

**Techniki Jądrowe
w Diagnostyce i Terapii
Medycznej**
Wykład 7, 17 maja 2022

Zygmunt Szefliński
Środowiskowe Laboratorium Ciężkich Jonów
szef@fuw.edu.pl
<http://www.fuw.edu.pl/~szef/>

Teoria Tarczy (model LEM)

Local **E**ffect **M**odel. Zakładamy, że istnieje w komórce pewien obszar czuły o objętości v , a napromienianie prowadzi do I zdarzeń dezaktywacyjnych w jednostce objętości.

Średnia liczba trafień dezaktywacyjnych w obszar czuły (takie trafienia prowadzą do śmierci komórki) to $I \cdot v$. Dla stałej mocy dawki I jest proporcjonalne do czasu ekspozycji. Prawdopodobieństwo n trafień w czułą objętość komórki opisuje rozkład Poissona.

$$P(n) = e^{-I \cdot v} \frac{(I \cdot v)^n}{n!}$$

Teoria tarczy (cd.)

Prawdopodobieństwo n trafień w czułą objętość komórki opisuje rozkład Poissona.

$$P(n) = e^{-Iv} \frac{(Iv)^n}{n!}$$

Prawdopodobieństwo, że komórka nie będzie trafiona ($n=0$).

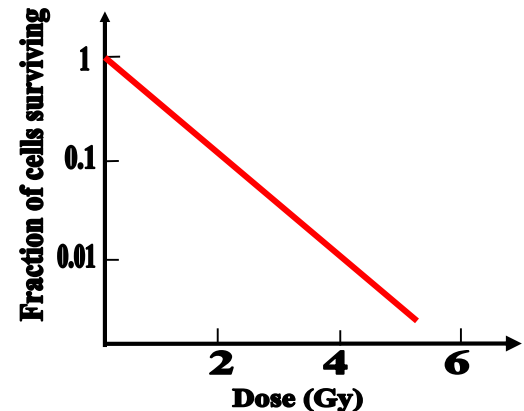
$$P(n=0) = e^{-Iv}$$
$$P(n=0) = \frac{N}{N_0}$$

Jeśli N_0 komórek, to liczba przeżywających przy dawce I ($n=0$) będzie:

$$N = N_0 e^{-Iv}$$

Oznacza to, że:

$$\ln(N / N_0) = -Iv$$



Wiele targetów (multitarget)

Co się stanie, gdy musimy trafić w kilka czułych obszarów komórki, np. dwa geny?

Rozważmy prosty przypadek dwu obszarów (dwa geny, dwie nici DNA etc.) Prawdopodobieństwo trafienia to:

$$1 - P(0)$$

Prawdopodobieństwo, że każdy z dwu obszarów jest trafiony co najmniej raz trafiań to iloczyn prawdopodobieństw:

Prawdopodobieństwo zabicia komórki:

$$(1 - P(0))^2 = (1 - e^{-Iv})^2$$

Prawdopodobieństwo przeżycia:

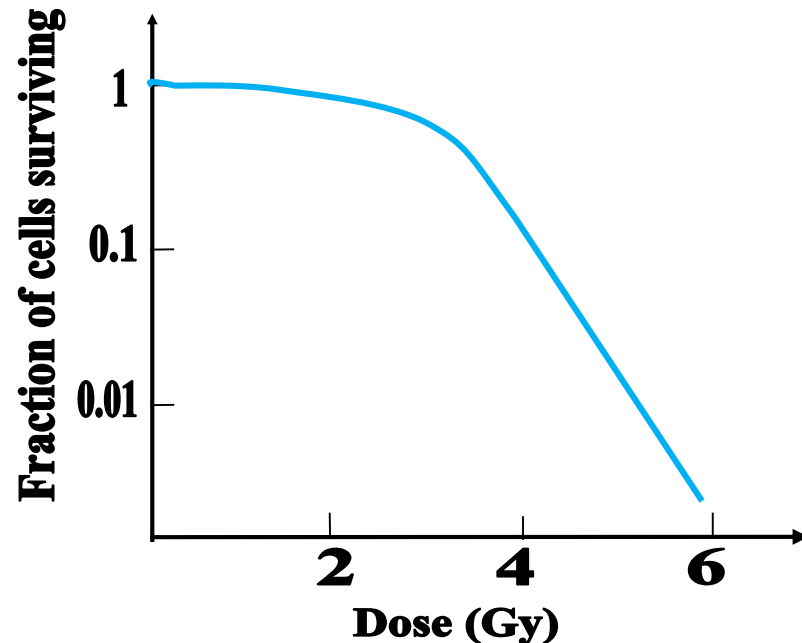
$$\frac{N}{N_0} = 1 - [1 - e^{-Iv}]^2$$

Wiele targetów (multitarget)

Po uogólnieniu na n obszarów:

$$\frac{N}{N_0} = 1 - [1 - e^{-Iv}]^n$$

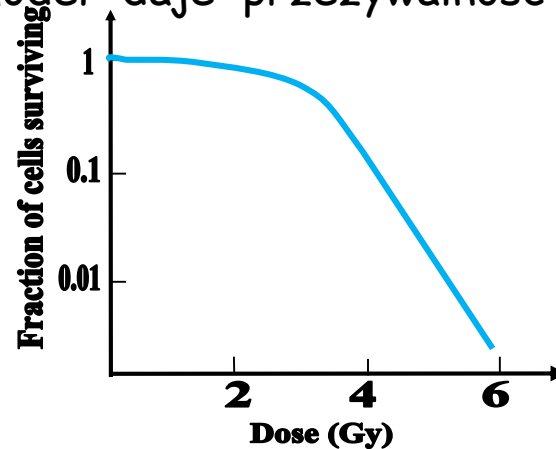
Dla małych dawek przeżywalność jest niemal stała, dopiero dla dużych dawek pojawia się eksponencjalny zanik przeżywalności.



Modele przeżywalności komórek

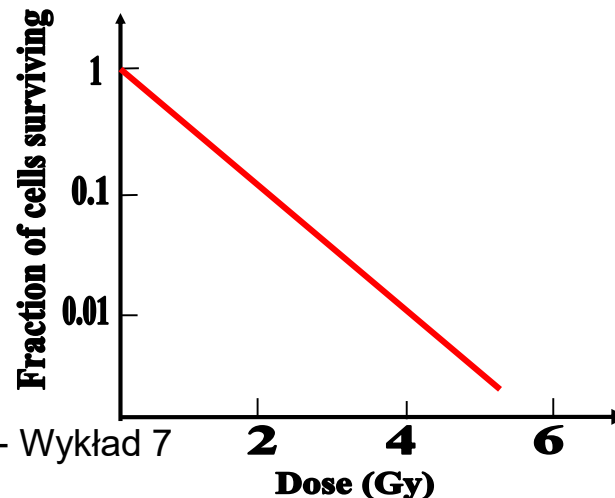
- o Przeżywalność (Surviving fraction $S(D)$) opisuje proporcję żywych komórek względem dawki
 - o „single hit - multi target model” daje przeżywalność S dla n tarcz i ma postać:

$$S = 1 - \left(1 - \exp\left(-\frac{D}{D_0}\right) \right)^n$$



- o Gdy $n=1$, przeżywalność opisuje „single-hit single target model”

$$S = \exp\left(-\frac{D}{D_0}\right)$$



Wiele trafień (multihit case)

Co się stanie, gdy więcej niż jedno trafienie jest niezbędne aby dezaktywować komórkę?

Jeśli n trafień jest niezbędne dla dezaktywacji, wtedy przeżywają komórki trafione co najwyżej $(n-1)$ razy. Prawdopodobieństwo, że komórki zostały trafione mniej niż n razy jest sumą:

$$P(0) + P(1) + P(2) + \dots + P(n-1)$$

Albo:

$$N = N_0 e^{-Iv} \left(1 + Iv + \frac{(Iv)^2}{2} + \dots + \frac{(Iv)^{n-1}}{(n-1)!} \right)$$

Prawdopodobieństwo przeżycia:

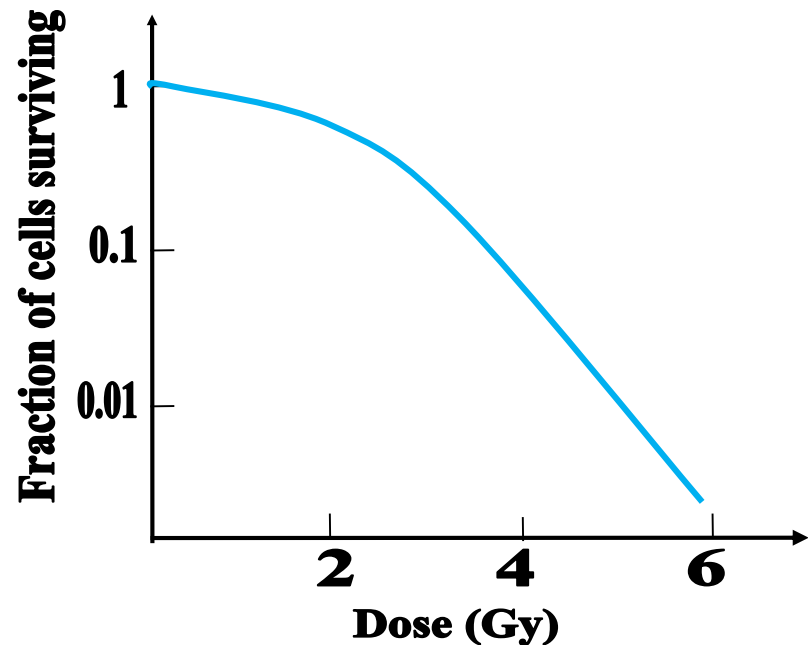
$$\frac{N}{N_0} = e^{-Iv} \sum_{k=0}^{k=n-1} \frac{(Iv)^k}{k!}$$

Wiele trafień (multihit case)

Prawdopodobieństwo przeżycia:

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

Dla dużych dawek dominuje człon eksponencjalny, choć dla małych dawek nie widać takiego zaniku przeżywalności.



