

ТЕМА 2. РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

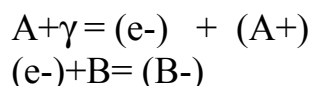
Контрольные вопросы:

1. Ионизация вещества при действии излучения.
2. Хронология эффектов в тканях биологических объектов.
3. Дать понятие интерфазной и репродуктивной гибели клеток.
4. Радиочувствительность и закон Бергонье – Трибондо.
5. Радиочувствительность опухолевой ткани.
6. Фазы лучевой реакции.
7. Классификация опухолей по принципу радиочувствительности.
8. Перечислить факторы, определяющие радиочувствительность опухолей.
9. Связь морфологи и гистогенеза опухоли с радиочувствительностью.
10. Связь радиочувствительности опухоли и фазы клеточного цикла.
11. Дать понятие кислородного эффекта. Радиочувствительность и кислородный эффект.
12. Радиочувствительность и гетерогенность популяции опухолевых клеток.
13. Связь плоидности клеток опухоли и радиочувствительности.
14. Роль апоптоза в гибели опухолевых клеток.
15. Описать механизм апоптоза при действии ионизирующего излучения.
16. Факторы, обуславливающие эффективность лучевой терапии кроме радиочувствительности.
17. Как на эффективность лучевой терапии влияет наличие предшествующего облучения.
18. Как на эффективность лучевой терапии влияет объём облучаемых тканей.
19. Как на эффективность лучевой терапии влияет вид излучения.
20. Как на эффективность лучевой терапии влияет время облучения.
21. Дать понятие «летальная доза для опухоли».
22. Дать понятие «толерантной дозы для тканей».
23. TDF понятие, определение.
24. Дать понятие о радиосенсибилизации и радиосенсибилизаторах.

Все виды ионизирующих излучений действуют на биологические объекты, то есть на клетку, органы и организмы, то есть обладают биологическим действием. В основе биологического действия лежит

физический процесс взаимодействия радиации с веществом, то есть его ионизация. Ионизация возникает при воздействии α и β -частиц или при действии вторичных частиц, образующихся при взаимодействии фотонов электромагнитного излучения (рентгеновского, γ) с веществом (образование вторичных электронов), либо при поглощении нейтрона. Энергия ионизирующего излучения в тканях (веществе) переносится не только путём ионизации, но и с образованием других, более длинноволновых излучений, в том числе ультрафиолетового и инфракрасного.

Реакцию ионизации схематично можно выразить как выражение:



Где атом А под действием кванта ионизирующего излучения теряет электрон, превращая его в положительный ион (A^+). Свободный электрон (e^-) присоединяясь к нейтральному атому В превращает его в отрицательный ион (B^-).

Ионизирующие излучения взаимодействует с веществом по одному типу, то есть, передают свою энергию атомам вещества, вызывая их возбуждение и ионизацию. Схематично последовательность реакций можно было бы представить в следующем виде:



При прохождении фотона или электрона излучения возникают свободные радикалы из образовавшихся пар ионов. Эти радикалы являются очень реакционноспособными, и они в клетках производят первые химические изменения. В присутствии кислорода образуются продукты радиолиза, обладающие окислительными свойствами. Эти продукты соединяются с структурными белками, ферментами и ДНК, повреждая их, что приводит к гибели клеток.

Хронология биологических эффектов от действия ионизирующего излучения на организм выглядит следующим образом:

Стадии лучевого поражения (Переслегин И.А., Саркисян Ю.Х 1973)

Время	Уровень поражения
10^{-12} секунд	Физическое взаимодействие, поглощение энергии, ионизация и возбуждение молекул
10^{-9} секунд	Первичные радиохимические реакции, образование радикалов
10^{-3} секунд	Изменение молекул, нарушение биохимии клеток
Секунды – минуты	Поражение структур клеток, - ДНК
Минуты – часы	Нарушение морфологии клеток, их гибель
Часы - минуты	Нарушение функции органа, морфологические изменения в системах
Сутки – месяцы	Гибель организма, лучевая болезнь, лучевые реакции
Годы	Отдалённые соматические последствия: понижение сопротивляемости организма, сокращение продолжительности жизни, развитие опухолей, дистрофические изменения тканей
Поколения	Генетические последствия облучения

В радиобиологии известна так называемая видовая чувствительность, которая заключается в том, что различные виды животных погибают в 100% в течении 14-30 суток от различных доз излучения. Так смертельная доза для собаки составляет 6Гр, морская свинка 5 Гр, Крысы 8 Гр, кролик 12,5 Гр.

