

# 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

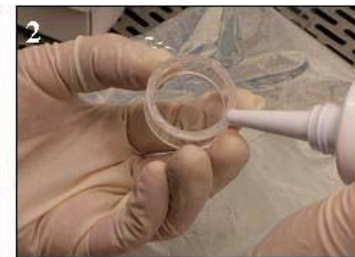
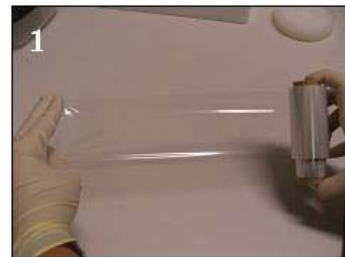
- Offenkundige klinische Wirkungen der Radontherapie (Erkrankungen d. Bewegungsapparates, Haut u. Atemwege)
- Zelluläre Wirkmechanismen größtenteils noch nicht aufgeklärt (v.a. immunologische Studien)

# 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 ( $^{241}\text{Am}$ )**  
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  $\mu\text{m}$ ) + Mylarfolie (6  $\mu\text{m}$ )

**ca. 3 mGy/s**

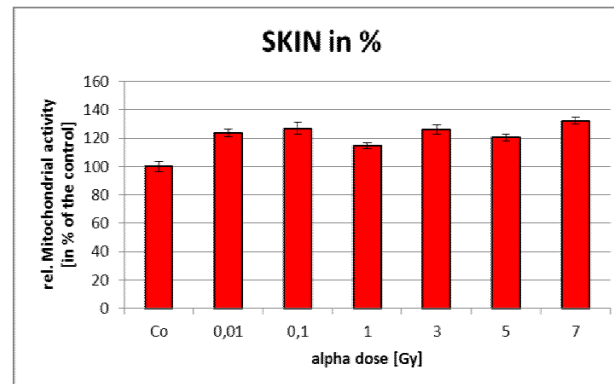
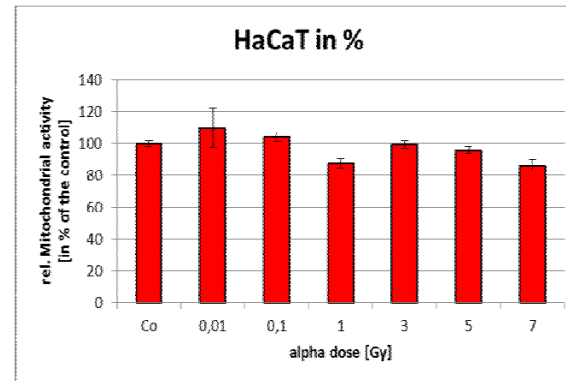
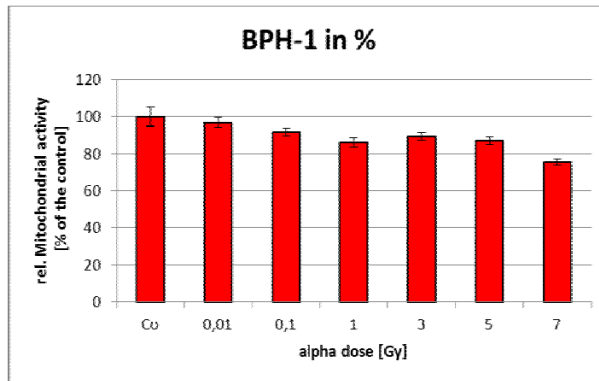
0,01Gy	→	3,3s
0,1 Gy	→	33s
0,6 Gy	→	3min 33s
1 Gy	→	5min 33s
3 Gy	→	16min 40s
5 Gy	→	27min 46s
7 Gy	→	38min 53s