Model uszkodzeń radiacyjnych komórek

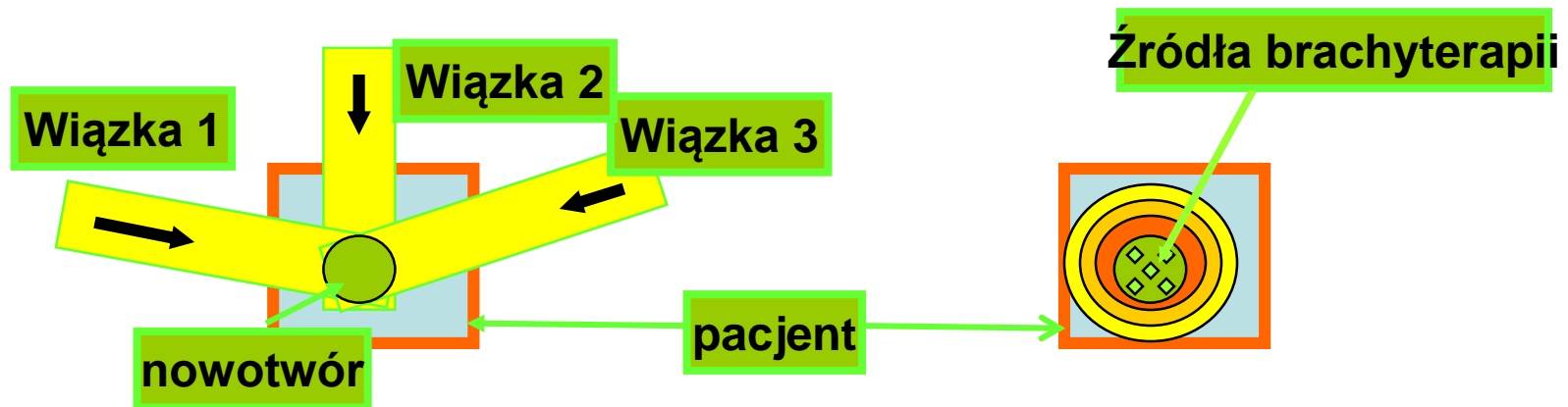
- o W modelu liniowo-kwadratowym (**linear-quadratic model** - LQ) zakłada się, że komórkę można zabić, gdy obydwie nici DNA uszkodzimy w bliskich punktach → prawidłowa sekwencja DNA zostaje utracona; gdy jedna nić zostanie uszkodzona, naprawa jest możliwa
- o Model LQ opisuje odpowiedź radiacyjną komórek przy niskich dawkach (0-3 Gy)

$$S = \exp(-\alpha D - \beta D^2)$$

- o Model LQ jest szeroko stosowany w opisie odpowiedzi radiacyjnej komórek *in vitro* oraz *in vivo*

Zastosowanie radiobiologii

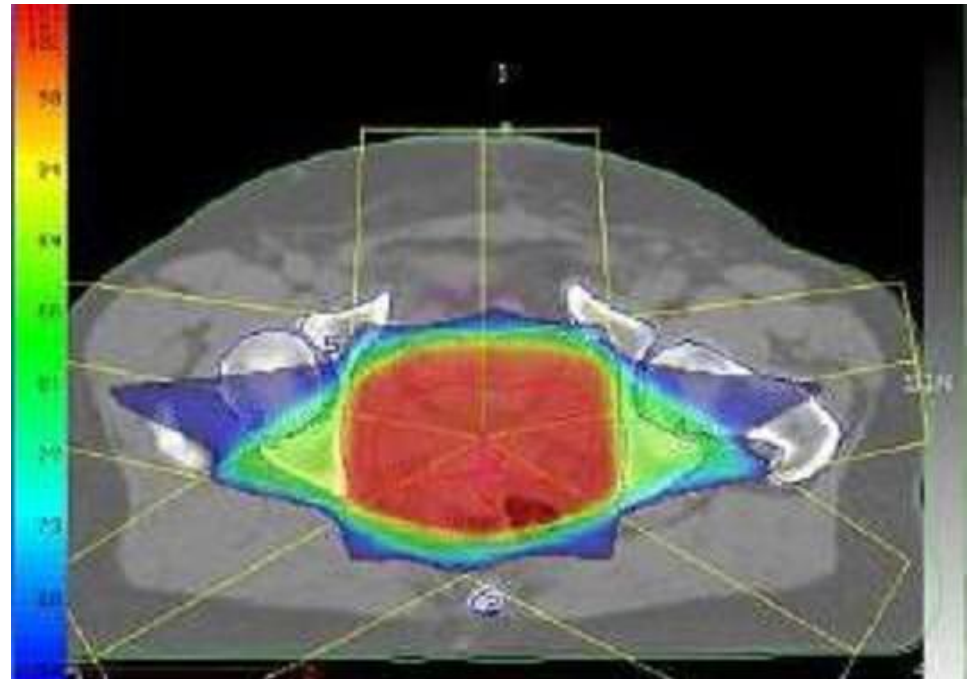
- Celem radioterapii jest zniszczenie komórek nowotworowych i ochrona zdrowych tkanek



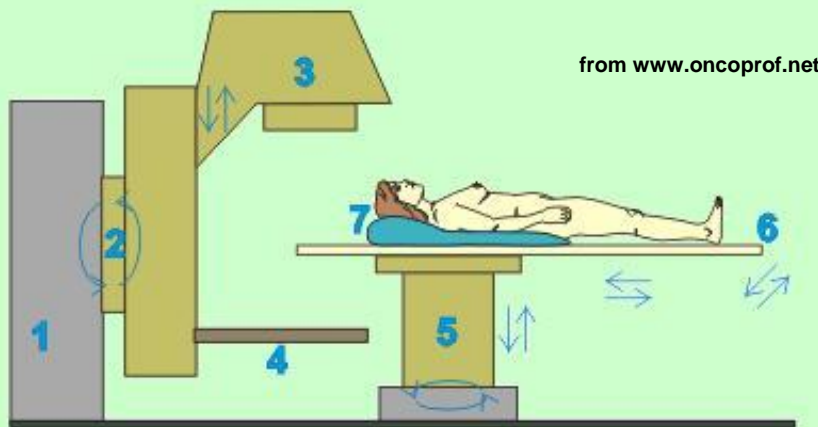
- Przy teleradioterapii i brachyterapii dostarcza się pewnych dawek do zdrowej tkanki

Teleradioterapia

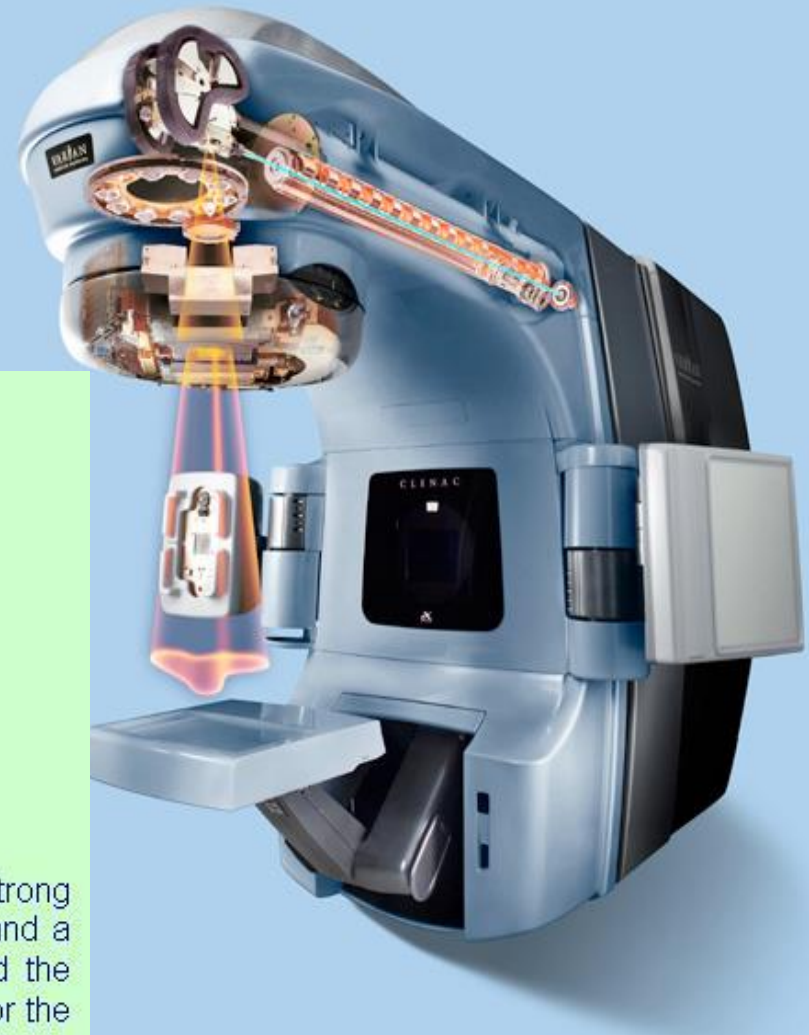
- Typowo fotony lub elektrony są kierowane z różnych kierunków, aby sumować dawkę w obszarze docelowym minimalizując dawki poza obszarem docelowym



