

Moderne Beschleunigerkonzepte und ihre Anwendung in der Medizin

Mensch und Strahlung – Forschung an ELBE

Dr. Jörg Pawelke

15. Februar 2008



Forschungszentrum
Dresden Rossendorf

Interdisziplinäre Forschung

Ionisierende Strahlung



Energieübertrag auf den Menschen



Zellreaktion

- Erzeugung
- Charakterisierung

- Strahlungstransport
- Wechselwirkung von Strahlung und Mensch
- Dosimetrie

- Zellbiologische und molekularbiologische Methoden

Gliederung:

1. Einleitung
2. Grundbegriffe: Ionisierende Strahlung, Strahlendosis, RBW
3. Wirkung ionisierender Strahlung auf Zellen und deren Nachweis
4. Biologische Wirksamkeit von Photonenstrahlung
5. Strahleninduzierte DNS-Schäden und deren Reparatur
6. Biologische Wirkung ultrakurzer Strahlpulse

Künstliche Erzeugung von Strahlung – Einsatz in der Medizin



Wilhelm Conrad Röntgen



Hand mit Schrotkörnern



Beseitigung eines behaartes Muttermals (Freund)

8. November 1895: **Entdeckung der Röntgenstrahlen** bei Gasentladungsexperimenten.

Enthusiastische Resonanz fanden die neuen Strahlen **in der Medizin für diagnostische Zwecke**.

Sehr schnell rückte aber auch die **biologische Wirkung dieser Strahlen** in den Blickpunkt (Haarausfall, Hautschäden) und bereits 1896 erfolgten **erste therapeutische Einsätze** mit Röntgenstrahlen (z.B. L. Freund in Wien, Nov. 1896).

■ Diagnostik

- Röntgen-Durchleuchtung, (Röntgen-) Computertomographie, Nuklearmedizin
- Gewinnen von Informationen über den Zustand des Patienten
- Bestrahlung von gesundem Gewebe bei Einsatz einer möglichst kleinen Strahlendosis

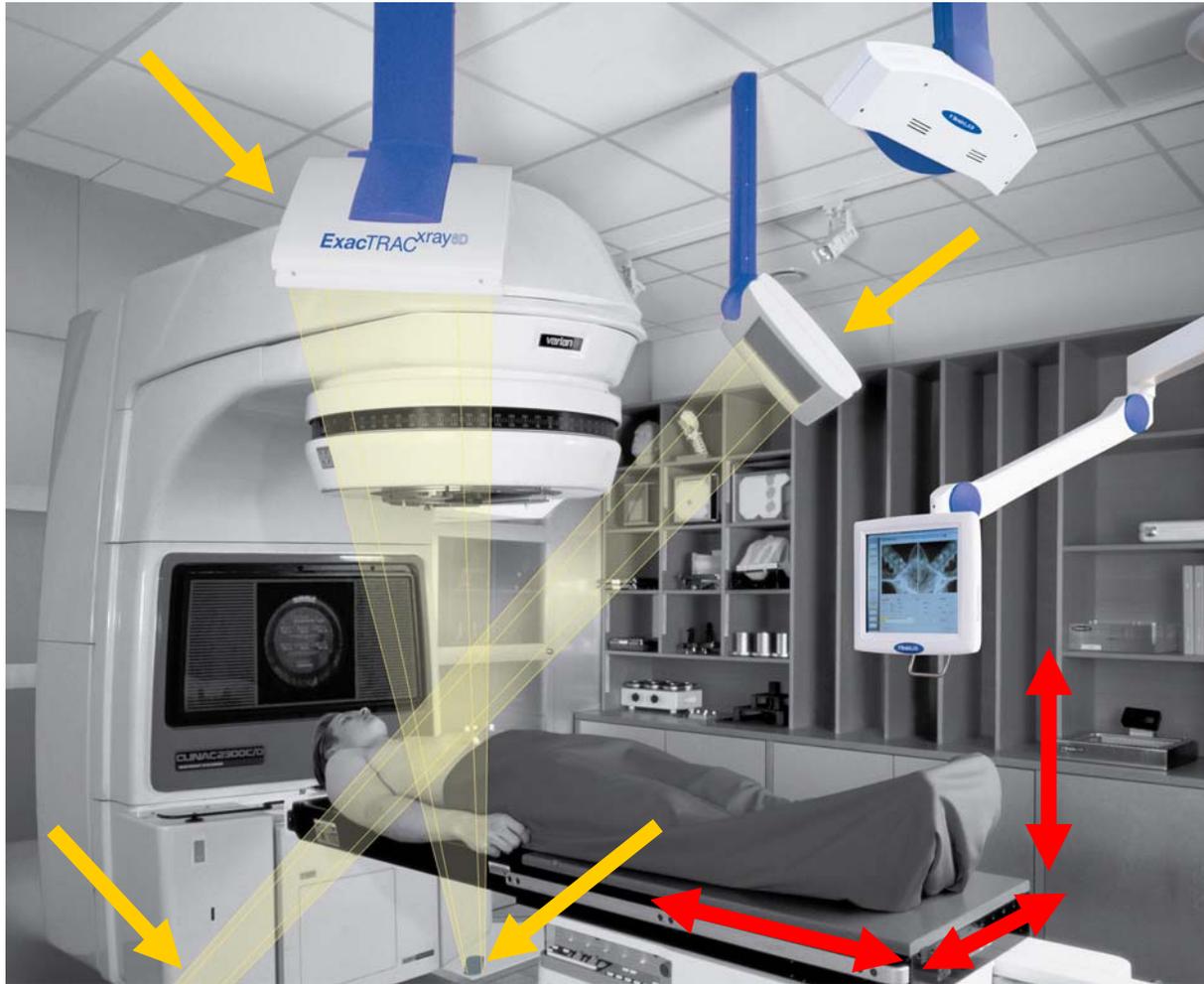
■ Therapie

- Behandlung von Krebspatienten
- Gezielte Vernichtung von Tumorgewebe durch Einsatz einer ausreichend hohen Strahlendosis
- Unvermeidbare Bestrahlung von umliegendem gesundem Gewebe

⇒ **Vermeidung bzw. Minimierung von Nebenwirkungen des gesunden Gewebes**

⇒ **Kombination von Therapie und Diagnostik**

Elektronen-Linearbeschleuniger mit Röntgenröhren basiertem Positioniersystem



- SOLL-Position:
Bestrahlungsplanung

- IST-Position:
Raumfestes Röntgen-
Bildaufnahmesystem

- Echtzeit-Vergleich:
SOLL / IST

- Nachführen des
Patienten

⇒ **Therapiebestrahlung**

(Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie, Universitätsklinikum Dresden)



Zellkultur

Gewebe

Tiermodell

klinischer Einsatz

- In-vitro Zellbestrahlungen
 - ⇒ Normalgewebszellen
 - ⇒ Tumorzellen

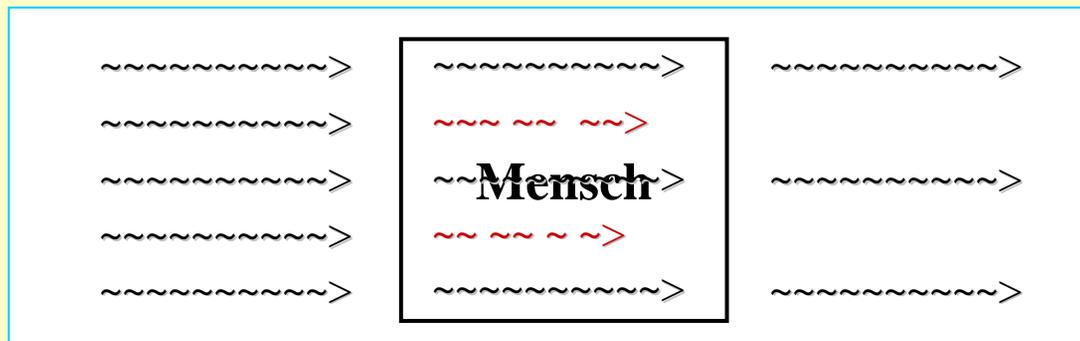
- Nutzen der besonderen Strahlenqualitäten von ELBE
 - ⇒ Niederenergetische Channeling-Röntgenstrahlung
 - ⇒ Hochenergetische Bremsstrahlung
 - ⇒ Intensive Elektronenpulse variabler Zeitstruktur

■ Was ist Strahlung?

