

Mechanismen der Zellschädigung und des zelleigenen Schutzes bei alpha- Partikel-Bestrahlung

Dr. Thomas Verwanger
Arbeitsgruppe Dr. Barbara Krammer
Fachbereich Molekulare Biologie
Universität Salzburg
Hellbrunnerstr. 34
5020 Salzburg

Radonwirkung - Alphabestrahlung

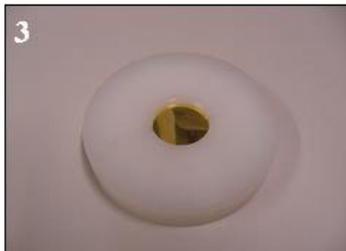
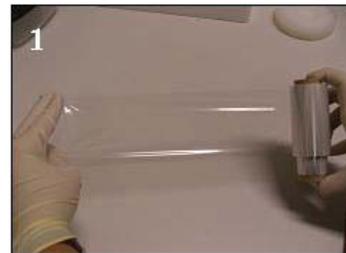
- Offenkundige klinische Wirkungen der Radontherapie (Erkrankungen d. Bewegungsapparates, Haut u. Atemwege)
- Zelluläre Wirkmechanismen größtenteils noch nicht aufgeklärt (v.a. immunologische Studien)

Zelluläre Antwort auf alpha- Bestrahlung

- Antwort auf oxidativen Stress durch (Sauerstoff-)Radikalentstehung
- Alpha-Partikel führen zu DNA-Schäden (Doppel-, Einzelstrangbrüche)
- Führt zu Zelltod, Reparatur, Hochfahren antioxidativer Systeme (Glutathion), immunologische Antwort auf Zytokin-Ebene

Material und Methoden

- Alpha-Strahlenquelle **Americium (^{241}Am)**
Vorteile: gut anwendbar in Zellkultur, lange Halbwertszeit (432,2 Jahre vs. 3,8 Tage bei Radon), Reproduzierbarkeit
- ZK-Schalen mit Mylarfolie + Fibronectin



Material und Methoden

- **Berechnete Dosisrate:**

Goldmantel (2 μm) + Mylarfolie (6 μm)

ca. 3 mGy/s

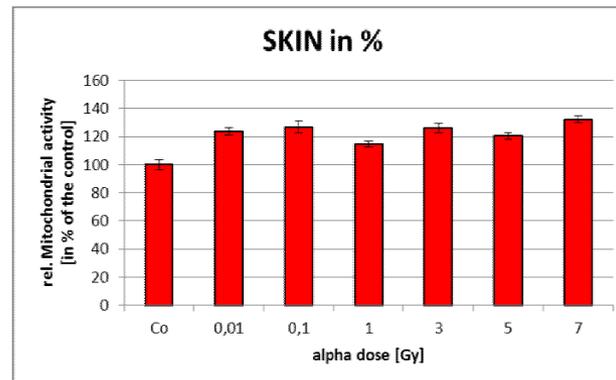
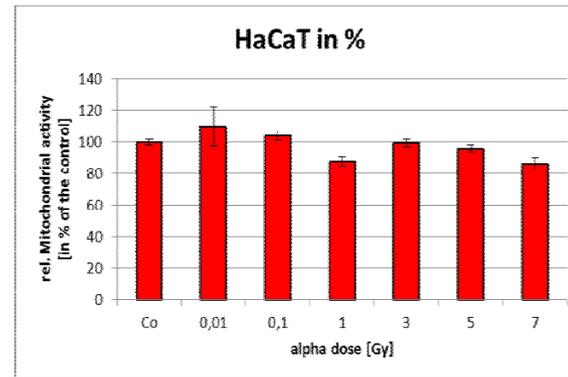
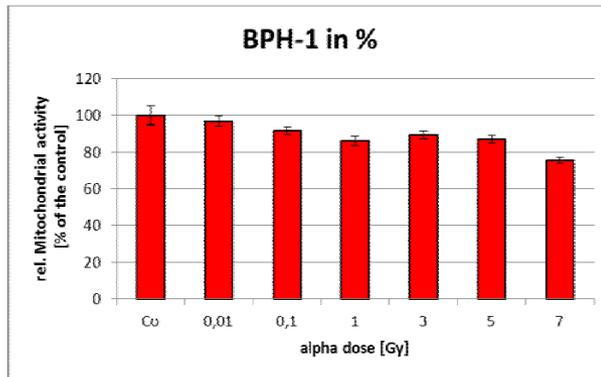
0,01Gy	→	3,3s
0,1 Gy	→	33s
0,6 Gy	→	3min 33s
1 Gy	→	5min 33s
3 Gy	→	16min 40s
5 Gy	→	27min 46s
7 Gy	→	38min 53s

