

Контрольная работа № 12:

1. Понятие отдаленных последствий ИИ.
2. Основные формы отдаленной лучевой патологии.
3. Основные гипотезы возникновения отдаленных эффектов облучения.
4. Наиболее важные компоненты комплекса причин, определяющих развитие отдаленных неопухолевых последствий.
5. Понятие канцерогенных эффектов облучения.
6. Основные гипотезы возникновения канцерогенных эффектов облучения.
7. Основные причины сокращения средней продолжительности жизни после облучения в сублетальных дозах.

ТЕМА:МОДИФИКАЦИЯ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ. КИСЛОРОДНЫЙ ЭФФЕКТ

ПЛАН:

1. Радиомодифицирующий эффект
2. Природа модификационных факторов
3. Радиосенсибилизаторы
4. Радиопротекторы
5. Механизмы противолучевой защиты
6. Кислородный эффект

Понятие модификации радиочувствительности

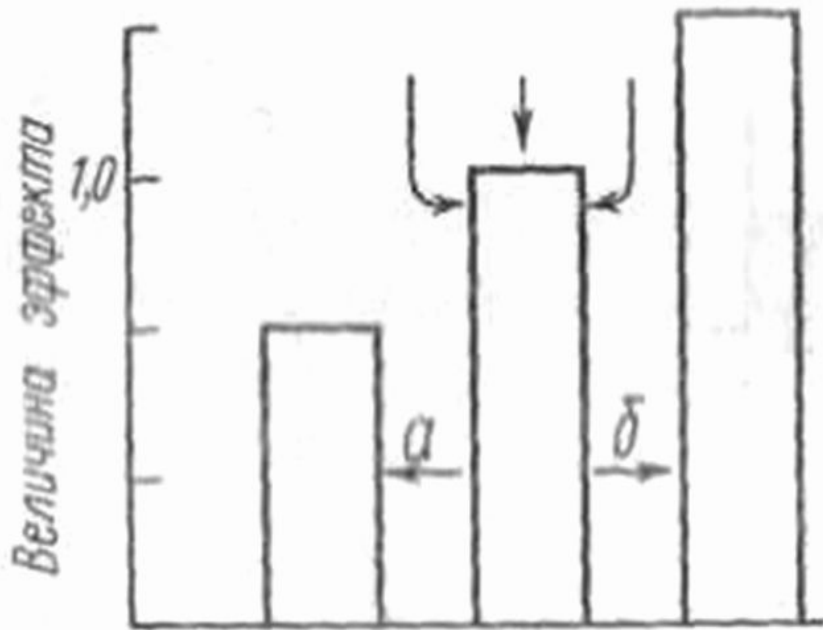


Схема регистрации эффектов ослабления (а) и усиления (б) радиационного поражения с помощью модифицирующих агентов.

Верхние стрелки обозначают возможные варианты времени применения модификаторов по отношению к облучению.

- Вследствие влияния различных факторов на облучаемую систему может изменяться степень проявления радиобиологического эффекта. Такие влияния называются **модифицирующими**.
- **Радиомодифицирующие агенты** — факторы, способные изменять (ослаблять или усиливать) радиочувствительность клеток, тканей и организма в целом.

Основные виды модификации радиочувствительности

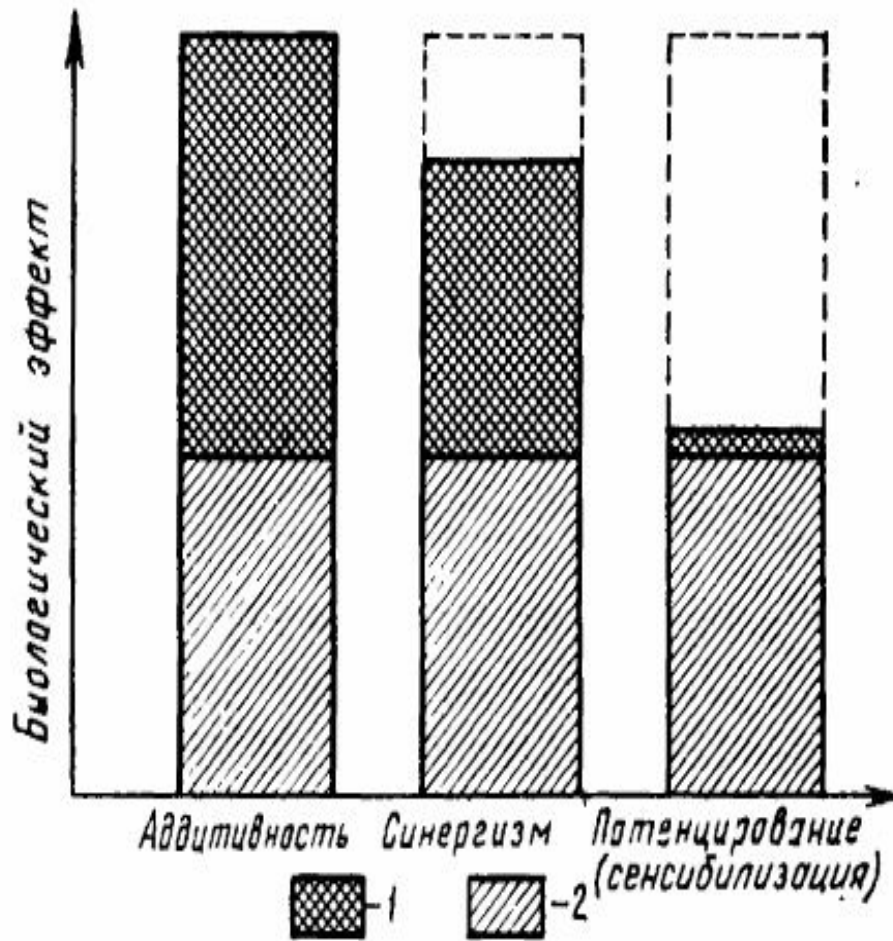
Модификация
радиочувствительности

позитивная

ослабление
лучевого поражения

негативная

усиление
лучевого поражения



Оценка усиления действия радиации

1- агент, 2 - радиация

Результаты комбинированного воздействия двух (или нескольких) агентов:

1. **Аддитивность** – результат совместного действия равен сумме эффектов каждого из агентов, независимо от последовательности их применения;
2. **Синергизм** – результат совместного их применения превосходит эффект, ожидаемый от аддитивного действия;
3. **Потенцирование** – действие одних агентов, как и при синергизме, усиливается другими, которые сами по себе (в отличие от синергизма) наблюдаемого эффекта не вызывают.

