

На правах рукописи

БОЧКАРЕВА
Татьяна Николаевна

**ОПОСРЕДОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО
ИЗЛУЧЕНИЯ НА ПРОЦЕСС МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ОПУХОЛИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-
КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

03.01.01 – радиобиология, биологические науки

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Москва 2010

Работа выполнена в Федеральном государственном учреждении
«Российский научный центр радиологии и хирургических технологий
Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи»

Научные руководители:

Доктор медицинских наук, профессор

Шутко Алексей Николаевич

Доктор медицинских наук

Мус Виктор Фёдорович

Официальные оппоненты:

Доктор биологических наук, профессор

Пелевина Ирина Ивановна

Доктор медицинских наук, профессор

Паньшин Георгий Александрович

Ведущая организация: Научно-исследовательский Испытательный центр
медико-биологической защиты Государственного Научно-
исследовательского испытательного института военной медицины МО
РФ, г. Санкт-Петербург

Защита диссертации состоится 8 октября 2010 г. в 15.30 на
заседании диссертационного совета Д 501.001.65 при Московском
государственном институте имени М.В.Ломоносова по адресу: 119991, г.
Москва, ГСП-1, Ленинские горы, дом 1, биологический факультет, ЛИК,
новая аудитория.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке биологического
факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Отзывы просим присылать по адресу: 119991, Москва, Ленинские
горы, МГУ, Биологический факультет, Веселовой Т.В.
Факс: (495) 939-11-15

Автореферат разослан « » августа 2010 г.

Учёный секретарь

диссертационного совета
доктор биологических наук

Веселова Т.В.

Общая характеристика работы

Актуальность исследования

При реализации планов лучевой терапии с радикальной целью в объем облучения попадают не только мишень, но и некоторый объем здоровых тканей, ее окружающих. Это вызвано как техническими причинами (характеристики пучка, надежность иммобилизации, движение мишени), так и существованием неопределенности в объеме распространения опухоли. И хотя дозы излучения, получаемые здоровыми тканями, значительно ниже, чем в целевой зоне, они способны вызывать радиационные эффекты, которые принято рассматривать как нежелательные осложнения лучевого лечения. Одним из наиболее распространенных осложнений является постлучевая гемодепрессия.

Однако клиническая и экспериментальная практика последних десятилетий указывает на то, что использование доз радиации “нетуморицидного диапазона” способных вызвать пострадиационные нарушения в системе кроветворения тормозит развитие злокачественных новообразований [Мус В.Ф., 1999; Юркова Л.Е., 2000]. Выживаемость больных мелкоклеточным раком легкого после лучевой терапии, сочетающей конвенциональное локальное и тотальное облучения тела (ТОТ) в суммарной дозе 1 Гр была сопоставима с результатами такого же лечения в сочетании с химиотерапией [Мус В.Ф., 1999]; выживаемость больных раком яичников после комбинированного лечения, включающего СТОТ (субтотальное облучение тела), его нижней половины, в суммарных дозах 1-9 Гр превосходила результаты выживаемости после традиционной терапии [Юркова Л.Е., 1998]. В эксперименте также было показано, что при проведении общего облучения (ТОТ, СТОТ), объем экранированной у животных опухоли уменьшался пропорционально степени постлучевого опустошения костного мозга при облучении тела в дозах, вызывающих постлучевой кроветворный синдром [Шатинина Н.Н., 1998].

Подобные противоопухолевые эффекты радиации нельзя соотнести с прямым воздействием ее на ткань опухоли, которое считается значимым в радиотерапевтическом плане, начиная с 20 Гр [Холин В.В., 1979]. Поэтому они были квалифицированы как опосредованные процессом подавления продукции незрелых клеток

крововетворения, обладающих функцией поддержания роста не только нормальной, но и злокачественной ткани [Гранов А.М., Шутко А.Н., 2002].

Из экспериментов известно, что появление признаков некроза сопряжено как с размерами опухоли, так и с появлением метастазов [Гранов А.М., Шутко А.Н., 2002]. Число экспериментальных опухолей, способных к спонтанному метастазированию из первичного очага в определенные органы привитых животных, ограничено. Но именно на таких моделях было показано, что процесс выхода клеток из первичной опухоли может провоцироваться недостатком ее васкуляризации и по времени соответствует смене характера набора биомассы первичной опухоли с удвоением по логарифмическому закону на близкий к линейному [Шатинина Н.Н., 1998]. Прямым микроскопированием развивающейся *in vivo* экспериментальной опухоли было выявлено, что прирост ее ткани происходит в зонах активной ревазуляризации по периферии некротических очагов. Появление последних может быть следствием как развития собственно опухоли, так и ее облучения в туморицидных дозах. С учетом перечисленных закономерностей, экспериментальные модели так называемого искусственного метастазирования, когда взвесь опухолевых клеток инъецируют непосредственно в кровеносное русло, мало пригодны для исследования реальных событий, так как исключают в таких моделях существование первичного очага как такового.

На фоне этих сведений, вопрос о действии дозы ионизирующего излучения, полученной нормальными тканями при конвенциональном локо-регионарном облучении на процессы метастазирования злокачественных клеток первичной опухоли, остается менее понятным ввиду сложности механизмов, побуждающих эти клетки терять свойства оседлости и распространяться по кровеносной и лимфатической системам.

Цель исследования

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния нетуморицидных доз ионизирующего излучения на процесс метастазирования в эксперименте и радиобиологическая оценка уровня повреждения крововетворной ткани при локо-регионарном облучении в клинике.

Для достижения цели были поставлены и решены следующие **задачи**:

1. Изучить влияние облучения нормальных тканей опухоленосителя нетуморицидными дозами на модели спонтанного метастазирования экспериментальной опухоли мышей.

2. Выявить роль факторов дозы и времени между прививкой опухоли и облучением в подавлении метастазирования в эксперименте.

3. Провести радиобиологическую оценку уровня повреждения кроветворной ткани при локо-регионарном облучении в клинике.

4. Предложить механизм реализации антиметастатического действия нетуморицидных доз ионизирующего излучения.

Научная новизна

Впервые доказана возможность ингибирования процесса метастазирования солидной опухоли по опосредованному типу в результате умеренного повреждения системы кроветворения нетуморицидными дозами ионизирующего излучения.

Предложен алгоритм оценки последствий фракционированного локо-регионарного курса противоопухолевой лучевой терапии в терминах реакции кроветворной системы человека на однократное тотальное облучение тела.

Получены новые данные о конкуренции процессов обновления в опухолевых и нормальных тканях и активации их в кроветворной системе после сублетального радиационного поражения.

Научная и практическая значимость

Полученные результаты позволяют рассматривать гемотоксичность при терапии солидных новообразований не только в качестве осложнения, но и как компонент суммарного терапевтического эффекта и соответственно использовать ее при разработке новых методов лечения.

