

Praktická úloha č. 1

Téma: Rakovina

Rakovina je jedno z najrozšírenejších ochorení na svete. Podľa štatistík Centra pre výskum rakoviny Spojeného kráľovstva, bola celosvetová incidencia (počet nových prípadov) v roku 2012 14 miliónov, mortalita dosiahla 8 miliónov ľudí. Rakovina nie je infekčná a môže postihnúť kohokoľvek bez ohľadu na vek. Je dôležité spomenúť, že 33% všetkých prípadov rakoviny je spojených s fajčením. Mechanizmov vzniku rakoviny, ako aj faktorov, ktoré ju spôsobujú je veľa, no vyúsťujú vždy v to isté – nekontrolovateľné bunkové delenie. V tejto praktickej úlohe sa oboznámite s nádormi spôsobenými ionizujúcim žiarením, jeho účinkom na tkanivá, ale takisto aj s jeho využitím v onkológii a nukleárnej medicíne.

1. BIOFYZIKA

Príčinou vzniku ionizujúceho žiarenia sú zvyčajne nestabilné jadrá prvkov s prebytkom nukleónov (protóny a neutróny) zbavujúcich sa nadbytočnej energie. Pri procese vyžarovania väčšinou vzniká stabilný prvok (pri niektorých typoch žiarenia sa môže zmeniť chemická podstata žiariča - napríklad z rádioaktívneho ${}^{235}_{92}\text{U}$ vzniká po celej reťazi reakcií stabilné ${}^{207}_{82}\text{Pb}$) a žiarenie bohaté na energiu s potenciálom narúšať väzby v makromolekulách a tým pádom aj celé tkanivo.

1.1_Narušenie ktorej molekuly by mohlo najpravdepodobnejšie viesť k nádorovému bujneniu? Svoju odpoveď zdôvodnite.

Typy ionizujúceho žiarenia sú:

- ŽIARENIE KORPUSKULÁRNE (ČASTICOVÉ)
 - žiarenie α
 - Je to tok častíc ťažkého hélia ${}^4_2\text{He}$ z jadier rádioaktívnych prvkov
 - Rýchlosť $\approx 3 \cdot 10^7$ m/s
 - *Dolet: vo vzduchu 1 mm, v biologickom tkanive niekoľko μm
 - žiarenie β
 - Je to tok *elektrónov/pozitrónov* (častíc podobných elektrónom len s kladným nábojom)
 - Na základe toho rozlišujeme tzv. β^- (elektróny) a β^+ žiarenie (pozitróny)
 - Rýchlosť $\approx 2,8 \cdot 10^8$ m/s
 - *Dolet (rádovo!) vo vzduchu 10 cm, v tkanive 1 cm
- VLNOVOKORPUSKULÁRNE ŽIARENIE

Ide o elektromagnetické vlny a zároveň tok fotónov (jedná sa o tzv. teóriu vlnovokorpuskulárneho dualizmu). Jeho energia a tým pádom aj deštrukčný potenciál pre biologické tkanivá závisí od jeho frekvencie. Vlnovokorpuskulárnym žiarením je napríklad aj viditeľné svetlo, mikrovlny, rádiové vlny, ktoré však nie sú ionizujúce.

- Žiarenie γ
 - Rýchlosť $3 \cdot 10^8$ m/s
 - *Dolet nie je pre veľkú prenikavosť ľahko definovateľný, vo vzduchu tvorí niekoľko metrov, v tkanivách desiatky centimetrov
- UV žiarenie
 - Nemá už takú veľkú energiu aby sa dalo považovať za ionizujúce, no stále je príčinou viacerých druhov melanómov

**Doletom sa myslí tzv. Half-value layer, je to hrúbka daného materiálu, po ktorej preletení sa zníži intenzita žiarenia na polovicu.*

Otázky:

1.2.1 Ktoré žiarenie je bezvýznamné z hľadiska vonkajšej kontaminácie (kontaminácia dotykom), no je extrémne nebezpečné pri ingescii (prijatí potravou) alebo inhalácii? _____

1.2.2 Svoju odpoveď zdôvodnite.

1.3 Ktoré žiarenie je nositeľom náboja? _____

1.4 V roku 1986 vybuchla na Ukrajine sovietska jadrová elektráreň Černobyľ. Pri havárii sa uvoľnilo veľké množstvo rádioaktívneho jódu ^{131}I . Tento jód bol neskôr v podobe rádioaktívneho mraku odnesený nad celú európu.