Различают два вида гибели клеток: это репродуктивная и интерфазная гибель. Интерфазная гибель связана с денатурацией структурных белков и ферментов процесса радиолиза, после которого наступают необратимые нарушения. Принципиально для этой формы гибели радиочувствительность клеток не играет большого значения.

Репродукционная гибель связана с радиочувствительностью тканей и наступает по прохождению нескольких делений. Причиной служит запуск программированной гибели клеток – апоптоза.

Радиочувствительность тканей и опухолей непосредственно связана с частотой деления, когда ДНК находится в состоянии дупликации в синтетической фазе клеточного цикла, и является наиболее доступной для внешних воздействий. Это положение было названное законом Бергонье – Трибондо (1906) и гласит, что чувствительность тканей к излучению прямо пропорциональна митотической активности и обратно пропорциональна дифференцировки ткани. Можно привести данные по радиочувствительности отдельных тканей и органов:

Эмбрион 0,25 Гр.

Лимфатическая ткань 0,25 Гр.
Яички 0,5 Гр.
Яичники 0,5 Гр. 5-листный мозг 0,5-1,0 Гр.
Тонкая кишка 1,0-2,0 Гр.
Кожа 3,0 Гр.
Глаз (эпителий хрусталика) 3,0-4,0 Гр.
Хрящевые клетки, остеобласты 4,0-6,0 Гр.
Железистый эпителий 10-40 Гр.
Печень 10-40 Гр.
Почки 10-40 Гр.
ЦНС 10-40 Гр.
Лёгкие 10-40 Гр.

Под радиочувствительностью опухоли принято понимать уменьшение её размера под воздействием облучения. Радиочувствительность является внутренним свойством опухолевых клеток. По этой характеристике выделяют радиочувствительные и радиорезистентные опухоли. Такое определение будучи достаточно удобным и обоснованным на объективном клиническом признаке, является односторонним, поскольку конечный благоприятный результат лучевой терапии не находится в прямой зависимости от радиочувствительности. Опыт показывает, что стойкая ремиссия может быть достигнута при опухолях, медленно поддающихся обратному развитию. Более того, опухоли быстро исчезающие после проведения лучевой терапии более склонны к раннему рецидивированию. Это привело к практическому выводу о необходимости лечить такие опухоли максимально необходимой дозой, не ограничиваясь минимальной, которая привела бы только к непосредственно регистрируемому эффекту.

Радиочувствительность опухоли не является постоянной величиной. По мере роста и развития опухоли она меняется. Более того эти изменения возможны в зависимости от физиологического состояния организма. Причинная обусловленность различной радиочувствительности пока не достаточно ясна, как в отношении опухолевых так и нормальных клеток, однако вполне ясно, что причины, определяющие радиочувствительность идентичны.

Для радиочувствительных тканей характерно сравнительно быстрое развитие структурных изменений, непосредственно за облучением с последующим развитием эффектов вплоть до её естественного завершения.

Выделяют 4 фазы в лучевой реакции:

- начальное активное разрушение свободных клеточных элементов с их одновременным удалением из органа

- последующая воспалению органа без видимого грубого распада клеток за счёт естественной убыли оставшихся неповреждённых клеток и подавления механизма клеточной регуляции
- восстановление
- поздние дистрофические изменения.

Выраженность проявления этих этапов зависит от величины дозы облучения. При больших дозах облучения этап восстановления может просто отсутствовать или быть выражен слабо.

В тканях с низкой чувствительностью морфологические изменения наступают крайне медленно. Иногда при дозе менее 10 Гр. изменения практически незаметны или выявляются только специальными методами. Например, нервная ткань обладает низкой радиочувствительностью, и дистрофические изменения могут возникнуть через какой-то временной интервал после сравнительно небольшой травмы. Это свойство облучённых тканей (не только нервной) хранить в себе лучевые повреждения иногда называют биологической памятью. Таким образом по современной классификации ВОЗ по признаку радиочувствительности выделяют три больших группы опухолей:

- высокая радиочувствительность
- умеренная радиочувствительность
- низкая радиочувствительность
- отдельно выделена меланома.

Факторы определяющие радиочувствительность

Морфология и патогенез. Опухоли одного гистологического строения могут по разному реагировать на облучение. Это особенно заметно, когда при высокой радиочувствительности (дисгерминомы, саркомы) у ряда больных облучение не приводит к ожидаемому эффекту. В прогностическом отношении микроскопическое строение опухоли не может служить надёжным фактором, хотя знание этих данных весьма важно. Гистологическое заключение представляет интерес по трём основным моментам:

- уточнение гистогенеза новообразования
- определение степени зрелости опухоли
- характеристика общей структуры новообразования по признакам составляющих всех элементов – паренхимы, стромы, сосудов.