Данные исследования указывают на возможность утраты части суммарного терапевтического эффекта при стремлении к сокращению объемов повреждаемых нормальных тканей в ряде клинических ситуаций.

При моделировании клинической ситуации локального облучения экспериментальных опухолей животных рентгеновским

излучением для исключения опосредованного ингибирования метастатического процесса, необходимо использовать экран, обеспечивающий значение дозы под ним значительно менее 0.15 Гр.

Положения, выносимые на защиту

1. Дозы нетуморицидного диапазона могут ингибировать метастазирование солидной опухоли не по прямому механизму уничтожения злокачественных клеток, а опосредованным путем, через включение механизмов репарации – регенерации сублетальных повреждений нормальных тканей, преимущественно гемопозитических.
2. Процесс регенерации в нормальных тканях конкурирует с процессом метастазирования за общий механизм обновления тканей, осуществляемых циркулирующими клетками системы кроветворения.

Апробация работы

Результаты работы в виде патентов внедрены в клинику РНЦРХТ ФГУ.

Результаты диссертации доложены на II Евразийском конгрессе по медицинской физике и инженерии «Медицинская физика – 2005» (Москва, 2005); на научных конференциях: Невском радиологическом форуме «Невские горизонты» (Санкт-Петербург, 2005; 2007; 2009); Юбилейной конференции «От лучей рентгена – к инновациям века: 90 лет со дня основания первого в мире рентгено-радиологического института (РНЦРХТ)» (Санкт-Петербург, 2008). По материалам диссертации опубликовано 18 научных работ, в том числе 3 патента, 4 статьи в журналах, включенных в перечень периодических научных и научно-практических изданий, рекомендованных ВАК РФ для публикаций основных результатов диссертационного исследования.

Объем и структура диссертации:

Диссертация изложена на 80 страницах компьютерного текста. Состоит из введения, 3 глав с обсуждением, заключения, выводов, практических рекомендаций, приложения и библиографического указателя, содержащего 38 отечественных и 73 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 6 таблицами и 14 рисунками.

Содержание работы

Материал и методы исследования. Эксперименты проводили на мышах-самцах линии C57Bl/6 и межлинейных гибридах F1(CBAxС57Bl), весом 30-35 г из питомника лабораторных животных АМН «Рапполово», перевиваемой опухолью служила метастазирующая аденокарцинома легкого мышей РЛ-67, поддерживаемая серийными перевивками на мышах линии C57Bl/6. Общее количество животных 720.

Мышей содержали в условиях вивария в специальных пластиковых клетках по 10 особей с автоматическими поилками на стандартном рационе, состоявшем из зерна, молочных и мучных продуктов, брикетированного корма с добавками рыбьего жира и поливитаминов. С целью профилактики заболевания экстремией животных при поступлении в виварий выдерживали в условиях карантина и вакцинировали оспенной вакциной. Вакцину наносили на скарифицированную кожу хвоста. Животные использовались в эксперименте не ранее, чем через 3 недели после вакцинации. Эксперименты на животных проводили в одно и то же время суток (10-11 часов). Все процедуры на животных, которые могли бы вызвать у них боль или иного рода мучительные состояния, проводились при достаточном обезболивании под местной анестезией или наркозом, согласно требованиям, соответствующим этическим нормам, признанным мировым сообществом и изложенным в "Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных" [1985].

Прививка опухоли экспериментальным животным осуществлялась введением взвеси гомогената опухолевых клеток в мягкие ткани стопы задней лапы в количестве 5×10^4 в 0,2 мл среды Хенкса. Взвесь опухолевых клеток получали в механическом гомогенизаторе, отделяя клеточную взвесь путем центрифугирования гомогената в растворе Хенкса с контролем жизнеспособности по тесту окрашивания метиленовым синим. Метастазы в легких исследовали, усыпляя животных эфиром или посмертно. Подсчет числа видимых колоний на поверхности легких после прививки опухоли производили под лупой после предварительного заполнения

органа китайской тушью и фиксации в 10% нейтральном формалине по [Wexler, 1966] на 26-е сутки после прививки.

Облучение мышей проводили на установке РУМ-17 при мощности дозы 0.05 Гр/мин при напряжении 200 кВ, силе тока 9 мА, фильтре 2,0 мм Cu и кожно-фокусном расстоянии 97,5 см и при мощности дозы 0,91 Гр/мин., напряжении 200 кВ, силе тока 15 мА, фильтрах 0,5 мм Cu 1 мм Al и кожно-фокусном расстоянии 50 см в 2-х вариантах:

а) в дозе 9 Гр на область живота однократно в различные периоды времени после прививки

б) в дозах от 0,1 до 0,4 Гр, однократно, тотально (за исключением экранированной опухоли) в определенный срок после прививки взвеси опухолевых клеток в заднюю конечность.

СТОТ и ТОТ проводили с использованием универсальных, свинцовых экранов для защиты от ионизирующего излучения [А.Н.Шутко и соавт.,1985]. Дозиметрические характеристики обеспечивались с помощью рентгенометра типа Siemens с зондовой камерой.

Все пациенты, включенные в исследование, получали лучевую терапию как часть комбинированного лечения по поводу рака молочной железы (РМЖ). Перед облучением пациентам проводилась предлучевая подготовка в положении лечебной укладки на спине с отведенной под углом 90° и согнутой в локтевом суставе верхней конечностью на стороне поражения или в положении руки за головой. При проведении контурометрии соотношение органов наносили на анатомо-топографическую карту с использованием данных МРТ и КТ. Во всех случаях координаты внутренних органов (легкие, сердце) и костные структуры (грудина, ребра) контролировались с помощью рентгеновского симулятора SL-23, Philips в двух взаимно перпендикулярных проекциях.

Дозиметрическое планирование осуществлялось ручным способом с использованием атласа дозных распределений для кобальтовой установки или на автоматизированных планирующих системах КОСПО, 2-х мерной системе (расчет по одному поперечному срезу); ROCS, 2.5-й мерной системе (изображение рассчитанных дозовых уровней как на центральном поперечном, так и на боковых срезах).

Все пациенты облучались с двух встречных полей под углами 120° и 300° для левой молочной железы, 240° и 60° для правой молочной железы (наружное и внутреннее поля соответственно). В качестве источников излучения были использованы гамма-аппарат «РОКУС-М» с энергией 1.25 МэВ, линейные ускорители электронов ЛУЭВ 15М с энергией тормозного излучения 15 МэВ, SL-75-5, Philips с энергией тормозного излучения 6 МэВ, SL-20 с энергией тормозного излучения 6 МэВ. Граница внутреннего поля проходила на 3 см в здоровую сторону от середины грудины для адекватного включения в зону воздействия парастернальных лимфатических узлов, а наружное поле включало в себя нижние подмышечные лимфатические узлы. Разовые дозы за фракцию были 2 и 3 Гр. Суммарные дозы, подводимые к целевому объему, составляли 50 Гр и более.

