

Э.А. Дёмина

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии

им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

E-mail: edjomina@ukr.net

Относительная биологическая эффективность ионизирующих излучений, используемых в лучевой терапии онкологических больных

Представлено академиком НАН Украины В.Ф. Чехуном

Наибольшее практическое значение в клинической радиобиологии и лучевой терапии онкологических больных имеют быстрые нейтроны, которые характеризуются высокой плотностью ионизации и глубоко проникают в опухоль. Однако побочными эффектами их действия является развитие поздних тяжелых лучевых осложнений. Поэтому является актуальным исследование закономерностей формирования относительной биологической эффективности (ОБЭ) нейтронов конкретной энергии в зависимости от дозы и степени радиочувствительности/радиорезистентности облучаемых клеток (положения в митотическом цикле). Изучена ОБЭ быстрых нейтронов в зависимости от их энергии (6 и 22 МэВ), величины поглощенной дозы и стадии митотического цикла культуры лимфоцитов периферической крови человека (цитогенетическое исследование). Наибольшие значения ОБЭ нейтронов с энергией 6 МэВ (в диапазоне доз 0,32–2,67 Гр) по выходу аберраций хромосом отмечены при воздействии на культуру лимфоцитов в G_2 -стадии, наименьшие — при воздействии в S-стадии. Промежуточное положение занимают значения ОБЭ нейтронов при облучении культуры лимфоцитов в G_0 - и G_1 -стадии. В диапазоне доз 0,2–4,0 Гр величина ОБЭ нейтронов с энергией 22 МэВ наиболее значима в интервале доз 0,2–2,0 Гр, обычно используемых в клинической практике. С повышением дозы облучения ОБЭ нейтронов обеих энергий падает. Таким образом, максимальную биологическую эффективность быстрые нейтроны проявляют при облучении в диапазоне малых доз и в наиболее радиочувствительном состоянии клеток (G_2 -стадия митотического цикла). К настоящему времени в Украине не сохранен приоритет нейтронной терапии для лечения онкологических больных и, соответственно, отсутствует концепция ее дальнейшего развития. Полученные нами данные указывают на то, что при терапевтическом использовании излучений с высокой плотностью ионизации в клинической онкологии имеют значение предклинические биодозиметрические исследования с целью уточнения их ОБЭ.

Ключевые слова: быстрые нейтроны, относительная биологическая эффективность, аберрации хромосом, стадия клеточного цикла, лучевая терапия.

Лучевая терапия продолжает оставаться эффективным методом лечения рака [1–3]. В ряде случаев она является альтернативой хирургическому методу, позволяя в течение длительного времени контролировать развитие опухолей различных локализаций — головы и шеи, легких, шейки матки, мочевого пузыря, предстательной железы, кожи [3].

Для количественной оценки и сравнения медико-биологических эффектов при действии различных видов ионизирующих излучений (ИИ) в одинаковой поглощенной дозе введено понятие об относительной биологической эффективности (ОБЭ). В качестве стандартного ИИ используют рентгеновское излучение с энергией 180–250 кэВ либо гамма-излучение с энергией около 1 МэВ. ОБЭ вычисляют из обратного отношения сравниваемых доз, обуславливающих тот же эффект.

Наибольшее практическое значение в клинической радиобиологии и лучевой терапии имеют быстрые нейтроны, которые характеризуются высокой плотностью ионизации и глубоко проникают в ткани (опухоли). Однако побочными эффектами дистанционной нейтронной терапии онкологических больных остается развитие поздних лучевых осложнений. С целью их минимизации необходимо знание закономерностей формирования ОБЭ нейтронов конкретной энергии и зависимости как от дозы, так и от степени радиорезистентности клеток (положения их в митотическом цикле). Такие сведения также необходимы для обоснования предельно допустимых доз и радиационной защиты персонала.

ОБЭ не является постоянной величиной и зависит от дозы излучения, то есть от уровня повреждений. Установлена зависимость между линейным переносом энергии (ЛПЭ) и ОБЭ нейтронов. Так, ОБЭ нейтронов относительно индукции аберраций хромосом в лимфоцитах человека возрастает до определенного предела энергии — 0,2–0,4 МэВ, что соответствует ЛПЭ порядка 100–200 КэВ/мкм, после чего происходит ее спад. Исследования на молекулярном уровне клеток показали, что под действием нейтронов повышается выход двунитевых разрывов ДНК, максимум которых отмечается также при ЛПЭ 100–200 КэВ/мкм. Совпадение максимума ОБЭ нейтронов для выхода двунитевых разрывов и аберраций хромосом при одном и том же значении ЛПЭ логично, поскольку в основе образования радиационно-индуцированных аберраций лежат двойные разрывы ДНК.

