellen nicht mehr vorhanden

3) UNBEGRENZTE ZELLTEILUNGSFÄHIGKEIT

- in gesunden Zellen verkürzen sich bei jeder Teilung die Enden der Chromosome (Telomere)
- aber in Krebszellen verlängert Telomerase nach jeder Teilung die DNA der Telomerregion auf ursprüngliche Länge

4) APOPTOSEVERMEIDUNG

- = mangelnde Fähigkeit zum "programmierten Zelltod"
- normale Zellen gehen in Apoptose bei genomischen Schädigungen
- Tumorzellen, die Apoptose umgehen können, führen zu weiterer genetischer Instabilität

[60-70% aller Tumorentitäten mit p53 Mutation]

5) ANGIOGENESEINDUKTION

- = Versorgung mit Blut durch Ausbilden neuer Blutgefäße
- wächst Tumorgewebe müssen neue Blutgefäße gebildet werden, um Sauerstoff und Nährstoffversorgung zu gewährleisten
- Tumor in schlecht versorgten Arealen können vermehrt VEGF produzieren

(VEGF aktiviert Zellen in Knochenmark, führt zur Mobilisierung von EPC und myeloide Zellen)

6) METASTASIERENDES MATERIAL

- Tumorzellen können in andere Gewebe einwachsen und sich im Körper fortzubewegen

(Basallamina - Durchbruch mit Collagenase IV mit folgender Invasion durch Blutgefäße bis zur Adhäsion an Blutgefäßwand » Extravasation durch Blutgefäßwand bis zum Metastasenwachstum)

Zusammenfassung Hallmarks (erweitert)

- 1) Unabhängig von Wachstumsignalen
- 2) Insensitivität gegenüber Wachstumsinhibitoren
- 3) Unbegrenzte Teilungsfähigkeit
- 4) Apoptosevermeidung
- 5) Angiogeneseinduktion
- 6) Metastasierung
- 7) Immunumflucht

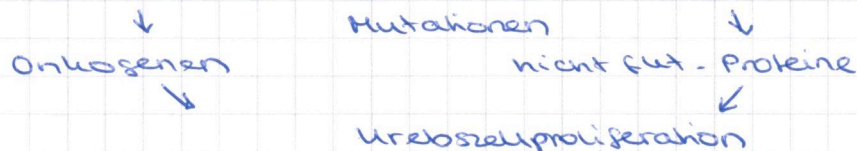
- 8) GENETISCHE INSTABILITÄT
- 9) TUMOR-PROMOVIERENDE ENTZÜNDUNG
- 10) UMPROGAMMIERTER METABOLISMUS

Urbesenbleichung

! kritisch sind Mutationen in

- a) positiven Wachstumskontrollgenen
Expression von Wachstumsfaktoren und -rezeptoren positiv beeinflussen $\Rightarrow$ EGF, Ras, E2F
- b) negativen -"-
Expression unterdrücken Wachstumskontrollproteine

PROTO-ONKOGENE VS TUMOR-SUPPRESSOR GENE



Positive Regulatorproteine

- Wachstumsfaktoren (EGF, PDGF, FGF, IGF)
- Wachstumsfaktorrezeptoren (Ras, Aft, PTEN)
- Transkriptionsfaktoren (E2F)

Negative Regulatorproteine

- Tumorsuppressorproteine (p53)
- Zellzyklusregulatorproteine (p16, p27)
- S-Phase Kontrollproteine (pRb)

Onkogen-Klassen

- 1) Signalmoleküle (Wachstumsfaktoren)
- 2) Wachstumsfaktorrezeptoren (in Membran oder intrazellulär)
- 3) Intrazelluläre Signaltransduktionsproteine
- 4) Transkriptionsfaktoren
- 5) Zellzyklus-Kontrollproteine
- 6) DNA-Reparaturproteine

$\Rightarrow$ Onkogenaktivierung beschleunigt Zellwachstum

(Nachweismöglichkeiten zellulärer Onkogene
(humane Tumorzellen DNA in murine 3T3 Zellen transfiziert))

Mutationstypen

→ definieren den Malignitätsgrad

- a) PASSENGER-MUTATION entsteht früh in Organismusenwicklg., aber meistens harmlos
(Beeinflussen Zellproliferation nicht oder nur unwesentlich)
- b) TREIBER-MUTATION bilden Ausgang für gewebsspezifische Krebsentwicklung
(für versch. Tumorentitäten sind spez. Genmutationen bekannt)
- c) MUTATOR-PHÄNOTYP, durch hohe Mutationsfrequenz im gesamten Genom und speziell in Reparaturgenen gekennzeichnet

Gründe für genetische Instabilität

- DNA-Schäden bedingt durch Chemikalien, Strahlung, oxidativen Stress / Chromosomensegregation
- fehlerhafte DNA-Schadensreparatur durch schlecht regulierte DNA-Reparatur-Maschinerie

Strahlenschäden

Zeitlicher Ablauf

$10^{-24} - 10^{-14}$ sek	initiale, physikalische Interaktion
$10^{-12} - 10^{-8}$ sek	physiochem. Interaktion
10^{-7} sek - h	chemische Schäden
ms - Stunden	biomolekularer Schaden
Stunden - Wochen	frühe biolog. Effekte
Jahre - Jahrzehnte	späte biologische Effekte

- Zellkern ist prädominante, zelluläre Zielstruktur
(Bestrahlung Zytoplasma = Zellüberleben
Bestrahlung Zellkern = Zelltod)
- DNA-Doppelstrangbrüche sind schwerwiegendste Schäden
- IR beeinträchtigt DNA-Replikation stark, aber Proteinsynthese kaum

Koordination der DNA-Reparatur

über Signale (DNA-Schaden oder Replikationsstress)
Sensoren
Transduktoren
Effektoren

- In Säugerzellen entstehen pro Tag > 100.000 DNA Läsionen
~~dadurch entstehen~~ DNA-Replikationsfehler
chemischer Zerfall von DNA-Basen
Schädigung durch ROS
IR

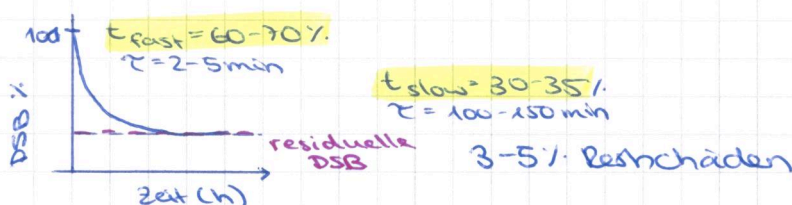
Vorlesung 5 (22.06.2017) DNA-Schäden

VI

Reparatur-Mechanismen für DNA-Schäden

Basen-Exzisions-Reparatur (BER)
Nucleoexzisions-Reparatur (NER)
Homologe Rekombination (HR)
Nicht homologes End-joining (NHEJ)

Doppelstrang-Reparatur



- schnell und langsam reparierte DSB
- Reparatur ist nach 12h abgeschlossen

Mechanismen der Doppelstrang-Reparatur

HR

- Matrizenvorlage durch Schwesterchromatid
- hauptsächlich in später S- und G2-Phase
- fehlerfrei



slow kinetics in Heterochromatin

NHEJ

- End zu End Verknüpfung
- hauptsächlich in G0/G1 und früher S-Phase (auch G2 möglich)
- schnell aber nicht fehlerfrei



fast kinetics in Euchromatin

(in allen Phasen möglich)

Ablauf NHEJ

- 1) Induktion DSB
- 2) DSB sensing durch Ku70/80
- 3) Rekrutierung / Aktivierung der DNA-PKcs über Art-pathway
- 4) Prozessierung DNA-Enden (Artemis, WRN, Pol δ/ϵ)
- 5) Rekrutierung Ligasenaktivität
- 6) Auflösen des NHEJ-Komplex

↳ Variation des NHEJ ist SINGLE STRAND ANNEALING REPAIR (SSA)

bei repeats, non conservative (deletion)

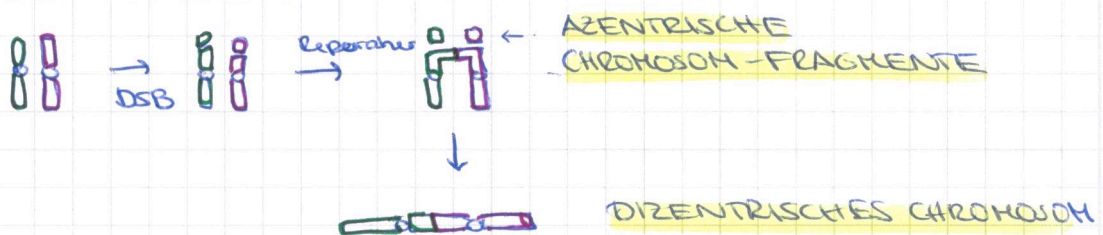
Detektion Chromosomenschäden

- 24-Farben-FISH

- 1) Chromosomenabberation → TRANSLOCATION



- 2) Dizenitrise Chromosomen



Faktoren mit Einfluss auf DNA-Reparatur

Zellzyklusphasen

→ Dauer zellspezifisch (Tumorzellen)

M-Phase 1h

G₁-Phase 10h-d

S-Phase 10-12h

G₂-Phase 3-4h

→ Funktion zeitliche und räumliche Koordination

→ mikroskopisch nur in M-Phase sichtbar

Kondensationsstufe der DNA

→ Euchromatin (locker) mit fast kinetics = NHEJ

Heterochromatin (dicht) mit slow kinetics = HR

Histonmodifikation nach IR-Exposition H2AX

- ↳ Phosphorylierung S139 durch ATM
- ↳ Ubiquitylierung S139 durch RNF8
- ↳ γ H2AX Foci markieren DNA-Doppelstrangbrüche (Immunfluoreszenz)

Bestimmung Dosis bei Röntgenuntersuchungen

- 1) Blutentnahme vor CT + ex vivo Bestrahlung
- 2) Blutentnahme nach CT (in vivo Bestrahlung) ⇒ Dosis

! DNA-Schäden nach sehr niedrigen Dosen werden schlecht repariert!