- Transport von Energie ohne ein vermittelndes Medium
- Die Wechselwirkung von Strahlung mit Stoffen führt zu einer Umwandlung der Strahlungsenergie in andere Energieformen

■ Grotthus-Draper-Gesetz:

- Von einer auf ein biologisches Objekt treffenden Strahlung kann nur der **absorbierte Anteil** wirksam werden



- Durch einen Körper ohne Wechselwirkung hindurchtretende Strahlung ruft also im Organismus keine Wirkung hervor

▪ Nichtionisierende Strahlung:

- z.B. Radio- und Mikrowellen, sichtbares Licht, ...
- Energie wird *selektiv* in *einzelnen Molekülen* absorbiert
 - ⇒ *Schwingung von Molekülen*
 - ⇒ *Erwärmung*

▪ Ionisierende Strahlung:

- UV-Strahlung, Röntgenstrahlung, Teilchenstrahlung, ...
- Energie wird durch *Ionisation* und *Anregung* auf *alle Moleküle* übertragen
 - ⇒ *Ablösung von Elektronen aus dem Molekülverband*
 - ⇒ *Zerstörung von Molekülbindungen*
 - ⇒ *Änderung des chemischen Verhaltens (Bindungen, Reaktivität)*

▪ (Energie-) Dosis:

- zentrale Meßgröße für ionisierende Strahlung

$$Dosis = \frac{\text{vom Gewebe absorbierte Energie}}{\text{Masse des bestrahlten Gewebes}}$$

Maßeinheit: [D] = 1 Gy (Gray)

- Wie groß ist 1 Gy?

$$1 \text{ Gy} = \frac{1 \text{ Ws}}{1 \text{ kg}} = \frac{1 \text{ J}}{1 \text{ kg}} = \frac{2,4 \cdot 10^{-4} \text{ kcal}}{1 \text{ kg}} = \frac{0,24 \text{ cal}}{1 \text{ kg}}$$

⇒ Bei Bestrahlung mit 1 Gy wird Wasser um 0,00024 Grad wärmer

⇒ Strahlentherapie:

Gesamtdosis: ~ 60 Gy (30 Fraktionen, 2 Gy täglich)

⇒ Natürliche Strahlenbelastung:

mittlere Dosis: ~ 0,002 Gy pro Jahr (= 2 mGy / a)

Die Schädigung des Gewebes beruht **nicht auf Erwärmung**, sie beruht auf der **Zerstörung von Molekülbindungen** durch die ionisierende Strahlung.

▪ Relative biologische Wirksamkeit (RBW):

- Wirksamkeit einer Strahlung gegenüber einer Referenzstrahlung

$$RBW = \frac{E_X}{E_R} \quad \left| \quad D_X = D_R \right.$$

X: untersuchte Strahlung
R: Referenzstrahlung
E: Effekt der jeweiligen Strahlung

- Referenzstrahlung

- ✘ MeV - Gammastrahlung:

- epidemiologische Daten zum Strahlenrisiko der Atombombenopfer von Japan
- ^{60}Co Gammastrahlung: 1,332 MeV (monoenergetisch)

- ✘ 200...300 kV Röntgenstrahlung (Röntgenröhre):

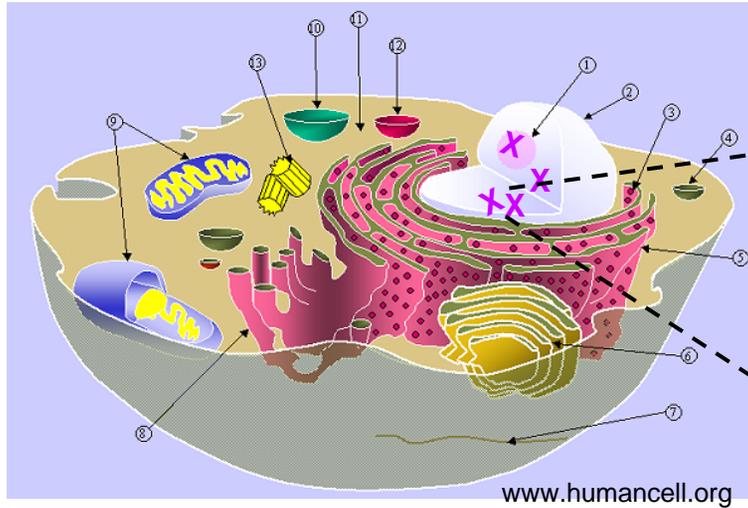
- praktische Verfügbarkeit

Internationale Strahlenschutzkommission (ICRP Nr. 60, 1990):

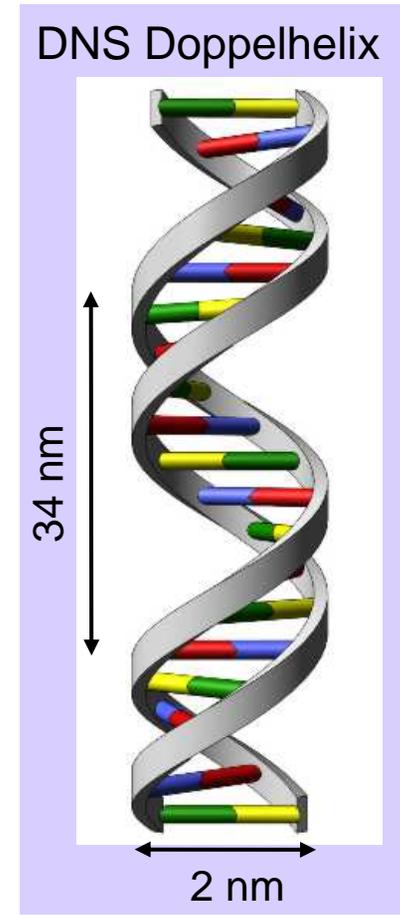
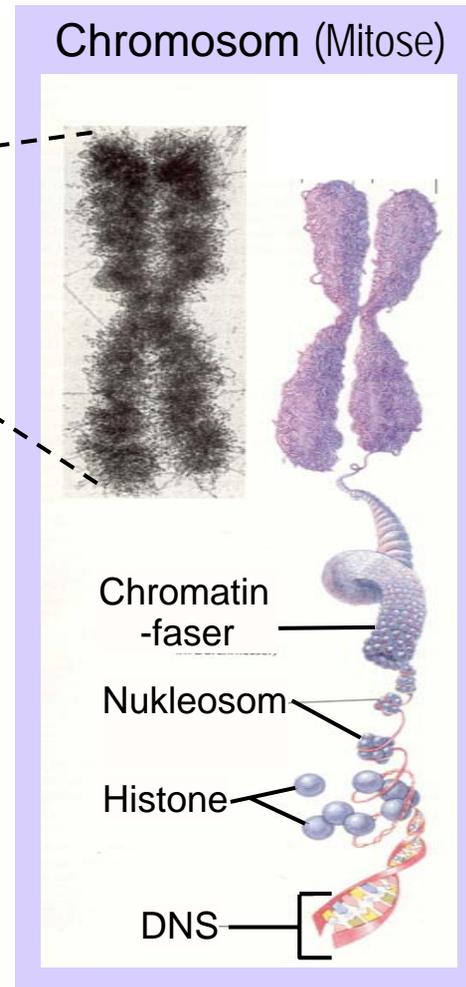
RBW = 1 für Photonenstrahlung, unabhängig von der Photonenenergie

