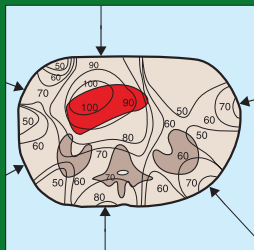


ЛУЧШИЙ ЗАРУБЕЖНЫЙ УЧЕБНИК



**М. С. Джойнер
О. Дж. ван дер Когель**

ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ РАДИОБИОЛОГИИ



ЛАБОРАТОРИЯ

ПИЛОТ

УДК 615.8
ББК 28.071
Д42

Серия основана в 2006 г.

Джойнер М. С.

Д42 Основы клинической радиобиологии [Электронный ресурс] / М. С. Джойнер, О. Дж. ван дер Когель ; пер. с англ. — 3-е изд. (эл.). — Электрон. текстовые дан. (1 файл pdf : 607 с.). — М. : Лаборатория знаний, 2017. — (Лучший зарубежный учебник). — Систем. требования: Adobe Reader XI ; экран 10".

ISBN 978-5-00101-467-6

Клиническая радиобиология — область пограничных проблем в науке. Книга является тем мостом, без которого невозможна эффективная лучевая терапия и дальнейшее развитие теоретических вопросов радиобиологии и радиологии.

Учебник рассчитан на международную аудиторию и переведен на разные языки. В его основе — материалы учебных курсов для студентов, специализирующихся в области лучевой терапии, радиационной физики и радиобиологии.

УДК 615.8
ББК 28.071

Деривативное электронное издание на основе печатного аналога: Основы клинической радиобиологии / М. С. Джойнер, О. Дж. ван дер Когель ; пер. с англ. — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. — 600 с. : ил., [4] с. цв. вкл. — (Лучший зарубежный учебник). — ISBN 978-5-9963-1149-1.

Приведенные в книге показания к применению, противопоказания и дозировки препаратов настоятельно рекомендуется сверять с информацией их производителей и соотносить с клиническими процедурами.

Авторы, редакторы и издатель не несут никакой юридической ответственности за любые содержащиеся в тексте и иллюстрациях ошибки или упущения.

В соответствии со ст. 1299 и 1301 ГК РФ при устранении ограничений, установленных техническими средствами защиты авторских прав, правообладатель вправе требовать от нарушителя возмещения убытков или выплаты компенсации

First published in Great Britain in 1993 by Edward Arnold

© 2009 Edward Arnold
© Лаборатория знаний, 2015

ISBN 978-5-00101-467-6

Содержание

Авторы	7
Предисловие	10
1. Введение: роль радиобиологии и лучевой терапии в лечении рака	13
2. Радиационно-индуцированные повреждения ДНК и их репарация	30
3. Гибель клеток после облучения: как, когда и почему они гибнут	57
4. Количественные характеристики гибели и выживаемости клеток	77
5. Зависимость доза—эффект в радиотерапии	102
6. Линейный перенос энергии и относительная биологическая эффективность.	121
7. Рост опухолей и их реакция на облучение	137
8. Фракционирование дозы облучения: линейно-квадратичная модель . .	175
9. Использование линейно-квадратичной модели в клинической практике	203
10. Изменение режима фракционирования дозы облучения	228
11. Роль временного фактора в реакции ткани на облучение	250
12. Эффект мощности дозы облучения	263
13. Патогенез побочных эффектов, проявляющихся при облучении здоровых тканей	282
14. Роль объема облучаемой ткани в лучевой терапии	320
15. Кислородный эффект и фракционирование дозы	346
16. Роль опухолевого микроокружения и клеточной гипоксии	363
17. Терапевтические подходы к преодолению гипоксического барьера опухолей	386
18. Совместное применение лучевой и химиотерапии	407

19. Устойчивость нормальных тканей к повторному облучению	428
20. Лучевая терапия с использованием сочетания молекулярного имиджинга с позитронно-эмиссионной томографией	448
21. Таргетные препараты, усиливающие реакцию опухолей на облучение.	472
22. Модификаторы биологических реакций нормальных тканей на облучение.	494
23. Направленное изменение радиационно-биохимических реакций и индивидуализация лечения больных.	517
24. Использование протонов и других ионов в радиотерапии	543
25. Развитие вторичного рака после облучения.	556
Словарь радиобиологических терминов.	579
Предметный указатель	592

1

Введение: роль радиобиологии и лучевой терапии в лечении рака

Майкл С. Джойнер, Олберт Дж. ван дер Когель и Г. Гордон Стил

1.1. Роль лучевой терапии в лечении рака	13
1.2. Роль радиационной биологии	17
1.3. Временная шкала радиобиологических эффектов	18
1.4. Реакция здоровых и опухолевых тканей на облучение	20
1.5. Количественные закономерности проявления радиобиологических эффектов, дозовые кривые и понятие изоэффекта	21
1.6. Понятие терапевтического индекса	23
1.7. Роль радиобиологии в совершенствовании методов лучевой терапии	25
Основные положения	28
Библиография	28
Литература для чтения	29

1.1. Роль лучевой терапии в лечении рака

Лучевая терапия продолжает оставаться одним из двух наиболее эффективных методов лечения рака. Более половины онкологических больных в определенные периоды времени в ходе лечения получают сеансы лучевой терапии (Tobias, 1996; Delaney *et al.*, 2005). Давно применяющийся хирургический метод в ряде случаев используется при первичном лечении и для некоторых ранних, не осложненных метастазами опухолей, дает неплохой терапевтический результат. Лучевая терапия представляет собой хорошую альтернативу хирургическому методу и позволяет в течение длительного времени контролировать развитие многих опухолей головы и шеи, легких, шейки матки, мочевого пузыря, предстательной железы и кожи. При этом часто удается достигнуть эффективного контроля за ростом опухолей и хороших косметических результатов. Наряду с приведенными примерами эффективности лучевой терапии для многих больных она выступает в качестве паллиативного средства. В настоящее время химиотерапия является третьим важным методом лечения злокачественных опухолей. Начав с использования азотистого иприта в 1920-х гг., в настоя-

щее время химиотерапия располагает большим набором средств борьбы с раком. Правда, на практике используется не более 10–20 препаратов. Многие больные получают химиотерапевтические средства в ходе общей схемы лечения, и часто у них наблюдается ослабление симптоматики и приостановка развития заболевания. Наконец, в клиническую практику поступают адресные (таргетные) препараты (которые также называются «маленькие» или «быстрые» молекулы). Некоторые из них [например, ингибиторы эпидермального ростового фактора (EGFR)] использовались совместно с лучевой терапией и показали обнадеживающие клинические результаты.

В табл. 1.1 (Delaney *et al.*, 2005) представлено процентное количество больных с опухолями различной локализации, которым показана лучевая терапия. Таблица составлена на основании клинически подтвержденных результатов и представляет собой краткую сводку данных, иллюстрирующих роль лучевой терапии в лечении различных опухолей. Ниже приводятся соответствующие примеры.