Эффект модификации

- Эффект модификации следует оценивать независимо от времени применения модифицирующего агента (до, во время или после облучения) и степени его собственной активности (по регистрируемому показателю), а лишь по **конечному результату — ослаблению или усилению поражения.**

Группы радиомодификаторов:

- 1) **профилактические** - вещества, которые эффективны при условии действия до облучения;
- 2) **собственно радиомодификаторы** – вещества, которые являются активными лишь в том случае, когда присутствуют в момент облучения;
- 3) **терапевтические** – вещества, которые являются активными в случае попадания в организм после облучения.

Классификация модифицирующих факторов

Природа
модифицирующих
факторов

Физические

Химические

Биологические

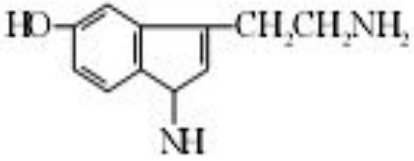
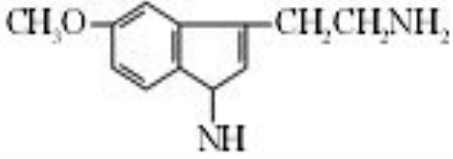
Классификация модификационных факторов:

- **Физические** – факторы, связанные с характером облучения (вида излучения, эффекта фракционирования, мощности поглощенной дозы), а также физические поля, под действием которых изменяется развитие лучевых повреждений разной природы в процессе формирования конечного лучевого поражения:
 - влияния света (фотомодификация),
 - магнитные поля разной природы,
 - температурные влияния,
 - малые дозы ионизирующего излучения, которые предшествуют облучению организма в больших дозах (радиоадаптация).
- **Химические** – химические вещества, под влиянием которых изменяется интенсивность проявления радиобиологических реакций биологических систем.
- **Биологические** факторы – зависимость радиочувствительности клетки от фазы митотического цикла, в котором она находится во время облучения; функциональная способность систем клеточной репарации; пролиферативная активность клеток; способность клеточных популяций к репопуляционному восстановлению; генетические факторы, которые определяют реакцию организма на облучение.

По химическим свойствам радиопротекторы разделяют на такие классы:

- **Сульфогидрильные соединения** – вещества, в состав которых входит SH-группа, среди этих веществ есть соединения с самыми сильными радиопротекторными свойствами, в частности цистеамин и цистеин. На сегодня известно свыше 400 сульфогидрильных соединений радиопротекторного действия.
- **Восстановители** – аскорбиновая кислота и ее производные, бутиловый спирт, гидроксилламин, гидросульфит натрия, метабисульфит натрия, метиловый спирт, пропилагалат, пропиловый спирт, сульфит натрия, етаноламин HCl, этиловый спирт и др.
- **Окислители** – кислород, пероксид водорода, меланины, пероксосульфат натрия, пиросульфат натрия, феросульфат.
- **Комплексные соединения** – 8-гидроксихинолин, дауэкс-50, диетилдителиокарбамат, купферон, трилон Б.
- **Ионы металлов** – Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Hg^{2+} , Co^{2+} и др.
- **Кофакторы** – НАФ, ФАД, бензохинон, цитохром с, АТФ в концентрациях порядка 10^{-4} ... 10^{-5} моль/л как отдельно, так и в смеси.
- **Витамины** – тиамин, цианокобаламин.

Таблица 1. Некоторые эффективные радиопротекторы

Препарат	Химическая формула	Эффективные дозы* (внутрибрюшинно, мг/кг)
Меркаптоалкиламины		
β-Меркаптоэтиламин (цистеамин, меркамин, МЭА)	$\text{SH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$	120–150
Дисульфид β-меркаптоэтиламина (цистамин)	$\begin{array}{c} \text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2 \\ \\ \text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2 \end{array}$	150–180
β-Аминоэтилтиотиуроний (АЭТ)	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{NH} \\ \diagdown \text{NH}_2 \end{array}$	200–250
2,3-Аминопропил, аминоэтилтиофосфат (гаммафос, WR 2721)	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{P} \begin{array}{l} \diagup \text{OH} \\ \diagdown \text{ONa} \\ \text{=O} \end{array}$	300–400
Индолилалкиламины		
5-Окситриптамин (серотонин, 5-ОТ)		10–60
5-Метокситриптамин (мексамин, 5-МОТ)		10–60

*Опыты проводили на лабораторных мышах и крысах.

Виды химических радиосенсибилизаторов:

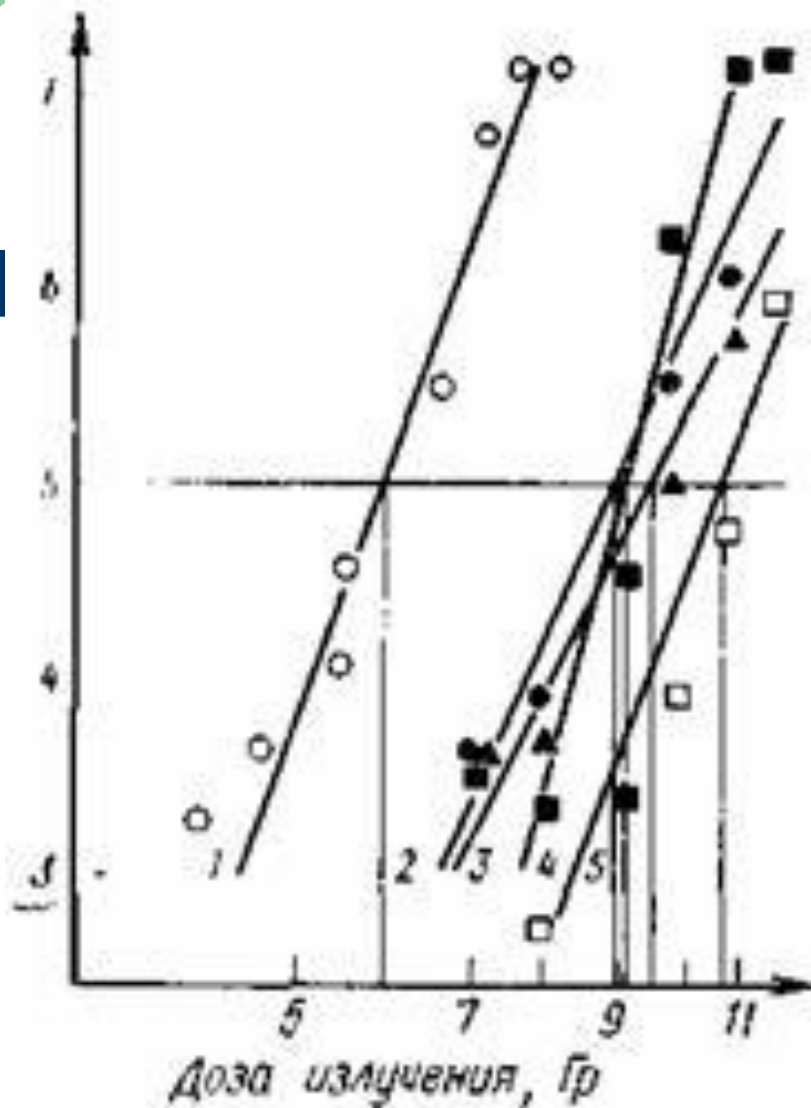
- *кислород*, при наличии которого в облученной клетке или ткани радиационные эффекты усиливаются;
- *галогенсодержащие вещества* – монойодоацетат, йодоацетамид, йодобензойная кислота, йодистый метил, йодистый калий;
- *соединения с ненасыщенными связями* – акриламид, акриловая кислота, производные малеиновой кислоты;
- *соединения, которые способны образовывать молекулы с реакционноспособной карбонильной группой* – хлоралгидрат, трифторацетальдегидгидрат;
- *замещённые глиоксалы, кетоальдегиды, нингидрин, синкавит*;
- *соединения, способные существовать в форме свободных радикалов* – дитретичный бутил-нитроксид, триацетамид, N-ОКСИЛ.