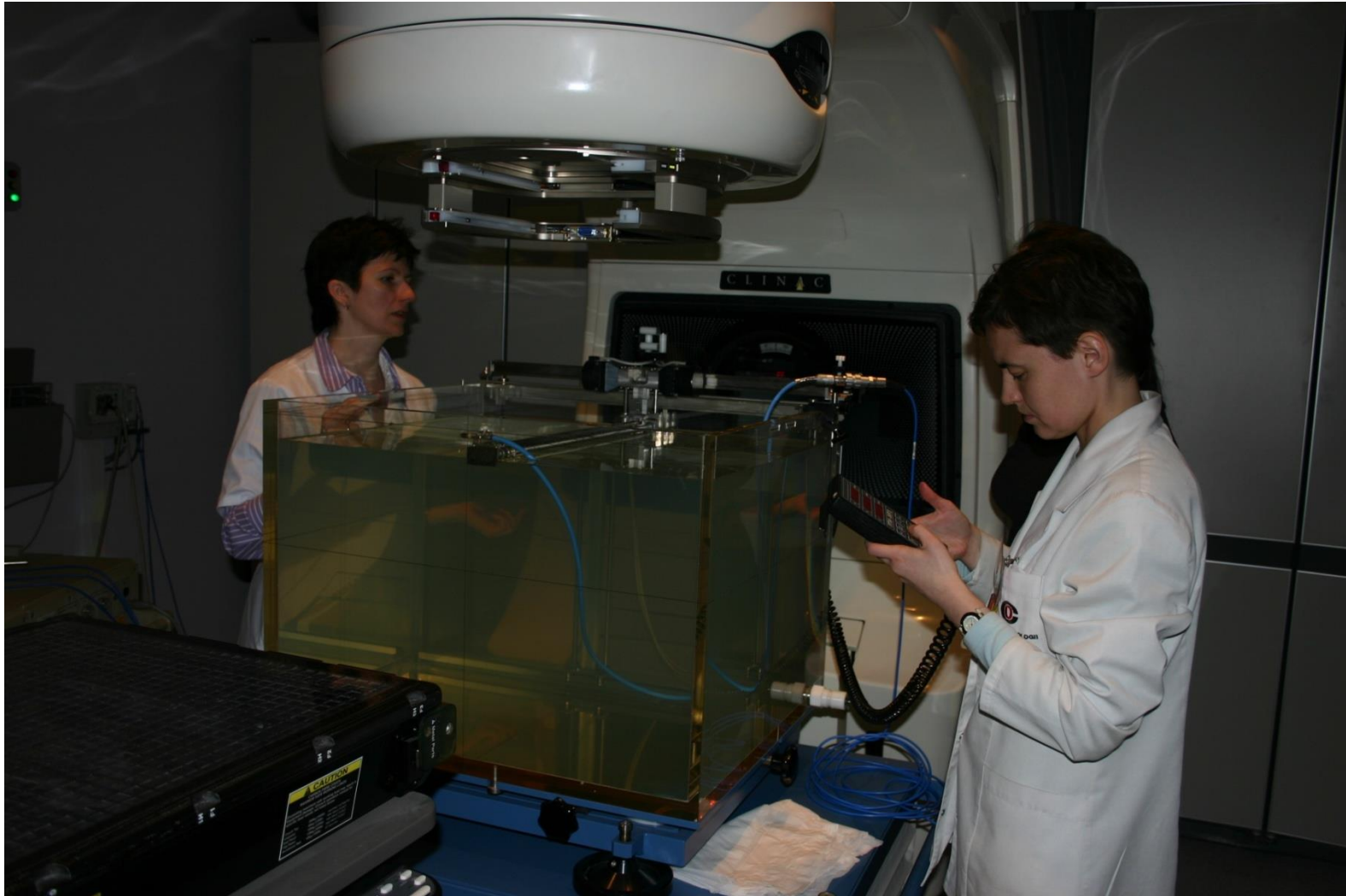
Akcelerator liniowy i schemat teleradioterapii (radioterapii zewnętrznej)



A classical radiotherapy device comprises a very heavy and strong stand [1] (in the accelerator where the ions are produced) and a rotation axis of 360° [2] to allow the arm to rotate around the patient. Within the arm [3] there is either the Cobalt source or the Cathod which can also be moved vertically. In [4], a space is reserved for controlling the irradiation produced using an imaging system. The table is placed on a jack [5] which can move in almost every direction [6], and a specific device [7] is used to immobilise the patient during the treatment session.



Centrum Onkologii Ursynów



17.V.2022

TJwDTM - Wykład 7

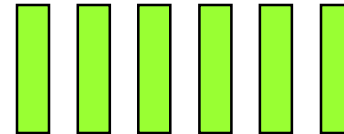
Elementy radiobiologii, radioterapia, terapia nowotworów z pomocą ciężkich jonów

Etapy i procedury teleradioterapii

- ❑ **Decyzja o radioterapii:** Lekarz znajduje radioterapię jako optymalne rozwiązanie.
- ❑ **Pozycja dla o radioterapii:** Pozycja do naświetlań jest wybierana tak, aby możliwe było przeprowadzenie całej procedury, rozważa się również unieruchomienie pacjenta
- ❑ **Obrazowanie pacjenta 3D:** W pozycji do naświetlań
- ❑ **Planowanie o radioterapii:** Używając obrazowania 3D wpisuje się obszar targetowy i organy krytyczne. Plan terapii powinien zapewniać odpowiednie dawki w wybranych obszarach. W wyniku planowanie uzyskujemy rozkłady dawek. Wybiera się optymalny plan.
- ❑ **Symulacja:** W specjalnym pomieszczeniu symulatora sprawdza się kierunki wiązek w wybranej geometrii naświetlań.
- ❑ **Napromienianie:** zwykle frakcjonowanie dawki. W radykalnej o radioterapii zwykle 15-35 frakcji po 1.8-2 Gy na frakcję. Akcelerator liniowy to aparat do radioterapii. Cyfrowy portal do sprawdzenia pozycjonowania pacjenta.
- ❑ **Kontrola po o radioterapii:** Podczas radioterapii występują skutki napromieniania, zdrowotne, odpowiedź nowotworu etc.

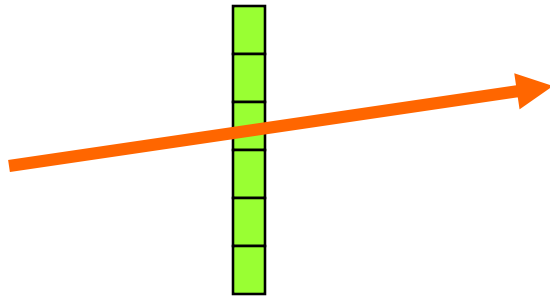
Różne typy tkanek

- Organy szeregowo (np. rdzeń kręgowy)
- Organy równoległe (np. płuca)

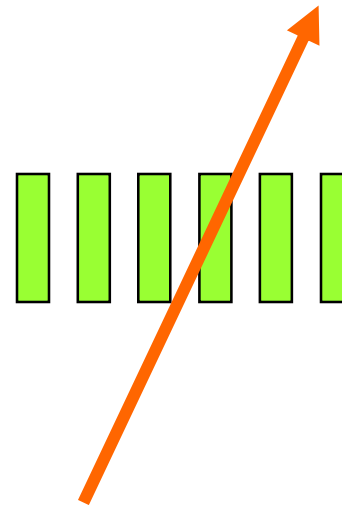


Różne typy organów

- Organ szeregowy (rdzeń kręgowy)



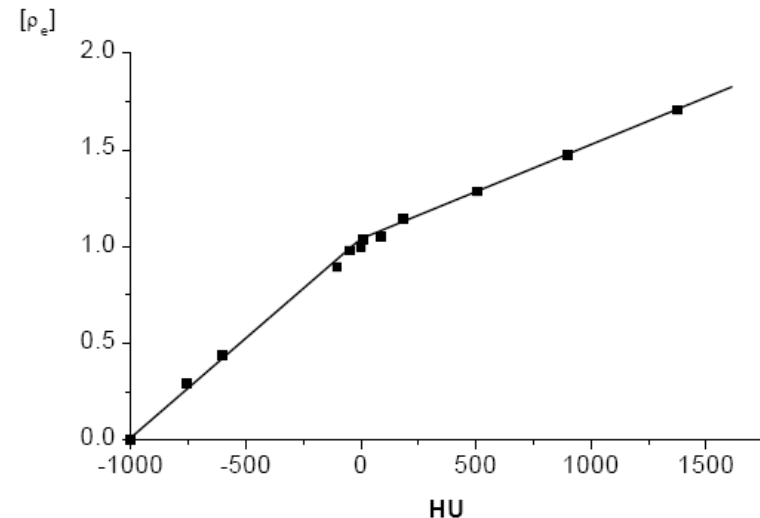
- Organ równoległy (płuca)



Efekty napromieniania mogą być istotnie różne

Obrazowanie pacjenta

- ❑ Computerized tomography (CT) is used to produce 3D information from the patient.
- ❑ CT is geometrically accurate.
- ❑ From the CT images it is possible to define the electron density distribution of the tissue in 3D to be used in dose calculation.
- ❑ Magnetic resonance imaging (MRI) has better tissues contrast, but CT has better geometric accuracy if enough slices are used.
- ❑ CT field of view (FOV) should cover the patient outlines to ensure correct dose calculation. Also if non-coplanar fields are used, the CT-slides should include all patient tissues that are under the planned field.
- ❑ CT imaging uses kilo voltage X-rays to produce the tomographic images. The images then contain the information about the absorption coefficient (μ) distribution of kV-energy. CT images consist of pixels which values are in Hounsfield unit (HU) (HU=-1000 for air and HU=0 for water).
- ❑ Hounsfield units can be related to relative electron densities (calibration curve), which are the most important factors to describe the photon interactions in MV-energies.
- ❑ The calibration curve has to be defined experimentally and checked from time to time for each radiotherapy CT.



Definiowanie obszaru targetowego

- Defined in the CT or fusion images, in which the patient is in the treatment position (also earlier patient information is used)
- ICRU defines 5 different targets:
 - **Gross tumour volume (GTV)**, includes all tumour volume that can be seen,
 - **Clinical target volume (CTV)**: includes GTV plus the margin for sub-clinical tumour spread (not visible, microscopic), to achieve cure, all CTV should receive adequate treatment dose
 - **Planning target volume (PTV)** includes CTV plus a geometric margin designed to ensure that the radiotherapy dose is actually delivered to the CTV. PTV allows uncertainties in planning or treatment delivery, i.e. takes into account the patient movement, organ movement and patient setting errors.
 - Physician draws the target as PTV and in treatment planning no extra marginal is added
 - **Treated volume** is the volume which is inside for ex. 95% isodose curve (defined by a physician).
 - **Irradiated volume** is a volume which receives a significant dose