1.4.1 Ktorý orgán ľudského tela vie takýto žiarič najviac poškodiť? _____

1.4.2 Čo sa produkuje v tomto orgáne?

1.4.3 Medzi aké látky zaraďujeme tieto produkty? (Látky peptidovej-aminokyselinovej povahy/ látky lipidovej povahy/ látky sacharidovej povahy)

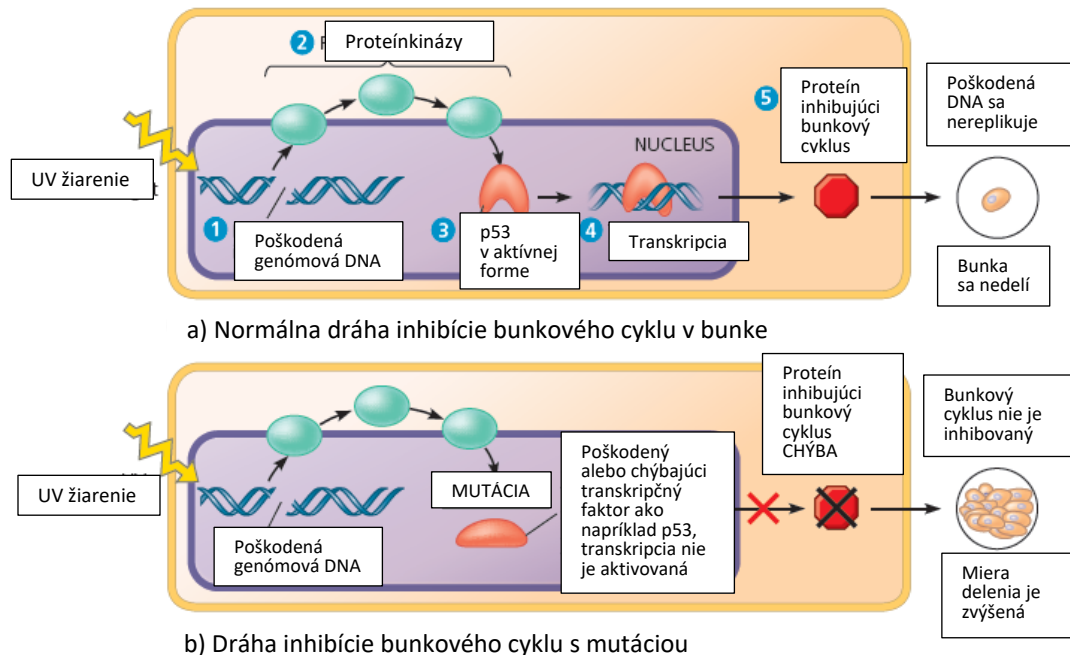
1.4.4 V ktorom období života je porucha činnosti tohto orgánu vedúca k nízkej produkci najkritickejšia? Prečo?

1.4.5 Prečo sa ako ochrana pred rádioaktívnym ^{131}I podáva nerádioaktívny jód ^{127}I ?

2. MOLEKULÁRNA BIOLÓGIA

Ionizujúce žiarenie má veľký vplyv na molekuly v bunke – ich ionizáciou narušuje väzby medzi atómami, čo má vplyv najmä na makromolekuly. Ionizujúce žiarenie taktiež prispieva k tvorbe voľných radikálov, čo sú jednoduché, no extrémne reaktívne častice, ktoré môžu vzniknúť nie len fyzikálnou, ale aj chemickou cestou – preto niektoré chemické polutanty sú považované za karcinogénne. Všetko to vedie k poškodeniu proteínov alebo DNA. Bunka poškodené proteíny väčšinou degraduje, poškodenú DNA sa však snaží opraviť. Pokiaľ takáto oprava nie je možná, bunka je nútená k apoptóze, lenže aj mechanizmy apoptózy sa môžu poškodiť – toto je moment, kedy sa z normálnej bunky stáva bunka rakovinová.