Критерии оценки радиомодифицирующего эффекта

1. **Абсолютная величина разности** между показателями в опыте (облучение с используемым модифицирующим агентом) и в контроле (само по себе облучение в той же дозе).
2. **Индекс эффекта** — отношение показателей в опытной и контрольной группах.
3. **Фактор изменения (уменьшения) дозы (ФИД; ФУД)** — отношение равноэффективных доз в опыте и контроле; как при усилении, так и при ослаблении лучевого эффекта берется отношение большей дозы к меньшей.
ФУД = $D_{\text{cont}}/D_{\text{rad}}$, где D_{cont} и D_{rad} - значение D_0 соответственно в отсутствии и при наличии радиомодификатора.
ФУД у наиболее эффективных радиопротекторов достигает величины 1,8-2,0.
4. **Коэффициент защиты (КЗ)** – отображает вероятность эффекта защиты и исчисляется как отношение разности показателей поврежденности системы без защитного фактора (E^-) и с ним (E^+) к значению эффекта без защиты:

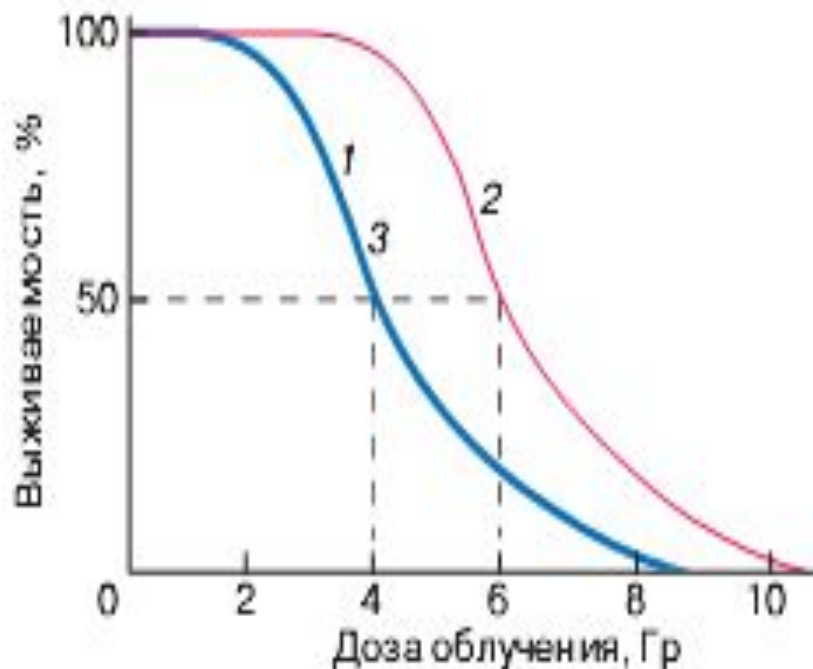
$$KЗ = \frac{E^- - E^+}{E^+}$$





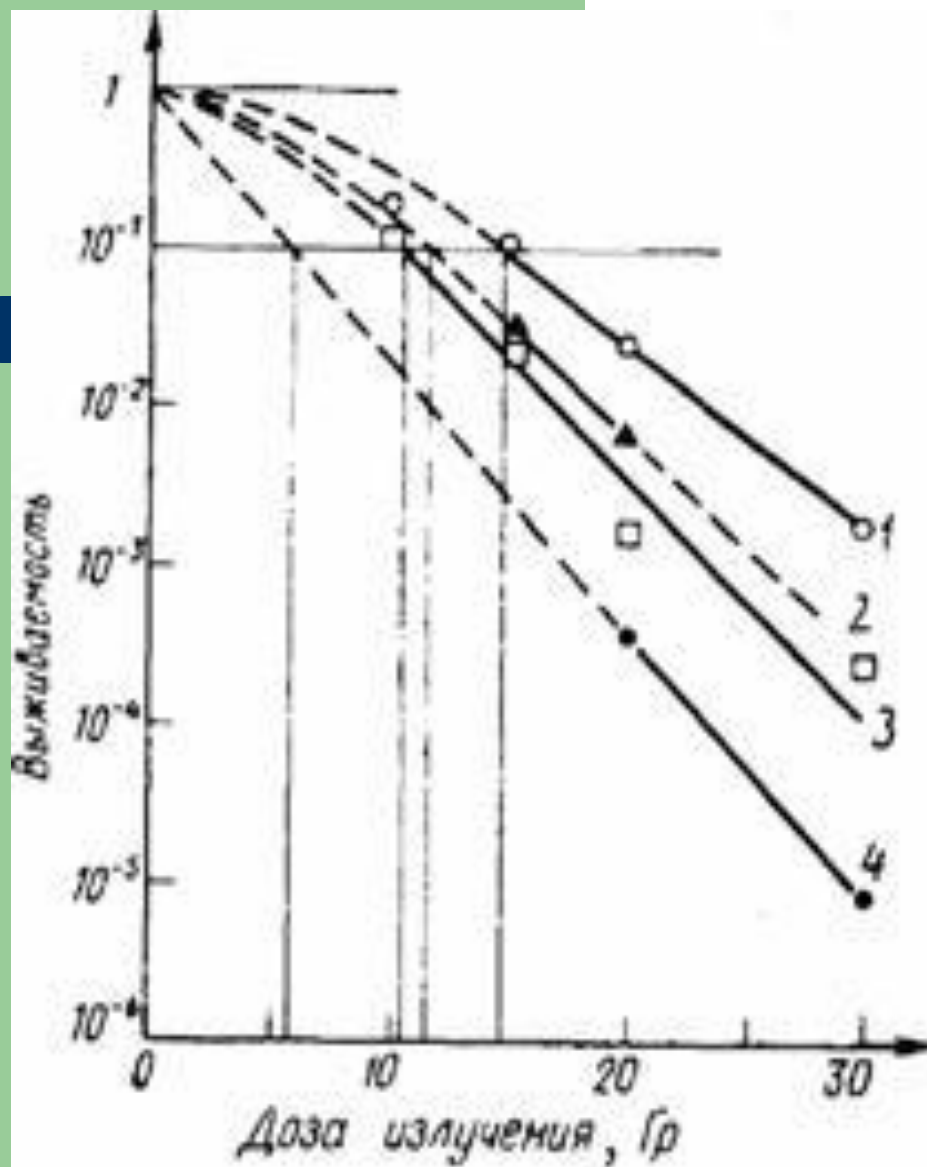
Влияние протекторов на гибель мышей, облученных в дозах 7—12 Гр