Однако, в клинической практике остаётся справедливым утверждение, что радиочувствительность опухоли определяется преимущественно радиочувствительностью исходной нормальной ткани.

Таким образом, недифференцированные опухоли как правило являются радиочувствительными, и наоборот. Что касается морфологического определения зрелости в пределах однородной группы, имеющей единое гистологическое происхождение, то чёткого

определяющего значения морфология не имеет. В основе этого противоречия лежат два обстоятельства:

- основная масса опухоли имеет неоднородное строение, и различную зрелость
- морфология носит условно определяющий характер, то есть, признаки регистрируемые при морфологическом исследовании не столь существенны в сравнении с другими.

Выход из этой ситуации был найден в следующем компромиссе: по результатам биопсии оценивается радиочувствительность после одного – двух сеансов облучения.

Некоторые из опухолей представлены ниже в порядке убывания радиочувствительности:

- семинома;
- лимфоцитарная лимфома;
- другие лимфомы, лейкоз, миелома;
- эмбриональные саркомы, мелкоклеточный рак лёгкого, хорионкарцинома;
- саркома Юинга;
- аденокарцинома молочной железы и прямой кишки;
- переходноклеточный рак
- гепатома
- меланома
- глиома

Синхронность клеточного цикла. Другим фактором, влияющим на радиочувствительность опухоли является число клеток опухоли в определённой фазе клеточного цикла. Клетки, способные к делению, в том числе и опухолевые, проходят определённые фазы митотического цикла:

- пресинтетический период (G1)
- синтетический (S)
- премитотический (G2)
- собственно митоз (M).

Фаза G1 наиболее интересна для радиологов так как в эту фазу происходит подготовка к дупликации ДНК. Наиболее чувствительны к облучению клетки находящиеся в пресинтетической фазе G1 и митозе. Возможны ситуации когда при помощи фармакологических средств можно достигнуть синхронизации фаз клеточного цикла и провести лучевую терапию в наиболее благоприятных условиях.

Кислородный эффект. Под этим термином понимается изменение чувствительности биологических объектов по действием парциального давления кислорода в тканях. Толчком к исследованиям в этой области послужили экспериментальные данные о снижении чувствительности тканей к облучению при снижении кровотока в них. Это привело к серии работ посвящённых исследованию роли кислорода в повреждающем

действию ионизирующего излучения. Явление усиления или ослабления повреждающего действия ионизирующего излучения в зависимости от парциального давления кислорода в тканях носит название кислородного эффекта. Максимальное возможное значение кислородного эффекта не более 3. Расчёт эффекта производится следующим образом:

$$ККУ = D_a / D_k$$

Где D_a – доза в аноксическом состоянии

D_k – доза в кислородном состоянии

Главное условие – эти дозы должны быть эквивалентны, то есть вызывать одинаковое биологическое действие.

При прохождении ионизирующего излучения возникает вследствие радиолиза воды перекисные соединения (H_2O_2) которые обладают выраженной окислительной способностью. Фракция выживших опухолевых клеток будет меньше при наличии высокого парциального давления кислорода и наоборот. Так для того чтобы добиться фракции выживания в 0,001% необходимо облучение в 46 Гр. для аноксичных и 20 Гр. для оксигенированных клеток, то есть чувствительность увеличивается почти в 2 раза.

Из этого можно сделать вывод: величина фракции выживания облучённых клеток в данной популяции можно поставить в прямую зависимость с количеством аноксичных клеток. То есть по мере увеличения опухоли, количество клеток в центре увеличивается, что приводит к увеличению фракции аноксичных, или резистентных к облучению клеток. Естественно, что вероятность полного излечения опухоли и вероятность рецидива будет зависеть от этой фракции выживших клеток.

Гетерогенность клеточных популяций в опухоли. На протяжении жизни опухоли происходит селекция (отбор) одних клонов на другие, которые вследствие мутаций находятся в более выигрышном положении. На смену радиочувствительным клоном, после их гибели, приходят другие менее чувствительные. Часто эта низкая чувствительность ассоциируется с мутацией по гену p53.

Радиорезистентность опухоли зависит от количества клеток находящихся в «дремлющем» состоянии, то есть вне деления, когда генетический материал плотно упакован и малодоступен для ионизирующей радиации.

Количество хромосом и ДНК. Другим фактором, обуславливающим радиочувствительность является плоидность клеток. Так гаплоидные клетки более чувствительны к облучению, чем диплоидные, а те, в свою очередь более чувствительны чем полиплоидные механизм этого явления скорее всего заключается в компенсации повреждённых участков ДНК за счёт неповреждённых, аналогичных, дублирующих структур.