V tejto časti sa zameriame na mutácie v DNA. Existujú 2 typy génov, ktoré ovplyvňujú nádorové bujnenie – 1. Tumor supresorové gény okrem iných funkcií inhibujú bunkové delenie. 2. Protoonkogény sú gény, ktoré za normálnych okolností stimulujú bunku k rozdeleniu, avšak v ich zmutovanej forme môže byť táto stimulácia neprimerane veľká a bunka sa mení na rakovinovú. Teraz sa zameriame na mutácie génu kódujúceho proteín p53, ktorý za normálnych okolností prispieva k inhibícii bunkového delenia.



2.1 Rozhodnite, či je gén pre proteín p53 tumor supresorom alebo protoonkogénom.

2.2 Reguluje proteín p53 bunkový cyklus priamo? _____

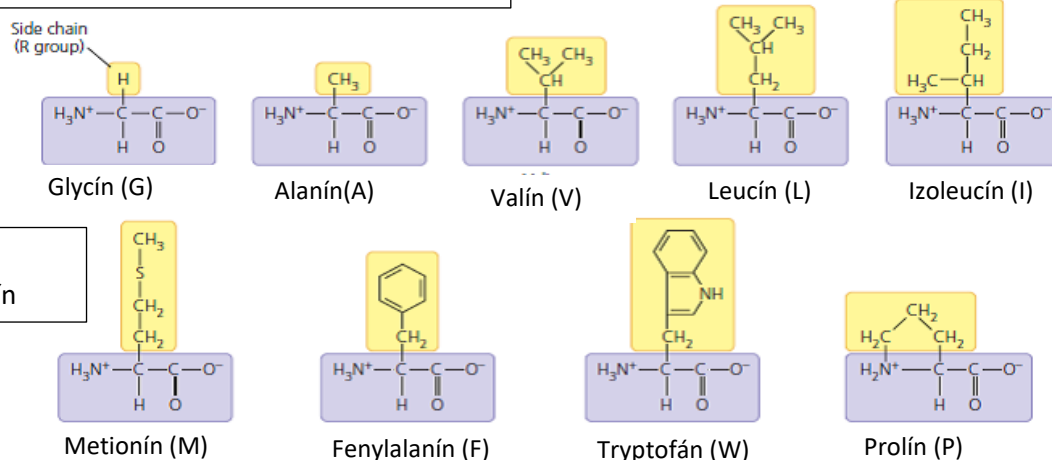
2.3 V nasledujúcej časti budete mať za úlohu určiť závažnosť mutácií v géne pre proteín p53 porovnaním s jeho normálnou sekvenciou. Ako pomôcku prikladáme genetický kód a tabuľku aminokyselín. Na správne určenie mutácií musíte správne určiť čítací rámec – pozor na začiatok!

Genetický kód

druhý nukleotid					
	U	C	A	G	
prvý nukleotid	U UUU fenylalanín (F) UUC leucín (L) UUA leucín (L) UUG leucín (L)	C UCU serín (S) UCC serín (S) UCA serín (S) UCG serín (S)	A UAU tyrozín (Y) UAC tyrozín (Y) UAA koniec UAG koniec	G UGU cysteín (C) UGC cysteín (C) UGA koniec UGG tryptofán (W)	U
	C CUU leucín (L) CUC leucín (L) CUA leucín (L) CUG leucín (L)	C CCU prolín (P) CCC prolín (P) CCA prolín (P) CCG prolín (P)	A CAU histidín (H) CAC histidín (H) CAA glutamín (Q) CAG glutamín (Q)	G CGU arginín (R) CGC arginín (R) CGA arginín (R) CGG arginín (R)	C
	A AUU isoleucín (I) AUC isoleucín (I) AUA isoleucín (I) AUG začiatok	A ACU treonín (T) ACC treonín (T) ACA treonín (T) ACG treonín (T)	A AAU asparagín (N) AAC asparagín (N) AAA lyzín (K) AAG lyzín (K)	A AGU serín (S) AGC serín (S) AGA arginín (R) AGG arginín (R)	A
	G GUU valín (V) GUC valín (V) GUA valín (V) GUG valín (V)	G GCU alanín (A) GCC alanín (A) GCA alanín (A) GCG alanín (A)	G GAU kys. (D) GAC kys. (D) GAA kys. (E) GAG kys. (E)	G GGU glycín (G) GGC glycín (G) GGA glycín (G) GGG glycín (G)	G