- 1 - контроль,
- 2 - цистафос,
- 3 - АЭТ,
- 4 – мексамин,
- 5 - АЭТ+мексамин;
- ФИД, вычисленный для доз, вызывающих 50%-ную гибель мышей, равен 1,5; 1,55; 1,53 и 1,83 соответственно



- Кривая 1 (контрольная группа) - ЛД50 = 4 Гр;
- Кривая 2 (МЭА до облучения) - ЛД50 = 6 Гр;
ФУД = $6/4 = 1,5$;
- Кривая 3 (МЭА после облучения) - ЛД50 = 4 Гр;
ФУД = $4/4 = 1$

Рис. 1. Зависимость выживаемости лабораторных белых мышей от дозы рентгеновского излучения при отсутствии введения (1) и при введении МЭА до (2) или после (3) облучения



Кривые выживания клеток лейкемии Р-388, облученных в организме мышей через 4 дня после четырех ежедневных внутрибрюшинных инъекций 5-йоддезоксидеоксиуридина (по Р. Берри, 1965):

- 1 - без ЙДУР,
- 2 - 100 (мг/кг)х4,
- 3 - 300 (мг/кг)х4,
- 4 - 500 (мг/кг)х4;
- ФИД, вычисленный по 10%-ной выживаемости (в порядке возрастания концентрации сенсibilизатора), составляет 1,3; 1,4 и 2,2

Существующие протекторы далеки от совершенства.

Ориентиром в поиске новых химических средств защиты служит так называемый идеальный радиопротектор, который должен отвечать следующим требованиям:

- высокая эффективность при отсутствии токсичности;
- удобство лекарственной формы (пероральное или внутримышечное введение);
- дешевизна в изготовлении и устойчивость при хранении;
- длительность проявления защитного действия (которое должно начинаться с первых минут после приема и сохраняться в течение нескольких часов);
- возможность использования препарата при воздействии разных видов ионизирующих излучений.

МЕХАНИЗМЫ ПРОТИВОЛУЧЕВОЙ ЗАЩИТЫ

1. ПЕРЕХВАТ И ИНАКТИВАЦИЯ РАДИКАЛОВ

Начиная с первых работ П. Александера и З. Бака (1955), установивших для соединений различных классов корреляцию между их радиозащитной активностью *in vivo* и *in vitro*, широкое распространение получила точка зрения об **общем механизме действия протекторов — снижении косвенного действия радиации путем перехвата и инактивации свободных радикалов и других активных продуктов радиолиза воды.**

Возражения против признания общности такого механизма действия протекторов *in vivo*

- с позиции перехвата радикалов не понятны большие различия в размере эффективных доз протекторов: при эквимолекулярном сравнении они могут различаться на несколько порядков (цианиды, резерпин — 2—4 мг/кг, цистеин — 1 г/кг);
- незначительное изменение структуры соединения вызывает у него утрату защитных свойств;
- ярко выраженная специфичность соединений *in vivo* в сопоставлении с данными о приблизительно одинаковой способности инактивировать радикалы в водных растворах;
- локальное внутриклеточное содержание протекторов значительно ниже, чем их эффективные концентрации в облучаемых растворах, а способность реагировать с радикалами едва ли выше, чем у различных клеточных метаболитов;
- радиочувствительность ферментов, нуклеиновых кислот и других биологически важных соединений резко снижается при переходе от растворов к клетке и организму, где она приближается к радиочувствительности в сухом состоянии.

МЕХАНИЗМЫ ПРОТИВОЛУЧЕВОЙ ЗАЩИТЫ

2. ИЗМЕНЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА

Предположение о возможности связи защитного действия протекторов со сдвигом в окислительно-восстановительном потенциале (Eh) клеток.

Г. В. Сумаруковым, в частности, обнаружено снижение величины Eh при применении эффективных протекторов и гипоксии. В последующем, однако, в лаборатории Всесоюзного онкологического центра было показано, что связь между величиной Eh и защитным эффектом лишь качественная, и в ряде случаев она вообще отсутствует.

