

Påverkar de senaste rönen inom strålningsbiologin vår bedömning av hälsorisker?

Eva Forssell-Aronsson

Avd för Radiofysik, Göteborgs Universitet

Medicinsk Fysik och Teknik, Sahlgrenska Universitetssjukhuset

Röntgenveckan 130903

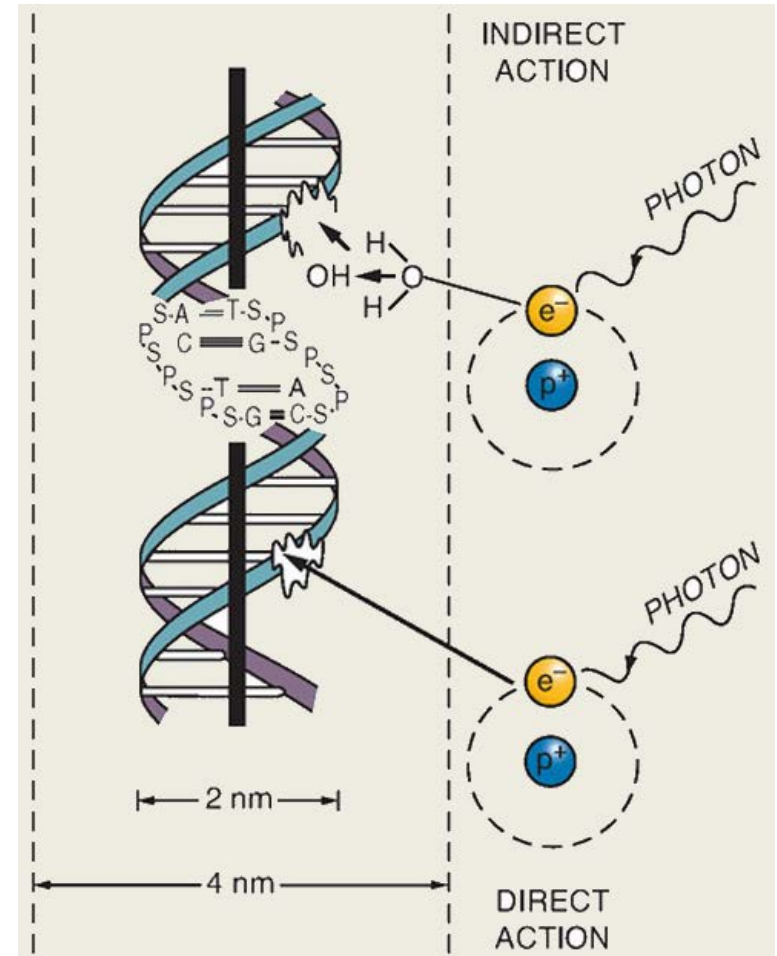
Sahlgrenska akademin



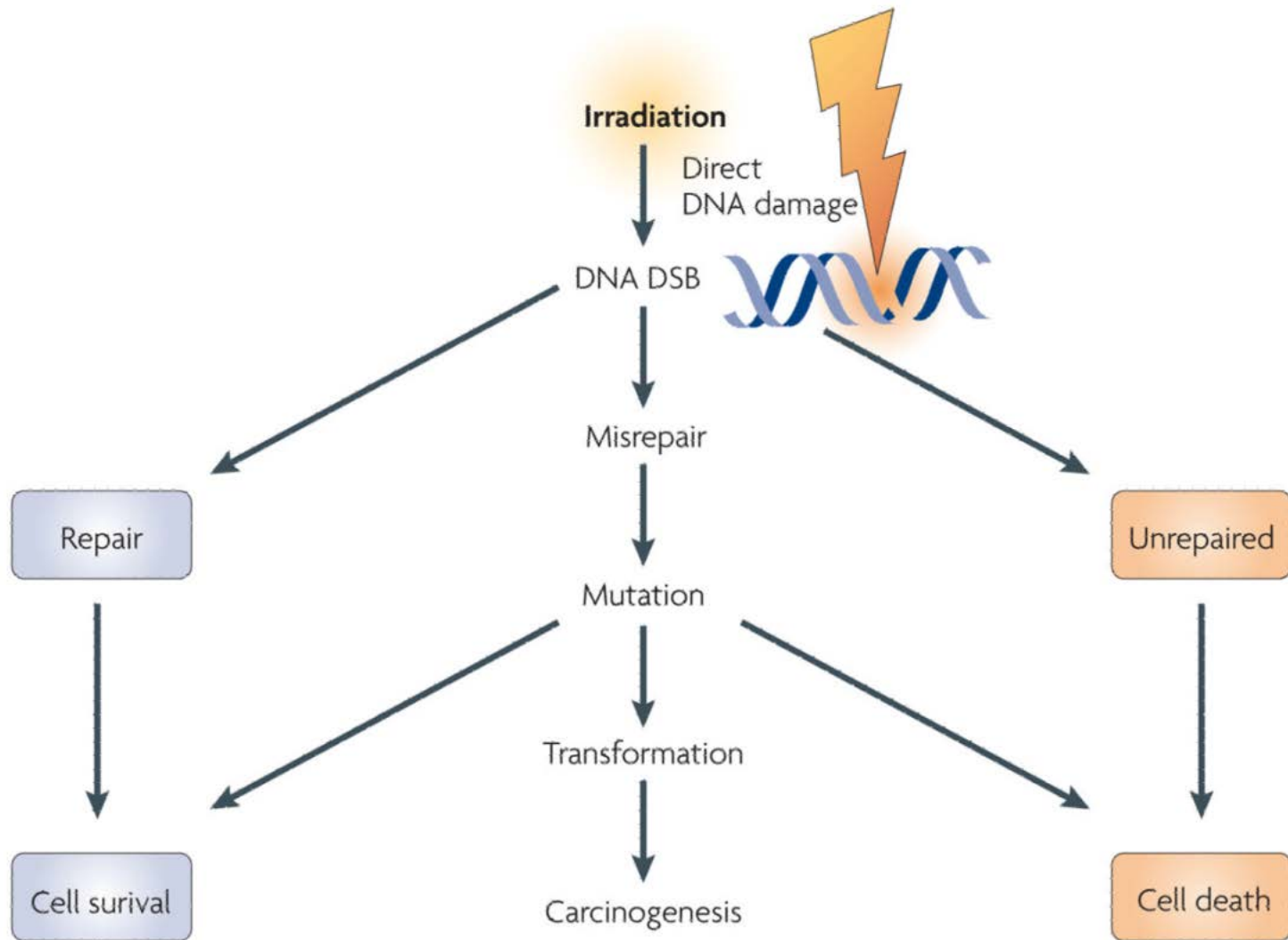
GÖTEBORGS UNIVERSITET

Klassisk radiobiologi

- Joniserande strålning orsakar DNA-skador genom
 - Direkt effekt (dominerar för partiklar)
 - Indirekt effekt via fria radikaler (dominerar för fotoner)
- Bas för vår förståelse av strålningens effekter
 - Strålskydd
 - Dosplanering vid strålterapi
- Bas för **target-effekt**-modeller



