

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ  
Διευθυντής: Αν. Καθηγητής Κων/νος Κάππας**

Πανεπιστημιακό έτος 2005-2006

Αριθ....

«Εκτίμηση της ακτινικής πνευμονίτιδας μετά από ακτινοθεραπεία σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού και του πνεύμονος βάσει φυσικών και βιολογικών παραγόντων».

**ΤΣΟΥΓΚΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ**

*Φυσικός Ιατρικής – Ακτινοφυσικός*

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΤΟ ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**2005**

5.842 287  
20



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ  
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 7796/1  
Ημερ. Εισ.: 23.6.2013  
Δωρεά: ΣΥΓΓΡΑΦΕΑΣ  
Ταξιθετικός Κωδικός: Δ  
615.842  
ΤΣΟ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000083819

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

ΤΟΜΕΑΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ  
Διευθυντής: Αν. Καθηγητής Κων/νος Κάππας

---

Πανεπιστημιακό έτος 2005-2006

Αριθ....

«Εκτίμηση της ακτινικής πνευμονίτιδας μετά από ακτινοθεραπεία σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού και του πνεύμονος βάσει φυσικών και βιολογικών παραγόντων».

**ΤΣΟΥΓΚΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ**

*Φυσικός Ιατρικής – Ακτινοφυσικός*

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΤΟ ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

**2005**

## **Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή**

Αναπληρωτής Καθηγητής Κάππας Κωνσταντίνος (επιβλέπων)  
Επίκουρος Καθηγητής Πλατανιώτης Γεώργιος  
Λέκτορας Θεοδώρου Κυριακή

## **Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή**

Καθηγητής Γουργουλιάνης Κωνσταντίνος  
Καθηγητής Σταθάκης Νικόλαος  
Καθηγητής Φεζουλίδης Ιωάννης  
Αναπληρωτής Καθηγητής Κάππας Κωνσταντίνος  
Λέκτορας Θεοδώρου Κυριακή  
Επίκουρος Καθηγητής Πλατανιώτης Γεώργιος  
Επίκουρος Καθηγήτρια Τσέζου Ασπασία

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

• Περίληψη	6
• Δημοσιεύσεις	8
• Ευχαριστίες	10

### ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

<b>A. Εισαγωγή</b>	<b>14</b>
<b>A.1 Βιολογική δράση της ακτινοβολίας</b>	<b>14</b>
A.1.α Ακτινικές βλάβες στα κύτταρα	15
A.1.β Ακτινικές βλάβες στους ιστούς	19
<b>A.2 Σχέσεις Δόσης – Απόκρισης στην Ακτινοθεραπεία</b>	<b>21</b>
A.2.α Ο ρόλος του παράγοντα 'χρόνος'	23
<b>A.3 Μοντέλα κυτταρικής επιβίωσης και ακτινευαισθησία</b>	<b>25</b>
A.3.α Βιολογική σημασία των συντελεστών $\alpha$ και $\beta$	28
A.3.β Βιολογική σημασία του λόγου $\alpha/\beta$	31
A.3.γ Ακτινευαισθησία	33
<b>A.4 Ακτινοθεραπεία του μαστού και του πνεύμονος</b>	<b>36</b>
A.4.α Κερματισμός δόσης και παράμετροι επιλογής	38
A.4.β Ακτινική Πνευμονίτιδα	40
<b>B. Ραδιοβιολογική προσέγγιση βελτιστοποίησης της Ακτινοθεραπείας</b>	<b>42</b>
<b>B.1 Αναγκαιότητα ραδιοβιολογικής προσέγγισης στην Ακτινοθεραπεία</b>	<b>43</b>
<b>B.2 Ραδιοβιολογικά Μοντέλα</b>	<b>44</b>
B.2.α NTCP Μοντέλα	47
B.2.β TCP Μοντέλα	52
<b>B.3 Εξαγωγή σχέσεων δόσης - απόκρισης</b>	<b>54</b>
<b>Γ. Σκοπός της διδακτορικής διατριβής</b>	<b>59</b>

### ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

<b>1. Προσδιορισμός καταλληλότητας Στατιστικών Μεθόδων</b>	<b>64</b>
Περίληψη	66
1.1 Μέθοδοι και υλικά	66
1.2 Αποτελέσματα	74
1.3 Συζήτηση	76

<b>2. Ραδιοβιολογική προσέγγιση της ακτινικής πνευμονίτιδας στην ακτινοθεραπεία του καρκίνου του μαστού.</b>	<b>78</b>
<i>Περίληψη</i>	78
2.1 <i>Μεθοδολογία και Κλινικά Δεδομένα</i>	80
2.2 <i>Αποτελέσματα</i>	96
2.3 <i>Συζήτηση</i>	107
<b>3. Ραδιοβιολογική προσέγγιση της ακτινικής πνευμονίτιδας στην ακτινοθεραπεία του καρκίνου πνεύμονα.</b>	<b>116</b>
<i>Περίληψη</i>	116
3.1 <i>Μεθοδολογία και Κλινικά Δεδομένα</i>	118
3.2 <i>Αποτελέσματα</i>	123
3.3 <i>Συζήτηση</i>	130
<b>4. In vitro μελέτη της ενδογενούς ακτινευαισθησίας</b>	<b>132</b>
<i>Περίληψη</i>	132
4.1 <i>Πειραματική Μεθοδολογία</i>	134
4.2 <i>Αποτελέσματα</i>	140
4.3 <i>Συζήτηση</i>	146
<b>ΓΕΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>	<b>148</b>
<b>ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ</b>	<b>152</b>
<b>Βιβλιογραφία</b>	<b>154</b>
<b>Συνομογραφίες</b>	<b>164</b>
<b>Παραρτήματα</b>	<b>165</b>

**Σε όσους ακόμα πιστεύουν σε ένα δίκαιο κόσμο..**

**Στους γονείς μου.**





## Περίληψη

Ιοντίζουσες ακτινοβολίες για τη θεραπεία του καρκίνου χρησιμοποιούνται ήδη για περισσότερο από έναν αιώνα, ξεκινώντας από τις ακτίνες X στην αρχή του 20ού, μέχρι την 'διαμορφούμενης έντασης' ακτινοθεραπεία (Intensity Modulated Radiation Therapy - IMRT) σήμερα. Οι πρόσφατες τεχνολογικές καινοτομίες έχουν εισάγει δραματικές αλλαγές στη βελτιστοποίηση της εφαρμογής της ακτινοθεραπείας, ενώ παράλληλα η απεικόνιση έχει γίνει πιο προηγμένη παρέχοντας πληροφορίες τόσο σε ανατομικό όσο και σε λειτουργικό επίπεδο, συμβάλλοντας τα μέγιστα στην αποτελεσματικότητα της.

Εντούτοις, ο σχεδιασμός του πλάνου θεραπείας των νεοπλασμάτων της ευρύτερης θωρακικής κοιλότητας εξακολουθεί να περιορίζεται σημαντικά, κυρίως λόγω της υψηλής ακτινευσισθησίας του πνευμονικού ιστού που συμπεριλαμβάνεται αναπόφευκτα. Η ακτινοβόληση του θώρακα εφαρμόζεται σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονος είτε με στόχο την ίαση είτε παρηγορικά. Είναι η πιο συχνά χορηγούμενη μορφή θεραπείας σε τοπικά προχωρημένη νόσο, αλλά και σε ασθενείς που δεν είναι δυνατή η χειρουργική επέμβαση. Επίσης η ακτινοθεραπεία εφαρμόζεται μετεγχειρητικά επί καρκίνου του μαστού, μετά από ογκεκτομή ή μαστεκτομή, όπου και σε αυτές τις περιπτώσεις ακτινοβολείται τμήμα του πνεύμονα.

Η μετακινική τοξικότητα στον πνεύμονα μπορεί να προξενήσει σημαντικά κλινικά προβλήματα. Επιπλέον όταν η ακτινοθεραπεία συνδυάζεται με χημειοθεραπεία, η πιθανότητα βαρύτερων κλινικών επιπτώσεων μπορεί να αυξηθεί<sup>[1]</sup>. Η ακτινική πνευμονίτιδα (Α.Π.), που εκδηλώνεται με δύσπνοια, μη παραγωγικό βήχα και ίσως πυρετό, είναι οξεία (early effect) μετακινική αντίδραση και εφόσον υφεί κλινικά οδηγεί μετά από 2-6 μήνες στην πνευμονική ίνωση που είναι όψιμη μετακινική αντίδραση (late effect)<sup>[2]</sup>. Η δημιουργία της Α.Π. εξαρτάται από τη δόση της ακτινοβολίας, τη μέθοδο κερματισμού (fractionation) της δόσης και τον όγκο του πνεύμονα που ακτινοβολείται. Η αξιολόγηση της βαρύτητας της Α.Π. γίνεται κλινικά μέσα σε διάστημα 1-6 μηνών μετά το τέλος της ακτινοθεραπείας, και συνήθως βαθμονομείται σύμφωνα με τα κριτήρια τοξικότητας της RTOG (Radiation Therapy Oncology Group)<sup>[3]</sup>.

Όσον αφορά στη βελτιστοποίηση της ακτινοθεραπείας, αυτή εξαρτάται αυστηρά από τη χρήση πληροφοριών που σχετίζονται με κάθε ασθενή. Επιπλέον πρέπει να ληφθεί υπόψη κλινικά, η ετερογένεια της κατανομής της δόσης και οι διαφορές της ακτινευσισθησίας του νεοπλασματικού και του φυσιολογικού ιστού.

Για αυτόν τον λόγο γίνεται χρήση ραδιοβιολογικών μοντέλων, προκειμένου να περιγραφεί η απόκριση των νεοπλασμάτων και του φυσιολογικού ιστού στην ακτινοβολία, ανάλογα

με τον συνολικό όγκο που ακτινοβολείται, τον κερματισμό της δόσης αλλά και τη σχέση δόσης - χρόνου.

Συνεπώς στην παρούσα μελέτη, με σημείο αναφοράς την επιπλοκή της Α.Π. χρησιμοποιείται μια διαδικασία αξιολόγησης και βελτιστοποίησης της θεραπείας βάσει ραδιοβιολογικών δεδομένων, ώστε να ληφθεί υπόψη η μορφή και η δομή των λειτουργικών υπομονάδων, τόσο των νεοπλασμάτων όσο και των υγιών ιστών, καθώς επίσης και ο σχετικός όγκος ακτινοβολήσης και η σχέση δόσης – απόκρισης.

Η προσέγγιση αυτή όμως, περιλαμβάνει ανακριβείς εκτιμήσεις περί ευαισθησίας των οργάνων και βασίζεται κυρίως σε φυσικές παραμέτρους δόσης – όγκου. Κατά συνέπεια διαφορές μεταξύ ασθενών που οφείλονται σε διαφορετική ακτινευαισθησία ή διαφορετική πνευμονική λειτουργία, δεν λαμβάνονται υπόψη<sup>[4,5]</sup>. Επομένως στην αξιολόγηση της μετακινικής πνευμονικής βλάβης συμπεριλήφθησαν και δοκιμές πνευμονικής λειτουργίας (PFT's), οι οποίες αξιολογήθηκαν σε σχέση με τα αποτελέσματα της ραδιοβιολογικής προσέγγισης.

Αναφορικά με την αξιολόγηση της έκβασης της θεραπείας, και ειδικά με την προσδιορισμό της ενδογενούς ακτινευαισθησίας, διερευνήθηκε η δυνατότητα καθορισμού ενός βιολογικού προγνωστικού παράγοντα που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί και στην κλινική πράξη.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε συγκριτική αξιολόγηση των διαφορετικών ραδιοβιολογικών μοντέλων, με έμφαση στις διαφορές των χρησιμοποιούμενων παραμέτρων και την διαφορετική αντιμετώπιση της εξάρτησης του αποτελέσματος από τον ακτινοβολούμενο όγκο.

Βάσει των ανωτέρω η παρούσα διδακτορική διατριβή εστιάστηκε στα εξής σημεία:

- Μελέτη στατιστικών μεθόδων και προσδιορισμός της καταλληλότητας αυτών σε ραδιοβιολογικές μελέτες
- Συγκριτική αξιολόγηση διαφορετικών ραδιοβιολογικών μοντέλων και παραμέτρων στην περίπτωση της ακτινικής πνευμονίτιδας
- Αξιολόγηση της καταλληλότητας των υπαρχόντων παραμέτρων και μοντέλων για άμεση κλινική χρήση
- Προσπάθεια συσχετισμού των διαφορών στις δοκιμασίες πνευμονικής λειτουργίας (PFT's) με τον όγκο του ακτινοβολούμενου πνεύμονα και σύνδεση αυτού με τα αποτελέσματα της ραδιοβιολογικής προτυποποίησης (modeling).
- In vitro μελέτη προσδιορισμού βιολογικού παράγοντα αξιολόγησης της ενδογενούς ακτινευαισθησίας .

Σε διεθνή περιοδικά:

1. "Evaluation of dose-response models and parameters predicting radiation induced pneumonitis using clinical data from breast cancer radiotherapy. I.Tsougos, P. Mavroidis, K Theodorou, et al. *Phys Med Biol* 50 (3535-3554), 2005
2. "Clinical validation of the LKB model and parameter sets for predicting radiation induced pneumonitis from breast cancer radiotherapy". I.Tsougos, P. Mavroidis, K Theodorou, et al. *Phys Med Biol* 51 (L1-L9) 2006
3. "Correlation between radiation induced telomerase activity and human telomerase reverse transcriptase mRNA expression in HeLa cells". M. Satra, I. Tsougos, V. Papanikolaou, K. Theodorou, C. Kappas, A. Tsezou. *Int J Rad Biol (Sub)* April 2005
4. "NTCP modeling with Pulmonary Function Test evaluation for the prediction of radiation induced pneumonitis in lung cancer radiotherapy." I.Tsougos, P. Mavroidis, K Theodorou, et al. *Phys Med Biol (Sub)* Nov. 2005

Σε Συνέδρια:

5. "Is NTCP modeling really useful for the prediction of radiation-induced pneumonitis? Dose-response parameters from breast radiotherapy." I. Tsougos *Radiother. Oncol.* 73: S53 2004 (Ομιλία)
6. "Residual telomerase activity as a marker of cell survival after exposure to ionizing-radiation in vitro", A. Tsezou, M. Satra, I. Tsougos *et al Radiother Oncol* 73: 365-366 2004
7. "Clinical evaluation of dose-response models and parameter sets predicting radiation induced pneumonitis from breast cancer radiotherapy" P. Mavroidis, I. Tsougos, J. Rajala, K. Theodorou, R. Järvenpää, M.A. Pitkänen, *et al Radiother. Oncol.* 76: S70-71 2005 (Jack Fowler Wisconsin-ESTRO 2005 Award)
8. "The effects of breathing and setup uncertainties on the prediction of radiation pneumonitis from breast cancer radiotherapy" P. Mavroidis, I. Tsougos, S. Hyodynmaa, N. Papanikolaou, *et al. Radiother. Oncol.* 76: S157 2005
9. "Ραδιοβιολογική προσέγγιση της ακτινικής πνευμονίτιδας στην ακτινοθεραπεία του καρκίνου του μαστού" I. Τσούγκος, Π. Μαυροειδής, Κ. Θεοδώρου, Κ. Κάππας Πρακτικά του 1<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου των Βασικών Ιατρικών Επιστημών, Αθήνα, Δεκέμβριος 7-10, PO33, 2005



## Ευχαριστίες

---

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον αναπληρωτή Καθηγητή Κωνσταντίνο Κάππα για την άρτια επιστημονική επίβλεψη της διατριβής, την συμπαράσταση, τη φιλία, και την ηθική υποστήριξη που μου παρείχε αλλά και για το ειλικρινές πάθος του για την επιστήμη το οποίο μου μετέδωσε.

Επίσης θερμότατα θα ήθελα να ευχαριστήσω την Κική Θεοδώρου για την μοναδική της καθοδήγηση τόσο σε επιστημονικό όσο και σε ανθρώπινο επίπεδο. Δεν υπάρχουν λόγια.

Ευχαριστώ πολύ τον Επίκουρο Καθηγητή Γεώργιο Πλατανιώτη για τις πολύτιμες συμβουλές του, τον Δρ. Παναγιώτη Μαυροειδή για την πολύτιμη βοήθεια του, όπως και την Επίκουρο Καθηγήτρια Ασπασία Τσέζου και την Μαρία Σάτρα για την βοήθεια και την καθοδήγηση τους στη Μοριακή και Κυτταρική Βιολογία. Τον Dr. Bengt Lind για τις χρήσιμες συζητήσεις που είχαμε και τις ακόμα πιο χρήσιμες συμβουλές του, και όλο το προσωπικό του Karolinska Institutet στη Σουηδία, για την θερμή υποδοχή και το φιλικό κλίμα για όλη τη διάρκεια της παραμονής μου εκεί.

Ευχαριστώ πολύ την οικογένεια μου για την αμέριστη συμπαράσταση και την συνεχή υποστήριξη και ενθάρρυνση καθ' όλη τη διάρκεια της διατριβής.

Τέλος ευχαριστώ πολύ όλους τους συναδέλφους και φίλους των εργαστηρίων Ιατρικής Φυσικής του Παν/μιου της Πάτρας και του Παν/μιου Θεσσαλίας.



## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

---





## A. Εισαγωγή

---

Η ακτινοθεραπεία αποτελεί βασική μέθοδο θεραπείας μεγάλου αριθμού συμπαγών όγκων αλλά και αιματολογικών κακοηθειών. Ενδεικτικά υπολογίζεται ότι το 15% του συνολικού αριθμού ασθενών με συμπαγή νεοπλασμάτα μπορούν να αντιμετωπιστούν αμιγώς με ακτινοθεραπεία, ενώ παράλληλα η τοπική θεραπεία που περιλαμβάνει και χειρουργική, επιφέρει ίαση στο 40% των ασθενών [6].

Προφανής στόχος της ακτινοθεραπείας είναι η χορήγηση ικανής δόσης ακτινοβολίας για την εξάλειψη του όγκου, με την ελάχιστη δυνατή επίπτωση στους γειτονικούς υγιείς ιστούς. Συνεπώς η εκτίμηση της έκβασης της θεραπείας συνυπολογίζεται τόσο από την ανταπόκριση του όγκου όσο κι από τις αντιδράσεις των φυσιολογικών ιστών.

Καθοριστικό ρόλο στη σύγχρονη ακτινοθεραπεία λοιπόν παίζει η ποσοτικοποίηση των βιολογικών αποτελεσμάτων της ακτινοβολίας.

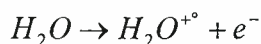
### A.1 Βιολογική δράση της ακτινοβολίας

---

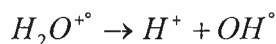
Η απορρόφηση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας (δηλαδή ακτινοβολία που έχει αρκετή ενέργεια να εκδιώξει ηλεκτρόνια και άρα να καταστήσει πυρήνες θετικά φορτισμένους) από τα διάφορα βιολογικά υλικά δημιουργεί ιοντισμούς και διεγέρσεις με αποτέλεσμα τη δημιουργία σχηματισμών που ονομάζονται ελεύθερες ρίζες.

Οι ελεύθερες ρίζες είναι άτομα ή μόρια ηλεκτρικά ουδέτερα, με ίσους αριθμούς πρωτονίων και ηλεκτρονίων, αλλά ένα ηλεκτρόνιο της εξωτερικής του στοιβάδας είναι ασύζευκτο ηλεκτρόνιο (δεν σχηματίζει ζεύγος), με αποτέλεσμα οι ελεύθερες ρίζες να είναι χημικώς εξαιρετικά δραστικές. Επειδή το μόριο που κυριαρχεί ποσοτικά σε όλα τα βιολογικά υλικά είναι το μόριο του ύδατος, αυτό δέχεται κατά κύριο λόγο την επίδραση της ακτινοβολίας.

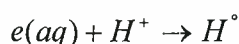
Η πρώτη αντίδραση γίνεται σε χρόνο  $10^{-18}$  sec:



όπου ο κυκλίσκος στο δεξί μέρος του χημικού τύπου, συμβολίζει το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο. Περίπου  $10^{-12}$  δευτερόλεπτα αργότερα το ηλεκτρόνιο συνδέεται με μόρια ύδατος (ενυδατωμένο ηλεκτρόνιο,  $e(aq)$ ), ενώ ταυτόχρονα η εξαιρετικά δραστική ρίζα  $H_2O^{\bullet+}$  διασπάται:



Επίσης μπορεί να παραχθεί μία ρίζα ελεύθερου υδρογόνου:

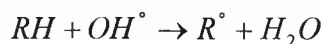


αλλά και:

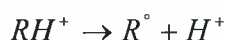


Οι δύο τελευταίες αντιδράσεις, εξαρτώνται από το πόσο πυκνά ιοντίζουσα είναι η ακτινοβολία.

Οι ελεύθερες ρίζες  $OH^\circ$ , είναι ασταθείς και εξαιρετικά δραστικές, γι αυτό και η εμβέλεια τους είναι μικρότερη από 100 Angstrom. Εάν ένα οργανικό μόριο, RH (π.χ. DNA) βρεθεί μέσα στην τροχιά των ελευθέρων ριζών θα συμβούν αντιδράσεις της μορφής:



Θα παραχθούν δηλαδή οργανικές ρίζες  $R^\circ$ , που ως ασταθείς και με μεγάλο ενεργειακό περιεχόμενο, θα μετασχηματιστούν γρήγορα προκαλώντας μεταβολή – βλάβη στη δομή του οργανικού μορίου. Η βλάβη αυτή όπως περιγράφηκε είναι έμμεση αφού η προσβολή των οργανικών μορίων, είναι αποτέλεσμα της επίδρασης σε αυτά των ελευθέρων ριζών που παράγονται από τη ραδιόλυση του ύδατος. Πιθανή επίσης είναι και η απευθείας δράση της ακτινοβολίας πάνω στα οργανικά μόρια δηλ.:



Καθώς η εμβέλεια των ελευθέρων ριζών είναι της τάξης των μερικών mm, αμφισβητείται η ύπαρξη έμμεσης δράσης της ακτινοβολίας, αφού όπως υποστηρίζεται το DNA δεν περιβάλλεται από νερό εξαιτίας της εξαιρετικά μεγάλης ελίκωσης. Πάραυτα υπολογίζεται ότι το 85% των βιολογικών επιδράσεων οφείλεται στην έμμεση δράση της ακτινοβολίας και μόνο το 15% στην άμεση, πάντα αναφορικά στις ακτινοβολίες που χρησιμοποιούνται κυρίως στην ακτινοθεραπεία [6].

### **A.1.α Ακτινικές βλάβες στα κύτταρα**

Το διάστημα της ζωής του κυττάρου από τη στιγμή που προκύπτει από το μητρικό μέχρι να διαιρεθεί και το ίδιο, αποτελείται από πέντε κυρίως φάσεις. Τη μίτωση (M), που είναι και η βραχύτερης διάρκειας φάση, στην οποία το κύτταρο έχοντας αναπαράγει το DNA, διαιρείται σε δύο θυγατρικά κύτταρα. Αυτά περνούν στη φάση  $G_1$  (Gap), στην οποία ή προετοιμάζονται για νέα διαίρεση, ή διαφοροποιούνται για να επιτελέσουν κάποια λειτουργία ή μένουν καθηλωμένα και αδρανή. Στην τελευταία περίπτωση λέγεται ότι βρίσκονται στη φάση  $G_0$ . Από τη φάση  $G_0$  μπορούν να επανενεργοποιηθούν και να ξαναμπούν στη διαδικασία της αναπαραγωγής δηλαδή στον κυτταρικό κύκλο. Κατά την φάση  $G_1$  τα κύτταρα αυξάνονται σε μέγεθος, συνθέτουν RNA και πρωτεΐνες και προετοιμάζονται για την αναπαραγωγή του DNA. Αυτή λαμβάνει χώρα κατά την επόμενη φάση, τη φάση S (Synthesis). Στη συνέχεια ακολουθεί ένα διάστημα που λέγεται φάση  $G_2$ , και στο οποίο το κύτταρο προετοιμάζεται για την νέα μίτωση, με το διάστημα μεταξύ δύο μιτώσεων να ονομάζεται μεσόφαση. Πολύ σημαντικός παράγοντας αναφορικά με την

κυτταρική βλάβη αποτελεί η φάση στην οποία ευρίσκεται η πλειοψηφία των κυττάρων κατά την ακτινοβόληση <sup>[7-9]</sup>.

Το DNA του κυττάρου είναι το σημαντικότερο συστατικό που μπορεί να πληγεί, αφού αυτό μεταφέρει τον γενετικό κώδικα. Ως το πιο ευαίσθητο τμήμα του θεωρούνται οι βάσεις της πυριμιδίνης. Επίσης σημαντικά μόρια του κυττάρου που είναι δυνατόν να πληγούν από την ακτινοβολία είναι τα ένζυμα και οι πρωτεΐνες των κυτταρικών μεμβρανών. Στις πρωτεΐνες, ευαίσθητος στην ακτινοβολία είναι ο πεπτιδικός δεσμός.

Η ακτινοβολία επιφέρει πολλών ειδών βλάβες στο μόριο του DNA, πολλές από τις οποίες το κύτταρο τις επιδιορθώνει, άλλες τις μεταβιβάζει στους απογόνους του, ενώ μικρό σχετικά ποσοστό βλαβών, οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο.

Η αντιστοιχία των κυριότερων ακτινικών βλαβών του DNA ανά Gy δόσης ακτινοβολίας παρατίθεται στον ακόλουθο πίνακα, και σχηματικά στο σχήμα Α.1.α.

<b>Τύπος Ακτινικής Βλάβης</b>	<b>Αριθμός ανά Gy</b>
Ρήξη διπλής αλυσίδας (Double Strand Brake)	50
Ρήξη μονής αλυσίδας (Single Strand Brake)	50-1000
Καταστροφή Βάσης	1000-2000
Καταστροφή σακχάρου	800-1600
Διασταυρούμενη σύνδεση DNA-DNA	30
Διασταυρούμενη σύνδεση DNA-Πρωτεΐνες	150

**Πίνακας Α.1 Τύπος και αριθμός ακτινικής βλάβης του DNA ανά Gy ακτινοβολίας.<sup>1</sup>**

Εκτός από ορισμένα κύτταρα (π.χ. λεμφοκύτταρα, ωκύτταρα) που καταστρέφονται κατά τη μεσόφαση μετά από ακτινοβόληση, όλα τα άλλα ήδη των κυττάρων των θηλαστικών υφίστανται τον επονομαζόμενο 'μιτωτικό θάνατο', που σημαίνει ότι τα κύτταρα δεν πεθαίνουν αμέσως, αλλά μόλις επιχειρήσουν την επόμενη ή τις λίγες επόμενες μιτώσεις. Κατά σύμβαση το κριτήριο ακεραιότητας ενός κυττάρου είναι να δώσει 50 καινούργια κύτταρα δηλαδή να ολοκληρώσει περίπου 5 με 6 μιτώσεις ( $2^5=32$ ,  $2^6=54$ ). Η εξήγηση αυτού έγκειται στο ότι υπάρχουν ποσότητες RNA που δεν έχουν επηρεαστεί από τις βλάβες του DNA, και που μπορούν να συνθέσουν ακόμη φυσιολογική πρωτεΐνη, συνεχίζοντας για λίγο τις κυτταρικές λειτουργίες <sup>[6]</sup>.