Material und Methoden

- **Verwendete Zelllinien :**
 - primäre Hautfibroblasten (**SKIN**)
 - **BPH-1** (epitheliale Zellen)
 - **HaCaT**: Keratinocyten aus histologisch normaler Haut (p53 def.)

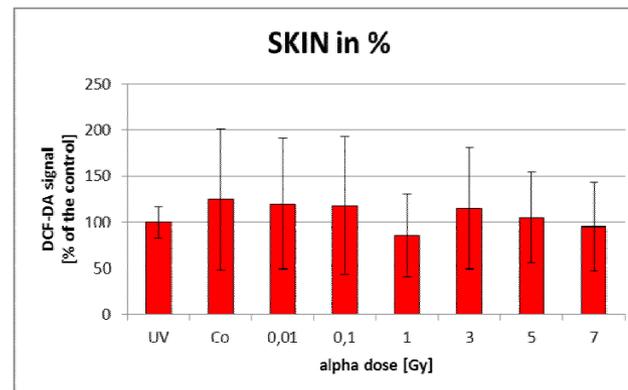
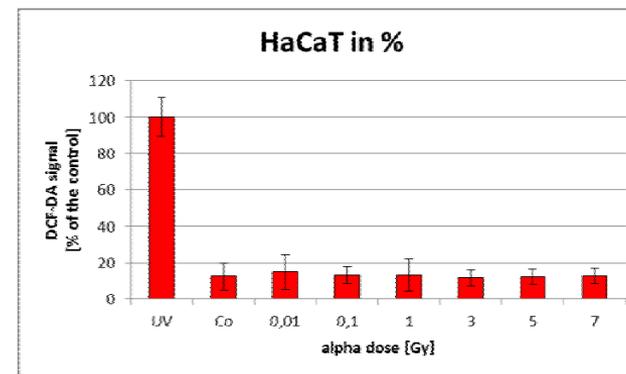
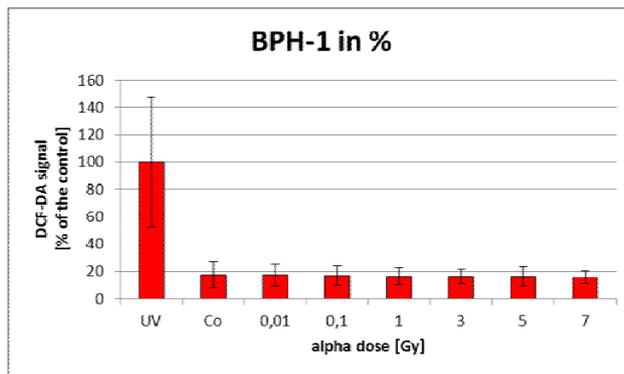
Ergebnisse