Standardmodell vid direkt DNA-skada



Nytt strålningsbiologiskt paradigm

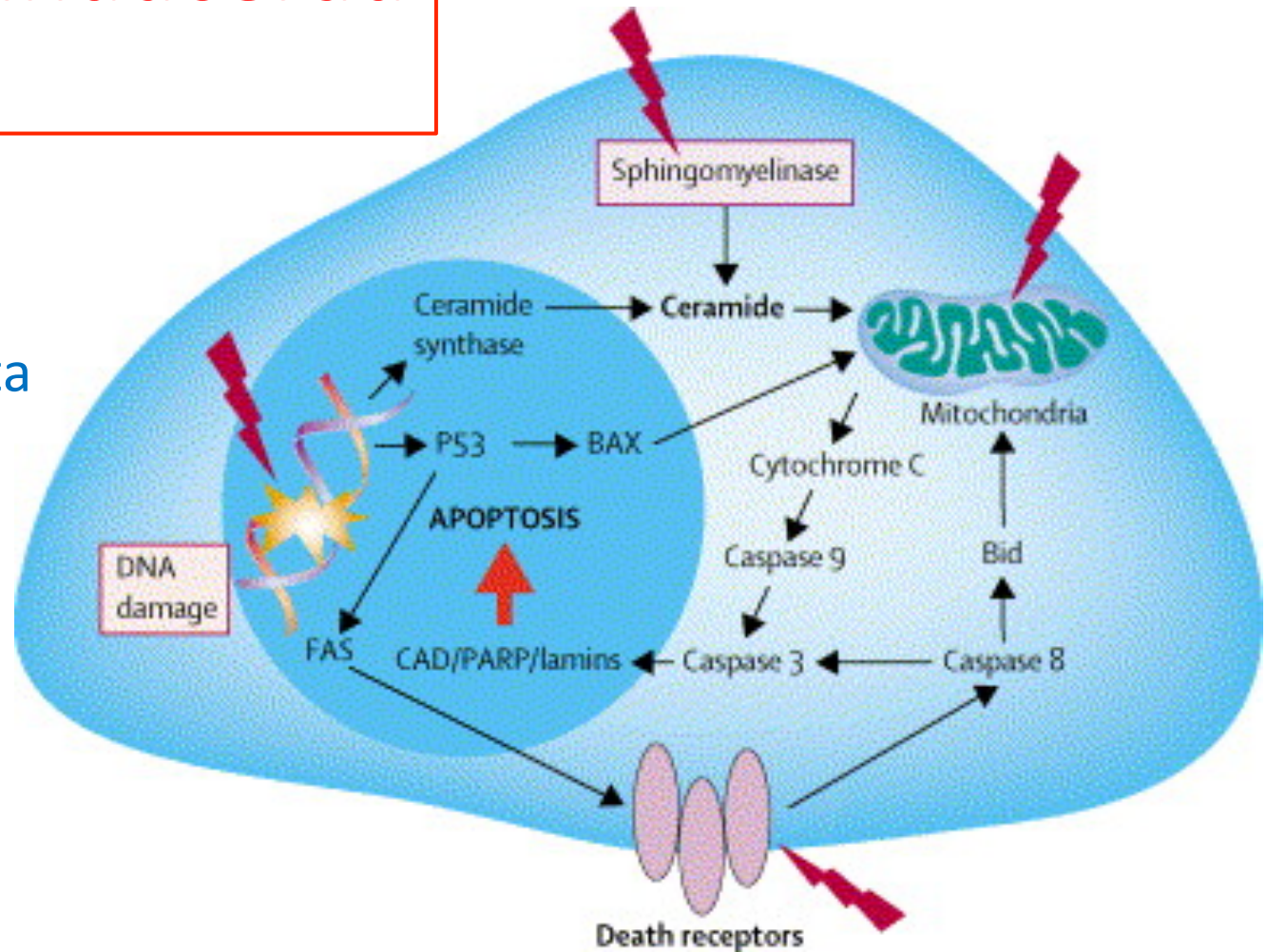
Klassiska strålningsbiologiska paradigmet (DNA-baserat) bör kompletteras med **non-targeted effects (bystander-effekter)**:

- Signalvägar som ej beror av DNA-skada
- Membran-medierad signalering
- Abscopal effects
- Genomisk instabilitet
- Adaptiv respons
- Hypersensitivitet vid låga doser/dosrater
- Invers dosrat-effekter
- Lågdosrat-effekter...

Strålningsinducerad apoptos

DNA och
membraner är
targets för att starta
apoptos

Ceramide är en
secondär
messenger som
kan vara viktig



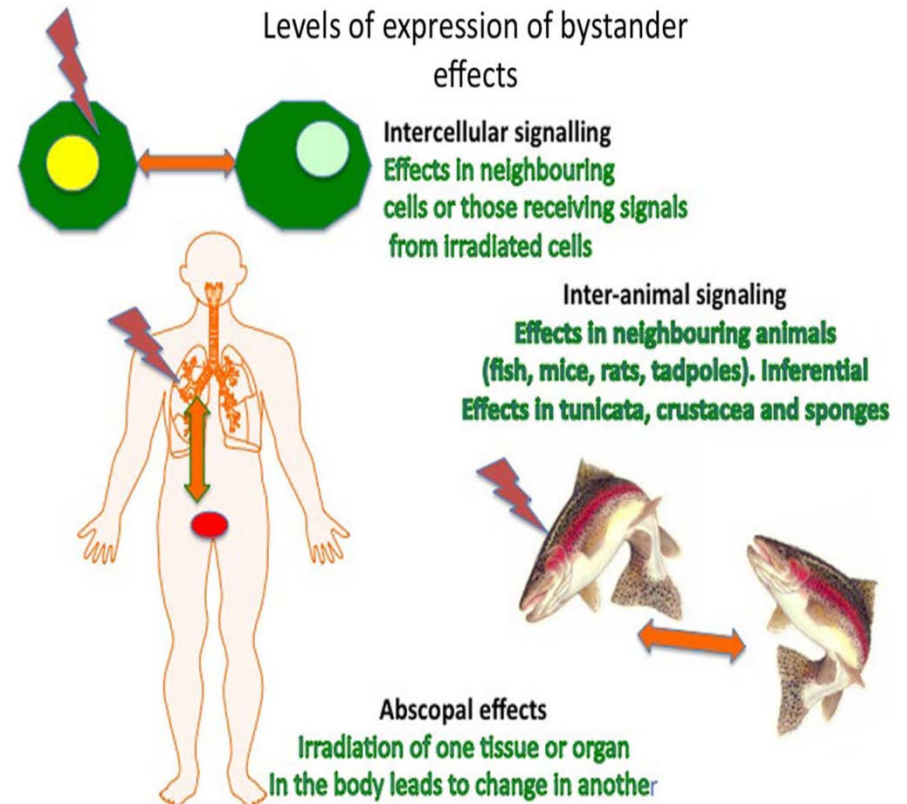
CAD=caspase-activated DNase
PARP=poly(ADP-ribose) polymerase