Установлено, что различия между радиорезистентными (недостаточно оксигенированными) и радиочувствительными (оксигенированными) клетками при действии ИИ с высоким ЛПЭ снижаются. Быстро делящиеся клетки, выжившие после воздействия нескольких фракций терапевтического облучения, погибают позже, находясь в радиочувствительной стадии вследствие процесса под названием «радиосенсибилизация, зависящая от стадии клеточного цикла». Это изменение радиочувствительности, которое зависит от положения клеток в митотическом цикле, проявляется в меньшей степени при действии ИИ с высоким ЛПЭ [4, 5]. При этом следует ориентироваться на баланс между гибелью клеток опухоли и здоровых тканей [6]. Поэтому изучение ОБЭ в зависимости от стадии клеточного цикла является актуальным для предклинических радиобиологических исследований.

Важную роль при количественной оценке качества ИИ на основе ОБЭ играет анализ частоты радиационно-индуцированных аберраций хромосом при облучении клеток *in vitro* [7].

Цель исследования — изучить ОБЭ быстрых нейтронов в зависимости от их энергии, величины поглощенной дозы и стадии митотического цикла лимфоцитов периферической крови человека.

Материал и методы. Биодозиметрическое исследование выполнено на основе тест-системы лимфоцитов (Т-лимфоциты) периферической крови доноров. В работе руководствовались положением Хельсинской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (2008), которая предусматривает информированное согласие доноров на участие в исследовании.

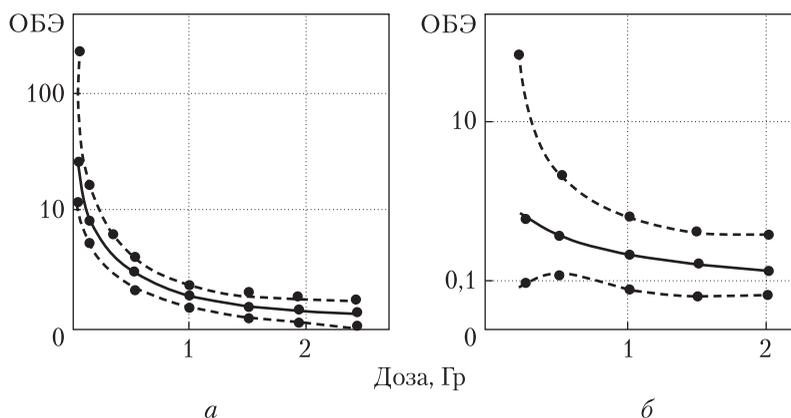


Рис. 1. Зависимость ОБЭ нейтронов (6 МэВ) от дозы при облучении лимфоцитов в G_0 - (а) и G_1 -стадии (б) митотического цикла. Сплошная линия — среднее значение ОБЭ; пунктирные — доверительный интервал 95 % значимости

Облучение культур клеток быстрыми нейтронами со средней энергией 6 и 22 МэВ выполнено на циклотронах У-120 и У-240 Института ядерных исследований НАН Украины. При облучении культур клеток нейтронами для выполнения условий протонного равновесия использовали флаконы из оргстекла, которые по содержанию водорода близки к биологическим тканям. Контроль значений поглощенной дозы осуществляли при помощи ионизационного метода, активационного анализа, а также путем прямого измерения величины заряда на мишени [8]. Мощность доз нейтронов используемых двух энергий составляла 0,16 и 1,0 Гр/мин соответственно. Культуру лимфоцитов облучали через 0, 24, 40 и 48 ч от начала инкубации, что соответствует G_0 -, G_1 -, S-, G_2 -стадиям митотического цикла. Клетки культивировали согласно стандартному протоколу [9] с некоторыми модификациями. Фиксацию клеток, облученных в различных стадиях митотического цикла, проводили через 52 ч от начала инкубации. При облучении клеток во второй половине митотического цикла с учетом радиационной задержки митозов дополнительно выполняли фиксацию клеток через 62 ч. Метафазный анализ аберраций хромосом проводили на равномерно окрашенных цитогенетических препаратах.

Для определения ОБЭ нейтронов часть культур лимфоцитов облучали на установке “Луч” фотонами ^{60}Co в диапазоне доз 0,25–4,0 Гр при мощности дозы 0,5 Гр/мин.