Zelltod

DDR-System = DNA damage response system

- bestimmt biologische Konsequenz einer Bestrahlung, inklusive Zelltod
- Form und Zeitpunkt des Zelltods
- Manifestation des Zelltods kann sehr untersch. bei den verschiedenen Zelltypen von Normal- und Tumorzellen (auch innerhalb Tumorzellpopulation) sein

Def. Zelltod Strahlenbio ⇒ Fokussierung auf klonogenes Überleben

"Jeder Prozess, der zum permanenten Verlust der klonogenen Aktivität führt"

⇒ Wirkung der Strahlentherapie beruht hauptsächlich auf reproduktiver Inaktivierung der Stammzellen des Tumors.

Formen

Apoptose → Zellselbstmord, streng geregelter physiolog. Vorgang (programmierter Zelltod)

Nekrose → Zerkörung der Zelle durch starke äußere Reize

Entosis → nicht apoptotischer Zelltod, hervorgerufen durch Verlust der Bindung an ECM

Autophagie → Zellen verdauen Teile ihres eigenen Zytoplasmas, generieren daraus Energie

Seneszenz → aktive intrazelluläre Prozesse führen zur terminalen Differenzierung mit Verlust der klonogenen Aktivität

Mitotische Katastrophe → Reproduktiver Zelltod

APOPTOSE "Geregelter Zelltod" (gr. apo "weg" phosis "Fäh")

- streng geregelter Vorgang
- wichtige Rolle bei Entwicklung, Erhaltung und Altern vielzelliger Organismen
- Embryonalentwicklung: Modellierung 3D-Strukturen
- Erhaltung der Gewebeshomöostase

Folgen gestörter Apoptosekontrolle

- 1) unzureichende Apoptose
 - Autoimmunerkrankungen
 - Virusinfektionen
 - Krebs
- 2) übermäßige Apoptose
 - AIDS
 - Schlaganfall
 - Alzheimer
 - Parkinson

Apoptose wird initiiert von Zelle selbst oder Signale umgebender Gewebe und Immunzellen

INTRINSISCHE Signale

- ▶ zellulärer Stress (ROS, Ca^{2+} pH, ATP und Glukose mangel)
- ▶ Chemotherapie
- ▶ DNA-Schäden

EXTRINSISCHE Signale

- ▶ Entzug Wachstums- und Überlebensfaktoren
- ▶ Verlust der Adhäsion an ECM
- ▶ Wirkung von Todestiganden (Death ligands)

Charakteristika Apoptose

- Verlust Adhäsion
- Zytoplasma bildet charakt. Ausstülpungen (budding)
- apoptotische Körperchen entstehen durch Abschnürungsprozesse, die durch Phagozytose aufgenommen werden
- Verkumpung Chromatin
- nukleäre Fragmentierung
- Verdauung der DNA in Fragmente ("laddering")

Molekulare Beteiligung an Apoptose-Pathways

- Sensormoleküle (Initiationsentscheidung)
- Effektormoleküle (Ausführung)

Hallmarks der Apoptose

SEQUENZIELLE AKTIVIERUNG SPEZIFISCHER INTRAZELLULÄRER PROTEASEN = CASPASEN!

(Cysteinproteasen, die spezifisch nach einem Aspartatrest schneiden)

Procaspasen (inaktive Form), kontrolliert durch Apoptose-Inhibitoren (Bcl-2, Bcl-X)

- ▶ Aktivierung der Sensor-Caspasen 8 oder 9
 - Effektor-Caspasen 3 und 7
 - ▶ Spaltung zellulärer Proteine, Zerstörung initiiert
- ⇒ Ausprägung der charakt. Apoptosemorphologie

Apoptose-Pathways

a) extrinsischer pathway

- Todesrezeptor-vermittelt
- aktiviert durch Bindung von Liganden

} Procaspase 8
Caspase 8
Effekt. Casp 3, 6, 7

b) intrinsischer pathway

- mitochondrialer, Bcl-2 regulierter Prozess
- aktiviert durch schädli. Noxen (IR, ROS)
- Bindung von BAX, BAK
 - > Freisetzung von Cytochrom C
- Cyt C + APAF1* + Procaspase 9
- = Apoptosom $\Rightarrow$ Aktivierung Caspase 9

} Cytochrom C
Procaspase 9
Caspase 9
Effektor-Casp 3, 6, 7

$\Rightarrow$ Rolle p53 bei Apoptoseinduktion

! Intrinsischer Pathway wichtiger Signalweg zur Apoptoseinduktion nach strahleninduzierten DNA-Schäden

$\hookrightarrow$ basiert auf p53-Aktivierung

(p53... Protein mit Schlüsselaufgabe bei Kontrolle genomischer Stabilität)

p53 Funktionen

1. Regulation Zellzyklusprogression
2. Transkriptionsfaktor (Apoptose)
3. direkte Fkt. als DNA-Reparaturregelm

Apoptose Zsmfassung

- physiologischer Untergang einzelner Zellen
- Zelle rundet sich ab und schrumpft
- DNA wird systematisch abgebaut

Nekrose

- = passiver Zelltod
- patholog. Untergang einzelner Zellen
- Zellstoffwechsel bricht zsm
- Zelle schwillt, zelluläre Membranen lösen sich auf
- kann infolge von Entzündungen, Infektionen oder Ischämie auftreten
- sowie in Tumoren nach RT und Chemotherapie
- löst Immunantwort aus

Autophagie / Autophagolyse

- = Prozess bei dem Zellen Teile des eigenen Zytoplasmas verdauen und daraus Makromoleküle und Energie generieren!
- Form des programmierten Zelltods
- aber ohne Caspase-Aktivierung und DNA-Spaltung
- kontrolliert durch >20 Proteine (Atg)
- vermittelt durch Signalkaskaden zur Wahrnehmung von Nährstoffen, O₂, Hormonen, Wachstumsfaktoren, Energiestatus, Temperatur, Zelldichte, Chemo- und RT

$\Rightarrow$ PROZESS ALS RESPONSE AUF ENTZUG VON NÄHRSTOFFEN,

mTOR = mechanistic Target of Rapamycin)

- kommt in allen Säugtieren vor
- das Immunsuppressivum Rapamycin bindet an mTOR
- für Überleben, Wachstum und Proliferation, Mobilität von Zellen wichtig
- Bestandteil des Proteinkomplexes, der untersch. Signalwege von Wachstumsfaktoren, Energiehaushalt und Sauerstoffkonzentration der Zelle integriert
- Translation von Proteinen reguliert; Steuerung Zellwachstum und Zellzyklus
- besonders empfindlich für Hemmung von mTOR sind T-Zellen, Blut- und Lymphzellen, glatte Muskelzellen und Tumorzellen

Autophagie

- Zelle baut eigene Bestandteile ab (fehlgefaltete Proteine bis Zellorganellen, Bsp Mitochondrien)
- Selbstreinigungsmechanismus (GGW zwischen neuem und Abbau alter Zellbestandteile)
- auch Immunantwort durch Abbau von Viren, Bakterien, Fremdeiweißen

(Autophagie als Tumorsuppressor?)

Beclin1 - Teil des Komplexes für Autophagie-Induktion

Autophagie nach IR beobachtet

Verlust Beclin1-fen führt zur Tumorentwicklung in Mäusen)

PI3K-Komplex + Beclin1 vermittelt

- Bildung Phagophoren-Membran
Verpackung zytosolischer Proteine, Aggregate und Zellorganellen
- Bcl-2 kann blockieren und Beclin1 blockieren
- Atg-Konjugate rekrutiert » Expansion Phagophor
- Bildung Autophagosom
- Fusion Autophagosom und Lysosomen
- ⇒ Komplex durch lysosomale Proteasen degradiert

Membrane
Expansion ↓

AUTOPHAGIE TRÄGT ZUM ZELLÜBERLEBEN NACH IR BEI !

↓

Inhibition der Autophagie in Induktionsphase (3-MA)

oder durch Verhindern der Autolysosombildung (Chloroquine)
kann RADIOSENSITIVIERUNG erfolgen.

Replikative Seneszenz

= Inaktivierung der proliferativen Kapazität einer Zelle
bei erhaltener metabolischer Aktivität

- vorzeitige Alterung kann durch zellulären Stress (Hypoxie, Onkogen-Aktivierung, IR-induzierte DNA-Schäden) ausgelöst
- morphologisch charakterisiert durch abgeflachte, vergrößerte Zellen mit erhöhter Granularität
- Wachstum = 0

!!! NACH STRAHLENEXPOSITION IST NICHT APOPTOSE ODER AUTOPHAGIE, SONDERN REPLIKATIVE SENESZENZ ENTSCHEIDEND !!!

- p53 spielt zentrale Rolle
- ▶ vorübergehender G1-Arrest
 - ▶ Induktion p21
 - ▶ permanenter G0-Arrest

→ vorzeitige Seneszenz häufig in Fibroblasten nach Bestrahlung (da keine Apoptose)

→ trägt vermutlich zu strahleninduzierter Fibrose bei

Replikative Seneszenz wirkt Tumorentstehung entgegen, entsprechend häufig, sind Pathways mutiert.