Prise et al. Lancet Oncol 2005

Bystander-effekter – Uttrycks på olika nivåer

Definition

Strålningsinducerade effekter i celler i ett organ eller i en organism som inte direkt exponerats för strålning



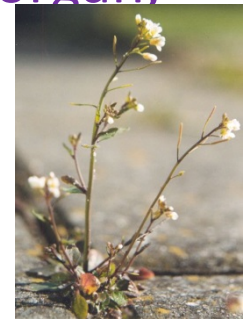
Bystander effects - modeller

- ***In vitro*-modeller**

- Singelceller (oftast: lymfocyter, fibroblaster, endotelceller, tumörceller)
- 2D monolager
- 3D modeller (cell-cell-kommunikation and samverkan med extracellulär matrix)

- ***In vivo*-modeller** (hela organismer, delar av kroppen, organ, cellgrupper, specifika celler)

- *Arabiopsis thaliana* (backtrav)
- *Bombyx mori larvea* (silkesmask)
- *C. elegans* (nematod)
- Mus
- Råtta
- **Människa**



Bystander effects - bakgrund

- Har dokumenterats i olika biologiska system
- Har påvistas sedan 1915
 - Murphy and Norton. *The effect of x-ray on the resistance to cancer in mice. Science* 42, 842–843, 1915
 - Murphy *et al.* Studies on X-ray effects. IX. *The action of serum from X-rayed animals on lymphoid cells in vitro. J Exp Med* 35: 373-384, 1922
- Mekanismerna är fortfarande inte helt kända
- På senare tid i fokus för intensiv forskning för att klargöra involverade mekanismer

Bystander- effekter *in vivo* (end-points)

Bystander-celler får liknande typer av DNA-skador som direkt bestrålade celler

Skadande effekter:

- DNA-skada, DNA-SSB, DNA-DSB, kromosomaberrationer, mutationer
- Genomisk instabilitet
- Effekter på gen- och proteinuttryck
- Epigenetiska förändringar, t ex förlust av DNA-metylering
- Malign celltransformering, carcinogenes
- Cytotoxicitet, celldöd

Skyddande effekter:

- Adaptiv respons
- Apoptos, mikrokärnor
- Effekter på gen- och proteinuttryck
- Terminal differentiering

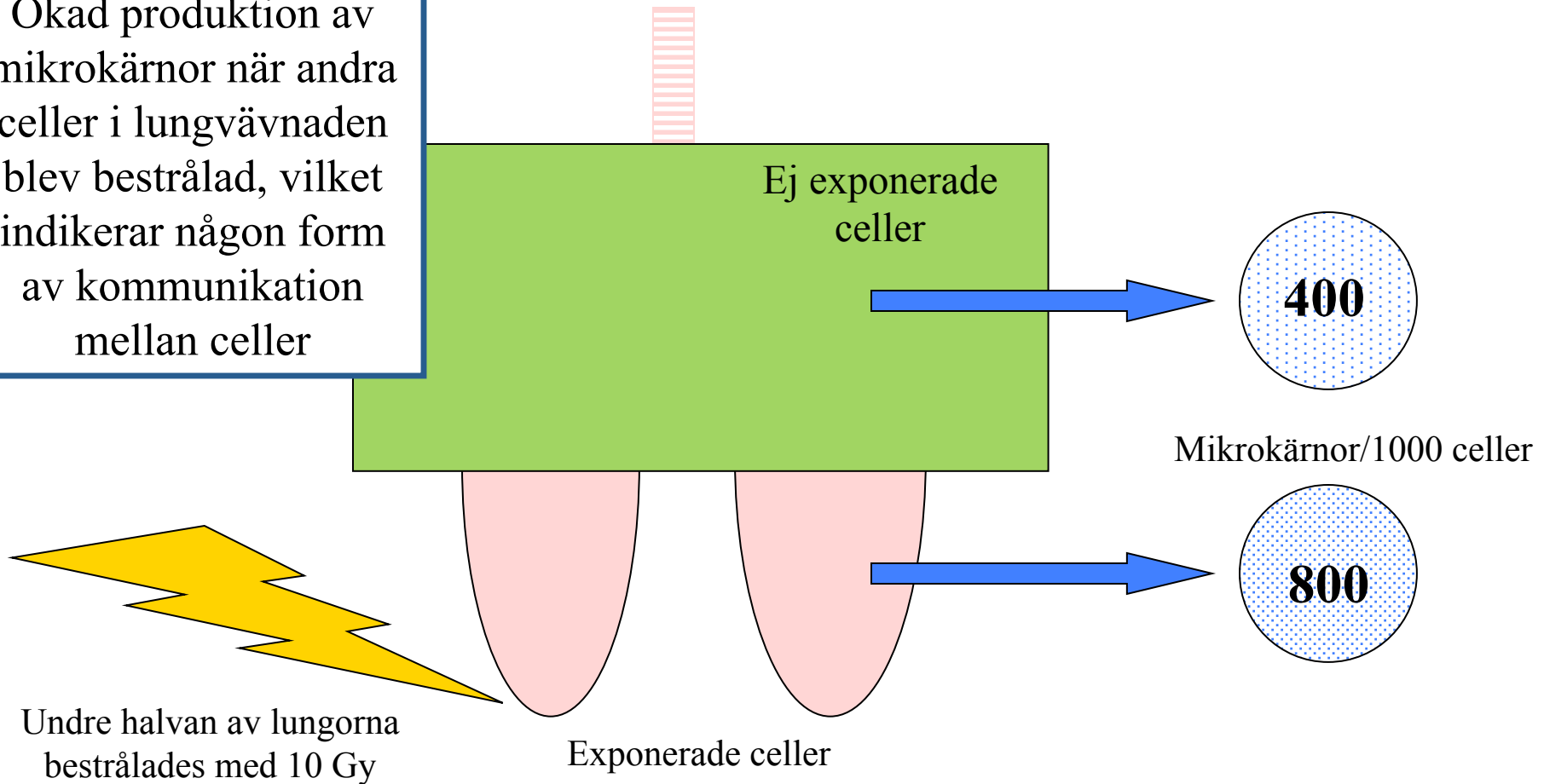
Bystander -effekter efter lågdos-exponering (t ex DNA-förändringar och genomisk instabilitet) kan överföras till celler många generationer efter bestrålning