ОБЭ нейтронов вычисляли из обратного отношения сравниваемых доз, обуславливающих одинаковый биологический эффект, по формуле

$$\text{ОБЭ} = \text{доза стандартного излучения} / \text{доза изучаемого излучения}.$$

Результаты и обсуждение. Сравнительный анализ радиочувствительности хромосом при действии гамма-лучей и быстрых нейтронов со средней энергией 6 МэВ показал большую эффективность последних и позволил впервые определить их ОБЭ в зависимости не только от дозы облучения, но и от стадии митотического цикла, то есть от степени радиочувствительности клеток.

Установлено, что с увеличением дозы ОБЭ нейтронов падает. Так, при облучении в G_0 -стадии в диапазоне доз 0,32–2,67 Гр ОБЭ снижается в 2,6 раза, а в G_1 -стадии в диапазоне

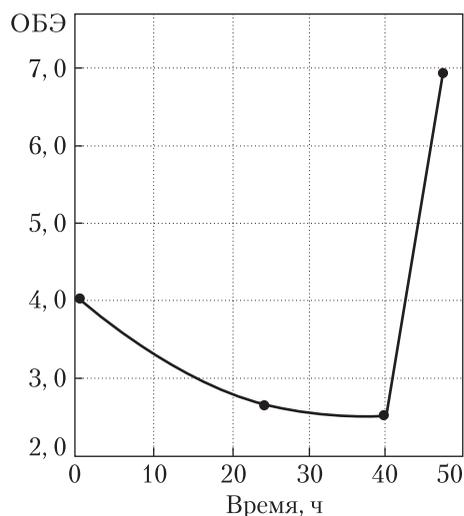


Рис. 2. Зависимость ОБЭ нейтронов (6 МэВ) от стадии митотического цикла лимфоцитов (доза 0,23 Гр)

G_2 -стадии, наименьшие — при воздействии в S-стадии. Промежуточное положение занимают значения ОБЭ нейтронов при облучении культуры лимфоцитов в G_0 - и G_1 -стадии. Отсюда следует, что динамика ОБЭ нейтронов не повторяет полностью характер кривой “стадия—эффект” по выходу aberrаций хромосом. Вероятнее всего это обусловлено отмеченными нами ранее в работе [5] различиями в характере кривых “стадия—эффект” при действии гамма-лучей и нейтронов этой же энергии.

Мы сравнили особенности цитогенетических эффектов, индуцированных быстрыми нейтронами со средней энергией 6 МэВ, с эффектами быстрых нейтронов с энергией 22 МэВ, планируемых для более глубоко расположенных опухолей, при действии на культуру лимфоцитов человека в G_0 -стадии. В диапазоне доз 0,2–4,0 Гр величина ОБЭ нейтронов с энергией 22 МэВ наиболее значима в интервале доз 0,2–2,0 Гр, обычно используемых в клинической практике (таблица).

Дозовая зависимость значений ОБЭ быстрых нейтронов со средней энергией 22 МэВ для частоты aberrаций хромосом в культуре лимфоцитов

Доза, Гр	ОБЭ нейтронов
0,2	2,80
0,5	2,44
1,0	1,86
2,0	1,37
3,0	1,13
4,0	0,98

доз 0,23–1,85 Гр — в 2,2 раза. Таким образом, максимальные значения ОБЭ нейтронов отмечаются в области низких доз. Наблюдаемое соотношение между дозой нейтронов и их ОБЭ в G_0 - и G_1 -стадии митотического цикла более наглядно представляется в графическом изображении (рис. 1). В S- и G_2 -стадии с увеличением дозы ОБЭ нейтронов также падает. Максимальные значения ОБЭ нейтронов регистрируются при облучении лимфоцитов в G_2 -стадии.

Таким образом, с повышением дозы ОБЭ нейтронов на всех стадиях митотического цикла стимулированных лимфоцитов периферической крови уменьшается.

На основании цитогенетических данных (рис. 2) можно выделить следующие закономерности изменения ОБЭ нейтронов на протяжении митотического цикла. Наибольшие значения ОБЭ нейтронов отмечаются при воздействии на культуру лимфоцитов в

G_2 -стадии, наименьшие — при воздействии в S-стадии. Промежуточное положение занимают значения ОБЭ нейтронов при облучении культуры лимфоцитов в G_0 - и G_1 -стадии. Отсюда следует, что динамика ОБЭ нейтронов не повторяет полностью характер кривой “стадия—эффект” по выходу aberrаций хромосом. Вероятнее всего это обусловлено отмеченными нами ранее в работе [5] различиями в характере кривых “стадия—эффект” при действии гамма-лучей и нейтронов этой же энергии.