# Material und Methoden

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

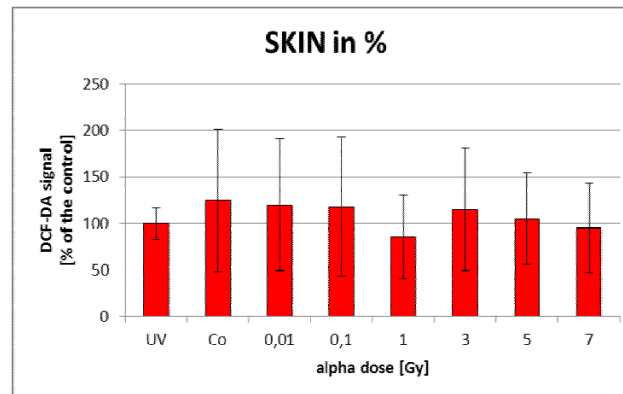
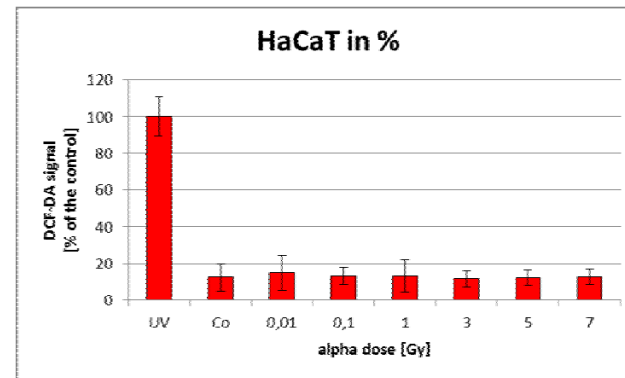
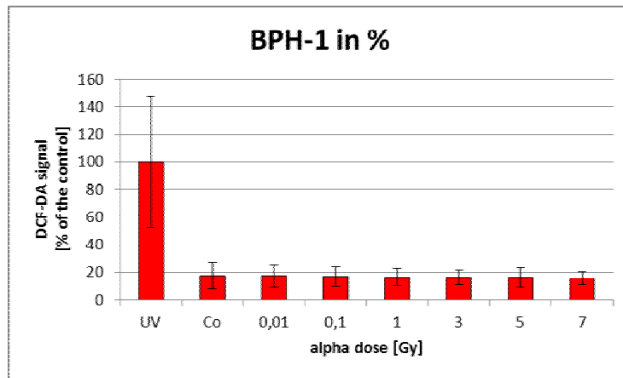
# Ergebnisse

- Zellviabilität  
via MTT-Assay



# Ergebnisse

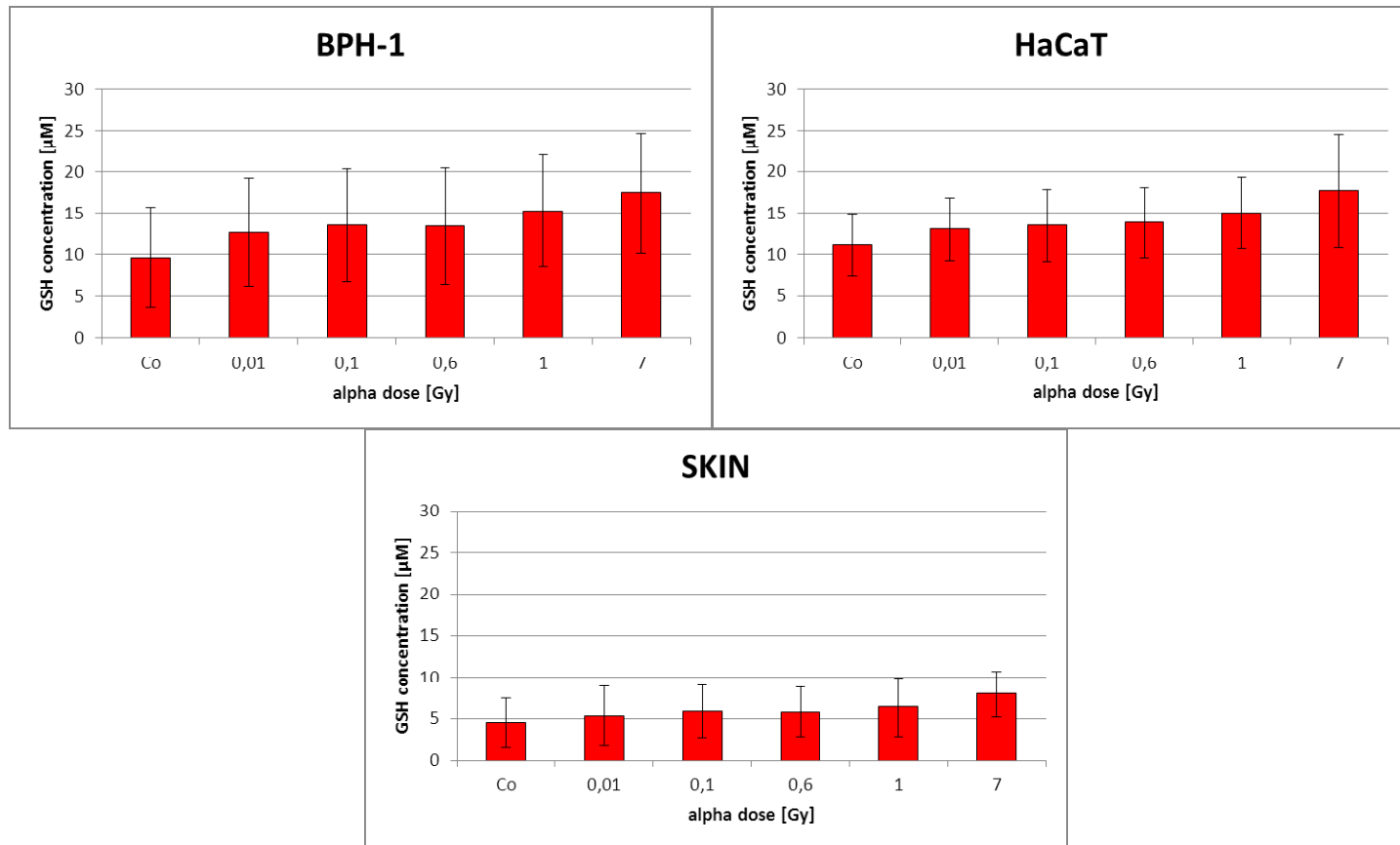
- Bestimmung intrazellulärer ROS mittels carboxy-DCF-DA