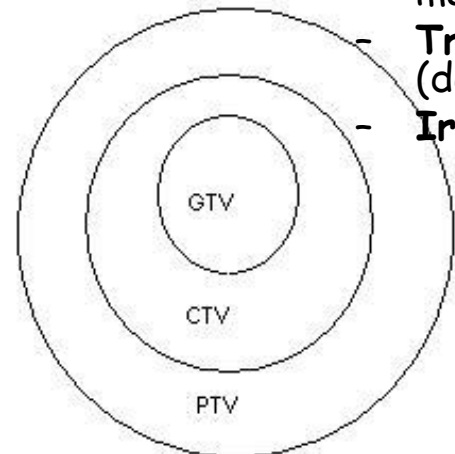
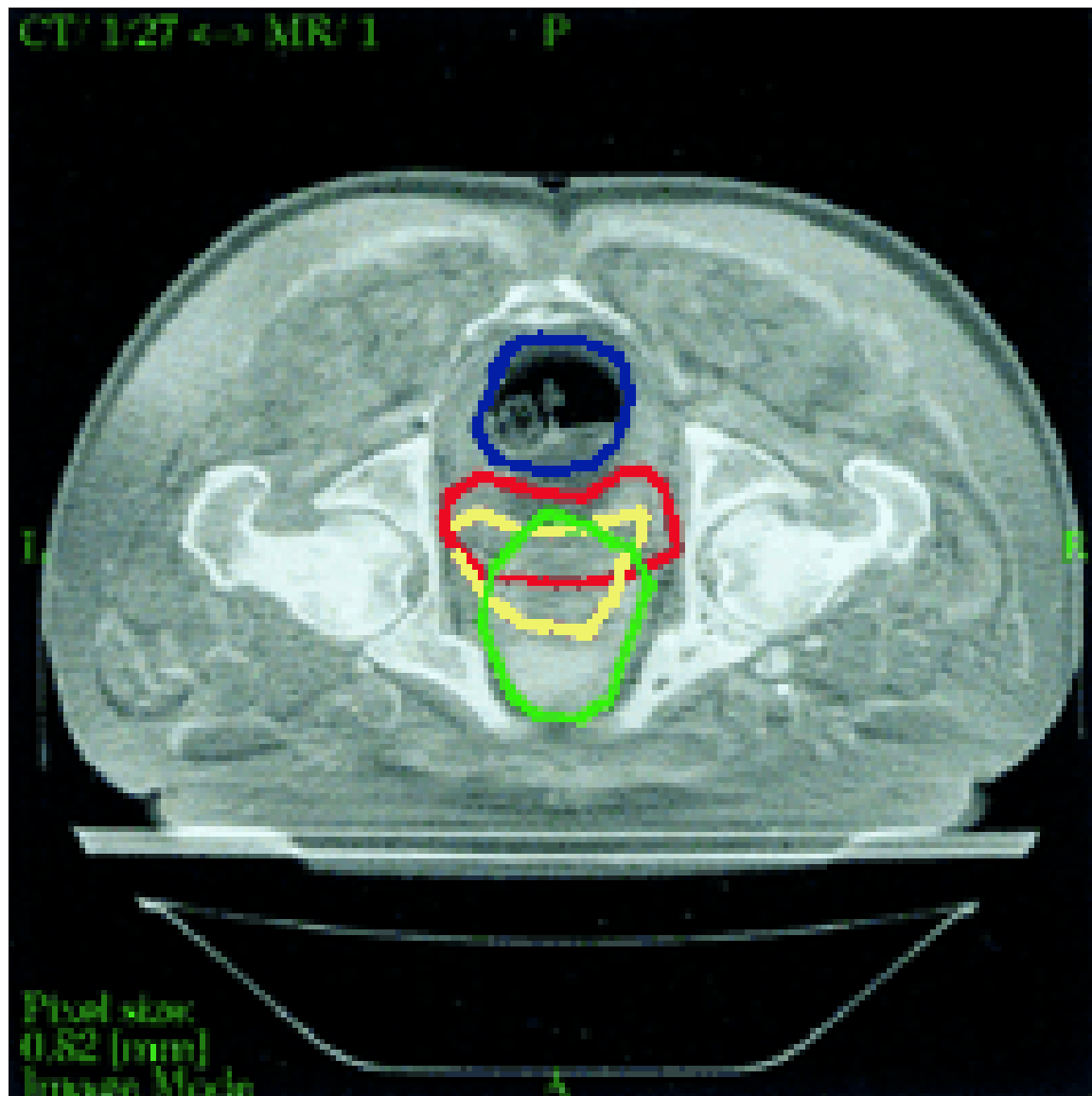


Figure: CT-MRI image fusion: delineation of the clinical target volume (CTV) and critical organs. Red line, CT CTV; yellow line, MRI CTV; blue line, rectum (CT); green line, bladder (CT). (From *British Journal of Radiology* 75 (2002),603-607)



PTV related definitions

- ❑ Prescribed dose: the dose to be targeted into the PTV described by a physician, the dose in a reference point in planning; If more than one PTVs are used, then each PTV has its own prescribed dose.
- ❑ Reference dose D_{ref} is the dose at a reference point in a PTV
- ❑ Maximum dose D_{max} is the maximum dose at the present volume. The size is at least 15 mm, smaller volumes are thought to be clinically unimportant if the size of the organ is not around 15 mm (optic nerve, lens etc).
- ❑ Minimum dose D_{min} is the minimum dose at the present volume. No size limits for minimum dose.
- ❑ Mean dose D_{mean} is the mean value of the dosepoints at the present volume.
- ❑ 'Hot spots' is a volume outside of the PTV which receives dose more than 100% when compared to reference dose D_{ref} . Only over 15 mm volumes are remarkable.
- ❑ ICRU defines following requirements for the reference point:
 - Should represent clinically notable dose
 - Selected in a area which represents the whole PTV
 - Should be defined clearly and without contradiction
 - Selected in a area in which the dose is strictly known
 - Not in a high dose gradient area
 - The reference point is in the middle of PTV
 - The uniformity of the dose should be noticed
 - Point should be almost at the centre of the radiation field

ICRU- International
Commission on Radiation
Units

$$D_{max} \leq 1.07D_{ref} , D_{min} \geq 0.95D_{ref}$$

Konwencjonalna radioterapia

Terapia nowotworów
przy pomocy akceleratorów elektronowych
(kwanty γ)