Мы сравнили особенности цитогенетических эффектов, индуцированных быстрыми нейтронами со средней энергией 6 МэВ, с эффектами быстрых нейтронов с энергией 22 МэВ, планируемых для более глубоко расположенных опухолей, при действии на культуру лимфоцитов человека в G_0 -стадии. В диапазоне доз 0,2–4,0 Гр величина ОБЭ нейтронов с энергией 22 МэВ наиболее значима в интервале доз 0,2–2,0 Гр, обычно используемых в клинической практике (таблица).

Таким образом, прослеживается общая закономерность цитогенетического действия быстрых нейтронов (6 и 22 МэВ): с увеличением дозы ОБЭ уменьшается, стремясь к нулю. Полученные экспериментальные данные, касающиеся определения значения ОБЭ быстрых нейтронов со средней энергией 6 и 22 МэВ в зависимости от дозы ионизирующего излучения, а также радиорезистентности/радиочувствительности иммунокомпетентных клеток (Т-лимфоцитов крови), учитывали при планировании нейтронной терапии больных с опухолями различных ло-

кализаций в Институте онкологии АМН Украины (в настоящее время Национальный институт рака МЗ Украины) на базе медико-биологического комплекса циклотрона У-120 Института ядерных исследований НАН Украины [10, 11].

На основании результатов исследования можно сделать вывод, что в отличие от редкоизирующих излучений биологические эффекты нейтронов с высокими значениями ЛПЭ менее зависимы от резистентности гипоксических клеток, радиочувствительности различных периодов клеточного цикла, репарации сублетальных и потенциально летальных повреждений. Однако одной из проблем дистанционной нейтронной терапии остается развитие тяжелых лучевых осложнений. При эффективном терапевтическом использовании таких излучений существенная роль принадлежит их радиобиологическому обеспечению (сопровождению).

Дистанционная нейтронная терапия вошла в число стандартных терапевтических процедур в онкологических центрах США, Японии, Германии, Франции, России, ЮАР и других стран. При этом в качестве источников нейтронов служат циклотроны либо ускорители любого типа [12]. В Украине, к сожалению, не сохранен приоритет нейтронной терапии для лечения онкологических больных и, соответственно, отсутствует концепция ее дальнейшего развития. Специалисты в области радиационной онкологии и клинической радиобиологии [2, 13] обоснованно надеются, что в обозримом будущем в Украине будет создана научная и клиническая база для проведения интенсивных исследований по использованию новейших технологий в нейтронной терапии с целью повышения эффективности лечения онкологических больных.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Delaney G., Jacob S., Featherstone C., Barton M. The role of radiotherapy in cancer treatment: estimating optimal utilization from a review of evidence-based clinical guidelines. *Cancer*. 2005. **104**. P. 1129–1137.
2. Иванкова В.С., Дёмина Э.А. Проблемы резистентности опухолей в радиационной онкологии. Клинические и радиобиологические аспекты. Киев: Здоров'я, 2012. 190 с.
3. Джойнер М.С., ван дер Когель О. Дж. Основы клинической радиобиологии. Москва: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. 600 с.
4. Chapman J.D. Biophysical models of mammalian cell inactivation by radiation. *Radiation biology in cancer research*: Meyn R.E., Withers H.R. (Eds). New York: Raven Press, 1980. P. 21–32.
5. Гриневич Ю.А., Дёмина Э.А. Иммунные и цитогенетические эффекты плотного- и редкоизирующих излучений: Ярилина А.А. (ред.). Киев: Здоров'я, 2006. 200 с.
6. Britten R.A., Warenden H.M., Parkins C., Peacock J.H. The inherent cellular sensitivity to 62,5 MeV(p-Be) neutrons of human cells differing in photon sensitivity. *Int. J. Radiat. Biol.* 1992. **61**. P. 805–812.
7. Хвостунов И.К., Пятенко В.С., Шепель Н.Н., Коровчук О.Н., Голуб Е.В., Жиронкина А.С., Хвостунова Т.И., Лычагин А.А. Анализ хромосомных aberrаций в клетках млекопитающих при воздействии различных видов ионизирующего излучения. *Радиация и риск*. 2013. **22**, № 4. С. 43–50.
8. Дёмина Э.А., Черниченко В.А., Чеботарев Е.Е., Гулько Г.М. Цитогенетические эффекты 22 МэВ нейтронов. *Цитология и генетика*. 1990. **24**, № 4. С. 43–46.
9. Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna: IAEA, 2011. 232 p.
10. Черниченко В. А., Дёмина Э. А., Позмогов А. И. Оценка изозффективного распределения поглощаемой энергии быстрых нейтронов при терапевтическом облучении больных. *Врачеб. дело*. 1993. № 2/3. С. 110–113.
11. Черниченко В. А., Монич А. Ю., Дёмина Э. А., Сваричевская Е. В. Способ определения дозы облучения опухолей при нейтронной терапии: А. с. № 4101772; 1480180. 1989. Бюл. № 18.