3. Wirkung ionisierender Strahlung auf Zellen

Die **Moleküle der DNS (Desoxyribonukleinsäure)** sind die entscheidende Zielstruktur für die Zellschädigung durch ionisierende Strahlung.



www.humancell.org



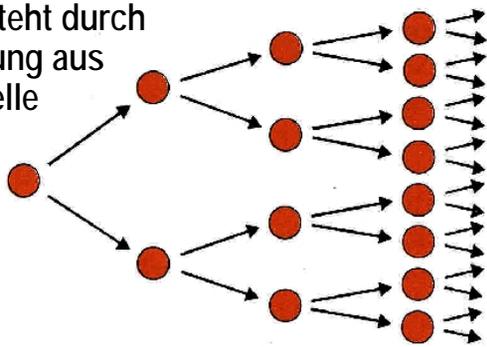
Strahleneffekt und Nachweis:

- Zelltod
⇒ **Koloniebildungstest**
- Chromosomenschäden
⇒ **Mikronukleustest**
- DNS-Schäden
⇒ **Immunofluoreszenz-Assay**

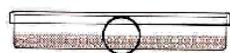
4 Basen, komplementär:
(rot+blau bzw. gelb+grün)

Koloniebildungstest: Klone – Kolonien – Klonogenes Zellüberleben

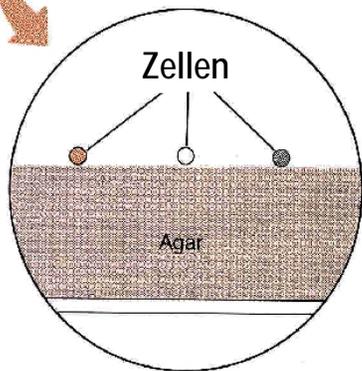
ein Zellklon entsteht durch wiederholte Teilung aus einer einzigen Zelle



$$\text{Überleben} = \frac{\text{Anzahl der Kolonien}}{\text{Anzahl der bestrahlten Zellen}}$$

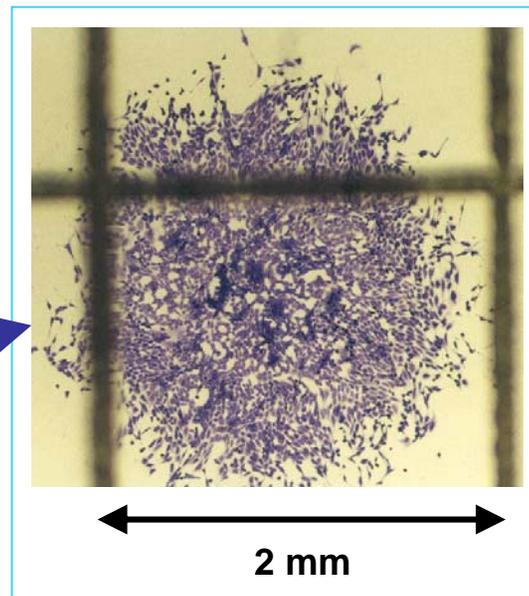
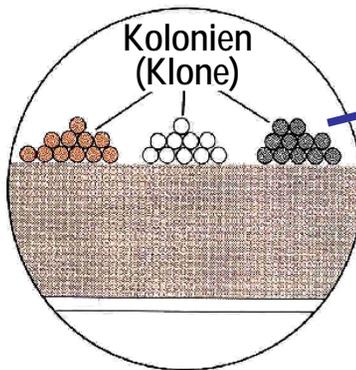


Petrischale



viele Zellteilungen später

(ca. 10 Tage)

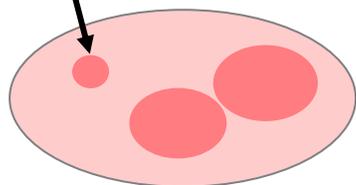


⇒ **Relevanz für die Strahlentherapie: Vernichtung der Tumorzellen**

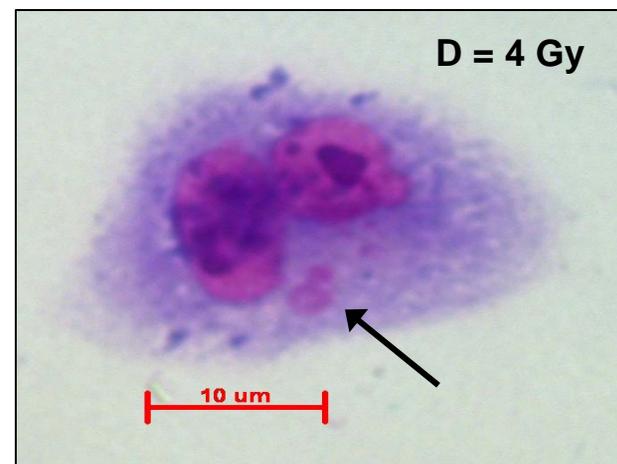
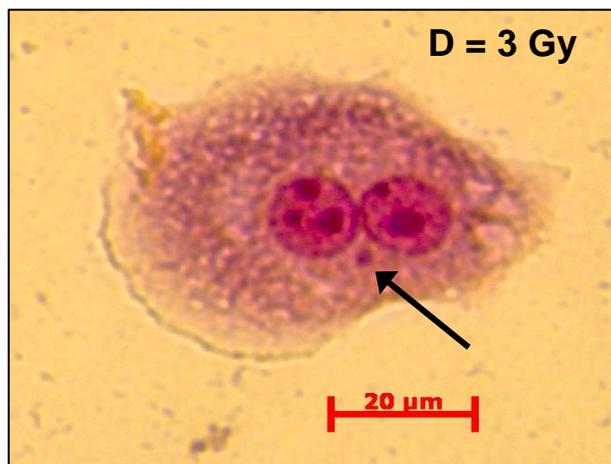
Mikronukleustest

- Nach Bestrahlung:
- ✗ Inkubation bis nach 1. Zellteilung
 - ✗ Zellkernteilung:
Ausscheidung von abgetrennten DNS-Bruchstücken (Fragment)
 - ✗ Zellteilung:
Blockierung, 2 Zellkerne + „Fragment“ (Mikrokern) bleiben erhalten
 - ✗ Giemsa-Färbung:
Hervorhebung des Zellkernmaterials gegenüber Zytoplasma