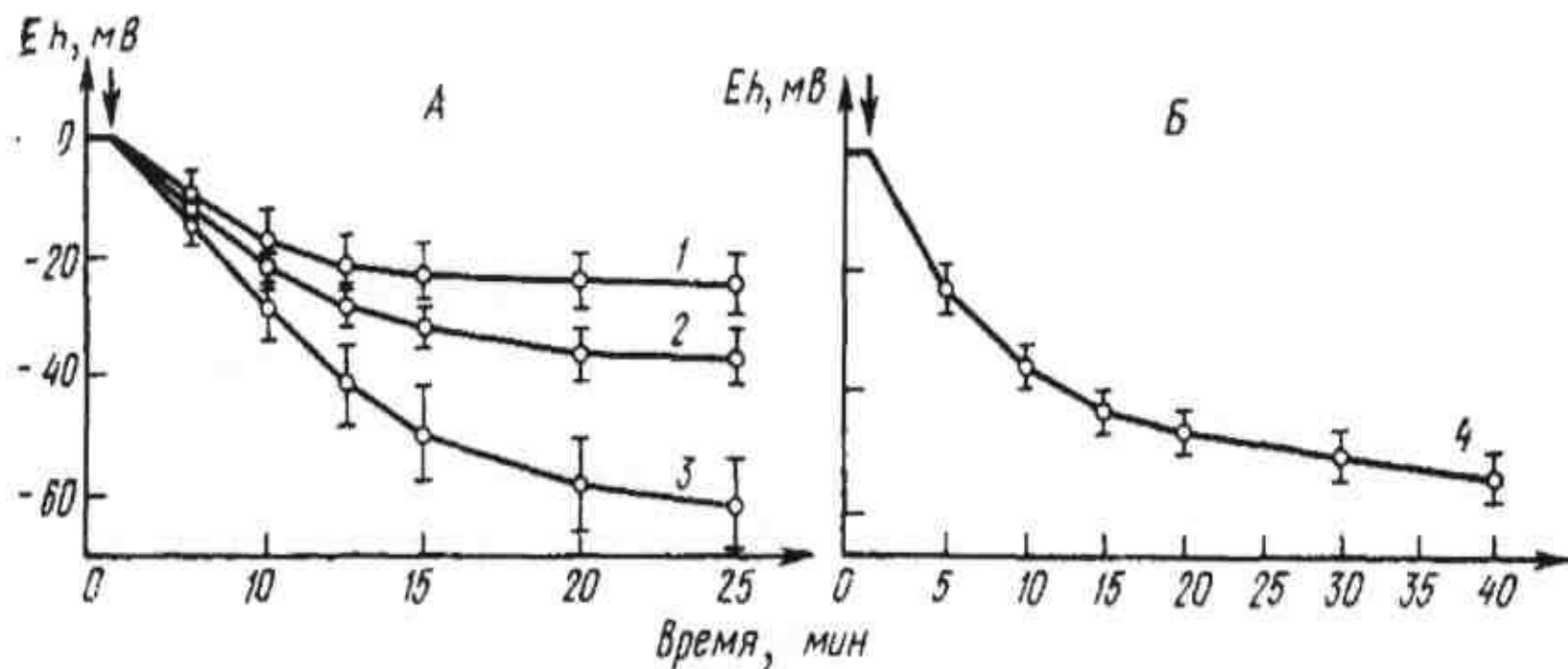


Рис. 123. Изменение окислительно-восстановительного потенциала (Eh) в подкожной клетчатке мышей при внутрибрюшинном введении гаммафоса (А) и гутимины (Б) в различных дозах:

1 — 88 мг/кг, 2 — 175 мг/кг, 3 — 350 мг/кг, 4 — 220 мг/кг; стрелкой обозначен момент облучения

МЕХАНИЗМЫ ПРОТИВОЛУЧЕВОЙ ЗАЩИТЫ

3. ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ ЭНДОГЕННЫХ SH-ГРУПП («СУЛЬФИДРИЛЬНАЯ ГИПОТЕЗА»)

- В большом числе экспериментальных исследований установлено, что наблюдаемое под влиянием протекторов повышение радиоустойчивости объектов сопровождается **увеличением содержания в них сульфгидрильных (тиольных) групп**. Это происходит не только при применении тиоловых протекторов, но и при введении индолилалкиламинов или в результате газовой гипоксии. Следовательно, речь идет не о привнесенных тиоловых группах, а о повышении их эндогенного содержания, что дало основание рассматривать сульфгидрильные группы как естественные протекторы, уровень которых в значительной степени определяет различия в природной радиочувствительности.
- **Доказательство справедливости сульфгидрильной гипотезы:**
- ✓ многочисленные факты корреляции содержания тиолов и радиочувствительности, полученные в экспериментах на изолированных клетках, на клетках критических органов (костный мозг и селезенка), на нормальных и опухолевых клетках, на клетках, находящихся на разных стадиях цикла, принадлежащих животным разных линий, и на других объектах, различающихся по степени природной радиочувствительности;
- ✓ возможность уменьшения устойчивости клетки к облучению при снижении содержания в ней эндогенных тиолов с помощью различных химических соединений.
- **Уязвимостью гипотезы** является малое (~ 10—15 %) повышение содержания эндогенных SH-групп, что несопоставимо с эффективными концентрациями экзогенных тиолов, оказывающими защитное действие.

МЕХАНИЗМЫ ПРОТИВОЛУЧЕВОЙ ЗАЩИТЫ

4. ПОВЫШЕНИЕ «БИОЛОГИЧЕСКОГО ФОНА РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ»

Введение в организм эффективных доз протекторов сопровождается довольно значительными изменениями различных биохимических процессов, на фоне которых и происходит облучение животных.

Под влиянием протекторов увеличивается содержание эндогенных тиолов, аминов, обладающих радиозащитной активностью (серотонин, дофамин и гистамин), с другой – снижается содержание продуктов окисления липидов, обладающих радиомиметическим действием. Первые из них рассматривают как эндогенные протекторы, вторые — как эндогенные радиосенсибилизаторы. Кроме того, биогенные амины, согласно развиваемой точке зрения, наряду с фармакологическим (гипоксическим) механизмом действия, активируют систему циклических нуклеотидов, контролирующую, как известно, клеточное деление, синтез нуклеиновых кислот, гликолиз, проницаемость мембран и другие важные клеточные процессы, переводя их в состояние «радиорезистентного метаболизма».

КИСЛОРОДНЫЙ ЭФФЕКТ

Под **кислородным эффектом (КЭ)** обычно понимают явление усиления лучевого поражения при повышении концентрации кислорода по сравнению с наблюдаемым в результате облучения в анаэробных условиях, т.е. кислород является универсальным радиосенсибилизатором.

Поскольку КЭ проявляется вследствие облучения простых химических систем, то считают, что его механизм связан с первичными радиационно-химическими процессами. Наиболее общепринятой признана точка зрения о роли **электроакцепторных свойств молекулы кислорода**, являющейся бирадикалом: кислород взаимодействует с образующимися при действии излучений радикалами биологических молекул, и, фиксируя возникшие в них потенциальные повреждения, делает их труднодоступными или недоступными для репарации.