168 akceleratorów (2020r),

4 aparaty / mln. mieszkańców

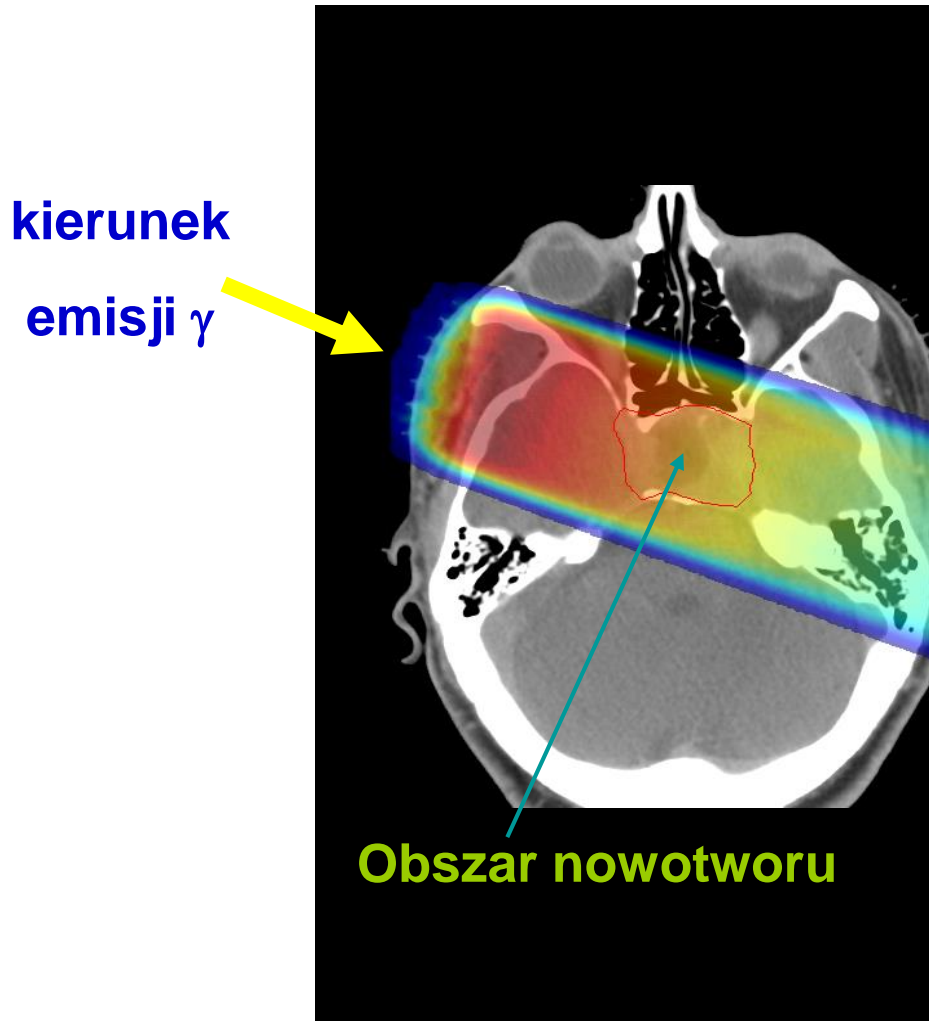
ok. 180 000 zachorowań /rok w Polsce

Tylko 65 000 terapii

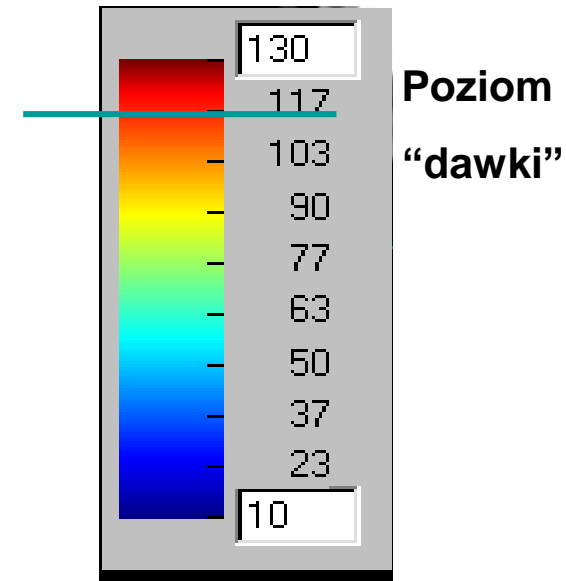


Terapia nowotworów z pomocą ciężkich jonów

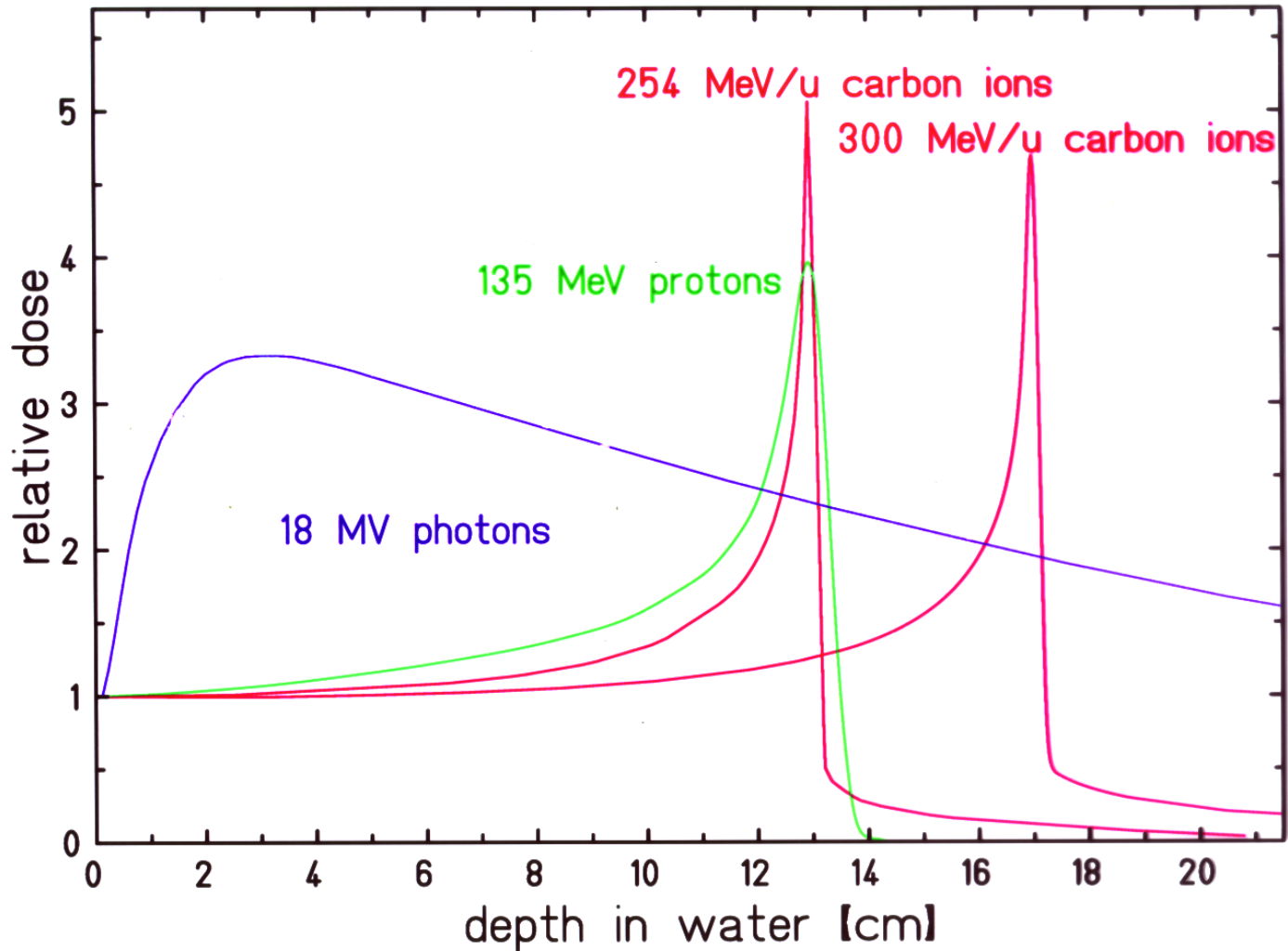
Komplikacje przy terapii γ



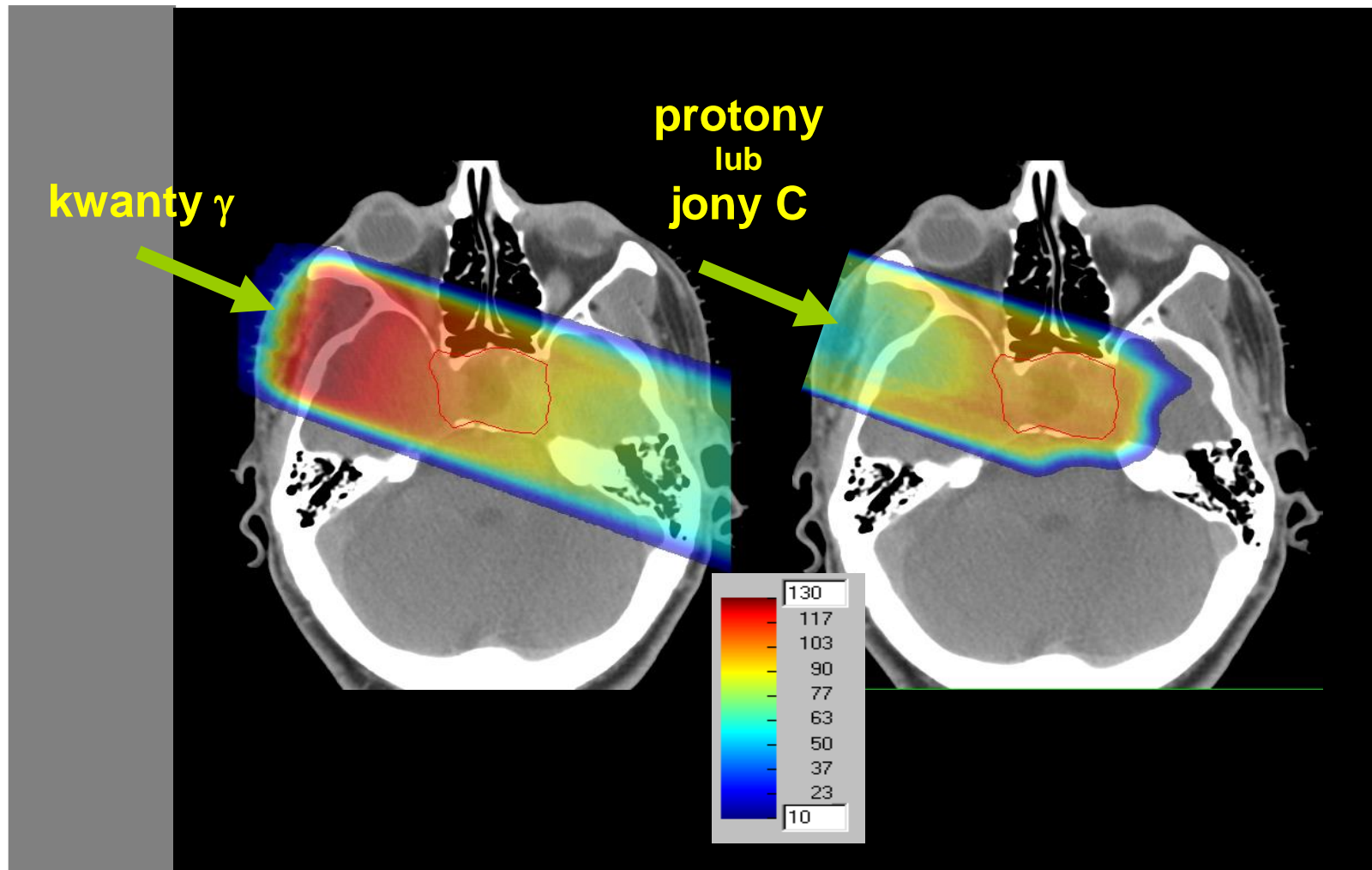
Czy może być lepiej?



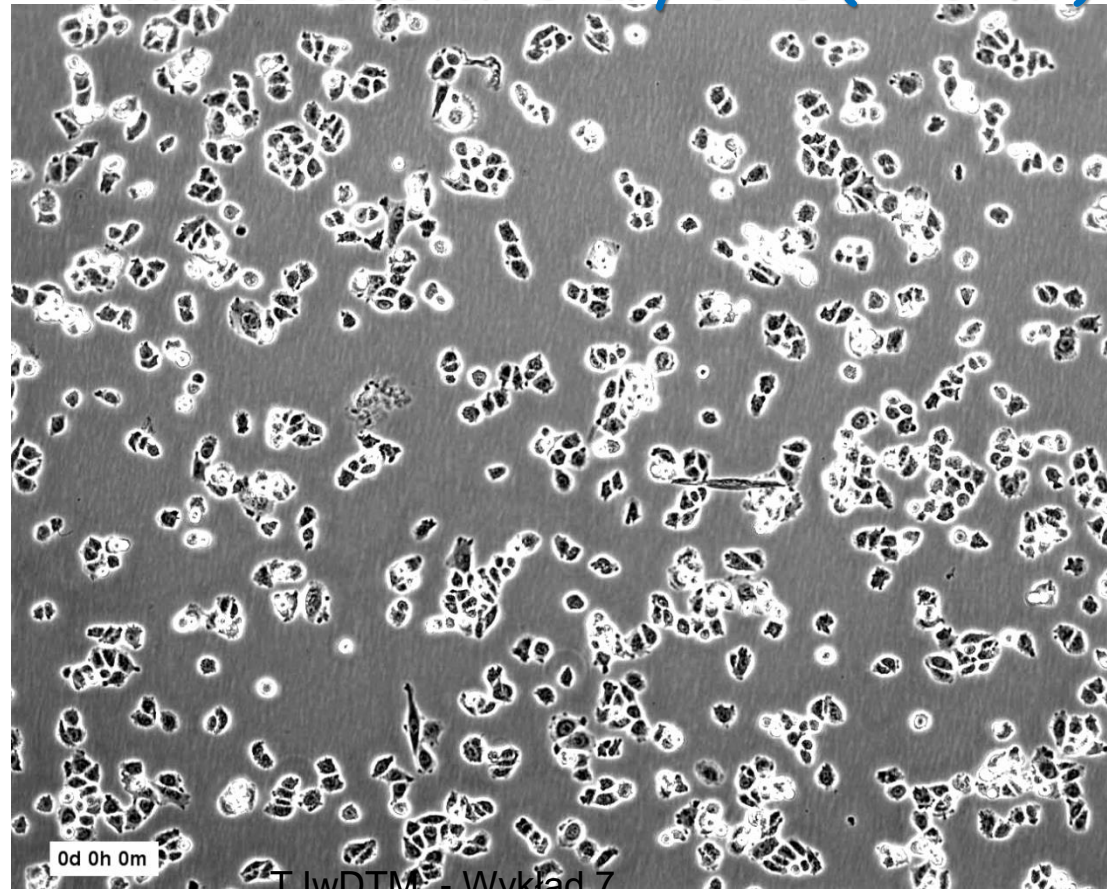
Rozkłady dawek dla wybranych wiązek



Pożytek z naświetlań hadronami



- ❑ Układ doświadczalny dedykowany badaniom radiobiologicznym powstał w Środowiskowym Laboratorium Ciężkich Jonów w Warszawie
- ❑ Badania prowadzone są na linii komórkowej wyprowadzonej z komórek jajnika chomika chińskiego
- ❑ Chinese Hamster Ovary cells (CHO-K1)