Fragment



binukleare Zelle mit Mikrokern



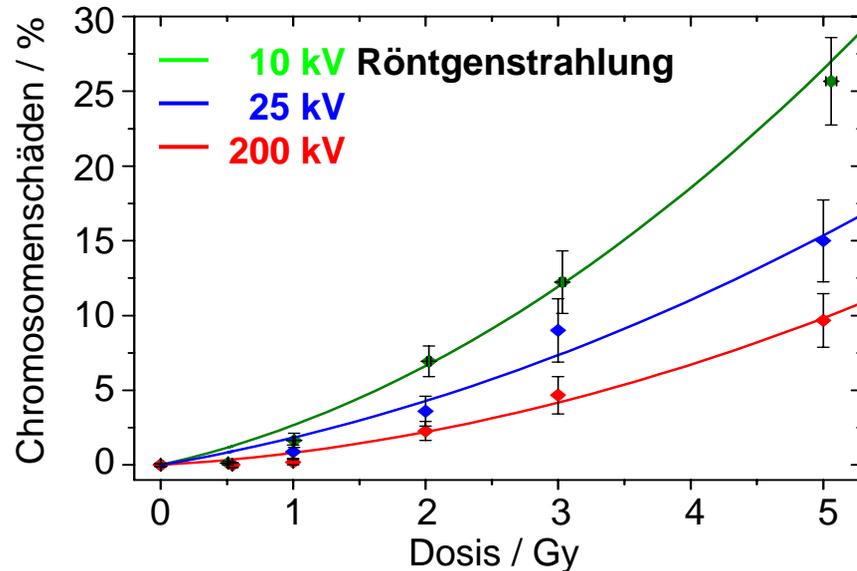
Auswertung:

Schadenshäufigkeit: Anteil der Zellen mit Mikrokern

Schadensqualität: Anzahl der Mikrokern pro Zelle

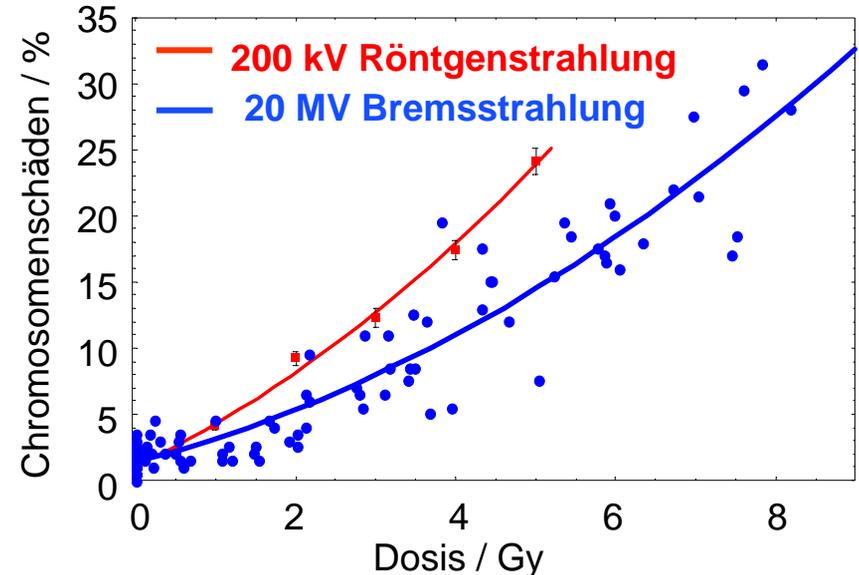
Niederenergetische Röntgenstrahlung:

- Röntgenstrahlung: 25 kV und 10 kV
- Einsatz in Mammographie und Brachytherapie



Hochenergetische Bremsstrahlung (ELBE):

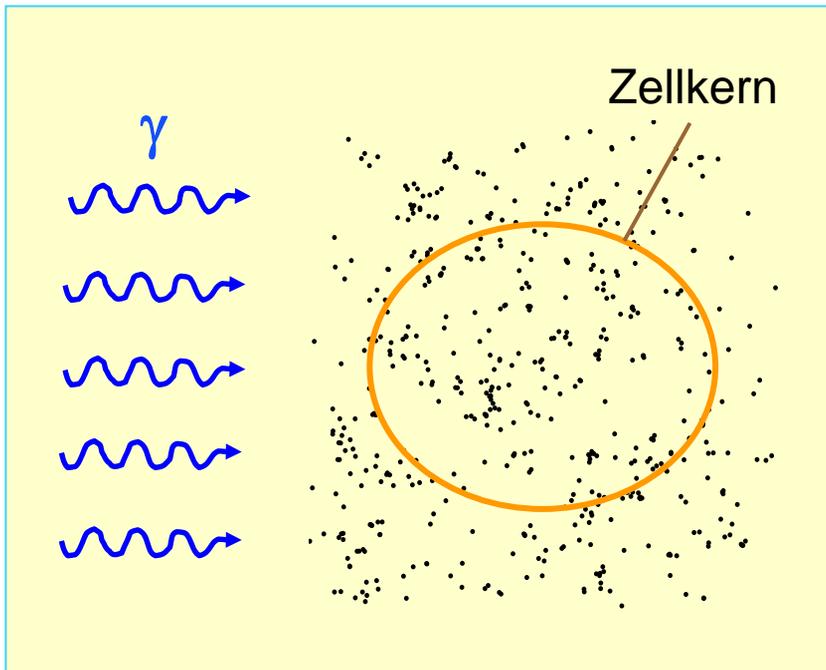
- Bremsstrahlung: 20 MV
- Vergleich mit Therapiebeschleuniger



Ergebnis:

$$RBW_{10\text{ kV}} = 3,44 \pm 1,24 \quad RBW_{25\text{ kV}} = 2,47 \pm 1,11 \quad RBW_{20\text{ MV}} = 0,74 \pm 0,08$$

- ↪ Verringerung der Röntgenenergie führt zu einer Zunahme der biologischen Wirkung (RBW)
- ↪ Verschiedene als Referenzstrahlung verwendete Photonenfelder weisen unterschiedliche biologische Wirksamkeiten auf
- ↪ **Entwicklung von monoenergetischen Röntgenquellen an ELBE**

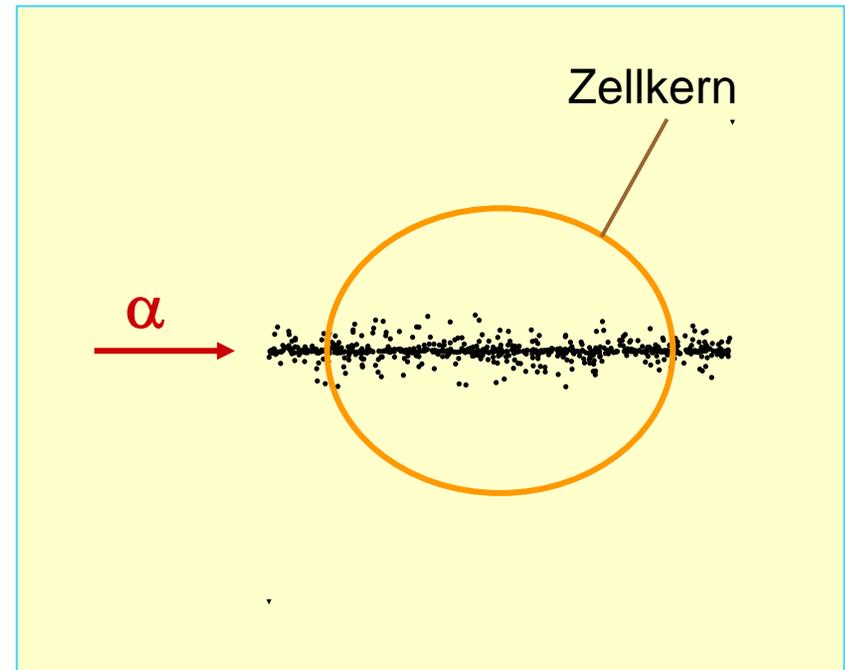


γ

Zellkern

Hochenergetische Photonen:
Zufällig verteilte Energieübertragung

➔ dünnionisierend



α

Zellkern

α -Teilchen:
konzentrierte Energieübertragung

➔ dichtionisierend

Was ist die Konsequenz der Unterschiede in der lokalen Ionisationsdichte?