- *Молочная железа.* Для лечения опухолей молочной железы, находящихся на ранней стадии и не имеющих метастазов, обычно используют хирургический метод (например, лампэктомию). При этом в 50–70% случаев удается контролировать рост опухоли. При последующем облучении молочной железы и региональных лимфатических узлов эти цифры удастся увеличить еще в пределах 20% и продлить выживаемость больных. Существенную роль в продлении выживаемости также играет гормональная терапия и химиотерапия. У больных с диагностированными метастазами прогноз неблагоприятный.
- *Легкие.* Большинство опухолей легкого на поздних стадиях неоперабельны и при использовании лучевой терапии совместно с химиотерапией обеспечивают 5-летнюю выживаемость больных лишь в 5% случаев. Однако на ранних стадиях развития опухоли у больных, которым не показана хирургическая операция, после проведения облучения в массивных дозах удается контролировать развитие опухоли.
- *Предстательная железа.* Хирургический метод и лучевая терапия обладают примерно одинаковой эффективностью и обеспечивают длительную выживаемость больных. Опухоль на ранних стадиях часто вылечивается с помощью одной лучевой терапии с использованием внешнего пучка или брахитерапии. При этом более чем в 95% случаев обеспечивается пятилетняя выживаемость больных. Для лечения опухолей, находящихся на более поздних стадиях, наряду с облучением внешним пучком, может потребоваться антигормональная терапия. Химиотерапия оказывается менее эффективным средством контроля локального роста опухоли.
- *Шейка матки.* Опухоль, находящаяся на более поздней стадии, чем *in situ*, часто вылечивается совместным использованием местного и внешнего облучения; в более запущенных случаях лучевую терапию часто

Таблица 1.1. Использование лучевой терапии в лечении опухолей различной локализации (с разрешения из: Delaney *et al.* 2005)

Локализация опухоли	Доля среди всех опухолей (%)	Доля больных, получавших курс лучевой терапии (%)	Доля больных, получавших курс лучевой терапии (в % от общего количества онкологических больных)
Молочная железа	13	83	10,8
Легкие	10	76	7,6
Меланома	11	23	2,5
Предстательная железа	12	60	7,2
Женская половая сфера	5	35	1,8
Толстая кишка	9	14	1,3
Прямая кишка	5	61	3,1
Голова и шея	4	78	3,1
Желчный пузырь	1	13	0,1
Печень	1	0	0
Глотка	1	80	0,8
Желудок	2	68	1,4
Поджелудочная железа	2	57	1,1
Лимфома	4	65	2,6
Лейкозы	3	4	0,1
Миелома	1	38	0,4
ЦНС	2	92	1,8
Почки	3	27	0,8
Мочевой пузырь	3	58	1,7
Семенники	1	49	0,5
Щитовидная железа	1	10	0,1
Неизвестной локализации	4	61	2,4
Прочие опухоли	2	50	1
Всего	100	—	52,2

комбинируют с химиотерапией. Выживаемость больных сильно варьирует в зависимости от стадии заболевания и при лечении в стадии I обеспечивает примерно 70%, а в стадии IV — лишь 7% выживаемости.

- *Голова и шея.* На ранних стадиях опухоль поддается хирургическому лечению или лучевой терапии (внешним пучком и/или брахитерапией). На более поздних стадиях лучевую терапию обычно проводят в режиме фракционирования дозы (например, при форсированном облучении или при гиперфракционировании) и в сочетании с химиотерапией. В последнее время предпринимались попытки совместного использования ингибиторов EGFR (например, цетуксимаба) и лучевой терапии. После первичного хирургического лечения локализованных опухолей часто используется лучевая терапия иногда совместно с химиотерапией.
- *Лимфомы.* Лучевая терапия ходжкинских лимфом, находящихся на ранней стадии, обеспечивает примерно 80—90%-ю выживаемость больных. В настоящее время, однако, лучевую терапию чаще применяют совместно с химиотерапией, что позволяет подвергать облучению меньший объем тела и использовать менее высокие дозы радиации.
- *Мочевой пузырь.* Эффективность хирургических методов или лучевой терапии существенно зависит от стадии заболевания; оба метода обеспечивают более чем 50%-ю пятилетнюю выживаемость больных. При раке мочевого пузыря на ранней стадии частичное облучение, обеспечивающее сохранность органа, представляется хорошей равноэффективной альтернативой хирургическому методу.
- *Опухоли другой локализации.* Лучевая терапия, в т. ч. совместно с химиотерапией, часто используется в качестве постоперационного метода лечения опухолей головного мозга, поджелудочной железы или сарком, а также в качестве средства предоперационной терапии опухолей пищевода прямой кишки и желудка.

С помощью лучевой терапии у значительного числа больных удастся достигнуть долговременного контроля над ростом распространенных типов опухолей. Для обсуждения вопросов финансирования национальных противораковых программ необходимо располагать данными об эффективности основных терапевтических методов. Согласно оценочным данным (DeVita *et al.*, 1979 и Souhami and Tobias, 1986), можно ожидать, что методы местного лечения, включающие хирургические и/или лучевую терапию, будут эффективны примерно в 40% случаев; вероятно, для 15% опухолей различной локализации лучевая терапия является основным методом лечения. Напротив, для многих больных, получавших химиотерапию, ее вклад в курабельность рака составляет всего лишь около 2%, а с учетом возможности продления продолжительности жизни еще 10%. Это объясняется тем, что опухоли, поддающиеся лечению только химиотерапевтическим методом, достаточно редки. Если эти расчеты верны, то в настоящее время лучевой терапией вылечивается в семь раз больше больных, чем химиотерапией. Такое утверждение отнюдь не умаляет значения химиотерапии в

лечении многих видов опухолей и ее эффективности в качестве адъювантного средства, однако лишь иллюстрирует выдающуюся роль этого лечебного метода (Tubiana, 1992).

В настоящее время предпринимаются многочисленные попытки усовершенствовать методы лучевой и химиотерапии. Широко пропагандируются такие новые химиотерапевтические препараты, как лимфокины и ростовые факторы, а также лечение с использованием антионкогенов и генной терапии. Однако если мы зададимся целью увеличить курабельность рака, скажем, на 2%, то для этого необходимо будет увеличить эффективность лучевой терапии лишь с 15% до 17%, в то время как эффективность химиотерапии — в два раза.

Можно назвать следующие четыре основных фактора, обеспечивающие дальнейший прогресс лучевой терапии.

1. Доведение стандартов дозы и способов облучения до уровней, принятых в лучших радиологических центрах.
2. Использование нетрадиционных методов распределения дозовых нагрузок с использованием конформной лучевой терапии и модулирования интенсивности потока фотонов или с применением пучков протонов или ионов углерода.
3. Использование методов визуализации для ежедневного контроля процедур облучения.
4. Учет основных радиобиологических закономерностей.

В академических радиологических центрах мира работает менее 5% специалистов по лучевой терапии. Они являются врачами-клиницистами и имеют возможность использовать такие новые методы лечения, как, например, использование ионных пучков и методов визуализации или применение новых радиосенсибилизаторов и препаратов для адресной терапии опухолей. Все эти вопросы, которые обеспечат высокую эффективность лечения в будущем, рассматриваются в отдельных главах настоящего пособия. Не следует, однако, думать, что прогресс лучевой терапии исключительно связан с клиническими исследованиями, проводимыми в ведущих академических центрах. Считается общепризнанным, что гораздо более существенный вклад в повышение эффективности лечения рака вносят такие параметры, как величина дозы и способ облучения. В гл. 8–10 освещаются основные принципы оптимизации фракционирования дозы с учетом неизбежных перерывов в облучении. Для многих радиологов эти главы могут представлять собой наиболее важную часть пособия, поскольку в небольших клиниках, даже без существенных затрат, используя эти принципы, возможно максимально приблизиться к оптимальной схеме фракционированного облучения.

1.2. Роль радиационной биологии

Экспериментальные и теоретические исследования в области радиационной биологии способствуют развитию лучевой терапии на трех различных уровнях, которые, в свою очередь, можно отнести как к общим, так и к более специфическим.