Mitotische Katastrophe

- ▶ in Tumorzellen mit defekter p53-Funktion
 - ↓ durchlaufen Zellzyklus mit geschädigter DNA (DSB) was in mitotischer Katastrophe endet
- ▶ keine direkte, sondern "verzögerte Antwort" auf DNA-Schäden
- ▶ wichtige Rolle bei Beseitigung klonogener Zellen
- ▶ kann andere Zelltodformen triggern

Folge abnormer Mitose aufgrund unreparierter DNA-Schäden nach IR

Charakteristika

- wellenförmige Riesenzellen
- unkondensierte Chromosomen
- Chromosomenabberationen
- Aneuploidie, Polyploidie
- Mikronuklei

→ Verlust / Unfähigkeit zur Zytokinese

Zelltod ausgelöst durch Verlust des replikativen Potentials oder genetischen Materials!

> Reproduktiver Zelltod

Bildung von Mikrokernen

- acentrisches Fragment bildet Mikrokern
- Verlust an DNA → Verlust essentieller Proteine
- Zellen stellen Teilung nach 2-4 Vorgängen ein

⇒ Reproduktiver Zelltod

Wichtigste Zelltodformen sind Apoptose, Autophagie, Nekrose und replikative Seneszenz.

⇒ **ZELLTOD NACH BESTRAHLUNG** meist keine unmittelbare Reaktion auf Schaden (early cell death) sondern **SPÄTE REAKTION AUF MITOTISCHE KATASTROPHE** (late cell death)

VI

Vorlesung 5 (01.06.2017)

Nachtrag VL516 S.16

DNA-Reparatur

Nucleotid Mismatch	→	Mismatch Repair
Basenschaden	→	Basen-/Nucleotid-Exzisionsrep.
DNA-Einzelstrangbruch	→	DNA-Einzelstrangreparatur
DNA-DSB	→	DNA-DSB-Reparatur

Mismatch Repair

- repariert Basen Insertion (zusätzl. Base eingebaut)
- Basen Deletionen
- A-G mismatches
- C-T mismatches

Basen-Exzisions-Reparatur

- repariert abasic sites (fehlende Basen)
- abnormal bases (G-U)
- base adducts
- DNA-SS-breaks

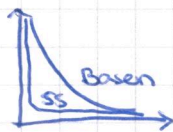
Nucleotid-Exzisions-Reparatur (NER)

- Thymidine / photodimers (durch UV-Strahlung entsteht Dimer)

NHEJ + HR

- DNA-DSB-Brüche
- Interstrand crosslinks

BER



- Reparatur nach 12h abgeschlossen
- nahezu 100% der Schäden repariert

- 1) beschädigte Base (Deamination, Oxidation, Alkylation)
- 2) schadensspezifische Glykosylase erkennt Schaden und spaltet Base ab
- 3) Apurine-Site entsteht, Einzelstrangbruch wird gesetzt

Wahl ob short patch pathway / long patch pathway (abhängig von Zellzyklusphase und Schadensqualität)

PolB
= DNA-Polymerase
β

PolB entfernt 5' Phosphat und setzt Nucleotid ein

XRCC1 / Lig III

schließen Strang

wenn 5' Phosphat PolB

resistent, synthetisieren

Polδ/ε 2-8 komplementäre

Nucleotide

Altstrang mit 5' Phosphat

wird durch Endonuklease

FEN1 entfernt

Nucleotid-exzisions-Rep NER

(NER-Defekt $\rightarrow$ Xeroderma pigmentosum)

- 1) Strukturelle Veränderung in DNA, Thyminindimer
- 2) Endonuclease bindet an defekte DNA-Stelle
- 3) Endonuclease erzeugt DNA-ES-Brech
DNA-Polymerase synthetisiert die zu reparierende DNA-Sequenz
- 4) Endonuclease schneidet defektes DNA-Stück
- 5) Ligase verknüpft den neu synthetisierten DNA-Strang mit altem Strang

PHOTOLYASE-REAKTION

= Reparatur von Photodimeren

- 1) Photolyase bindet an defekte DNA-Stelle
- 2) Durch ABSORPTION VON LICHTENERGIE wird Photolyase aktiviert
- 3) Photolyase entfernt defekten DNA-Bereich und DNA-Polymerase, Ligase vervollständigen Prozess
- 4) Photolyase wird freigesetzt

Eu- und Heterpchromatin

$\rightarrow$ Relevanz für DNA-Reparatur

$\rightarrow$ Chromatin relaxation: Activation casein kinase 2
phosphorylates HP1
unmasking H3K9
MRN recruitment
recruitment TIP60/ATM
acetylation of ATM
Up-1- $\rightarrow$ H2AX phosphorylation by ATM

$\rightarrow$ Histon Modifikation nach Strahlenexposition H2AX

über ATM (ataxia telangiectasia mutated)

$\hookrightarrow$ autosomal rezessiv

Mutation in ATM Gen, Chr11

Prädisposition für Krebs (10-20% Leukämie, Lymphom)

Progressive Neurodegeneration, dadurch

Ataxien im frühen Kindesalter

Telangiectasien

Radikosensibilität

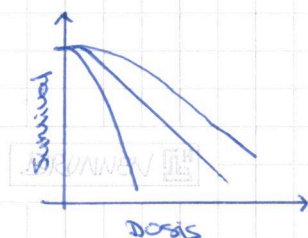
Immundefizienz

Vorlesung 7 (28.06.17) Quantifizierung Zelltoxi

VII

Quantifizierung IR-induzierten Zelltoxi

Koloniebildungstest



Ermöglicht Bestimmung von

- $\rightarrow$ Überlebensfähigkeit
- $\rightarrow$ Klonogene Aktivität
- $\rightarrow$ Intrinsische Strahlensensibilität
- $\rightarrow$ Dosis-Wirkungsbeziehung

⇒ durch Bestrahlung wird Teil der ausgesäten Zellen abgetötet, damit Koloniezahl nach IR mit höheren Dosen nicht zu gering wird, können für Koloniebildungstest untersch. Zellzahlen einzusehen

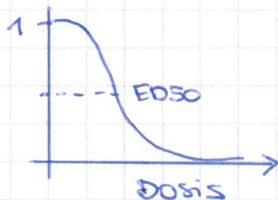
Bsp Aussaat 100 Zellen → 20 Kolonien PE=20%
 400 Zellen → 8 Kolonien PE=2%
 Überlebensfraktion 10%

Berechnung Überlebensfraktion
 (surviving fraction SF)

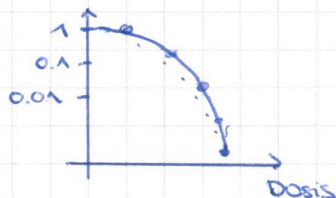
$$SF = \frac{PE_{\text{behandelt}}}{PE_{\text{kontrolle}}} = \frac{0.02}{0.2} = \underline{\underline{0.1}}$$

Überlebenskurven

Überlebensfraktion gegen Dosis aufgetragen als Plot mit jeweils linearer Skala ergibt sigmoidale Kurve. Zellsensibilität ablesbar als ED50 = Dosis die 50% aller Zellen tötet oder ED50.

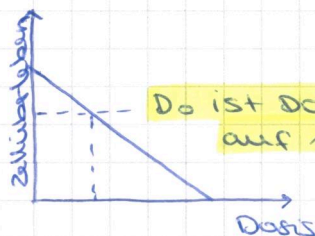


Halblogarithmische Auftragung (Dosis linear) ergibt exponentielle Kurve für das Zellüberleben
 (Vorteil: größere Genauigkeit im höheren Dosisbereich oder sehr weiten Überlebensbereichen)



→ wenn Zellabkötung zufällig ist, wird Überleben exponentielle Funktion der Dosis sein

Dosis - Effekt - Kurven

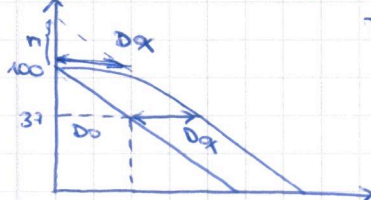


D_0 ist Dosis, die die Zahl der Überlebenden auf $1/e = 37\%$ reduziert

↳ beschreibt die Strahlenresistenz, charakterisiert durch die Steigung des linearen Kurvenanfangs

D_q und n sind Maß für Reparaturkapazität $D_{37} = D_0 + D_q$
 und charakterisiert durch Schulter der Überlebenskurve

$$D_q = D_0 \ln(n)$$



Target Theorie

- beschreibt einfachen Weg, wie Strahlung Zellen abtöten könnten
- spez. Regionen der DNA könnten für Reproduktionsfähigkeit entscheidend sein
- diese sensiblen Regionen könnten spezifische Targets für Strahleninduzierte Schäden sein
- ⇒ Überleben der Zelle nach IR würde im Verhältnis zu inaktivierten Targets stehen

- a) Single target - single hit Inaktivierung
- Treffer durch Bestrahlung auf einzelnes sensibles Target führt zum Zelltod
- b) Multitarget - single hit Inaktivierung
- berücksichtigt, dass Reaktion von Säugerzellen auf Bestrahlung eine Schülferkurve ergibt
 - Treffer auf jedes der sensiblen Targets für Zelltod notwendig

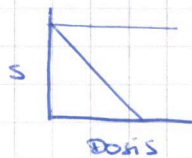
a) Single Target Hit

- erhält Zelle Strahledosis $> D_0$ stirbt sie

$$p(\text{survival}) = p(0 \text{ hits}) = \exp(-D/D_0)$$

Bei Bestrahlung, die durchschnittlich zu einem letalen Treffer pro Zelle führt ($m=1$) überleben 37% der Zellen $e^{-1} = 0,37 = 37\%$

! Jede Dosisfraktion führt zu Inaktivierung eines konstanten Zellanteils (37% survival) nicht Zellanzahl



- SF nimmt exponentiell mit Dosis ab
- gilt für Viren
- Bakterien
- sehr sensitive humane Zellen
- sehr geringe Dosisraten
- bei hohem LET

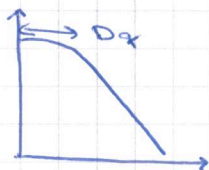
b) MultiTarget Hit

- Strahlenresponze durch Schülferkurve
- Treffer n für Zellabtötung notwendig

$$P(\text{survival}) = p(\text{nicht alle}) = 1 - (1 - \exp(-D/D_0))^n$$

n - Anzahl Targets

$$D_q = D_0 \log 2$$



- geeignet für hohe Dosen außerhalb der Schülfer
- (nicht klinisch relevanter Dosisbereich)

Exponentielle Abnahme des Zellüberlebens mit zunehmender Strahledosis

$$SF = e^{-m}$$

m - Anzahl letaler Treffer
SF surviving fraction

Strahlenempfindlichkeit ist zelltypabhängig!