Bystander-effekter *in vivo* - exempel

- Produktion av klastogena faktorer i serum från bestrålade personer, ger cellskada i lymfocyter (både *in vitro* och *in vivo*)
- Ex Japan: överlevare efter A-bomb,
 - fick blod-transfusion från sin syster
 - senare upptäcktes kromosomaberrationer i de donerade lymfocyterna
- Klastogena faktorer: superoxid, produkter från lipidperoxidering, cytokiner

Kommunikation påverkar frekvens av strålnings-inducerade mikrokärnor i lunga i råtta

Ökad produktion av mikrokärnor när andra celler i lungvävnaden blev bestrålad, vilket indikerar någon form av kommunikation mellan celler

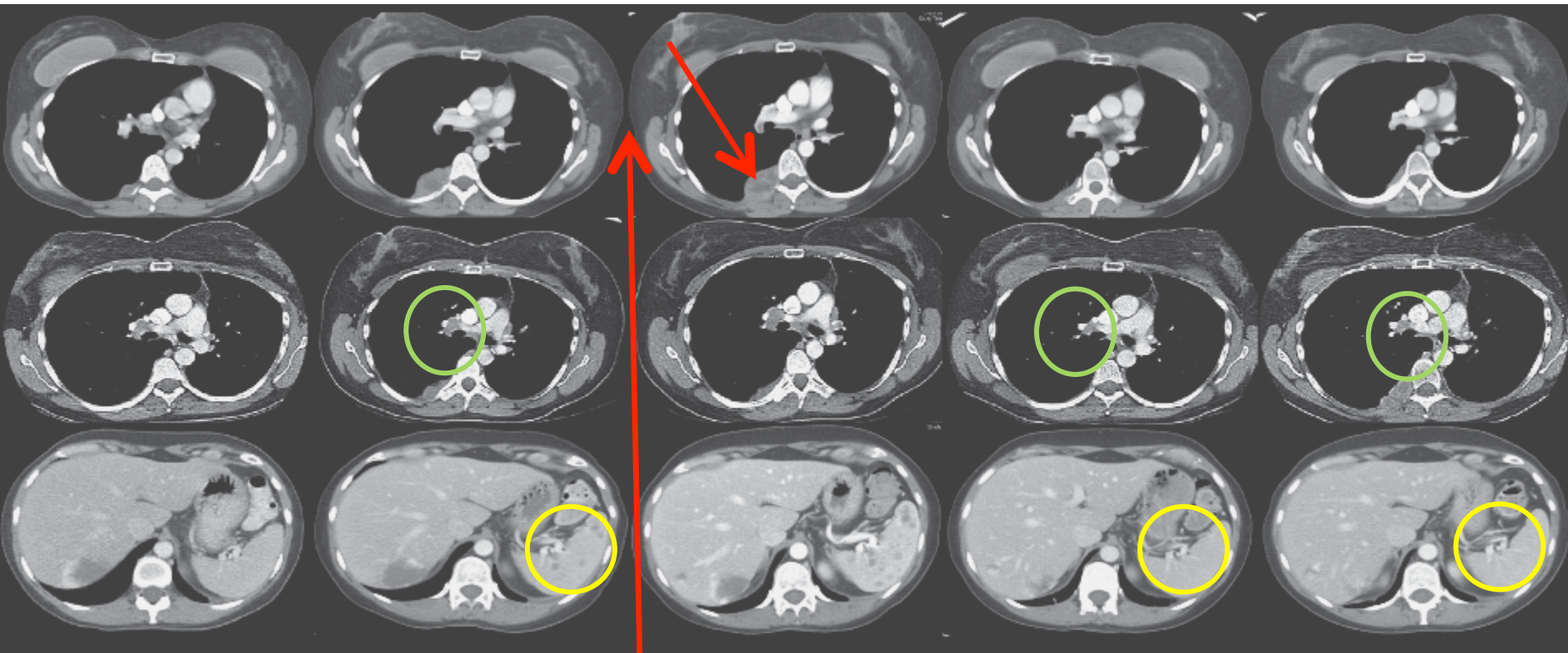


Khan et al 1998

Abscopal (out-of-field) effects

- Fenomen där
 - Lokal bestrålning av en **tumör** orsakar volymsreduktion av tumörer långt från den bestrålade regionen
 - Lokal bestrålning av en **vävnad** orsakar volymsreduktion av tumörer långt från den bestrålade regionen
- Har rapporterats sedan ca 1950
- Dessa fenomen är troligtvis sällsynta
- För patienter, ofta beskrivet som fallrapporter
- Abscopal effects kan vara stora, och leda till att tumörer försvinner i hela kroppen
- Har beskrivits för, t ex malignt melanom, lymfom, levercancer, cervixcancer och njurcancer