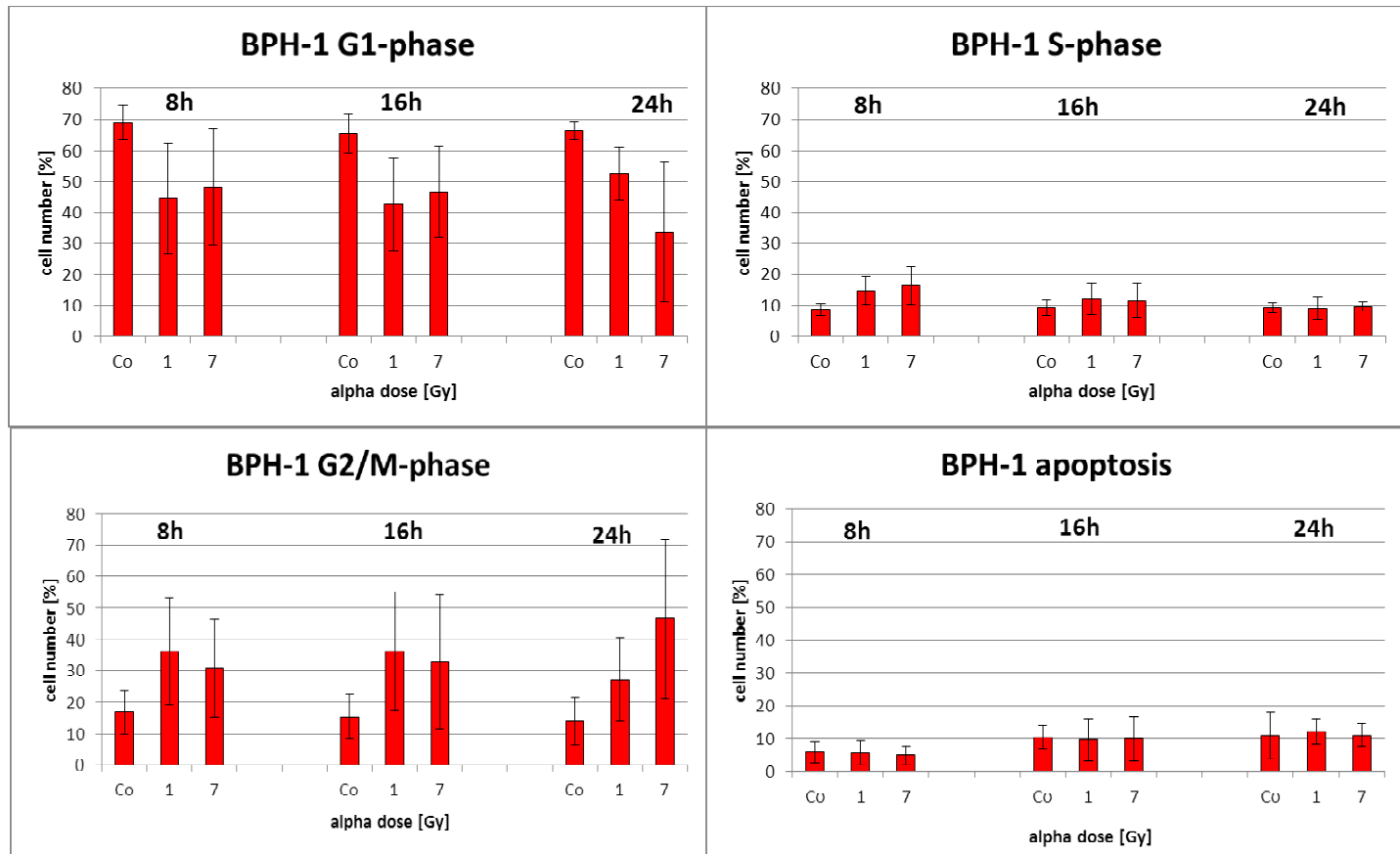
# Ergebnisse

- Glutathion-Bestimmung



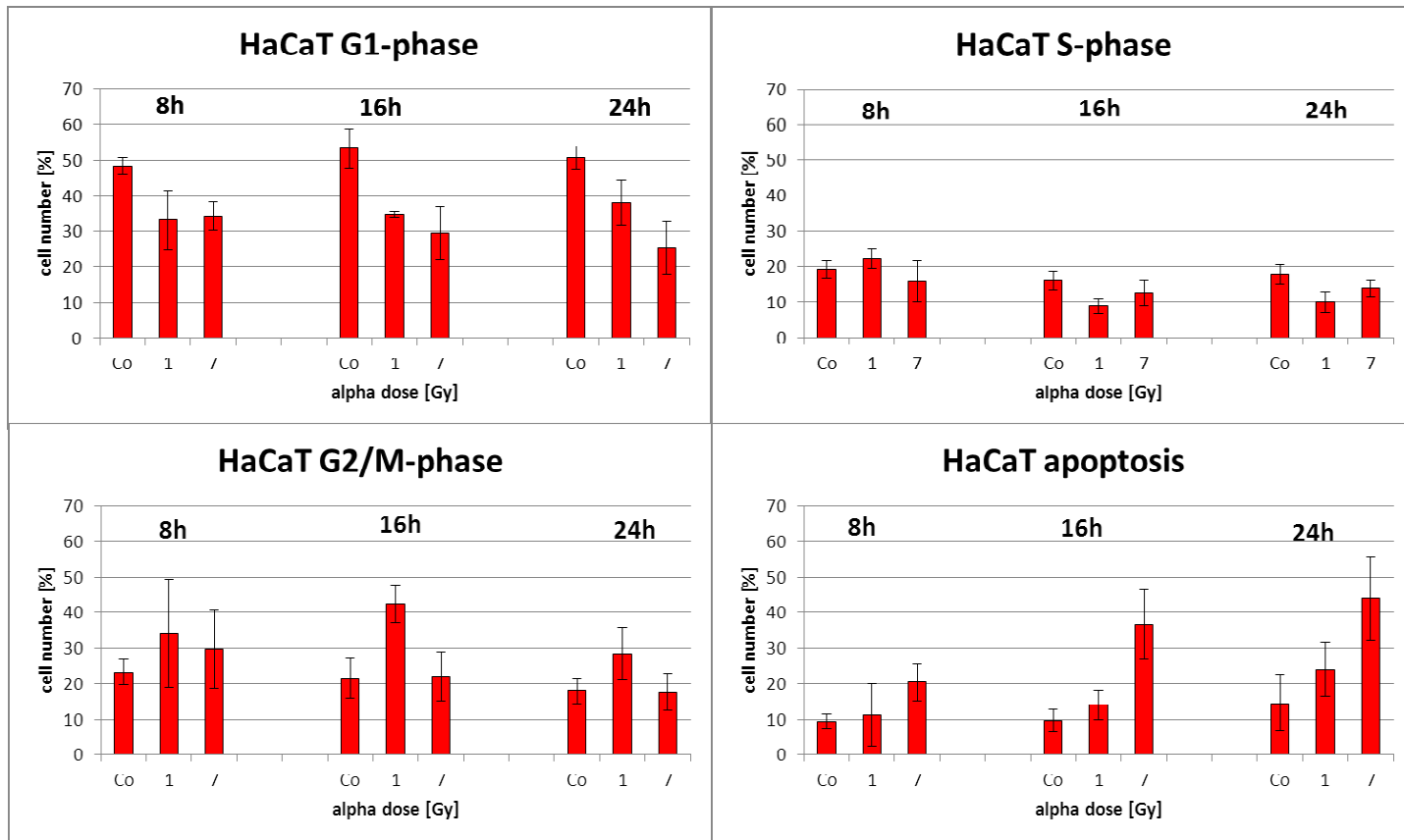