Η ιοντίζουσα ακτινοβολία μπορεί με τους τρόπους που προαναφέρθηκαν να προξενήσει τις εξής μεταβολές στα χρωμοσώματα:

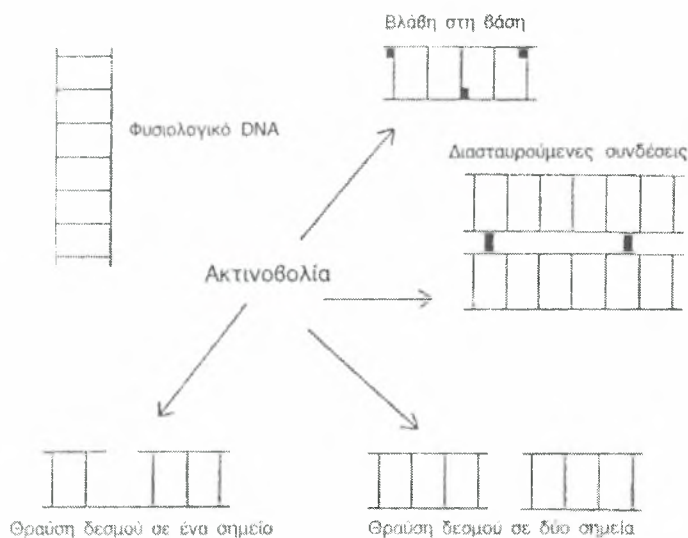
- i. Γονιδιακές ή σημειακές μεταλλάξεις. Είναι μεταβολές του γενετικού κώδικα που ή επιφέρουν κυτταρικό θάνατο ή μεταβιβάζονται στους απογόνους.
- ii. Ποσοτικές μεταβολές του DNA των κυττάρων και δημιουργία πολυπλοειδικών γιγαντοκυττάρων.
- iii. Χρωμοσωμικές μορφολογικές μεταβολές. Οι μορφολογικές αλλοιώσεις των χρωμοσωμάτων στα ακτινοβολημένα κύτταρα γίνονται ορατές κατά τη μίτωση του κυττάρου. Η ακτινοβολία προξενεί θραύσεις σε διάφορα τμήματα των

<sup>1</sup> Από Γ.Α.Πλατανιώτη (2000)

χρωμοσωμάτων. Τα άκρα των κομματιών που προκύπτουν, έχουν την τάση να προσκολλώνται σε άλλα κομμάτια, όχι όμως σε ακέραια χρωμοσώματα. Γενικά είναι δυνατό να συμβούν τα εξής:

- Να μη γίνει κανενός είδους επανένωση και απλά να εξαλειφθεί ένα τμήμα του χρωμοσώματος και φυσικά του γενετικού υλικού.
- Τα τμήματα που αποκόπηκαν να επανενωθούν αποκαθιστώντας την βλάβη, και
- Τα τμήματα των χρωμοσωμάτων να ενωθούν με διάφορους συνδυασμούς και να προκύψουν χρωμοσώματα με 'δομική ανωμαλία'.

Οι βλάβες αυτές επιφέρουν συνήθως κυτταρικό θάνατο, κατά την επόμενη ή τις λίγες επόμενες μιτώσεις και ονομάζονται 'ασταθείς' αλλοιώσεις. Αντίθετα άλλες που αφορούν πιο ήπιες χρωμοσωμικές αλλοιώσεις ονομάζονται 'σταθερές' γιατί δεν προξενούν κυτταρικό θάνατο, αλλά είναι ίσως πιο επικίνδυνες αφού μεταβιβάζονται στους απογόνους<sup>[6]</sup>.



**Σχήμα Α.1.α Σχηματική αναπαράσταση της ακτινικής βλάβης στο DNA**

Η πολύ σημαντική παράμετρος που αναφέρθηκε προηγούμενα, αναφορικά με τη φάση ακτινοβολήσης του κυττάρου, έχει να κάνει με το ότι εάν το κύτταρο ακτινοβληθεί νωρίς στον κυτταρικό κύκλο, πριν δηλαδή από τη φάση σύνθεσης του DNA, οι βλάβες αφορούν σε ολόκληρα τα χρωμοσώματα, αφού αυτά δεν έχουν ακόμα διπλασιαστεί. Αντίθετα εάν το κύτταρο ακτινοβληθεί αργότερα στον κυτταρικό κύκλο, τα χρωμοσώματα διαιρούνται σε δύο χρωματίδες, και δύναται να προκύπτουν βλάβες στη μία εξ αυτών<sup>[10]</sup>.

Η κατάταξη των ακτινικών επιδράσεων στα κύτταρα θα μπορούσε να απεικονισθεί ανάλογα με το ποσοστό των επιδράσεων και αλλοιώσεων που υφίστανται στον πίνακα 1.2.

Καμία βλάβη	Διατήρηση φυσιολογικής αναπαραγωγικής ικανότητας
Μη θανατηφόρος βλάβη	Διατήρηση φυσιολογικής αναπαραγωγικής ικανότητας μετά από διάστημα ανανήψεως
Δυνητικά θανατηφόρος βλάβη	Διατήρηση φυσιολ. αναπαραγ. ικανότητας μετά από ανάνηψη σε κατάσταση ηρεμίας
Καθυστερήση στη μίτωση	Καθυστερήση στις φάσεις G <sub>2</sub> και S, ανεξάρτητα από θανατηφόρο ή μη επίδραση
Υπό-θανατηφόρος βλάβη	Διατήρηση φυσιολ. αναπαρ. Ικανότητας, αργός ρυθμός ανάπτυξης
Θανατηφόρος βλάβη	Απώλεια αναπαραγωγικής ικανότητας

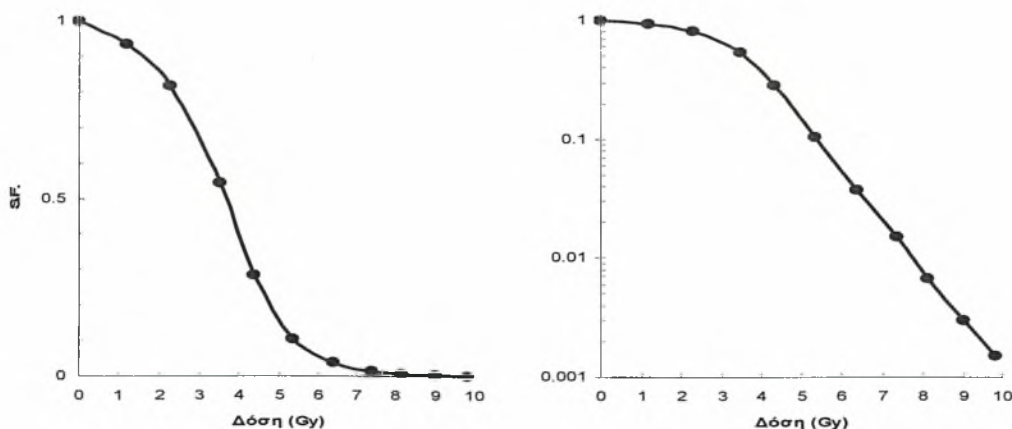
**Πίνακας A.2 Ακτινικές επιδράσεις στα κύτταρα.\***

Όπως φαίνεται και στον ανωτέρω πίνακα, στην ραδιοβιολογία η επιβίωση του κυττάρου κατόπιν ακτινοβολήσης, είναι συνώνυμη με τη διατήρηση ή μη της αναπαραγωγικής ικανότητας του. Στις δόσεις ακτινοβολίας που χρησιμοποιούνται στην ακτινοθεραπεία συνηθέστερος είναι ο ‘μικτωτικός’ θάνατος. Ωστόσο με την εφάπαξ χορήγηση δόσης της τάξης των εκατοντάδων Gy’s ο κυτταρικός θάνατος επέρχεται γρήγορα πριν τη μίτωση και ονομάζεται ‘μεσοφασικός’ θάνατος.

Για την απώλεια της αναπαραγωγικής ικανότητας των κυττάρων των θηλαστικών, η μέση θανατηφόρος δόση είναι περίπου 15 Gy, ενώ το 50% των λεμφοκυττάρων θανατώνονται κυρίως κατά την μεσόφαση, 24 περίπου ώρες μετά τη χορήγηση 10 Gy.

Η εξαγωγή παραμέτρων που περιγράφουν τις σχέσεις κυτταρικής επιβίωσης και ακτινοβολίας προκύπτουν από μαθηματικές συναρτήσεις που αντιστοιχούν στις λεγόμενες καμπύλες κυτταρικής επιβίωσης.

Καμπύλες επιβίωσης καλούνται οι γραφικές παραστάσεις που περιγράφουν την κυτταρική επιβίωση σε συνάρτηση με τη δόση ακτινοβολίας και υπολογίζονται με πειραματικές μεθόδους in vitro. Η τυπική μορφή των καμπυλών αυτών για τα κύτταρα των θηλαστικών είναι όπως απεικονίζεται στο σχήμα 1.1.β. Στις ψηλές δόσεις τα κύτταρα γίνονται πιο ευαίσθητα, με αποτέλεσμα αύξηση της καμπυλότητας. Στο δεξιό διάγραμμα η επιβίωση περιγράφεται με λογαριθμική κλίμακα [11].



**Σχήμα A.1.β Καμπύλες κυτταρικής επιβίωσης**

### A.1.β Ακτινικές βλάβες στους ιστούς

Το βιολογικό αποτέλεσμα της ακτινοβολήσης των ιστών οφείλεται στο θάνατο των κυττάρων του ιστού, που είναι υπεύθυνα για την ανανέωσή του. Τα κύτταρα αυτά ονομάζονται κύτταρα-στόχοι. Η ακτινοευαισθησία των κυττάρων-στόχων και η ανταπόκρισή τους στις μεταβολές των παραμέτρων της ακτινοβολίας, καθορίζει σε μεγάλο βαθμό και τις μετακτινικές αντιδράσεις του αντίστοιχου ιστού.

Ανάλογα με το αν η ανανέωση και η λειτουργία τους επιτελείται από τους ίδιους κυτταρικούς πληθυσμούς, οι φυσιολογικοί ιστοί διακρίνονται σε ιεραρχικού (*Hierarchical-H*) και ευέλικτου τύπου (*Flexible-F*). Όταν η ανανέωση και η λειτουργία επιτελείται από διαφορετικούς κυτταρικούς πληθυσμούς όπως στα επιθήλια (έντερο, δέρμα κ.λ.π.) καλούνται τύπου *H*, ενώ αντίθετα όταν διαθέτουν μια σχετική 'ευελιξία' στη βιολογική τους συμπεριφορά (π.χ. ήπαρ, πνεύμονας, νεφροί) καλούνται τύπου *F*.

Η διάκριση αυτή μεταξύ τύπου *H* και *F*, συνδέεται άμεσα με το χρόνο εκδήλωσης των βιολογικών αποτελεσμάτων. Η διάκριση μεταξύ οξέως και οψίμως αντιδρώντες ιστούς, που καλείται κυτταρική κινητική, καθορίζει τον τρόπο ανταπόκρισης τους στην ακτινοβολία και κατ' επέκταση τον τρόπο εισαγωγής τους ως ραδιοβιολογικές παράμετροι.

Αναλυτικότερα η ακτινοβολία στους ιστούς τύπου *H* βλάπτει (με την έννοια του αναπαγωγικού θανάτου) τους κυτταρικούς πληθυσμούς με τη μεγαλύτερη μιτωτική δραστηριότητα, δηλαδή κυρίως τα μεταβατικά-διαιρούμενα κύτταρα. Αυτό σημαίνει ότι τα ώριμα-λειτουργικά κύτταρα, που φυσιολογικά καταστρέφονται με τον ρυθμό που χαρακτηρίζει κάθε ιστό, δεν αντικαθίστανται επαρκώς.

Επειδή φυσιολογικά οι χρόνοι ζωής των κυττάρων στους ιστούς τύπου *H* είναι της τάξεως ημερών ή λίγων εβδομάδων, στην κλινική ακτινοθεραπεία οι αντιδράσεις τους παρατηρούνται όσο διαρκεί η αγωγή. Γι' αυτό τον λόγο ονομάζονται οξείες αντιδράσεις και οι ιστοί τύπου *H* συχνά αποκαλούνται οξέως αντιδρώντες ιστοί (ΟΞ.Α.Ι.).

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι στις πολύ ψηλές δόσεις ο χρόνος που χρειάζεται για να εκδηλωθεί η ακτινική βλάβη είναι ανεξάρτητος της δόσης, αφού η περαιτέρω ακτινοβολήση δεν έχει καμιά επίδραση σε έναν ιστό που ήδη στερείται κυτταρικών εφεδρειών.

Στους ιστούς τύπου *F* ο ρυθμός κυτταρικής ανανέωσης είναι βραδύς και γι' αυτό η ακτινική βλάβη εκδηλώνεται μετά από μακρό χρονικό διάστημα, που μπορεί να εκτείνεται έως και χρόνια μετά την ακτινοβολήση. Γι' αυτό και οι αντιδράσεις των ιστών αυτών ονομάζονται όψιμες, ενώ οι ιστοί οψίμως αντιδρώντες ιστοί (ΟΨ.Α.Ι.).

Συμβατικά, όψιμες αντιδράσεις θεωρούνται αυτές που παρατηρούνται τρεις, η σύμφωνα με άλλους, έξι μήνες μετά το τέλος της ακτινοθεραπείας.

Γενικά οι όψιμες παρενέργειες της ακτινοθεραπείας συνίστανται στη νέκρωση ή / και αντικατάσταση του φυσιολογικού λειτουργικού ιστού από ουλώδη ιστό. Οι όψιμες παρενέργειες που παρατηρούνται στο δέρμα είναι: σκλήρυνση, τηλαγγειεκτασίες, νέκρωση, εξέλκωση και δημιουργία συριγγίων. Για το νευρικό ιστό είναι απομυελίνωση, νέκρωση και δημιουργία ουλώδους ιστού. Δραματική κλινική έκφραση αυτών είναι η εγκάρσια μυελίτιδα από υπερδοσολόγηση του νωτιαίου μυελού. Για τον οστίτη ιστό όψιμη παρενέργεια είναι η οστεονέκρωση, για τον πνεύμονα η πνευμονική ίνωση κ.λπ. Ουσιαστικό κριτήριο επιτυχίας της ακτινοθεραπευτικής αγωγής είναι η αποφυγή όψιμων παρενεργειών, αφού αυτές είναι μη αναστρέψιμες και μπορεί να θέσουν σε κίνδυνο την ζωή ή την ακεραιότητα του ασθενούς.

### ο **Πνεύμονας**

Ειδικά αναφορικά με τον πνεύμονα η πρώτη αντίδραση του υγιούς πνευμονικού παρεγχύματος στην ακτινοβόληση είναι η εξίδρωση υγρού στις κυψελίδες. Οι ευαίσθητοι στην ακτινοβολία κυτταρικοί πληθυσμοί είναι δύο: α) τα κυψελιδικά κύτταρα τύπου II, που παράγουν τον επιφανειοδραστικό παράγοντα, β) τα ενδοθηλιακά κύτταρα, που εμποδίζουν την έξοδο νερού και μακρομορίων στον ενδιάμεσο ιστό.

Βλάβη των πληθυσμών αυτών οδηγεί σε σύμπτωση των τοιχωμάτων των κυψελίδων και σε έξοδο υγρού πλούσιου σε πρωτεΐνες στον διάμεσο ιστό. Η κατάσταση αυτή ονομάζεται ακτινική πνευμονίτιδα και κλινικά συνοδεύεται από πυρετό, βήχα, δύσπνοια και κακουχία. Αν αφορά σε μεγάλα τμήματα των πνευμόνων μπορεί να οδηγήσει σε θάνατο.

Ο χρόνος που εμφανίζεται είναι 2-6 μήνες μετά την ακτινοβόληση και αντιστοιχεί με τον χρόνο κυτταρικής ανανέωσης των κυττάρων στόχων.

Μετά τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις και την βλάβη των κυψελιδικών τοιχωμάτων, αναπτύσσεται ουλώδης ιστός (πνευμονική ίνωση) που ανάλογα με την έκτασή του προκαλεί αναπνευστική ανεπάρκεια. Η αντίδραση αυτή είναι όψιμη ακτινική αντίδραση, εμφανίζεται μετά από μήνες ή χρόνια από την ακτινοβόληση και είναι μη αναστρέψιμη

[6,12]

## A.2 Σχέσεις Δόσης – Απόκρισης στην Ακτινοθεραπεία

Ο τοπικός έλεγχος της νόσου και οι μετακτινικές αντιδράσεις των φυσιολογικών ιστών μπορούν να θεωρηθούν η ποσοτικοποίηση των βιολογικών αποτελεσμάτων της ακτινοθεραπείας, προκειμένου για την αξιολόγηση της έκβασης της.

Η πρώτη παράμετρος εκφράζεται ποσοτικά με την πιθανότητα ελέγχου του όγκου TCP (Tumour Control Probability) και η δεύτερη με την πιθανότητα εμφάνισης μετακτινικών αντιδράσεων των φυσιολογικών ιστών NTCP (Normal Tissue Complication Probability). Η γραφική συνάρτηση των παραμέτρων αυτών με τη δόση ακτινοβολίας, σε γραμμικές κλίμακες, παριστάνουν σιγμοειδείς κατά προσέγγιση καμπύλες, τύπου αθροιστικής συχνότητας, και ονομάζονται καμπύλες δόσης – απόκρισης (dose response curves). Οι καμπύλες αυτές υποδεικνύουν ότι η πιθανότητα εμφάνισης ενός συγκεκριμένου μετακτινικού αποτελέσματος τείνει στο μηδέν όταν η δόση προσεγγίζει το μηδέν, ενώ αντίθετα στις πολύ μεγάλες δόσεις η πιθανότητα αυτή τείνει στο 100%. Οι συνηθέστερα χρησιμοποιούμενες μαθηματικές συναρτήσεις στη ραδιοβιολογία, με αυτές τις ιδιότητες είναι η Poisson και η λογιστική.

Ενδεικτικά η πρώτη κατανομή (Poisson) δίνει την πιθανότητα να εμφανιστεί ένα γεγονός κάποιο συγκεκριμένο αριθμό φορών, με την προϋπόθεση ότι ο αριθμός των 'δοκιμών' είναι μεγάλος και η πιθανότητα εμφάνισης του γεγονότος που μελετιέται είναι μικρή. Απαραίτητη επίσης προϋπόθεση για την εφαρμογή της κατανομής Poisson είναι οι εμφανίσεις του γεγονότος να είναι τυχαίες και ανεξάρτητες μεταξύ τους<sup>[13]</sup>.

Η κατανομή αυτή περιγράφεται από μία μόνο μεταβλητή, που είναι ο μέσος αριθμός ( $\lambda$ ) των εμφανίσεων του γεγονότος για την ίδια χρονική περίοδο. Δηλ:

$$P(x) = e^{-\lambda} \cdot \lambda^x / x!$$

Όπου  $P(x)$  = πιθανότητα για  $x$  εμφανίσεις, και  $e$  η βάση των νεπερίων λογαρίθμων (=2,71).

Εξ ορισμού  $0! = 1$  και  $\lambda^0 = 1$ . Συνεπώς η πιθανότητα για καθόλου εμφανίσεις του γεγονότος είναι  $e^{-\lambda}$ .

Η δεύτερη κατανομή που χρησιμοποιείται ευρέως είναι η λογιστική ή λογιστικό μοντέλο (logit). Σε αυτό:

$$\log it p = \log \frac{p}{1-p} = A_0 + A_1 D + A_2 dD + \dots + A_n = u$$

$A_0, A_1, A_2$  είναι συντελεστές όπως το στάδιο της νόσου και χαρακτηριστικά της θεραπείας  $\eta$  / και του ασθενούς.

Στην περίπτωση της ακτινοβόλησης συμπαγών όγκων επειδή η πλήξη ενός κυττάρου από την ακτινοβολία είναι τυχαία και ανεξάρτητη απ την πλήξη των άλλων μπορεί κάλλιστα να εφαρμοστεί η κατανομή Poisson. Το υπό μελέτη γεγονός είναι προφανώς η



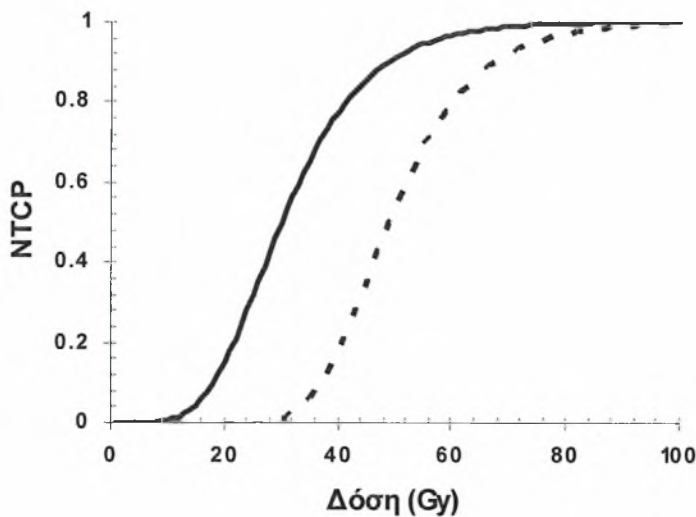
επιβίωση του κυττάρου. Εάν ο μέσος αριθμός κυττάρων που μετά από ακτινοβόληση πανομοιότυπων είναι γνωστός και ίσος με  $N$  κύτταρα ανά όγκο, τότε η πιθανότητα ελέγχου συγκεκριμένου όγκου είναι:  $P(x) = e^{-N} \cdot N^x / x!$  και για  $x=0$ , είναι

$P(x) = e^{-N}$ . Δηλαδή για πιθανότητα ίασης 50% έχουμε  $N=0,693$ . Αυτό σημαίνει ότι ενώ το 50% των πανομοιότυπων όγκων περιέχει 0 ζωντανά κύτταρα, το υπόλοιπο 50% περιέχει κάποιο αριθμό κυττάρων και άρα αυτοί οι όγκοι δεν ελέγχονται τοπικά. Εάν υποτεθεί ότι ο μέσος αριθμός των κυττάρων που επιβιώνουν μετά από ακτινοβόληση είναι αρνητική συνάρτηση της δόσης της ακτινοβολίας<sup>[14]</sup>, τότε:

$$TCP = \exp(-N) \rightarrow TCP = \exp[-N_0 \exp(-kD)]$$

όπου  $N_0$  ο αρχικός αριθμός των κυττάρων του όγκου και  $k$  μια σταθερά.

Με βάση την προηγούμενη σχέση προκύπτουν οι χαρακτηριστικές σιγμοειδείς καμπύλες δόσης – απόκρισης όπως αυτές παρουσιάζονται στο σχήμα A.2.



Σχήμα A.2 Χαρακτηριστικές καμπύλες δόσης - απόκρισης

## A.2.α Ο ρόλος του παράγοντα ‘χρόνος’

---

Αναφορικά στην κυτταρική επιβίωση μετά από κερματισμένη ακτινοβολή, έχει καθοριστεί από τους Elkind & Sutton το 1959 <sup>[15]</sup>, ότι: ‘η συνολική δόση που απαιτείται για κάποιο επίπεδο κυτταρικής επιβίωσης αναμένεται να αυξηθεί με την αύξηση του κερματισμού της δόσης.’

Με την αύξηση των πειραματικών δεδομένων διαπιστώθηκε η ύπαρξη και άλλων παραγόντων που επηρεάζουν την κυτταρική επιβίωση μετά από ακτινοβολή, όπως: η οξυγόνωση, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός και η ανακατανομή στις φάσεις του κυτταρικού κύκλου.

Οι παράγοντες αυτοί και ο ρόλος τους στην κερματισμένη ακτινοβολή συνοψίστηκαν από τον R. Withers <sup>[16]</sup> ως τα 4 ‘R’ της ραδιοβιολογίας, αν και πλέον αυτά τα ‘R’ αναφέρονται ως 5 <sup>[6,11,17]</sup>:

1. Επιδιόρθωση (Repair), 2. Επαναποικισμός (Repopulation), 3. Ανακατανομή (Redistribution), 4. Επανοξυγόνωση (Reoxygenation) 5. Ενδογενής ακτινοευαισθησία (Radiosensitivity)

1. Επιδιόρθωση: Τα κύτταρα υφίστανται μη θανατηφόρες ακτινικές βλάβες που είναι δυνατόν να επιδιορθωθούν με την βοήθεια ενζυμικών μηχανισμών εάν το κύτταρο δεν επανακτινοβοληθεί για μερικές ώρες.

Στο γεγονός αυτό οφείλεται η ύπαρξη «ώμου» στην περιοχή των χαμηλών δόσεων καθώς και η επανάληψή του επί κερματισμένης ακτινοβολήσεως, με αποτέλεσμα την αύξηση της ισοδραστικής δόσης με την κερματισμένη ακτινοβολήση.

Όσο μεγαλύτερη είναι η αύξηση της ισοδραστικής δόσης τόσο μεγαλύτερη θεωρούμε ότι είναι η ευαισθησία των ιστών στον κερματισμό της δόσης. Η ευαισθησία στον κερματισμό είναι μεγαλύτερη στους οψίμως αντιδρώντες ιστούς από ότι στους οξέως αντιδρώντες και τους περισσότερους κακοήθεις όγκους.

Επίσης, η επιδιόρθωση της δυνητικά θανατηφόρας βλάβης παίζει ρόλο στην διαμόρφωση του «ώμου» της καμπύλης επιβίωσης. Μερικοί ερευνητές προτείνουν την ύπαρξη δύο ή περισσότερων ρυθμών επιδιορθώσεως της μη θανατηφόρας βλάβης. Εκτός από την επιδιόρθωση τύπου Elkind, θεωρείται ότι λαμβάνει χώρα και άλλη, με ρυθμό της τάξεως της μίας εβδομάδας. Πάντως το αργό τμήμα της επιδιορθώσεως αντιστοιχεί σε μικρή αύξηση της ισοδραστικής δόσης με τον κερματισμό.

2. Επαναποικισμός: Τα φυσιολογικά κύτταρα που καταστρέφονται από την ακτινοβολία, αντικαθίστανται με την βοήθεια ομοιοστατικών μηχανισμών, από τις διαθέσιμες κυτταρικές δεξαμενές. Αυτό επιτυγχάνεται με 3 κυρίως τρόπους:

α) Με μείωση του χρόνου του κυτταρικού κύκλου.

β) Με αύξηση του κλάσματος υπό αναπαραγωγή (growth fraction).

γ) Με μείωση του ποσοστού απώλειας κυττάρων (cell loss factor).

Στο ανθρώπινο δέρμα η κινητοποίηση των μηχανισμών και ο επαναποικισμός αρχίζει μετά από 3-4 εβδομάδες, ενώ στο βλεννογόνο του εντέρου μετά από 10-14 μέρες.

Οι κακοήθεις όγκοι επαναποικίζονται επίσης με μηχανισμούς παρόμοιους με τους ανωτέρω. Μερικοί μάλιστα με τόσο ταχύ ρυθμό που, κάποιες φορές ξεπερνά τον ρυθμό της ακτινικής καταστροφής τους, με αποτέλεσμα την αδυναμία τοπικού ελέγχου του όγκου.

3. Ανακατανομή: Η κυτταρική ακτινοευαισθησία διαφέρει κατά τις διάφορες φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Είναι μεγαλύτερη στην φάση M και στο όριο G1-S, ενώ είναι σχετικά μικρή στη φάση S. Με την ακτινοβόληση θανατώνονται επιλεκτικά τα κύτταρα που βρίσκονται σε πιο ακτινευαίσθητες φάσεις. Ταυτόχρονα, τα ακτινοβολημένα κύτταρα, έχει παρατηρηθεί ότι συσσωρεύονται στην προμιτωπική φάση G2. Αποτέλεσμα των φαινομένων αυτών είναι ο σχετικός συγχρονισμός των υπολοίπων κυττάρων. Επομένως, αν επόμενη δόση χορηγηθεί τη στιγμή που τα κύτταρα περνούν όλα μαζί από φάση που είναι ακτινευαίσθητα, τότε επιτυγχάνεται το μέγιστο δυνατό πλήγμα. Παράλληλα, είναι δύσκολος ο προσδιορισμός των κατάλληλων χρονικών στιγμών για τις επόμενες ακτινοβολήσεις. Επομένως, το φαινόμενο της ανακατανομής είναι αμφίβολης κλινικής σημασίας. Θα πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι στις δόσεις που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη (1-3 Gy), δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές στην ακτινοευαισθησία σε συνάρτηση με την φάση του κυτταρικού κύκλου.