Exempel: Melanom



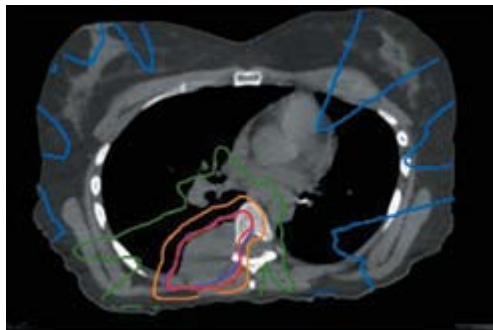
Augusti 2009

November 2010

Januari 2011

April 2011

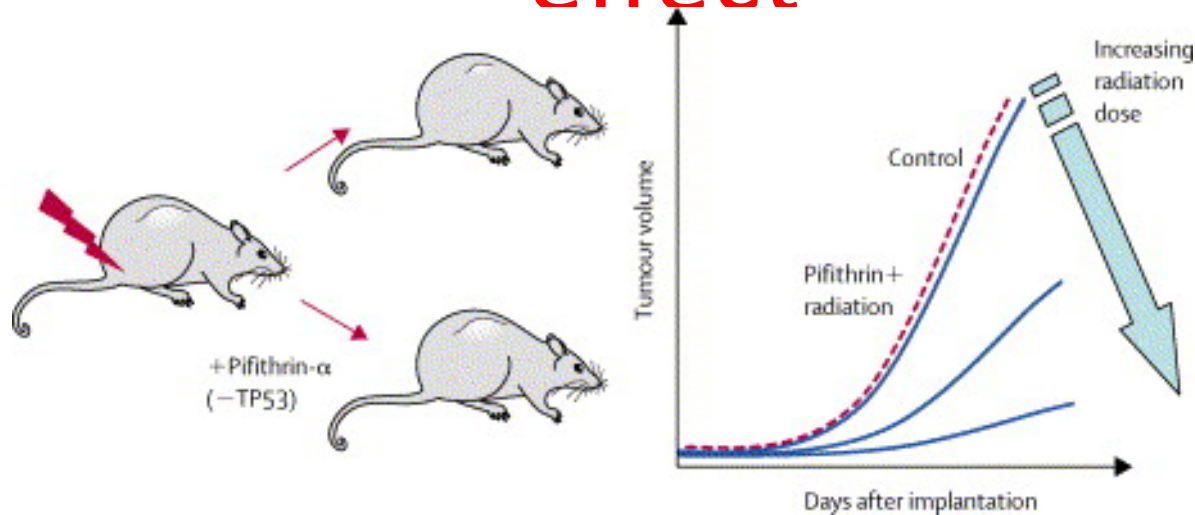
Oktober 2011



Strålbehandling
December 2010

Postow et al. NEJM 2012

Strålningsinducerad abscopal effect



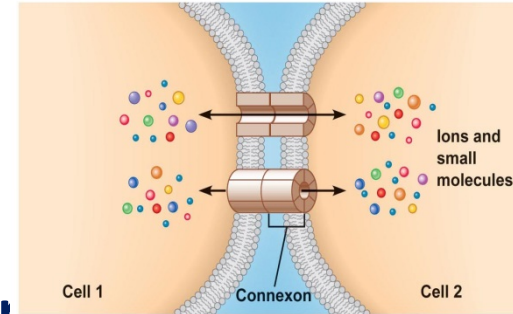
- Möss med transplanterade tumörer på ryggen
- Lokal bestrålning av ett ben långt från tumören
- Reducerad tumörvolym
- Ökad effekt med ökad absorberad dos
- Beror av P53 (Behandling med P53-hämmare minskade responsen)

Bystander-effekter

Förklaringar/mekanismer

- **Gap junction=nexus (celler med direkt kontakt)**

- Flöde mellan intilliggande celler av små molekyler (1000-1500 Da), t ex Ca^{2+} , nukleotider, peptider, second messengers
- Huvudsakliga mekanismen inom ett organ?



(a) Direct communication through gap junctions
© 2011 Pearson Education, Inc.

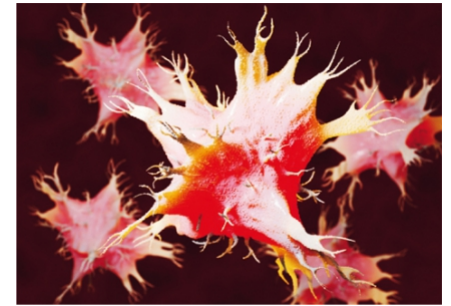
- **Medieras via (utsöndrade) lösliga molekylfaktorer**

- **Stora molekyler** (1000-10000 Da), t ex ROS, lipidperoxidas-produkter och cytokiner (IL-1, IL-6, $\text{TGF}\beta$, $\text{TNF}\alpha$)
- **Makrofager** kan vara källan till signaler via cytokinproduktion

Abscopal effects

Föreslagna förklaringar/mekanismer

- Förslag:
 - Aktivering av immunförsvaret (T- och dendritceller)
 - Inflammatoriska mediatorer och dendritcellaktivering
 - Induktion av antigenkaskad (antikroppar riktade mot tumörceller, T-celler)
- Immunsystemet kan döda cancerceller. MEN, tumörceller kan döda lymfocyter, t ex via fria radikaler. Om tumörceller dödas kommer immunsystemet att stärkas och kan döda nya tumörceller....

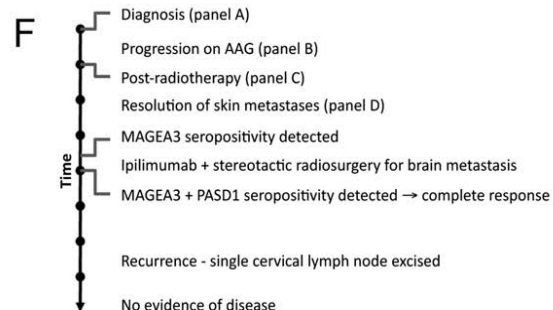
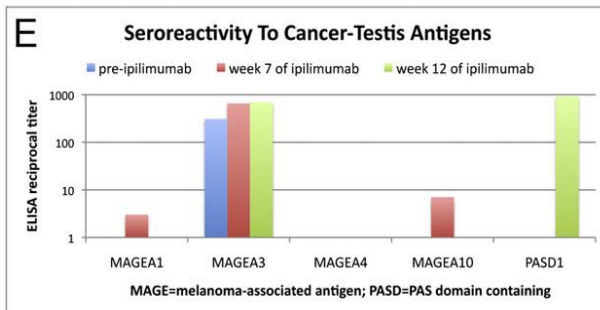