- *Теоретические представления* — являются концептуальной основой лучевой терапии. Они позволяют выяснить механизмы и процессы, лежащие в основе реакции опухолевой и здоровой ткани на облучение, и объяснить существо наблюдаемых явлений. К ним относятся представления о гипоксии, реоксигенации тканей, репопуляции опухолей и механизмах репарации повреждений ДНК
- *Стратегия лечения* — развитие новых подходов в лучевой терапии. Это использование сенситизаторов гипоксических клеток и препаратов адресного действия, излучения с высокой линейной передачей энергии (ЛПЭ), а также ускоренной методики лучевой терапии и гиперфракционирование дозы.
- *Методики облучения* — включают выбор конкретных условий клинического применения программ лучевой терапии. Например, использование конверсионных формул для расчета различных режимов фракционирования дозы или ее мощности, а также рекомендаций по одновременному или последовательному применению химиотерапии. Мы также включаем сюда методы, позволяющие разработать схему оптимального лечения конкретных больных (индивидуализация лучевой терапии).

Очевидно, что радиобиология сыграла весьма плодотворную роль в разработке новых концепций лучевой терапии и в познании механизмов явлений, которые впоследствии оказались для нее полезными. Было разработано множество новых методов лучевой терапии, однако, к сожалению, пока лишь немногие из них позволили существенно улучшить клинические результаты. К числу достижений, относящихся к третьему из перечисленных выше уровней, относится разработка новых конверсионных формул, в основе которых лежит линейно-квадратичное уравнение (LQ). Однако вместе с тем возможность экспериментальной науки координировать деятельность врача-радиолога при выборе метода облучения ограничена из-за неадекватности теоретических и экспериментальных моделей. Поэтому при окончательном выборе протокола облучения всегда необходимо опираться на клинические данные.

1.3. Временная шкала радиобиологических эффектов

Облучение любого биологического объекта запускает последовательность процессов, которые по продолжительности сильно различаются (рис. 1.1). Эти процессы можно подразделить на три фазы (Boag, 1975), которые охарактеризованы ниже.

Фаза физических изменений

Эта фаза включает взаимодействия между заряженными частицами и атомами, входящими в состав ткани. Электроны, обладающие высокой скоростью, проходят через молекулу ДНК примерно за 10^{-18} с, а через клетку млекопитаю-

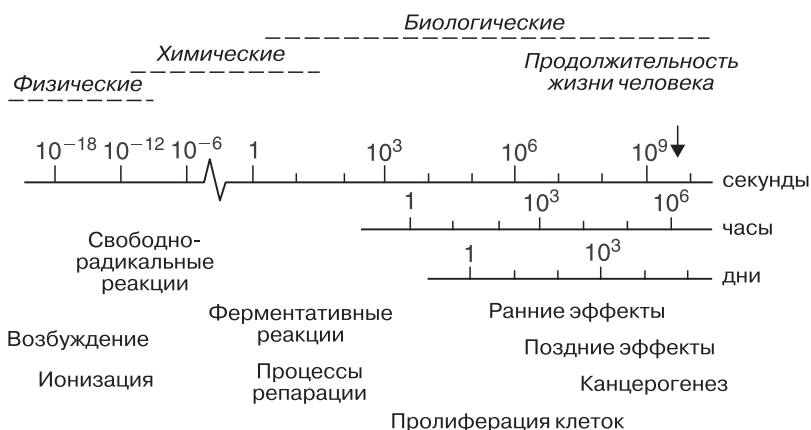


Рис. 1.1. Шкала развития эффектов облучения биологических объектов во времени

щих — за 10^{-14} с. На своем пути они взаимодействуют в основном с орбитальными электронами атомов, которые при этом удаляются (процесс ионизации) или переходят на более высокий энергетический уровень (процесс возбуждения). Если удаленные электроны обладают достаточной энергией, они способны возбуждать или ионизировать соседние атомы, что приводит к каскаду событий ионизации. При облучении клетки диаметром 10 мкм с поглощенной дозой 1 Гр в ее объеме возникает 10^5 событий ионизации.

Фаза химических изменений

Фаза химических изменений относится к периоду, в течение которого эти измененные атомы и молекулы быстро реагируют с различными клеточными компонентами. Процессы ионизации и возбуждения вызывают разрыв химических связей и образование осколков молекул, которые называются «свободные радикалы». Свободные радикалы обладают высокой реакционной способностью и участвуют в цепи реакций, которые в конце концов приводят к восстановлению равновесия зарядов. Протекание реакций с участием свободных радикалов завершается примерно через 1 мс после окончания облучения. Важнейшей характеристикой химической фазы является наличие конкуренции между реакциями нейтрализации радикалов, например при инактивации за счет взаимодействия с сульфгидрильными соединениями, и их фиксации, в результате которой в биологически важных молекулах происходят стабильные химические изменения.

Фаза биологических изменений

Биологическая фаза включает все процессы, происходящие в дальнейшем. Они начинаются с ферментативных реакций, субстратом которых служат химически измененные молекулы. Основная масса повреждений, например в молекуле ДНК, успешно репарируется. Некоторые немногочисленные повреждения не

репарируются и в конце концов приводят клетку к гибели. Клетки погибают не сразу; в действительности после облучения в небольших дозах, прежде чем погибнуть, они проходят через несколько митотических делений. Ранние проявления радиационного повреждения ткани связаны с гибелью стволовых клеток, которая происходит в течение нескольких первых недель и месяцев после облучения и сопровождается уменьшением их количества. Примерами такой гибели является поражение кожи или слизистой, эрозия кишечника и клеточное опустошение кроветворной ткани (см. гл. 13, разд. 13.2). Вторичным эффектом после наступления клеточной гибели является компенсаторная пролиферация клеток, которая происходит в здоровых тканях и в опухолях. Еще позже после облучения тканей развиваются так называемые «поздние реакции». К их числу относятся фиброз и телеангиоэктазии кожи, поражения спинного мозга и кровеносных сосудов. В отдаленные сроки после облучения появляются вторичные опухоли (радиационный канцерогенез). Таким образом, временная шкала проявления пострадиационных эффектов может растянуться до многих лет после облучения.

1.4. Реакция здоровых и опухолевых тканей на облучение

В настоящем пособии главным образом рассматриваются такие последствия радиационного воздействия, которые проявляются в течение недель, месяцев и лет после проведения курса лучевой терапии. Эти последствия проявляются как в опухолях, так и в здоровых тканях, которые неизбежно попадают в поле облучения. Основная задача радиобиологии, применительно к лучевой терапии, состоит в объяснении наблюдаемых феноменов и во внесении изменений в существующие схемы лечения (перечисленных в разд. 1.2), позволяющих увеличить их эффективность.

Реакция опухоли на облучение проявляется в виде ее *регрессии*, за которой нередко наступает *возобновление роста* (или рецидивирование), однако опухоль уже не способна расти в течение всей жизни больного (в этом случае говорят об излечении или о достижении *контроля над локальным ростом опухоли*, что более правильно). Эти термины, выделенные курсивом, описывают такие реакции опухоли на облучение, механизмы которых мы бы очень хотели понять. В гл. 7 рассматриваются клеточные основы реакции опухолей на облучение, в том числе включающие контроль за ее ростом.

Проявления реакции здоровых тканей на облучение в терапевтических дозах варьируют от развития чувства легкого дискомфорта до тяжелого состояния, угрожающего жизни больного. Скорость развития этих проявлений для разных тканей различна и часто определяется полученной дозой излучения. Вообще говоря, поражение кроветворной ткани и эпителия проявляется спустя недели после облучения, а поражение соединительной ткани — еще позже. К числу основных достижений радиобиологии, достигнутых в 1980-е гг., относится установление факта различной модифицируемости ранних и поздних ре-

акций здоровой ткани на облучение при фракционировании дозы. Это послужило стимулом к развитию интереса к методу гиперфракционирования дозы (см. гл. 10, разд. 10.3).