# Ergebnisse

- Zellzyklus / Apoptose BPH-1



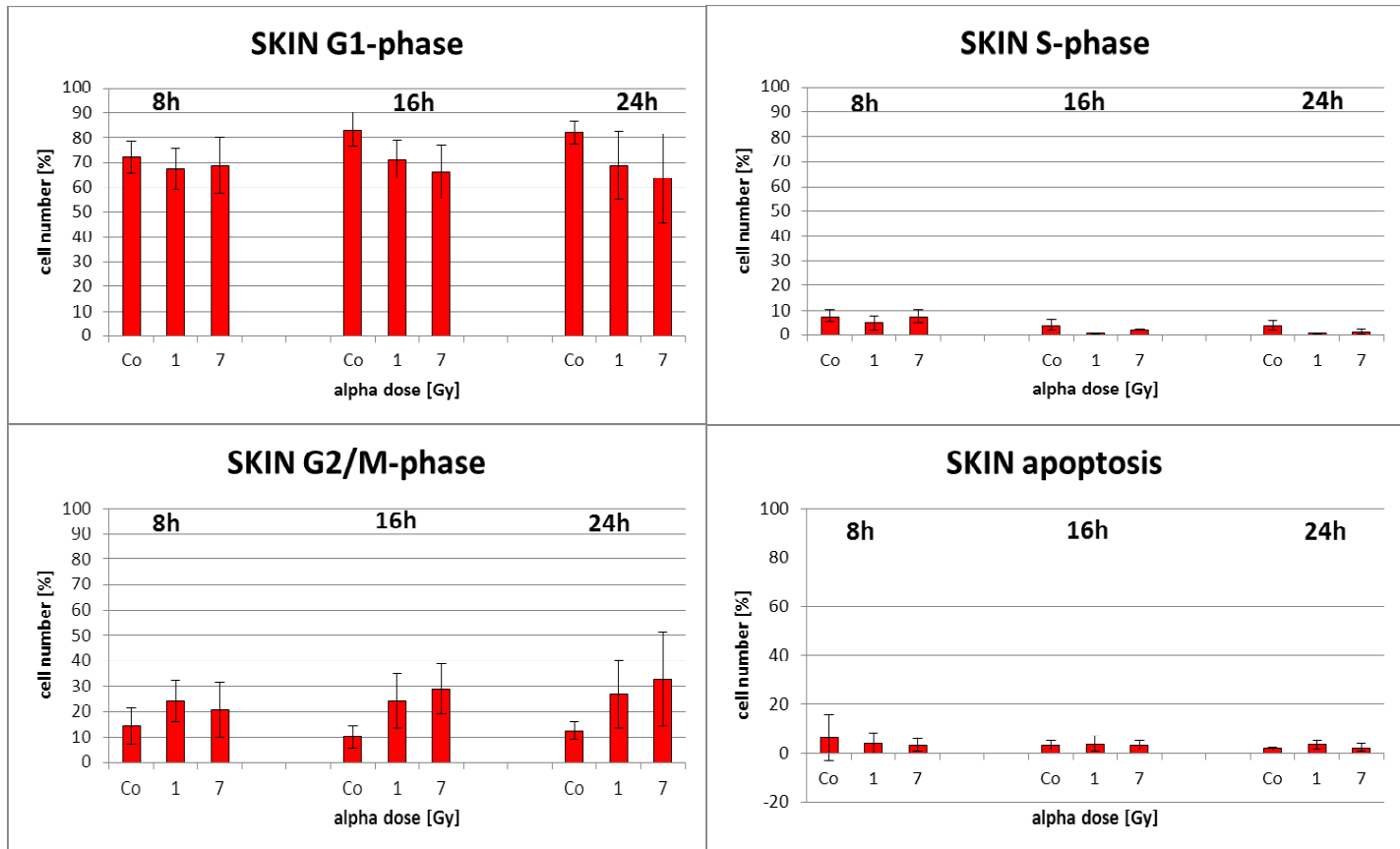
# Ergebnisse

- Zellzyklus / Apoptose HaCaT