Palliativ strålbehandling mot primärt melanom



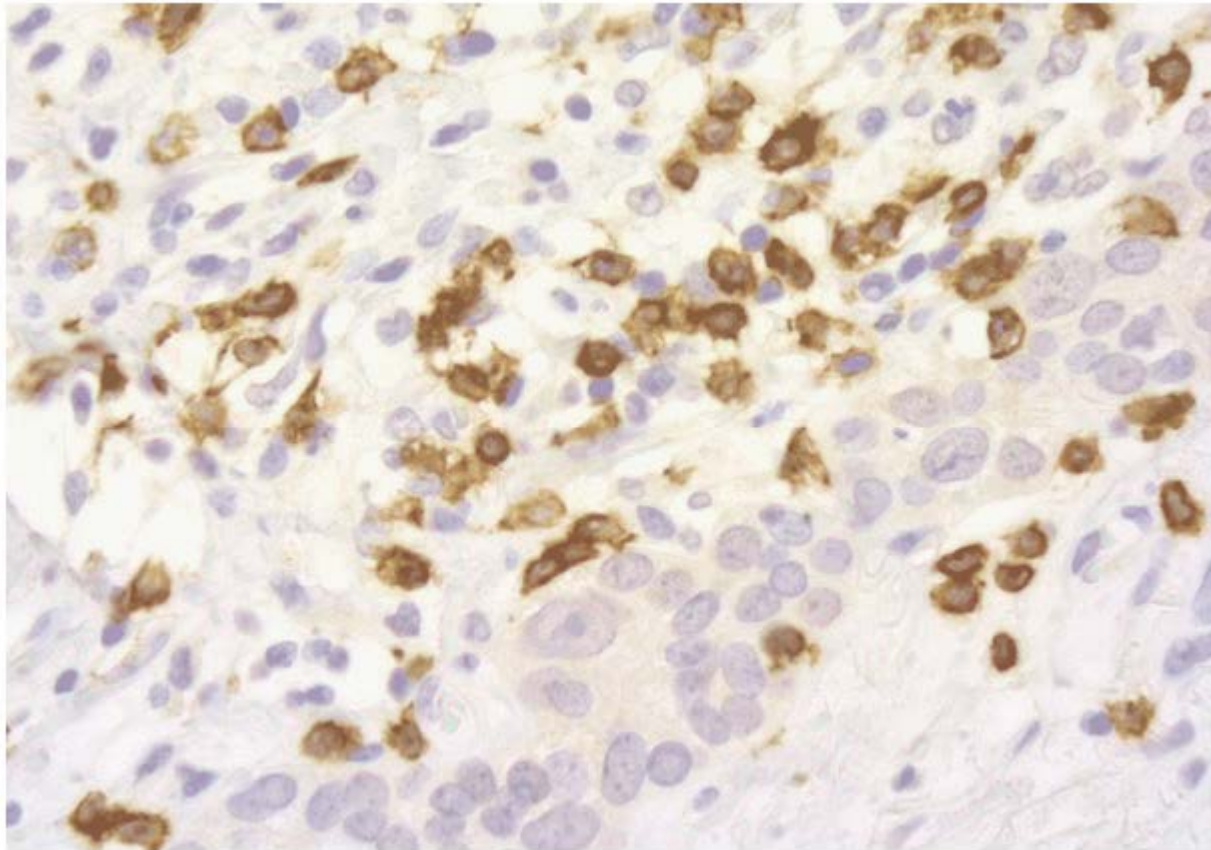
Regress av obestrålade tumörer, vilket visar på abscopal effect

Serologi visade anti-MAGEA3 antikroppar (autoantikroppar mot melanomantigen A3), Dvs ett systemiskt antitumör-immunsvar



Stamell et al. IJROBP 2012

Cytotoxiska T-lymfocyter (bruna) infiltrerar kvarvarande bröstcancer efter strålbehandling



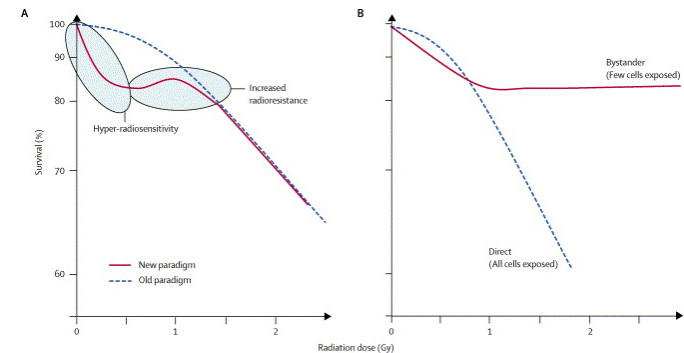
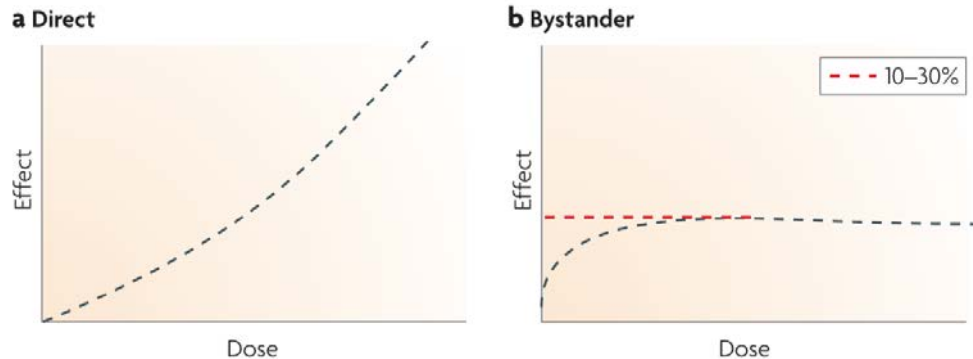
Formenti and Demaria, Lancet Oncol 2009

Faktorer som påverkar bystander-effekter

- LET ?
 - Hög-LET (få celler träffade)
 - Beror av cellkommunikation och gap junctions
 - Beror på D till targetcellerna
- D ?
- Dosrat ?
- Strålkänslighet ?
 - (target- och non-target-celler/vävnader)

Effekt av D ? Hypoteser

- Bystander-svar mättas vid ca $D > 1$ Gy
- Vid mättnad uppträder inga ytterligare effekter
- För en viss effekt (end-point) svarar inte alla celler med BE
- Binärt svar föreslås (enkelt on-off respons)
- Vid låga D: i vissa system är BE lika eller mer effektiv än direkt respons
- Kan spela signifikant roll även vid höga D (> 10 Gy)