Первоочередной задачей врача-радиолога является возможно более точное и надежное исследование реакции ткани на воздействие радиации. Для описания такой системы исследования используется термин «тестирование». В гл. 7, разд. 7.2 описаны методы тестирования реакции опухолей на облучение. Для здоровых тканей используют следующие три метода тестирования.

- *Регистрация тканевых эффектов.* Можно оценивать степень тяжести лучевого поражения ткани, используя произвольную шкалу, например используя данные, представленные на рис. 13.7 и 13.9. Для поверхностных тканей организма такой подход оказывается весьма перспективным в определении уровня доз по изоэффекту.
- *Оценка тканевых функций.* Для некоторых тканей разработаны методы тестирования функциональной активности, позволяющие регистрировать степень выраженности радиационных эффектов. К их числу, например, относится регистрация интенсивности дыхания у мышей как показатель, отражающий функциональную активность легких, клиренс этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА), отражающий степень поражения почек (рис. 8.4), или количество форменных элементов крови как индикатор функционирования костного мозга.
- *Проведение клоногенной пробы.* Для некоторого типа опухолей и здоровых тканей можно разработать методы, позволяющие подсчитывать число колоний, образуемых одной облученной клеткой. Это особенно важно для опухолей, поскольку известно, что возобновление роста опухоли после лечебных мероприятий вызвано пролиферацией лишь небольшого количества ее клеток, сохранивших способность к образованию колоний. Этот важный раздел радиационной биологии освещается в гл. 4.

1.5. Количественные закономерности проявления радиобиологических эффектов, дозовые кривые и понятие изоэффекта

Повреждение, которое ткань получает при облучении, со временем увеличивается, достигает пика, а затем может снижаться (рис. 1.2, а). Как можно количественно выразить степень этого повреждения? Можно было бы измерить степень его проявления в некоторый определенный момент времени после облучения, например во время максимального проявления эффекта, но время наступления максимума может зависеть от дозы радиации, что приведет к неопределенности в интерпретации результатов. Общим подходом в данном случае является расчет кумулятивного эффекта путем интегрирования по кривой в направлении слева – направо (рис. 1.2, б).

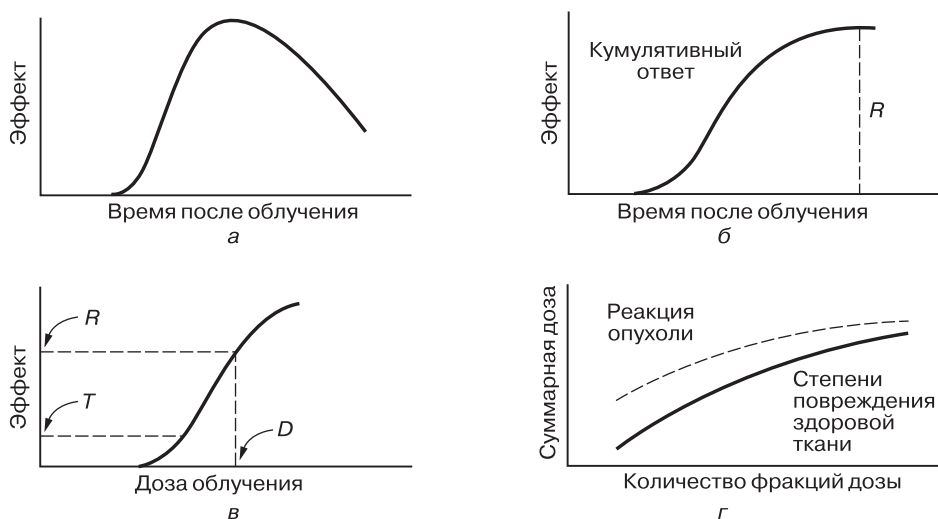


Рис. 1.2. Четыре типа графиков, используемых для построения кривых изодозы. (а) Развитие радиационного поражения здоровой ткани в зависимости от времени. (б) Развитие кумулятивного эффекта. (в) Дозовая зависимость, построенная в координатах интенсивности поражения (R) — доза (D); уровень допустимой клинической толерантности большинства тканей (T) соответствует нижним значениям дозовой кривой. (г) Графическое представление изодоз, соответствующих определенному уровню повреждения здоровой ткани (аналогичный график можно построить для опухолевой ткани)

Кумулятивная кривая для некоторых здоровых тканей достигает плато, высота которого служит количественной мерой общего эффекта данной дозы облучения на ткань. Развитие остальных эффектов, особенно поздних эффектов облучения, характерных для соединительной ткани и сосудов, носит прогрессирующий характер, и кривая кумулятивного ответа со временем продолжает возрастать (рис. 13.7 и 13.8). В гл. 13, разд. 13.4 рассмотрены методы количественной оценки клинически выраженных реакций здоровых тканей на облучение.

На следующем этапе исследования радиационного воздействия на ткань изменяют дозу излучения и, таким образом, исследуют дозовую зависимость радиобиологического эффекта (рис. 1.2, в). В настоящем пособии приводится множество таких дозовых кривых, например рис. 5.6, 14.3 и 19.8. Кривые, иллюстрирующие клеточную выживаемость (см. гл. 4, разд. 4.3), представляют собой еще один пример кривых, отражающих дозовую зависимость, которые широко используются в радиобиологии. Положение кривой на оси дозы отражает чувствительность ткани к излучению; наклон ее прямо указывает величину эффекта при увеличении или уменьшении дозы. Все эти вопросы, связанные с дозовыми кривыми, подробно рассматриваются в гл. 5.

В предыдущих разделах для простоты использовался термин «доза», как будто бы речь шла только об однократном облучении. Как хорошо известно из

медицинской радиологии, многократное облучение в продолжение нескольких недель обеспечивает больший лечебный эффект по сравнению с однократным. Кривые, подобные изображенным на рис. 1.2, *a–г*, могут быть получены и для фракционированного облучения, хотя результаты легче интерпретировать, когда фракции дозы назначаются в течение более короткого промежутка времени по сравнению с временной шкалой развития радиобиологического эффекта. Если мы изменим программу фракционирования дозы, например изменив число фракций, величину дозы на фракцию или мощность дозы, то сможем исследовать терапевтическую эффективность облучения, построив график для изоэффектов (рис. 1.2, *г*). Для этого регистрируют степень повреждения ткани при нескольких дозах, используя разные схемы облучения. На основании полученных данных строят дозовые кривые. Затем, выбрав некий уровень радиационного эффекта (R на рис. 1.2, *в*), определяют соответствующую ему суммарную дозу. Для здоровых тканей значения изоэффекта часто лежат в области верхнего предела толерантности, что, вероятно, соответствует почти полному разрушению ткани (см. гл. 5, разд. 5.1 и гл. 14, разд. 14.2), и лучше выбирать более низкий уровень эффекта. График изоэффектов показывает, насколько суммарная доза для определенного уровня эффекта зависит от схемы облучения: примеры приведены на рис. 8.2 и 10.3, а рекомендации по расчету толерантности — в гл. 8 и 9. Пунктирная линия на рис. 1.2, *г* показывает, какую пользу для лучевой терапии можно извлечь из кривых изоэффекта. Если кривая, соответствующая реакции опухоли на облучение, выглядит более плоской, чем кривая, отражающая толерантность здоровой ткани, то от использования большого количества фракций дозы можно получить терапевтический выигрыш. Это связано с тем, что определенная толерантная суммарная доза радиации, полученная при облучении в режиме небольшого числа фракций, не будет достигать эффективной дозы для опухоли, а при большем числе фракций дозы может к ней приближаться.