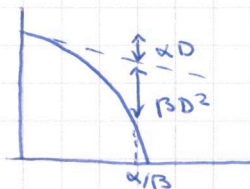
Bsp	Oozyten	0.05 Gy
	Knochenmark	0.7 Gy
	Dünndarm	2.0 Gy
	Erdli	10 Gy
	Hepazellen	300 Gy
	Nieren	1000 Gy

⚡ Problem der Targettheorie

"Spezifische Targen" in DNA noch nicht gefunden

⇒ Stattdessen Bedeutung von DSB erkannt!

Entwicklung L/Q-Modell des Zellüberlebens



$$P(\text{survival}) = \exp(-\alpha D - \beta D^2)$$

$$SF = e^{-\alpha D - \beta D^2}$$

Lineare Komponente (αD)

- Anfangsneigung im niedrigen Dosisbereich

Quadratische Komponente (βD^2)

- Krümmung der Kurve im höheren Dosisbereich

! α/β Verhältnis ist die Dosis, bei der lineare und quadratische Komponente den gleichen Beitrag zur Zellabkötung liefern

$$\alpha D = \beta D^2 \quad D = \alpha/\beta$$

1) großes α/β -Verhältnis (rel. hohe Dosis)

• überwiegt lineare Komponente, Schulter ist klein

($\alpha D > \beta D^2$) ⇒ früh reagierende Gewebe

(geringe Schulter = geringe Rep.kapazität, geringer Fraktionierungseffekt) (10Gy)

2) kleine α/β -Werte (niedrige Dosis)

• quadratische Komponente tritt bereits bei klinisch relevanten Dosen in den Vordergrund

ausgeprägte Schulter ⇒ spät reagierendes Gewebe

(ausgeprägte Schulter = hohe Reparaturkapazität, ausgeprägter Fraktionierungseffekt) (2,3Gy)

Bsp. spät reagierende Gewebe

► Gehirn & Rückenmark
Niere, Lunge, Harnblase
Haut
maligne Melanome
Prostatakarzinome

Bsp. früh reagierende Gewebe

► maligne Tumore
akut reag. NG
wie z.B.
Schleimhäute
Knochenmark
Schmelzmittel

⇒ Kenntnis des α/β -Wertes weist Kliniker auf Risiko von Strahlen Spätschäden hin.

⇒ bei fraktionierter Bestrahlung kann sich spät reagierendes Gewebe im Bestrahlungsintervall erholen
⇒ Schonung Rückenmark, Lunge etc

(Tabelle S. 28)

Wdhlg α/β -Verhältnis

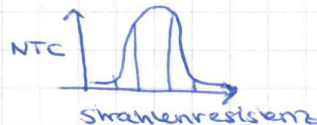
- | | |
|---|-------------------|
| 1) kleines $\alpha/\beta \rightarrow$ Schüller ist groß
= gute Erholungsfähigkeit (Radioresistenz) | } spät reagierend |
| 2) großes $\alpha/\beta \rightarrow$ Schüller ist klein
= geringe Erholungsfähigkeit (Radiosensibilität) | |

L-Q Modell

- Zuverlässig für einen beiden Phasen des Zellüberlebens und nur für konventionelle Fraktionierung
- α/β -Wert korreliert mit klinischer Einteilung in Akut- und Spätreaktionen

Strahlenreaktion des Normalgewebes

- Holtkhuysen Prinzip maximale TCP bei ~~maximaler~~ minimaler NTCP
- Verteilung der Strahlenempfindlichkeit des Menschen ist genetisch bedingt



Strahlensensibilität ist u.a. von Zellzyklusphase abhängig!

- Zellen sind umso strahlenempfindlicher, je höher ihre Teilungsrate ist
- In der M-Phase des Zellzyklus sind Zellen am strahlenempfindlichsten
- G1-Phase des Zellzyklus sind Zellen wesentlich strahlenresistenter
- Zellen in der S-Phase sind am resistentesten gegenüber der Strahlung

Zellteilungsaktivität nimmt ab
Strahlenempfindlichkeit nimmt ab

Blutbild. / lymph. System
Inkubatepithel
Keimdrüsen

Haut, Auge

Lunge, Leber, Niere

Herz, Nervensystem, Bindegewebe

FRÜH REAGIERENDES GEWEBE - Mundschleimhaut, Darm, blutbild. / lymph. System
SPÄT REAGIERENDES GEWEBE - Lunge, Leber

Frühreaktionen

Hämatopoietisches System

- a) Leukopenie: Tod weißer Blutkörperchen
- b) Lymphopenie: Tod Lymphozyten
- c) Thrombopenie: Tod Thrombozyten

Intestinalsystem

- Tod von Darmzellen
- Zusammenbruch der Nahrungsresorption und des Elektrolythaushalts

Mundschleimhaut

- Mukositis durch Tod von Schleimhautepithelzellen

⇒ Entzündungen, Mukositis, Pneumonitis, Gefäßnekrose, GI-Traut

Spätreaktionen

Degenerative Veränderungen

- a) Blutgefäße (Gefäßwandveränderungen)
- b) Lunge (Fibrosierung)
 - ↳ massive Kollagenablagerung im interalveolären Raum
- c) Auge (Kataraktbildung)

Maligne Veränderungen

Leukämie, Hautkarzinome, Schilddrüsenkarzinome

⇒ Gefäßschäden, Fibrose, ZNS-Verändg. (Myelopathie)

Faktoren, die Strahlenempfindlichkeit beeinflussen

- Physiolog. Zustand → Alter, Temperatur, stress, Ernährung
- Zellart → Strahlenempfindlichkeitsregel
- Zeitzklusphase → Ausstattung mit Reparaturenzymen
- Gehalt strahlenschutzfaktoren
- Sauerstoffgehalt → Normoxie, Hypoxie
- Applizierte Dosis
- zeitl. Dosisverteilung → prostrahiert / fraktioniert

Potenzielle Mechanismen in Strahlenreaktion

- ▷ Apoptose / Nekrose / klonogener Zelltod
- ▷ Permanenter G1-Arrest / Differenzierung
- ▷ lat. Veränderungen

[Beispiele strahleninduzierter Gene in Normalgewebe S. 37

Hochregulation nach 0.5 Gy, nicht nach 50 Gy

↳ heat-shock und zellzyklus-regulierende Gene

Hochregulation nach 50 Gy, nicht nach 0.5 Gy

↳ p53 assoziierte Proteine]

Im klinisch relevanten Bereich

1) Transiente Induktion Gene / Proteine

- ATM, DNA-Reparaturproteine, p53, p21, p27, Caspasen

2) Dauerhafte Induktion - TNF α , IL-1, 4, Collagen, Elastin etc

= Multiple systemische und strukturelle Veränderungen im Strahlensyndrom

Strahleninduzierte Veränderung im Gefäßsystem

- 1. Welle + 24h Endothelzellapoptose
- 2. Welle + Monate
 - Untergang der Kapillaren
 - Vernarbung umgebendes Gewebe
 - Teleangiectasien
 - Verlust klonogener Aktivität!

durch Expression von TNF α , IL-1, IL-6, PDGF, FGF
ICAM-1, E-selectin

- vermittelte
- Leukozyten-Adhäsion an Endothel
 - Endothelzellapoptose
 - vaskuläre Permeabilität und Leukozyten-Infiltration
 - Neovaskularisierung (oft aberrant)

[S.40 Strahlenreaktion von Endothelzellen

DNA-DSB $\rightarrow$ Ceramid synthetase $\rightarrow$ Ceramid
 $\rightarrow$ Caspase 8 $\rightarrow$ Effektor-Caspasen 1,3,6
 $\Rightarrow$ APOPTOSE

oder Ceramid $\rightarrow$ MAPK $\rightarrow$ Zytokin TNF α]

Radiogene Fibrose

Haut	Risiko	50%	Dosis	60-65 Gy
Dünndarm		5%		50 Gy
Dick-Enddarm		5%		60 Gy
Lunge	Pneumonitis $\rightarrow$ Fibrose	5%		20 Gy

Kollagen-Akkumulation in Hautgewebe
 $\rightarrow$ Sirius Red Färbung

IR-induziert Typ I Kollagen-Produktion!