M. Hill, MRC, Harwell

dünnionisierend
(1 Gy \approx 1000 Spuren pro Kern)

γ -Strahlung

niedrige Konzentration von
Ionisationsereignissen



DNA

Einfacher Schaden

Wachsende Komplexität des
DNA-Schadens bei Erhöhung
der Ionisationsdichte entlang
der Strahlenspur

Hierfür wird eine verringerte
Wahrscheinlichkeit und
Genauigkeit der Reparatur
erwartet

α -Strahlung

dichtionisierend

(1 Gy \approx 4 Spuren pro Kern)

hohe Konzentration von
Ionisationsereignissen

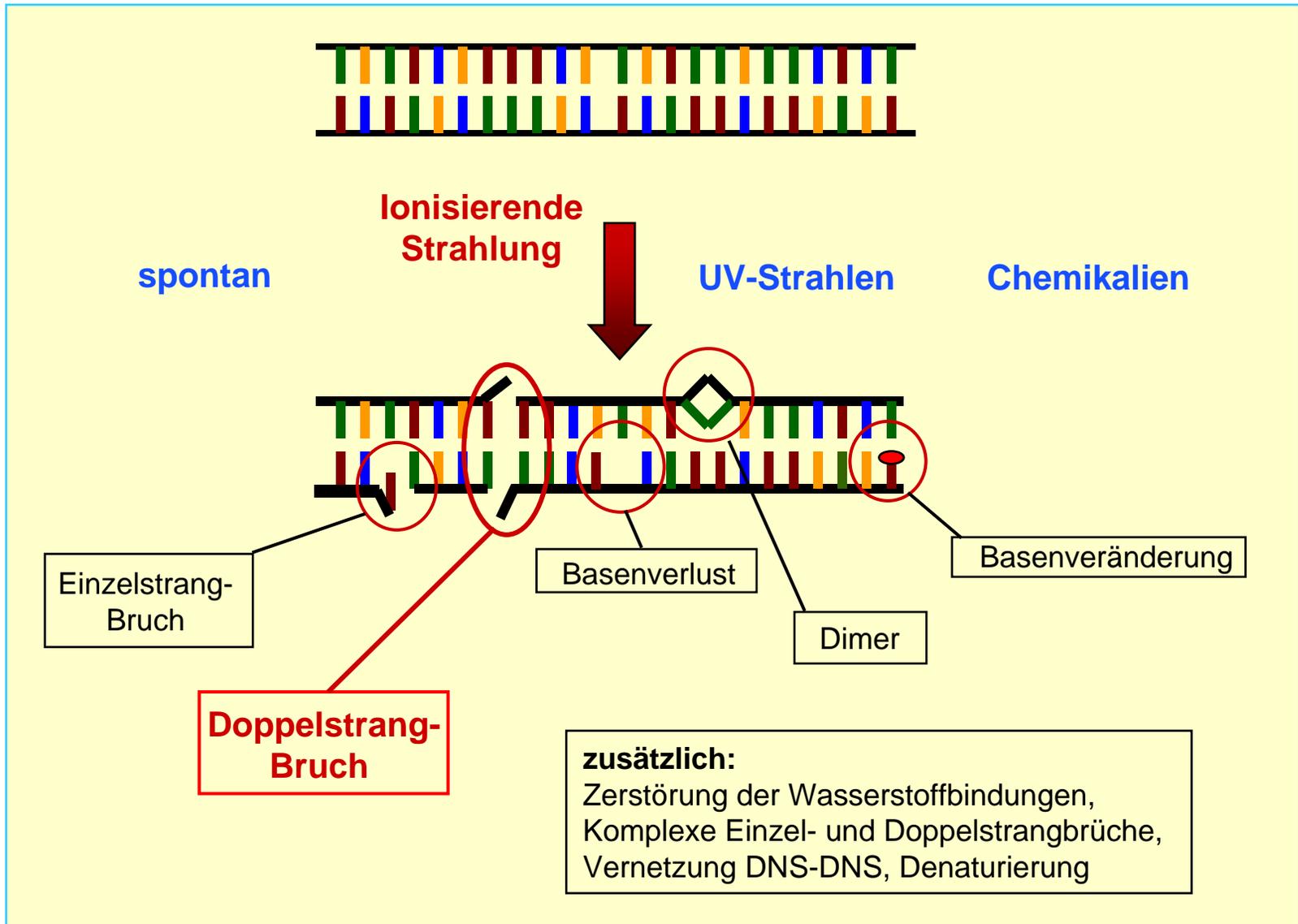


2 nm



Komplexer Schaden

30 nm



Dosisfraktion
Strahlentherapie



Photonenstrahlung

3000 Basenschäden
1000 Einzelstrangbrüche
40 Doppelstrangbrüche



4000-5000 Schäden
pro Zelle

ordnungsgemäße
Reparatur

unvollständige
oder fehlerhafte
Reparatur

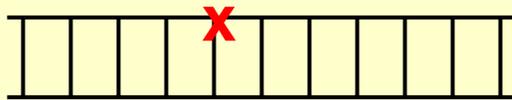
fortpflanzungs-
fähige Zellen
(~80%)

Zelltod

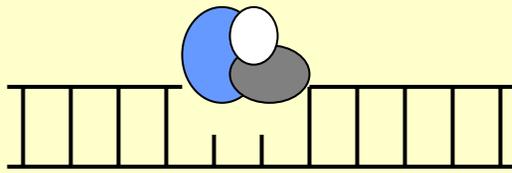
Exzisionsreparatur

Einzelstrang- und Basenschaden

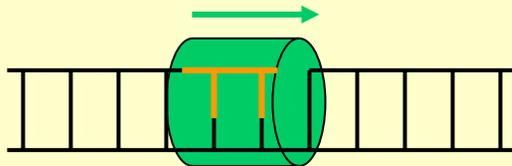
Erkennung



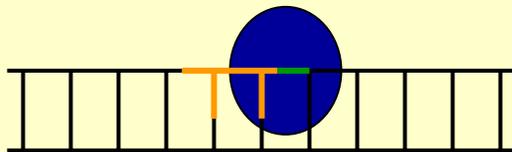
Inzision/Exzision
"saubere" Enden



Re-Synthese
(Polymerase)



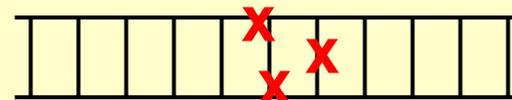
Ligation (Ligase)