Механизм лучевого повреждения клеток.

При экспериментальном облучении культуры клеток HeLa была выявлена интересная закономерность, при дозе облучения 1 Гр. выживаемость клеток составила 50%, при дозе 3 Гр. – 10%, при дозе 5 Гр. – 1%. При дозе выше 5 Гр. происходило уменьшение процента выживших клеток, однако никогда не достигало 100% при терапевтических дозах, и для полной стерилизации были необходимы значительно более высокие дозы облучения.

После облучения судьба клеток в данной популяции различна. Одна часть погибнет сразу или через 1-2 деления, другие сохраняют способность к делению. У ряда выживших клеток сублетальные изменения ДНК не подвергаются репарации сразу что делает их более чувствительными к повторному облучению. Степень уязвимости постепенно уменьшается с течением времени после момента облучения. В большинстве случаев время репарации колеблется от нескольких часов до суток.

Как уже отмечалось, в основе гибели нормальных и опухолевых клеток лежит такое универсальное биологическое явление как апоптоз. Апоптоз – это запрограммированная гибель клетки. Геномная целостность поддерживается сложной системой слежения, обеспечивающей сигналы к продолжению или остановке клеточного цикла для репарации ДНК. Мутация в любом месте этой системы может нарушить целостность хромосомной архитектуры. Гены, контролирующие эту систему, называются генами критических точек. На клеточном уровне существует комплекс молекулярных путей восприятия генетических повреждений и ответа на них. Существуют гены, которые интегрируют правильное восприятие средовых сигналов и адекватность клеточного ответа на них. В клетках млекопитающих такой интегральной функцией обладает ген p53, который ещё называют «блюстителем генома». Ген p53 позволяет остановить в нужный момент клеточный цикл и в неблагоприятных условиях и предотвращает возникновение резистентных опухолевых клонов.

Ген p53 получает информацию о повреждении ДНК и запускает каскад событий, приводящих к остановке роста. В этом случае происходит быстрое накопление белка p53 в клетке, что приводит к блоку клеточного цикла. По завершении репарации наступает супрессия гена p53, что приводит к снятию блока с клеточного цикла. В свою очередь, мутантные по гену p53 клетки входят в цикл с нерепарированной и повреждённой ДНК.

Ген p53 выступает как сенсор повреждения ДНК и стимулятор репарации, однако, если повреждения значительны и необратимы (нерепарабельны) то в клетке запускается каскад событий приводящих к апоптозу. Ген p53 активирует транскрипцию гена p21 продуцирующий белок - ингибитор циклиновых протеинкиназ. Для продолжения

клеточного цикла необходима активация циклиновых протеинкиназ путём фосфорилирования, однако, ген p21 блокирует её.

В основе лучевой терапии лежит запуск механизма апоптоза в опухолевых клетках. Понятно, что в процессе лучевой терапии происходит селекция резистентных к терапии клонов (чаще – мутировавших по гену p53), что приводит к резистентности опухоли к лучевой терапии в случае неудачного лечения.

Кроме радиочувствительности тканей и опухоли на эффективность влияет режим и методика проведения лучевой терапии. К факторам, обуславливающим эту эффективность можно отнести:

- наличие предшествующего облучения;
- объём облучаемых тканей;
- вид излучения;
- время облучения;

Как было показано рядом авторов, предшествующее облучение опухоли, не приведшее к полному излечению, значительно снижает вероятность достижения ремиссии при повторном облучении. Это связано скорее всего с селекцией радиорезистентных клонов. Это лишний раз доказывает, что первый курс лучевой терапии должен быть проведён в терапевтической дозе, в полном объёме.

Объём облучаемых тканей определяет биологическую реакцию. Преимущество облучения меньших объёмов тканей в том, что здоровые ткани выдерживают большую нагрузку. Однако, при этом всегда имеется риск оставить необлучённые опухолевые клетки за пределами видимой опухоли. Увеличение объёма облучаемых тканей приводит к увеличению радиочувствительности здоровых тканей, что приводит к увеличению лучевых реакций и осложнений. Методика проведения лучевой терапии не должна приводить к разрушению окружающих тканей и ложа опухоли. Нельзя превышать оптимальные дозы, особенно при больших объёмах облучаемых тканей. Это связано с тем, что регенерация после завершения курса облучения, должна начаться именно из ложа опухоли. С другой стороны наличие аноксичных, радиорезистентных клеток не исключает рецидива заболевания. Это обстоятельство привело к появлению компромиссной тактики: в начале облучению подвергаются большие объёмы, после чего поле облучения концентрируется непосредственно на видимом объёме опухоли.