4. Επανοξυγόνωση: Η τάση του οξυγόνου στα ακτινοβολούμενα κύτταρα έχει μεγάλη σημασία. Η κλασματική χορήγηση της ακτινοβολίας επιτρέπει την σταδιακά καλύτερη οξυγόνωση των κυττάρων του όγκου, αφού βαθμιαία μειώνονται οι διατροφικές απαιτήσεις, λόγω της κυτταρικής καταστροφής. Η επανοξυγόνωση αυξάνει την ακτινοευαισθησία των κυττάρων του όγκου, αυξάνει, όμως, και την αναπαραγωγική και επανορθωτική ικανότητα των κακοήθων κυττάρων. Προσπάθεια για την βελτίωση της οξυγόνωσης των κακοήθων όγκων με διάφορους τρόπους (υπερβαρικό οξυγόνο, ακτινευαισθητοποιείς ουσίες, όπως μέτρο-, μίσο- ετανιδαζόλη κ.λπ.) δεν έχουν αποδώσει τα αναμενόμενα.

5. Ενδογενής ακτινοευαισθησία των κυττάρων (Radiosensitivity), που περιγράφεται από την αρχική κλίση των καμπυλών επιβίωσης. Οι 3 κυριότεροι λόγοι αυξημένης ακτινοαντοχής κυττάρων και ιστών είναι: α) η μικρή ενδογενής ακτινοευαισθησία, β) η υποξία και γ) ο ταχύς ρυθμός επαναποικισμού. Ο πρώτος αναφέρεται ως ο πιο σημαντικός.

### A.3 Μοντέλα κυτταρικής επιβίωσης

Η δυνατότητα πρόβλεψης των διαφορετικών ραδιοβιολογικών μοντέλων δεν εξαρτάται μόνο από την ικανότητά τους να περιγράφουν επακριβώς τους ακτινοθεραπευτικούς και βιολογικούς μηχανισμούς, αλλά και από την ακρίβεια προσδιορισμού των ραδιοβιολογικών παραμέτρων του μοντέλου. Ο καταλληλότερος τρόπος για την εκτίμηση αυτών των παραμέτρων είναι χρησιμοποιώντας κλινικά δεδομένα με πλήρη καταγραφή της αγωγής και της εξέλιξης της θεραπείας. Αυτή είναι μία αρκετά πολύπλοκη διαδικασία επειδή εξαρτάται από πολλούς παράγοντες οι οποίοι δεν έχουν προτυποποιηθεί ανάμεσα στα διάφορα ακτινοθεραπευτικά κέντρα.

Η ραδιοβιολογική μοντελοποίηση είναι μία πολύπλοκη διαδικασία ακόμα και αν τα διαθέσιμα κλινικά δεδομένα είναι ακριβή. Αυτό οφείλεται στο ότι η διαθέσιμη πληροφορία συνήθως καλύπτει μόνο ένα περιορισμένο τμήμα της καμπύλης δόσης - απόκρισης λόγω του ότι τα κλινικά δεδομένα παράγονται από ακτινοθεραπευτικές αγωγές, οι οποίες στοχεύουν στην επίτευξη του ελέγχου της νόσου με ελάχιστες επιπλοκές των φυσιολογικών ιστών.

Για τους ανωτέρω λόγους, πρωταρχικό ρόλο παίζει η γνώση της κυτταρικής επιβίωσης σε μικροσκοπικό επίπεδο. Το θεμελιώδες χαρακτηριστικό γνώρισμα των περισσότερων μοντέλων κυτταρικής επιβίωσης είναι ότι ο θάνατος των κλωνογόνων κυττάρων (clonogenic cell death) είναι κυρίως μια εκθετική διαδικασία, δηλαδή ο αριθμός των κυττάρων που χάνονται είναι ανάλογος προς τη δόση και τον αρχικό αριθμό κυττάρων πριν από την ακτινοβολία. Αυτό οδηγεί σε μια γραμμική καμπύλη επιβίωσης των κυττάρων όταν σχεδιάζεται σε μια λογαριθμική-γραμμική κλίμακα (log-linear scale). Κατά τη διάρκεια των περασμένων ετών έχουν παρουσιαστεί διάφορα μοντέλα επιβίωσης των κυττάρων.

Εντούτοις, παρατηρείται πειραματικά ότι οι καμπύλες επιβίωσης των διαφόρων ιστών παρεκκλίνουν ουσιαστικά από το βασικό εκθετικό μοντέλο, γεγονός που οφείλεται στην φτωχή πρόβλεψη στις χαμηλές δόσεις ( $D < 5 \text{ Gy}$ )<sup>[18]</sup>. Γενικά όλες οι πειραματικές καμπύλες κυτταρικής επιβίωσης έχουν δύο διακριτά μέρη: το εκθετικό για μεγάλες δόσεις ( $> 5 \text{ Gy}$ ) και τον «ώμο» (shoulder) για μικρές δόσεις. Τα προηγούμενα μοντέλα που περιγράφουν τον ώμο βασίστηκαν στη θεωρία στόχων, που προτείνει ότι τα κύτταρα έχουν ορισμένες ευαίσθητες περιοχές (στόχοι) και ότι ο αριθμός των στόχων και τα χτυπήματα επάνω σε αυτούς είναι σημαντικά για τη μορφή του ώμου.

Η αδρανοποίηση των στόχων με απλό ακτινικό πλήγμα (single hit injury) είναι ένας τρόπος να περιγραφεί ο θάνατος των κυττάρων, ο οποίος οδηγεί καθαρά σε μια εκθετική καμπύλη επιβίωσης. Ένα ρεαλιστικότερο μοντέλο είναι η θεωρία του απλού πλήγματος-πολλαπλών στόχων, η οποία υπονοεί ένα χτύπημα σε  $n$  στόχους:

$$S_{SHMT}(D) = 1 - (1 - e^{-D/D_0})^n$$

Εντούτοις, από την πρωτοποριακή εργασία των Elkind και Sutton, ξέρουμε ότι ο 'ώμος' είναι κυρίως ένα φαινόμενο επιδιόρθωσης ανεξάρτητο από τις θεωρητικές υποθέσεις στόχων. Το γραμμικό-τετραγωνικό μοντέλο (το μοντέλο LQ) αρχικά προτάθηκε στη δεκαετία του '60 αλλά χωρίς οποιαδήποτε σύνδεση σε μια συγκεκριμένη θεωρία. Αργότερα στο LQ ενσωματώθηκε η θεωρία του στόχου, που έθεσε ως κρίσιμο στόχο την έλικα του DNA <sup>[19,20]</sup>. Με το LQ η επιβίωση των κυττάρων περιγράφεται από την εξίσωση:

$$S_{LQ}(D) = e^{-\alpha D - \beta D^2}$$

Όπου α και β σταθερές που είναι χαρακτηριστικές για κάθε διαφορετικό είδος ιστού. Διακρίνονται δηλαδή δύο ειδών βλάβες: α) η βλάβη με απλό ακτινικό πλήγμα κατά την οποία καταστρέφονται και οι δύο θέσεις (ίσως η διπλή έλικα του DNA) και β) η βλάβη με ξεχωριστά πλήγματα, των δύο θέσεων αυτών που πρέπει να αλληλεπιδράσουν για να προκύψει θανατηφόρα βλάβη. Στην περίπτωση που δεν λάβει χώρα αλληλεπίδραση, ή πληγεί μόνο η μία από τις δύο θέσεις τότε το κύτταρο έχει υποστεί μη θανατηφόρο επίδραση την οποία μπορεί να επιδιορθώσει. Η βλάβη του πρώτου τύπου αποδεικνύεται ότι είναι γραμμικά ανάλογη της δόσης και ισούται με  $\exp(-\alpha D)$ , ενώ η βλάβη του δεύτερου τύπου ισούται με  $\exp(-\beta D^2)$ . Συνεπώς στις χαμηλές δόσεις ή στο χαμηλό ρυθμό δόσης επικρατούν οι βλάβες του απλού πλήγματος ενώ με την αύξηση της δόσης αρχίζει να αποκτά νόημα η βλάβη του δεύτερου τύπου.

Από τη δεκαετία του '80, το μοντέλο LQ έχει μονοπωλήσει το πεδίο των ραδιοβιολογικών μοντέλων. Η δημοτικότητα αυτού του μοντέλου προέρχεται πιθανώς από το γεγονός ότι αναπαριστά τα πειραματικά δεδομένα ικανοποιητικά στα κλινικά επίπεδα δόσεων και είναι εύκολο να το χειριστεί κανείς παρόλο που έχει τις ίδιες ανεπάρκειες με τις θεωρίες των στόχων. Σήμερα είναι προφανές ότι το μοντέλο LQ έχει μειονεκτήματα στα χαμηλά και στα υψηλά επίπεδα δόσεων. Δεν μπορεί να επιλύσει την υπερευαισθησία σε χαμηλές δόσεις και οδηγεί σε μια φθίνουσα καμπύλη στις υψηλές δόσεις, δηλ. η ακτινοβολία γίνεται αποτελεσματικότερη ανά μονάδα δόσης στις υψηλότερες δόσεις.

Προκειμένου να καλυφθεί το κενό του προηγούμενου μοντέλου εισήχθησαν τα λεγόμενα "ενοποιημένα μοντέλα επισκευής" όπως το μοντέλο RMR (Repair Mis-Repair) και το μοντέλο LPL (Lethal Potentially Lethal). Το βασικό στοιχείο αυτών των μοντέλων είναι ότι η ακτινοβολία θεωρείται ότι προκαλεί δύο τύπους αλλοίωσης στο κύτταρο: αυτές που μπορούν να διορθωθούν και αυτές που δεν μπορούν <sup>[21,22]</sup>.

Αυτές που δεν μπορούν να διορθωθούν περιγράφονται από ένα γραμμικό μέρος. Οι αλλοιώσεις που μπορούν να επιδιορθωθούν χωρίζονται σε δύο ομάδες: σε αυτές που επισκευάζονται ολοκληρωτικά ή εν μέρει. Το μοντέλο LPL δίνει παρόμοια αποτελέσματα

με το μοντέλο LQ κατά τη διάρκεια των πρώτων δύο βαθμίδων της καμπύλης επιβίωσης και αυτό το μοντέλο έχει επομένως το ίδιο πρόβλημα στις χαμηλές δόσεις, δηλαδή δεν μπορεί να περιγράψει την υπερευαισθησία στις χαμηλές δόσεις. Έτσι δημιουργήθηκε το μοντέλο δύο πληθυσμών (Twin Population - TP) που είναι βασισμένο στο μοντέλο LQ αλλά τα στοιχεία είναι χωρισμένα σε δύο πληθυσμούς, σε έναν ακτινευαίσθητο ( $\alpha_S$ ) και σε ένα πιο ακτινοάντοχο ( $\alpha_R, \beta_R$ ).

$$S_{TP}(D) = pe^{-\alpha_S D} + (1-p)e^{-(\alpha_R D + \beta_R D^2)}$$

Μια άλλη επέκταση του μοντέλου LQ που έχει προταθεί είναι σε θέση να επιλύσει την υπερευαισθησία σε χαμηλές δόσεις. Το μοντέλο καλείται IR (Inducible Repair) και έχει τροποποιημένο το γραμμικό μέρος

$$S_{IR}(D) = e^{\left[ -\alpha_R \left( 1 + \left( \frac{\alpha_S - 1}{\alpha_R} \right) e^{-D/D_c} \right) D - \beta D^2 \right]}$$

Τα μοντέλα TP και IR επίσης οδηγούν σε μια συνεχώς φθίνουσα καμπύλη κυτταρικής επιβίωσης στις υψηλές δόσεις όπως ακριβώς και το LQ μοντέλο.

Το πρόσφατα προτεινόμενο μοντέλο κυτταρικής επιβίωσης RCR (Repairable Conditionally Repairable), που είναι βασισμένο στις στατιστικές Poisson, έχει μερικές από τις βασικές υποθέσεις του RMR και του LPL, αλλά εισάγονται δύο ευδιάκριτες κλάσεις της επιδιορθώσιμης βλάβης. Το μοντέλο διακρίνει δύο τύπους βλάβης, εκείνες που πιθανόν επισκευάζονται (αλλά μπορεί να είναι και θανατηφόρες, δηλ. μη-επισκευάσιμες) και εκείνες που είναι υπό όρους επισκευάσιμες. Η επιβίωση μετά από την πλήρη επιδιόρθωση δίνεται από:

$$S_{RCR}(D) = e^{-aD} + bDe^{-cD}$$

Όπου ο πρώτος όρος είναι η επιβίωση των άθικτων κυτάρων χωρίς οποιαδήποτε επισκευή και  $a$  είναι ο συνολικός μέσος αριθμός τραυμάτων ανά μονάδα δόσης.

Ο δεύτερος όρος είναι η πιθανότητα της επιδιορθώσιμης βλάβης. Το RCR μοντέλο είναι το μόνο μοντέλο που επιτρέπει μια ακριβή ταύτιση σε ολόκληρο το φάσμα δόσης.

### A.3.α Βιολογική σημασία των συντελεστών α και β <sup>[6,11]</sup>

---

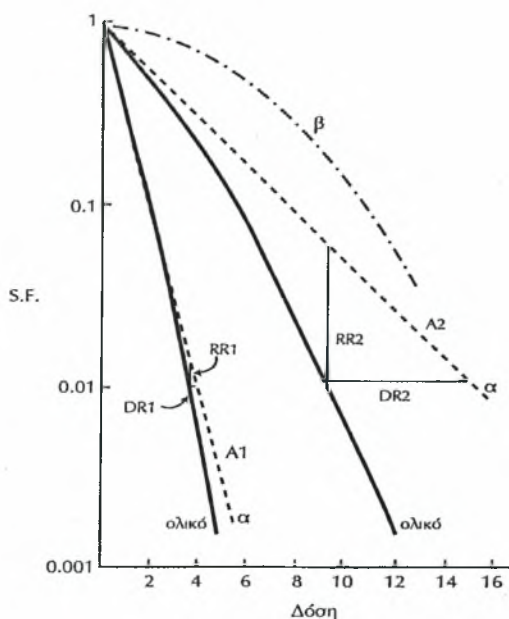
Τα μοντέλα που περιγράφουν την κυτταρική επιβίωση μετά από ακτινοβόληση περιλαμβάνουν 2 συνιστώσες κυτταρικής βλάβης: ένα γραμμικά ανάλογο της δόσης (γραμμικό) και ένα καμπυλόγραμμο.

Στο γραμμικό τετραγωνικό μοντέλο (LQ), το γραμμικό μέρος περιγράφεται από τον συντελεστή α. Η βλάβη του απλού πλήγματος (βλάβη τύπου -α) κυριαρχεί στις πολύ μικρές δόσεις και στο χαμηλό ρυθμό δόσης. Αυτός είναι ο λόγος που οι καμπύλες επιβίωσης είναι ευθύγραμμες στο ρυθμό δόσης 1-2 Gy/ ώρα. Με τον ρυθμό αυτό είναι αμελητέα η βλάβη πολλαπλών πληγμάτων (τύπου-β, καμπυλόγραμμη).

Η γραμμική συνιστώσα είναι όχι μόνο η κυριότερη βλάβη στις δόσεις κλινικού εύρους αλλά είναι εκείνη που καθορίζει την ακτινοευαισθησία των κυττάρων. Γι' αυτό και ο συντελεστής α θεωρείται ένα μέτρο της ενδογενούς ακτινοευαισθησίας.

Στο σχήμα A.3 είναι εμφανές ότι η κλίση της καμπύλης επιβίωσης επηρεάζεται πολύ περισσότερο από τη β συνιστώσα, όταν η α συνιστώσα είναι μικρή (μικρή κλίση). Όταν η κλίση της γραμμικής βλάβης είναι μεγάλη η προσθήκη της β συνιστώσας δεν επηρεάζει σημαντικά τη συνισταμένη κλίση της καμπύλης επιβίωσης. Η διαφορά στις κλίσεις ορίζεται ως συντελεστής ανάνηψης (Σ.Α.) και για το γραμμικό - τετραγωνικό μοντέλο υπολογίζεται ότι:  $\Sigma.A. = \exp(2\beta d^2)$ . Η σχέση αυτή δείχνει ότι το μέτρο της κυτταρικής ανάνηψης αυξάνεται με την δόση.

Αν συγκριθούν οι κλίσεις για σταθερή επιβίωση (π.χ. SF=0,01) διαφαίνεται ότι η διαφορά των καμπυλών α και ολικής, οφείλεται στην προσθήκη της β συνιστώσας. Η συνεισφορά της συνιστώσας αυτής μειώνεται όσο μειώνεται ο ρυθμός δόσης. Επομένως, στα πλαίσια του γραμμικού-τετραγωνικού μοντέλου η τιμή του συντελεστή β φαίνεται να αποτελεί μέτρο κυτταρικής ανάνηψης.



Σχήμα Α.3.α Διαφοροποίηση των κλίσεων των καμπυλών επιβίωσης\*

### Η βλάβη τύπου -β.

Ο συντελεστής  $\beta$  μπορεί να υπολογιστεί εάν χορηγηθούν κλάσματα δόσης με ικανό διάστημα μεταξύ τους (ώστε να είναι πλήρης η ανάνηψη) και σχεδιαστεί ο  $\log(S.F.)$  ως συνάρτηση του  $2d^2$ . Η κλίση της ευθείας που θα προκύψει είναι η τιμή του  $\beta$ . Τέτοιες μελέτες έχουν γίνει και το συμπέρασμα ήταν ότι οι πιο ακτινευαίσθητες κυτταρικές σειρές έχουν (εκτός από υψηλές τιμές του τύπου-α) μεγαλύτερες τιμές και του  $\beta$ .

Τα ακτινευαίσθητα κύτταρα υφίστανται μεγάλη βλάβη και με τους δύο τρόπους. Οι τιμές του  $\beta$  είναι μεγάλες και επειδή είναι μεγάλες και οι τιμές του  $\alpha$  (μεγάλη κλίση της γραμμικής συνιστώσας) φαίνεται σαν να έχουν "μικρή ικανότητα ανάνηψης".

Η άποψη ότι τα ακτινευαίσθητα κύτταρα υστερούν στην ικανότητα ανάνηψης (ή επιδιόρθωσης της μη θανατηφόρας ακτινικής βλάβης) κυριαρχούσε από την εποχή των Elkind και Sutton. Μάλιστα ερευνητές όπως οι Weichselbaum συν. υποστήριξαν ότι τα ακτινευαίσθητα κύτταρα υστερούν στην επιδιόρθωση της δυνητικά θανατηφόρας βλάβης. Νεότερες απόψεις κυρίως των Steel συν συνηγορούν υπέρ της άποψης ότι ικανότητα ανάνηψης έχουν σχεδόν όλα τα κύτταρα

Η διαφορά βρίσκεται στο εμφανιζόμενο ποσοστό της βλάβης που μπορεί να υποστεί επιδιόρθωση. Με βάση τα παραπάνω, τα ακτινευαίσθητα κύτταρα φαίνεται ότι έχουν μικρότερη ικανότητα ανάνηψης, γιατί η  $\beta$  συνιστώσα κυτταρικής βλάβης που είναι επιδιορθώσιμη συνεισφέρει πολύ λιγότερο στην συνολική κυτταρική καταστροφή.

### Η βλάβη τύπου -α.

Τα δευτερογενή ηλεκτρόνια μέσα στο βιολογικό υλικό στο τέλος της τροχιάς τους χαρακτηρίζονται από υψηλή γραμμική μεταφορά ενέργειας (Linear Energy Transfer –

\* Από Γ.Α. Πλατανιώτη (2000)



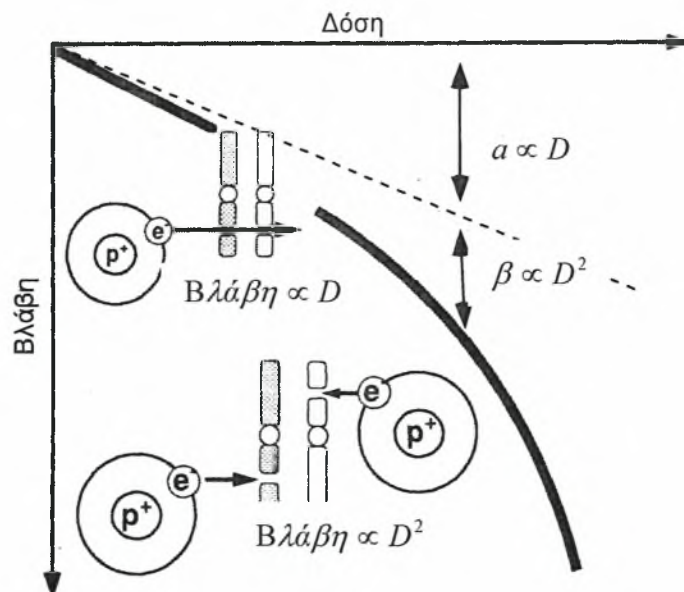
LET) λόγω της χαμηλής τους ταχύτητας. Σ' αυτή την φάση μπορούν να παράγουν 10 ή περισσότερους ιοντισμούς σε ακτίνα 5-7 nm. Στην κλίμακα μεγέθους της αλυσίδας του DNA (διάμετρος 2 nm) η συσσώρευση τόσων ιοντισμών αναμένεται να προκαλέσει καταστροφή σε ακτίνα τόση που να περιλαμβάνει 20 ή περισσότερα ζεύγη βάσεων. Αυτού του τύπου οι βλάβες έχουν χαρακτηριστεί ως LMDS (Local Multiple Damage Sites). Οι βλάβες αυτές είναι βαρύτερες και άμεσα θανατηφόρες. Άλλες βλάβες που παρατηρούνται είναι οι διασπάσεις της διπλής έλικας (Double Strand Break - DSB), της μονής έλικας (Single Strand Break - SSB) και η καταστροφή των βάσεων. Η σειρά της βαρύτητας είναι: καταστροφή βάσεων → SSB → DSB → LMDS.

Οι αραιοί ιοντισμοί παράγουν βλάβες που μπορούν να επιδιορθωθούν. Αν δεν επιδιορθωθούν τότε μπορούν να αλληλεπιδράσουν και να γίνουν θανατηφόρες, παράγοντας έτσι την βλάβη τύπου  $-\beta$ . Ταυτόχρονα οι πιο βαριές από τις LMDS δεν επιδέχονται επιδιόρθωση, είναι απευθείας θανατηφόρες και διαμορφώνουν τη βλάβη τύπου  $-\alpha$ .

Γενικά στη βιβλιογραφία διακρίνονται τρεις τύποι βλαβών<sup>[11]</sup>:

i) Επιδιορθώσιμες βλάβες που αλληλεπιδρούν και γίνονται θανατηφόρες, ii) Βλάβες που μπορεί να αποβαίνουν θανατηφόρες αλλά αυτό εξαρτάται από την επανορθωτική ικανότητα του κυττάρου. iii) Βλάβες που είναι τόσο βαριές που είναι αδύνατο να διορθωθούν.

Οι βλάβες της κατηγορίας (i) διαμορφώνουν την επανορθώσιμη τύπου-β βλάβη. Οι κατηγορίες (ii) και (iii) μαζί, διαμορφώνουν το  $\alpha$ -συστατικό και καθορίζουν την κλίση της καμπύλης. Οι βλάβες της κατηγορίας (ii) είναι εκείνες που μπορεί να τροποποιηθούν αλλάζοντας την τιμή του  $\alpha$ . Σχηματική αναπαράσταση των ανωτέρω στο σχήμα Α.3.β.



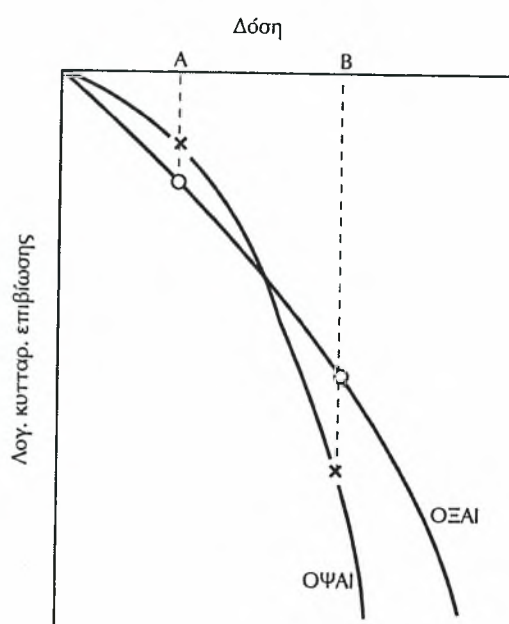
Σχήμα Α.3.β Βλάβη συναρτήσει της δόσης και εξάρτηση από τον τύπο της βλάβης.

### Α.3.β Βιολογική σημασία του λόγου $\alpha/\beta$

Οι συντελεστές  $\alpha$  και  $\beta$  εμφανίζονται και υπό τη μορφή του λόγου  $\alpha/\beta$ , στις εξισώσεις υπολογισμού της βιολογικά ισοδύναμης δόσης και αυτός ο λόγος είναι χαρακτηριστικός για κάθε διαφορετικό είδος ιστού. Έχει διαστάσεις δόσης (Gy) και αντιστοιχεί στην δόση στην οποία η βλάβη τύπου  $\alpha$  είναι ποσοτικά ίση με την βλάβη τύπου  $\beta$ . Η μαθηματική έκφραση της προηγούμενης πρότασης είναι:

$$e^{(-\alpha d)} = e^{(-\beta d^2)} \Rightarrow \alpha d = \beta d^2 \Rightarrow d = \alpha / \beta$$

Οι τιμές των συντελεστών υπολογίζονται με την μέθοδο της μέγιστης πιθανοφάνειας και είναι εκείνες που έχουν την μεγαλύτερη πιθανότητα να ταιριάζουν στα συγκεκριμένα κλινικά δεδομένα. Η βιολογική βάση του τρόπου με τον οποίο αντιδρούν οι διάφοροι ιστοί στην κερματισμένη ακτινοθεραπεία ενέχει μεγάλη κλινική σημασία και ισχύει ότι όταν η τιμή του  $\alpha/\beta$  είναι σχετικά μικρή, τότε η αντίστοιχη καμπύλη επιβίωσης έχει πιο μεγάλη κυρτότητα, όπως διαφαίνεται στο σχήμα Α.3.β.



**Σχήμα Α.3.γ Σύγκριση καμπυλών επιβίωσης ανάμεσα σε οψίμως αντιδρώντες ιστούς (ΟΨΑΙ) και οξέως αντιδρώντες ιστούς (ΟΞΑΙ).**

Στο σχήμα Α.3.γ φαίνεται η διαφορά στην ανταπόκριση των ΟΞ.Α.Ι. από τους ΟΨ.Α.Ι.. Μια αύξηση της δόσης από Α σε Β σημαίνει μεγαλύτερη αύξηση στην βλάβη των ΟΨ.Α.Ι.

Οι οψίμως αντιδρώντες ιστοί έχουν μεγαλύτερη ευαισθησία στον κερματισμό της δόσης από τους όγκους και τους οξέως αντιδρώντες φυσιολογικούς ιστούς. Αυτή είναι μία

διαπίστωση που ισχύει ανεξάρτητα από πρότυπα που χρησιμοποιούνται για την περιγραφή της. Δύο είναι οι κυριότερες αιτίες του φαινομένου:

Α) Κύτταρα που υφίστανται μιτωτικό θάνατο με μικρές δόσεις είναι ικανά να ολοκληρώσουν σχετικά περισσότερες μιτώσεις από τα κύτταρα που υφίστανται την ίδια βλάβη αλλά με μεγαλύτερες δόσεις. Τα πρώτα αν και ραδιοβιολογικά νεκρά, διατηρούν την λειτουργική τους ικανότητα με αποτέλεσμα την διατήρηση της λειτουργίας και του αντίστοιχου ιστού. Αν πάρουμε υπόψη ότι στους ΟΨ.Α.Ι ο ρυθμός των μιτώσεων είναι μικρός, τότε εξηγείται γιατί οι ιστοί αυτοί στις μικρές δόσεις εμφανίζουν μικρή κλίση (μεγαλύτερο «ώμο») του αρχικού μέρους της καμπύλης δόσης- επιβίωσης.