Сравнение выживаемости в течение 6-ти месяцев после начала лучевой терапии было выполнено на 287 больных местнораспространенным РМЖ, которые лечились в РНЦРХТ (ЦНИРРИ). Они были поделены на две группы в соответствии с диагнозом: $pT_2N_1M_0$ (n=169 чел.) и $pT_{3/4}N_{1-2}M_0$ (n=118 чел.).

Клиническое стадирование было выполнено в соответствии с классификацией злокачественных опухолей (UICC TNM), 1992. Во всех случаях диагноз и вовлечение аксиллярных лимфоузлов был подтвержден морфологически. Гистологическое типирование было выполнено в соответствии с WHO классификацией (1981) и опухоли были в основном трех типов: инфильтративно-протоковая карцинома, инфильтративно-дольковая карцинома и другие типы (медуллярная, папиллярная).

Пациентам обеих групп проведена одинаковая комбинированная терапия, включавшая хирургическое лечение (радикальная или модифицированная мастэктомия, комбинированная с диссекцией аксиллярных лимфатических узлов) с последующей конвенциональной локо-регионарной мегавольтовой лучевой терапией.

Для биодозиметрической оценки гематологических показателей использовали данные лабораторных анализов периферической крови 27 пациенток, проходивших лечение в РНЦРХТ (ЦНИРРИ) по поводу РМЖ, которым в плане комбинированного лечения был проведен курс предоперационной лучевой терапии в виде облучения локо-

регионарной зоны (2 Гр в день до СОД=44 Гр). Группа была однородной с точки зрения назначенного лечения.

Исследовали содержание лимфоцитов в крови по результатам анализов, полученных до начала лучевой терапии и сразу после нее.

Для осуществления объемного дозиметрического планирования лучевой терапии пациенту, больному РМЖ проводили стандартную предлучевую подготовку на рентгеновском симуляторе SL-23, Philips заключающуюся в выборе положения пациента при лечении, определении зоны сканирования и координат центра мишени. Выбранные параметры укладки воспроизводили на компьютерном томографе Somatom Volume Zoom, Siemens. Изображения поперечных срезов зоны интереса пациента, полученных с шагом 0.5 см по локальной сети передавали на 3-х мерную систему планирования PrecisePlan®, Elekta. Реконструированный трехмерный массив топометрической информации использовали для определения контуров мишени и критических органов [ICRU, report 62, 1999], затем – для дозиметрического планирования. Рассчитанное значение средней дозы на грудину и ребра за весь курс фракционированной лучевой терапии переводили в эквивалент дозы однократного облучения с использованием системы поправок на продолжительность курса и числа фракций, табулированных в [Холин В.В., 1979]. Пересчет действия этой однократной дозы на кроветворную ткань пациента при облучении молочной железы производили с использованием соотношения активного (красного) мозга в объеме грудины и ребер ко всему объему активного кроветворения с учетом возрастных особенностей его распределения [Cristy M., 1981].

Статистическую обработку материала проводили с применением программы Microsoft Excel путем аппроксимации результатов математическими функциями, достоверность аппроксимации полученных зависимостей оценивали по t-критерию Стьюдента [В.А.Волчков, 1998]. Результаты работы представлены в виде средних (M), ошибок средних (m) и вероятностей различий (p).

Результаты исследования и обсуждение

На рис. 1 (кривая 1) изображена кинетика увеличения объема опухоли РЛ-67 в стопе животного, построенная по данным Шатиной Н.Н. [Шатина Н.Н., 1998]. С нею сопоставлена

кинетика количества метастазов возникающих в легких мышей с привитой опухолью рис.1 (кривая 2) и рис.2.

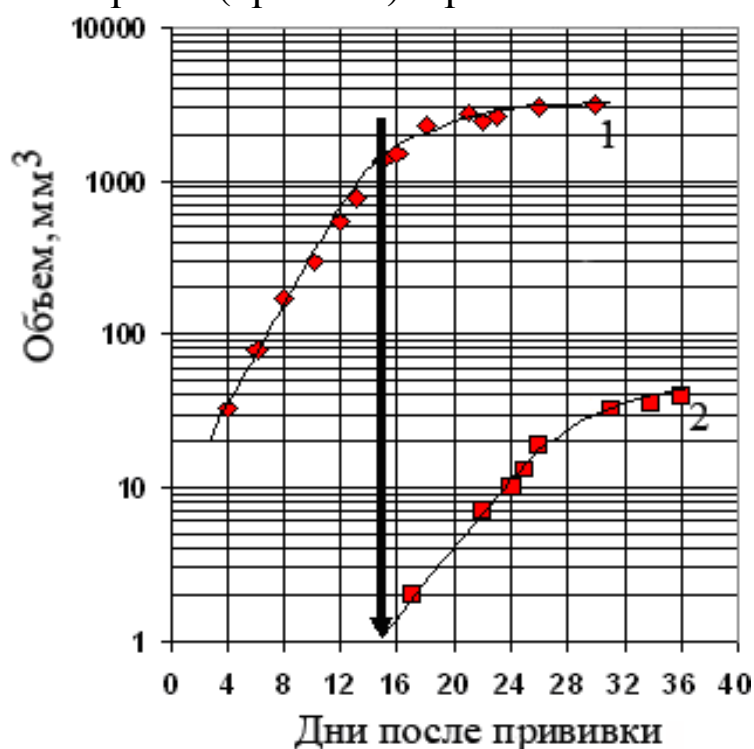


Рис.1. Сравнение кинетики увеличения объема привитой опухоли и кинетики увеличения метастазов в легких животных с привитой опухолью:

1 – объем опухоли в мм³; 2 – среднее количество метастазов в легких мыши, п/мышь

Стрелка на рис. 1, отображающую кривую 1, построенную в полулогарифмическом масштабе, указывает на момент времени после прививки, после которого среднее количество метастазов в легких животных начинает возрастать линейно со временем (см. рис. 2). Указанный момент времени на рис. 1 совпадает с прекращением логарифмической фазы увеличения объема привитой опухоли.