1.6. Понятие терапевтического индекса

При обсуждении возможных терапевтических преимуществ, которые могут быть достигнуты за счет изменения стратегии облучения, всегда следует, наряду с влиянием этих изменений на опухоль, одновременно также учитывать и изменение реакции здоровых тканей. При этой оценке необходимо учитывать большое количество различных факторов. Наряду с количественными аспектами противоопухолевого эффекта и токсического действия радиации, в клинике существует целый ряд плохо учитываемых факторов. К числу их, например, относится выявление новых форм проявления токсичности или повышение степени риска для больного, вопросы практицизма и удобства для обслуживающего персонала, а также финансовые вопросы. Все эти факторы следует учитывать при принятии окончательного решения. Роль радиационной биологии состоит в том, чтобы соотнести количественную сторону радиационных эффектов со схемой лечения.

В эксперименте этого можно достичь, анализируя дозовые кривые. По мере возрастания дозы излучения воздействие радиации на опухоль возрастает, и это утверждение также справедливо для здоровых тканей. Если, например, эффект радиации выражается как доля опухолей с контролируемым ростом, то следует ожидать, что соответствующая дозовая кривая будет иметь сигмоидный характер (при фракционированном облучении можно использовать показатель суммарной дозы или любой другой, характеризующий силу воздействия). Эта кривая изображена в верхней части рис. 1.3. Если мы каким-либо образом количественно выразим степень эффекта радиации на здоровую ткань при той же схеме лечения, то получим кривую, отражающую усиление токсического эффекта (нижняя часть рисунка). Маловероятно, что эта кривая будет иметь такую же форму, что и верхняя, и нас, вероятно, будет интересовать только начальный ее участок, поскольку следует избегать тяжелых повреждений здоровых тканей. По аналогии с тем, как это делается в клинике, мы затем можем отметить предположительный верхний предел толерантности (см. гл. 14, разд. 14.2). Эта отметка соответствует верхнему пределу толерантной дозы радиации для данной схемы облучения, при которой величина противоопухолевого эффекта соответствует положению точки *A* на кривой рис. 1.3.

Рассмотрим теперь совместное применение лучевой терапии и цитотоксических препаратов. Мы предполагаем, что в этом случае эффект радиации на опухоль увеличится, и кривая сместится влево (рис. 1.3). Однако наряду с этим усилятся и ее токсический эффект на здоровые ткани, что также приведет к смещению влево и кривой токсичности. Относительное смещение кривых для опухоли и здоровой ткани обычно бывает различным, и это сильно затрудняет оценку эффективности химиотерапии при ее совместном применении с лучевой терапией. Как можно рассчитать реальный терапевтический выигрыш в этом случае? В экспериментальных исследованиях на животных существует прямой путь выяснить, имеет ли преимущества совместное использование химио- и лучевой терапии по сравнению с одной лучевой терапией. Для одного и того же уровня толерантности здоровой ткани (показано пунктирной линией) максимальная доза радиации (при использовании химиотерапевтических препаратов) оказывается ниже, и соответствующий уровень контроля опухолевого роста отмечен точкой *B* на рис. 1.3. Если точка *B* расположена выше точки *A*, то комбинированное лечение более эффективно по сравнению с использованием только лучевой терапии, поскольку в этом случае при одинаковой смертности обеспечивается более высокий уровень контроля роста опухоли.

Этот пример иллюстрирует радиобиологический принцип, лежащий в основе концепции терапевтического индекса: он отражает реакцию опухоли на определенный уровень повреждений, полученных здоровой тканью (см. гл. 5, разд. 5.6). Под термином «терапевтическое окно» понимают (возможное) различие между дозой радиации, контролирующей рост опухоли, и толерантной дозой. В принципе эти понятия применимы ко всем случаям использования лечебных средств и для любых количественных показателей противоопухолевого эффекта и токсичности. В клинике, однако, эти показатели не носят столь однозначного характера, и это рассматривается в гл. 18, разд. 18.1. Величина тера-

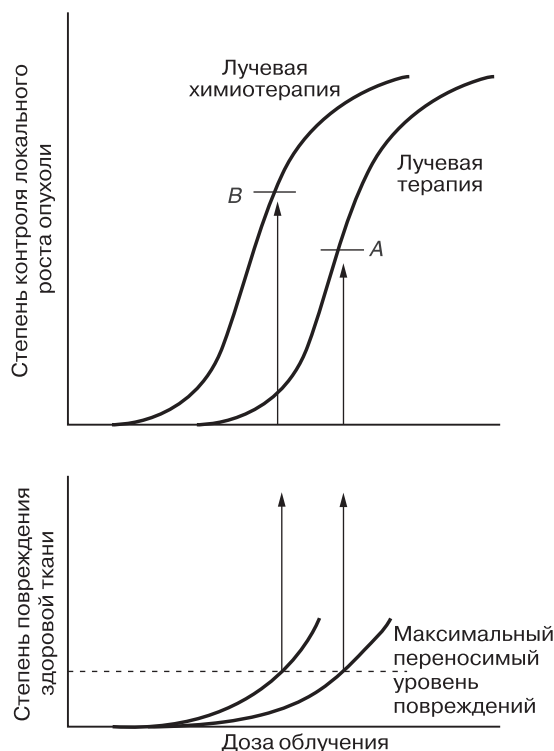


Рис. 1.3. Метод, позволяющий выявить увеличение терапевтического индекса в результате комбинированного применения лучевой и химиотерапии (см. разд. 1.6)

терапевтического индекса также зависит от результатов анализа в категориях «цена–выгода». Нельзя оценивать эффективность нового метода лечения, не принимая во внимание степень его влияния на терапевтический индекс.

1.7. Роль радиобиологии в совершенствовании методов лучевой терапии

Радиационная онкология в большей степени, чем любые другие отделы онкологии, является технической дисциплиной. Успехи, достигнутые за последние десятилетия в области излечения рака методом лучевой терапии, связаны главным образом с техническим прогрессом, благодаря которому стало возможным объединить новые возможности, позволяющие подводить радиационную дозу с минимальным уровнем погрешности с новыми средствами контроля по изображению. К числу наиболее существенных из последних достижений следует отнести использование облучения с модулированной интенсивностью в сочетании с различными средствами функционального отображения. Сюда

относится получение функциональных изображений методом МРТ (fMRI), а также позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ)/компьютерная томография (КТ). Достигнутый прогресс привел к появлению новых понятий, например «объем биологической мишени», «пейнтинг дозы» и «терагностический имиджинг» (см. гл. 20). Новые методы, несомненно, позволили увеличить эффективность контроля за ростом опухолей и привели к снижению смертности онкологических больных.

Наряду с техническим прогрессом существенное развитие претерпела и сама радиобиология. Значительно расширились наши знания по биологии опухолевого роста в целом и по радиочувствительности опухолей в частности. Фундаментальные биологические исследования в этом направлении носят экспериментальный характер и, так же как технические достижения в этой области, обещают оказаться весьма полезными в повышении эффективности лучевой терапии. Возможно даже, что усовершенствование технических возможностей лучевой терапии достигнет предела, и следующий прорыв произойдет в области биологических инноваций, например в области применения адресных препаратов, тропных к определенным видам молекул (см. гл. 21 и 22) в сочетании с прецизионными методами подведения радиационной дозы к опухолям.