Β) Λόγω του αργού ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων των ΟΨ.Α.Ι αυτά έχουν περισσότερο χρόνο διαθέσιμο για την επιδιόρθωση της δυνητικά θανατηφόρας βλάβης, η οποία εξηγεί την ύπαρξη του ώμου της καμπύλης επιβίωσης.

Στον πίνακα Α.3.α ενδεικτικά κατατάσσονται τιμές του λόγου  $\alpha/\beta$  για διάφορους ιστούς και όργανα με τα ανάλογα συμπτώματα (Από G. Steel 2000).

Ιστός/ όργανο	Σύμπτωμα	$\alpha/\beta$ (Gy)	95% διάστημα εμπιστοσύνης (Gy)
<b>Οξείες αντιδράσεις</b>			
Δέρμα	Ερύθημα	8.8	[6.9; 11.6]
	Ερύθημα	12.3	[1.8; 22.8]
Στοματικός Βλεννογόνος	Βλενίτιδα	9.3	[5.8; 17.9]
	Βλενίτιδα	15	[-15; 45]
	Βλενίτιδα	~8	
<b>Οψιμες αντιδράσεις</b>			
Δέρμα	Τηλαγγειεκτασία	2.8	[1.7;3.8]
	Τηλαγγειεκτασία	2.6	[2.2; 3.3]
	Τηλαγγειεκτασία	2.8	[-0.1;8.1]
Μεσοδερμικό Στρώμα	Ίνωση	1.7	[0.6;2.6]
Μύες	Μειωμένη κίνηση	3.5	[0.7; 6.2]
Νεύρα	Αναστόμωση	<3.5	N/A
	Οπτική νευροπάθεια	1.6	[-7;10]
Νωτιαίος μυελός	μυελοπάθεια	<3.3	N/A
Οφθαλμός	Τραυματισμός του κερατοειδούς	2.9	[-4;10]
Έντερο	Στένωση	3.9	[2.5;5.3]
	Διάφορα συμπτώματα	4.3	[2.2;9.6]
Πνεύμονας	Πνευμονίτιδα	4.0	[2.2; 5.8]
	Πνευμονική ίνωση	3.1	[-0.2;8.5]
Κεφαλής / τραχήλου	Διάφορα συμπτώματα	3.5	[1.1;5.9]
	Διάφορα συμπτώματα	4.0	[3.3; 5.0]
Στοματική κοιλότητα	Διάφορα συμπτώματα	0.8	[-0.6;2.5]

**Πίνακας Α.3.α Ενδεικτικές τιμές του λόγου  $\alpha/\beta$  για διάφορους ιστούς και όργανα**

### A.3.γ Ακτινευαισθησία

---

Από τις βασικές αρχές του νόμου του «αναπαραγωγικού θανάτου» για την ακτινευαισθησία των κυττάρων, που διατύπωσαν πρώτοι οι Bergonie και Tribondeau <sup>[23]</sup> καθορίζεται ότι η ακτινευαισθησία των ιστών θεωρείται :

- Ανάλογη της μεταβολικής δραστηριότητας. Σε κύτταρα με υψηλά επίπεδα μεταβολικής δραστηριότητας η ακτινευαισθησία είναι υψηλή.
- Ανάλογη με τον ρυθμό πολλαπλασιασμού τους και τον αναπτυξιακό ρυθμό των ιστών. Όσο ο ρυθμός του πολλαπλασιασμού αυξάνει τόσο η ακτινευαισθησία είναι μεγαλύτερη.
- Αντιστρόφως ανάλογη με την διαφοροποίηση των κυττάρων. Τα λιγότερα διαφοροποιημένα κύτταρα είναι περισσότερο ακτινευαίσθητα από τα υψηλής διαφοροποίησης.
- Ανάλογη με την ηλικία των κυττάρων στον κυτταρικό κύκλο. Τα νεότερα κύτταρα είναι περισσότερο ακτινευαίσθητα από τα άλλα.

Η ιστική βλάβη εξαρτάται όχι μόνο από την ακτινευαισθησία των παρεγχυματικών κυττάρων αλλά και από την βλάβη των κυττάρων του στρώματος (συνδετικού ιστού, αγγείων). Βλάβη του σώματος θα μειώσει την αναπαραγωγική ικανότητα των παρεγχυματικών κυττάρων και θα οδηγήσει τον ιστό σε υποπλασία και ατροφία.

Με τις σημερινές γνώσεις η διαφορετική ακτινευαισθησία των διαφόρων ιστών και οργάνων δεν μπορεί να αποδοθεί αποκλειστικά σε διαφορετική ακτινευαισθησία των κυττάρων που απαρτίζουν τους διάφορους ιστούς και όργανα στην επίδραση της ακτινοβολίας.

Εντούτοις μπορεί να εξηγηθεί με την κατανόηση των κινητικών δραστηριοτήτων των διαφόρων ιστών και οργάνων στην περίπτωση κυτταρικής ομοιόστασης όπου κυρίως αναφέρεται ο νόμος του «αναπαραγωγικού θανάτου». Η ακτινοβολία προκαλεί αναπαραγωγικό θάνατο των κυττάρων (εκείνων τα οποία έχουν την δυνατότητα αυτή) δηλαδή περιορίζει σημαντικά την ικανότητα επανειλημμένου αναδιπλασιασμού. Έτσι επιφέρει την ελάττωση τους ελαττώνοντας την αναπαραγωγική δραστηριότητα τους, γεγονός που χρησιμοποιείται συνήθως ως κριτήριο ακτινευαισθησίας.

Με τις σύγχρονες κυτταροκινητικές γνώσεις μπορεί έτσι να εξηγηθεί η χαμηλή ακτινευαισθησία ορισμένων οργάνων όπως του ήπατος. Στο ήπαρ οι κινητικές δραστηριότητες είναι σπανιότερες και ελάχιστα ηπατικά κύτταρα βρίσκονται σε ενεργή φάση του κυτταρικού κύκλου.

Θα πρέπει όταν χαρακτηρίζεται ένας ιστός, όργανο ή ένα νεόπλασμα, ως πολύ ή λίγο ακτινευαίσθητο να αναφέρεται και το κριτήριο που χρησιμοποιείται για την μελέτη της ακτινευαισθησίας. Συνήθως ως κριτήριο χρησιμοποιείται η ελάττωση του αριθμού των κυττάρων ενός ιστού ή οργάνου λίγες μέρες μετά την ακτινοβόληση.

Αν ως κριτήριο ακτινευαισθησίας χρησιμοποιηθεί η πρόκληση απώτερων αποτελεσμάτων της ακτινοβολίας, σε ιστούς ή όργανα, ο χαρακτηρισμός της ακτινευαισθησίας θα είναι διαφορετικός απ' ότι αναφέρθηκε παραπάνω.

Στον πίνακα A.3.β κατατάσσονται ενδεικτικά, ανάλογα με την ακτινευαισθησία τους, όργανα και ιστοί με τα αντίστοιχα εμπλεκόμενα κύτταρα.

Παρ' όλο που οι επιδράσεις της ακτινοβολίας στους διάφορους ιστούς είναι βασικά όμοιες, η ευαισθησία και η λειτουργία του ιστού ποικίλλουν κατά τέτοιο τρόπο ώστε κρίνεται απαραίτητη η εξέταση κάθε ιστού μεμονωμένα. Τρία είναι τα κύρια γεγονότα που παρατηρούνται στη βλάβη από ακτινοβολία σε όλους τους ιστούς:

- (α) η εξάρτηση της βλάβης από τον παράγοντα δόσεως - χρόνου, δηλαδή από την χορηγούμενη δόση σε σχέση με το χρονικό διάστημα που δόθηκε,
- (β) η εξάρτηση από τον παράγοντα δόσης-όγκου, όσο μεγαλύτερος όγκος ακτινοβοληθεί τόσο πιο έντονη είναι η βλάβη, και
- (γ) η εξάρτηση από τον ρυθμό δόσης, δηλαδή cGy στη μονάδα του χρόνου.

Ακτινευαισθησία	Ιστοί, όργανα	Κύτταρα
Υψηλή	Λεμφαδένες, Σπλήνας, Θύμος	Λεμφοκύτταρα
	Όρχεις	Σπερματογόνα
	Ωοθήκη	Ωάριο
	Μυελός των οστών	Ερυθροβλάστες, Μυελοκύτταρα
	Λεπτό έντερο	Επιθηλιακά κύτταρα
	Δέρμα	Κύτταρα σε κατάσταση
	Δερματικά εξαρτήματα	Κύτταρα σημηματογόνου και ιδρωτοποιού αδένα
Μέση	Οφθαλμός	Επιθήλιο κρυσταλοειδούς
	Αγγεία	Ενδοθήλιο
	Οστούν σε ανάπτυξη	Κύτταρα χόνδρου σε οστεοβλάστη
Μειωμένη	Ήπαρ, Νεφροί, Πνεύμονες	Ηπατικά κύτταρα, κυψελιδικό επιθήλιο
	Κεντρικό και περιφερικό νευρικό σύστημα	Κύτταρα σωληνοειδών και νευρωνίων
	Ενδοκρινείς αδένες	Επιθήλια αδένων
	Σύνολο ραβδωτών μυών	Κύτταρα μυών
	Μυοκάρδιο	Κύτταρα συνδετικών ιστών
	Συνδετικός ιστός	Κύτταρα δικτυωτών συστημάτων
	Σκελετός	Οστεοκύτταρα

**Πίνακας Α.3.β Ενδεικτική Ακτινευαισθησία.**

## A.4 Ακτινοθεραπεία του μαστού και του πνεύμονος

---

### Καρκίνος του Μαστού.

Είναι το συχνότερο θανατηφόρο νεόπλασμα στις γυναίκες. Η Αμερικανική Εταιρεία Καρκίνου υπολογίζει ότι αποτελεί το 32% όλων των νεοπλασμάτων αλλά και το 18% όλων των θανάτων από νεοπλασμάτα στις γυναίκες. Υπολογίζεται επίσης ότι 1 στις 12 γυναίκες στο δυτικό κόσμο θα αναπτύξει καρκίνο του μαστού.

Η θεραπεία του καρκίνου του μαστού σε κάθε στάδιο προϋποθέτει υψηλή ιατρική εξειδίκευση και συνεργασία πολλών ειδικοτήτων. Σήμερα εφαρμόζονται η τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή (αφαιρείται ο μαστός και οι μασχαλιαίοι λεμφαδένες, χωρίς τους θωρακικούς μύες) και η ογκεκτομή ή τεταρτεκτομή με λεμφαδενικό καθαρισμό της μασχάλης.

Στα αρχικά στάδια συνήθως εφαρμόζεται

- Συντηρητική εκτομή (ογκεκτομή, τεταρτεκτομή κλπ) με λεμφαδενικό καθαρισμό της μασχάλης και ακτινοθεραπεία.
- Τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή και λεμφαδενικός καθαρισμός της μασχάλης.

### Ακτινοθεραπεία

Σκοπός της ακτινοθεραπείας επί καρκίνου του μαστού είναι η αποστείρωση του μαζικού αδένου επί συντηρητικών επεμβάσεων, ή του θωρακικού τοιχώματος επί μαστεκτομών και η εκρίζωση τυχόν μικρομεταστάσεων στους επιχώριους λεμφαδένες επί ασθενών υψηλού κινδύνου.

Η ακτινοθεραπεία έχει επιπλέον σημαντική θέση στην ανακούφιση των συμπτωμάτων τόσο από την προχωρημένη τοπική νόσο όσο και από την απομακρυσμένη μεταστατική νόσο.

Η περιοχή του μαζικού αδένου, του θωρακικού τοιχώματος και των επιχώριων λεμφαδένων ακτινοβολείται με πολλαπλά πεδία τα οποία εφαρμόζονται υπό διαφορετικές γωνίες. Ο μαστός και το θωρακικό τοίχωμα θεραπεύονται συνήθως με ένα ζεύγος αντίθετων επαπτόμενων στο μαστό ή το θωρακικό τοίχωμα πεδίων. Οι υπερκλειδίοι και ενίοτε οι μασχαλιαίοι λεμφαδένες ακτινοβολούνται με ένα πρόσθιο υπό γωνία πεδίο που συνδυάζεται με τα επαπτόμενα. Οι έσω μαστικοί λεμφαδένες (όταν ακτινοβολούνται) περιλαμβάνονται ή στα πλάγια επαπτόμενα πεδία ή σε ένα πρόσθιο κάθετο «στερνοπλευρικό» πεδίο.

Η θέση της ασθενούς τυπικά είναι η ύπτια με τους βραχίονες υψωμένους πάνω από την κεφαλή (ενώ το «υγιές» χέρι συγκρατεί το «πάσχον»). Αυτή η συμμετρική τοποθέτηση είναι εύκολη, αναπαραγώγιμη και επιτρέπει τον συνδυασμό πολλαπλών πεδίων χωρίς λάθη. Περιγράφεται επίσης και η παραδοσιακή θέση ακτινοβολήσεως του μαστού με την

γυναίκα ύπτια, τον σύστοιχο βραχίονα σε έκταση και την κεφαλή στραμμένη προς το υγιές πλάγιο.

### **Καρκίνος του Πνεύμονα**

Ο Καρκίνος του Πνεύμονα είναι ο συχνότερος τύπος κακοήθους νεοπλασματος στον άνθρωπο. Αποτελεί την πρώτη αιτία θανάτου από νεοπλασματική νόσο στους άνδρες ενώ στις γυναίκες τείνει να ξεπεράσει σε συχνότητα τον καρκίνο του μαστού. Η δυνατότητα ίασεως παραμένει μικρή και η συνολική πενταετής επιβίωση κυμαίνεται μεταξύ 10-15%. 90% των περιπτώσεων καρκίνου του πνεύμονα θα είχαν αποφευχθεί με την διακοπή του καπνίσματος. Άλλοι καρκινογενετικοί παράγοντες είναι επίσης η ιοντίζουσα ακτινοβολία, νικέλιο, χρώμιο, αμίαντος (σχετίζεται άμεσα με την ανάπτυξη μεσοθηλιώματος) κ.λπ.

### **Ακτινοθεραπεία**

Εάν ο ασθενής δεν είναι χειρουργήσιμος εφαρμόζεται "ριζική" ακτινοθεραπεία κατά την οποία χορηγούνται οι υψηλότερες δυνατές δόσεις στον όγκο και είναι της τάξεως των 65-70 Gy. Εκτελείται με πολλαπλά πεδία και σχεδιασμό με ηλεκτρονικό υπολογιστή για να προφυλαχθούν οι ευαίσθητοι φυσιολογικοί ιστοί (υγιής πνεύμονας, νωτιαίος μυελός).

Εάν ο όγκος δεν είναι εξαιρέσιμος θεωρείται ότι η όποια θεραπευτική παρέμβαση έχει παρηγορικό χαρακτήρα. Γιαυτό το λόγο εφαρμόζεται διεθνώς ποικιλία ακτινοθεραπευτικών σχημάτων: σχήματα παρόμοια με αυτά της ριζικής θεραπείας (βλ. παραπάνω) ή βραχυχρόνια σχήματα όπως 10 συνεδρίες x 3Gy ή 5 x 4Gy ή 2 x 8,5 Gy 1 x 10 Gy κοκ.

Παράλληλα δοκιμάζονται σχήματα συνδυασμού ακτινοθεραπείας με χημειοθεραπεία (παράλληλα, διαδοχικά χορηγούμενες κοκ.) με φτωχά μέχρι στιγμής αποτελέσματα.



#### A.4.γ Κερματισμός δόσης και παράμετροι επιλογής.

Η βέλτιστη κατανομή της δόσης και η απόδοση αυτής στον καταλληλότερο χρόνο, πάντα αποτελούσε μέγιστο ερώτημα αλλά και στόχο. Ειδικά τα τελευταία χρόνια έχουν πραγματοποιηθεί ραγδαίες εξελίξεις και σε αυτόν τον τομέα. Θεωρείται πλέον δεδομένο ότι η δραστηριότητα της ακτινοβολίας επί των ιστών, μειώνεται, όταν η δόση χορηγείται κλασματικά. Επίσης ότι οι φυσιολογικοί ιστοί ανανήπτουν πιο γρήγορα και πιο αποτελεσματικά από τα νεοπλάσματα. Για την βελτιστοποίηση της δόσης ανά συνεδρία στην ακτινοθεραπεία, αυτό που ουσιαστικά χρειάζεται είναι η γνώση των σχέσεων δόσης απόκρισης για τους οψίμως αντιδρώντες ιστούς, τους οξέως αντιδρώντες ιστούς και τα νεοπλάσματα.

Εξακολουθούν να υπάρχουν βέβαια κρίσιμα ερωτήματα όπως ο ρυθμός και οι μηχανισμοί του επανοικισμού, ή της ανακατανομής και της ενδογενούς ακτινοευαισθησίας, τόσο στους όγκους όσο και στους υγιείς ιστούς. Επίσης πρόσφατα έχει τεθεί και το ερώτημα του επιταχυνόμενου επανοικισμού <sup>[24,25,26]</sup>. Φέρεται να λαμβάνει χώρα κατά προσέγγιση 2 με 5 εβδομάδες μετά το ξεκίνημα της ακτινοθεραπείας και εκφράζεται ως αυξημένου ρυθμού πολλαπλασιασμός του όγκου. Εάν αυτό ισχύει είναι προφανές ότι θα πρέπει να αυξηθεί η δόση ανά συνεδρία για να αντιμετωπιστεί αυτό το φαινόμενο, και επίσης διαφαίνεται λογικό να πρέπει να μειωθεί ο συνολικός χρόνος της θεραπείας στο ελάχιστο. Αλλά αυτό μπορεί να έρθει σε αντίθεση με τον ικανό χρόνο επιδιόρθωσης των υγιών ιστών οπότε και η λύση βρίσκεται στο ενδιάμεσο καθώς συνυπολογίζεται η επίδραση όλων των παραγόντων.

Βάση των ανωτέρω, η τροποποίηση του κερματισμού έχει πλέον διαμορφωθεί στον κλασικό ή συμβατικό κερματισμό, τον υπερκερματισμό, τον υποκερματισμό, και τον επιταχυνόμενο κερματισμό.

Κλασικός κερματισμός της δόσης είναι εκείνος που περιλαμβάνει μία συνεδρία την ημέρα μεγέθους 1.8-2 Gy για πέντε μέρες την εβδομάδα.

Υπερκερματισμός θεωρείται ο κερματισμός της δόσης κατά τον οποίο χορηγούνται κλάσματα δόσης μικρότερα των 1.8-2 Gy, και είναι συνήθως της τάξης των 1.1-1.3 Gy. Η συνολική δόση είναι 10-15% μεγαλύτερη ενώ ο συνολικός χρόνος παραμένει σχεδόν ο ίδιος με αυτόν του κλασικού κερματισμού. Με τον υπερκερματισμό της δόσης ελπίζουμε σε αύξηση του θεραπευτικού δείκτη για τους παρακάτω λόγους:

- i. Οι οψίμως αντιδρώντες ιστοί εμφανίζουν μεγαλύτερη ευαισθησία στον κερματισμό της δόσης από τους όγκους. Με την αύξηση της συνολικής δόσης αναμένεται αύξηση της πιθανότητας τοπικού ελέγχου του όγκου για το ίδιο επίπεδο όψιμων παρενεργειών.

- ii. Ο μεγαλύτερος αριθμός μεσοδιαστημάτων ανάμεσα στις συνεδρίες, συντελεί στην ανακατανομή των συνεχώς διαιρούμενων κακοήθων κυττάρων σε φάσεις του κυτταρικού κύκλου που είναι πιο ακτινοευαίσθητα.
- iii. Υπάρχει περισσότερος χρόνος επανοξυγόνωσης των κακοήθων κυττάρων ανάμεσα στις συνεδρίες με την προϋπόθεση ότι το χρονικό διάστημα δεν είναι μικρότερο των 4 ωρών, ενώ φαίνεται πως είναι καλύτερα να υπερβαίνει τις 6 ώρες, για να υπάρχει χρόνος για την επιδιόρθωση των μη θανατηφόρων και δυνητικά θανατηφόρων βλαβών.

Υποκερματισμός της δόσης νοείται στην περίπτωση κατά την οποία η χορηγούμενη δόση ανά συνεδρία υπερβαίνει τα 2 Gy και άρα ο αριθμός των συνεδριών για την ίδια δόση θα μειωθεί αισθητά.

Τέλος κατά την επιταχυνόμενη ακτινοθεραπεία, χορηγούνται κλάσματα δόσης ίδια σχεδόν με την κλασικά κερματισμένη, αλλά σε 2 ή 3 συνεδρίες ημερησίως. Έτσι η συνολική δόση είναι περίπου η ίδια αλλά ο χρόνος χορήγησης είναι αισθητά μειωμένος. Η επιτάχυνση της θεραπείας χρησιμοποιείται για να αντισταθμιστεί η επιταχυνόμενη αναγέννηση των νεοπλασματικών κυττάρων με σκοπό τον καλύτερο έλεγχο της τοπικής νόσου.

Από την μέχρι τώρα εμπειρία από τις κλινικές μελέτες τροποποιημένου κερματισμού έχουν εξαχθεί τα κάτωθι συμπεράσματα <sup>[6]</sup> :

1. Επιταχυνόμενος επανοικισμός λαμβάνει χώρα ιδίως μετά την τέταρτη εβδομάδα της ακτινοθεραπείας
2. Ο επανοικισμός είναι σοβαρή αιτία τοπικής υποτροπής της νόσου ή θεραπευτικής αστοχίας.
3. Τα επιταχυνόμενα ακτινοθεραπευτικά σχήματα χωρίς μείωση της συνολικής δόσης επιτυγχάνουν αύξηση του τοπικού ελέγχου της νόσου.
4. Οι σχετικά υψηλότερες δόσεις χορηγούμενες σε διάστημα μικρότερο ή ίσο των 4 εβδομάδων δημιουργούν μη αποδεκτή νοσηρότητα.
5. Για να καθοριστεί το είδος του τροποποιημένου κερματισμού για κάθε όγκο χρειάζονται μέθοδοι μετρήσεως των βιολογικών παραμέτρων του όγκου (predictive assays) για κάθε ασθενή.
6. Με βάση τα αποτελέσματα των ανωτέρω μεθόδων πρέπει να διενεργηθούν νέες τυχαιοποιημένες μελέτες που θα καθορίσουν οριστικά το είδος του επωφελέστερου τροποποιημένου κερματισμού που θα εφαρμόζεται ξεχωριστά σε κάθε νεόπλασμα και κάθε ασθενή.

#### A.4.δ Ακτινική πνευμονίτιδα.

---

Το κλινικό σύνδρομο της ακτινικής πνευμονίτιδας αναπτύσσεται στο 5 έως 15% των ασθενών που λαμβάνουν υψηλές δόσεις ακτινοβολίας για θεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα, και εμφανίζεται και σε ένα μικρό ποσοστό σε ασθενείς που υποβάλλονται σε ακτινοθεραπεία του καρκίνου του μαστού.

Συμπτώματα οξείας ακτινικής πνευμονίτιδας συνήθως κάνουν την εμφάνισή τους 2 με 3 μήνες μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας. Σπάνια εμφανίζονται μέσα στον πρώτο μήνα και περιστασιακά 6 μήνες μετά την ακτινοβολήση. Γενικά, η πρόωμη μορφή των συμπτωμάτων υποδεικνύει μία πιο σοβαρή κλινική περίπτωση.

Πιο αναλυτικά η προσβολή των πνευμόνων από ακτινοβολία, προκαλεί αλλοιώσεις στα τοιχώματα των πνευμονικών κυψελίδων, με συσσώρευση εξιδρώματος. Η ακτινική πνευμονίτιδα εμφανίζεται υπό μορφή πνευμονικού οιδήματος που προκαλεί αναπνευστικά προβλήματα και πυρετό. Απόρροια της ακτινικής πνευμονίτιδας είναι η πνευμονική ίνωση. Ο βαθμός εκδήλωσης της ίνωσης ποικίλει ανάλογα με τη σοβαρότητα της έκθεσης.

Η ακτινική πνευμονίτις δύναται, αναλόγως της σοβαρότητας της έκθεσης, να χωριστεί σε τρεις φάσεις :

A. Φάση αλλοιώσεων, όπου παρατηρείται υπεραιμία και αυξημένο διήδρωμα, συνοδευόμενο από εκφύλιση των λεμφοθλακίων. Συνοδό φαινόμενο είναι ο βήχας με φλέγμα.

B. Εκφυλιστικό στάδιο, όπου τα κύτταρα των πνευμονικών κυψελίδων διογκώνονται και οιδηματοποιούνται.

Γ. Αναγεννητική φάση, όπου η αύξηση του συνδετικού ιστού στο πνευμονικό παρέγχυμα προκαλεί ινώδεις αλλοιώσεις. Σε περίπτωση εκτεταμένης βλάβης των πνευμόνων πιθανόν να ακολουθήσει μόνιμη εκτεταμένη ίνωση.

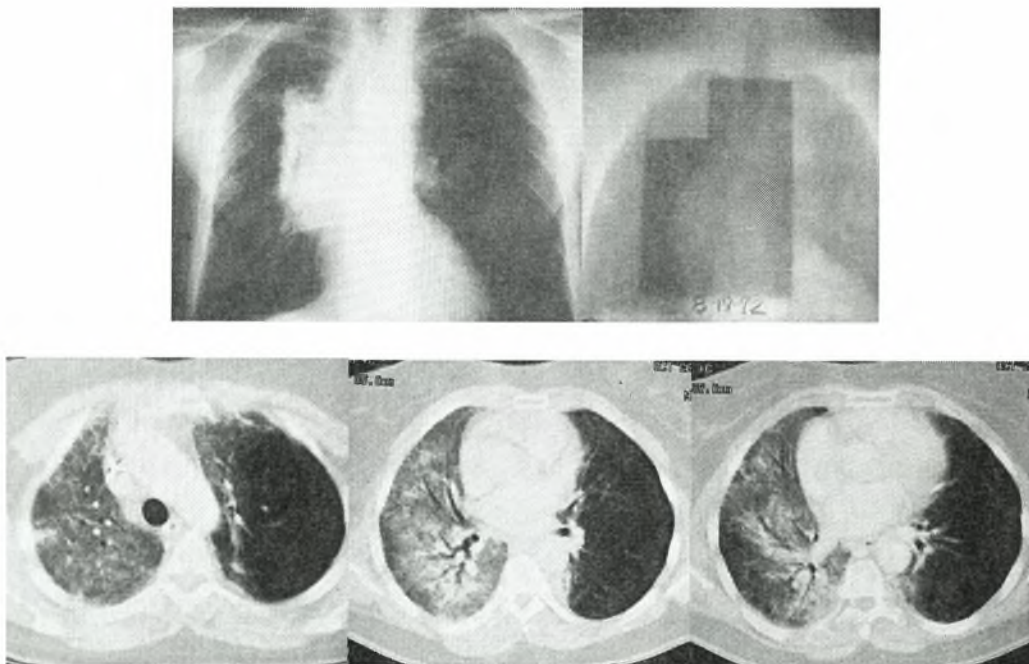
#### **Κλινικά χαρακτηριστικά:**

Το πρωτεύον σύμπτωμα της ακτινικής πνευμονίτιδας είναι η δύσπνοια. Μπορεί να είναι αυτοπεριοριζόμενη ή να εξελιχθεί σε σοβαρή πνευμονική δυσλειτουργία, εξαρτώμενη από την έκταση και την ένταση της βλάβης. Οι ασθενείς μπορεί επίσης να εμφανίσουν θωρακικό άλγος, βήχα, επιδρώσεις, ανορεξία, καταβολή δυνάμεων, καθώς και αιμόφυρτα πτύελα. Σε ποσοστό έως 10% των ασθενών παρατηρούνται αλλαγές στην ακτινογραφική εικόνα. Η συνύπαρξη χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας δεν αυξάνει τον κίνδυνο ακτινικής πνευμονίτιδας, επιβαρύνει όμως τις κλινικές επιπτώσεις της μετακτινικής πνευμονίτιδας.