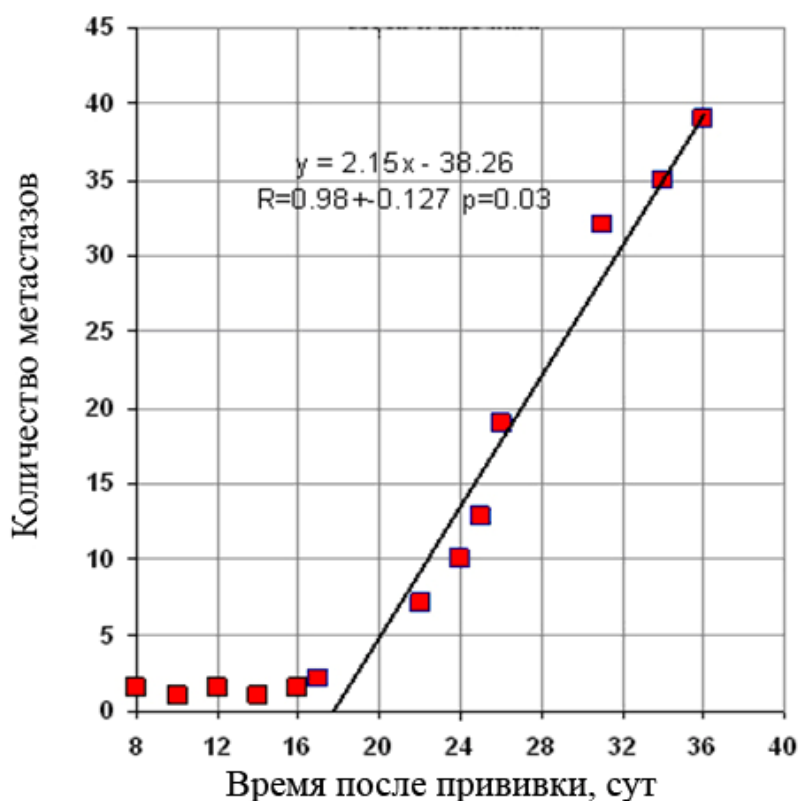


Рис. 2. Кинетика роста количества метастазов в легких животных с привитой опухолью.

Приведенные выше рисунки важны для понимания базовой модели экспериментов на животных. В работе использованы два варианта облучения мышей. Первый вариант представляет собой облучение области живота животного с привитой опухолью. Второй, наиболее простой вариант, заключается в облучении всего тела за исключением лапы с привитой опухолью. В обоих вариантах для экранирования участков тела от ионизирующего излучения использованы стандартные свинцовые экраны толщиной 5 см.

Первый вариант облучения был использован для изучения вопроса о том, как время между прививкой опухоли и моментом облучения влияет на количество метастазов в легких. Контроль метастазов в легкие во всех случаях производили на 26 сутки после прививки опухоли. Полученные статистические закономерности графически представлены на рис.3 аппроксимирующей кривой.

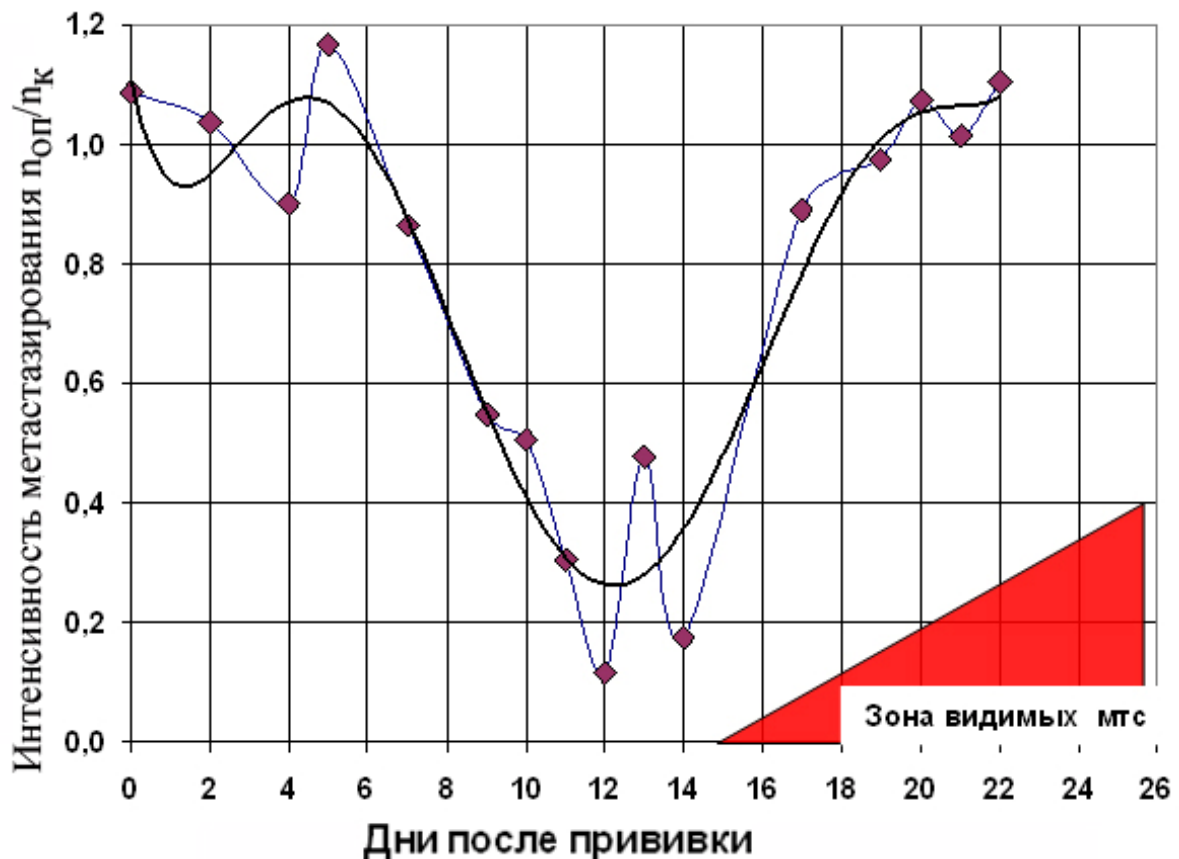


Рис.3. Зависимость подавляющего метастазирования действия облучения области живота от срока его проведения после прививки.

Параметры аппроксимирующей кривой: $y=2E-06x^6 - 0.0001x^5 + 0.0031x^4 - 0.0367x^3 + 0.1809x^2 - 0.3158x + 1.1057$; $R=0.95 \pm 0.16$ $t=6$ $p < 0.001$

Наиболее чувствительной фазой развития первичного очага к непрямоу ингибирующему метастазы действию локального облучения является логарифмическая фаза и особенно ее конец, как следует из анализа рис.3, рис.1 и рис.2. Соответственно самой чувствительной стадией процесса метастазирования можно считать время, непосредственно предшествующее нарастанию количества метастатических локусов в легких. Этот момент нельзя ассоциировать с моментом поступления в легкие метастатической клетки, образующей локус. Однако с учетом линейного характера нарастания количества локусов со временем, существование латентного периода в течение 1,5 – 2 недель для события поступления клетки в легкие представляется вполне вероятным. На этом же рисунке схематично также отмечена зона появления и нарастания количества метастазов в легких контрольных мышей.