Test klonogeny

- Test przeprowadzany w celu określenia przeżywalności komórek po napromienieniu

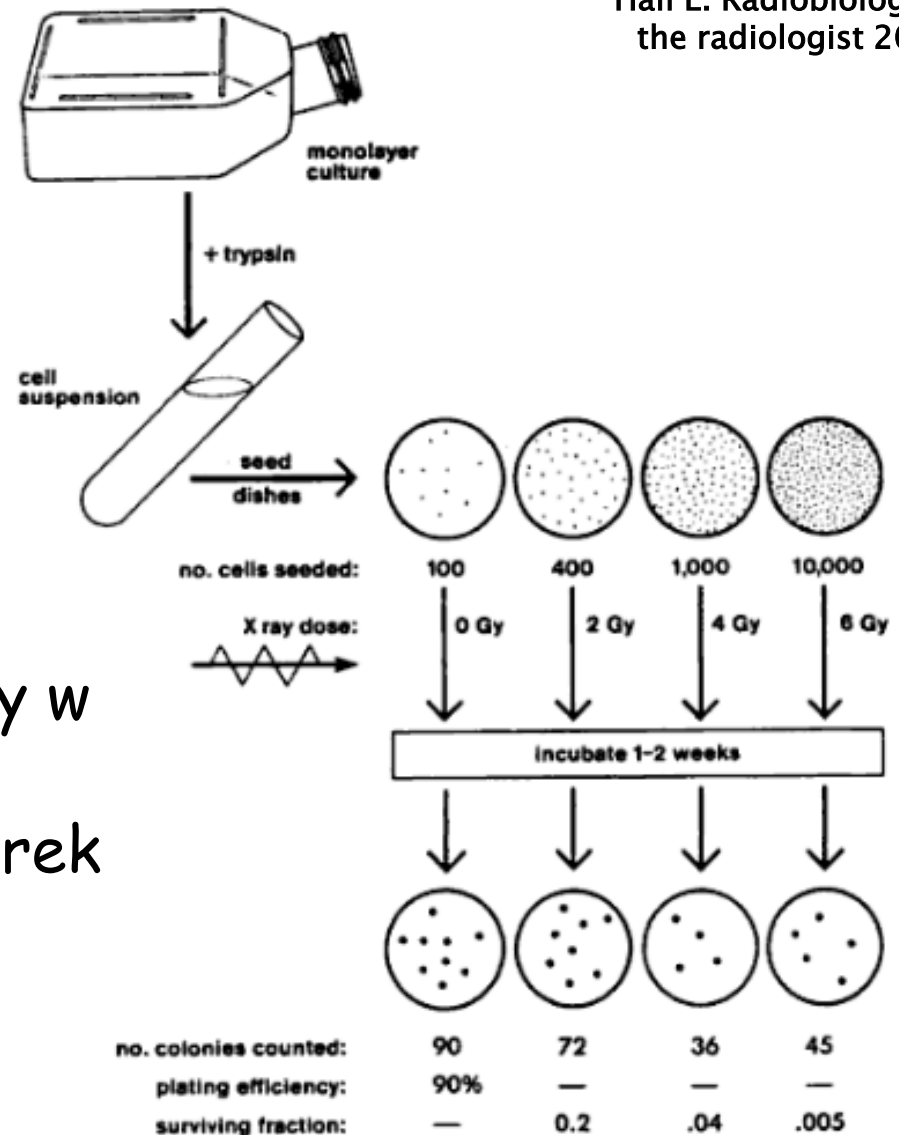
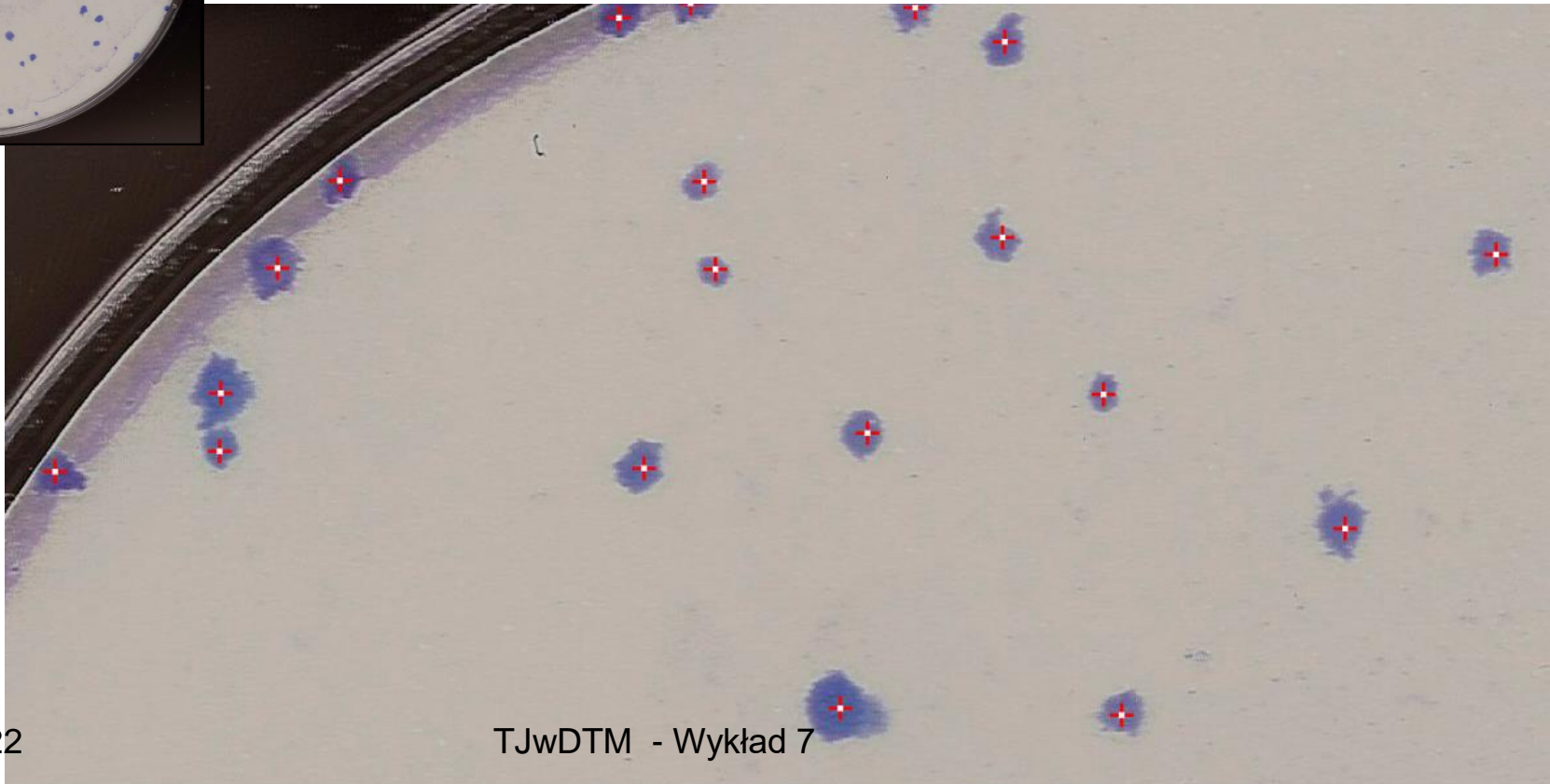
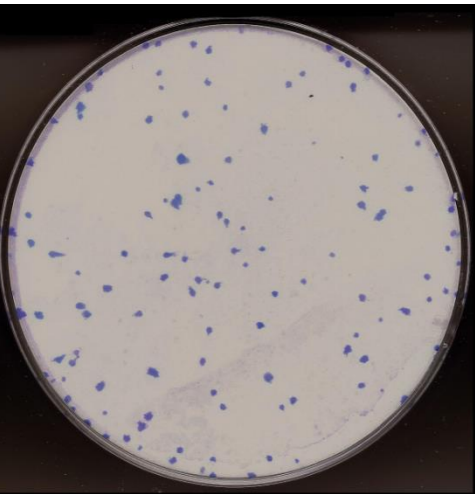


FIGURE 3.2 ● The cell culture technique used to generate a cell survival curve. Cells from a stock culture are prepared into a single-cell suspension by trypsinization, and the cell concentration is counted. Known numbers of cells are inoculated into petri dishes and irradiated. They then are allowed to grow until the surviving cells produce macroscopic colonies that can be counted readily. The number of cells per dish initially inoculated depends on the dose so that the number of colonies surviving is in the range that can be counted conveniently. Surviving fraction is the ratio of colonies produced to cells plated, with a correction necessary for plating efficiency (i.e., for the fact that not all cells plated grow into colonies, even in the absence of radiation).

Test klonogeny



17.V.2022

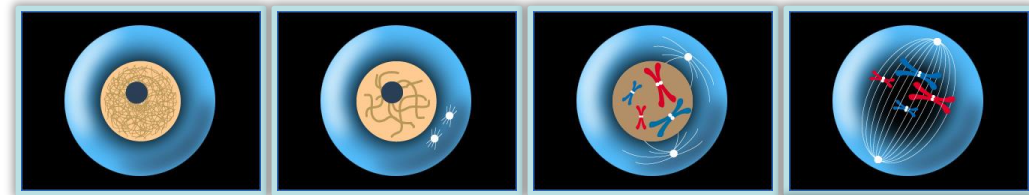
TJwDTM - Wykład 7

Test mikrojądro

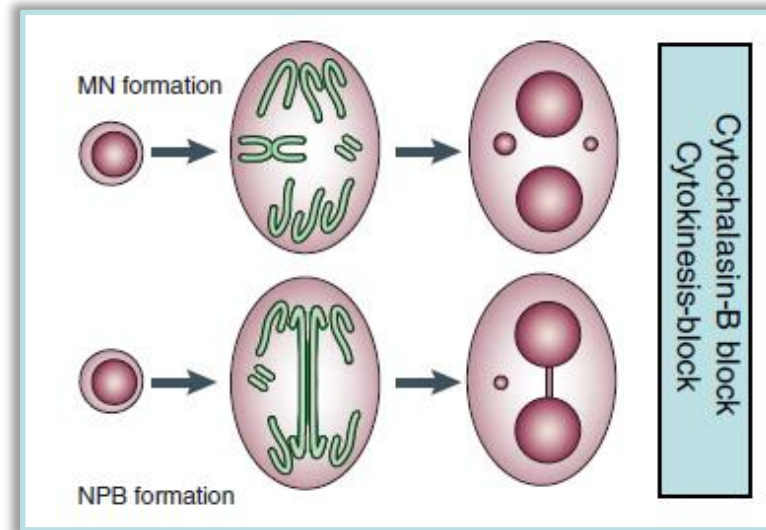
MIKROJĄDRO

mała struktura w cytoplazmie komórki powstała z fragmentów chromosomów acentrycznych