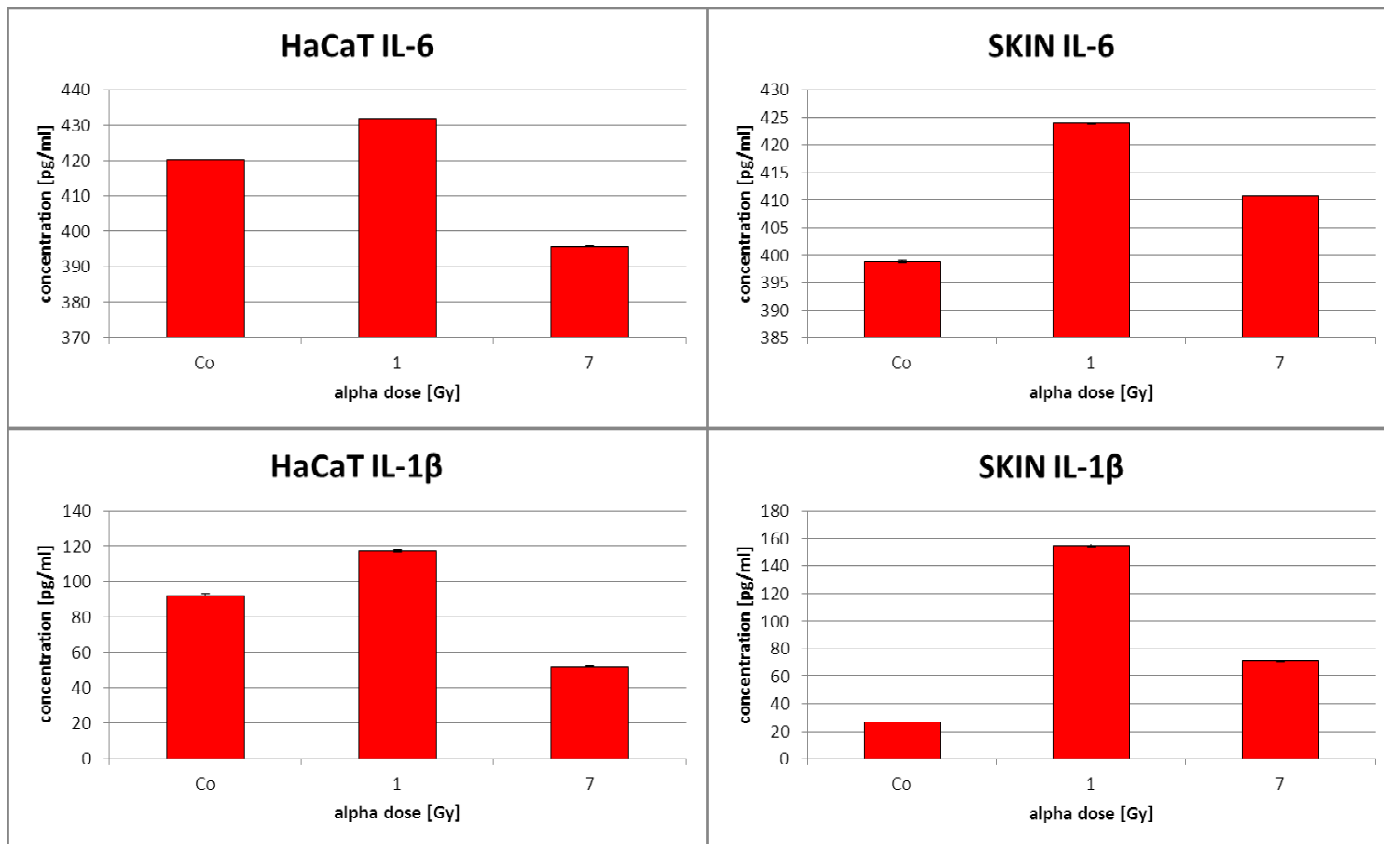
# Ergebnisse

- Zellzyklus / Apoptose SKIN



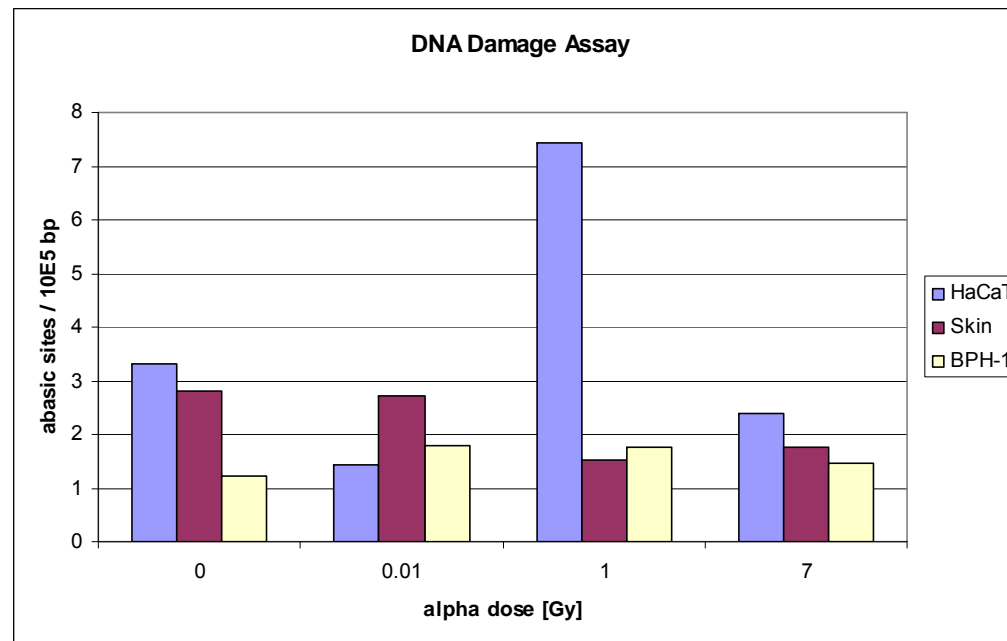
# Ergebnisse