Полученные в эксперименте результаты позволяют сделать вывод об опосредованном влиянии облучения области живота на метастатические клетки. Они не могли быть облучены, так как опухоль была экранирована. Они не могли быть повреждены и в зоне легких, так как и эта зона была экранирована. Надежность экранирования была обеспечена использованием экранов с повышенными защитными характеристиками, позволяющими обеспечить высокий градиент дозы падающего γ -излучения. Более того, появление первых метастазов в легких, регистрируется начиная только с 14–16-х суток, когда логарифмическая фаза роста первичной опухоли еще не перешла в линейную (см. рис.1, 2).

При облучении в данных условиях повреждаются две наиболее радиочувствительные ткани: практически весь эндотелий тонкого кишечника и часть костного мозга. Доза 9 Гр грубо может рассматриваться как сублетальная для эндотелиоцитов кишечника и как преимущественно летальная для костномозговых клеток, попадающих в зону облучения.

Известно, что в первом случае следует ожидать регенерацию эндотелия кишечника, начиная с 4-го дня после облучения до 6 - 8-го дня, дегенеративно-деструктивная фаза развития радиационного повреждения костного мозга мышей достигает своего максимума в среднем на 5-6 сутки после облучения, а восстановительная длится 1-1.5 месяца.

Можно заключить, что полученный результат указывает на опосредованное ингибирование предстоящего появления метастазов в легкие за счет процессов пострадиационной регенерации эндотелия кишечника и (или) клеточных элементов кроветворной ткани. Процесс репопуляции облученных зон костного мозга, характерный для условий парциального облучения, состоит в интенсивном перемещении (миграции) клеток предшественников кроветворного пула из необлученных участков костного мозга в облученные через систему сосудов [Стрелин Г.С., 1978]. Если допустить, что стволовые и полустволовые клеточные элементы кроветворения участвуют в поддержании роста метастазов [Гранов А.М., Шутко А.Н., 2002], то ингибирование метастазов в легких мышей можно рассматривать как следствие отвлечения части клеток поддержки на регенерацию/репарацию поврежденных участков костного мозга и кишечного эндотелия.

Поскольку тотальное облучение тела дозами порядка 0.1 Гр может приводить к общим клиническим эффектам, сопоставимым с курсом химиотерапии при комбинированном лечении рака легкого [Мус В.Ф., 1999], данный вид воздействия на собственно процесс метастазирования был изучен в эксперименте с однократными дозами 0.1-0.4 Гр при использовании облучения во втором варианте. Время облучения (14 сутки после прививки) было выбрано в качестве оптимального, так как максимальный эффект подавления метастазирования развивался именно к этому сроку (см. рис. 3). Провели 3 серии экспериментов на 144 животных, содержащих как опытных, так и контрольных животных. Контроль метастазов в легких производили на 26 сутки после прививки. На основе полученных данных о количестве метастазов была построена аппроксимирующая кривая, представленная на рис.4.

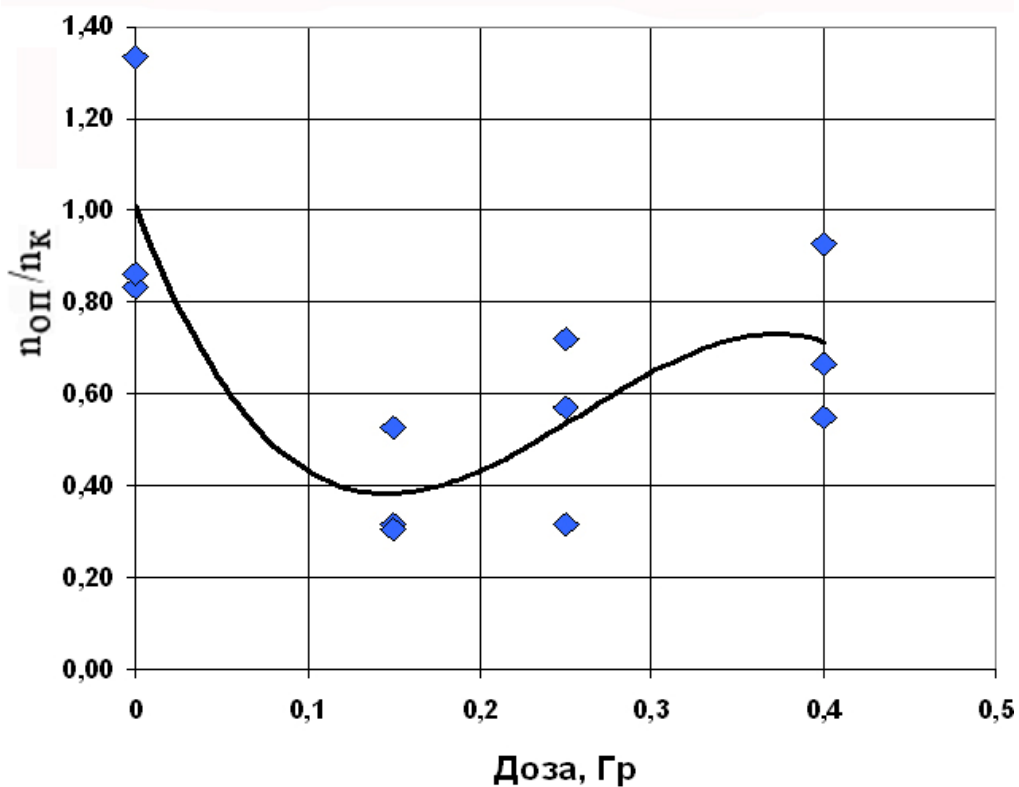


Рис.4. Зависимость подавляющего метастазирование действия тотального облучения тела (за исключением конечности с привитой опухолью) от дозы.

Параметры аппроксимирующей кривой: $y = -60.471x^3 + 47.024x^2 - 9.874x + 1.0101$; $R = 0.81 \pm 0.33$; $t = 2.44$; $p = 0.04$

Достоверность аппроксимирующей кривой на рис. 4 позволяет заключить, что при максимально ингибирующем эффекте дозы 0.15 Гр, более умеренное ингибирующее действие возникает и при больших дозах, вплоть до 0.4 Гр.

Таким образом, результаты экспериментов, констатируют ослабление процесса метастазирования. Ослабление не связано с прямым воздействием ионизирующего излучения на опухоль, т.к. она экранирована. Оно возникает за счет облучения большого объема здоровых тканей, но сравнительно малыми дозами. Величина доз 0.14 – 0.4 Гр столь мала, что даже предположение о воздействии на какие-либо неманифестируемые микрометастазы в облучаемых зонах тела и, в частности, легких несовместимо с возникновением прямого статистически заметного туморицидного эффекта. Тем более что возможное наличие микрометастазов и их значимость для объяснения клинических феноменов далеко не безусловна [Funke I., Schraut W., 1998; Ramadan E., Kristt D., 2000]. Более вероятным объяснением сохраняется вариант непрямого антиметастатического эффекта, обусловленного множественными сублетальными радиационными повреждениями клеток нормальных тканей. Согласно [Гранов А.М., Шутко А.Н., 2002; Степанов Р.П. и соавт., 2001; Кирик О.В., 2004], индуцированные радиацией процессы регенерации и репарации в таких клетках ослабляют эволюцию злокачественной опухоли по конкурентному типу, отвлекая на себя часть трофического потенциала циркулирующих в крови морфообразующих клеточных элементов.