(fragmenty uszkodzonych chromosomów)



Cykl komórkowy

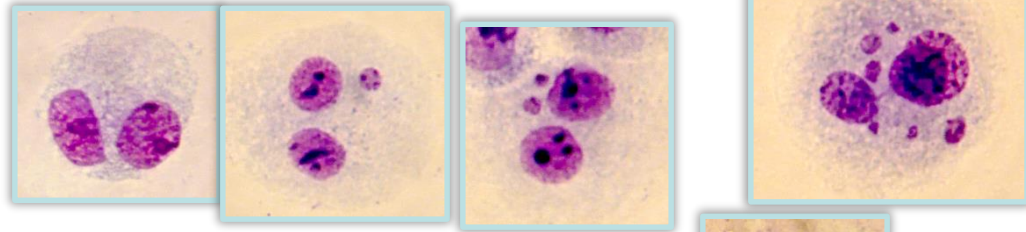


Fenech M. www.nature.com/natureprotocols 2007

Krawczuk-Rybak M. Współczesne podstawy patogenezy nowotworów u dzieci

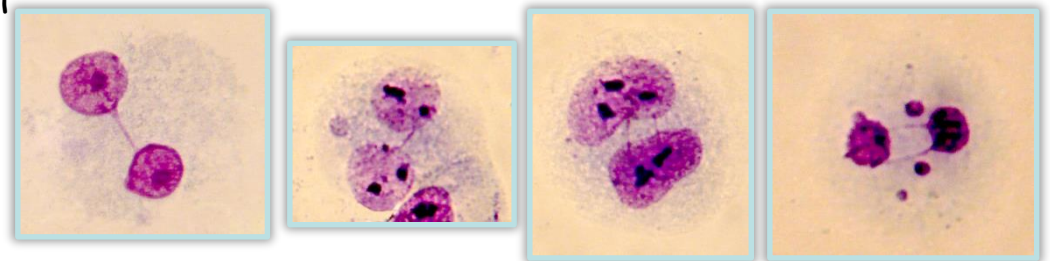
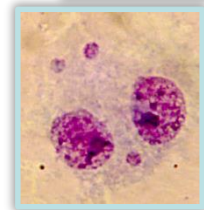
Test mikrojądrowy

Komórka
z 2 jądrami

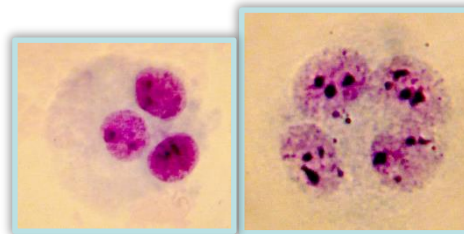


- Standard protocol - Fenech 2007
 - cell irradiation
 - add cytochalasin B
 - after 20-24 h - add trypsin
 - place drop on microscope glass
 - add Giemsa (20%)
 - analysis on microscope

Komórki z 2 jądrami i MN

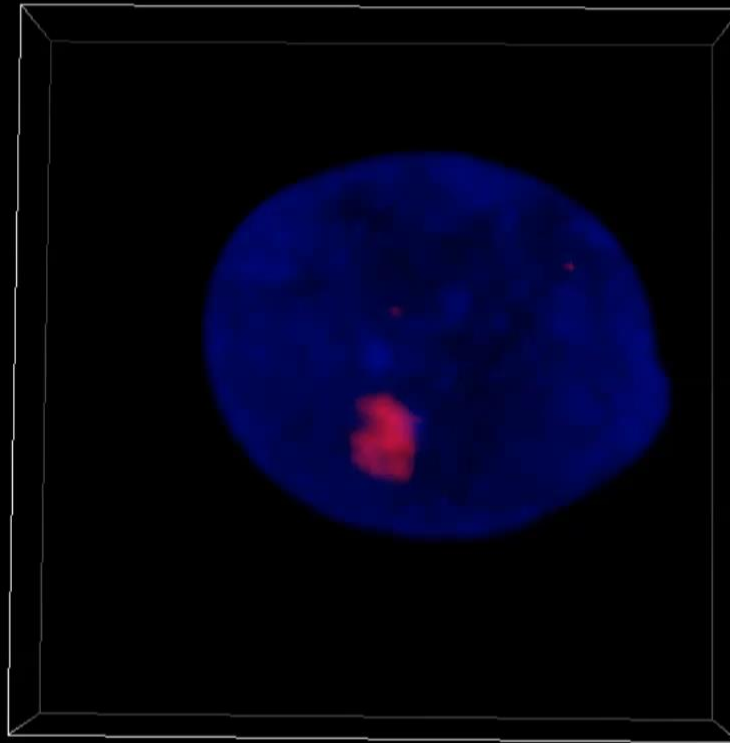


Komórki z „mostkami” i MN



Komórki wielojądrzaste

Test γ -H2AX

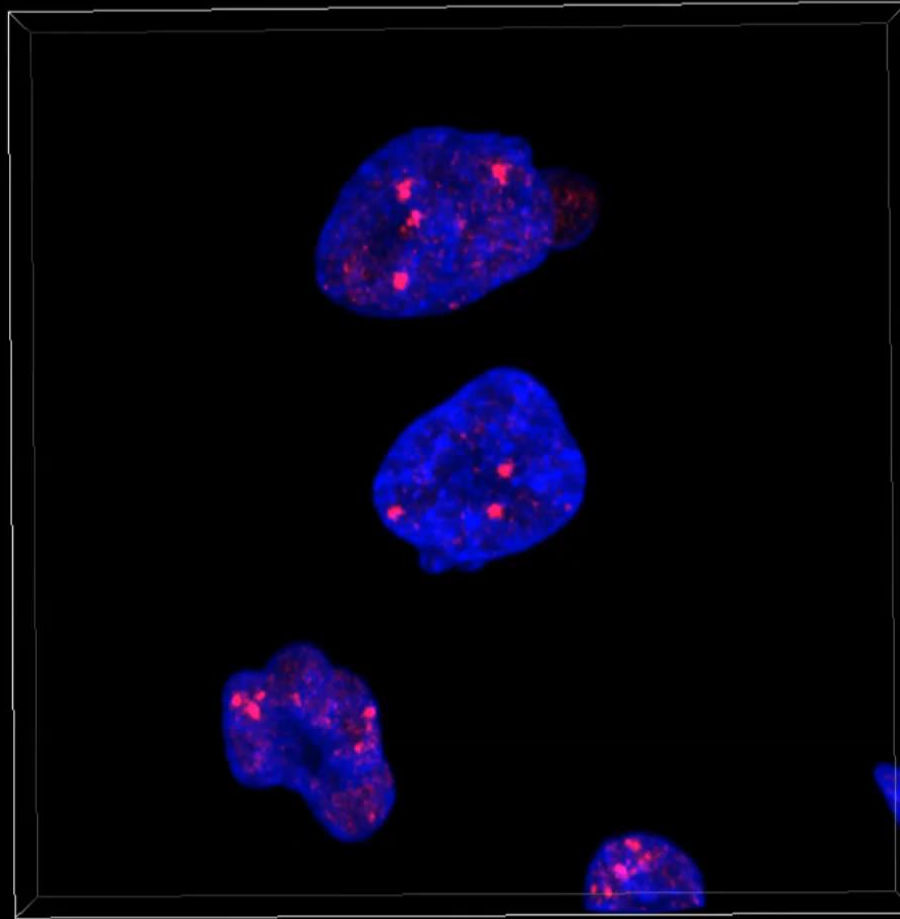


Calibration x:0.05 μm , y:0.05 μm , z:0.13 μm
Width:25.02 μm Height:25.02 μm Depth:5.50 μm

17.V.2022

TJwDTM - Wykład 7

Test γ -H2AX

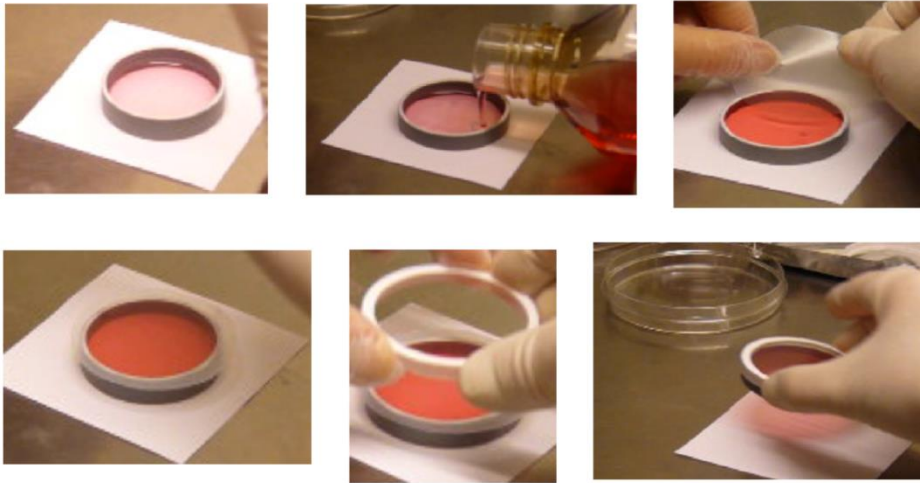


Calibration x:0.12 μ m, y:0.12 μ m, z:0.13 μ m
Width:62.54 μ m Height:62.54 μ m Depth:6.25 μ m