Интересно, что прогресс в области исследования биологии рака, достигнутый в последнее время, также обязан техническим достижениям, особенно разработке высокопроизводительных методов, позволяющих исследовать внутриклеточные генетические процессы. Разработано несколько методов, позволяющих одновременно исследовать большое количество (десятки тысяч) генов (ДНК) и их экспрессию (РНК и белки). Основная тенденция состоит в переходе от исследования какого-либо одного гена или параметра ко всему геному. Проведение таких многопараметрических/мультигенных исследований диктуется необходимостью выяснения механизмов возникновения радиационных нарушений и развития процессов поражения в здоровых тканях. Разработка методов, позволяющих изменять экспрессию отдельных генов, представляет собой настоящую революцию в биологии. С помощью этих методов можно быстро оценивать роль любого гена в протекании биохимических процессов, изменяя или выключая его экспрессию (на уровне РНК и микроРНК). В настоящее время радиобиологи используют эти методы для того, чтобы разобраться в молекулярных механизмах радиационного поражения клеток. Это приведет к идентификации не только принципиально новых мишеней действия радиации, но и уже известных, свойства которых специфически изменены в опухолях, что должно обеспечить большую специфичность лучевой терапии. Вместе с тем должны быть разработаны показатели, позволяющие более точно прогнозировать, какая опухоль будет поддаваться стандартной лучевой терапии, а какая не будет. Таким образом, можно существенно увеличить эффективность индивидуализированной терапии (см. гл. 23).

На протяжении последних десятилетий мы являемся свидетелями смены приоритетов «классической радиобиологии», которая обычно уделяла основное внимание фракционированию дозы, линейно-квадратичной (LQ) модели и феноменологии процессов репарации «сублетальных» и «потенциально леталь-

ных» повреждений. Впрочем, фракционирование дозы остается понятием, имеющим фундаментальное значение для лучевой терапии. Выводы, полученные на основе LQ-модели, и представления о важной роли репопуляции тканей стали центральными в понимании клеточных механизмов, лежащих в основе радиобиологических эффектов фракционированного облучения. Все это привело к разработке новых, более эффективных схем фракционированного облучения, а также позволило прогнозировать реакцию здоровой и опухолевой ткани при применении нестандартных схем облучения (см. гл. 8–12). Интересно проследить, какие изменения претерпело установившееся представление о том, что для опухолей и радиочувствительных тканей характерны высокие значения параметра α/β , а для тканей, более резистентных к излучению, они существенно ниже. Эта «догма» в настоящее время превратилась в достаточно гибкое утверждение о том, что некоторые опухоли могут обладать более низким значением α/β по сравнению с окружающими здоровыми тканями, что требует особого подхода при разработке схем их лечения. Такой подход сейчас учитывается при разработке схемы облучения в режиме гиперфракционирования дозы, например при лечении опухолей предстательной железы. Эта схема представляет собой существенный отход от клинической практики, произошедший за последние десятилетия.

Аналогичным образом, упрощенные описания процессов репарации и клеточного восстановления пополнились новыми фактами и представлениями о молекулярных механизмах репаративных процессов, таких как репарация оснований ДНК, а также одно- и двунитевых разрывов. Эти представления приводят к установлению механизмов нарушения регуляции процессов репарации молекул-мишеней, лежащих в основе повышения эффективности лучевой терапии (см. гл. 23). В последние годы удалось установить взаимосвязь между EGFR (от англ. epidermal growth factor receptor) и репарацией двунитевых разрывов ДНК, что имеет непосредственное отношение к лучевой терапии, поскольку показано, что блокирование EGFR усиливает ее эффективность при лечении рака головы и шеи (см. гл. 21).

Гипоксия всегда находилась в самом центре радиобиологических исследований, поскольку она оказывает сильное влияние на радиочувствительность тканей (см. гл. 15). В этом случае также феноменология уступила место огромному количеству данных на молекулярном уровне, позволяющих понять, каким образом клетки реагируют на гипоксию различной степени тяжести и как их гипоксическое состояние меняется во времени (см. гл. 16). Феномен гипоксии представляет интерес и для других дисциплин, отличных от онкологии. Ими накоплен огромный материал, имеющий фундаментальное значение, который может быть использован радиобиологами. В результате разработаны новые подходы к клиническому использованию гипоксии опухолей (см. гл. 17).

Сосудистая система опухолей и их кровоснабжение имеют косвенное отношение к гипоксии, но эти компоненты их микроокружения вот уже в течение многих лет представляют собой объекты воздействия лучевой терапии. Один из подходов состоит в блокировании ростового фактора эндотелия сосудов (VEGF), важного метаболита, участвующего в поддержании их функциональ-

ного состояния и в образовании новых сосудов. Еще один подход заключается в изменении функциональной активности зрелых кровеносных сосудов. Поскольку эффективность лучевой терапии определяется состоянием равновесия между поражением опухолевой и здоровой ткани, вопросы уменьшения степени повреждения последней всегда находились в центре внимания радиобиологов. Развитие отмеченных выше направлений радиобиологии здоровой ткани позволяет выяснить молекулярные механизмы, лежащие в основе радиочувствительности, предсказать развитие побочных эффектов облучения, а также уменьшить степень их тяжести (см. гл. 22).

Радиационная онкология всегда находилась на стыке физики, биологии и медицины, и сейчас мы переживаем волнующее время достижений в области молекулярного имиджинга и техники подведения радиационной дозы с контролем по изображению. Современным радиационным онкологам и клиницистам необходимо иметь прочные знания основ радиационной биологии и представлять себе новые тенденции развития молекулярной радиационной онкологии. Настоящее пособие должно им в этом помочь.

Основные положения

1. Лучевая терапия является очень важным лечебным и паллиативным средством лечения рака. В определенные моменты лечебного процесса более половины всех онкологических больных получали сеансы лучевой терапии.
2. При действии радиации на ткани млекопитающих и человека запускается последовательность процессов, продолжительность которых составляет от микросекунд до нескольких месяцев и лет после облучения.
3. В лечении рака терапевтический индекс всегда представляет собой «название игры».
4. Необходимы дальнейшие усовершенствования в области оптимизации биологических и физических методов, особенно относящихся к «биологически обоснованному планированию схем терапии» и к контролю лучевой терапии по изображению.
5. По мере роста наших знаний о молекулярных механизмах радиобиологических эффектов ожидается повышение эффективности лучевой терапии при применении радиосенсибилизаторов адресного действия, позволяющих специфически воздействовать на опухоли.

Библиография

Boag JW (1975). The time scale in radiobiology. 12th Failya memorial lecture. In: Nygaard OF, Adler HI, Sinclair WK (eds) *Radiation research. Proceedings of the 5th International Congress of Radiation Research*. New York: Academic Press, 9-29.

- 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**: 1129-37.
- DeVita VT, Oliverio VT, Muggia FM *et al.* (1979). The drug development and clinical trials programs of the division of cancer treatment, National Cancer Institute. *Cancer Clin Trials* **2**: 195-216.
- Souhami RL, Tobias JS (1986). *Cancer and its management*. Oxford: Blackwell Scientific.
- Tobias JS (1996). The role of radiotherapy in the management of cancer – an overview. *Ann Acad Med Singapore* **25**: 371-9.
- Tubiana M (1992). The role of local treatment in the cure of cancer. *Eur J Cancer* **28A**: 2061-9.

Литература для чтения

- Bentzen SM, Thames HD (1995). A 100-year Nordic perspective on the dose-time problem in radiobiology. *Acta Oncol* **34**: 1031-40.
- Feinendegen L, Hahnfeldt P, Schadt EE, Stumpf M, Voit EO (2008). Systems biology and its potential role in radiobiology. *Radiat Environ Biophys* **47**: 5-23.
- Salminen E, Izewska J, Andreo P (2005). IAEA's role in the global management of cancer – focus on upgrading radiotherapy services. *Acta Oncol* **44**: 816-24.
- Willers H, Beck-Bomholdt HP (1996). Origins of radiotherapy and radiobiology: separation of the influence of dose per fraction and overall treatment time on normal tissue damage by Reisner and Miescher in the 1930s. *Radiother Oncol* **38**: 171-3.