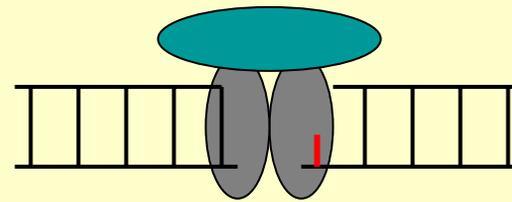
NHEJ-Reparatur

Doppelstrangschaden

Erkennung

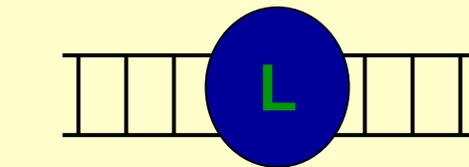


DNS-PK:
Stabilisierung
der Bruchenden

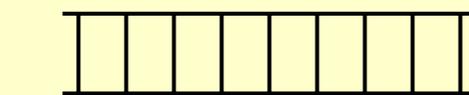


erleichtert

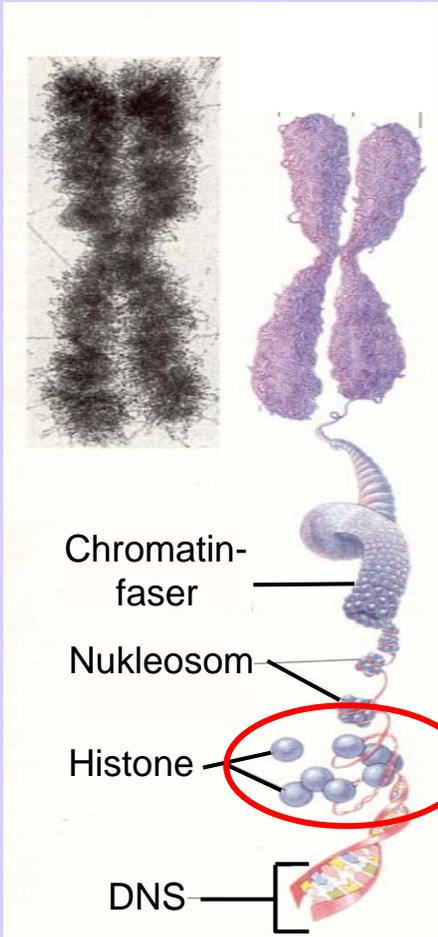
Bindung von Ligase



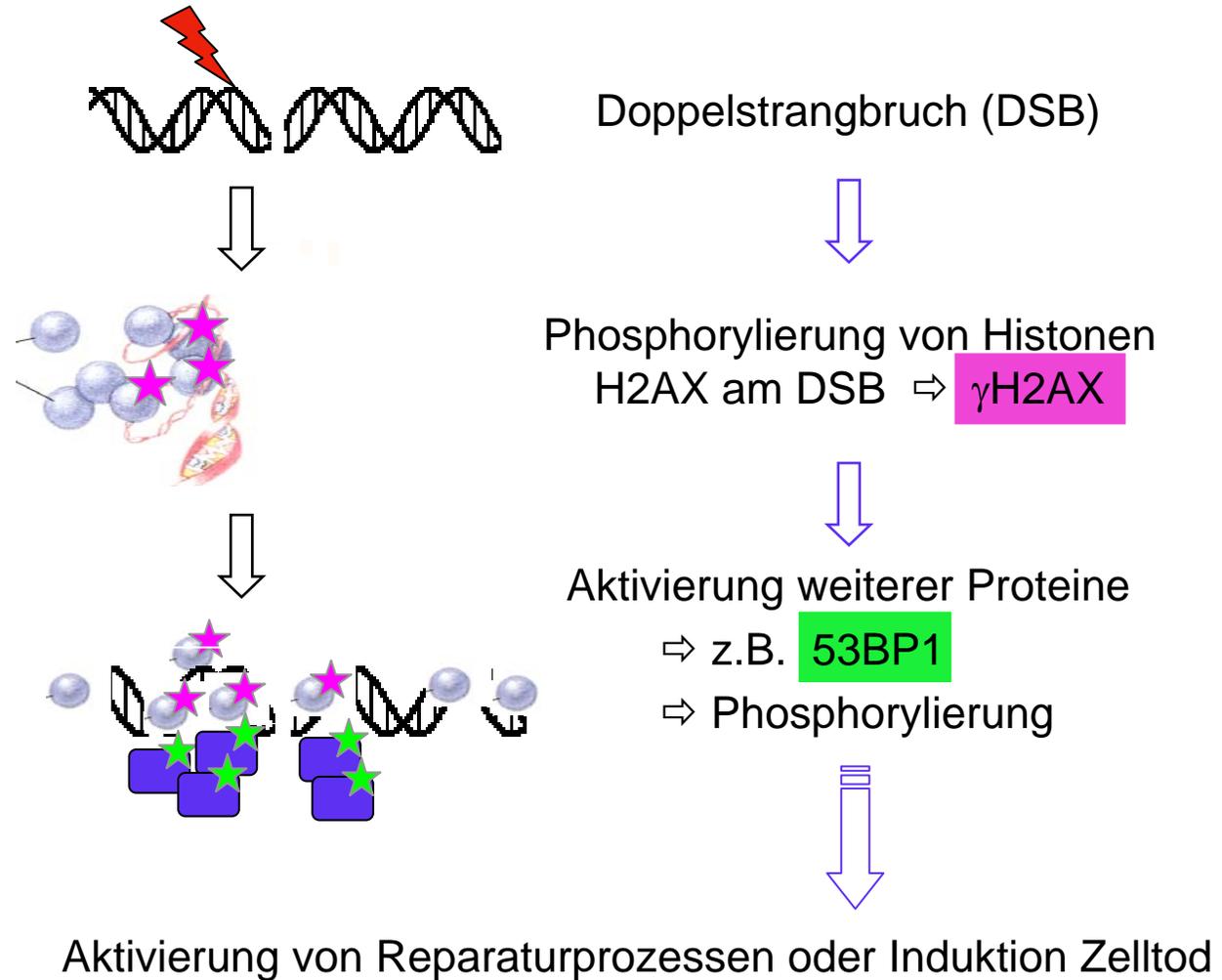
Basensequenz nicht
wieder hergestellt



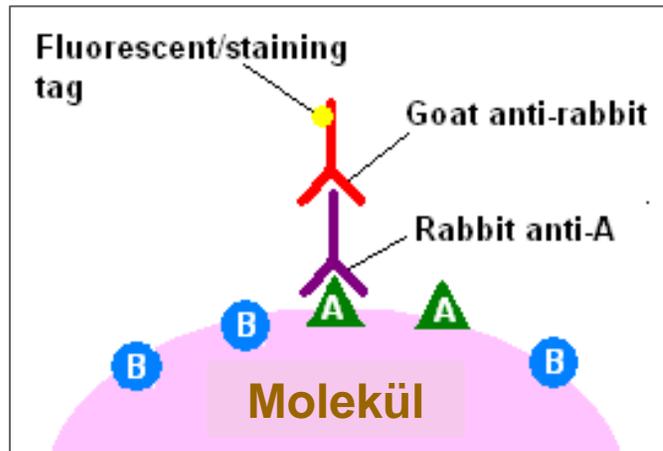
Chromosom (Mitose)