12. Цыб А.Ф., Ульяненко С.Е., Мардынський Ю.С. Нейтрони в лечении злокачественных новообразований. Обнинск, 2003. 108 с.
13. Гриневич Ю.П., Дьоміна Е.А., Телецька С.В. Радіобіологічний супровід нейтронної терапії онкологічних хворих. *Вісн. НАН України*. 2011. № 4. С. 45–51.

Поступило в редакцію 17.06.2019

REFERENCES

1. Delaney, G., Jacob, S., Featherstone, C., & Barton, M. (2005). The role of radiotherapy in cancer treatment: estimating optimal utilization from a review of evidence-based clinical guidelines. *Cancer*, 104, pp. 1129-1137.
2. Ivankova, V. S. & Domina, E. A. (2012). Problems of tumor resistance in radiation oncology. Clinical and radiobiological aspects. Kyiv: Zdorovya (in Russian).
3. Joiner, M. C. & van der Kogel, A. J. (2009). Basic clinical radiobiology. London: Edward Arnold.
4. Chapman, J. D. (1980). Biophysical models of mammalian cell inactivation by radiation. In Meyn, R.E. & Withers, H.R. (Eds). Radiation biology in cancer research (pp. 21-32). New York: Raven Press.
5. Grynevich, Y. A. & Domina, E. A. (2006). Immune and cytogenetic effects of dense and rare ionizing radiation. Kyiv: Zdorovya (in Russian).
6. Britten, R. A., Warenus, H. M., Parkins, C. & Peacock, J. H. (1992). The inherent cellular sensitivity to 62,5 MeV(p-Be) neutrons of human cells differing in photon sensitivity. *Int. J. Radiat. Biol.*, 61, pp. 805-812.
7. Khvostunov, I. K., Pyatenko, V. S., Shepel, N. N., Korovchuk, O. N., Golub, E. V., Zhironkina, A. S., Khvostunova, T. I. & Lychagin, A. A. (2013). Analysis of chromosome aberrations induced in mammalian cells after exposure to different types of ionizing radiation. *Radiatsiya i risk*, 22, No. 4, pp. 43-50 (in Russian).
8. Domina, E. A., Chernichenko, V. A., Chebotarev, E. E. & Gulko, G. M. (1990). Cytogenetic effects of 22 MeV of the neutrons. *Cytology and genetics*, 24, No. 4, pp. 43-46 (in Russian).
9. Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna: IAEA, 2011.
10. Chernichenko, V. A., Domina, E. A. & Pozmogov, A. I. (1993). Estimation of the iso-efficient distribution of the absorbed fast neutron energy during the therapeutic irradiation of patients. *Vrachebnoe delo*, No. 2/3, pp. 110-113 (in Russian).
11. Chernichenko, V. A., Monich, A. Y., Domina, E. A. & Svarichevskaya, E. V. (1989). A method of determining the dose of tumor irradiation during neutron therapy: A. c. № 4101772; 1480180, Bul. № 18 (in Russian).
12. Tsyb, A. F., Ulyanenko, S. E. & Mardynsky, Y. S. (2003). Neutrons in treatment of malignant neoplasms. Obninsk (in Russian).
13. Grinevich, Y. P., Domina, E. A. & Teletska, S. V. (2011). Radiobiological support of neutron therapy of oncological patients. *Visn. Nac. Acad. Nauk Ukr.*, No. 4, pp. 45-51 (in Ukrainian).