Однако при облучении сложных объектов (например, целостного организма) к прямому влиянию кислорода на радиационно-химические изменения в веществе могут добавляться вторичные эффекты, опосредованные физическими и обменными процессами.

Количественным выражением изменения эффекта облучения под влиянием кислорода служит **коэффициент кислородного усиления** — ККУ (OER— oxygen enhancement ratio).

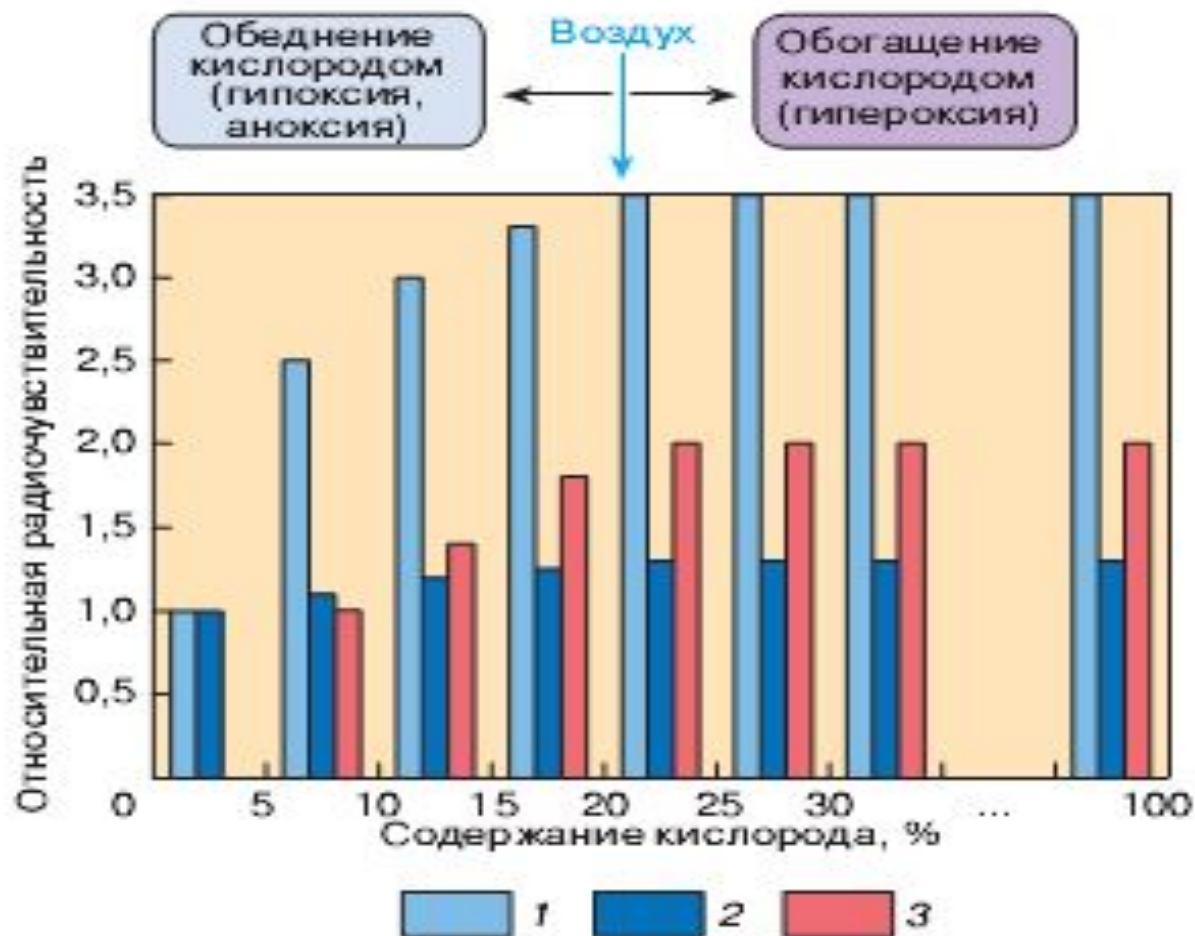
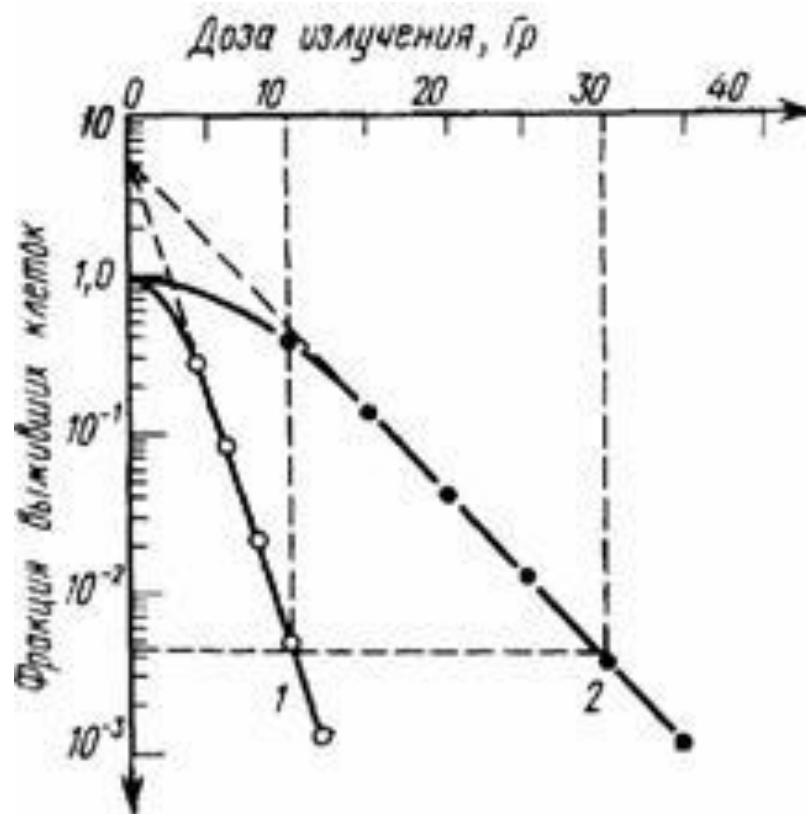


Рис. 3. Зависимость радиочувствительности биологических объектов от содержания кислорода в окружающей среде: 1 – одиночные клетки, 2 – клетки раковой опухоли, 3 – организм животных.