Вышеуказанный механизм хорошо согласуется с положительными результатами клинического применения ТОТ и СТОТ пациента в радиологической клинике [Мус В.Ф., 1999; Юркова Л.Е., 1999]. Более того, он также объясняет позитивное действие многочисленных противоопухолевых химиопрепаратов [Buzzoni R.et. al., 1991; Bonadonna G., 1995; 1997; Mole F., 1999], подавляющее число которых обладает гемодепрессивными свойствами как следует из фармакологических справочников [Гершанович М.Л. и соавт., 1999].

Вопрос о том, представлен ли обсуждаемый механизм в ситуациях с локо-регионарной лучевой терапией, остается открытым. В пользу его возможного существования косвенно свидетельствует общеизвестный факт развития цитопенических состояний в процессе

локо-регионарного лучевого лечения, именуемых «осложнениями». Тем не менее, радиобиологическая трактовка такого рода «осложнений» до настоящего времени недостаточна, если не отсутствует вовсе. Поэтому далее были произведены радиобиологическая и биодозиметрическая оценка феномена гематологических «осложнений» при локо-регионарной лучевой терапии РМЖ.

Было установлено содержание циркулирующих лимфоцитов в крови пациенток с РМЖ до начала лучевой терапии: $M \pm \sigma \pm m = 1,79 \pm 0,374 \pm 0,156 \cdot 10^9 \text{ л}^{-1}$. По окончании курса (2 Гр 2 раза в день до СОД=44 Гр) содержание снизилось до $M \pm \sigma \pm m = 0,85 \pm 0,309 \pm 0,059 \cdot 10^9 \text{ л}^{-1}$. С точки зрения радиобиологии человека, данный уровень лимфопении эквивалентен дозовому диапазону 120-240 сГр при однократном тотальном облучении. Людей с таким уровнем лимфопении относят к группе В, означающей умеренное радиационное воздействие. При этом группа А классифицируется как минимальное воздействие, группа С – тяжелое, группа D – экстремальное [Maiwald M. et al, 1989].

Диапазон доз 120-240 сГр (в среднем 180 сГр), определенный по биологическому показателю лимфопении ($0,8 \div 1,1 \cdot 10^9 \text{ л}^{-1}$) может быть интерпретирован в терминах уровней вероятности возникновения ОЛБ. Согласно [Бутомо Н.В., 2004], при дозе однократного облучения человека 100 сГр, вероятность возникновения ОЛБ I степени составляет 50 %, при дозе 150 сГр – 100%.

Таким образом, при локо-регионарной лучевой терапии больных РМЖ, которая создает эффект, равноценный ~ 180 сГр тотального однократного воздействия, вероятность возникновения ОЛБ можно оценивать как близкую к 100%. Проведенный анализ свидетельствует о несомненном наличии системного повреждения кроветворения пациентов, получавших локо-регионарную лучевую терапию, и, в частности, наиболее чувствительного его звена, лимфопоэза.

Биодозиметрическая оценка уровней повреждения зон активного кроветворения была осуществлена за несколько этапов. На первом этапе определили суммарный объем костной ткани грудины и ребер по 3-х мерной цифровой реконструкции изображений поперечных срезов тела пациентки с РМЖ, полученных на спиральном компьютерном томографе. Определенный с помощью

системы дозиметрического планирования PrecisePlan®, Elekta объем составил 378,5 см³.

На втором этапе произвели оценку средней дозы по полученному расчетному объему. Для этого были выбраны конвенциональные условия облучения молочной железы встречными полями (РОД=2 Гр; СОД=50 Гр) и произведен расчет доз в различных точках этого объема. Средняя доза составила 15,88 Гр.

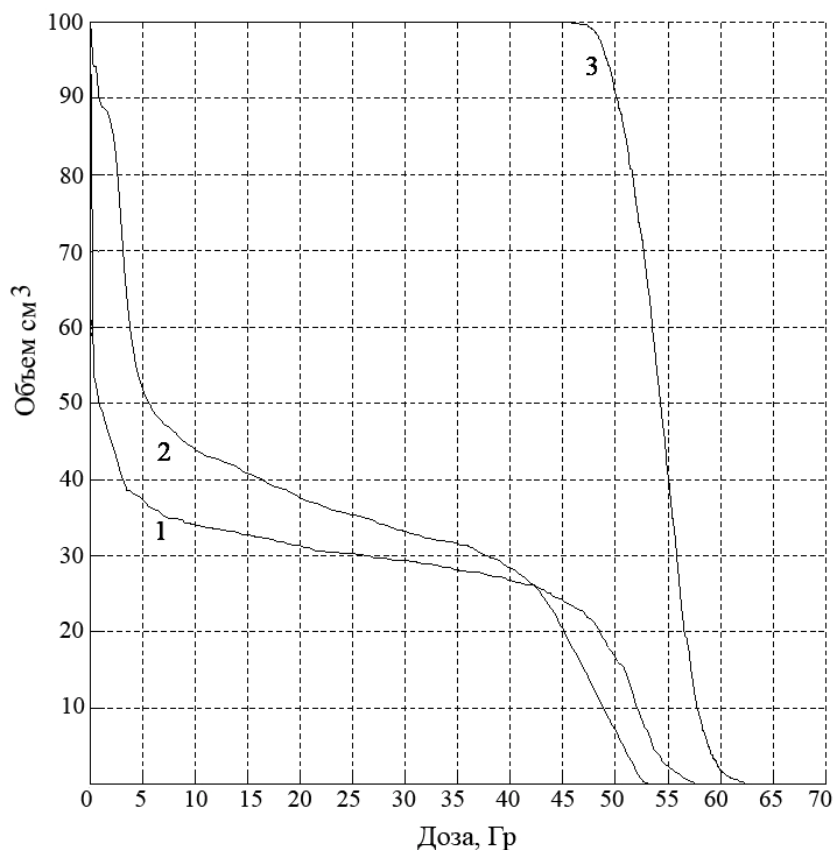


Рис. 5. Дозо-объемная гистограмма для конвенционального лечебного плана:

1 – ребра и грудина, 2 – сердце, 3 – мишень

Суммарная очаговая доза за курс была переведена в эквивалент однократной с использованием системы поправок на длину курса и числа фракций, табулированных в [Холин В.В., 1979]. С учетом этой поправки, эквивалентная этим условиям доза однократного облучения составила 5 Гр.