Κατά την διάρκεια της φυσικής εξέτασης οι ενδείξεις της πνευμονικής επιπλοκής είναι ελάχιστες. Περιστασιακά μπορούν να διαγνωσθούν υγροί ρόγχοι, πλευρικός ήχος τριβής ή στοιχεία πλευρικού υγρού στην περιοχή που ακτινοβολήθηκε. Επίσης μπορεί να είναι παρόντες ασυνήθιστοι ήχοι και μπορεί να ανυψωθεί η μέτρηση των λευκών αιμοσφαιρίων αλλά οι καλλιέργειες των πτυέλων είναι αρνητικές εκτός αν συνυπάρχει λοίμωξη.

Μολονότι οι ασθενείς με άμεση πνευμονίτιδα μπορεί να παρουσιάσουν απόλυτη αποχώρηση των συμπτωμάτων, οι περισσότεροι αναπτύσσουν σταδιακά πνευμονική ίνωση. Σε μερικές περιπτώσεις οι ασθενείς παρουσιάζονται με ακτινική ίνωση χωρίς προηγούμενο ιστορικό άμεσης πνευμονίτιδας. Οι μόνιμες αλλαγές της ίνωσης αναπτύσσονται σε μία περίοδο 6 έως 24 μηνών, αλλά συνήθως παραμένουν σταθερές μετά από 2 χρόνια.

Η ακτινική ίνωση είναι κλινικά σημαντικότερη νόσος, η οποία κατά κανόνα συνοδεύεται από δύσπνοια. Σε προχωρημένες περιπτώσεις καταλήγει σε βαριά υποξαιμία και κυάνωση, ενώ δύναται να προκαλέσει και το θάνατο του ασθενούς εφόσον είναι εκτεταμένη.



**Σχήμα Α.4β** Ακτινολογική εμφάνιση Α.Π. στον δεξιό πνεύμονα. Άνω: περιορισμένη στα όρια του πεδίου ακτινοβολίας, Κάτω: Διαδοχικές εγκάρσιες τομές CT

## B. Ραδιοβιολογική προσέγγιση της βελτιστοποίησης της Ακτινοθεραπείας

---

Η κλινική έκβαση μιας τεχνικής ακτινοθεραπείας από την άποψη της πιθανότητας του ελέγχου του νεοπλασματος (TCP) και την πιθανότητα εμφάνισης μετακινικών αντιδράσεων των φυσιολογικών ιστών (NTCP) είναι σχεδόν πάντα συνδεδεμένη με έναν βαθμό αβεβαιότητας.

Αυτό εν μέρει οφείλεται στο ότι δύο συνεχόμενες συνεδρίες της ίδιας θεραπείας μπορεί να διαφέρουν αρκετά μεταξύ τους δεδομένου ότι από τη φύση της η βιολογική δράση της ακτινοβολίας είναι πιθανολογική σε μικροσκοπικό επίπεδο. Επιπλέον, οι μεταξύ των ασθενών διαφορές σε κυτταρικό επίπεδο είναι γενικά άγνωστες<sup>[27,28]</sup>. Για αυτούς τους λόγους, η αναμενόμενη έκβαση της θεραπείας εκφράζεται ως μια ορισμένη πιθανότητα απόκρισης στη συνολική επίδραση της ακτινοβολίας.

Συνεπώς η βελτιστοποίηση της ακτινοθεραπείας εξαρτάται αυστηρά από τη χρήση πληροφοριών που σχετίζονται με τον κάθε μεμονωμένο ασθενή. Για αυτόν τον λόγο είναι σημαντική η εισαγωγή ραδιοβιολογικών παραμέτρων που θα περιγράψουν την εξάρτηση του όγκου και την αντίδραση του φυσιολογικού ιστού στον ακτινοβοληθέντα (γεωμετρικό) όγκο, αλλά και τον κερματισμό της δόσης και τη σχέση δόσης – χρόνου.

Η εξέλιξη της τεχνολογίας τόσο στη διάγνωση (CT, SPECT) όσο και στην εφαρμογή της θεραπείας (IMRT, Tomotherapy) δίνει την δυνατότητα να μπορούν πλέον να προσεγγιστούν πιο ρεαλιστικές πληροφορίες για τη θέση και την κατανομή των ευαίσθητων λειτουργικών υπομονάδων των οργάνων στην ακτινοβολία, αλλά και ακριβέστερα δεδομένα για τις δόσεις ανοχής σε σχέση με τον ακτινοβολούμενο όγκο. Επιπλέον, ο υπολογισμός της τρισδιάστατης κατανομής της δόσης που εφαρμόζεται στον ασθενή επιτρέπει την ακριβέστερη αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας. Προκειμένου να επιτευχθεί μια στενή σχέση μεταξύ του σχεδιασμού θεραπείας και της κλινικής έκβασης χρειάζεται να χρησιμοποιηθεί αυτή ακριβώς η αφθονία πληροφοριών, μέσω της επικύρωσης των μαθηματικών μοντέλων.

Κατά συνέπεια ο απώτερος στόχος είναι η εισαγωγή ραδιοβιολογικών μοντέλων στην αξιολόγηση των πλάνων θεραπείας και ο υπολογισμός βιολογικών παραμέτρων που θα βασίζονται και σε κλινικές δοκιμές, προκειμένου να προβλέπουν τις μετακινικές επιπτώσεις και να βελτιστοποιούν το αρχικό πλάνο θεραπείας.

## B.1 Αναγκαιότητα ραδιοβιολογικής προσέγγισης στην ακτινοθεραπεία

Η φυσική κατανομή της δόσης στην ακτινοθεραπεία υπολογίζεται από το σύστημα σχεδιασμού θεραπείας. Το σύστημα αυτό λαμβάνει ως δεδομένα την ανατομία του ασθενούς από τομές αξονικού (και ενίοτε μαγνητικού) τομογράφου, και τον αριθμό και το είδος των δεσμών ακτινοβολίας (γεωμετρία δέσμης, είδος, ενέργεια κλπ). Το αποτέλεσμα των υπολογισμών είναι η τρισδιάστατη κατανομή της φυσικής δόσης στην περιοχή ενδιαφέροντος. Βάσει των διεθνών πρωτοκόλλων, η ανακρίβεια του υπολογισμού δόσης οφείλει να είναι έως 5%.

Επομένως η ακρίβεια του υπολογισμού της κατανομής της δόσης από φυσική άποψη είναι απολύτως ικανοποιητική. Ωστόσο, το να εξομοιωθεί ο ασθενής από μια ισοδύναμη ιστού προσομοίωση σε υπολογιστή, δεν είναι κλινικά πολύ ακριβές δεδομένου ότι η απόκριση των διαφόρων οργάνων στην ακτινοβολία εξαρτάται από πολλούς άλλους παράγοντες που δεν λαμβάνονται υπόψη κατά τη διάρκεια της διαδικασίας αυτής.

Επίσης στην ακτινοθεραπεία υπεισέρχονται ανακρίβειες που μπορούν επίσης να επηρεάσουν το αναμενόμενο αποτέλεσμα και είναι:

- (α) εσωτερική κίνηση των οργάνων
- (β) ακρίβεια του προσδιορισμού του όγκου στόχου και των κρίσιμων οργάνων
- (γ) ανακρίβεια τοποθέτησης του ασθενούς σε θέση θεραπείας
- (δ) μεμονωμένη βιολογική απόκριση των ιστών στην κατανομή της δόσης για κάθε ασθενή

Εδικά η βιολογική απόκριση επηρεάζεται από παράγοντες όπως: η εξάρτηση της απόκρισης των ακτινοβοληθέντων οργάνων στον όγκο ακτινοβολήσης, η εσωτερική δομική οργάνωση των λειτουργικών υπομονάδων για τους υγιείς ιστούς και της πυκνότητας των κλωνοκυττάρων για τους στόχους, των υποξικών κυττάρων και κυρίως ο κερματισμός της δόσης (fractionation).

Η αναγκαιότητα της ραδιοβιολογικής προσέγγισης προκύπτει από το ότι ο απώτερος στόχος στη βελτιστοποίηση της ακτινοθεραπείας είναι η εξατομίκευση της θεραπείας για κάθε ασθενή. Αυτό σημαίνει ότι πρέπει να συμπεριληφθούν και να συνυπολογιστούν στο σχεδιασμό της θεραπείας, όλοι οι προαναφερθέντες παράγοντες που επηρεάζουν το κλινικό αποτέλεσμα, τόσο για την πρόβλεψη των επιπλοκών όσο και για την ακριβέστερο σχεδιασμό του πλάνου θεραπείας.

## B.2 Ραδιοβιολογικά Μοντέλα

Η ιδέα που βρίσκεται πίσω από την μαθηματική ποσοτικοποίηση του αποτελέσματος της ακτινοθεραπείας (δηλ. τα ραδιοβιολογικά μοντέλα) όπως διατυπώθηκε από τους Munro και Gilbert το 1961 είναι η εξής απλή:

*«Το ζητούμενο στην ακτινοθεραπεία του καρκίνου είναι η επιτυχής βλάβη κάθε ενός δυνητικά κακοήθους κυττάρου, σε σημείο τέτοιο που να μην μπορεί να συνεχίσει να αναπαράγεται».* Από αυτήν την ιδέα και την τυχαία φύση της μετακτινικής βλάβης, εξήχθη μία μαθηματική φόρμουλα για την πιθανότητα ίασης του όγκου, όταν ο όγκος αυτός αποτελείται από  $N$  όμοια κύτταρα.

Έτσι λοιπόν χρησιμοποιούνται μαθηματικά μοντέλα, που βασίζονται κατά ένα μεγάλο μέρος στις στατιστικές Poisson και το Γραμμικό-Τετραγωνικό Μοντέλο (LQ) κυτταρικής θανάτωσης, για να ποσοτικοποιήσουν τη ραδιοβιολογική απόκριση των υγιών ιστών αλλά και των νεοπλασμάτων στην ακτινοθεραπεία. Οι ραδιοβιολογικές παράμετροι των εξεταζομένων μοντέλων κυτταρικής αντίδρασης και επιβίωσης (π.χ.  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $S$ ) πρέπει να υπολογιστούν ξεχωριστά για ορισμένους υγιείς αλλά και νεοπλασματικούς ιστούς.

Για την ακρίβεια, υπάρχουν δύο επίπεδα όπου μπορεί να προσεγγιστεί μαθηματικά η απόκριση των κλινικών δομών στην ακτινοβολία και από εκεί να προκύψουν αυτές οι παράμετροι:

- α) Μικροσκοπικά, εξετάζοντας την κυτταρική επιβίωση, και
- β) Μακροσκοπικά μελετώντας την απόκριση των οργάνων.

Η διαδικασία για την εξαγωγή αυτών των σχέσεων δόσης-απόκρισης βασίζεται σε κλινικά δεδομένα τα οποία πρέπει να είναι διαθέσιμα ξεχωριστά για κάθε μεμονωμένο ασθενή, όπως πληροφορίες του πλάνου θεραπείας αλλά και τα αποτελέσματα της ταξινόμησης και βαθμονόμησης των μετακτινικών αντιδράσεων.

Τα μοντέλα αυτά γενικά προβλέπουν μια μειούμενη πιθανότητα της επίτευξης του ελέγχου του όγκου χωρίς επιπλοκές στους υγιείς ιστούς, σε σχέση με το αυξανόμενο μέγεθος του όγκου των νεοπλασμάτων αλλά και της αύξησης της ακτινοβολούμενης περιοχής υγιούς ιστού. Βάσει αυτών εισάγεται και εφαρμόζεται σε κλινικές περιπτώσεις, μια διαδικασία βιολογικής αξιολόγησης με ζητούμενο τη βελτιστοποίηση της δόσης ακτινοβολίας που χορηγείται για κάθε κλινική περίπτωση.<sup>[30]</sup>

Κάποια από τα κοινά χαρακτηριστικά γνωρίσματα των μοντέλων που έχουν αναπτυχθεί για να περιγράψουν τη συμπεριφορά δόσης-απόκρισης των διαφορετικών υγιών ιστών και των όγκων<sup>[31]</sup> είναι τα εξής:

- Η επιβίωση των κυττάρων μετά από την ακτινοβολία είναι Διωνυμική και ακολουθεί Διωνυμική ή Poisson στατιστική
- Η αντίδραση ενός οργάνου καθορίζεται από το θάνατο ή την επιβίωση των κυττάρων-στόχων της (λειτουργικές υπομονάδες για τους υγιείς ιστούς και κλωνοκύτταρα για τους όγκους).
- Όλα τα κύτταρα – στόχοι αποκρίνονται όμοια
- Εάν μεσολαβεί επαρκής χρόνος θεωρείται ότι τα αποτελέσματα που λαμβάνονται από όμοιες κατανομές δόσης είναι όμοια μεταξύ τους.

Το ραδιοβιολογικό μοντέλο που χρησιμοποιείται προς το παρόν εκτενέστερα για την περιγραφή της κατανομής δόσης-αντίδρασης για τους νεοπλασματικούς και τους υγιείς ιστούς είναι το μοντέλο L-Q-Poisson, το οποίο λαμβάνει υπόψη και τον κερματισμό της δόσης της θεραπείας που εφαρμόζεται. Μαθηματικά εκφράζεται από την παρακάτω σχέση:

$$P(D) = \exp \left\{ -N_0 e^{-\left(D/D_{50}\right) \cdot (\gamma - \ln \ln 2)} \right\} = \exp \left\{ -e^{\gamma - \alpha nd - \beta nd^2} \right\} \quad (i)$$

όπου  $P(D)$  είναι η πιθανότητα ελέγχου του όγκου ή η πρόκληση μιας ορισμένης βλάβης σε ένα όργανο που ακτινοβολείται ομοιόμορφα με μια δόση  $D$ ,  $d$  είναι η δόση ανά συνεδρία και  $n$  ο αριθμός των συνεδριών.

$D_{50}$  είναι η δόση που δίνει μια πιθανότητα απόκρισης 50% και το  $\gamma$  είναι η μέγιστη κανονικοποιημένη τιμή της κλίσης της καμπύλης δόσης - αντίδρασης. Το  $\alpha$  και το  $\beta$  είναι οι παράμετροι του μοντέλου για τα οξέα και όψιμα αποτελέσματα<sup>[32,33,34]</sup>. Το  $D_{50}$  και το  $\gamma$  εξαρτώνται και τα δύο από, τον αρχικό αριθμό των κλωνοκυττάρων για τα νεοπλάσματα ή από τον αρχικό αριθμό λειτουργικών υπομονάδων για τους υγιείς ιστούς. Οι παράμετροι  $D_{50}$  και  $\gamma$  (ή το  $\alpha$  και  $\beta$ ) είναι συγκεκριμένοι για κάθε όργανο και συγκεκριμένα για το είδος επιπλοκής (endpoint) και μπορούν να υπολογιστούν μόνο από κλινικά δεδομένα.

Ένας πολύ σημαντικός παράγοντας στην ραδιοβιολογική προσέγγιση είναι ο τρόπος με τον οποίο περιγράφονται οι μετακινικές επιπλοκές στους υγιείς ιστούς, και βασίζεται στη λογική της αδρανοποίησης των λειτουργικών υπομονάδων τους (**Functional Sub Units**).

Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή το κάθε όργανο αποτελείται από ένα σύνολο FSUs που επιτελούν τη λειτουργία του οργάνου, και έχουν μια συγκεκριμένη δομική οργάνωση.



Η δομική οργάνωση των FSU's μπορεί να ταξινομηθεί στις τρεις ακόλουθες κατηγορίες:

1. κρίσιμου στοιχείου
2. ακέραιας απόκρισης, και
3. βαθμονομημένης απόκρισης.

Ειδικά η πρώτη κατηγορία αντιπροσωπεύει ιστούς με την λεγόμενη 'σειριακή' οργάνωση των λειτουργικών τους υπομονάδων, με την έννοια ότι εμφανίζεται επιπλοκή όταν οποιαδήποτε από τις λειτουργικές υπομονάδες αδρανοποιηθεί (τέτοιοι ιστοί είναι ο νωτιαίος μυελός και τα νεύρα).

Αντίστοιχα οι δεύτερες δυο αντιπροσωπεύουν την λεγόμενη 'παράλληλη' οργάνωση λειτουργικών υπομονάδων, με την έννοια ότι χρειάζεται ικανός αριθμός βλάβης των υπομονάδων προκειμένου να εμφανιστεί επιπλοκή.

Μια άλλη προτεινόμενη δομική οργάνωση περιγράφεται από έναν συνδυασμό της λεγόμενης 'σειριακής και παράλληλης' δομής.

Συνοψίζοντας, είναι πλέον αποδεδειγμένο ότι ο τύπος της δομικής οργάνωσης των λειτουργικών υπομονάδων ενός ιστού διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην έκφραση του κλινικού αποτελέσματος, δεδομένης της εξάρτησης του από τον ακτινοβοληθέντα όγκο.

Η θεωρία της επίδρασης του ακτινοβοληθέντος όγκου περιγράφει το πώς η δόση ανοχής αυξάνει με τη μείωση του όγκου των υγιών ιστών (για τους μη σειριακούς ιστούς). Ο υπολογισμός της πιθανότητας επιπλοκής στους υγιείς ιστούς είναι αρκετά διαφορετικός από ότι για τους νεοπλασματικούς ιστούς. Στους υγιείς ιστούς εξαρτάται απόλυτα από τον ακριβή καθορισμό της εσωτερικής δομής και οργάνωσης τους, ενώ στους νεοπλασματικούς θεωρείται ότι αυτή η οργάνωση είναι απολύτως παράλληλη αφού απαιτείται η καταστροφή όλων ανεξαιρέτως των κλωνογόνων κυττάρων.

Κατά συνέπεια, για να καθοριστεί το πώς η βλάβη στις λειτουργικές υπομονάδες οδηγεί σε επιπλοκές, είναι σημαντικό να γίνει κατανοητός ο τρόπος με τον οποίο είναι λειτουργικά δομημένα τα όργανα, είτε σε παράλληλη είτε σε σειριακή σύνδεση.

Η μαθηματική ποσοτικοποίηση του αποτελέσματος της ακτινοθεραπείας υπό τη μορφή ραδιοβιολογικών μοντέλων εκτίμησης της πιθανότητας του αποτελέσματος αυτού, διαχωρίζεται σε δύο κατηγορίες.

**α)** Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν τα μοντέλα που αναφέρονται σε υγιείς ιστούς, με ζητούμενο τον υπολογισμό της πιθανότητας επιπλοκής των υγιών ιστών (Normal Tissue Complication Probability), ενώ

**β)** στη δεύτερη κατηγορία ανήκουν τα μοντέλα που αναφέρονται σε καρκινικούς ιστούς, οπότε το ζητούμενο είναι ο υπολογισμός της πιθανότητας ελέγχου του όγκου (Tissue Control Probability).

## B.2.α NTCP Μοντέλα

Ανάλογα με το επίπεδο της μαθηματικής τους προσέγγισης, αυτά τα ραδιοβιολογικά μοντέλα χωρίζονται σε δύο κατηγορίες.

- (i) Τα μοντέλα που βασίζονται στη μικροσκοπική απόκριση, δηλαδή στις λειτουργίες επιβίωσης των κυττάρων και είναι:
  - α) το Μοντέλο Σχετικής Σειριακότητας (Relative Seriality Model),
  - β) το Μοντέλο Κρίσιμου Στοιχείου (critical element model) και
  - γ) το Μοντέλο Κρίσιμου Όγκου (critical volume model),
- (ii) τα μοντέλα που είναι βασισμένα στη μακροσκοπική απόκριση των οργάνων (ονομάζονται και φαινομενολογικά μοντέλα), και είναι:
  - δ) το μοντέλο Lyman, Kutcher και Burman (LKB model) και
  - ε) το μοντέλο Παράλληλότητας (Parallel model).

### α) Μοντέλο Σχετικής Σειριακότητας (Relative Seriality Model)

Το μοντέλο αυτό είναι μία ενδιάμεση μαθηματική προσέγγιση μεταξύ των 'εμπειρικών' ή 'φαινομενολογικών' όπως αποκαλούνται μοντέλων, και της πιο 'βιοφυσικής' προσέγγισης, με την έννοια ότι περιλαμβάνει μια επιπλέον παράμετρο (την σειριακότητα  $s$ ) για να περιγράψει την λειτουργική συμπεριφορά ενός ιστού.

Επομένως η επίδραση του ακτινοβοληθέντος (γεωμετρικού) όγκου αντιμετωπίζεται από έναν συνδυασμό της σειριακής και παράλληλης διάταξης των FSUs.

Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία τα όργανα με σειριακή διάταξη των FSU's έχουν μικρή εξάρτηση ακτινοβολούμενου όγκου, δεδομένου ότι κάθε υπομονάδα είναι ζωτικής σημασίας για τη λειτουργία του οργάνου.

Για τα όργανα με παράλληλη διάταξη αναμένεται μια ισχυρή εξάρτηση ακτινοβολούμενου όγκου δεδομένου ότι το όργανο μπορεί να διατηρήσει το μεγαλύτερο μέρος της λειτουργίας του ακόμα και όταν βλάπτεται μια μεγάλη μερίδα των υπομονάδων του.

Μία τιμή για την παράμετρο της σειριακότητας κοντά στο μηδέν ( $s \approx 0$ ) αντιστοιχεί σε ένα παράλληλο όργανο όπως τον πνεύμονα ή το ήπαρ, ενώ ( $s \approx 1$ ) αντιστοιχεί σε ένα πολύ σειριακό όργανο με ελάχιστη εξάρτηση όγκου όπως ο οισοφάγος και ο νωτιαίος μυελός.

Έτσι η πιθανότητα επιπλοκής του φυσιολογικού ιστού  $P_1$  για ομοιογενή κατανομή της δόσης <sup>[33,34,35,36,37,38,39]</sup> εκφράζεται ως:

$$P_1(D, V) = \left[ 1 - \left( 1 - P_1(D, V_{\text{ref}})^s \right)^{V/V_{\text{ref}}} \right]^{1/s} \quad (\text{ii})$$

Ενώ για ανομοιογενή κατανομή της δόσης η απόκριση των φυσιολογικών ιστών δίνεται από:

$$P_1(\bar{D}, \bar{V}) = \left[ 1 - \prod_{i=1}^M (1 - P(D_i, V_{ref})^s)^{\Delta v_i} \right]^{1/s} \quad (iii)$$

όπου  $\Delta v_i$  ( $= \Delta V_i / V_{ref}$ ) είναι ένα κλάσμα του ακτινοβολημένου όγκου ενός οργάνου, έναντι του όγκου αναφοράς  $V_{ref}$ , για τον οποίο οι τιμές  $D_{50}$  και  $\gamma$  έχουν υπολογιστεί. Το  $s$  είναι η παράμετρος της σειριακότητας που χαρακτηρίζει την εσωτερική οργάνωση του οργάνου.

$P(D_i, V_{ref})$  είναι η πιθανότητα της απόκρισης στην ακτινοβολία που παρουσιάζει ένα όργανο με όγκο αναφοράς  $V_{ref}$  και δόση  $D_i$  όπως περιγράφεται από την πρώτη εξίσωση (i), ενώ το  $M$  είναι ο συνολικός αριθμός των ογκοστοιχείων (voxels) στο όργανο.

Συνήθως, ολόκληρος ο όγκος του υγιούς οργάνου θεωρείται ως όγκος αναφοράς και αυτό επειδή το σύνολο του οργάνου συσχετίζεται με τις λειτουργικές ανάγκες του σώματος.

Κάθε όργανο στο σώμα ενός ασθενούς διαιρείται σε κάποιο αριθμό ογκοστοιχείων, κάθε ένα από τα οποία έχει έναν ορισμένο όγκο  $\Delta v_i$ . Στη διαδικασία του σχεδιασμού θεραπείας, αποδίδεται σε κάθε ογκοστοιχείο (voxel) μια ορισμένη τιμή δόσης  $D_i$  και η πιθανότητα απόκρισης υπολογίζεται από την εξίσωση (i). Στην συνέχεια ορίζεται μια ορισμένη σχετική τιμή της παραμέτρου  $s$  για κάθε όργανο ανάλογα με το εξεταζόμενο κλινικό αποτέλεσμα (π.χ. ακτινική πνευμονίτιδα) και η απόκριση ολόκληρου του οργάνου δίνεται από τις εξισώσεις (ii) ή (iii) όπου όλα τα ογκοστοιχεία λαμβάνονται υπόψη.

### β) Μοντέλο κρίσιμου στοιχείου (critical element model) <sup>[41,42]</sup>

Θέτοντας τη παράμετρο της σειριακότητας  $s = 1$ , το προηγούμενο μοντέλο λαμβάνει μια απλουστευμένη μορφή, η οποία καλείται μοντέλο κρίσιμου όγκου.

Η θεώρηση αυτή γίνεται βάσει των εξής υποθέσεων:

- κάθε λειτουργική υπομονάδα ενός οργάνου θεωρείται όμοια
- οι αποκρίσεις των διαφορετικών υπομονάδων δεν συσχετίζονται, και
- κάθε υπομονάδα ενός οργάνου είναι κρίσιμη, με την έννοια ότι προκαλείται επιπλοκή όταν βλάπτεται τουλάχιστον μία εξ αυτών.

Οπότε η έκφραση για την πιθανότητα επιπλοκής του φυσιολογικού ιστού που προκύπτει είναι η ακόλουθη:

$$P_1(D, V) = 1 - (1 - P_1(D, V_{\text{ref}}))^{V/V_{\text{ref}}} \quad (\text{iv})$$

Αντίστοιχα η πιθανότητα  $P_1(D, V_{\text{ref}})$  υπολογίζεται από την εξίσωση (i).

Υποθέτοντας ότι το όργανο αποτελείται από  $N$  FSU's και ότι η πιθανότητα τραυματισμού του κάθε FSU είναι ίση με  $P_1$ , τότε αυτή η πιθανότητα είναι μόνο μια συνάρτηση της δόσης που αποδίδεται στο  $i^{\text{th}}$  FSU. Λαμβάνοντας υπόψη την συνολική πιθανότητα επιπλοκής του οργάνου, το μοντέλο αυτό μετατρέπεται σε:

$$P_1(\bar{D}, \bar{V}) = 1 - \prod_i (1 - P_1(D_i, 1))^{V_i/V_{\text{ref}}} \quad (\text{v})$$

Όπου  $V_i/V_{\text{ref}}$  είναι ο κλασματικός ακτινοβολημένος όγκος του οργάνου, και  $P_1(D_i, 1)$  είναι η μακροσκοπική πιθανότητα της ζημίας του οργάνου μετά από ακτινοβόληση ολόκληρου του όγκου με δόση  $D_i$ .