Signalkette nach Induktion eines DNS Doppelstrangbruchs

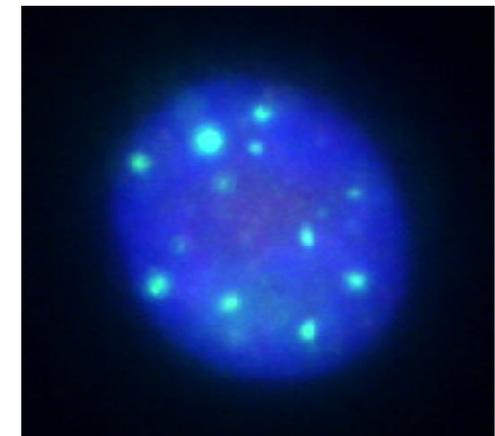


- ◆ **Nachweis** der phosphorylierten Moleküle mit spezifischen **Antikörpern**
- ◆ **Visualisierung** mit fluoreszenzmarkierten sekundären Antikörpern

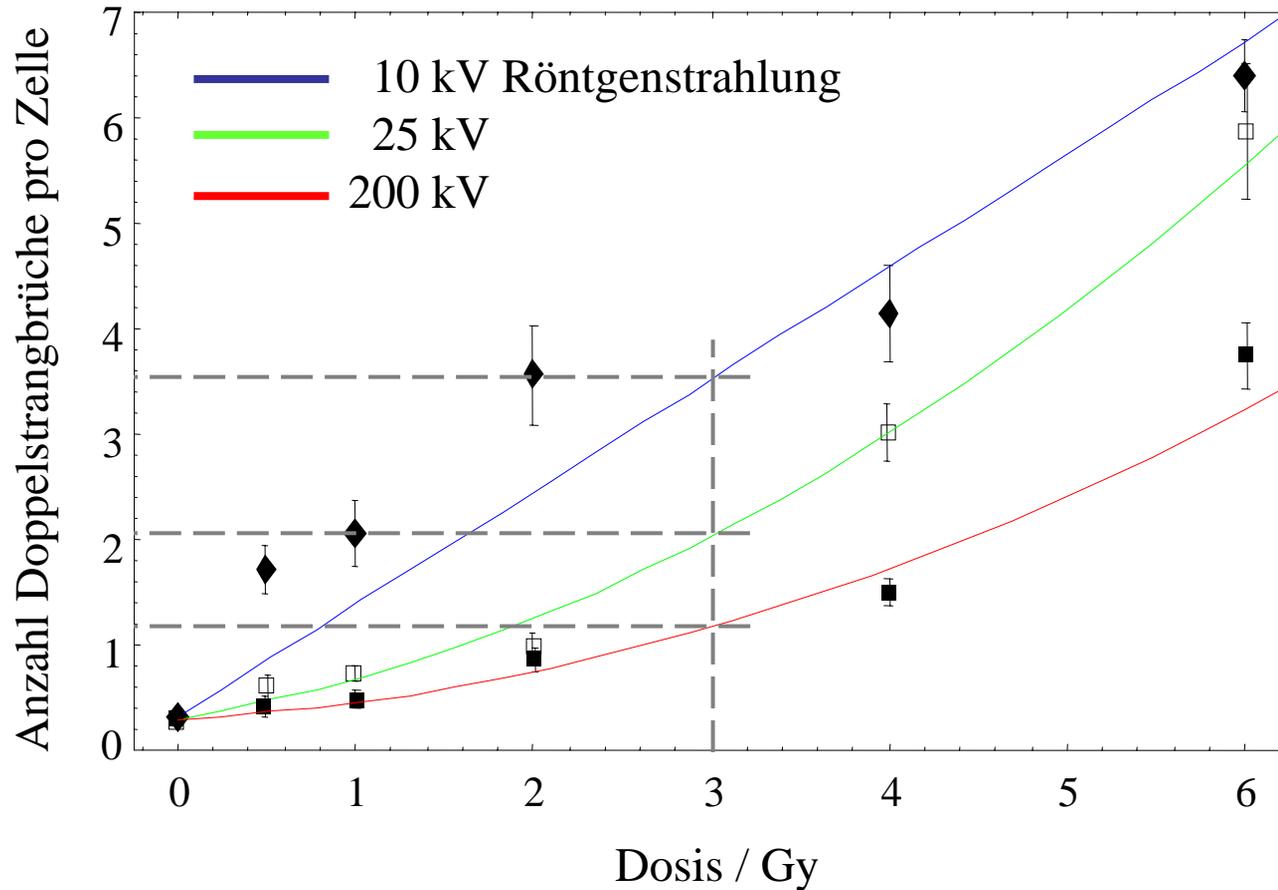


Nature Cell Biology 4, E277, 2002

- ◆ Mikroskop: γ H2AX (rosa), 53BP1 (grün)
→ Bildüberlagerung: "Foci" (gelb)
blau: Zellkern (DNS, DAPI-Färbung)
- ◆ Bestimmung der Reparaturkinetik



Nicht reparierte Doppelstrangbrüche 24 h nach Bestrahlung

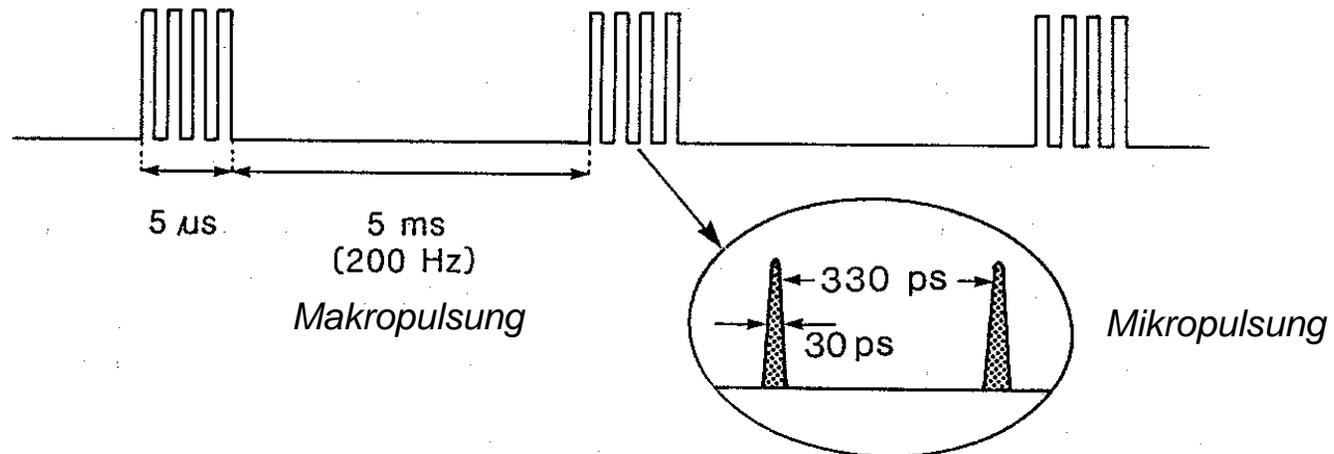


Verringerung der Röntgenenergie führt zu einer Zunahme der Wirkung:

$RBW_{25\text{ kV}} \sim 1,7$ $RBW_{10\text{ kV}} \sim 3,3$
(Referenzstrahlung: 200 kV)

Konventioneller Therapiebeschleuniger

Pulsstruktur:



	Mikropuls	Makropuls
Frequenz	3 GHz	200 Hz
Pulsdauer	30 ps	5 μs
Dosis im Puls	$30 \cdot 10^{-9}$ Gy	$0,45 \cdot 10^{-3}$ Gy