17.V.2022

TJwDTM - Wykład 7

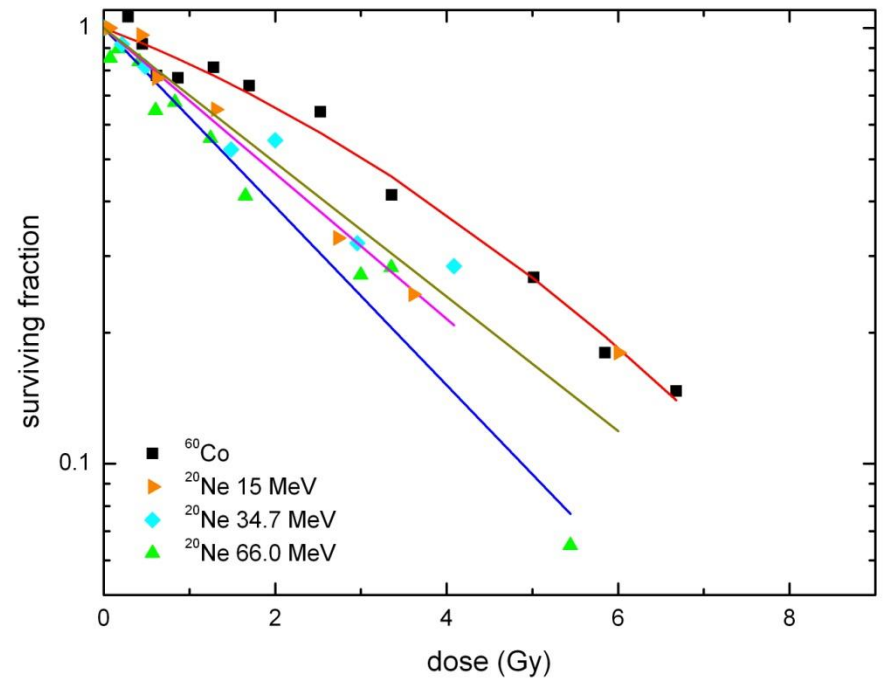
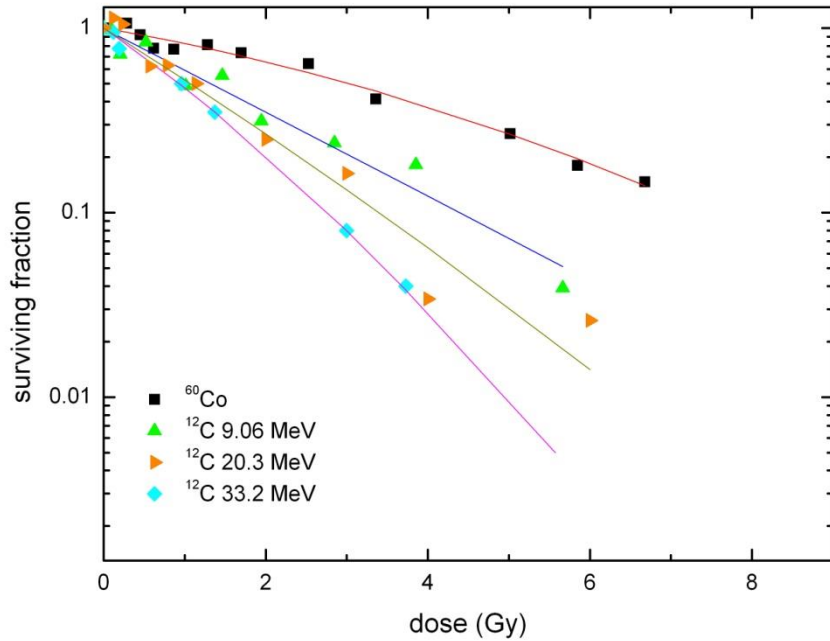
Przygotowanie szalek z komórkami do napromieniania



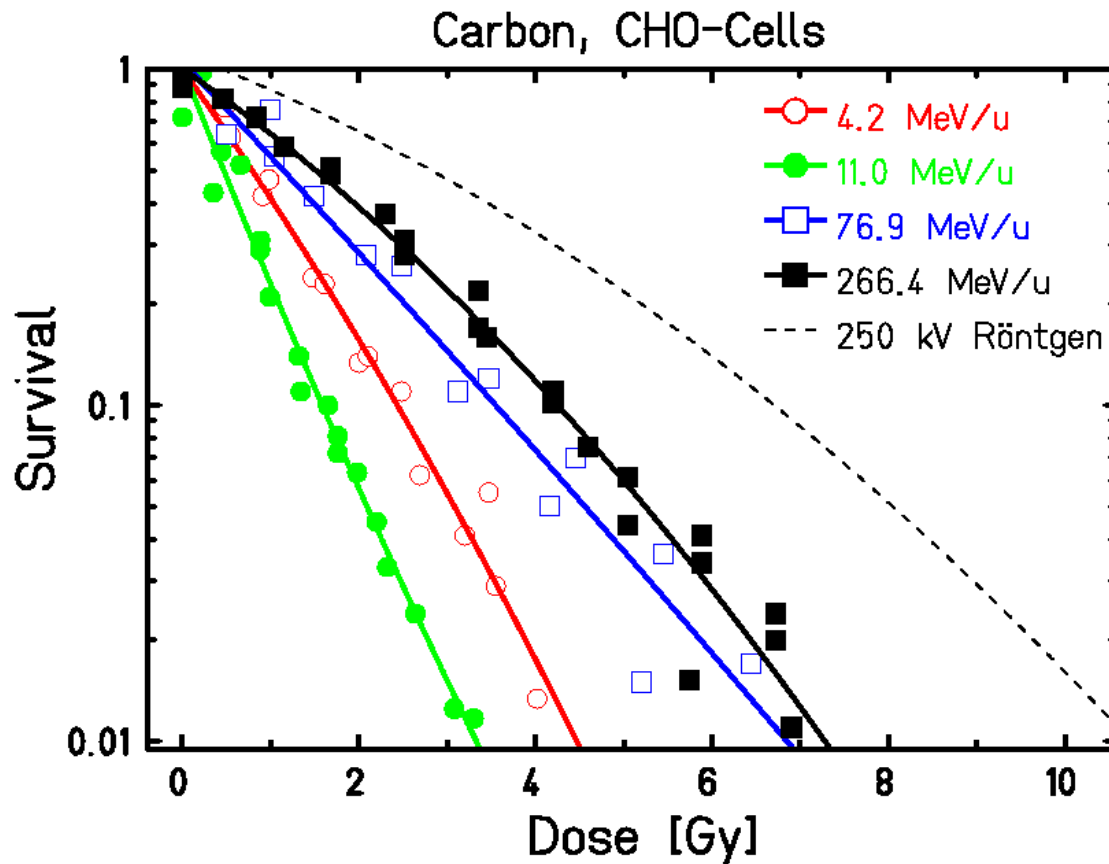
17.V.2022

TJwDTM - Wykład 7

Nowe rezultaty



Systematyka krzywych przeżywalności

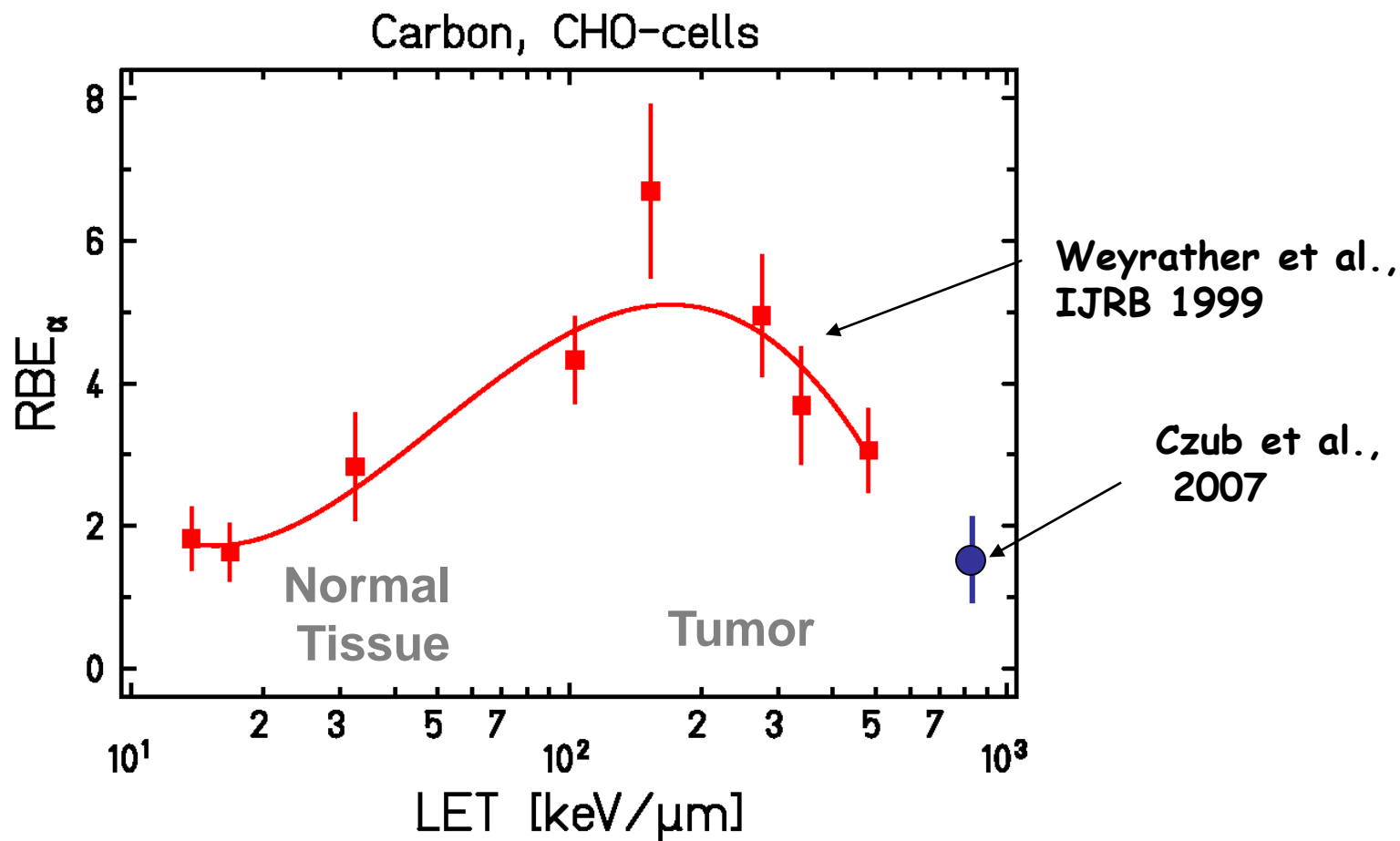


CHO -
Chinese
Hamster Ovary
cells

Weyrather et al.,
IJRB 1999

- skuteczność rośnie gdy maleje energia
- przejście od krzywych z ramieniem do prostych (wykładniczych)
- Wysycenie efektu przy bardzo niskich energiach (<10 MeV/u)

RBE zależy od LET (Linear Energy Transfer)



Aberracje chromosomowe

Wiązka
XII-2006