#### γ) Μοντέλο κρίσιμου όγκου (critical volume model)<sup>[43,44,45,46]</sup>

Το μοντέλο αυτό που προτάθηκε για πρώτη φορά από τους Niemierko *et al.* στηρίζεται στην εξής υπόθεση: η πιθανότητα να βλαφθούν ανεπανόρθωτα περισσότερες από  $M$  λειτουργικές υπομονάδες ενός οργάνου βασίζεται σε διωνυμική στατιστική, που είναι γνωστή και ως συσσωρευτική δυνωμική πιθανότητα:

$$P = \sum_{t=M+1}^N P_t = \sum_{t=M+1}^N \binom{N}{t} P_{\text{FSU}}^t (1 - P_{\text{FSU}})^{N-t} \quad (\text{vi})$$

όπου το  $N$  είναι ο συνολικός αριθμός των FSU's στο όργανο και το  $M$  είναι ο ελάχιστος αριθμός FSU's που εάν απλειφθεί μπορεί να επιφέρει λειτουργική αποτυχία του οργάνου. Το  $P_{\text{FSU}}$  θα πρέπει να αντικατασταθεί από την αποτελεσματική πιθανότητα επιπλοκής για ένα και μόνο που είναι FSU:

$$P_{\text{FSU}}^{\text{eff}} = \frac{1}{N_p} \sum_{i=1}^{N_p} P_{\text{FSU}}^i(D_i) \quad (\text{vii})$$

Λόγω της δυσκολίας υπολογισμού της συσσωρευτικής διωνυμικής κατανομής μια ικανοποιητική προσέγγιση κατάλληλη για τους αριθμητικούς υπολογισμούς που χρησιμοποιείται συχνά, είναι:

$$P = \sum_{t=M+1}^N \binom{N}{t} P_{\text{FSU}}^t (1 - P_{\text{FSU}})^{N-t} \approx \frac{1}{\sigma_{\text{FSU}} \sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^M \exp\left(-\frac{(x - NP_{\text{FSU}})^2}{2\sigma_{\text{FSU}}^2}\right) dx \quad (\text{viii})$$

Όπου:  $\sigma_{\text{FSU}} = \sqrt{NP_{\text{FSU}}(1 - P_{\text{FSU}})}$

Μια τέτοια προσέγγιση είναι ακριβέστερη για μεγάλες  $NP_{\text{FSU}}(1 - P_{\text{FSU}})$  τιμές.

**δ) Το μοντέλο Lyman & Kutcher (LKB)** <sup>[36,46,47,48, 49,50]</sup>.

Το LKB μοντέλο είναι ένα από τα ευρέως χρησιμοποιούμενα μοντέλα στον υπολογισμό της πιθανότητας επιπλοκής του φυσιολογικού ιστού, και προτάθηκε αρχικά από τον Lyman το 1985. Στηρίζεται στην αρχική υπόθεση ότι η ανοχή ενός ιστού στην ομοιογενή δόση ακτινοβολίας μπορεί να εκφραστεί από μία εκθετική σχέση, στην οποία υπάρχει μία παράμετρος  $n$  (ογκομετρικός εκθέτης) που περιγράφει την εξάρτηση του αποτελέσματος από τον ακτινοβολούμενο όγκο. Όταν  $n \rightarrow 1$ , η εξάρτηση αυτή θεωρείται μεγάλη (πνεύμονας) ενώ όταν  $n \rightarrow 0$  η εξάρτηση θεωρείται μικρή (νωτιαίος μυελός).

Κατά συνέπεια αυτό το μοντέλο περιέχει τέσσερις παραμέτρους που χρήζουν υπολογισμού:  $V_{\text{ref}}$ ,  $D_{50}$ ,  $n$  and  $m$ , και είναι βασισμένο στη συνάρτηση του λάθους (error function ή probit) για την πιθανότητα επιπλοκής που έχει ως εξής:

$$P_1 = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^t \exp(-t^2/2) dt \quad (\text{ix})$$

όπου το ανώτερο όριο της πιθανότητας στη συνάρτηση καθορίζεται ως εξής:

$$t(D, V) = \frac{D - D_{50}(V/V_{\text{ref}})}{mD_{50}(V/V_{\text{ref}})} \quad (\text{x})$$

με

$$D_{50}(V/V_{\text{ref}}) = D_{50}(1)(V/V_{\text{ref}})^{-n} \quad (\text{xi})$$

Το  $V_{\text{ref}}$  καθορίζεται ως ο όγκος αναφοράς για δόση  $D_{50}$  ενώ το  $V/V_{\text{ref}}$ , το τμήμα του οργάνου που ακτινοβολείται σε σχέση με αυτόν τον όγκο αναφοράς.

$D_{50}(1)$  θεωρείται η δόση 'ανοχής' για επιπλοκές της τάξης του 50% για ομοιογενή ακτινοβόληση ολόκληρου του οργάνου, και  $D_{50}(V/V_{ref})$  είναι αντίστοιχα το 50% της δόσης 'ανοχής' για ομοιογενή ακτινοβόληση μέρους του οργάνου με όγκο  $V/V_{ref}$ .

Η εξάρτηση της πιθανότητας επιπλοκής από τον ακτινοβολούμενο όγκο καθορίζεται από την παράμετρο  $n$ , η οποία αντιπροσωπεύει την ευαισθησία του  $P_1$  στον ακτινοβολημένο όγκο. Η κλίση της καμπύλης πιθανότητας δόσης-επιπλοκής καθορίζεται από την τιμή της παραμέτρου  $m$ . Η παράμετρος της κλίσης  $m$  είναι αντιστρόφως ανάλογη προς την παράμετρο  $\gamma$  που παρουσιάζεται ανωτέρω μέσω της σχέσης  $\gamma = \pi/8m$ .

Ένας περιορισμός που υφίσταται το LKB μοντέλο λόγω της προϋπόθεσης ομοιογενούς κατανομής της δόσης, είναι ότι για να εφαρμοστεί στα κλινικά δεδομένα πρέπει να αντικατασταθεί η ανομοιογενής κατανομή δόσης από την αντίστοιχη ισοδύναμη ομοιόμορφη κατανομή.

Αναλυτική περιγραφή του τρόπου με τον οποίο πραγματοποιείται η προσαρμογή αυτή παρατίθεται στο ειδικό μέρος.

#### ε) Το μοντέλο παραλληλότητας (parallel model) <sup>[50,51]</sup>.

Η πιθανότητα  $P_i$  είναι εδώ μια συνάρτηση του αυξανόμενου αριθμού των FSUs που αδρανοποιούνται από την ακτινοβολία. Η πιθανότητα ότι μια δόση  $D$  αδρανοποιεί μία λειτουργική υπομονάδα δίνεται από την λογιστική (logit) κατανομή ως:

$$p(D) = \frac{1}{1 + (D_{50}/D)^k} \quad (\text{xii})$$

Η ανωτέρω σχέση  $p(D)$  είναι μια σιγμοειδής συνάρτηση δόσης-απόκρισης που περιγράφει την πιθανότητα της βλάβης μιας υπομονάδας, αλλά με την προϋπόθεση μιας δεδομένης βιολογικά ισοδύναμης δόσης. Σε αυτή την υπόθεση δεν έχει γίνει καμία σύνδεση της πιθανότητας με οποιοδήποτε μηχανισμό που να συνδέει το αποτέλεσμα με την ακτινοβολία ή με τον προσδιορισμό των σχετικών υπομονάδων. Έχει ληφθεί μόνο υπόψιν ότι η βιολογικά ισοδύναμη δόση μπορεί να υπολογιστεί από έναν γραμμικό-τετραγωνικό τύπο (L-Q). Έτσι ουσιαστικά περιγράφεται η απόκριση των υπομονάδων μόνο φαινομενολογικά, χρησιμοποιώντας την λογιστική συνάρτηση της δόσης. Η παραμετροποίηση έχει γίνει από την άποψη της δόσης  $D_{50}$ , δηλαδή της δόσης στην οποία το 50% των υπομονάδων έχει υποστεί βλάβη, και της κλίσης  $k$  που καθορίζει το ποσοστό στο οποίο η πιθανότητα της βλάβης μια υπομονάδας αυξάνεται με τη δόση (η  $k$  είναι υποτετραπλάσια του  $\gamma$ ,  $k = 4\gamma$ ).

Για ένα δεδομένο ιστόγραμμα δόσης όγκου (DVH) το κλάσμα των αδρανοποιημένων FSU's υπολογίζεται επί του αθροίσματος των επιμέρους δόσεων:

$$f = \sum_i v_i \cdot p(D_i) \quad (\text{xiii})$$

όπου  $D_i$  and  $v_i$  είναι οι μέσες τιμές δόσεων και όγκου στο ιστόγραμμα και το  $f$  καλείται κλασματική βλάβη.

Προκειμένου να μπορεί να εφαρμοστεί το μοντέλο της παραλληλότητας σε κλινικά δεδομένα, απαιτούνται εκφράσεις τόσο για την πιθανότητα  $p(D)$  όσο και για τη στατιστική κατανομή των λειτουργικών αποθεμάτων αναφορικά με ασθενείς. Η πιθανότητα επιπλοκής των υγιών ιστών γενικά για ένα DVH υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$P_1 = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \int_0^f \exp\left[-\frac{(v-v_{50})^2}{2\sigma^2}\right] dv \quad (\text{xiv})$$

## B.2.β Μοντέλα TCP

Σε αντίθεση με τους φυσιολογικούς ιστούς, ένας καρκινικός ιστός υποτίθεται ότι διαθέτει απολύτως παράλληλη δομική οργάνωση δεδομένου ότι απαιτείται η καταστροφή όλων των κλωνογόνων κυττάρων του.<sup>[30]</sup> Συνεπώς, η πιθανότητα ελέγχου του όγκου μπορεί να περιγραφεί από τη σχέση:

$$P(\bar{D}, \bar{V}) = \prod_{i=1}^M P(D_i)^{\Delta v_i} \quad (\text{xv})$$

Η έννοια του όγκου αναφοράς αντιμετωπίζεται διαφορετικά για τους φυσιολογικούς ιστούς απ' ότι για τους όγκους. Στην περίπτωση των όγκων, ο όγκος αναφοράς συσχετίζεται με τα χαρακτηριστικά της κλινικής πληροφορίας από την οποία προέρχονται οι παράμετροι  $D_{50}$  και  $\gamma$ <sup>[40]</sup> και άρα καθορίζεται κατά περίπτωση.

Οι περισσότεροι όγκοι διαθέτουν μεγάλο αριθμό βιώσιμων υποξικών κυττάρων, τα οποία είναι αποδεδειγμένα ανθεκτικότερα στην ακτινοβολία σε σχέση τα καλά-οξυγονωμένα κύτταρα<sup>[53,54]</sup>. Σε ανθρώπινους όγκους έχει επιχειρηθεί η μέτρηση του υποξικού κυτταρικού ποσοστού, απευθείας με μικροηλεκτρόδια, ή έμμεσα με τη μέθοδο της αγγείωσης με ραδιενεργούς ή φθορίζοντες δείκτες. Το ποσοστό αυτό κυμαίνεται μεταξύ του 1% και 50%. Μεγάλη περιεκτικότητα υποξικών κυττάρων μπορεί να οδηγήσει σε ετερογενή κατανομή της ακτινοευαισθησίας ή ακτινοαντοχής αντίστοιχα, σε κυτταρικό

επίπεδο και συνεπώς στην ετερογενή απόκριση της θεραπείας. Δεδομένου ότι δεν είναι γενικά δυνατό να ανιχνευθούν και να αντιμετωπιστούν μεμονωμένα κύτταρα με την ακτινοθεραπεία, το ζητούμενο είναι η εισαγωγή των τοπικών μέσων τιμών του αριθμού των κλωνογενετικών κυττάρων και της ακτινοευαισθησίας τους, στο σύστημα σχεδιασμού θεραπείας. Προκειμένου να ληφθούν υπόψη η χωρική ετερογένεια της δόσης, η ετερογένεια της πυκνότητας και η διαφοροποίηση της ακτινοευαισθησίας μεταξύ των κυττάρων, η προσέγγιση Poisson για την πιθανότητα ελέγχου του όγκου πρέπει να γενικευτεί. Για μια ομοιόμορφη δόση  $D_i$  στο ογκοστοιχείο  $i$  η πιθανότητα του ελέγχου του όγκου (ή άλλως της ευεργετικής θεραπείας)  $P_B$  σε έναν ετερογενή όγκο με  $K$  ογκοστοιχεία διανεμημένα στο χώρο μπορεί να προσεγγιστεί από την ακόλουθη σχέση:

$$P_B = e^{-N} = \exp\left\{-\sum_{i=1}^k N_{0,\text{eff},i} e^{-D_i/D_{0,\text{eff},i}}\right\} \quad (\text{xvi})$$

Ο επανοικισμός των κλωνογενετικών κυττάρων λαμβάνεται υπόψη στο γραμμικό τετραγωνικό μοντέλο LQ που συνυπολογίζει και τον χρόνο του επανοικισμού. Ο συνυπολογισμός της επίδρασης των παραχθέντων κυττάρων κατά τη διάρκεια της θεραπείας τροποποιεί την πιθανότητα ελέγχου του όγκου σε χρόνο  $t$  με τον ακόλουθο τρόπο:

$$P_B = \exp\left(-e^{e\gamma - \alpha nd - \beta nd^2 + \ln 2(t - T_k)/T_{\text{pot}}}\right) \quad (\text{xvii})$$

όπου  $T_{\text{pot}}$  είναι ο πιθανός χρόνος διπλασιασμού των κυττάρων και  $T_k$  είναι η χρονική καθυστέρηση πριν την ανίχνευση σημαντικού επανοικισμού. Όπως έχει ήδη επισημανθεί όμως <sup>[55]</sup>, αυτό το μοντέλο χάνει την ακρίβεια του επειδή παρεκκλίνει από την καθαρή κατανομή Poisson στην οποία και βασίζεται. Αυτό μπορεί να γίνει εύκολα κατανοητό εάν η εξίσωση (xvii) γραφεί ως  $P_B = e^{-kN}$  όπου  $N = e^{e\gamma - \alpha nd - \beta nd^2}$  και  $k = e^{\ln 2(t - T_k)/T_{\text{pot}}}$ . Εάν ο αριθμός των επιζώντων κυττάρων  $N$  υποτίθεται ότι ακολουθεί Poisson κατανομή με μέσο όρο  $\bar{N}$  η διακύμανση θα είναι επίσης  $\bar{N}$  που οφείλεται στις ιδιότητες της κατανομής Poisson. Αλλά ο μέσος όρος του  $kN$  είναι  $k\bar{N}$  και άρα η διακύμανση του είναι  $k^2\bar{N}$  και έτσι το  $kN$  δεν μπορεί να ακολουθεί κατανομή Poisson! Οι καμπύλες δόσης-απόκρισης που υπολογίζονται βάση αυτού του προτύπου περιγράφουν την απόκριση μεμονωμένων όγκων με ιδιαίτερα απότομες κλίσεις. Γενικά, οι καμπύλες δόσης-απόκρισης για έναν συνολικό πληθυσμό όγκων είναι λιγότερο απότομες, πιθανώς λόγω της ετερογένειας των μεταξύ των όγκων παραμέτρων, οι οποίες καθορίζουν την έκβαση της θεραπείας.



### B.3 Εξαγωγή σχέσεων δόσης-απόκρισης από κλινικά δεδομένα.

Η κλινική εφαρμογή των διαφορετικών ραδιοβιολογικών μοντέλων αποδεδειγμένα περιορίζεται από την δυσκολία ακριβούς περιγραφής των ακτινοθεραπευτικών βιολογικών μηχανισμών, αλλά επίσης από την ακρίβεια της γνώσης των ραδιοβιολογικών παραμέτρων του κάθε μοντέλου. Ο σωστός τρόπος εκτίμησης αυτών των παραμέτρων είναι με χρήση κλινικών πληροφοριών και παράλληλα με πλήρη καταγραφή και παρακολούθηση της θεραπείας<sup>[56,57]</sup>. Στόχος εξαιρετικά δύσκολος αφού εξαρτάται από πολλούς παράγοντες που δεν είναι καθορισμένοι και διαφοροποιούνται σημαντικά μεταξύ των διαφορετικών ακτινοθεραπευτικών κέντρων.

Η μορφή της σχέσης δόσης-απόκρισης υποδεικνύει μία σύνδεση μεταξύ της απορροφώμενης από τον ιστό δόσης και της απόκρισης ενός συγκεκριμένου κλινικού αποτελέσματος (clinical outcome)<sup>[58,59,60,61]</sup>. Οι πληροφορίες που αφορούν την ακτινοθεραπεία και το κλινικό αποτέλεσμα εξάγονται τόσο για μεμονωμένους ασθενείς όσο και για ολόκληρες ομάδες ασθενών. Η δεύτερη περίπτωση αποτελεί κατά κύριο λόγο την κλινική πρακτική όπου τα δεδομένα (δόσεις και αποτελέσματα παρακολούθησης της θεραπείας) περιγράφονται με χρήση μέσων τιμών για συγκεκριμένες ομοιόμορφες ομάδες ασθενών.

Συνήθως χρησιμοποιείται μία μέση τιμή δόσης η ένα ιστόγραμμα δόσης όγκου (DVH) υπολογισμένο για μία ομάδα ασθενών ως δόση αναφοράς, όταν τα αποτελέσματα παρακολούθησης της θεραπείας εκφράζονται ως ρυθμός εμφάνισης. (δηλ. αριθμός γεγονότων δια τον συνολικό αριθμό ασθενών). Αυτή είναι η πληροφορία που χρησιμοποιείται σήμερα στην κλινική πρακτική, όπου μεμονωμένες δόσεις μέσα στον ιστό (δόση αναφοράς) σχετίζονται με έναν συγκεκριμένο ρυθμό εμφάνισης αποτελέσματος. (π.χ. ακτινική πνευμονίτιδα)

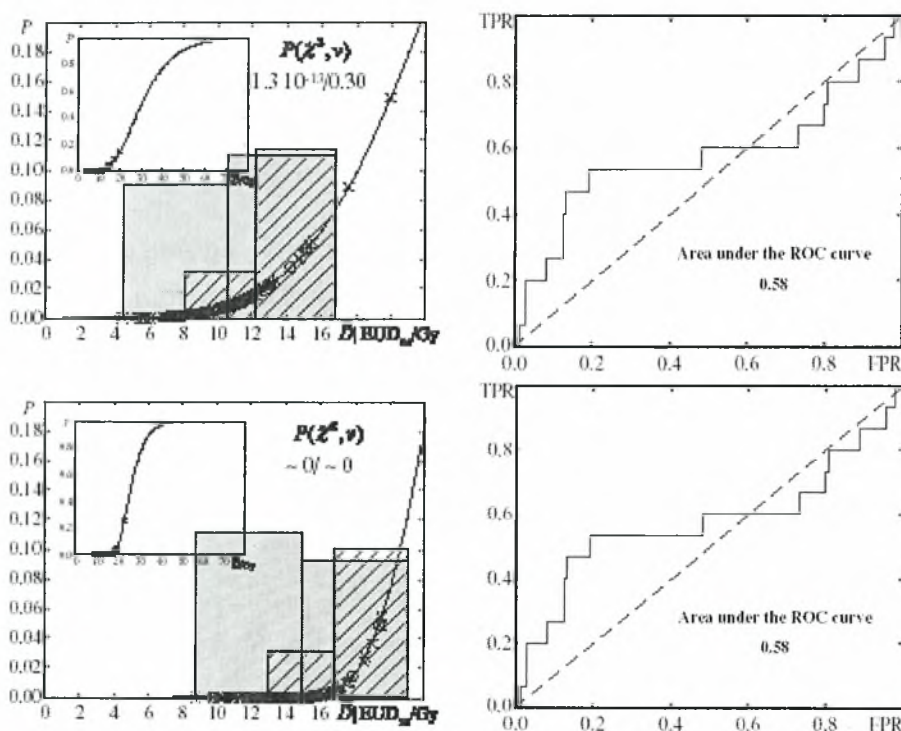
Σε μία τέτοια ανάλυση η χρήση της κατανομής της δόσης σε μεμονωμένο ασθενή και το αποτέλεσμα της θεραπείας επιτρέπουν ενδεχομένως την διαφοροποίηση της ακτινοευαισθησίας μεταξύ διαφορετικών ασθενών, αλλά και την αναγνώριση του φαινομένου του ακτινοβοληθέντως όγκου για συγκεκριμένα κλινικά αποτελέσματα.

Η εξομοίωση της επιπλοκής των υγιών ιστών και του ελέγχου όγκων απαιτεί αξιόπιστα στοιχεία από κατάλληλα σχεδιασμένες μελέτες συγκεκριμένων κλινικών περιπτώσεων. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με μελέτες που βασίζονται στην αναδρομική συλλογή στοιχείων, η οποία όμως μπορεί να υποβαθμιστεί από πιθανές μεθοδολογικές ανακρίβειες. Η ακριβής αξιολόγηση της έκβασης της θεραπείας και επεξεργασίας της ακτινοβολίας είναι κρίσιμα σημεία όσον αφορά τον προσδιορισμό και τη διαμόρφωση του ελέγχου του όγκου και πιθανότητας επιπλοκής υγιών ιστών.

Αν και ένας ικανός αριθμός ραδιοβιολογικών μοντέλων έχει ήδη αναπτυχθεί για να περιγράψει τις σχέσεις δόσης-αντίδρασης για διαφορετικούς όγκους και υγιείς ιστούς, η ακρίβεια των δοσιμετρικών δεδομένων (δόση) και πληροφοριών παρακολούθησης (έκβασης) της θεραπείας δεν έχει αξιολογηθεί συστηματικά. Γενικά, υπάρχει μια έλλειψη συστηματικής θεώρησης σχετικών με την θεραπεία δεδομένων που χρησιμοποιούνται από τα διαφορετικά μοντέλα.

Στη βιβλιογραφία, πολλές μελέτες καθορίζουν σχέσεις δόσης-απόκρισης και δόσεις ανοχής για διαφορετικούς ιστούς και κλινικά αποτελέσματα. Εντούτοις, πολλές από αυτές είναι βασισμένες σε διδιάστατα πλάνα θεραπείας και κατά προσέγγιση καθορισμού του κλινικού αποτελέσματος αλλά και έκβασης της θεραπείας.

Συμπερασματικά ο ποσοτικός προσδιορισμός των σχέσεων δόσης-αντίδρασης από το κλινικό υλικό εξαρτάται αμιγώς από την ακρίβεια των στοιχείων που χρησιμοποιούνται αναλόγως της κλινικής περίπτωσης<sup>[62]</sup>.



**Σχήμα B.3 Καμπύλες δόσης-απόκρισης για φυσιολογικούς ιστούς, και πιθανότητες επιπλοκών με τα αντίστοιχα κλινικά αποτελέσματα.**

Συνεπώς η ανάπτυξη των μοντέλων που βασίζονται σε αυτά τα στοιχεία πρέπει να θεωρηθεί ότι είναι προσεγγιστική, ενώ απαιτείται και επαλήθευση των υπολογιζόμενων αποτελεσμάτων τόσο από την άποψη του μαθηματικού φορμαλισμού των μοντέλων όσο και των υπολογισμένων τιμών των πρότυπων βιολογικών παραμέτρων.

Ακόμα και όταν η ακρίβεια των διαθέσιμων κλινικών αποτελεσμάτων παρακολούθησης της θεραπείας είναι ικανοποιητική, η ραδιοβιολογική προσέγγιση της αποτελεί πρόκληση. Αυτό ισχύει επειδή οι διαθέσιμες πληροφορίες συνήθως καλύπτουν μόνο ένα περιορισμένο μέρος της καμπύλης δόσης-αντίδρασης (βλ. σχήμα Β.3) δεδομένου ότι τα κλινικά στοιχεία προέρχονται από ακτινοθεραπείες, οι οποίες στοχεύουν στην επίτευξη του ελέγχου του όγκου με ελάχιστες επιπλοκές φυσιολογικού ιστού. Αυτό σημαίνει ότι το μέρος της σχέσης δόσης-απόκρισης έξω από την περιοχή των κλινικών στοιχείων (θεραπευτικό εύρος) είναι βασισμένο στη μορφή του συγκεκριμένου μαθηματικού μοντέλου, του οποίου η επαλήθευση δεν είναι εφικτή σε εκείνη την ιδιαίτερη περιοχή. Αυτός ο περιορισμός μπορεί να αποδειχθεί πολύ σημαντικός εάν αυτά τα δεδομένα πρόκειται να εφαρμοστούν σε άλλες κλασικές ή σύγχρονες τεχνικές ακτινοθεραπείας, π.χ. διαμορφωμένης εντάσεως, οι οποίες μπορούν να καλύψουν μια άλλη σειρά δόσεων από αυτή που καλύπτεται από τα κλινικά δεδομένα.

Για τον προσδιορισμό των εκάστοτε ραδιοβιολογικών παραμέτρων χρησιμοποιούνται ως δεδομένα, τα δοσιμετρικά στοιχεία (DVH ή ογκομετρική κατανομή δόσης) και η κλινική έκβαση (κλινική επίπτωση ή μεμονωμένα αποτελέσματα) για κάθε ασθενή. Η κατανομή της δόσης στην περιοχή ενδιαφέροντος δεν αποτελεί ικανό στοιχείο για περιγραφή των αποτελεσμάτων ακτινοβολίας. Το ραδιοβιολογικό μοντέλο πρέπει επίσης να συμπεριλάβει την επιρροή του εφαρμοζόμενου προγράμματος τμηματοποιημένου κερματισμού της δόσης και τον τύπο απόκρισης του ιστού στην ακτινοβολία (όψιμο η οξύ).

Αυτές οι πληροφορίες μπορούν να ληφθούν υπόψη με τη εφαρμογή της Βιολογικά Ισοδύναμης Ομοιόμορφης Δόσης (BEUD), η οποία λαμβάνει υπόψη τις σχέσεις ίδιου αποτελέσματος στην ακτινοθεραπεία.

Η τελική έκβαση του μοντέλου είναι ο προσδιορισμός των πρότυπων παραμέτρων (π.χ.  $D_{50}$ ,  $\gamma$  και  $s$ ) για ένα συγκεκριμένο ιστό και κλινικό αποτέλεσμα. Αυτές οι παράμετροι καθορίζουν τη μορφή της αντίστοιχης σχέσης δόσης-αντίδρασης που επιτρέπει την συσχέτιση μιας ορισμένης κατανομής δόσεων με την πιθανότητα επιπλοκής του ιστού ή ελέγχου του όγκου.

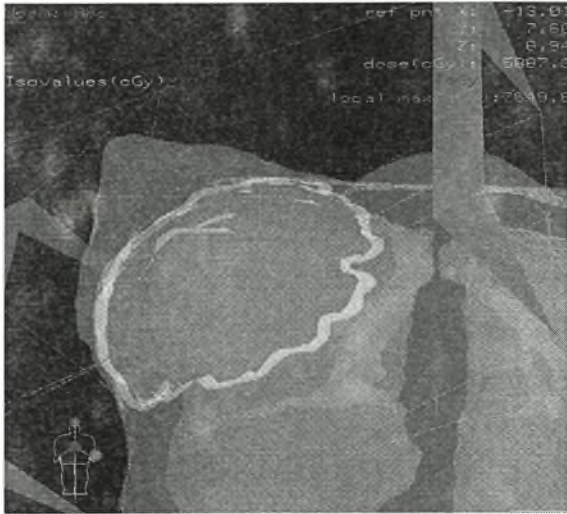
Στο σχήμα Β.3.β συνοψίζεται και αναπαριστάται σχηματικά η όλη διαδικασία της ραδιοβιολογικής προσέγγισης της ακτινοθεραπείας. Αρχικά πραγματοποιείται ο υπολογισμός της τρισδιάστατης κατανομής της δόσης και υπολογίζονται τα αντίστοιχα ιστογράμματα δόσης – όγκου (DVH) για κάθε ασθενή βάσει του πλάνου θεραπείας στο σύστημα σχεδιασμού θεραπείας.

Στη συνέχεια πραγματοποιείται η μαθηματική ανακατανομή της δόσης στα ογκοστοιχεία και ο αντίστοιχος καθορισμός των λειτουργικών υπομονάδων (FSU's) του οργάνου ενδιαφέροντος. Επίσης εάν πρόκειται για υπολογισμό της πιθανότητας επιπλοκής φυσιολογικού ιστού, αποδίδεται στο όργανο κατάλληλος δείκτης σειριακότητας ( $s$ ) ή ογκομετρικός εκθέτης ( $n$ ) ανάλογα με το ραδιοβιολογικό μοντέλο που θα χρησιμοποιηθεί,.