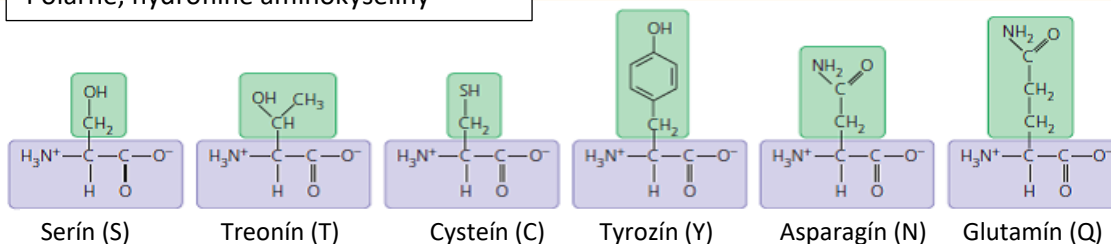
Začiatok
reprezentuje
aminokyselinu
Metionín (M)

Nepolárne, hydrofóbne aminokyseliny



Tabuľka
aminokyselín

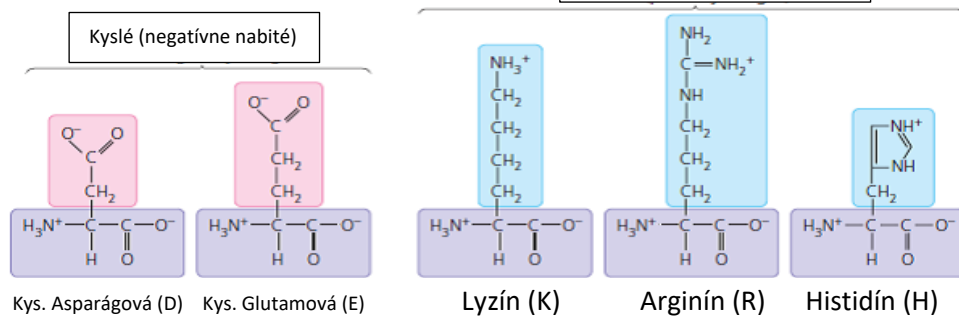
Polárne, hydrofilné aminokyseliny



Elektricky nabité, hydrofilné aminokyseliny

Zásadité (pozitívne nabité)

Kyslé (negatívne nabité)



Normálna sekvencia génu pre proteín p53: (jedná sa o začiatok sekvencie prvého translatovaného exónu tohto génu)

- 2.3.1 Doplníte na základe sekvencie DNA sekvenciu mRNA (komplementárne k tzv. *antisense strand*! *Antisense strand DNA* je komplementárne vlákno ku *sense strand DNA* ktoré je uvádzané) a na základe nej sekvenciu aminokyselín podľa priloženého genetického kódu.

DNA sense strand 5'...GGTCACTGCCATGGAGGAGCCGCAGTCAGATCCTAGCG... 3'

mRNA 5'...GGUCACU_____...3'

sekvencia AMK N_____C

- 2.3.2 Pre nasledujúce sekvencie mutovaných génov pre proteín p53 určte sekvenciu mRNA a sekvenciu aminokyselín **presne tak, ako v úlohe 2.3.1.** V tejto časti je však dopĺňanie sekvencie pre mRNA dobrovoľné – nezískavate za ňu žiadne body. Kľúčová je sekvencia aminokyselín a **typ mutácie** (ktorú zistíte porovnaním mutovanej a normálnej sekvencie DNA), ktorá nastala (delécia, inzercia, substitúcia – pri substitúciách napíšte aj pôvodnú a nahradenú aminokyselinu)