За единицу радиочувствительности принята LD_{50} : при облучении клеток в аноксии (0% O_2) или животных в гипоксии (5% O_2)

Кривые выживания клеток тайского хомячка, подвергнутых рентгеновскому облучению:

- 1 — в воздухе, 2 — в азоте;
- дозы, вызывающие одинаковую выживаемость в азоте и воздухе, составляют 30 и 10 Гр соответственно; ККУ=3

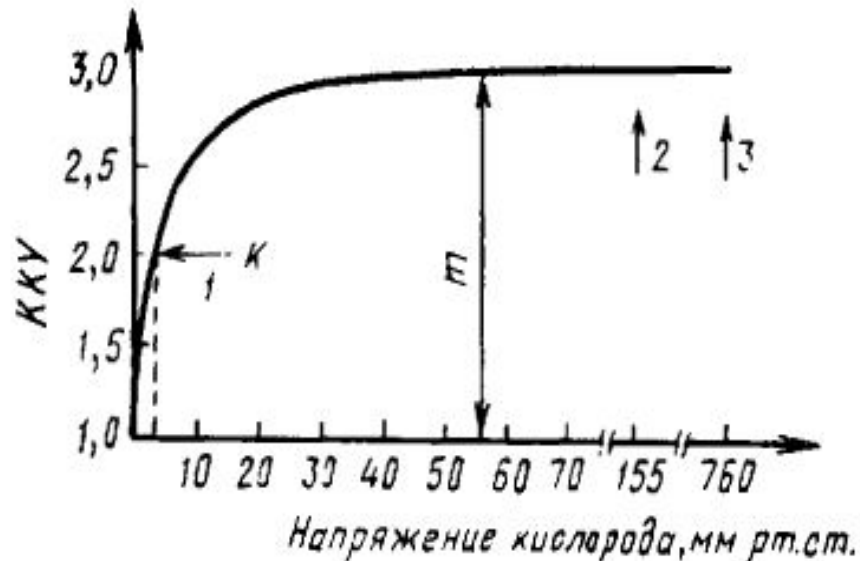


Проявление КЭ зависит:

- **От фактора времени:** для получения максимальной сенсibilизации кислорода необходимо подавать до начала облучения (за 1-2 мс, 40 мс по данным различных авторов). По-видимому, это время, в течение которого кислород может продиффундировать к «критическим» внутриклеточным структурам. Если кислород подается после облучения, то ККУ уменьшается обратно пропорционально увеличению времени, прошедшему после облучения. Таким образом, сенсibilизирующее действие кислорода при облучении может проявляться только тогда, когда он присутствует непосредственно в момент облучения.

Проявление КЭ зависит:

- от концентрации кислорода: КЭ увеличивается при увеличении концентрации кислорода.

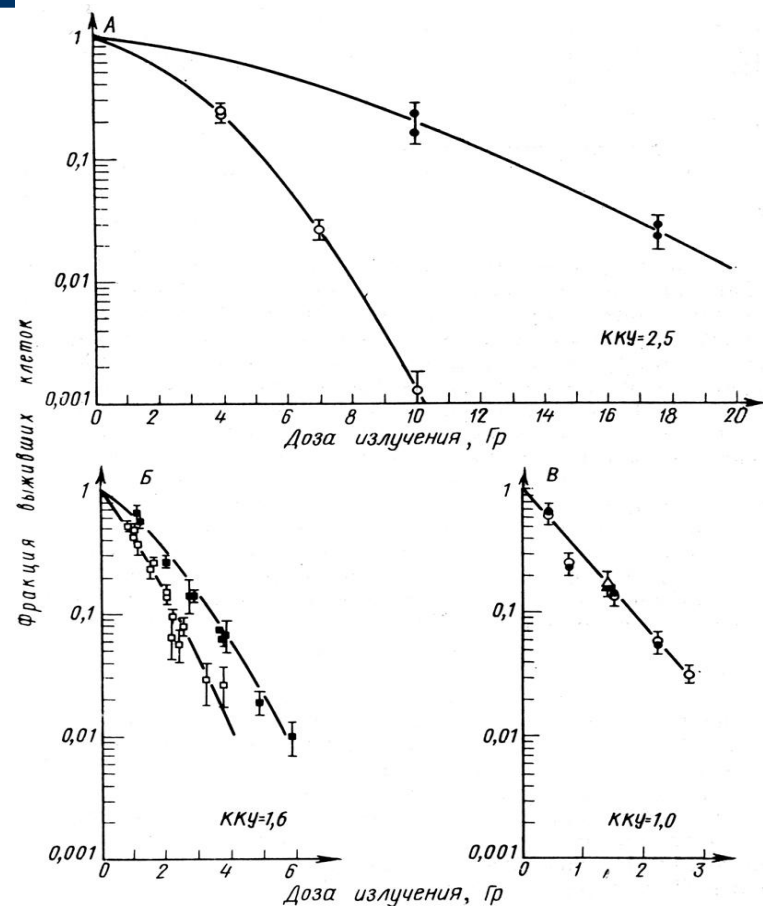


Зависимость радиочувствительности клеток от содержания кислорода (% от атмосферного) и его парциального давления при 37 °С:
1 — 3 мм рт. ст. или 1–2% O₂, 2 — воздух,
3 — 100% O₂; остальные объяснения см. в тексте