- Zellviabilität
via MTT-Assay



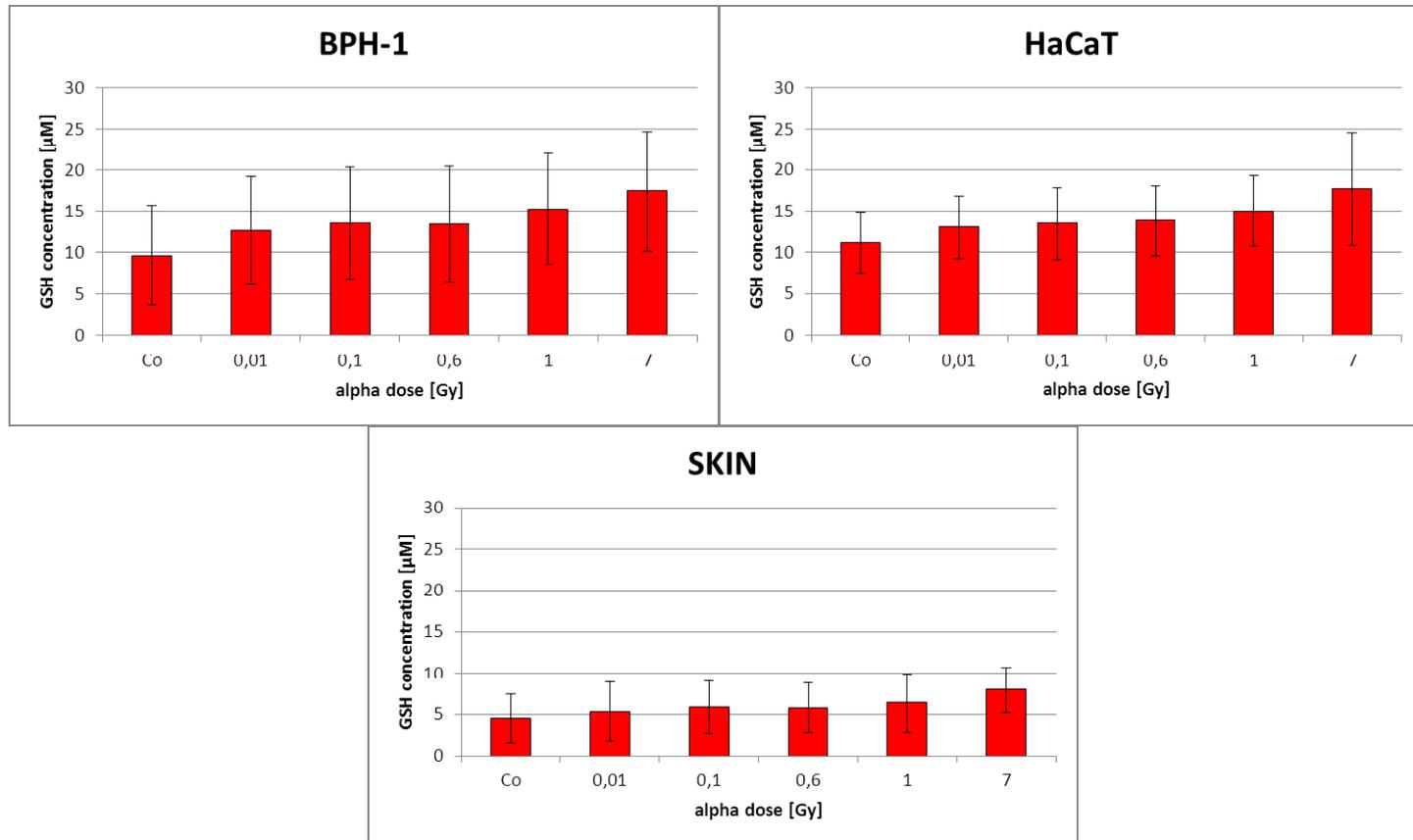
Ergebnisse

- Bestimmung intrazellulärer ROS mittels carboxy-DCF-DA



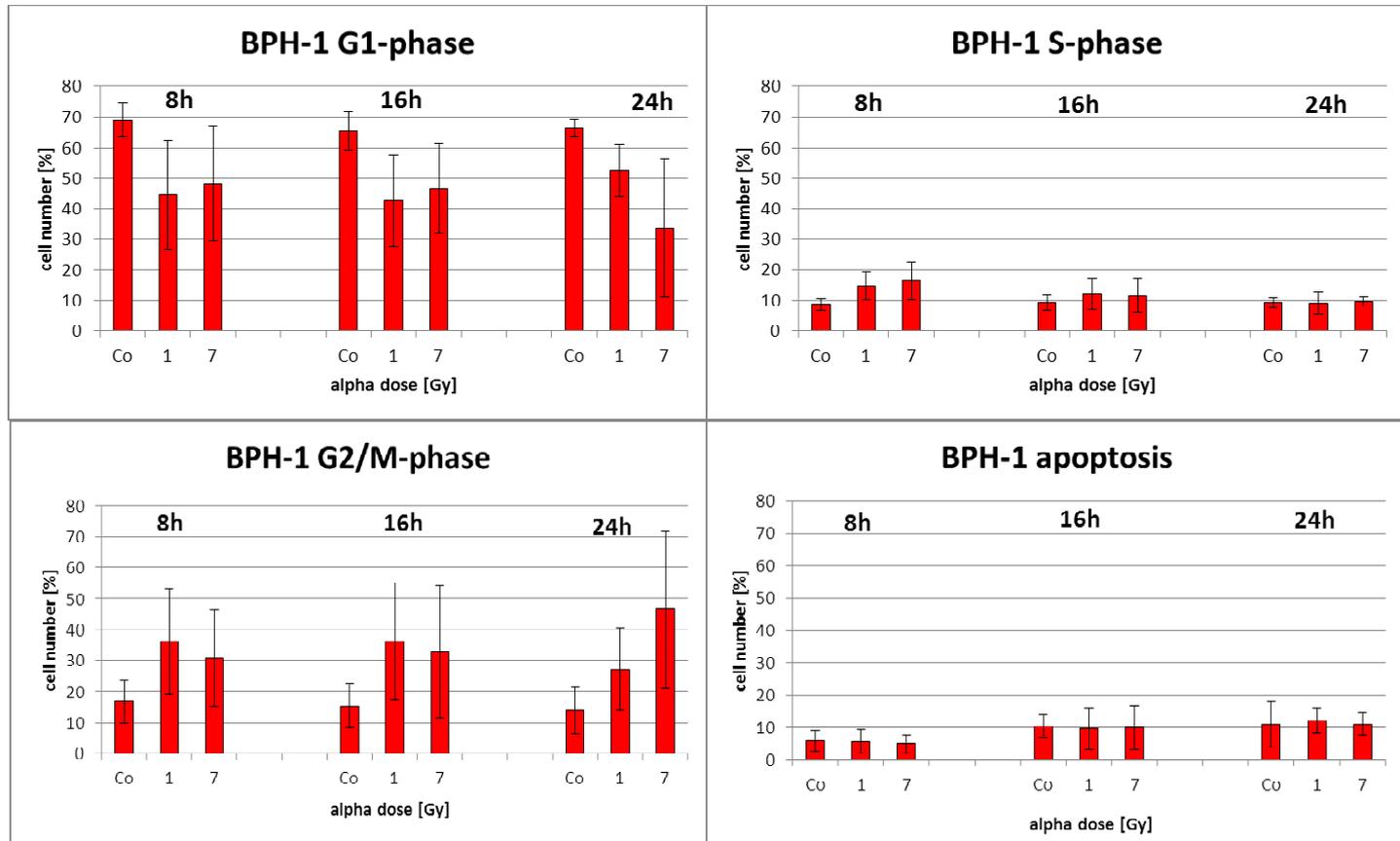
Ergebnisse

- Glutathion-Bestimmung



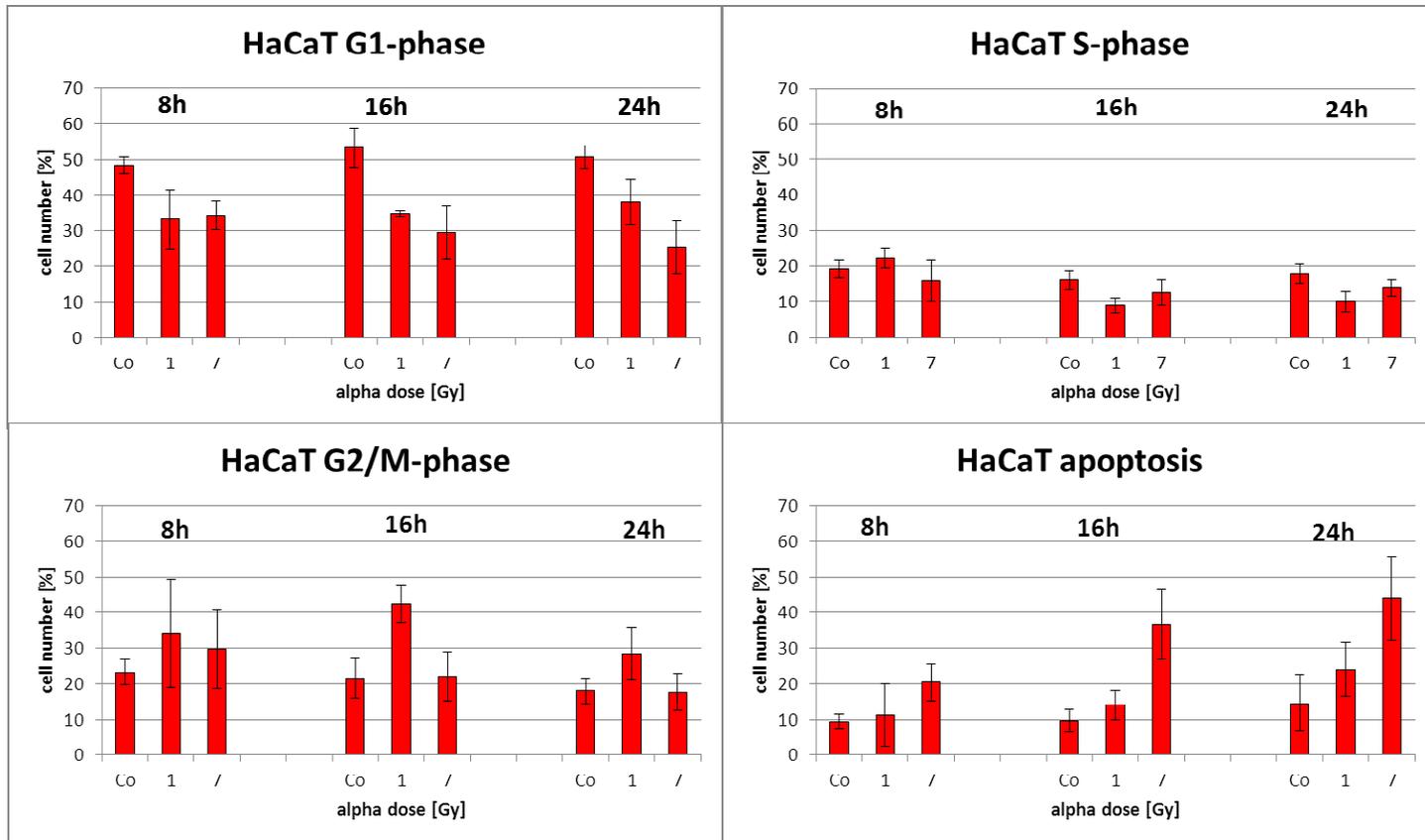
Ergebnisse

- Zellzyklus / Apoptose BPH-1