Mutácia 1

DNA sense strand 5'...GGTCACTGCCATGGAGGA-CCGCAGTCAGATCCTAGCG... 3'

mRNA 5'..._____...3'

sekvencia AMK N_____C

Typ mutácie:_____

Mutácia 2

DNA sense strand 5'...GGTCACTGCCATGGAGGAGCCGCAGTCAGAATCACTAGCG... 3'

mRNA 5'..._____... 3'

sekvencia AMK N_____C

Typ mutácie:_____

Mutácia 3

DNA sense strand 5'...GGTCACTGCCATGGAGGAGCCGCAGTTAGATCCTAGCG... 3'

mRNA 5'..._____...3'

sekvencia AMK N_____C

Typ mutácie:_____

Mutácia 4

DNA sense strand 5'...GGTCACTGCCATGGAGGAGCTGCAGTCAGATCCTAGCG... 3'

mRNA 5'..._____...3'

sekvencia AMK N_____C

Typ mutácie:_____

Mutácia 5

DNA sense strand 5'...GGTCACTGCCATGGAAGAGCCGCAGTCAGATCCTAGCG... 3'

mRNA 5'..._____...3'

sekvencia AMK N _____ C

Typ mutácie: _____

Mutácia 6

DNA sense strand 5'...GGTCACTGCCATGGACGAGCCGCAGTCAGATCCTAGCG... 3'

mRNA 5'..._____...3'

sekvencia AMK N _____ C

Typ mutácie: _____

Mutácia 7

DNA sense strand 5'...GGTCACTGCCATGGAGGAGCCGTAGTCAGATCCTAGCG... 3'

mRNA 5'..._____...3'

sekvencia AMK N _____ C

Typ mutácie: _____

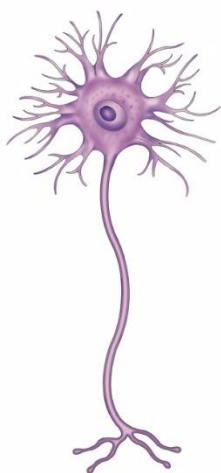
Takéto mutácie môžu veľmi výnimočne viesť k produkcii aktívnejšieho proteínu, no v drvivej väčšine prípadov tomu tak nie je – takéto mutácie väčšinou proteín výrazne poškodia a proteín môže byť čiastočne, alebo úplne stratiť svoju funkciu. Preto ďalej uvažujme, že mutácie proteín poškodili. Pri odpovedaní na nasledujúce otázky si pomôžte tabuľkou so vzorcami aminokyselín.

2.3.3 Ktoré dve mutácie budú mať pravdepodobne na proteín najmenej negatívny dopad? Svoju odpoveď zdôvodnite.

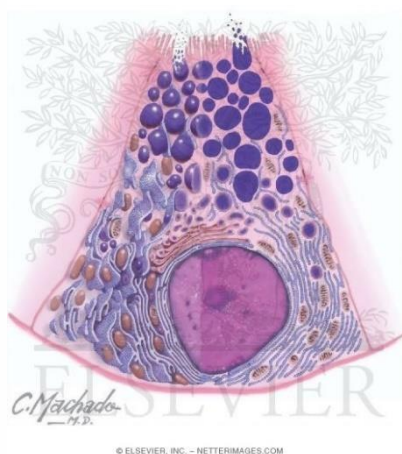
2.3.4 Ktorá z uvedených dvojíc mutácií je závažnejšia? V niektorých prípadoch môžete označiť obidve mutácie z dvojice. Svoj výber zdôvodnite.

- a) Mutácia 3/Mutácia 6 _____
- b) Mutácia 1/Mutácia 4 _____
- c) Mutácia 1/Mutácia 2 _____
- d) Mutácia 4/Mutácia 7 _____
- e) Mutácia 4/Mutácia 6 _____

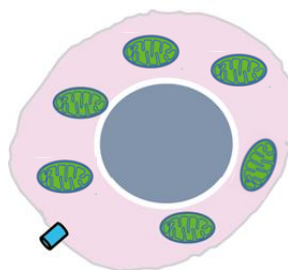
- 2.4 Keď mutácie v DNA spôsobia nekontrolovateľnú proliferáciu bunky, prestáva rakovinová bunka vykonávať svoju funkciu a zameriava sa na jednu jedinou vec – delenie. Ktorá z nasledujúcich buniek môže byť rakovinová? (správnu odpoveď zakrúžkujte)



A)



B)



C)



D)

- 2.5 Malígne nádory však nie sú len kopa hocijakých deliacich sa buniek. Je pre ne veľmi dôležitá angiogenéza – tvorba nových ciev. Vedeli by ste vysvetliť prečo?
-

3. ONKOLÓGIA

V predchádzajúcich dvoch častiach sme si ukázali, ako môže rakovina vznikať. V poslednej časti sa zameriame na rakovinu v praxi – konkrétne na jej diagnostiku a nemoc z ožiarenia.