Received 17.06.2019

Е.А. Дьоміна

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
E-mail: edjomina@ukr.net

ВІДНОСНА БІОЛОГІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ІОНІЗУЮЧИХ ВИПРОМІНЮВАНЬ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ В ПРОМЕНЕВІЙ ТЕРАПІЇ ОНКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ

Найбільше практичне значення в клінічній радіобіології і променевої терапії онкологічних хворих мають швидкі нейтрони, які характеризуються високою щільністю іонізації і глибоко проникають в пухлину. Однак побічними ефектами їх дії є розвиток пізніх тяжких променевих ускладнень. Тому актуальними є дослідження закономірностей формування відносної біологічної ефективності (ВБЕ) нейтронів конкретної енергії залежно від дози і ступеня радіочутливості / радіорезистентності опромінюваних клітин (положення в мітотичному циклі). Вивчено ВБЕ швидких нейтронів залежно від їх енергії (6 і 22 МеВ), величини поглиненої дози і стадії мітотичного циклу культури лімфоцитів периферичної крові людини (цитогенетичне дослідження). Найбільші значення ВБЕ нейтронів з енергією 6 МеВ (у діапазоні доз

0,32–2,67 Гр) щодо виходу аберацій хромосом визначені у разі дії на культуру лімфоцитів у G_2 -стадії, найменші – у випадку дії в S-стадії. Проміжне положення займають значення ВБЕ нейтронів при опроміненні культури лімфоцитів в G_0 - і G_1 -стадії. У діапазоні доз 0,2–4,0 Гр величина ВБЕ нейтронів з енергією 22 МеВ найбільш значуща в інтервалі доз 0,2–2,0 Гр, які використовуються в клінічній практиці. З підвищенням дози опромінення ВБЕ нейтронів обох енергій падає. Таким чином, максимальну біологічну ефективність швидкі нейтрони виявляють у разі опромінення в діапазоні малих доз і в найбільш радіочутливому стані клітин (G_2 -стадія мітотичного циклу). До теперішнього часу в Україні не збережено пріоритет нейтронної терапії для лікування онкологічних хворих і, відповідно, відсутня концепція її подальшого розвитку. Отримані нами дані вказують на те, що для терапевтичного використання випромінювань з високою щільністю іонізації в клінічній онкології мають значення передклінічні біодозиметричні дослідження з метою уточнення їх ВБЕ.

Ключові слова: швидкі нейтрони, відносна біологічна ефективність, аберації хромосом, стадія клітинного циклу, променева терапія.

E.A. Domina

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology

of the NAS of Ukraine, Kyiv

E-mail: edjomina@ukr.net

RELATIVE BIOLOGICAL EFFICIENCY OF IONIZING RADIATION THAT IS USED IN RADIATION THERAPY OF CANCER PATIENTS

Fast neutrons, which are characterized by high ionization density and penetrate deeply into a tumor, are of the greatest practical importance in clinical radiobiology and radiation therapy of cancer patients. However, the side effect of their action is the development of late severe radiation complications. Therefore, the study of the patterns of formation of the relative biological efficiency (RBE) of neutrons of a specific energy depending on the dose and degree of radio sensitivity/radio resistance of irradiated cells (the position in the mitotic cycle) is justified because of its importance. Objective of the study: to study the RBE of fast neutrons depending on their energy (6 and 22 MeV), absorbed dose, and stage of mitotic cycle of human peripheral blood lymphocyte culture (cytogenetic study). It is shown that the highest values of the RBE with the energy of 6 MeV (in the dose interval 0.32-2.67 Gy) for chromosome aberration yield are observed when exposed to the lymphocyte culture in the G_2 -stage, the lowest – when exposed in the S-stage. The intermediate position is occupied by the values of the RBE of neutrons at irradiation of the lymphocyte culture in the G_0 - and G_1 -stages. In the dose interval 0.2-4.0 Gy, the value of the RBE neutrons with the energy of 22 MeV is the most significant in the dose interval 0.2-2.0 Gy, which is commonly used in clinical practice. As the dose of the radiation exposure increases, the RBE of neutrons with both energies decreases. Thus, the maximum biological efficacy of fast neutrons is manifested by irradiation in the low-dose interval and in the most radiosensitive state of cells (the G_2 -stage of mitotic cycle). Currently, the priority of neutron therapy for the treatment of cancer patients has not been preserved in Ukraine and, accordingly, there is no concept of its further development. The data obtained by us indicate that it is advisable to conduct pre-clinical biodosimetric studies to clarify the RBE at the therapeutic use of radiation with high ionization density in clinical oncology.

Keywords: fast neutrons, relative biological efficiency, chromosome aberrations, cell cycle stage, radiation therapy.