Τέλος με την εισαγωγή των κωδικοποιημένων πλέον πληροφοριών πραγματοποιείται η μαθηματική μοντελοποίηση και ο υπολογισμός των πιθανοτήτων επιπλοκής φυσιολογικών ιστών ή πιθανότητας ελέγχου του νεοπλασματικού ιστού, και η σύγκριση αυτών με τα αποτελέσματα της ταξινόμησης και βαθμονόμησης των μετακτινικών αντιδράσεων από τα διάφορα πρωτόκολλα αξιολόγησης και παρακολούθησης του κλινικού αποτελέσματος.

Ένα από τα βασικά μειονεκτήματα της πρακτικής εφαρμογής της ραδιοβιολογικής βελτιστοποίησης της ακτινοθεραπείας, είναι ότι δεν έχουν εξαχθεί τελικά και ασφαλή συμπεράσματα αναφορικά με το ποιες παράμετροι και ποιά μοντέλα είναι τα καταλληλότερα και πιο ακριβή για το σύνολο των κλινικών περιπτώσεων που αντιμετωπίζονται.

Συνεπώς αναλόγως της κλινικής περίπτωσης διαφορετικά μοντέλα και παράμετροι ενδείκνυνται ή αντενδείκνυνται για να αποδώσουν ικανοποιητικά τα αποτελέσματα.



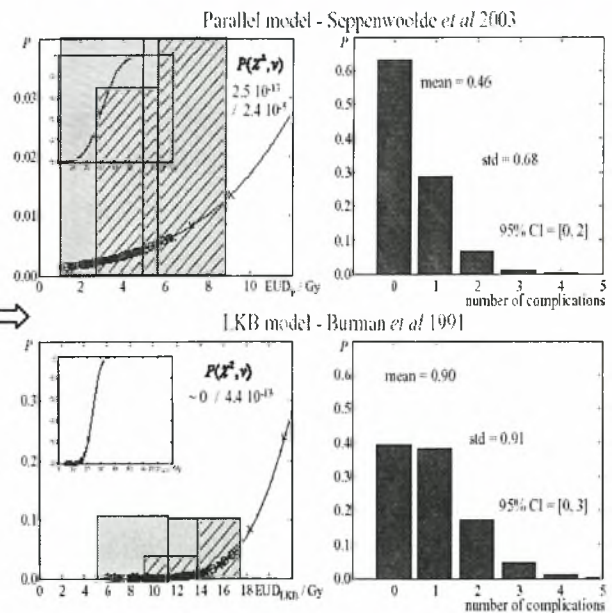
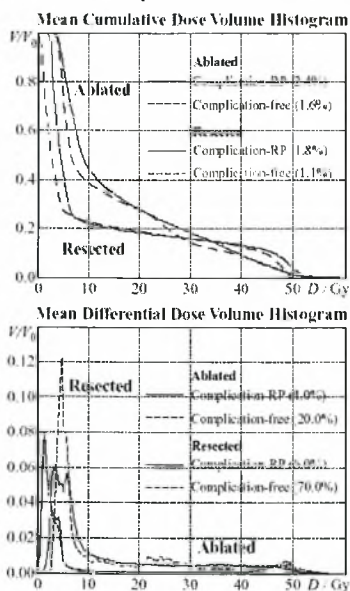
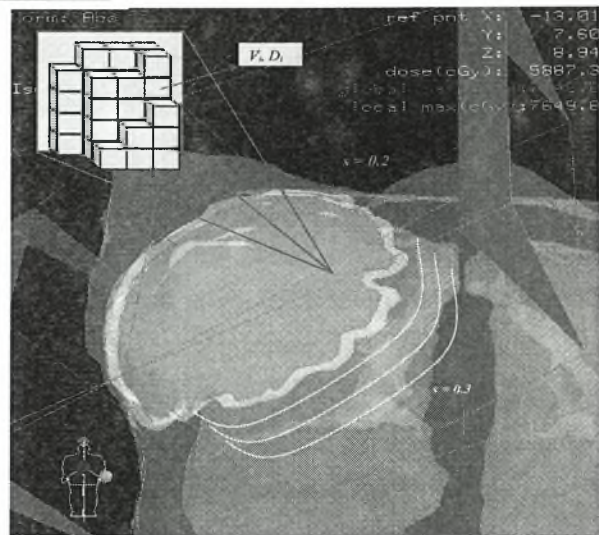
i. Καθορίζεται η περιοχή ενδιαφέροντος και συλλέγονται όλες οι απαραίτητες πληροφορίες για τον υπολογισμό της κατανομής της απορροφώμενης δόσης, π.χ. Ιστογράμματα δόσης όγκου (DVH), κλινικά αποτελέσματα κ.λ.π.



ii. Πραγματοποιείται ο καθορισμός των λειτουργικών υπομονάδων (FSU's) και του βαθμού σειριακότητας (s) της κάθε περιοχής ενδιαφέροντος, ενώ ανακατανέμεται η δόση στα ανάλογα ογκοστοιχεία με τρισδιάστατη κατανομή.



iii. Εφαρμόζεται η υπολογισμένη κατανομή της δόσης στα ραδιοβιολογικά μοντέλα και υπολογίζονται οι πιθανότητες επιπλοκής ή ελέγχου αντίστοιχα, λαμβανομένη υπόψη και της εσωτερικής κατανομής των FSU's και του δείκτη σειριακότητας ή της εξάρτησης του όγκου.



Σχήμα Β.3.β Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας της ραδιοβιολογικής προσέγγισης της ακτινοθεραπείας. i. Υπολογισμός της τρισδιάστατης κατανομή της δόσης. ii. Ανακατανομή στα ογκοστοιχεία και καθορισμός των FSU's iii. Μοντελοποίηση και υπολογισμός πιθανοτήτων.

## Γ. Σκοπός της διατριβής.

---

Οι κύριοι δεσμευτικοί παράγοντες αναφορικά με την δυνατότητα πρόβλεψης του κάθε μοντέλου είναι:

- η ακρίβεια του προσδιορισμού των ραδιοβιολογικών παραμέτρων που εφαρμόζονται σε αυτά
- η ακρίβεια με την οποία περιγράφονται από το μοντέλο, και κατ' επέκταση εκτιμώνται, οι υποβόσκοντες ακτινοθεραπευτικοί και βιολογικοί μηχανισμοί.

Κατά συνέπεια η ραδιοβιολογική προσέγγιση αποτελεί μία πολύπλοκη διαδικασία ακόμα και αν τα διαθέσιμα κλινικά δεδομένα είναι ακριβή. Αυτό οφείλεται στο ότι η διαθέσιμη πληροφορία συνήθως καλύπτει μόνο ένα περιορισμένο τμήμα της καμπύλης δόσης – απόκρισης επειδή τα κλινικά δεδομένα παράγονται από ακτινοθεραπευτικές αγωγές, οι οποίες στοχεύουν στην επίτευξη του ελέγχου του νεοπλασματος με ελάχιστες επιπλοκές των φυσιολογικών ιστών. Επομένως το τμήμα της καμπύλης δόσης – απόκρισης, σύμφωνα με το χρησιμοποιούμενο μοντέλο, μπορεί να βρίσκεται εκτός των κλινικών ορίων (θεραπευτική περιοχή), και συνεπώς η καμπύλη δεν μπορεί να επαληθευθεί επακριβώς από κλινικές παρατηρήσεις σε αυτή τη συγκεκριμένη περιοχή.

Ο περιορισμός αυτός αποδεικνύεται ιδιαίτερα σημαντικός όταν αυτά τα δεδομένα πρόκειται να εφαρμοστούν σε άλλες θεραπευτικές τεχνικές (κλασικές ή σύγχρονες IMRT), οι οποίες μπορεί να καλύπτουν περιοχή δόσης διαφορετική από αυτή που καλύπτεται από τα συνήθη κλινικά δεδομένα.

Η ακτινοθεραπεία των νεοπλασμάτων του μαστού και του πνεύμονα, περιορίζεται κυρίως από τις επιπλοκές των πνευμόνων και τη γενικότερη αυξημένη τοξικότητα του αναπνευστικού συστήματος. Μέρος του υγιούς πνευμονικού ιστού συχνά συμπεριλαμβάνεται στον ακτινοβολημένο όγκο και επομένως μπορεί να λάβει σημαντική δόση ακτινοβολίας. Ως εκ τούτου, υπάρχει πιθανότητα ανάπτυξης ακτινικής πνευμονίτιδας (Α.Π.), ειδικά μετά από ακτινοθεραπεία με υψηλές-δόσεις, και συνεπώς η εκτίμησή της είναι ιδιαίτερα σημαντική για ασθενείς με επιβαρημένη πνευμονική λειτουργία.

Παρά το γεγονός ότι ο πνεύμονας θεωρείται μεταξύ των πιο ευαίσθητων εκ των οξέων αποκρινόμενων οργάνων, η ακτινοθεραπεία περιορίζεται σημαντικά μόνο όταν ακτινοβολούνται μεγάλοι όγκοι πνεύμονος, και αυτό λόγω της δομικής οργάνωσης των λειτουργικών υπομονάδων του (FSU's).

Ο στόχος στην ακτινοθεραπεία του καρκίνου του μαστού και του πνεύμονα, όπως και σε όλες άλλωστε τις θεραπείες, είναι να πραγματοποιηθεί σχεδιασμός τέτοιος, που θα

οδηγήσει στην ελάχιστη επιπλοκή του φυσιολογικού ιστού διατηρώντας μέγιστες πιθανότητες για τον έλεγχο του όγκου. Για να πραγματοποιηθεί αυτός ο στόχος, είναι υψίστης σημασίας η ποσοτική περιγραφή της απόκρισης των οργάνων στην ακτινοβολία. Αυτή η περιγραφή επιτυγχάνεται με τον καθορισμό της σχέσης μεταξύ της τρισδιάστατης κατανομής της δόσης στον πνεύμονα και της απόκρισης του στην ακτινοβολία.

Διάφορες μελέτες έχουν κατευθυνθεί προς την ποσοτικοποίηση της απόκρισης και τον υπολογισμό των συμπτωμάτων μεταφράζοντας την απορροφώμενη δόση σε πιθανότητα επιπλοκής ιστού NTCP. <sup>[63,64,65,66,67]</sup>

Μερικά από αυτά τα NTCP μοντέλα έχουν αρχίσει να εφαρμόζονται βαθμιαία στην κλινική πρακτική ως βοηθητικά εργαλεία. Προς αυτή την κατεύθυνση διάφορες ομάδες έχουν παραγάγει ραδιοβιολογικές παραμέτρους, οι οποίες χρησιμοποιούνται στα εμπειρικά αυτά μοντέλα, συγκρίνοντας τις προβλεφθείσες τιμές απόκρισης με την παρατηρηθείσα επίπτωση των επιπλοκών της ακτινοβολίας. Εντούτοις, διαφορετικά ακτινοθεραπευτικά ιδρύματα χρησιμοποιούν διαφορετικά μοντέλα και θεραπευτικά πρωτόκολλα, με συνέπεια την παρεμπόδιση της άμεσης και ασφαλούς σύγκρισης.

Το γενικό συμπέρασμα από όλες τις ομάδες είναι ότι η ραδιοβιολογική προσέγγιση είναι χρήσιμη, αλλά σίγουρα είναι απαραίτητος ένας ικανός όγκος δεδομένων που θα επιτρέψει την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων <sup>[63,68,69,74]</sup>. Επίσης κανένα συγκεκριμένο αποτέλεσμα δεν έχει επιτευχθεί αναφορικά με το ποιες παράμετροι και μοντέλα αποτελούν τα καταλληλότερα και πιο ακριβή, στην πρόβλεψη της Α.Π., και ειδικά στην ακτινοθεραπεία του καρκίνου του μαστού. Στη μεγαλύτερη σχετική αναδρομική μελέτη, με στοιχεία από 540 ασθενείς από διάφορα κέντρα ακτινοθεραπείας, ο Kwa και συν (1998) έδειξαν ότι οι παράμετροι που μελετήθηκαν είχαν καλό συσχετισμό με την επίπτωση της Α.Π. αν και πρέπει να διευκρινισθεί ότι σε αυτή τη μελέτη ασθενείς με καρκίνο του μαστού ήταν μόνο 42 από τους 540.

Συνολικά η αδυναμία εφαρμογής των ραδιοβιολογικών μοντέλων, έγκειται στα αποκαλούμενα μεθοδολογικά προβλήματα που αποτελούν και το αντικείμενο έρευνας της διατριβής τα οποία δύναται να ταξινομηθούν σε:

- α) Στατιστικά: Στα στατιστικά προβλήματα αναφέρονται οι δυσκολίες επιλογής των κατάλληλων στατιστικών μεθόδων που θα επιφέρουν αντικειμενικά κριτήρια αξιολόγησης μεταξύ των διαφόρων αποτελεσμάτων, αλλά και που θα ανταποκρίνονται στο εύρος των τιμών των δεδομένων αναφοράς.
- β) Κλινικά: Στα κλινικά προβλήματα συγκαταλέγεται η ορθή αξιολόγηση των κλινικών αποτελεσμάτων που προκαλούνται από την ακτινοβολία τόσο στους

υγιείς όσο και στους καρκινικούς ιστούς. Το παρατεταμένο χρονικό διάστημα που απαιτείται για την καταγραφή του ελέγχου του νεοπλασματος ή των όψιμων αποτελεσμάτων και οι μέθοδοι κλινικής παρακολούθησης που πρέπει να χρησιμοποιηθούν για την ανάλυσή τους, δημιουργούν πολλαπλά προβλήματα ειδικά αναφορικά με την βαθμονόμηση και επεξεργασία αυτών των δεδομένων. Επίσης πρέπει να εξεταστεί προσεκτικά η διαφοροποίηση της θεραπείας σε κάθε μεμονωμένο ασθενή καθώς επίσης και κλινικά αποτελέσματα τα οποία προέρχονται από μη τυχαιοποιημένες μελέτες (non-randomized studies). Ετερογένειες στην κατανομή της δόσης μεταξύ ασθενών ενδέχεται να τους καταστήσουν μη συγκρίσιμους και μή συμβατούς στα πλαίσια μιας ραδιοβιολογικής μελέτης.

- γ) Δοσιμετρικά: Τα δοσιμετρικά προβλήματα αναφέρονται στην ακρίβεια της κατανομής δόσης στον ασθενή. Ο ποιοτικός έλεγχος και η διασφάλιση ποιότητας στην εφαρμογή της θεραπείας είναι αναγκαία για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων. Επιπλέον είναι απαραίτητη η αναγνώριση και ταυτοποίηση των σχετικών βιολογικών δοσιμετρικών σημείων αναφοράς και η σωστή αξιολόγηση των δόσεων σε αυτά τα σημεία.

Επιπλέον οι ραδιοβιολογικές προσεγγίσεις, περιλαμβάνουν ανακριβείς εκτιμήσεις περί ευαισθησίας των οργάνων και βασίζονται κυρίως σε παραμέτρους δόσης – όγκου.

Κατά συνέπεια διαφορές μεταξύ ασθενών που οφείλονται σε διαφορετική κατά άτομο ακτινευαισθησία δεν λαμβάνονται υπόψιν.

Αναφορικά με την αξιολόγηση της έκβασης της θεραπείας, και ειδικά με την προσδιορισμό της ενδογενούς ακτινευαισθησίας, διαφαίνεται αναγκαία η δυνατότητα καθορισμού ενός βιολογικού προγνωστικού παράγοντα που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί και στην κλινική πράξη.

Η αναζήτηση ενός τέτοιου βιολογικού δείκτη είναι σήμερα ένα θέμα αιχμής. Πολλοί βιολογικοί παράγοντες έχουν προταθεί κατά καιρούς ανάλογα με το είδος του καρκινικού ή/και του υγιούς ιστού και ανάλογα με την ευκολία μέτρησης τους σε ασθενείς. Η έρευνα στο τομέα αυτό γίνεται κατ'εξοχήν με *in vitro* μελέτες σε καρκινικές σειρές. Η ένδειξη για την ακτινευαισθησία του υγιών ιστών εξάγεται έμμεσα από την απόκριση των καρκινικών κυττάρων (όριο Hayflick).

Για τους ανωτέρω λόγους, η έρευνα που διεξάχθηκε στα πλαίσια της διατριβής, ως απάντηση σε αυτό το ερώτημα, εστιάστηκε στο ένζυμο της τελομεράσης λόγω του ότι έχει βρεθεί ότι η πλειοψηφία των καρκινικών κυττάρων παρουσιάζουν έκφραση του ενζύμου αυτού. Η δραστηριότητα αυτού του ενζύμου σχετίζεται με ποικίλες διαδικασίες του κυττάρου όπως είναι η κυτταρική διαίρεση, ο πολλαπλασιασμός, και η απόπτωση



[124]. Υπάρχουν ενδείξεις ότι ενδεχόμενη ειδική αλλαγή στην δραστικότητα της τελομεράσης θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης για την εκτίμηση του αποτελέσματος της ακτινοβολήσης. Συνεπώς εάν η δόση της ακτινοβολίας μπορούσε να συσχετιστεί με την σχετική διαφοροποίηση της έκφρασης του ενζύμου της τελομεράσης, και συνεπώς με την αναπαραγωγική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων, τότε ενδεχομένως, ειδική αλλαγή στην δραστικότητα της να μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της διαφορετικής ακτινευαισθησίας.

Βάσει των ανωτέρω ο σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής εστιάστηκε στα κάτωθι ερευνητικά ζητήματα:

- 1. Εκτίμηση και προσδιορισμός των καταλληλότερων στατιστικών μεθόδων, αναφορικά με αντικειμενικά κριτήρια συγκριτικής αξιολόγησης ραδιοβιολογικών μοντέλων.**
- 2. Αξιολόγηση διαφορετικών ραδιοβιολογικών μοντέλων και παραμέτρων στην ακτινοθεραπεία του μαστού και του πνεύμονα, ώστε να μπορούν να καταχωρηθούν και να χρησιμοποιηθούν στα συστήματα σχεδιασμού θεραπείας προκειμένου να αξιολογηθεί και να βελτιωθεί η έκβαση αυτής.**
- 3. Προσπάθεια συσχετισμού των διαφορών στις δοκιμασίες πνευμονικής λειτουργίας (PFT's) με τον όγκο του ακτινοβολούμενου πνεύμονα και σύνδεση αυτού με τα αποτελέσματα της ραδιοβιολογικής προτυποποίησης.**
- 4. In vitro μελέτη της καταλληλότητας του ενζύμου της τελομεράσης ως βιολογικού παράγοντα αξιολόγησης της ενδογενούς ακτινευαισθησίας και ειδικότερα της εξάρτησης της έκφρασής της από την δόση.**



## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

---



## 1. Προσδιορισμός Κατάλληλων Στατιστικών Μεθόδων

---

### Περίληψη

Ο σκοπός του πρώτου μέρους της έρευνας αυτής ήταν ο προσδιορισμός των καταλληλότερων στατιστικών μεθόδων για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων, τόσο για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων των πιθανοτήτων μεταξύ διαφορετικών ραδιοβιολογικών μοντέλων, όσο και για τον καθορισμό της καλής προσαρμογής των μοντέλων στα κλινικά αποτελέσματα.

Κατά συνέπεια η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε ήταν αυτή της δοκιμής και λάθους (trial and error) για ένα συγκεκριμένο αριθμό στατιστικών μεθόδων και λογισμικών που εφαρμόζονται ευρύτερα στον τομέα αυτό.

### 1.1 Μεθοδολογία και υλικό <sup>[71,72,73]</sup>

---

Αρχικά περιορίστηκε ο αριθμός των στατιστικών μεθόδων που θα μπορούσαν να εφαρμοστούν για να εκπληρώσουν τους στόχους της μελέτης, όπως αυτοί αναφέρονται στο σκοπό της διατριβής (Κεφ Γ), σε έξι διαφορετικές στατιστικές μεθόδους.

Αναλυτικά αυτές ήταν:

- α) Το μοντέλο γραμμικής πιθανότητας
- β) Το μοντέλο της λογιστικής παλινδρόμησης
- γ) Η μέθοδος ανάλυσης της διακύμανσης (ANOVA)
- δ) Το  $\chi^2$  τεστ
- στ) Monte Carlo εξομοίωση
- ε) Και τέλος οι καμπύλες ROC (Receiver Operating Characteristics)

Η μέθοδος αξιολόγησης που εφαρμόστηκε (της δοκιμής και λάθους), αναφέρεται σε τυχαίοποιημένες εφαρμογές δεδομένων στις στατιστικές μεθόδους, με αποτελέσματα που έχουν προέλθει από εξομοιώσεις με μεθόδους Monte Carlo. Με αυτό τον τρόπο μπορεί να αξιολογηθεί η καλή προσαρμογή των διαστημάτων εμπιστοσύνης και του ελέγχου σημαντικότητας, αλλά και η ακρίβεια της περιγραφής των επιδράσεων μίας μεταβλητής στο αποτέλεσμα της δίτιμης μεταβλητής ενδιαφέροντος (ύπαρξη ή μη ύπαρξη Α.Π.).

Τα δύο πρώτα μοντέλα αναφέρονται στην εκτίμηση των αντιπροσωπευτικότερων μεταβλητών που εκπληρώνουν συγκεκριμένη συνθήκη και βρίσκουν εφαρμογή στον καθορισμό των ραδιοβιολογικών παραμέτρων, ενώ οι υπόλοιπες στατιστικές μέθοδοι αναφέρονται τόσο στην σύγκριση των αποτελεσμάτων των πιθανοτήτων μεταξύ διαφορετικών ραδιοβιολογικών μοντέλων όσο και στον καθορισμό της καλής προσαρμογής των μοντέλων στα κλινικά αποτελέσματα.

α) Το μοντέλο γραμμικής πιθανότητας

Θεωρούμε το μοντέλο γραμμικής πιθανότητας (linear probability model –LP)

$$Y = a + BX + e$$

όπου

Y: η δίτιμη εξαρτημένη μεταβλητή είναι 1 αν το γεγονός συμβαίνει και 0 αν δεν συμβαίνει

a: ο σταθερός όρος

B: ο συντελεστής(ες) στην(ις) ανεξάρτητη(ες) μεταβλητή(ές)

X: η(οι) ανεξάρτητη(ες) μεταβλητή(ές) και

e: ο όρος του σφάλματος (κατάλοιπα).

β) Το μοντέλο της λογιστικής παλινδρόμησης

Το μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης,

$$\ln\left[\frac{p}{1-p}\right] = a + BX + e \quad \text{ή} \quad \frac{p}{1-p} = e^a \cdot e^{BX} \cdot e^e$$

όπου

ln ο φυσικός λογάριθμος  $\log_e$ , όπου  $e=2,71828$

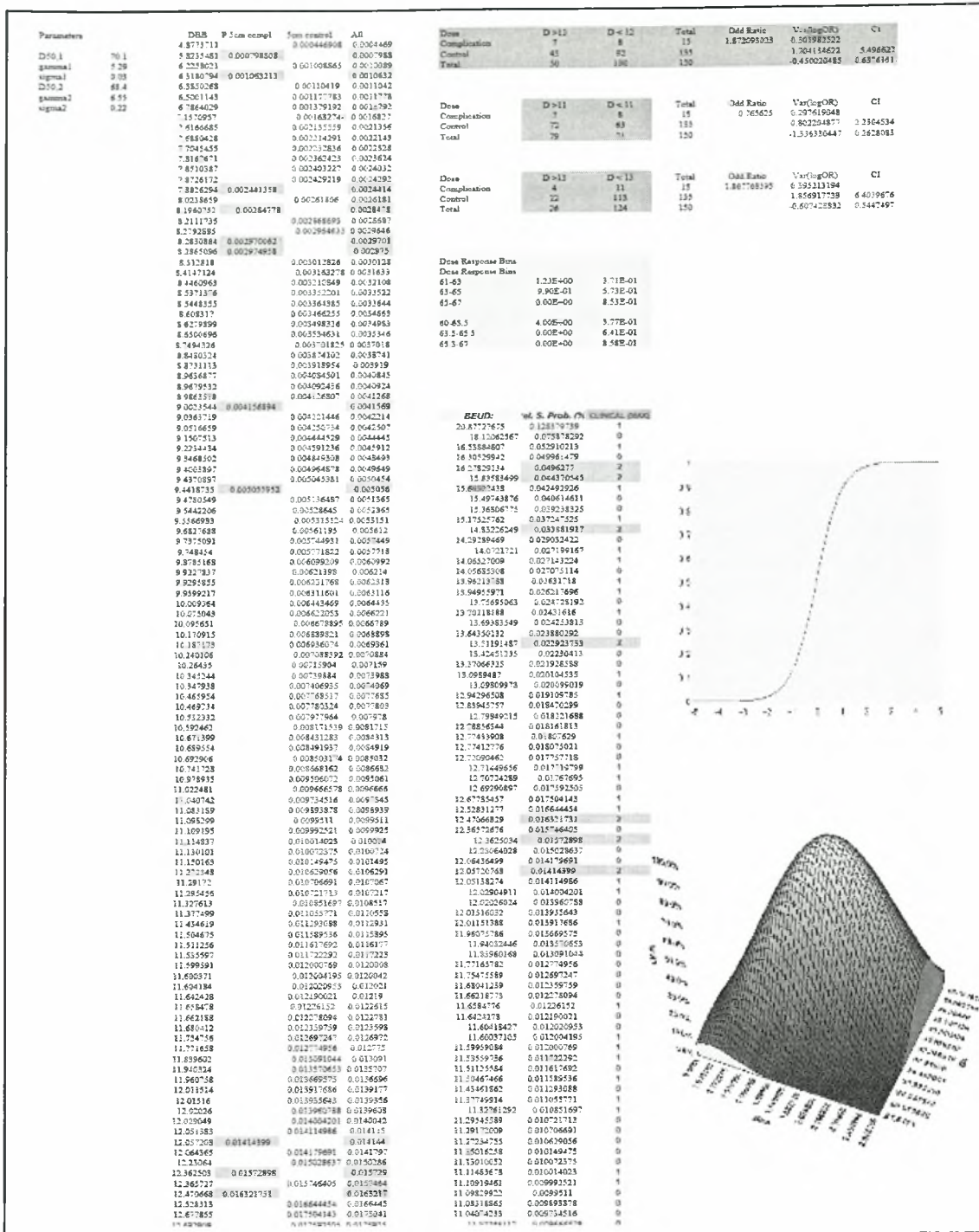
p η πιθανότητα ότι το γεγονός Y συμβαίνει,  $p(Y=1)$

$p/(1-p)$  είναι ο λόγος των συμπληρωματικών πιθανοτήτων της επιτυχίας (odds ratio)

$\ln[p/(1-p)]$  είναι ο λογάριθμός του λόγου των συμπληρωματικών πιθανοτήτων της επιτυχίας (logit)

Τα μοντέλα αυτά εφαρμόστηκαν για διάφορες τιμές με τη βοήθεια του λογισμικού πακέτου Excell, ενώ με χρήση του λόγου των συμπληρωματικών πιθανοτήτων έγινε αξιολόγηση για το κατά πόσο θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στην παρούσα μελέτη. Ο λόγος των συμπληρωματικών πιθανοτήτων (odds ratio) αντιπροσωπεύει την επίδραση της ανεξάρτητης μεταβλητής. Ο λόγος αυτός ισούται με την πιθανότητα να συμβεί ένα γεγονός προς την πιθανότητα να μην συμβεί. Όταν ο λόγος αυτός είναι ίσος με 1, τότε υπάρχει πιθανότητα 50% να συμβεί το γεγονός. Αρνητικοί συντελεστές οδηγούν σε λόγους συμπληρωματικών πιθανοτήτων μικρότερους του μηδενός.

Στην εικόνα 1.1 παρατίθεται ένα παράδειγμα της ανάλυσης των μοντέλων της γραμμικής πιθανότητας και λογισμικής παλινδρόμησης.



Εικόνα 1.1 Ανάλυση των μοντέλων της γραμμικής πιθανότητας και λογισμικής παλινδρόμησης.