Пересчет действия этой однократной дозы в объеме 378.5 см³ на кроветворную ткань организма произвели с использованием соотношения активного (красного) мозга в объеме грудины и ребер ко всему объему активного кроветворения. Согласно [Cristy M.,

1981], это соотношение составляет 0.192. Таким образом, окончательное представление о величине искомой однократной дозы облучения всей кроветворной ткани пациента составило $0.192 \cdot 5 = 0.96$ Гр.

Полученное значение дозы может быть оценено в терминах вероятного возникновения острой лучевой болезни (ОЛБ). Исходя из того, что при дозах $0,5 \div 1,0 \div 1.5$ Гр общего однократного облучения здорового организма человека вероятность возникновения ОЛБ составляет $0 \div 50 \div 100$ % [Бутомо Н.В. и соавт., 2004], полученная нами расчетная доза 0.96 Гр способна вызвать ОЛБ I степени у примерно 50% здоровых лиц. Очевидно, что у пациентов, ослабленных онкологическим заболеванием, эта величина может оказаться заниженной.

Таким образом, по результатам радиобиологической и биодозиметрической оценок вероятность системного повреждения кроветворения в виде ОЛБ I степени у пациентов, подвергшихся терапевтическому воздействию по поводу РМЖ, составляет $50 \div 100\%$.

В клинических условиях оценка возможного влияния системного компонента была произведена путем сравнения выживаемости в ближайший период после лучевой терапии (до 6 месяцев) в двух группах больных местно-распространенным РМЖ. Первая группа (I) состояла из пациентов с диагнозом $pT_2N_1M_0$ (n=169 чел.), вторая группа (II) – с $pT_{3/4}N_{1-2}M_0$ (n=118 чел.). В группе I больные с N_1 составили 100%, а в группе II - 30 %. В прогностическом отношении группа I была более благоприятной для эффективного лечения по сравнению с группой II. Это связано с тем, что в группе I все метастазы представляли собой отдельные узлы в подмышечной области (N_1), а в группе II преобладали (70%) уже региональные метастазы в виде конгломератов (N_2). Таким образом, в группе II имел место более развитый метастатический процесс, чем в группе I. Об этом же свидетельствуют и размеры основной опухоли, которая заметно больше в группе II ($T_{3/4}$) по сравнению с группой I (T_2). Обе группы были различны и по отдаленному результату терапии: 5-ти летняя выживаемость в группе I составила 48%, а в группе II - всего 28%. Для более подробного анализа выживаемости, был выбран срок в шесть месяцев после терапии. Он соответствовал времени после однократного облучения, в течение которого еще

могут быть зарегистрированы изменения в системе кроветворения [К. Baltschukat, W. Nothdurft, 1990].

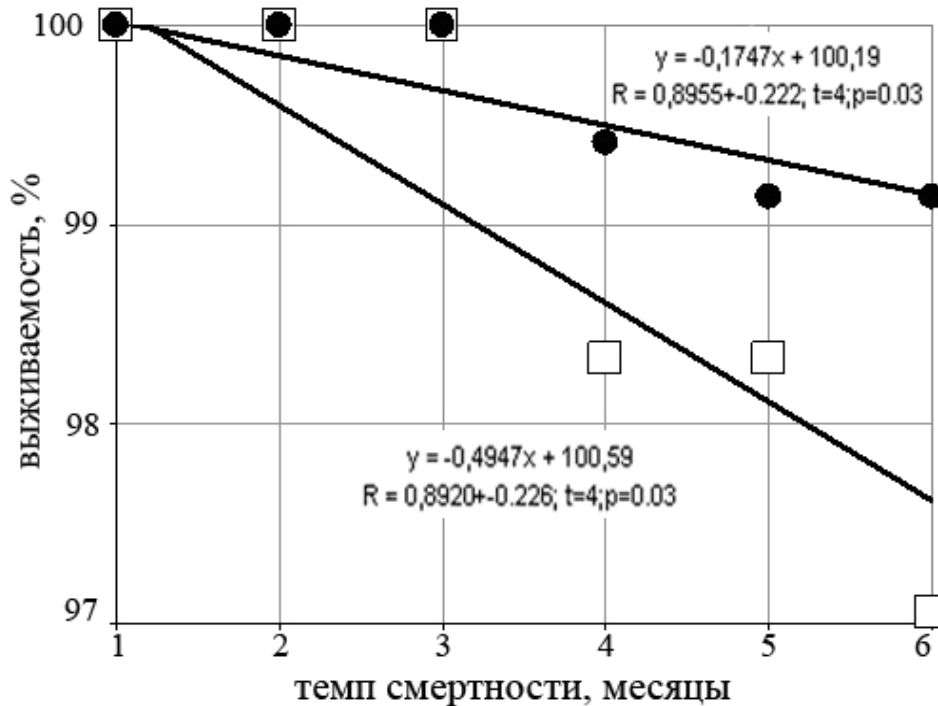


Рис.6. Кривые выживаемости пациентов с местно-распространенным РМЖ.

- пациенты с диагнозом pT₂N₁M₀;
- пациенты с диагнозом pT_{3/4}N₁₋₂M₀.

Как следует из рис. 6, темп смертности в группе I (с N₁) значительно превосходит темп смертности в группе II (с N₁₋₂), составляя 0,49% мес.⁻¹ (p=0,03) против 0,17% мес.⁻¹ (p=0,03). Для объяснения этого временного феномена, совпадающего, как было отмечено, с периодом вероятных пострадиационных изменений в кроветворении, были привлечены данные, полученные в предыдущих разделах работы. Предположительно, что у больных в группе II вероятность перехода фазы N₂ в M₁ выше, чем в группе I, т.е. событие переноса злокачественных клеток в зоны организма, удаленные от регионарных лимфатических узлов, более ожидаемы. Соответственно, ингибирующее действие облучения в группе II должно проявляться с большей вероятностью, чем в группе I, т.к. в эксперименте были установлены максимальная чувствительность к ингибирующему влиянию СТОТ именно фазы формирования отдаленных метастазов (M₁).

Важно подчеркнуть, что как в эксперименте, так и в рассмотренной клинической ситуации, феномен ингибирования относится только к определенной фазе развития злокачественного процесса (миграции опухолевых клеток в удаленные зоны организма) и поэтому носит преходящий характер, проявляясь только в определенный период времени развития злокачественного новообразования. В рассмотренном случае этот период совпадает с изменениями в кроветворении, вызванными лучевой терапией.