Hyper-radiosensitivity

Prise et al. Lancet Oncol 2005
Prise and O'Sullivan, Nat Rev 2009

Signaleringsvägar vid strålningsinducerade bystander-effekter

External activation via

Cytokines

- Interleukines
- $\text{TNF}\alpha$, $\text{TGF}\beta$
- Death receptors

Pathways activated

ATM

AKT

IKK-NF- κB ,

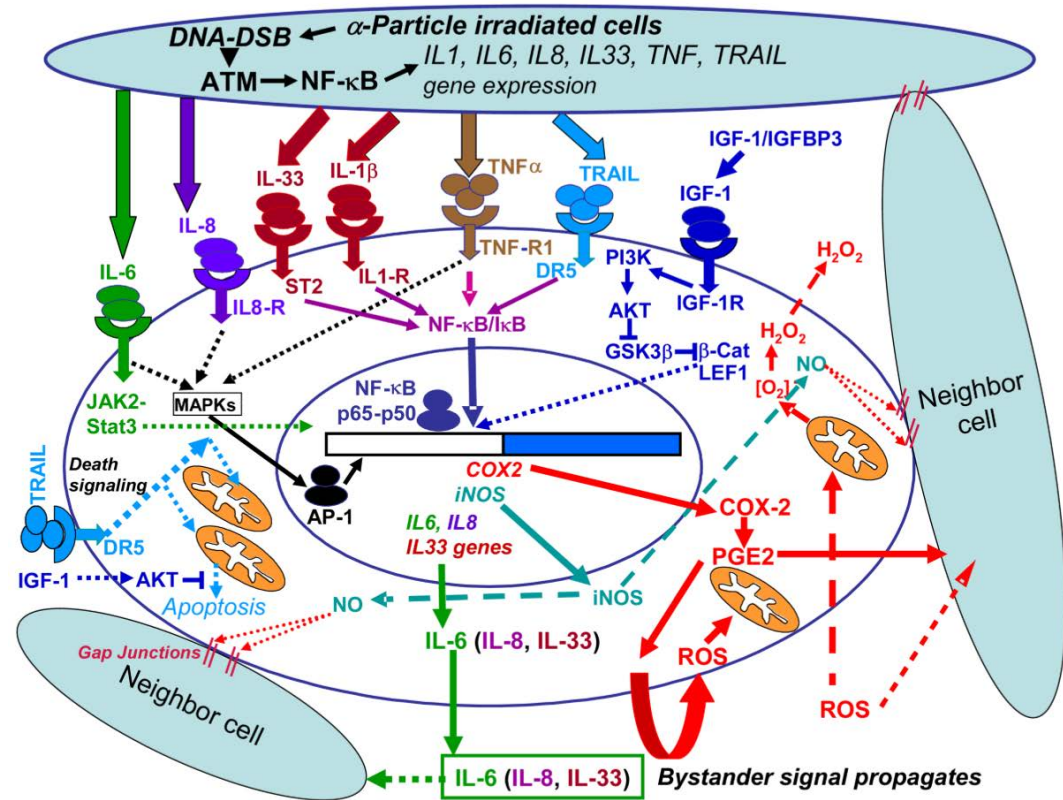
JAK2-STAT3

NF- κB (cytokines and COX2)

MAPK (cytokines, COX2, iNOS)

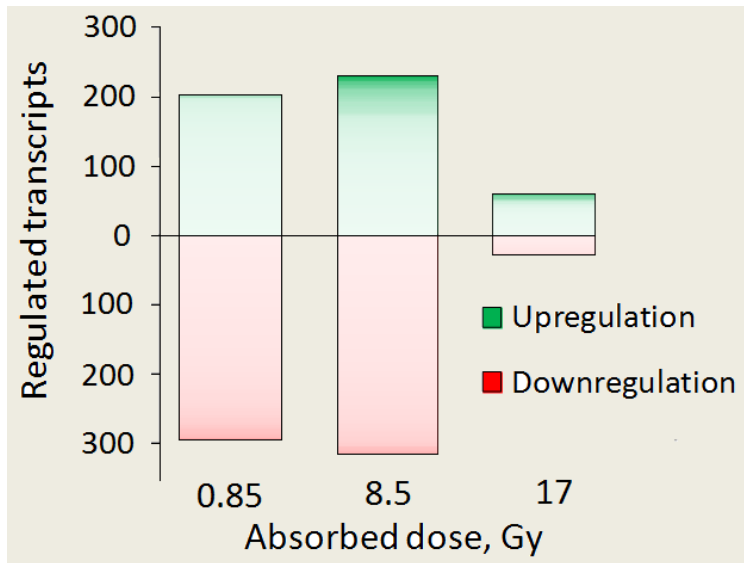
IGF-1 activation of PI3K-AKT

.....

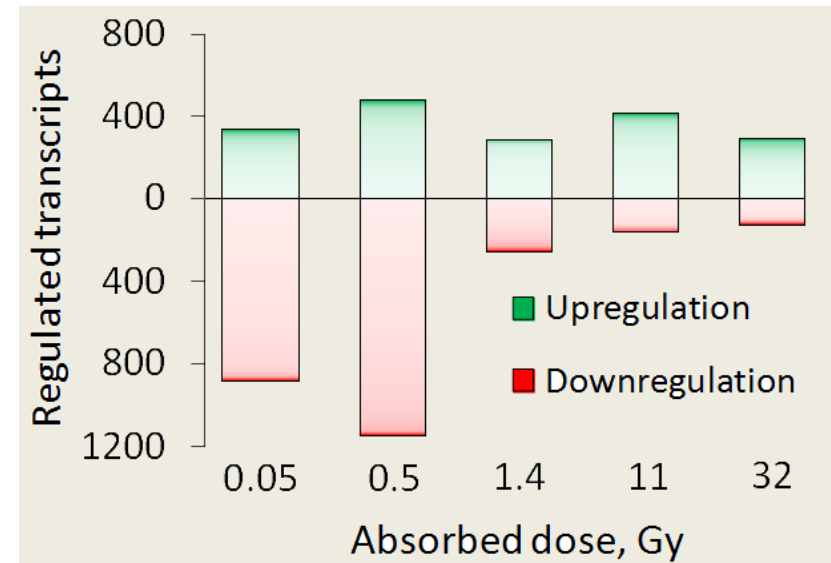


Effekter på genuttryck hos thyroideavävnad i mus

OBS! Olika skalor



^{131}I



^{211}At

Rudqvist et al. EJNMMI Research 2012

Spelar bystander-effekter roll i praktiken?