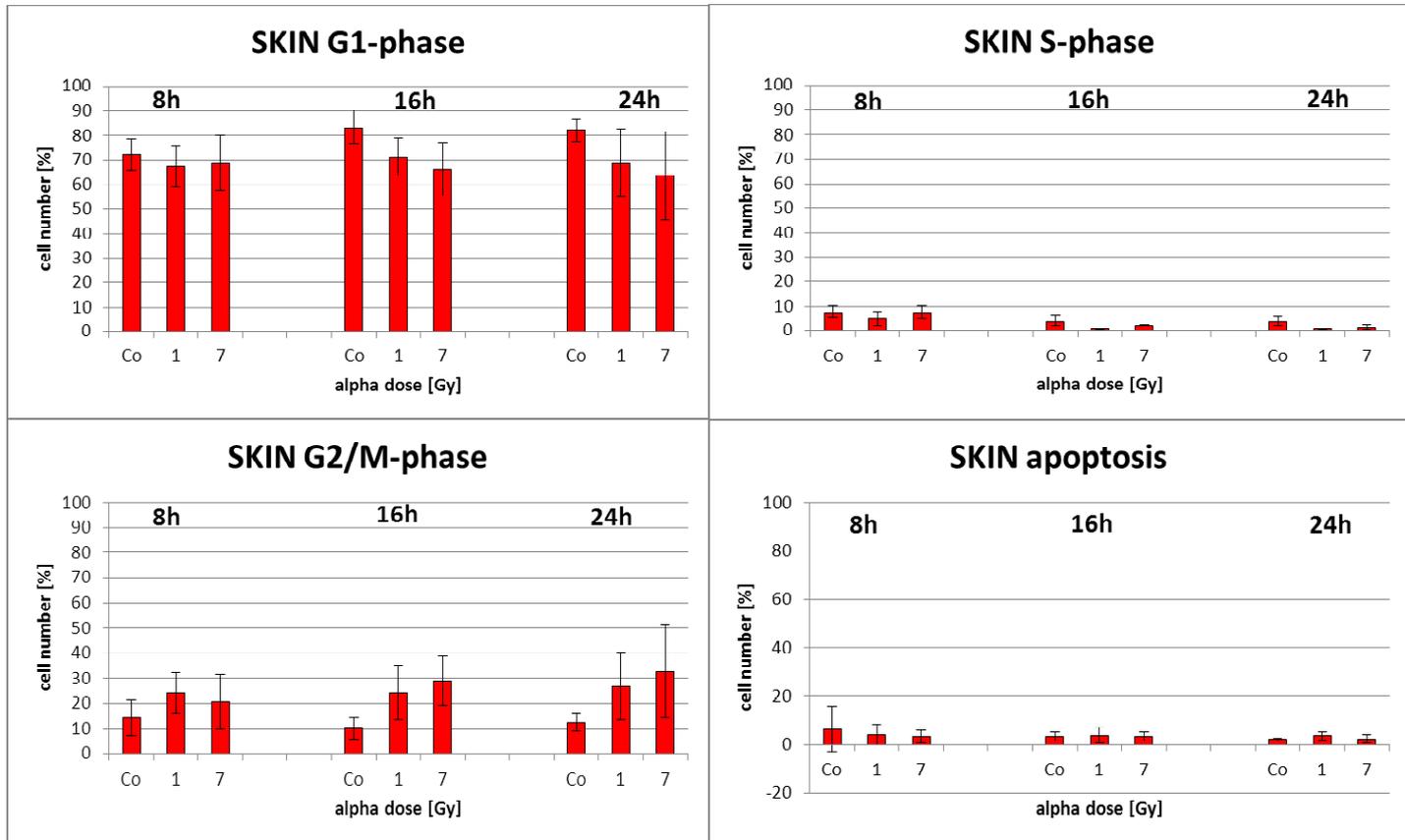
Ergebnisse

- Zellzyklus / Apoptose HaCaT



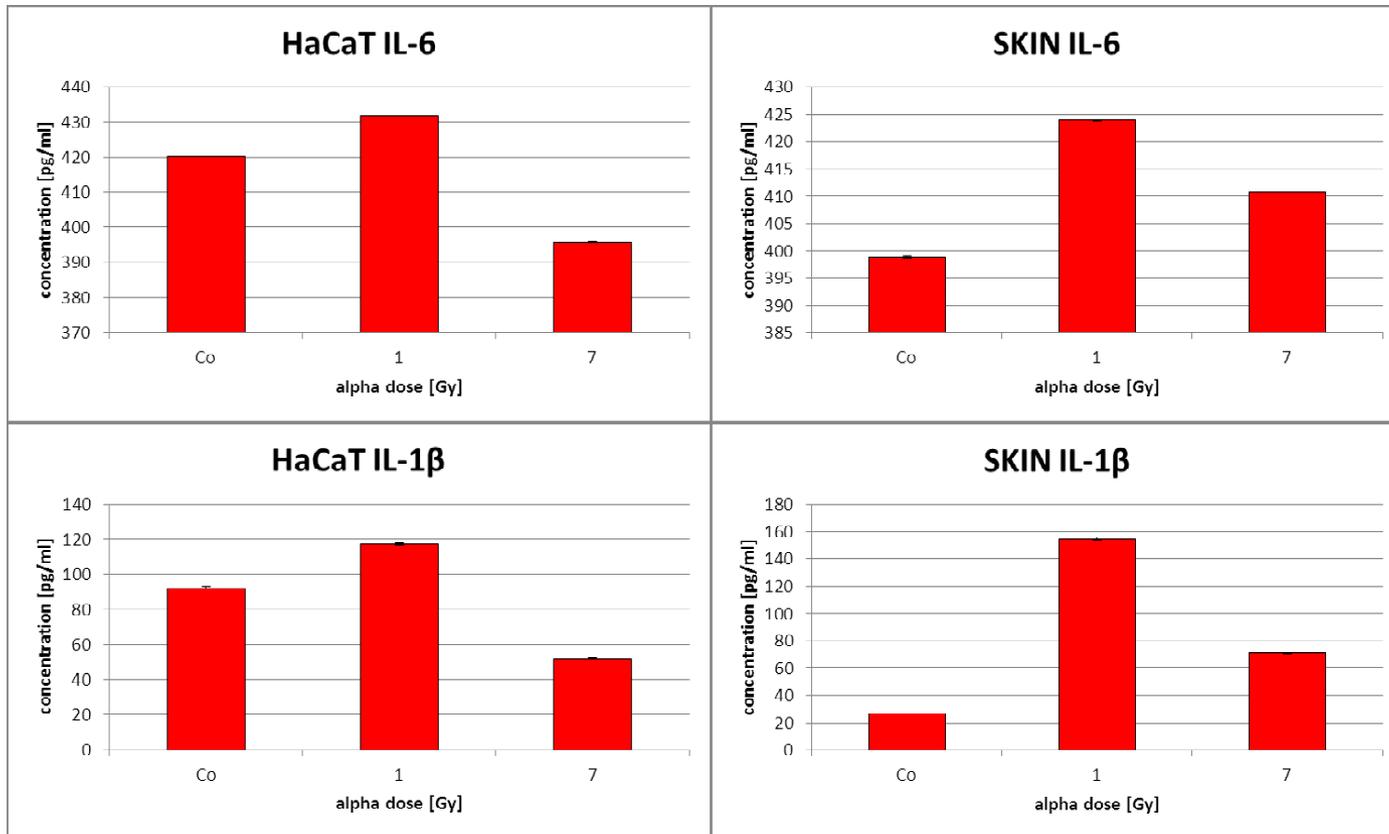
Ergebnisse

• Zellzyklus / Apoptose SKIN



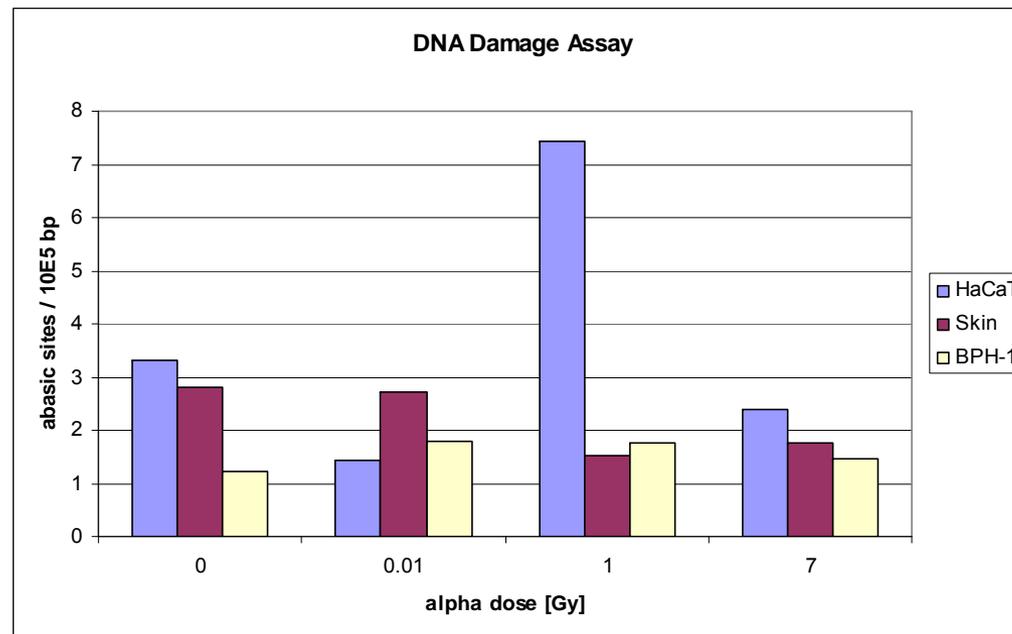
Ergebnisse

- Zytokin-Aktivierung: TNF- α , IL-6, IL-1 β



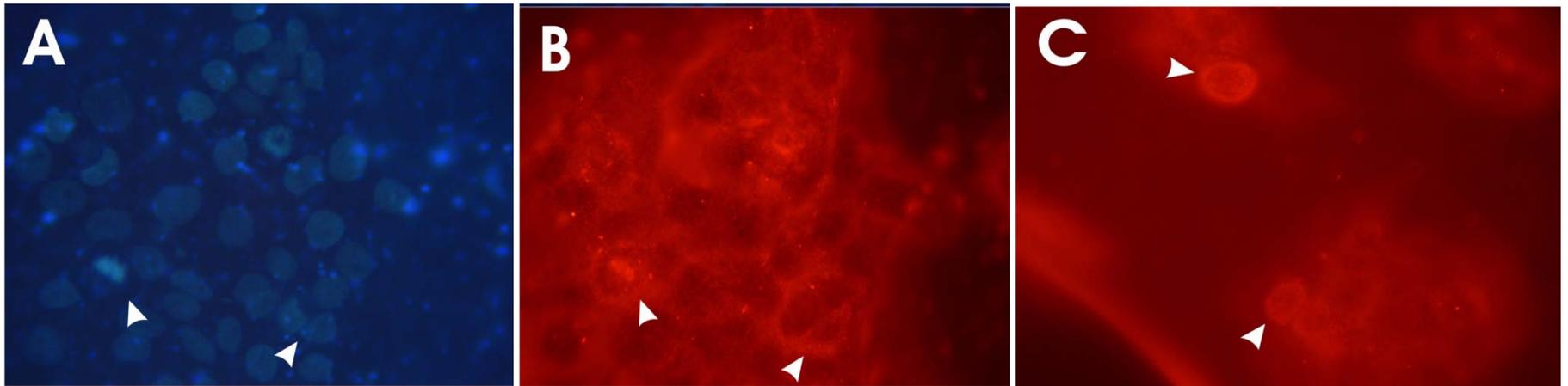
Ergebnisse