Strahleninduzierte Hauptzytokine in

Endothelzellen: TNF α , IL-1, IL-6, TGF β 1, PDGF

Macrophagen: IL-4, TNF α , TGF β 1, PDGF

Typ II Pneumozyten: TNF α , TGF β 1

Fibroblasten: TGF β 1, CTGF, TNF α , PDGF, IL-6

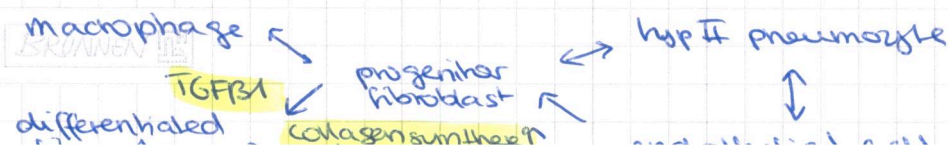
für Pneumonitis / Fibrose

Vorlesung 8 (06.07.2017)

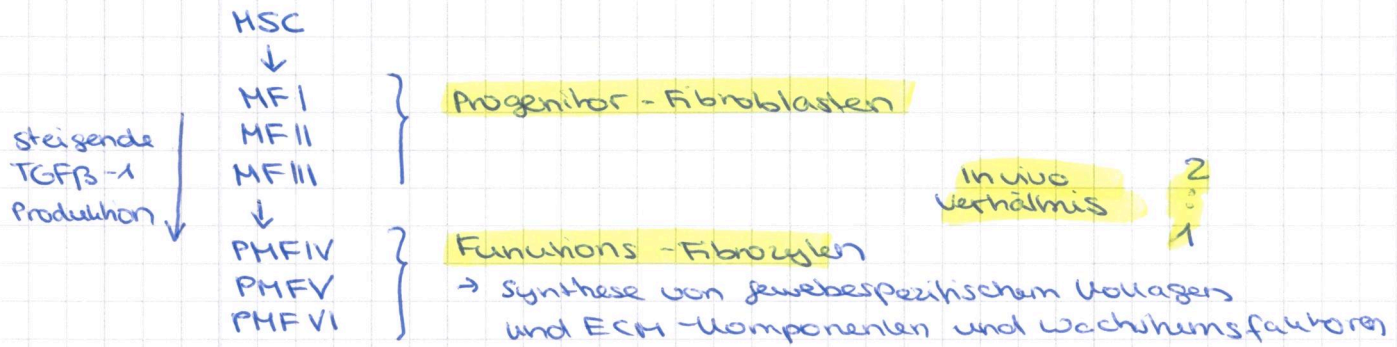
VIII

Fibrose

- ein multizelluläres Zellereignis



Differenzierung des Fibroblastensystems



TGF β -1 = Transforming Growth Factor β

- Differenzierungsfaktor für viele Normalgewebszellen inkl. Immunzellen
- **Induktionsfaktor für Kollagensynthese**

⇒ **IR** kann **terminale Differenzierung** des Fibroblastensystems induzieren
(Umverteilung in Verhältnis MF / PMF)

Radiogene Lungenfibrose

IR ⇨ Inflammationsprozess
Fibroblasten mit PDGF, TGF β Produktion
Differenzierung zu Fibrozyten
Kollagenproduktion → Fibrose

Intestinale Fibrose

IR ⇨ Zelldepletion in Mucosa (Ulzeration)
Zusammenbruch der Barrierefkt
Entzündung
gesteigerte **TGF β -1** Produktion
→ **senkt Epithelzellproliferation**
→ Fibroblasten - Proliferation / Differenzierung ↑
Matrixproduktion ↑
Fibrose & Verengung
intestinalen Obstruktion

Chronische Expression der Rho Kinase

P160 Rho Kinase → Connective Tissue GF (CTGF) } collagen
Stressfibern HSP27

Consequential late effects

⇓ **IR** Epithelium → akuter Strahlenreaktion
⇓ **IR** Bindegewebe / Parenchym → zusätzlicher Gewebestress
→ späte Strahlenreaktion

Strahleneffekte in NG

Frühe Effekte

- innerhalb von 3 Monaten
- schnell erneuernde Zeilsysteme
- Zelluntergang durch mitotische Katastrophe
- kurze Latenzzeit
- beeinträchtigt Lebensqualität
- reversibel, wenn keine consequential late effects auftreten

Späte Effekte

- Monate bis Jahre nach IR
- langsam erneuernde Zeilsysteme (Parenchym, inkretische Gewebe)
- Zellrepopulation und sekundärer Zelltod / terminale Differenzierung
- funktionaler Organschaden
- irreversibel

Ganzkörper - Einzeitbestrahlung

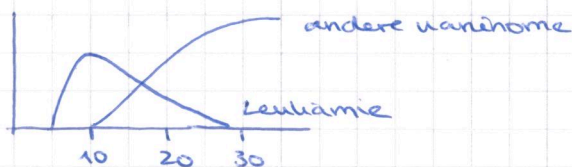
0,0 - 0,2 Gy	keine feststellbaren Schäden
0,2 - 0,5 Gy	geringfügige Blutbildveränderungen
0,5 - 1 Gy	Erbrechen, Übelkeit, Müdigkeit
1,3 - 2,2 Gy	Symptome Strahlenkrankheit, keine Todesfälle
2,7 - 3,3 Gy	Strahlenkrankheit 20% Todesfälle 2-6 Wochen nach Exposition
4,0 - 5,0 Gy	50% Todesfälle nach 1 Monat Rekonvaleszenz Überlebender in 6 Monaten
5,5 - 7,5 Gy	Schwere Strahlenkrankheit 100% Todesfälle

⇒ Menschen	LD _{50/30}	4-5 Gy
Vögel		10 Gy
Schnecken		80-200 Gy

Pränatale Strahlenschäden

- entwickelnder Embryo besteht aus vielen stark proliferierenden Zellpopulationen! stark strahlenempfindlich
- Bestrahlung während Implantationsphase und Organogenese führen zu deutlich erhöhter Embryonalsterblichkeit
- kritische Phase 6.-15. Woche

Latenzzeit induzierter Tumore



Jeder 4. Bundesbürger stirbt heute an Krebs!

IX

Vorlesung 9 (13.07.17)

Fractionierte Strahlentherapie

	konventionell	STANDARD	1,8-2 Gy/d	5x/Woche	6-7 Wochen
2x 1-1,2 Gy	hyperfractioniert	(kritische Organe, schonung durch Reduktion Einzeldosis)			
2x 2 Gy	hyperfractioniert - abgeleitet	(schnell wachsende Tumore / kürzere Behandlungszeit)			
3,5-5 Gy	hypofractioniert				

Überlebenskurve nach fractionierter Bestrahlung zeigt für Absenkung der Zellzahl von 1,0 auf 0,001 wird fast doppelte Gesamtdosis benötigt, da in Bestrahlungspausen REPARATURMECHANISMEN zur Erholung führen.

(gesundes Gewebe kann DNA-Schäden besser reparieren als Tumorgewebe!) = ELKIND ERHOLUNG

4R's der Strahlentherapie

- Reparatur** - hohes Reparaturvermögen der Tumorzelle für subletale Strahlenschäden
($\Rightarrow$ Strahlenresistenz)
- Repopulierung** - starke Proliferation des Tumors ($\Rightarrow$ Tumorzunahme)
- Zellen treten aus G0 wieder in Zellzyklus
- Redistribution** - normale Zellzyklusverteilung
($\Rightarrow$ Strahlensensibilisierung)
- Reoxygenierung** - hypoxischer Anteil reoxygeniert
($\Rightarrow$ Strahlensensibilisierung)

! Rauchen beeinträchtigt Strahlenwirkung am Tumor durch verminderte Sauerstoffbindungsfähigkeit des Hämoglobins.
Alkohol erhöht Strahlenreaktion

Zusammenfassung Fractionierung

- Fractionierte Strahlentherapie benötigt für denselben Strahleneffekt höhere Gesamtdosis als Einzeitbestrahlung.
- für Beschreibung Einzeldosis, Zahl + Abstand, Gesamtdosis und Gesamtbehandlungsdauer angegeben werden
- Einzeldosen > 2 Gy kritisch wegen Gefahr inakzeptabler Spätfolgen an gesundem Gewebe
- Gesamtbehandlungsdauer so kurz wie möglich
- für geeignete Fractionierung sollte Proliferationschema des Tumors bekannt sein
- Bestrahlungspausen vermeiden

Holthusenprinzip

Maximale Tumorerkrankung bei minimaler Normalgewebeschädigung.

Elektrifizierung = Beziehung Tumorzunahme und Gewebetoleranz

Elektrifizierung = $\frac{\text{Strahleneffekt Tumor}}{\text{Strahleneffekt NG}}$

EF groß (strahlensensible Tumore / unempfindliche NG / resistente Tumore)

Grenzen durch akute und chron. Strahlenfolgen im NG.

! Nach Vorbehandlung mit Radio- oder Chemotherapie kann Tumorgewebe strahlenresistenter werden.

Kurative Bestrahlungsdosen

Seminom (Keimzelltumor des Hodens)	20-30 Gy
Wilms Tumor (Nephroblastom)	30-45 Gy
Morbus Hodgkin	
Non-Hodgkin Lymphom	
Neuroblastom	
Medulloblastom	50-60 Gy
Mammakarzinom *	
Plattenepithelkarzinom	
Adenokarzinom	
Prostatakarzinom	60-70 Gy
Mammakarzinom	
Glioblastom	> 75 Gy
Knochen Sarkome	
Weichteilsarkome	

Tumor-Hypoxie

- wichtiges Charakteristikum der Mikroumgebung vieler solider Tumore
- aber Tumore haben minderwertig ausgebildetes Blutgefäßsystem $\Rightarrow$ hypoxische Tumoreareale

Hypoxische Zellen

- ↳ häufig resistenter gegen Tumorbearbeitungen
- ↳ häufiger invasiv und metastasierend

Intratumorale Hypoxie $\triangleright$ negativer prognostischer Indikator

- induziert Transkription und Aktivierung einer Vielzahl von Proteinen

HYPOXISCHE ZELLEN LIMITIEREN DIE RADIOKURABILITÄT!