2

Радиационно-индуцированные повреждения ДНК и их репарация

Бредли Г. Вутерс и Адриан К. Бегг

2.1. Повреждения ДНК, вызванные ионизирующей радиацией и другими агентами	30
2.2. Репарация повреждений ДНК	34
2.3. Узнавание повреждения	36
2.4. Запуск эффекторных процессов репарации ДНК	39
2.5. Программированная гибель клеток — апоптоз	40
2.6. Активация контрольных точек клеточного цикла	41
2.7. Репарация ДР в ДНК	46
2.8. Прочие процессы репарации ДНК	52
Основные положения	55
Библиография	55
Литература для чтения	56

2.1. Повреждения ДНК, вызванные ионизирующей радиацией и другими агентами

Для лучевой терапии онкологических больных обычно используется ионизирующая радиация (ИР), представляющая собой электромагнитное излучение или фотоны. Стандартная энергия фотонов, источником которых служит 4–25 МВ линейный ускоритель, обычно применяющийся в клиниках, варьирует от менее чем 100 кэВ до нескольких МэВ (максимальный уровень энергии для установок этого типа). Исходя из названия, основной поражающий эффект этого типа облучения обусловлен его способностью вызывать ионизацию, т. е. вырывать электроны из молекул, находящихся в клетке. Почти все фотоны, получаемые с помощью линейных ускорителей, обладают достаточной энергией для того, чтобы вызвать ионизацию. Однако большая часть биологических повреждений вызывается самими свободными электронами, которые на своем пути продолжают вызывать дальнейшую ионизацию молекул и постепенно замедляют свою

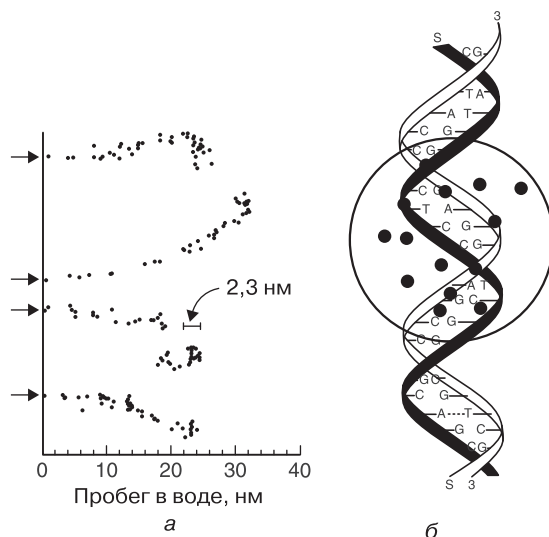


Рис. 2.1. (а) Треки электронов с энергией 1 кэВ, полученные с помощью компьютерного моделирования. Показан диаметр двойной спирали ДНК, составляющий 2,3 нм (по Chapman and Gillespie, 1981). (б) Образование множественных сайтов повреждений при прохождении кластера ионов через молекулу ДНК

скорость. В конце пути столкновения электронов с другими молекулами становятся более частыми, что приводит к образованию кластеров ионизации (Goodhead, 2006). На рис. 2.1 представлены треки ионизаций и их плотность, а также схема их взаимодействия с молекулой ДНК. Размеры кластеров таковы, что большинство ионизаций наблюдаются в пределах нескольких оснований ДНК. В отличие от остальных видов излучения, например УФ, или ДНК-повреждающих агентов, например ингибиторов топоизомеразы, образование кластеров является уникальной особенностью ИР. Лишь несколько процентов повреждений возникает за счет кластеров, но, если эти кластеры образуются в молекуле ДНК, соответствующие им повреждения репарируются особенно трудно.

Молекулы, подвергшиеся ионизации, обладают повышенной реакционной способностью и претерпевают быстрый каскад химических превращений, приводящих к разрыву химических связей. В результате нарушается структура таких макромолекул, как ДНК, и если повреждения репарируются не вовремя или неправильно, то это приводит к тяжелым последствиям. Энергия ионизирующей радиации разменивается случайным образом, вызывая повреждение всех внутриклеточных молекул. Однако большинство молекул (например, воды, мРНК, белков и др.) представлено многочисленными копиями, и многие из них постоянно и быстро обмениваются, что ограничивает последствия радиационного воздействия повреждением всего лишь нескольких одинаковых молекул. Напротив, молекулы ДНК находятся в клетке только в двух копиях, являются

макромолекулами с ограниченной способностью к обмену и представляют собой большую по размеру мишень, выполняющую в клетке ключевые функции. Поэтому повреждения ДНК играют важную роль в судьбе клетки и часто могут быть летальными.

Имеются неоспоримые экспериментальные доказательства в пользу того, что ДНК служит основной мишенью, ответственной за радиационно-индуцированную гибель клеток. Были проведены изящные эксперименты по облучению индивидуальных клеток α -частицами с помощью полониевых микроигл (Warters and Hofer, 1977). Плазматические мембраны и цитоплазма выдерживали облучение в высоких дозах, которое не приводило клетки к гибели. Однако, как только иглу размещали таким образом, что в ядро попадали всего лишь одна или две α -частицы, клетка погибала. В других экспериментах для преимущественного облучения плазматической мембраны и ДНК использовали соединения, меченные радиоактивными изотопами (^{125}I -конканавалин и H^3 -тимидин соответственно). Результаты сопоставляли с полученными при тотальном облучении клеток рентгеновскими лучами. Гибель клеток коррелировала только с величиной дозы, полученной ядром, и не зависела от дозы, приходящейся на плазматическую мембрану и цитоплазму (табл. 2.1).

Таблица 2.1. Токсичность метаболитов, меченных радиоактивными изотопами в зависимости от их распределения в клетке

Источник излучения	Доза радиации, приходящаяся на компоненты клетки*		
	Ядро	Цитоплазма	Мембраны
Рентгеновские лучи	3,3	3,3	3,3
^3H -тимидин	3,8	0,27	0,01
^{125}I -конканавалин	4,1	24,7	516,7

* Для каждого из трех воздействий была выбрана доза, вызывающая 50%-ю гибель клеток СНО. Рассчитывалась поглощенная доза радиации, приходящаяся на ядро, цитоплазму или мембраны. ^3H -тимидин включается в ДНК, а ^{125}I -конканавалин связывается с мембранами клетки. Только доза, полученная ядром, одинакова и коррелирует с гибелью клетки. С разрешения из: Warters *et al.* (1977)

Поскольку ДНК играет очень важную роль в жизнедеятельности, клетки и организмы выработали целый ряд процессов, обеспечивающих целостность ее молекул и сохранение их структуры в условиях постоянной атаки со стороны внутри- и внеклеточных факторов (например, метаболических окислителей, алкиляторов, химических агентов, УФ и ионизирующей радиации) (Harper and Elledge, 2007). Эти процессы осуществляют различные типы репарации, в результате протекания которой устраняются повреждения ДНК, индуцированные под действием различных агентов.