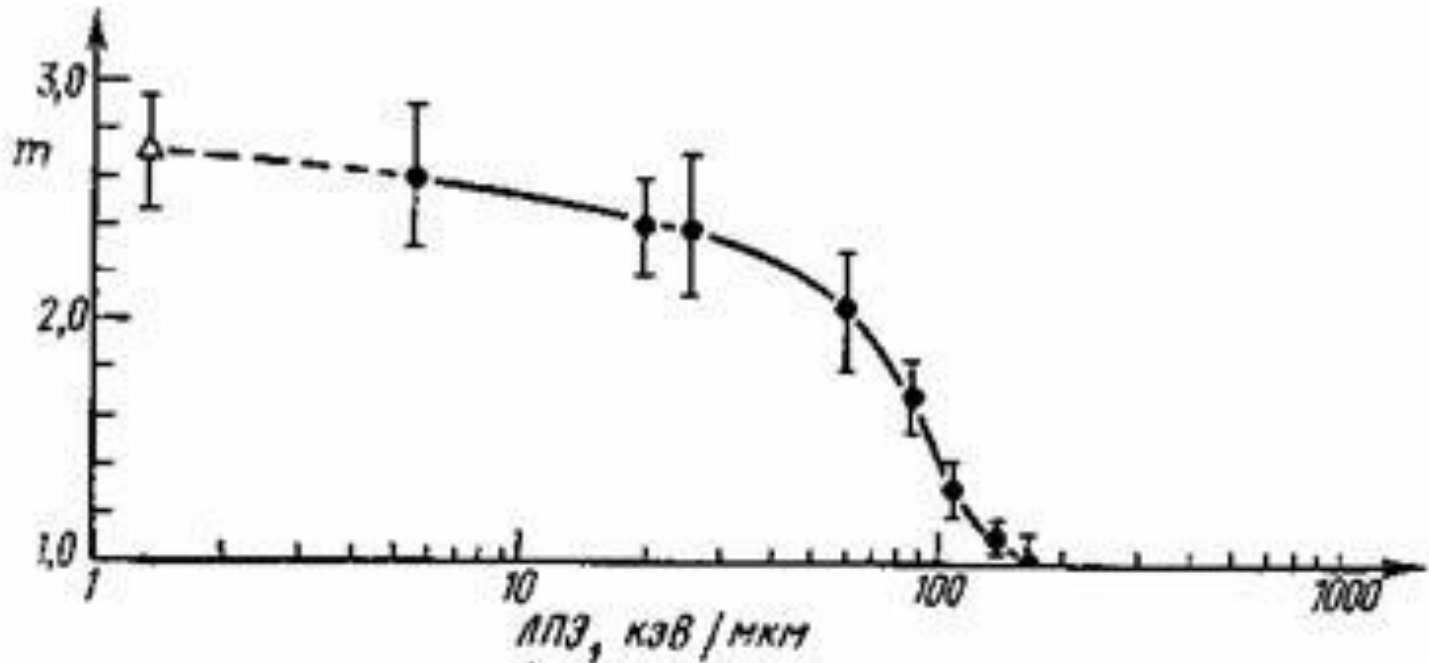
Проявление КЭ зависит:

- от линейной передачи энергии (ЛПЭ) – с повышением ЛПЭ КЭ быстро уменьшается, а при облучении, например, альфа-частицами исчезает.

Зависимость кислородного эффекта от вида ионизирующих излучений. *A* — рентгеновское излучение; *B* — нейтроны с энергией 15 МэВ; *B* — α -излучение (по Дж. Барендсену и др., 1966. 1967)



Кислородный эффект как функция ЛПЭ, данные получены на культуре клеток почки человека (по Дж. Барендсену, 1966)

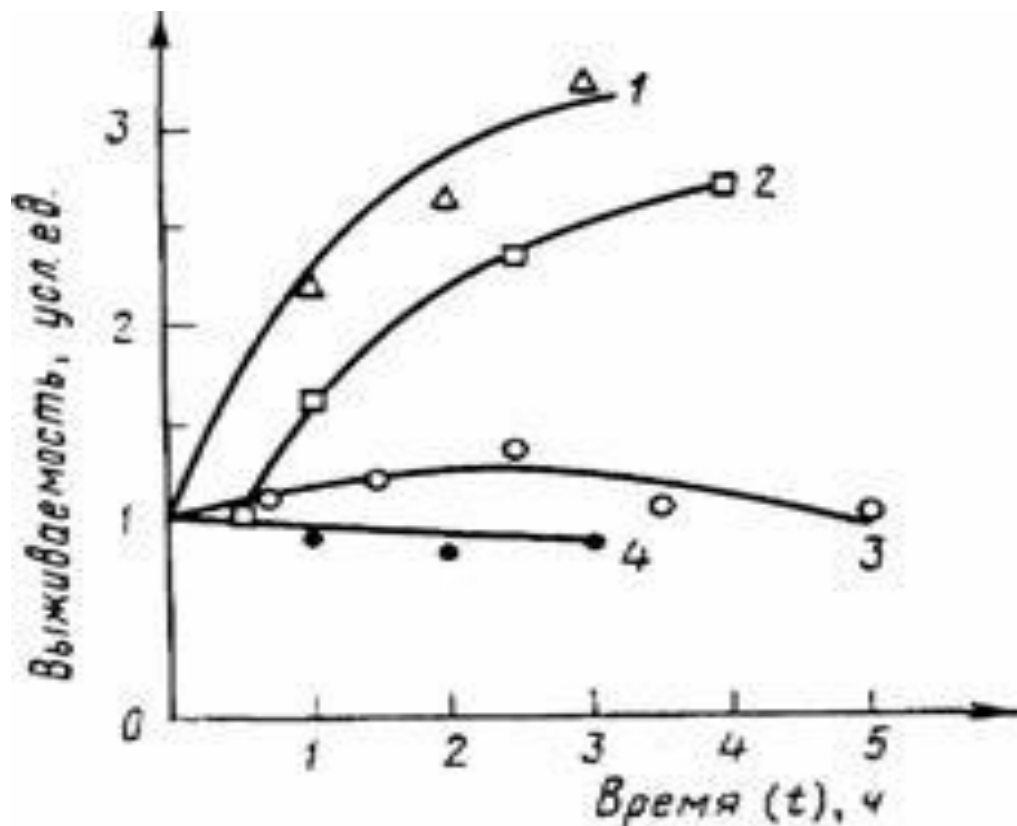


темными кружками обозначены тяжелые моноэнергетические частицы, треугольником - рентгеновское излучение 250 кВ, имеющее среднюю ЛПЭ 1.3 кэВ/мкм

ВЛИЯНИЕ КИСЛОРОДА НА ПОСТРАДИЦИОННОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ

- Кислород до или во время облучения оказывает радиосенсибилизирующее действие. Однако уже в 60-х годах выявили, что присутствие кислорода в среде после облучения, наоборот способствует репарации радиационных повреждений. Показано, что в аноксических условиях восстановление сублеталей после ИИ не происходит. С ростом концентрации кислорода скорость восстановления увеличивается. Этот эффект называется **обратный КЭ**.

Восстановление сублетальных повреждений за время t между фракциями в зависимости от концентрации кислорода в среде (асинхронная популяция клеток китайского хомячка, облучение в дозе, вызывающей 4%-ную выживаемость) (по К. И. Коху, 1979)



- 1 - воздух,
- 2 - 200 млн-1 O₂,
- 3 - 25 млн-1 O₂,
- 4 - 25 млн-1 O₂

- Следовательно, кислород при лучевом поражении биообъектов, с одной стороны, усиливает первичное поражение, с другой, облегчает посттравматическое восстановление.