Sauerstoff-Effekt

- Reaktion der Zellen auf Bestrahlung ist stark vom Sauerstoffgehalt abhängig

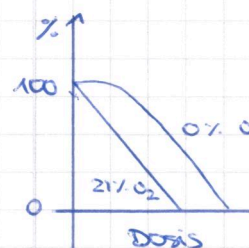
$$\text{OER} = \frac{\text{Bestrahlungsdosis Hypoxie}}{\text{Bestrahlungsdosis Normoxie}} \quad \text{oxygen enhancement ratio}$$

Bsp 12 10 Gy survival Normoxie 1% / Hypoxie 50%

$\Rightarrow$ Sauerstoff-Fixations-Hypothese

- strahlung produziert freie Radikale in der DNA
- molekularer Sauerstoff kann Radikale FIXIEREN

O₂ mit hoher Affinität zu freien Radikalen, unter Produktion von Peroxyradikalen eine kovalente Bindung ein $\Rightarrow$ Basenschäden und DNA-Strangbrüche



! Sauerstoffeffekt ist abhängig von

▷ Sauerstoffkonzentration

▷ Strahlendosis

▷ LET (Linearer Energie Transfer)

↳ Energieabgabe eines ionisierenden Teilchens an durchstrahlte Materie

↳ indirektes Maß für Zahl der Ionisationen pro Wegstrecke

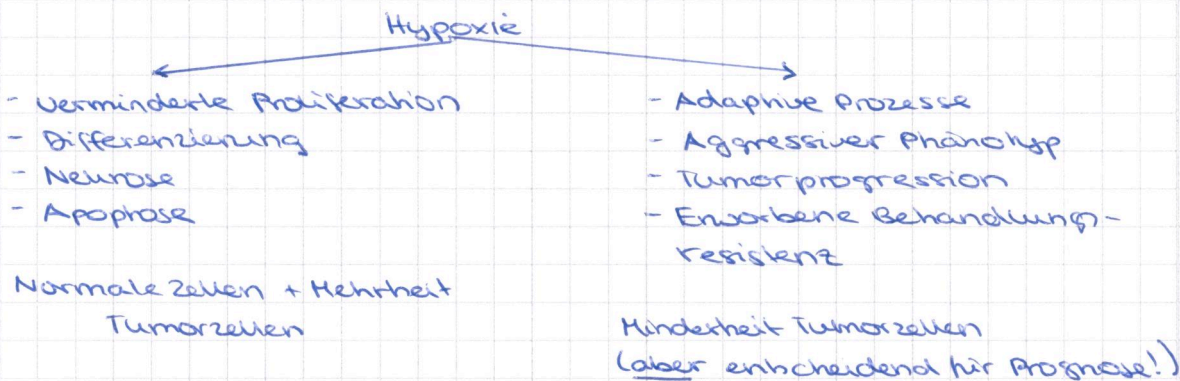
	LET (keV/μm)
Neutronen (schnelle)	21
α-Strahler	90
Röntgenstrahler	2.5
γ-Strahlung	0.3

Reoxygenierung

- Fraktionierung dient der Überwindung der Tumorhypoxie



Janus - Gesicht der Tumorhypoxie



⇒ Tumor Hypoxie fördert Angiogenese

- Aktivierung von Genen für Angiogeneseprozess **VEGF**
- verbessert Gefäßversorgung
- ⇒ Tumorstadium und Metastasierung

Hypoxiemarker → Pimonidazol

- Formt Addukte in hypoxischen Tumorzellen, die in Biopsien immunhistochemisch detektiert werden können

Vorteil gegenüber O₂-Elektroden

- O₂-Gehalt kann individuell pro Zelle erfasst werden
- Unterscheidung lebende und nekrotische Zellen
- Unterscheidung akuter und chronischer Hypoxie

Energiegewinnung Normal vs. Tumorzellen

a) normale Zellen

→ Pyruvat (Brenztraubensäure) wird zur Energiegewinnung über Zitronensäurezyklus und oxidative Phosphorylierung in Mitochondrien genutzt. 2 Mol Pyruvat → 2 Mol ATP

b) Tumorzellen

- mit anaerober Glykolyse
- Pyruvat wird zu Laktat

!! In hypoxischen Tumorzellen wird Pyruvat in Laktat umgewandelt, da nötiger Sauerstoff für oxidative Phosphorylierung begrenzt ist. Aber dadurch weniger Energieproduktion, so dass Tumorzellen Glukose - aufnahme erhöhen.

- » zunehmende Laktatproduktion führt zur AZIDOSE
- » Gewebezidose induziert Strahlenresistenz

Vorlesung 10 (20.07.17)

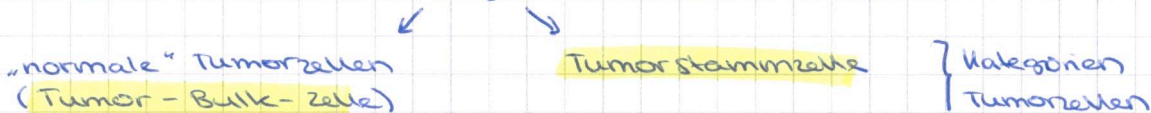
X

Tumorstammzellen

TUMORE ENTSTEHEN AUFGRUND MANGELNDER DIFFERENZIERUNG UND DAMIT UNBEGRENZTER TEILUNGSFÄHIGKEIT.

- durch genetische Veränderungen kann Stammzelle nicht mehr in Vorläuferzelle eines spezifischen Gewebes differenzieren → Tumor
- durch genet. Veränd. können Vorläuferzellen nicht mehr zu Funktionszellen differenzieren → Tumor

bei asymmetrischer Teilung einer Tumorstammzelle



⇒ NUR GERINGE ANZAHL VON TUMORZELLEN IST ZU EXTENSIVER ZELLPROLIFERATION UND TUMORNEUBILDUNG FÄHIG!

"Flüssig Tumore" (Leukämie) in vitro Koloniebildungstest
in vivo Transplantationstest

Solide Tumore in vitro Soft-Agar-Test
in vivo Tumorenografts

Modelle Tumorerheterogenität

- alle Zellen eines Tumors sind tumor initierende Zellen oder potenzielle Tumorstammzellen
aber geringes Potenzial im klonogen Test zu proliferieren
= STÖCHASTISCHES MODELL
- nur wenige Tumorstammzellen, die das Potenzial haben sich unbegrenzt zu teilen
= TUMORSTAMMZELLE MODELL

BRUNNEN  Radioonkologische Bedeutung CSC (cancer stem cells)

→ überleben CSC Behandlung gibt es hohe Wahrscheinlichkeit der erneuten Tumorbildung

- mögliche Dosisreduktion bei Bestrahlung in Gebieten mit Akkumulation von CSCs oder Nischen, die diese "beschützen"

Marker für Tumorstammzellen

S 35

- für Mammakarzinom, Lungenkarzinom, ~~Stomachkarzinom~~ Kolonkarzinom, Pankreaskarzinom, Cervixkarzinom

ALDH1⁺

- ALDH⁺ Zellen sind radioresistenter

Tumorerheterogenität

- zwischen verschiedenen Tumoren aber auch innerhalb eines Tumors, aufgrund genetischer und nicht genetischer Einflüsse
- Tumorstammzellen und Nicht-Stammzellen erhalten untersch. Subpopulationen mit erheblichen biologischen und klinischen Unterschieden (Biopsie kann nicht komplette Situation widerspiegeln)
- ⇒ def. Diagnostik schwierig

Tumor / Stroma Interaktion

Tumor - Mikromilieu umfasst Nicht-Tumorzellen (Endothelzellen, Fibroblasten und Immunzellen)

- azelluläres Kompartiment bestehend aus ECM, Wachstumsfaktoren, Zytokinen, Metaboliten, untersch. pH-Bereichen, O₂ und ROS
- ⇒ diese zellulären und azellulären Komponenten und ihre Interaktion bestimmen die Tumorreaktion bzgl. Radio- oder Chemotherapie

Bystander - Effekt

- einzelne bestrahlte Zellen kommunizieren mit Nachbarzellen
- trigger zelluläre und molekulare Veränderung in diesen
- Zellproliferation bis um Faktor 2-2,5 erhöht

Bsp. Bestrahlung (α) von Fibroblasten

1-2% der Kerne bestrahlt → 50% erhöhte p21-Expression

- entweder durch direkte Zell-Zell-Kommunikation über gap junctions oder durch Freisetzung von Zytokinen in ECM
- in vivo können Makrophagen wichtige Mediatoren sein (senden nach IR Signale aus, die unbestrahlte Zellen beeinflussen)
MAPKs, NF-κB, ROS und NO-Verbindungen spielen wichtige Rolle

Vgl. versch. Strahlenreaktionen

Bystander Effekte → zwischen bestrahlten und nahe liegenden unbestrahlten Zellen innerhalb eines bestrahlten Volumens übertragen

ABSKOPALE EFFEKTE → zwischen bestrahltem Gewebe und unbestrahltem Gewebe außerhalb des bestrahlten Volumens liegt, direkt oder über chemisches Signaling

Kohorten Effekte → zwischen bestrahlten Zellen in bestrahltem Volumen

⇒ Strahleninduzierter DNA-Schaden im Tumor kann durch bystander Signale in Zellen in der Nähe amplifiziert werden

⇒ Abskopale Effekte bewirken entfernte und systemische Effekte

Bystander-Effekt in RT

- 1) IMRT mit dosisgradienten-abhängiger Reaktion
- 2) Radionuklidtherapie (Bsp m Ak)

(evtl. decreasing dose = increasing bystander effect)

Abskopaler Effekt

- bei Behandlung von metastasierenden Tumoren entdeckt
- vermutlich durch Aktivierung des Immunsystems (u.a. T-Zellen und dendritische Zellen)
- selten, aber in Melanomen, Lymphomen und Nierenkarzinomen beschrieben

Radio-Chemotherapie

- a) Chemotherapie → Therapie von Metastasen
RT Therapie des Primärtumors

- b) spatiale Kooperation
Chemo + RT unabhängig am Tumor wirksam = Additivität
oder Chemo vermindert RT Wirkung } (~~Anti~~ Intra-Additivität)
"- Chemo schützt NG