Поэтому в клетке существуют специальные системы обнаружения и репарации повреждений оснований ДНК [эксцизионная репарация оснований (BER)], одонитевых разрывов ОР [репарация одонитевых разрывов ДНК (SSBR), близкая к системе BER] и двунитевых разрывов ДР [гомологичная рекомбинация (HR)] и негомологичное соединение концов (NHEJ)]. Каждый из репаративных процессов подробно описывается в разд. 2.7 и 2.8. Существуют также и другие репаративные процессы, например устраняющие неспаренные и неправильно спаренные основания ДНК, образующиеся в ходе репликации (MMR), а также аддукты, возникающие при действии УФ и таких соединений, как цисплатина [эксцизионная репарация нуклеотидов (NER)]. Однако ни MMR, ни NER не участвуют в репарации повреждений, вызванных ионизирующей радиацией, поскольку клетки, несущие мутации или делеции в генах, кодирующих эти процессы, не отличаются большей чувствительностью к ИР. Напротив, мутации или делеции в генах, ответственных за BER, SSBR, HR или NYEJ, при определенных условиях приводят к увеличению радиочувствительности.

Для того чтобы составить представление о масштабах повреждения ДНК, примем, что при облучении в дозе 1 Гр в каждой клетке возникает примерно 10^5 событий ионизации, > 1000 поврежденных оснований, около 1000 одонитевых разрывов (SSB) и примерно 20–40 двунитевых (DSB). Далее доза 1 Гр приводит к гибели лишь около 30% клеток млекопитающих и человека. Такая небольшая цитотоксичность радиации, несмотря на множество возникающих в клетке повреждений, объясняется эффективно протекающими процессами репарации ДНК.

ДНК состоит из двух противоположащих цепей, связанных между собой водородными связями и образующих двойную спираль. Каждая цепь линейна и состоит из четырех оснований — аденина (А), цитозина (Ц), гуанина (Г) и тимина (Т) — связанных через сахарные остатки и фосфатные группы, т.н. сахаро-фосфатный остов (рис. 2.2). Порядок расположения оснований представляет собой генетический код, определяющий не только состав того или иного белка, но и функциональную активность гена (его транскрибируемость). В свою очередь, двойная спираль ДНК через регулярные интервалы обернута вокруг комплекса специфических белков (гистонов), формируя нуклеосомы, которые напоминают бусины на нитке. С ДНК также связано много других белков, которые контролируют процессы с ее участием: транскрипцию, репликацию и репарацию. Комплекс ДНК с белками называется хроматином. Существуют дополнительные более высокие уровни скручивания и изгиба молекул ДНК, которые в конце концов обеспечивают компактную структуру хромосом.

Такая упаковка ДНК создает множество проблем для клеточных систем репарации ДНК. Во-первых, соответствующие белки должны быть представлены большим количеством копий и обладать достаточной мобильностью для того, чтобы обнаружить повреждение в течение нескольких секунд или минут после его появления. Во-вторых, структура хроматина должна измениться (например, он должен стать более релаксированным) с тем, чтобы обеспечить доступ бел-

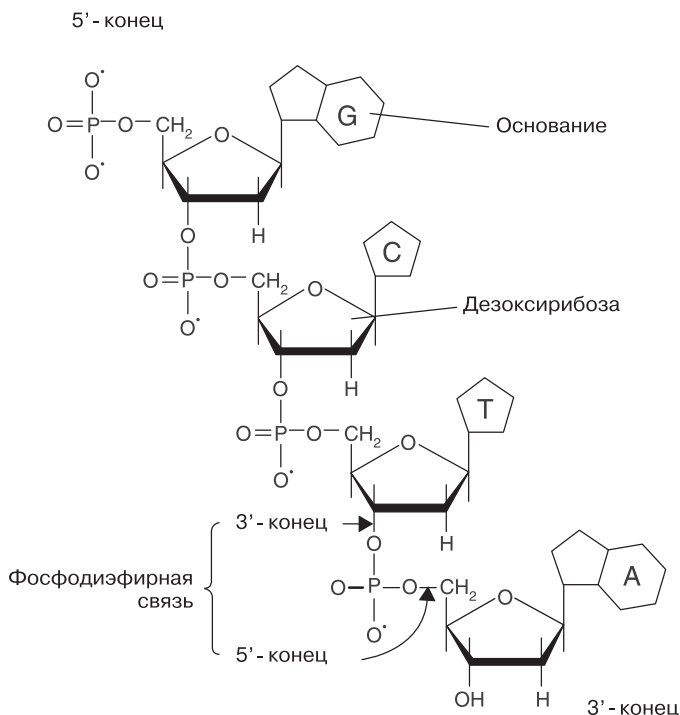


Рис. 2.2. В ДНК присутствуют четыре основания (Г, Ц, Т и А), которые посредством сахарных остатков связаны с сахарно-фосфатным остовом

ков репарации (van Attikum and Gasser, 2005). Также может потребоваться удаление части оснований, примыкающих к разрыву. После этого происходит подготовка сигнальных, репарирующих и различных вспомогательных белков, что часто зависит от процесса модификации гистонов и является строго скоординированным процессом. Координация достигается за счет остановки различных процессов, например транскрипции и прохождения клетки по циклу с тем, чтобы дать возможность пройти репарации. Репарация должна находиться под постоянным контролем, поскольку после ее окончания хроматин должен снова приобрести исходную структуру и должно возобновиться протекание процессов клеточного метаболизма.

2.2. Репарация повреждений ДНК

Репарация повреждений ДНК (DDR) представляет собой чрезвычайно сложную скоординированную систему, от функционирования которой зависит дальнейшая судьба клетки с поврежденной ДНК. Репарация ДНК не является обычной ферментативной реакцией, а представляет собой целую группу сиг-

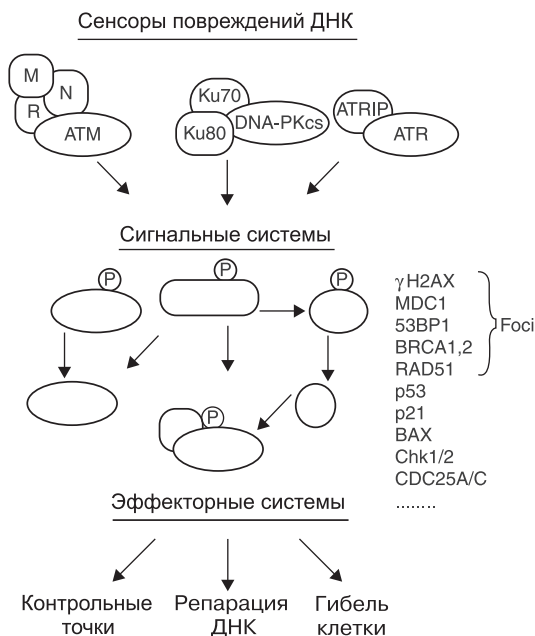


Рис. 2.3. Репарация ДНК включает два набора компонентов — сенсоры и эффекторы. Сенсоры состоят из комплексов белков, которые узнают повреждения ДНК и включают ATM–MRN, Ku–DNA-PKs и ATR–ATRIP (см. в тексте). Эти белки сигнализируют целому ряду других белков, которые активируют три важных эффекторных механизма: контрольные точки, репарацию ДНК и клеточную гибель. Приводится список некоторых белков, передающих сигнал от сенсора к эффекторам

нальных тесно связанных между собой процессов, каждый из которых контролирует определенное звено внутриклеточного метаболизма. Система репарации включает два набора компонентов: сенсоры повреждений ДНК и эффекторы репаративных процессов (рис. 2.3). Сенсоры состоят из группы белков, которые постоянно обследуют геном в поисках повреждений. После обнаружения повреждения эти белки подают сигнал трем основным эффекторным группам, ответственным за судьбу облученной клетки. Эти группы представляют собой: (1) процессы программированной гибели, осуществляющие выбраковку поврежденных клеток, (2) процессы репарации ДНК, устраняющие разрывные дефекты, и (3) процессы, вызывающие временный (или постоянный) блок продвижения клетки по циклу — так называемые контрольные точки.