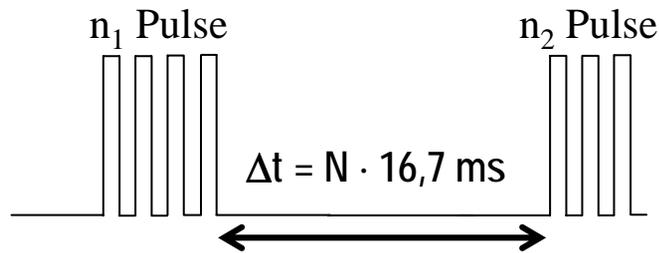
- ⇒ Dosisleistung (Puls): 60 kGy/min
- ⇒ Dosisleistung (Zeitmittel): 6 Gy/min
- ⇒ Bestrahlungsdauer: ~min
- ⇒ Beginn der Reparatur: >μs

⇒ Kein signifikanter Unterschied in der Strahlenwirkung aufgrund der Strahlpulsung im Vergleich mit ungepulster Strahlung (Röntgenröhren, ⁶⁰Co-Quellen)

„W-Effekt“

4,5 MeV Elektronenlinearbeschleuniger

Pulsstruktur:



- ⇒ Dosis im Makropuls: $\sim 2 \text{ Gy}$
- ⇒ hohe zeitliche Ionisationsdichte

Mögliche Erklärung:

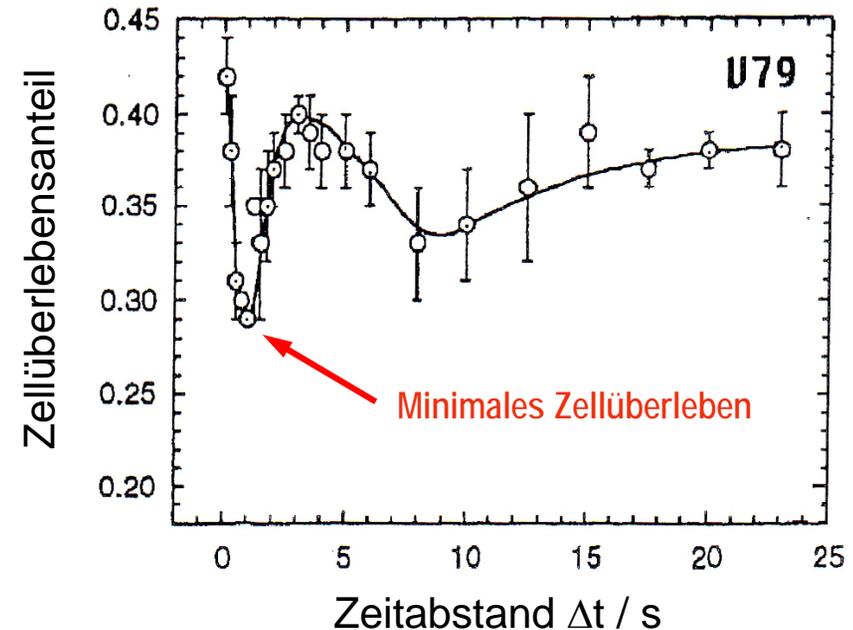
Chemische u. Biologische Prozesse: $> \mu\text{s}$

1. Molekulare Erkennung des Schadens
 2. Aktivierung der Reparaturprozesse
- ⇒ Störung dieser Prozesse vermindert das Zellüberleben
 - ⇒ Zeitabstände und Wirkungssteigerung sind abhängig von der Zellart

Ergebnis:

W-förmige Überlebenskuven

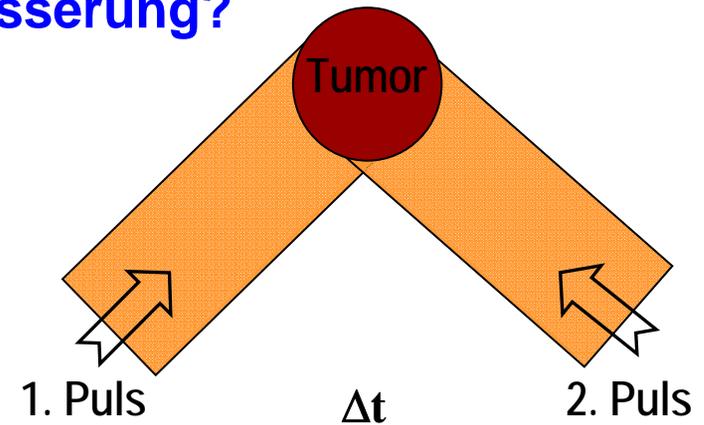
Ponette et al., C.-R. Acad. Sci. Paris, 319 (1996) 505



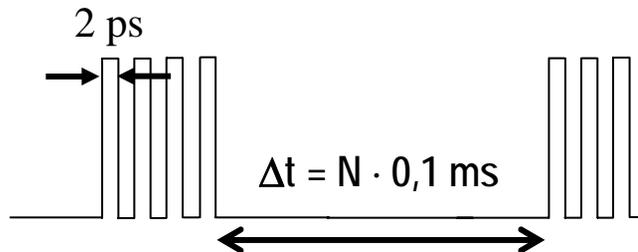
- ⇒ Unterschiedliches Zellüberleben trotz gleicher applizierter Strahlendosis

„W-Effekt“ – Ansatz für Therapieverbesserung?

- ⇒ Mehrfeldbestrahlungen unter Nutzung geeigneter Zeitabstände
- ⇒ Gezielte Verringerung des Überlebens der Tumorzellen bei unveränderter Zellschädigung im gesunden Gewebe

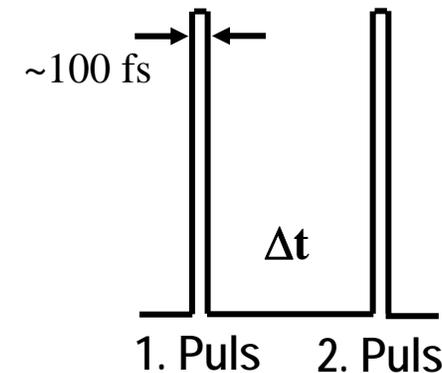


ELBE



- ⇒ Dosisleistung (Puls): $\sim 10^{12} \text{ Gy/min}$
- ⇒ Dosis im Puls: $\sim 10 \text{ mGy}$

Laserbeschleuniger



Was ist die Konsequenz einer hohen zeitlichen Ionisationsdichte?

Die **beobachtete Strahlenwirkung** von Zellen ist weniger ein Maß der erzeugten Strahlenschäden als vielmehr **Ausdruck einer defizitären oder fehlerhaften Reparatur** der erzeugten Strahlenschäden!

Derzeitiger Forschungsschwerpunkt an ELBE ist entsprechend:

- die Untersuchung der komplexen biochemischen und molekularbiologischen Prozesse der Reparatur von Strahlenschäden
- eine gezielte Beeinflussung der Strahlenwirkung
 - ⇒ *Sensibilisierung von Tumorzellen*
 - ⇒ *Erhöhung der Strahlenresistenz gesunder Zellen*
- durch Einsatz neuer Strahlenqualitäten
 - ⇒ *ultrakurz gepulste Teilchenstrahlen (~ 100 fs = 0,000 000 000 000 1 s), erzeugt mit einem Hochintensitätslaser*

Danke für Ihre Aufmerksamkeit!