→ Chemotherapeutika

- molekulare Interaktion
- Verursachen zusätzlicher DNA-Schäden
- Veränderung strahleninduzierter DNA-Schäden
- Veränderung der Schadensreparatur
- Inhibition der Schadensreparatur

(Bsp Platin-haltige Zytostatika

→ induziert Platin-DNA Addukte, Crosslinks

→ Schäden in enger räumlicher Nähe zu IR-Schäden

⇒ irreparabler Schädigung

Blockade von Enzymen der DNA-Replikation / Reparatur

- **TOPOISOMERASEHEMMER**: Topoisomerasen verändern durch Einschnitte in die DNA die Doppelhelix Topologie und ermöglichen Replikation, Transkription und Reparatur

Veränderungen DNA-Reparatur

- DNA-Reparatur-/Synthese nutzen z.T. gleiche Enzymkomplexe und Signalwege
 - > Einsatz von DNA-Synthese Inhibitoren in Kombination IR
- Bsp. Nukleosid-Analoga
 - SFU
 - Gemcitabin (Pyrimidin-Analog in DNA/RNA eingebaut)
 - Fludarabin (Purin-Analog -II-)
 - BrdUrd / IdUrd

Inhibition der DNA-PKCS

- DNA-PK ist wichtiges DNA-Reparatur-Protein (NHEJ)**
 - ↳ durch Wortmannin (PI3-Kinase-Inhibitor) gehemmt
 - ≠ Problem in WHO Toxizität

Inhibitoren der Tumorpherifiration

- SHI... small molecule inhibitors
- denn Tumorpherifikation während RT (Repopulation) kann Therapieversagen verursachen
- aktuell
 - Mazinome (über) exprimieren Rezeptoren der EGF-Familie
 - Einsatz von AK gegen Rezeptor oder Blockade Signalkaskade

Angiogenese-Hemmung

- Hemmung kann zu Tumorreduktion führen
- präklinisch nur nicht wirksame Dosen eine Strahlensensibilisierung

Genherapie

- strahleninduzierbare Promotoren erlauben räumlich genau definierbare Aktivierung der gewünschten Prozesse (Pro-Drug-Umbau, tumorspezifische Suizid-Gene)

Zukunft Ziel individualisierte Onkologie
Suche nach Biomarkern für Radioresistenz /-sensibilität

Fragenkatalog Strahlen Bio

Ein Chromosom einer menschlichen Zelle besteht in einer sich auf Zellteilung vorbereitenden Zelle aus 2 Chromatiden. Wie viele DNA-Doppelstränge pro Chromosom befinden sich in dieser Zelle?

- | | | | | | |
|-------------------------------------|---|--------------------------|---|--------------------------|----|
| ☐ | 1 | ☐ | 4 | ☐ | 16 |
| ☒ | 2 | ☐ | 8 | | |

Welcher der nachfolgenden Begriffe zählen nicht zu Hallmarks of Cancer?

- | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|
| ☒ | Apoptoseinduktion |
| ☐ | Unabhängigkeit von Wachstumsignalen |
| ☐ | Unbegrenzte Teilungsfähigkeit |
| ☐ | Vermeidung der Apoptose |
| ☒ | Unterdrückung der Angiogenese |

Im Menschen entstehen pro Tag mehr als 100.000 Mutationen im Genom. Wodurch werden diese nicht verursacht?

- | | | |
|-------------------------------------|----------------------------------|---|
| ☐ | Reaktive Sauerstoffspezies | ✓ |
| ☐ | DNA-Replikationsfehler | ✓ |
| ☒ | Fehler in mRNA-Bildung | |
| ☐ | Strahlenexposition | ✓ |
| ☐ | Chemischer Zerfall von DNA-Basen | ✓ |

Welche der genannten DNA-Schäden können in der DNA-Replikation zu DNA-Sequenzfehlern führen?

- | | |
|-------------------------------------|-------------------------|
| ☐ | DNA-Einzelstrangbrüche |
| ☐ | DNA-Crosslinks |
| ☐ | DNA-Doppelstrangbrüche |
| ☒ | DNA-Basenmismatch |
| ☐ | DNA-Proteinvernetzungen |

(DNA-Replikationsfehler führen oft zu Basen-Mismatch)

In welcher anzahlmäßig geordneten Reihenfolge treten DNA-Schäden nach Exposition gegenüber IR von einer 1Gy-Dosis auf?

- | | |
|-------------------------------------|----------------------------------|
| ☐ | DNA-ESB > DNA-DSB > Basenschäden |
| ☐ | DNA-ESB > Basenschäden > DNA-DSB |
| ☐ | Basenschäden > DNA-DSB > DNA-ESB |
| ☐ | DNA-DSB > DNA-ESB > Basenschäden |
| ☒ | Basenschäden > DNA-ESB > DNA-DSB |

(2000-3000 > 500-100 > 40)

Welches der nachfolgenden Zellsysteme weist eine mittlere Teilungsaktivität auf?

- ☐ Keimdrüsen
- ☒ Hautepithel
- ☐ Intestinalepithel
- ☐ Herz
- ☐ Leber

Welche der nachfolgenden Zellsysteme weisen hohe Teilungsaktivität auf?

- ☒ Keimdrüsen
- ☐ Hautepithel
- ☒ Intestinalepithel
- ☐ Herz
- ☐ Leber

Welche der nachfolgenden Charakteristika sind Hallmarks of Cancer?

- ☐ Selbststimulation
- ☐ Wachstumsfaktorabhängigkeit
- ☒ Wachstumsfaktorunabhängigkeit
- ☒ Apoptaseresistenz
- ☒ Angiogeneseinduktion

Eine ruhende Zelle liegt immer in einer spezifischen Zellzyklusphase vor. In welcher Sequenz wird der Zellzyklus durchlaufen, bei Teilungsreiz?

- ☐ G2-S-G1-M-G2
- ☐ S-G2-M-G1-S
- ☐ G2-M-S-G1-G2
- ☒ G1-S-G2-M-G1
- ☐ M-G2-S-G1-M

Für Regulation des Zellzyklus gibt es Kontrollpunkte im Übergang von G1 zu S (R1) und im Übergang von G2 zu M (R2). Welche Parameter werden in R2 geprüft?

- ☐ Vorhandensein von Wachstumsfaktoren
- ☒ erfolgreiche DNA-Replikation
- ☒ Vorhandensein von DNA-Schäden
- ☐ Vorhandensein von Nährstoffen
- ☒ Größe der Zelle

R1 → Wachstumsfaktoren
Nährstoffe
DNA-Schäden

Metaphase/Anaphase-Übergang
→ Chromosomenanheftung an Spindelfasern

R2 → DNA-Replikation
DNA-Schäden
Zellgröße

Welche DNA-Schadensqualität ist die häufigste nach Exposition gegenüber ionisierender Strahlung?

- ☐ DNA-Einzelstrangbrüche
- ☐ DNA-Crosslinks
- ☐ DNA-Doppelstrangbrüche
- ☒ DNA-Basenschäden
- ☐ DNA-Proteinvernetzungen

Welche DNA-Schäden führen zu Translokationen?

- ☐ DNA-Einzelstrangbrüche
- ☐ DNA-Crosslinks
- ☒ DNA-Doppelstrangbrüche
- ☒ DNA-Basenschäden
- ☐ DNA-Proteinvernetzungen

Welche DNA-Schäden führen zu dicentric Chromosomen?

- ☐ DNA-Einzelstrangbrüche
- ☐ DNA-Crosslinks
- ☒ DNA-Doppelstrangbrüche
- ☐ DNA-Basenschäden
- ☐ DNA-Proteinvernetzungen

In welchen Zellzyklusphasen können DNA-Doppelstrangbrüche mittels NHEJ repariert werden?

- ☒ G2-Phase
- ☒ G0-Phase
- ☐ M-Phase
- ☒ G1-Phase
- ☒ S-Phase

In welchen Zellzyklusphasen können DNA-Doppelstrangbrüche mittels HR repariert werden?

- ☐ späte G1-Phase
- ☐ M-Phase
- ☐ frühe S-Phase
- ☒ späte S-Phase
- ☒ G2-Phase

In welchen Zellzyklusphasen können DNA-Einzelstrangbrüche mittels BER repariert werden?

- ☒ G1-Phase
- ☐ M-Phase
- ☒ frühe S-Phase
- ☒ späte S-Phase
- ☒ G2-Phase

Apoptose genetischer physiolog. Vorgang
genetisch programmierter Zelltod

Nekrose Zellerkörung durch endogene
aber nicht durch exogene Reize



Reproduktive Zelltod klassische
Form apoptotischer Zelltod



Seneszenz ohne Verlust reproduktive
Fähigkeit



StrTh ist wirksam durch

- a) Selektive Abkötung Tumorzellen
- b) Induktion Tumorzell-Apoptose
- c) Induktion reprod. Zelltods
- d) Induktion zellulärer Seneszenz
- e) Beeinträchtigung der klonogenen Aktivität



Überlebensfähigkeit von Zellen nach Bestrahlung
ermittelt durch

↳

a) absolute Anzahl vorhandener Zellen nach
Strahlenerexposition



b) :



⇒ prozentuale Anteil an Zellen die Kolonien von
mind. 50 Zellen bilden können



Strahlensensibilität unabh. von Empf.
geringe Teilungsaktivität strahlensensibel
strahlensens. abhängig
geringe Teilungsaktivität strahlensensibel
Mitogenaktivität



3.2.2 ^1H -spectroscopy

^1H -spectroscopy was used for an *in vivo* assessment of the lipid composition in the liver. The spectra were acquired using a STEAM sequence with and without water suppression. Figure 15 shows a scan without water suppression, while figure 16 shows a spectrum with a suppressed water peak. In the scans without water suppression, the highest peak is water, resonating at 4.7 ppm, while a small peak representing $-\text{CH}_2-$ is also detectable. In order to identify lipid compounds with a smaller presence in the liver, water suppression had to be applied. In the spectrum shown in figure 16, the residual water is visible at around 5 ppm. In this case, the other lipid compounds that can be found in the rat livers, are identifiable in contrast to the non-suppressed spectra. Water suppression was performed using the VAPOR protocol.