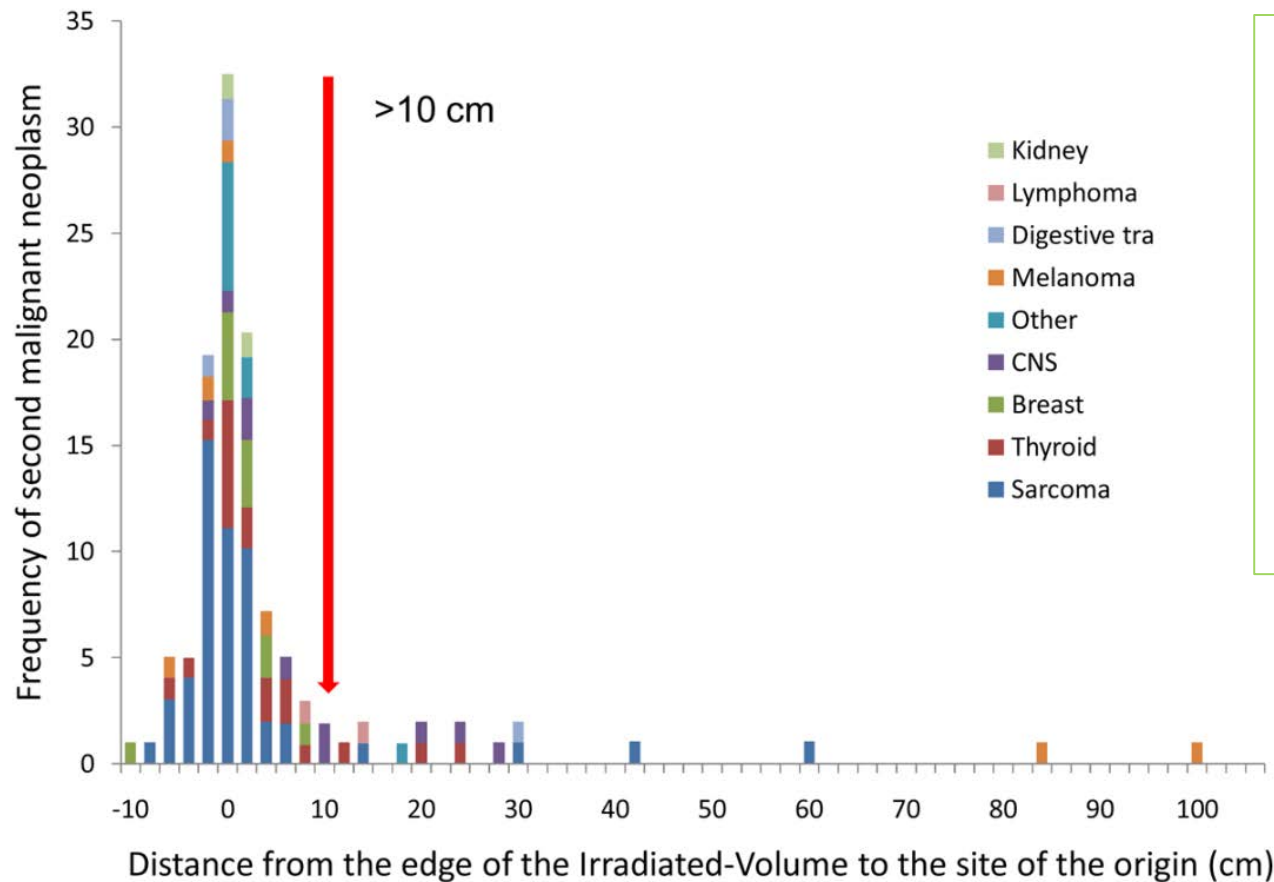
- Spekulationer rörande 3 situationer:
 - Strålningsinducerad cancer
 - Strålskador på frisk vävnad
 - Strålningsinducerad tumörcelldöd pga bystander-effekt
- Kan bystander-effekter (speciellt efter låga stråldoser) ge ökad cancerrisk?
- Kan kunskap om bystander-mekanismer visa nya potentiella targets för cancerbehandling? Kan detta öka tumörcell-död? Kan skydd av normalvävnaden öka?

Spelar bystander-effekter roll i praktiken?

1) Strålningsinducerad cancer (låga D)

- BE kan vara betydande vid låga doser (Rtg, CT, SPECT, PET)
- IMRT reducerar max D till frisk vävnad nära tumören, men ökar exponerade volymen av frisk vävnad (låga D)
- Spekulation: Dubbelt så stor risk för induktion av sekundär cancer hos patienter som botas/överlever strålbehandling, speciellt för yngre patienter

Induktion av sekundär cancer vs. avstånd från tidigare strålbehandlingsfält



Frekvens av sekundära primärtumörer hos 115/4581 barn tidigare strålbehandlade mot olika primära solida tumörer

Emerit et al. J Cancer Res Clin Oncol, 1994
Hei et al. Curr Mol Pharmacol, 2011

Spelar bystander-effekter roll i praktiken?

2) Strålskador på frisk vävnad

- Abscopal effects i t ex lungvävnad (höga D)
- Kan spela större roll i normalvävnad jämfört med tumörvävnad, pga direkta cell-cell-kontakter är färre/saknas i tumörvävnad
- Ytterligare studier (in vivo) krävs, speciellt vid låga D

Spelar bystander-effekter roll i praktiken?

3) Strålningsinducerad tumör celldöd pga bystander-effekter (hög D)

- **Extern strålbehandling:** D är tillräckligt hög så att BE inte är viktiga
- **Radionuklidterapi:** heterogen dosfördelning, delar av tumören kan få låg D, där BE kan spela roll
- **BNCT**
- **Strålbehandling med hög-LET:** Heterogen dosfördelning vid extern/radionuklidterapi, få celler träffade

Sammanfattning

- Direkt DNA-skada spelar en viktig roll för riskbedömning av strålning
- Non-targeted effects kan också påverka cellulärt svar
- Bystander-effekter kan antingen öka eller minska risken med strålning
- Mekanismerna för bystander effects är inte helt kända
 - En bättre **förståelse för mekanismerna** krävs för att uppskatta deras påverkan på riskbedömning, klinisk relevans och finna vägar att manipulera bystander-effekter
- Bystander –effekter har resulterat i ett stort paradigmskifte när det gäller kunskap om strålningens effekter på celler, vävnad och organismer
- **Strålningskänsliga targets vid dosuppskattningar** bör sannolikt inkludera andra tagrets förutom DNA/cellkärna: membraninnehållande cellorganeller, såsom mitokondrien, endoplasmatiskt retikel, cellmembranet, etc

Påverkar de senaste rönen inom strålningsbiologin vår bedömning av hälsorisker?

LNT-modellen vid låg D och dosrat (Little 2011)

- Epidemiologiska studier har inte påvisat högre **cancer-incidens** jämfört med LNT-modellen
- Inga bevis för icke-linearitet i **cancerrisk** som annars visats för non-DNA-targeted effects
- Osäkerhet kring **kardiovaskulär risk** (för litet studerat): Kan ej utesluta avvikelser från linearitet vid låga D pga non-DNA-targeted effects (**ateroskleros**)

**Påverkar de senaste rönen
inom strålningsbiologin
vår bedömning av hälsorisker?**