- Zytokin-Aktivierung: TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$



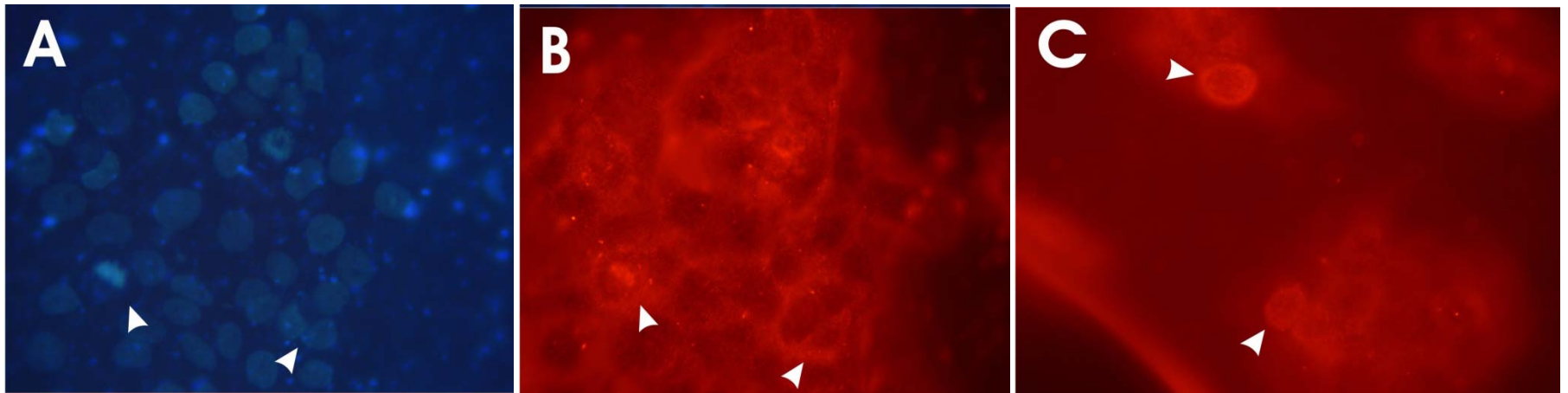
# Ergebnisse

- 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 $\beta$   $\uparrow\uparrow\uparrow$ , 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