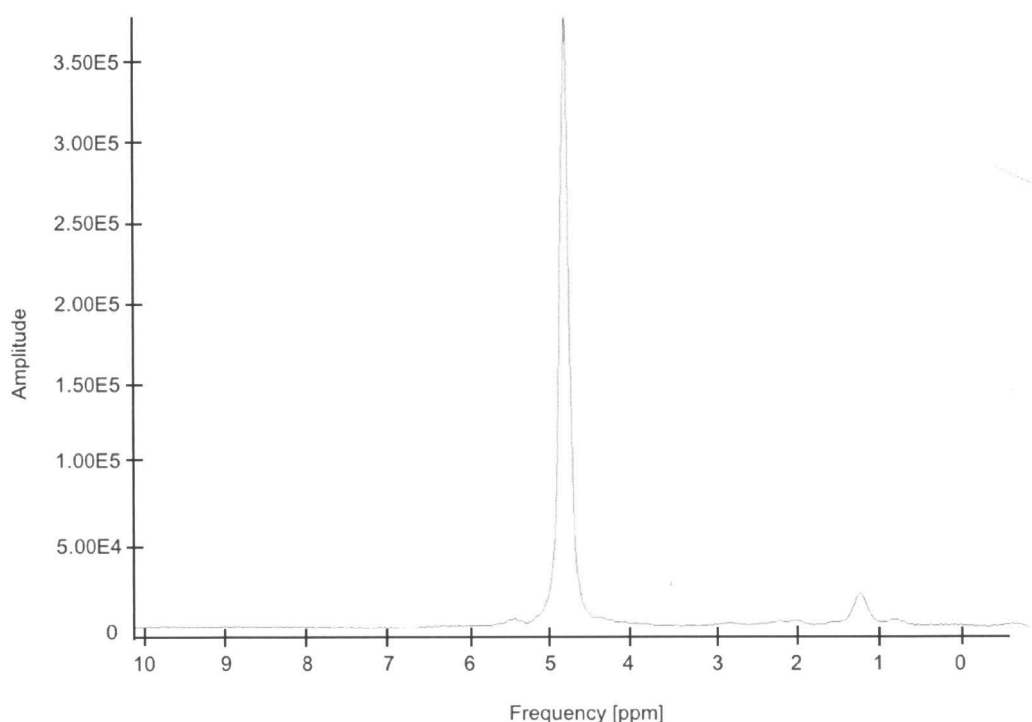


Figure 15: *In vivo* ^1H -STEAM spectrum without water suppression. Highest peak at 4.7 ppm representing water and small lipid peak at 1.3 ppm are visible.

BH7 V3

Fragen?

- Welches Strukturelement kommt in eukaryotischen Zellen nicht vor?
→ Nucleoid
- Organisationsformen der DNA?
→ Euchromatin, Heterochromatin
- Strahlenbiologisch bedeutsamer Prozess des Abbaus in Lysosomen
→ Autophagie

Nukleobasen

a) Purin	Guanin	Adenin	(chem. Struktur) 2 Ringe
b) Pyrimidin	Cytosin	Thymin	(1 Ring)

Wie viele DNA Doppelstränge sind in einer Zelle, die in Mitose geht?

- 2! DNS-Doppelstränge

DNA-Schadensreparatur

- in Mitochondrien wird defekte DNA abgebaut und neu aufgebaut (energetisch günstiger)

Strahlenbiologie

04.05.17

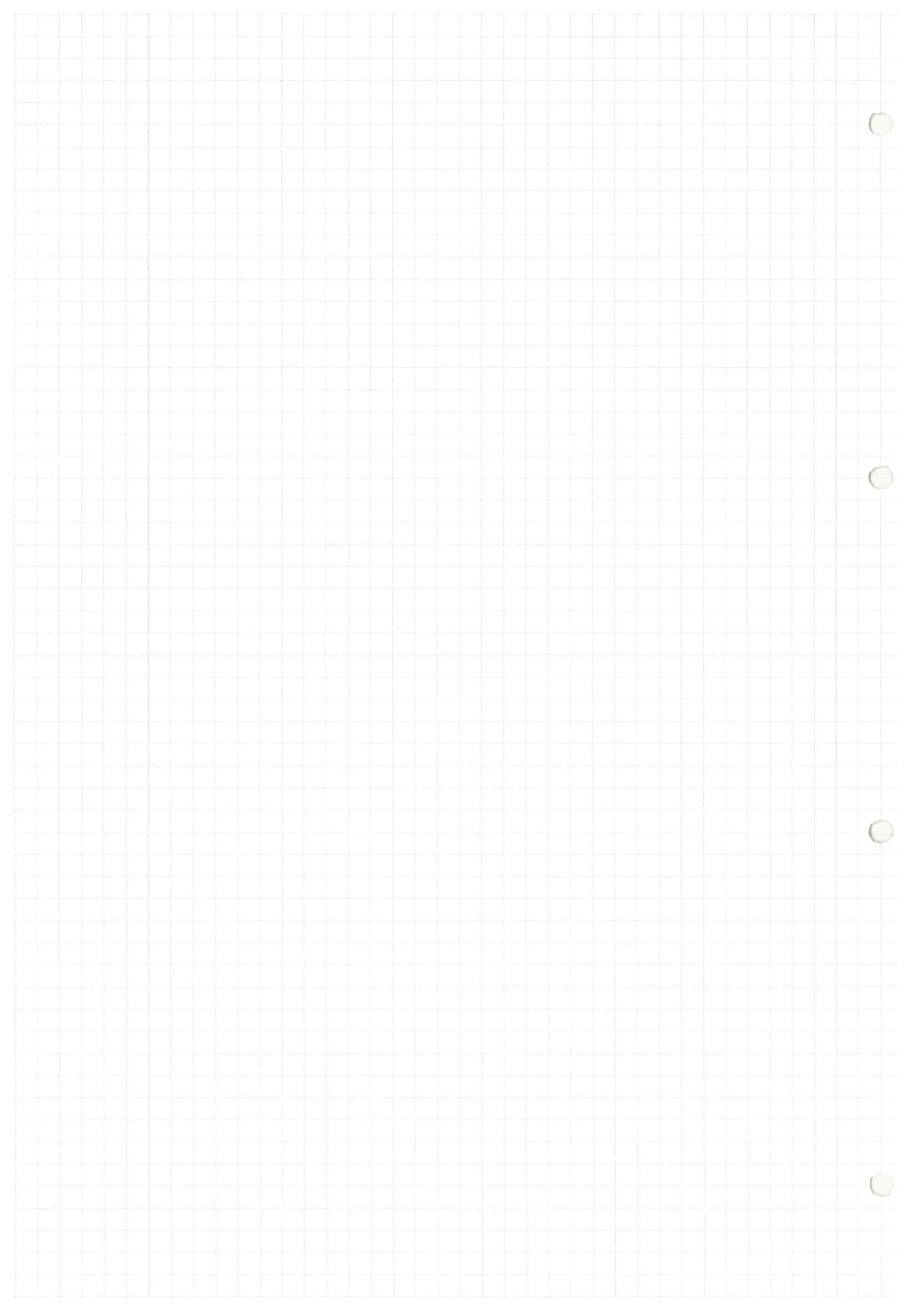
- Radiolyse des Wassers
- Zellmembranschäden durch Radikale u. Peroxide zerstören Fähigkeit der Zelle Membranpotenzial aufzubauen
- Membranrezeptoren (oft für Wachstumsfaktoren) spielen wesentliche Rolle in Strahlenreaktion
- EGFR = ErbB-1
- Strahlung aktiviert EGFR ohne vorhandenen Wachstumsfaktor
- Reparatur von DNA-Schäden in Euchromatin (aufgelockertes) besser zugänglich
- Proteinexpression kann durch Strahlenwirkung beeinflusst werden, miRNA mit "Kontrollfkt"
- miRNA kann an mRNA binden, sie markieren und somit die Bindung an Ribosomen verhindern (Proteinexpression gestoppt)
- micro RNA kann durch Strahlung induziert oder inhibiert werden
- Auswirkung auf ErbB-Signalwege

VL-4

18.05.17

VL-5

01.06.17



Chromosom menschl. Zelle auf Zellteilung vorbereitende Zelle $\rightarrow$ 2

Hallmarks of cancer nicht

- $\rightarrow$ Apoptoseinduktion
- Unterdrückung Angiogenese

Genmutationen, wodurch nicht verursacht
 $\rightarrow$ Fehler in Bildung m-RNA

DNA-Replikation mit DNA-Sequenzfehlern Ursache?

$\rightarrow$ DNA-Basemismatch

(wichtig das Fehler in Replikation entstehen)

1 Gy-Dosis, Schäden?

$\rightarrow$ Basenschäden $>$ DNA ESB $>$ DNA-DSB

NHEJ

- DNA-PKs mit Akt wechselwirkt, dann erhöht sich die Reparatur-effizienz gesteigert
- in G1- / S- / G2 Phase ablaufend! (aber hauptsächlich in G1)

Single-strand Annealing Repair

- Reparat auf Strängen gesucht und gepaart

In Mitose kann eigentlich keine Reparatur durchgeführt werden, da Chromosomen zu dicht komprimiert sind.
(aber gegenläufige Studien veröffentlicht)

$\hookrightarrow$ Chromosomenkondensation hat Auswirkungen auf Reparaturmechanismen