- Nachweis von **DNA Strangbrüchen** aufgrund ROS via Detektion abasischer Stellen



Ergebnisse

- **Lipidperoxidation:**



HaCaT (7 Gy): mAbRS17 spezifisch für 4-Hydroxy-2-Nonenal-Histidin Addukte.

(A) DAPI (B) sekundäre Ab-Fluoreszenz

(B) und (C) starke Fluoreszenz rund um den Zellkern

Zusammenfassung

- **SKIN:**

keine Änderung der Viabilität

keine detektierbaren ROS (GSH unverändert)

IL-1 β $\uparrow\uparrow\uparrow$, IL-6 \uparrow

keine Apoptose

G2-Arrest

Ergebnisse

- **BPH-1:**
stärkste Abfall der Viabilität, bei 1-3 Gy
Einsetzen d. Reparatur
nur geringer Anstieg b. Apoptose
G2-Arrest

Zusammenfassung

- **HaCaT:**

bei 1 Gy: relativ großer Schaden
(Überleben ↓ (Apoptose), Zytokine ↑, DNA
Schäden), nicht durch ROS hervorgerufen
(auch kein GSH ↑)

ab 3 Gy: Reparatur

Lipidperoxidation

D.h.: p53-Defizienz erhöht Apoptose (DNA-
Schäden, Lipidperoxidation)

Zusammenfassung

- **Allgemeine Effekte:**

Verringerte Überlebensrate und erhöhte Zytokin-Werte bei 1 Gy

Einsetzen von Reparatur ab 1 Gy

G2-Arrest

keine detektierbaren ROS

leichter Anstieg von GSH

„**Kranke**“ Zellen reagieren stärker (aufgrund DNA-Schäden und Lipidperoxidation)

Danksagung

Team AG Krammer, Universität Salzburg:

Prof. Dr. Barbara Krammer

B. rer. nat. Nicole Strobl

FOI Gastein