Diagnostika

Jedným z najpoužívanějších spôsobov v klinickej praxi je tzv. PET scan – pozitronový emisný tomograf. PET scan využíva rádioaktívny izotop Flóru ^{18}F , ktorý je dopravený do rakovinových buniek, kde ho detegujeme.

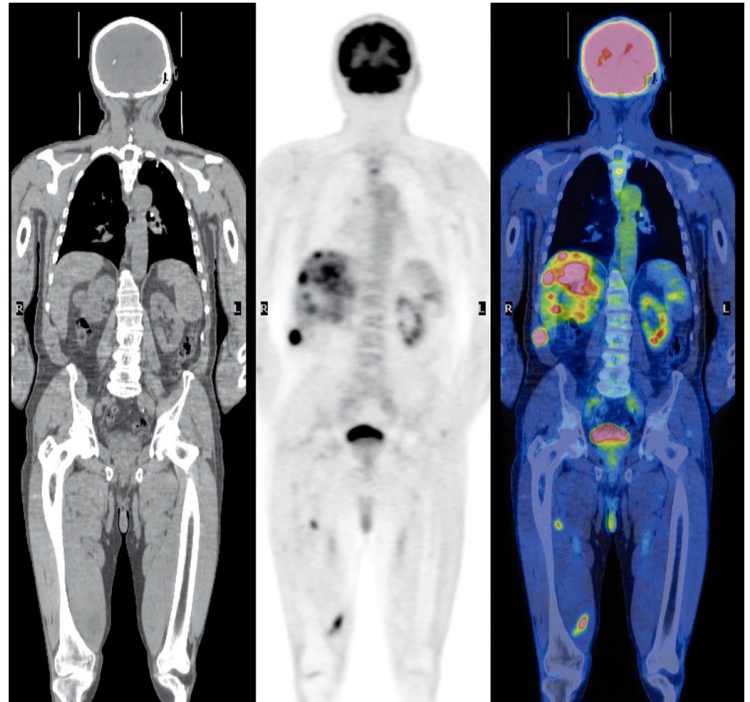
- 3.1 Vychádzajúc z názvu, aké žiarenie bude tento rádioaktívny izotop fluóru vyžarovať?
-

Dolet v tomto prípade nepovažujte za smerodajný údaj. Toto žiarenie totiž anihiluje s elektrónmi v bunke a vytvára iné žiarenie, ktoré má dostatočný dolet na to, aby sme ho mohli detegovať.

- 3.2 Fluór sa do rakovinových buniek nedostane len tak. Je naviazaný na nosič – molekulu, ktorú rakovinové bunky vyžadujú vo väčšej miere ako ostatné. O akú látku by mohlo ísť? Môžete si pomôcť obrázkom z PET skenu nižšie. Svoje tvrdenie zdôvodnite
-