Выводы

1. После тотального или субтотального облучения тела мышей F1(СВАхС57В1) с привитой экранированной опухолью РЛ-67 происходит ослабление спонтанного отдаленного метастазирования в легкие.
2. Ослабление процесса метастазирования регистрируется в диапазоне однократных доз от 0.1 Гр при тотальном облучении тела до 9 Гр в случае субтотального.
3. Степень радиационного подавления метастазов зависит от времени между прививкой опухоли и облучением с максимумом эффекта на 12 – 14-е сутки, то есть не является следствием прямого воздействия на злокачественные клетки.
4. Согласно дозиметрическому расчету в облучаемом объеме активного костного мозга и оценке реакции лимфоцитов крови при локо-регионарном облучении больных раком молочной железы, возникающее повреждение кроветворной системы эквивалентно последствиям однократного тотального облучения тела дозами 1.0-1.5 Гр, то есть 50-100% вероятности возникновения острой лучевой болезни I степени.
5. Снижение показателя смертности в течение шести месяцев после проведения лучевой терапии у больных местно-распространенным раком молочной железы с исходно более развитым злокачественным процессом ($pT_{3/4}N_{1-2}M_0$) по сравнению с менее развитым ($pT_2N_1M_0$) может быть связано с антиметастатическим эффектом лучевой терапии, опосредованным системой кроветворения.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Бочкарева Т.Н.**, Овсянникова Т., Червяков А.М. Сравнительные характеристики тотального облучения тела пациентов. // **Мед. физика.** – 2001. – №11. – С.22
2. Шутко А.Н., Екимова Л.П., Карамуллин М.А., Шумский И.А., Юркова Л.Е., **Бочкарева Т.Н.** Временная структура регулярных патологических изменений в лимфопозе человека. // **Мед. иммунология.** – 2004.- Т.6. – №3-5 – С.425
3. Шутко А.Н., Карамуллин М.А., Екимова Л.П., Юркова Л.Е., Мус В.Ф., Шумский И.А., Лыткина И.Ю., **Бочкарева Т.Н.**, Чижова Н.А. Субпопуляционный состав периферических лимфоцитов и смертность онкологических пациентов. // **Мед. иммунология.** – 2006. – Т. 8. – № 2-3. – С.359
4. **Бочкарева Т.Н.**, Немкова Е.В., Сокуренок В.П., Екимова Л.П., Шутко А.Н. Скрытая прогностическая неоднородность онкологических больных. // **Вопросы онкологии.** – 2008. – Т.54, №4. – С. 480-482.
5. Червяков А.М., Корытова Л.И., Мус В.Ф., **Бочкарева Т.Н.**, Лаврова М.В., Жабина Р.М. Способ тотального облучения тела пациента. // **Патент РФ** на изобретение №2159135 от 20.11.2000
6. Шутко А.Н., Юркова Л.Е., Шумский И.А., Екимова Л.П., Чижова Н.А., **Бочкарева Т.Н.** Способ лечения первичного рака яичников. // **Патент РФ** на изобретение №2248824 от 27.03.2005
7. Червяков А.М., Юркова Л.Е., Мус В.Ф., Ильин Н.В., **Бочкарева Т.Н.**, Чубуков И.Я. Способ тотального облучения тела пациентов. // **Патент РФ** на изобретение №2361634 от 20.07.2009
8. Shoutko A., Karamullin M., Sosyukin A., Ekimova L., Shumski I., Urkova L., **Vochkareva T.** Age Related Features of lymphopoiesis and Morbidity for Chernobyl Clean up Workers // The 33 Annual Meeting of the European Society Radiation Biology, Budapest, Hungary. – August 25-28, 2004. – P. 253
9. Шутко А.Н., Шумский И.А., Екимова Л.П., Юркова Л.Е., **Бочкарева Т.Н.**, Чижова Н.А. Индивидуальный ресурс лимфопоза онкологических больных основа оптимизации цитостатической терапии. // **Материалы Невского радиологического форума.** – СПб. – 2005. – С. 383.

10. **Бочкарева Т.Н.**, Шутко А.Н. К проблеме опосредованных терапевтических эффектов при конвенциональной лучевой терапии. // Мат. 11 Евразийского конгресса по медицинской физике и инженерии – Москва – 21-24 июня 2005. – С.12
11. Shoutko A., Karamullin M., Ekimova L., Shumski I., Phjodorov V., Sosukin A., **Bochkareva T.** Latent time of generation of different lymphocytes subsest in blood of Chernobyl`s clean up workers. // The 34th Annual Meeting of the European Society for Radiation Biology and The Annual Scientific Meeting of the Association for Radiation Research. European radiation reserch (ERR 2005) – University of Leicester, Uk. – 5th-8th September, 2005.– P.166-167
12. Шутко А., **Бочкарева Т.**, Мус В., Екимова Л., Карамуллин М. Факторы эффективности постоперационной локо-регионарной лучевой терапии местно-распространенного рака молочной железы. // Материалы Невского радиологического форума «Невские горизонты». – СПб. – 2007. – С. 696-698.
13. Shoutko A., Ekimova L., Shumski I., Chizova N., L.Yurkova, **Bochkareva T.**, Mus V., Karamullin M. Lymphopoiesis of treated oncological patients a probable source of individual life span`s variability // International congress of Radiation Research, abstract book, 7-8 yuly, San-Francisco – 2007. – P.58
14. **Бочкарева Т.Н.**, Шутко А.Н. Изучение процесса спонтанного метастазирования у мышей в условиях нестандартного облучения. //Тезисы докладов на научной конференции «От лучей Рентгена – к инновациям XXI века; 90 лет со дня основания первого в мире рентгенорадиологического института (РНЦРХТ)», – СПб. – 2008. – С.322
15. Ильин Н.В., Николаева Е.Н., Червяков А.М., Виноградова Ю.Н., Смирнова Е.В., **Бочкарева Т.Н.** Опыт тотального облучения кожи быстрыми электронами при первичных лимфомах кожи. // Тезисы докладов на научной конференции «От лучей Рентгена – к инновациям XXI века; 90 лет со дня основания первого в мире рентгенорадиологического института (РНЦРХТ)», – СПб. – 2008. – С.185
16. Ильин Н.В., Николаева Е.Н., Виноградова Ю.Н., Червяков А.М., **Бочкарева Т.Н.**, Крицкая А.В. Применение лучевой терапии электронным пучком в лечении первичных лимфом кожи. // Клиническая онкогематология. – 2009. – Т.2, №1. – С.27-31.

17. **Бочкарева Т.Н.**, Шутко А.Н. Системное воздействие на кроветворение в процессе конвенционального облучения рака молочной железы. // Материалы Невского радиологического форума. – СПб. – 2009. – С.89-90.

18. Ильин Н.В., Николаева Е.Н., Виноградова Ю.Н., Червяков А.М., **Бочкарева Т.Н.** Роль лучевой терапии в лечении первичных лимфом кожи. //Материалы Невского радиологического форума. – СПб. – 2009. – С.226-227.

Подписано в печать 06.08.2010г. Формат 60x84/16
П.л. 1,5 Уч.-изд.л 1,5. Тир. 100 экз.
Отпечатано в типографии ООО «Турусел»
191186, Санкт-Петербург, ул. Миллионная д.1. toroussel@mail.ru
Зак. № 13234 от 06.08.2010г.