Зависимость терапевтического эффекта от вида излучения. Эта зависимость скорее от энергии излучения и ионизирующей способности частиц и фотонов, от их проникающей возможности.

Значение биологического эффекта от времени и фракционирования облучения. При этом учитывается протяженность и дробность облучения во времени. Терапевтический эффект значительно повышается при

увеличении времени экспозиции и фракционирования. Биологический эффект излучения с увеличением мощности излучения.

В настоящее время в клинической практике находят применение:

- одномоментное облучение
- непрерывное облучение (внутритканевая и аппликационная терапия)
- дробное или фракционное облучение а. мелкие фракции 2-2,5 Гр., среднее фракционирование 2-4 Гр., в. крупное фракционирование 4-6 Гр.

Для отражения биологической особенности облучаемой опухоли вводится такое понятие как «летальная доза для опухоли», которая зависит от многих факторов: степени дифференцировки опухоли, расположения, объёма, гистогенеза. К тому же нельзя полностью исключить влияние случайностей на полное излечение. Это привело к тому, что местная «летальная доза для опухоли» даётся, как правило, с 90% вероятностью (таблица 1).

Таблица 1.

Дозы необходимые для достижения 90% вероятности местного излечения опухоли

Тип опухоли	Стадия или объём	Уровни доз (Гр в течении X недель)	ВДФ(TDF)
Аденокарцинома или плоскоклеточный рак	N0 (субклинический)	50 /5	82
	T1	50/4	93
	Ранний T2	52/4 60/6	100
	T2-T3 N1	70/7 66/6 58/4	115
Лимфогранулематоз	< 100 см ³	30/3	50
	> 100 см ³	40/4	66
Семинома	N1-3	30/3	60
Лимфосакома	< 100 см ³	30/3	50
Саркомы	T1-2	70/6	>125

При анализе таблицы видно, что для излечения с 90% вероятностью (то есть одного и того же эффекта) одного и того же заболевания в одной стадии возможно с помощью разных доз, но подведённых в различных режимах. Так, для рака T2-3 возможен одинаковый эффект при суммарной дозе в 70 Гр за 7 недель по 5 сеансов в неделю, и 58 Гр, подведённых за 4

недели по 5 сеансов в неделю. Для количественной оценки радиочувствительности опухоли используется эквивалент единой номинальной стандартной дозы. Наиболее признанным в настоящее время является расчёт фактора время – доза – фракционирование (ВДФ, или TDF).

Таблица 2.

Толерантная доза, дающая 5% вероятность значительных повреждений здоровых тканей

Тип тканей	Объём	Уровни доз (Гр в течении X недель)	ВДФ(TDF)
Соединительная ткань	< 500 см ³	63/6	107
	> 500 см ³	60/6	100
Печень	Весь орган	30/3	50
	< 50% органа	40/4	66
Почка	Весь орган	20/2	33
	< 30% органа	60/6	100
Лёгкое	Весь орган	30/3	50
	< 100 см ³	60/6	100
Кожа	< 2 см (диаметр)	90/3	125
	< 10 см (диаметр)	55/3	92
	< 30 см (диаметр)	45/3	92
Спинной мозг	5 см (длина)	45/3	92
	< 10 см (длина)	50/5	82
	< 10 см (длина)	45/4,5	75
Кишечник	< 100 см ³	45/4,5	75
	Весь живот	30/3	50

Поскольку мы пытаемся излечить больного толерантными дозами облучения, необходимо реально оценить риск лучевых осложнений. В противоположность излечению опухолей, здесь действует обратный закон: чем больший объём тканей подвергается облучению, тем меньшая доза способна вызвать осложнения. Различные ткани обладают различной толерантностью к облучению. Толерантная доза обычно приводится с 5% вероятностью значительного повреждения тканей. (таблица 2).

Радиосенсибилизация. Под радиосенсибилизацией или радиомодификацией понимается комплекс мер, направленный на увеличение радиочувствительности опухоли, и, наоборот, увеличение радиорезистентности организма и нормальных тканей. Это возможно, если найти какое-то существенное различие в физиологии этих опухоли и организма и, используя эти различия добиться полного уничтожения опухолевых клеток при минимальном повреждении нормальных.

Химические радиомодификаторы:

- электроноакцепторные соединения (метранидозол)
- воздействующие на синтез и структуру ДНК (антрациклины, Д-актиномицин)
- воздействующие на синтез РНК (5-фторурацил)
- воздействие на клеточный цикл (5-фторурацил, винкристин, блеомицин, колхицин).

Физические радиомодификаторы:

- использование кислородного эффекта
- гипертермия
- гипотермия.