3.3 Na nasledujúcom obrázku vidíte výsledky PET skenu vpravo. Rozhodnite o pravdivosti nasledujúcich tvrdení:

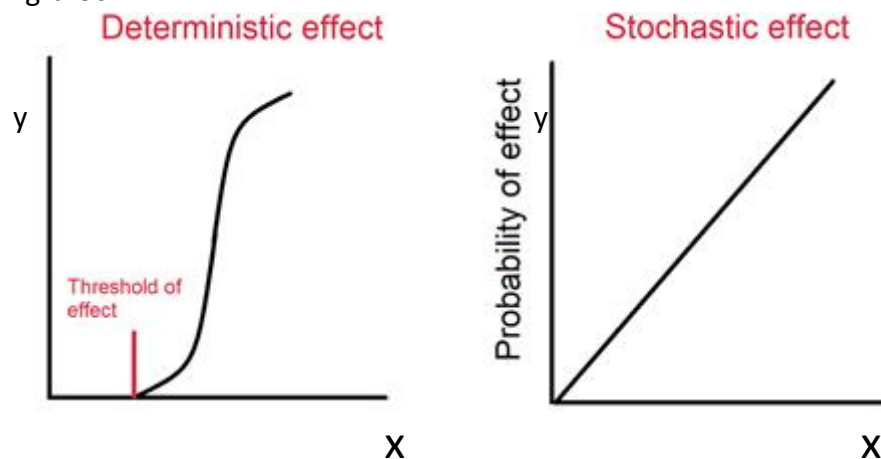
- 3.3.1 Tento človek má nádor mozgu, keďže tu pozorujeme najsilnejší signál. ÁNO/NIE
- 3.3.2 Tento človek má pravdepodobne nádor pečene pre silný, nehomologický signál vychádzajúci z tejto oblasti. ÁNO/NIE
- 3.3.3 Tento človek má metastázy vo svalstve pravej dolnej končatiny. ÁNO/NIE
- 3.3.4 Tento človek má metastázy vo svalstve ľavej hornej končatiny. ÁNO/NIE



Box 14-1 figure 3
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Nemoc z ožiarenia

Nemoc z ožiarenia bola v ľudskej histórii pozorovateľná len niekoľkokrát – pri výbuchoch elektrární vo Fukušime a Černobyle, alebo pri výbuchoch jadrových bômb v Hirošime a Nagasaki. Pri týchto udalostiach bolo uvoľneného do prostredia veľké množstvo rádioaktívneho žiarenia. Toto žiarenie má 2 typy účinkov, ktoré vidíte na nasledujúcich grafoch:



Na osiach y je vyjadrená **miera účinku** a na osiach x sú vyjadrené **dávky ionizujúceho žiarenia** v Grayoch (1Gray zodpovedá 1 Joulu energie ionizujúceho žiarenia na 1kg hmoty). Graf **stochastických účinkov** vyjadruje bezprahovú pravdepodobnosť výskytu patologických zmien v organizme, medzi ktoré patrí napríklad nádorové bujnenie. Graf **deterministických účinkov** zahŕňa prah minimálnej dávky potrebnej pre patologické zmeny v organizme – medzi takéto zmeny patrí napríklad nemoc z ožiarenia.

3.4 Zakrúžkujte pravdivé tvrdenia:

- a) Stačí minimálna dávka, napríklad bežné rádiologické vyšetrenie na nárast pravdepodobnosti rozvoja nádorového ochorenia v budúcnosti.
- b) Vychádzajúc z deterministických účinkov ionizujúceho žiarenia, bežné rádiologické vyšetrenie nie je schopné vyvolať nádorové bujnenie.
- c) U niekoho, kto dostal nemoc z ožiarenia z malej dávky neexistuje pravdepodobnosť, že sa uňho vyskytne rakovina.
- d) U niekoho, kto prekonal nemoc z ožiarenia je vysoká pravdepodobnosť výskytu rakoviny v budúcnosti.

3.5 V nasledujúcej tabuľke šípkami prepojte jednotlivé názvy rôznych fáz s ich príznakmi a určte poradie, v ktorom nastupujú.

Poradie	Názov fázy		Príznaky a charakteristika
	Obdobie plného rozvoja nemoci		Bezpríznakové obdobie, nastala totálna mobilizácia imunity
	Obdobie počiatočných príznakov		Horúčka, imunitný kolaps, tachykardia, extrasystoly, prelomenie bariéry črevnej steny a črevnej mikroflóry, hnačka s prímiesou krvi, narušená erytropoéza, prudká strata hmotnosti, sepsa
	Obdobie rekonvalescencie		Nevoľnosť, slabosť, zvracanie, bolesti hlavy, hnačka, sucho v ústach
	Obdobie bez klinických príznakov		Zníženie teploty, obnovenie chuti do jedla, spánkového rytmu, sterilita

Autor: Ján Hunák

Recenzia: doc. Mgr. Miroslava Slaninová, PhD.