γ) Η μέθοδος ανάλυσης της διακύμανσης (ANOVA)

Η ANOVA πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του λογισμικού πακέτου SPSS έκδοση 11.5. Κατά την ανάλυση της διακύμανσης δίνεται η δυνατότητα να τεθούν πολλαπλές μεταβλητές αξιολόγησης ώστε να πραγματοποιηθεί πολυπαραγοντική συγκριτική μελέτη μεταξύ διαφορετικών πηγών παρόμοιων αποτελεσμάτων (ραδιοβιολογικά μοντέλα). Η ακρίβεια των αποτελεσμάτων εξαρτάται από την ακρίβεια με την οποία τα μοντέλα υπολογίζουν αυτές τις μεταβλητές. Κατά την ανάλυση επιλέγονταν εκ περιτροπής διάφορα σύνολα παραμέτρων προκειμένου να αξιολογηθεί η δυνατότητα χρήσης τους ως αντικειμενικό κριτήριο σύγκρισης και εκτίμησης των αποτελεσμάτων. Ένα παράδειγμα τέτοιας ανάλυσης παρατίθεται στην εικόνα 1.2.

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: NTCP						
Bonferroni						
(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	50% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	1.00					
	2.00	.00122192742	.000734062302	.978	-.00022682709	.00267068192
	3.00	.00611414103*	.000734062302	.000	.00466538652	.00756289554
	4.00	.00390870875*	.000734062302	.000	.00245995424	.00535746326
	5.00	.00534677208*	.000734062302	.000	.00389801757	.00679552659
2.00	1.00	-.0012219274	.000734062302	.978	-.00267068192	.00022682709
	2.00					
	3.00	.00489221361*	.000734062302	.000	.00344345911	.00634096812
	4.00	.00268678133*	.000734062302	.003	.00123802683	.00413553584
	5.00	.00412484466*	.000734062302	.000	.00267609015	.00557359917
3.00	1.00	-.0061141410*	.000734062302	.000	-.00756289554	-.004665387
	2.00	-.0048922136*	.000734062302	.000	-.00634096812	-.003443459
	3.00					
	4.00	-.0022054323*	.000734062302	.031	-.00365418679	-.000756678
	5.00	-.0007673690	.000734062302	1.000	-.00221612346	.00068138556
4.00	1.00	-.0039087088*	.000734062302	.000	-.00535746326	-.002459954
	2.00	-.0026867813*	.000734062302	.003	-.00413553584	-.001238027
	3.00	.00220543228*	.000734062302	.031	.00075667777	.00365418679
	4.00					
	5.00	.00143806333	.000734062302	.517	-.00001069118	.00288681784
5.00	1.00	-.0053467721*	.000734062302	.000	-.00679552659	-.003898018
	2.00	-.0041248447*	.000734062302	.000	-.00557359917	-.002676090
	3.00	.00076736895	.000734062302	1.000	-.00068138556	.00221612346
	4.00	-.0014380633	.000734062302	.517	-.00288681784	.00001069118
	5.00					

\*. The mean difference is significant at the .5 level.

Εικόνα 1.2 Πολυπαραγοντική ανάλυση της διακύμανσης



δ) Το  $\chi^2$  τεστ

Προκειμένου να ελεγχθεί η επάρκεια της λογιστικής παλινδρόμησης για τα δεδομένα, συγκρίνονται οι παρατηρούμενες με τις αναμενόμενες τιμές στην ομαδοποιημένη μορφή τους, που μπορεί και να περιλαμβάνει διαίρεση των δεδομένων σε ομάδες και ανακατανομή. Τα στατιστικά δίνονται από τους τύπους:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i} \quad \text{και} \quad G^2 = 2 \sum_{i=1}^k O_i \log \left( \frac{O_i}{E_i} \right)$$

όπου  $O_i$ : είναι οι παρατηρούμενες τιμές και  $E_i$ : είναι οι αναμενόμενες τιμές των παρατηρήσεων.

Τα στατιστικά καλής προσαρμογής όπως το  $G^2$  και το  $\chi^2$  είναι αθροιστικοί δείκτες της συνολικής ποιότητας της προσαρμογής. Έστω  $y_i$  ο αριθμός των «επιτυχιών» για  $n_i$  δοκιμές στην  $i$ -στη διάταξη των επεξηγηματικών μεταβλητών. Έστω  $\hat{p}_i$ , η εκτιμώμενη πιθανότητα επιτυχίας για την προσαρμογή του μοντέλου. Τότε  $n_i \hat{p}_i$  είναι ο αναμενόμενος αριθμός επιτυχιών. Για ένα γενικευμένο γραμμικό μοντέλο με διωνυμικό τυχαίο παράγοντα (binomial random component), τα κατάλοιπα του Pearson για την εφαρμογή στην  $i$  διάταξη είναι:

$$e_i = \frac{y_i - n_i \hat{p}_i}{\sqrt{[n_i \hat{p}_i (1 - \hat{p}_i)]}}$$

Κάθε κατάλοιπο, διαιρεί την διαφορά μεταξύ μίας παρατηρούμενης τιμής και της αναμενόμενης τιμής της με την εκτιμώμενη διωνυμική τυπική απόκλιση της παρατηρούμενης τιμής.

Το στατιστικό του Pearson για τον έλεγχο της προσαρμογής του μοντέλου, ικανοποιεί την εξής σχέση:

$$\chi^2 = \sum e_i^2 .$$

Κάθε τετραγωνισμένο κατάλοιπο του Pearson είναι ένα συστατικό του  $\chi^2$ . Όταν ο διωνυμικός δείκτης  $n_i$  είναι μεγάλος, το κατάλοιπο του Pearson  $e_i$  ακολουθεί προσεγγιστικά την κανονική κατανομή.

Για την αξιολόγηση του  $\chi^2$  τεστ, ομαδοποιήθηκαν ψευδó-αποτελέσματα επιπλοκών υπολογισμένα με τη μέθοδο Monte Carlo, και υποδιαιρέθηκαν σε ομάδες προκειμένου να εκτιμηθεί η καταλληλότητα και να βρεθεί η βέλτιστη κατανομή και οι κατάλληλοι βαθμοί ελευθερίας. Υπολογίζονταν διαδοχικά όλες οι αναμενόμενες πιθανότητες και συγκρίνονταν με τις ενδεικτικά παρατηρούμενες για εύρη τιμών αντίστοιχα με αυτά της ραδιοβιολογικής προσέγγισης.

Ενδεικτικά αποτελέσματα παρατίθενται στην εικόνα 1.3.

The image shows a complex data table with multiple columns and rows. The columns are organized into several sections, including 'RELATIVE QUALITY METRIC (QUALITY INDEX)' and 'RELATIVE QUALITY PROBABILITY'. The rows contain numerical data points, likely representing different categories or measurements. The table is densely packed with numbers and some text labels, typical of a statistical analysis output.

Εικόνα 1.3 Αξιολόγηση του  $\chi^2$  test για σύγκριση αποτελεσμάτων.

στ) Monte Carlo εξομοίωση

Μια άλλη μέθοδος εκτίμησης της ικανοποιητικής προσαρμογής των μοντέλων, που αξιολογήθηκε στην παρούσα μελέτη, ήταν η παροχή μιας αριθμητικής αξιολόγησης των θεωρητικών τιμών NTCP, οι οποίες επρόκειτο να υπολογιστούν από τα διαφορετικά μοντέλα με μια μέθοδο Monte Carlo εξομοίωσης θεωρητικών αποτελεσμάτων και σύγκρισης με τα παρατηρούμενα.

Η αξιολόγηση έγινε σύμφωνα με την ακόλουθη διαδικασία:

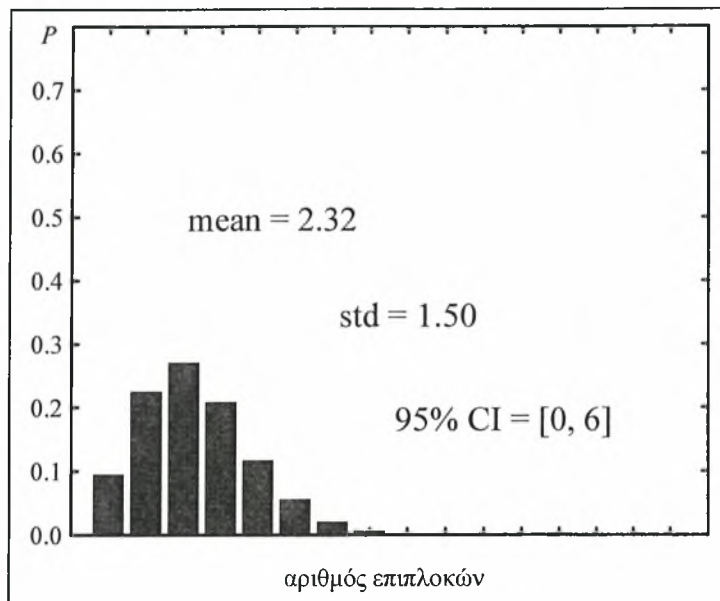
- 1) Εκτελέσθηκε μια σειρά ψευδο-πειραμάτων μέσω επανειλημμένης εξομοίωσης ψευδο-αποτελεσμάτων χρησιμοποιώντας τις θεωρητικές τιμές NTCP με τον ακόλουθο τρόπο:

Για κάθε NTCP<sub>v</sub>, ένας τυχαίος αριθμός R παρήχθη και συγκρίθηκε με το NTCP<sub>v</sub>. Εάν το R τύχαινε να είναι μεγαλύτερο από NTCP<sub>v</sub> (R > NTCP<sub>v</sub>), καμία επιπλοκή δεν οριζόταν. Στην περίπτωση που R < NTCP<sub>v</sub>, η περίπτωση θεωρείτο ότι περιείχε επιπλοκή.

2) Για κάθε προσομοίωση, ο αριθμός επιπλοκών μετρήθηκε και αποθηκεύτηκε.

3) Χρησιμοποιώντας τα αποθηκευμένα στοιχεία, δημιουργήθηκε η κατανομή της πιθανότητας του αριθμού των επιπλοκών.

Στη συνέχεια γινόταν σύγκριση των αποτελεσμάτων με υπολογισμένες πιθανότητες ψευδο-επιπλοκής και αξιολογήθηκε η επαλήθευση των προβλέψεων και το κατά πόσο είναι ασφαλής να εφαρμοσθεί σε ανάλογες περιπτώσεις. Στην εικόνα 1.4 δίνεται ένα παράδειγμα τέτοιας επαλήθευσης.



**Εικόνα 1.4 Υπολογισμός και επαλήθευση πιθανοτήτων με τη μέθοδο της Monte Carlo εξομοίωσης.**

ε) Γραφήματα ROC (Receiver Operating Characteristics)

Μία καμπύλη ROC μας επιτρέπει να εξερευνήσουμε την διαγνωστική αξία διαφόρων μοντέλων, καθώς και να εντοπίσουμε την σχέση μεταξύ ευαισθησίας και ειδικότητας.

Για να αξιολογηθούν τα γραφήματα ROC, ο Χ άξονας αντιπροσωπεύει την ειδικότητα (false positive rate) και ο Υ άξονας την ευαισθησία (true positive). Ως μέτρο αναγνώρισης δημιουργείται μία διαγώνια γραμμή στο γράφημα από το (0,0) στην χαμηλότερη αριστερή γωνία μέχρι το (1,1) στην υψηλότερη δεξιά γωνία. Όσο πιο κοντά είναι το γράφημα στην πάνω αριστερή γωνία (0,1) τόσο καλύτερο είναι το τεστ στο να διακρίνει μεταξύ περιπτώσεων και μη περιπτώσεων. Ένας δείκτης της καταλληλότητας του τεστ είναι η περιοχή κάτω από την καμπύλη, που για ένα τέλειο τεστ είναι ίση με 1.0, ενώ για ένα τεστ που δεν διακρίνει είναι ίση με 0.5 («πέφτει» ακριβώς πάνω στη διαγώνιο).

Χρησιμοποιώντας οποιοδήποτε τεστ, είναι πιθανό να γίνουν διαγνωστικά λάθη. Ιδανικά, θα θέλαμε και την ευαισθησία και την ειδικότητα να είναι ίσες με 1.

Βασίζόμενοι στα αποτελέσματα της εξομίωσης με Monte Carlo μεθόδους δημιουργήθηκαν δοκιμές προκειμένου να αξιολογηθεί η εφαρμοστικότητα των γραφημάτων ROC στην σύγκριση ραδιοβιολογικών μοντέλων.

Ενδεικτικά αποτελέσματα της ανάλυσης και των γραφημάτων παρουσιάζονται στην εικόνα 1.5.



Εικόνα 1.5. Ενδεικτικά αποτελέσματα της ανάλυσης και των γραφημάτων της ROC μεθόδου.

## 1.2 Αποτελέσματα

---

α) Η χρήση του LP μοντέλου, γενικά δίνει σωστές απαντήσεις όσον αφορά το πρόσημο και το επίπεδο σημαντικότητας των συντελεστών. Υπάρχουν, όμως, τρία προβλήματα με το γραμμικό μοντέλο πιθανότητας.

1. Τα κατάλοιπα είναι ετεροσκεδαστικά (ετεροσκεδαστικότητα, συνίσταται όταν η διακύμανση της εξαρτημένης μεταβλητής είναι διαφορετική, δηλαδή με διαφορετικές τιμές, από αυτή των ανεξάρτητων μεταβλητών).  $Var(e) = p(1 - p)$ , όπου  $p$  είναι η πιθανότητα ότι γεγονός=1. Εφόσον το  $p$  εξαρτάται από το  $X$ , η κλασική υπόθεση παλινδρόμησης ότι τα κατάλοιπα δεν εξαρτώνται από τα  $X$  παραβιάζεται.)
2. Το  $e$  δεν ακολουθεί κανονική κατανομή, γιατί η πιθανότητα  $p$  παίρνει μόνο δύο τιμές παραβιάζοντας άλλη μία κλασική υπόθεση παλινδρόμησης.
3. Οι προβλέπουσες πιθανότητες μπορούν να είναι μεγαλύτερες του 1 ή μικρότερες του 0, το οποίο αποτελεί πρόβλημα, αφού δεν μπορούν να αντιστοιχηθούν με τα συγκρινόμενα αποτελέσματα.

β) Το μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης, λύνει αυτά τα προβλήματα, αλλά εμφανίζεται πολύ ευαίσθητο στον ελάχιστο αριθμό αποτελεσμάτων για να αποδώσει στατιστική ακρίβεια. Εάν πρόκειται να εφαρμοστεί για προσαρμογή των παραμέτρων των ραδιοβιολογικών μοντέλων σε κλινικά αποτελέσματα, χαμηλά ποσοστά εμφάνισης επιπλοκών θα είναι δεσμευτικά στην εφαρμογή του.

γ) Ο έλεγχος της ανάλυσης της διακύμανσης είναι ανάλογος της λογιστικής παλινδρόμησης. Αναφορικά με την πολλαπλή σύγκριση μεταξύ των διαφορετικών μοντέλων και των διαφορετικών παραμέτρων αποδείχθηκε επίσης εξαιρετικά ευαίσθητος στην ποσοστιαία εμφάνιση των πραγματικών αποτελεσμάτων. Η δοκιμές έδειξαν ότι ποσοστό εμφάνισης των παρατηρούμενων αποτελεσμάτων κάτω του 10% περιορίζει σημαντικά την σύγκριση, μη επιτρέποντας στατιστικώς αποδεκτά αποτελέσματα.

Δεδομένου όμως ότι οι δείκτες δίνουν μία ένδειξη για το μέγεθος της διακύμανσης της διαφοράς των συγκρινόμενων αποτελεσμάτων, μια πολλαπλή σύγκριση θα μπορούσε να καθορίσει ποιες μέσες τιμές διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των μοντέλων.

δ) Το  $\chi^2$  τεστ έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα σε όλες τις εφαρμογές των αποτελεσμάτων που προέρχονταν από τις εξομοιώσεις Monte Carlo. Αυτού του είδους η στατιστική μέθοδος χαρακτηρίζει τη διακύμανση των παρατηρούμενων συχνοτήτων σε

σχέση με τις αναμενόμενες συχνότητες. Με άλλα λόγια το  $\chi^2$  τεστ αποτελεί ένα μέτρο της διασποράς των παρατηρούμενων τιμών έναντι της αναμενόμενης διασποράς,

στ) Η Monte Carlo μέθοδος εξ' ορισμού είναι μέθοδος εκτίμησης της ικανοποιητικής προσαρμογής μοντέλων και αυτό επιβεβαιώθηκε και από τις δοκιμές, αφού η συμφωνία των υπολογιζόμενων αποτελεσμάτων με τα αναμενόμενα αποτελέσματα ήταν πάντα καλύτερη του 95%.

ε) Τέλος η ανάλυση ROC αποδείχθηκε επίσης ικανή να διαχωρίζει ικανοποιητικά τα παρατηρούμενα από τα αναμενόμενα αποτελέσματα, ακόμα και σε περιπτώσεις με χαμηλά ποσοστά επιπλοκής, πάντα υπολογιζόμενα με εξομοιώσεις Monte Carlo.

Στις εξομοιώσεις αυτές η συμφωνία των ROC γραφημάτων για το σύνολο των διαφορετικών δοκιμών, συγκρίνοντας τις περιοχές κάτω από την καμπύλη, στο εύρος 0.5-0.8 ήταν ικανοποιητική. Επομένως συμπεραίνεται ότι αυτή η ανάλυση είναι σε θέση να επικυρώνει τη δυνατότητα ενός μοντέλου να διακρίνει τις περιπτώσεις που ανέπτυξαν μια συγκεκριμένη επιπλοκή από εκείνες που δεν ανέπτυξαν.

### 1.3 Συζήτηση

---

Οι δύο πρώτες στατιστικές μέθοδοι, δηλαδή τα μοντέλα γραμμικής πιθανότητας και λογιστικής παλινδρόμησης, δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την συγκριτική αξιολόγηση των διαφορετικών μοντέλων, αλλά για την εκτίμηση της καλής προσαρμογής των υπολογιζόμενων παραμέτρων των μοντέλων πάνω σε κλινικά δεδομένα. Εντούτοις η προσαρμογή αυτή παρουσιάζει δεσμευτικό περιορισμό στα πραγματικά ποσοστά επιπλοκής που εμφανίζονται προκειμένου για στατιστική ακρίβεια. Για παράδειγμα στην περίπτωση της εκτίμησης της Α.Π. στην ακτινοθεραπεία του μαστού, τα ποσοστά εμφάνισης είναι λιγότερα του 5% οπότε ο υπολογισμός ραδιοβιολογικών παραμέτρων που προέρχονται από κλινικό υλικό δεκάδων ασθενών δεν είναι δυνατός.

Απόρροια της ίδιας δέσμευσης είναι και η αδυναμία χρήσης της ανάλυσης της διακύμανσης (ANOVA) ως συγκριτικό τεστ αξιολόγησης μεταξύ των μοντέλων στην παρούσα περίπτωση. Ωστόσο εάν η διαφορά καθοριστεί σε συγκεκριμένες μέσες τιμές για μία και μόνη εξαρτημένη παράμετρο (π.χ. Δόση), τότε με χρήση ANOVA θα μπορούσε με πολλαπλή σύγκριση να καθορίσει το ποιες μέσες τιμές διαφέρουν σημαντικά σε ένα συγκεκριμένο επίπεδο σημαντικότητας (π.χ. 0.05) διαχωρίζοντας έτσι ανά ζεύγη το ένα μοντέλο από το άλλο.

Προκειμένου να διερευνηθεί η ικανοποιητική προσαρμογή των μοντέλων, το  $\chi^2$  τεστ αποδείχθηκε απόλυτα ικανοποιητικό. Αυτού του είδους το τεστ χαρακτηρίζει τη διακύμανση των παρατηρούμενων συχνοτήτων σε σχέση με τις αναμενόμενες συχνότητες. Το  $\chi^2$  τεστ αποτελεί ένα μέτρο της διασποράς των παρατηρούμενων τιμών έναντι της αναμενόμενης διασποράς, και εν προκειμένω αυτό μπορεί να διερευνηθεί με τη σύγκριση των παρατηρούμενων κλινικών αποτελεσμάτων έναντι των υπολογιζόμενων αποτελεσμάτων επιπλοκής.

Μόνη προϋπόθεση αποτελεί η διαίρεση του συνόλου των τιμών σε υπό-ομάδες, οι οποίες θα πρέπει να ταξινομούνται κατά σειρά αυξανόμενης μέσης εξαρτημένης μεταβλητής σύγκρισης (π.χ. απορροφώμενη δόση).

Κατά συνέπεια, η πιθανότητα  $P(\chi^2, \nu)$  θα παράγει μια τιμή για το  $\chi^2$  ίση ή μεγαλύτερη από την παρατηρηθείσα κλινική έκβαση με  $\nu$  βαθμούς ελευθερίας.

Μια πιθανότητα κοντά στην τιμή του 1 σημαίνει ότι η υποτιθέμενη κατανομή περιγράφει καλά τη διασπορά των αποτελεσμάτων.

Εάν αφ' ετέρου η πιθανότητα είναι μικρή και κοντά στο μηδέν, είτε το ραδιοβιολογικό μοντέλο και οι παράμετροι δεν προβλέπουν πολύ καλά την κλινική έκβαση, ή το δείγμα δεν είναι αντιπροσωπευτικό αυτής της συγκεκριμένης κατανομής.

Η Monte Carlo μέθοδος είναι εξ' ορισμού μέθοδος εκτίμησης της ικανοποιητικής προσαρμογής μοντέλων και αφού η συμφωνία των υπολογιζόμενων αποτελεσμάτων με τα αναμενόμενα αποτελέσματα ήταν πάντα καλύτερη του 95% επιβεβαιώθηκε η δυνατότητα χρήσης της στην παρούσα μελέτη.

Τέλος στην μέθοδο ROC, από την φύση της ανάλυσης, δεν παίζει κανένα ρόλο εάν τα ποσοστά απόκρισης είναι χαμηλά ή υψηλά επειδή οι ασθενείς θα ταξινομούνται σύμφωνα με τη δόση που έλαβαν ή τις πιθανότητες επιπλοκής τους και έπειτα με τη χρήση διάφορων τιμών που θα χρησιμοποιούνται ως ουδοί (thresholds) θα διαμορφώνεται η ROC καμπύλη.

Η δυνατότητα του κάθε μοντέλου να ταξινομεί σωστά τους ασθενείς με και χωρίς την εξεταζόμενη κλινική επιπλοκή θα μετριέται από την περιοχή κάτω από τη ROC καμπύλη. Περιοχή κάτω από την καμπύλη ίση με 1 δείχνει μια τέλεια διάκριση των ποσοστών επιπλοκών και μη επιπλοκών των υπο-ομάδων, και συνεπώς τέλειο διαχωρισμό των αντίστοιχων πιθανοτήτων.



## 2. Ραδιοβιολογική προσέγγιση της Ακτινικής Πνευμονίτιδας στην ακτινοθεραπεία του καρκίνου του μαστού.

---

### Περίληψη

**Σκοπός.** Ο σκοπός της εργασίας αυτής ήταν να πραγματοποιηθεί συγκριτική αξιολόγηση των συνηθέστερα χρησιμοποιούμενων Ραδιοβιολογικών Μοντέλων (Σχετικής σειριακότητας - Seriality, Παραλληλότητας - Parallel και LKB) σχετικά με την επίπτωση της Ακτινικής Πνευμονίτιδας (Α.Π.), σε μια μεγάλη ομάδα ασθενών που υποβλήθηκαν σε ακτινοθεραπεία του καρκίνου του μαστού.

Επίσης η εκτίμηση της δυνατότητας κλινικής χρήσης δημοσιευμένων ραδιοβιολογικών παραγόντων στα διαφορετικά μοντέλα δόσης - όγκου, αλλά και η εκτίμηση της ακρίβειας της ταξινόμησης και βαθμονόμησης των μετακτινικών αντιδράσεων αναφορικά με τον υπολογισμό πιθανοτήτων επιπλοκής.

**Μεθοδολογία.** Η μελέτη βασίζεται σε 150 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ακτινοθεραπεία του καρκίνου του μαστού. Για κάθε ασθενή ήταν διαθέσιμη η τρισδιάστατη κατανομή δόσης που εφαρμόστηκε στον πνεύμονα, και η κλινική έκβαση της θεραπείας. Προκειμένου να αξιολογηθεί η εκδήλωση των μετακτινικών επιπλοκών, εξετάστηκαν κλινικά συμπτώματα και ακτινολογικά ευρήματα, όπως και ένα ερωτηματολόγιο επιπλοκών που συμπλήρωσαν οι ίδιες οι ασθενείς. Επιπλέον εξετάστηκε η ανάγκη για αναπροσαρμογή των κριτηρίων που χρησιμοποιούνται στην τρέχουσα κλινική πρακτική αλλά και του τρόπου αξιολόγησης αυτών ανάλογα με την κλινική περίπτωση. Τα δεδομένα κάθε ασθενούς εισήχθησαν στα NTCP μοντέλα, χρησιμοποιώντας δημοσιευμένες τιμές ραδιοβιολογικών παραμέτρων και υπολογίστηκαν οι πιθανότητες εμφάνισης της ακτινικής πνευμονίτιδας.

**Αποτελέσματα.** Από τις 150 ασθενείς, στις 15 θεωρήθηκε ότι εκδηλώθηκε ακτινική πνευμονίτιδα (βαθμός 2) σύμφωνα πάντα με τα χρησιμοποιούμενα κριτήρια αξιολόγησης. Από τα NTCP μοντέλα που εξετάστηκαν, το μοντέλο σχετικής σειριακότητας αποδείχθηκε ότι ήταν σε θέση να προβλέψει την επίπτωση της πνευμονίτιδας με αποδεκτή ακρίβεια, αν και πραγματική επιπλοκή εκδηλώθηκε σε μερικούς μόνο ασθενείς. Επίσης με κατάλληλη επιλογή παραμέτρων και το LKB μοντέλο αποδείχθηκε ικανό να περιγράψει με αποδεκτή ακρίβεια την κλινική εικόνα.

**Συζήτηση.** Η ραδιοβιολογική προσέγγιση εμφανίζεται πολύ ευαίσθητη στην επιλογή τόσο των μοντέλων όσο και των χρησιμοποιούμενων παραμέτρων, και δίνει αποδεκτά κλινικά αποτελέσματα μόνο σε ορισμένες περιπτώσεις επιλεκτικά. Η χρήση δημοσιευμένων παραμέτρων πρέπει να θεωρηθεί ασφαλής μόνο εάν εξασφαλιστεί η ομοιότητα της κλινικής πρακτικής. Επίσης η ενδογενής ακτινευαισθησία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην πρόβλεψη τέτοιων χαμηλών ποσοστών επιπλοκών. Είναι επίσης σημαντικό ότι οι βαθμοί αξιολόγησης της επιπλοκής συνδυάστηκαν ώστε να δώσουν

ισχυρότερη ένδειξη για την ακτινική πνευμονίτιδα δεδομένου ότι οι διαφορές τους δεν μπόρεσαν να θεωρηθούν αυστηρά δόσο-εξαρτώμενες.

Το γεγονός αυτό αποκαλύπτει προφανώς μια αδυναμία της αξιολόγησης σχετικά με τον ουδό κλινικής επιπλοκής, και υπονοεί ότι η πιθανότητα εμφάνισης της ακτινικής πνευμονίτιδας ενδεχομένως είναι πάρα πολύ χαμηλή για να μπορεί να αναλυθεί στατιστικά με υψηλή ακρίβεια, τουλάχιστον αναφορικά με τις πρόσφατες προόδους της κατανομής της δόσης στην ακτινοθεραπεία του μαστού.

Κατά συνέπεια η χρήση ραδιοβιολογικών μοντέλων για την πρόβλεψη της Α.Π. στην ακτινοθεραπεία του μαστού, συσχετίζεται άμεσα με την κατάλληλη επιλογή κριτηρίων αξιολόγησης τα οποία ενδεχομένως να πρέπει να επαναξιολογηθούν για το συγκεκριμένο κλινικό αποτέλεσμα.

## 2.1 Κλινικό υλικό και Μεθοδολογία

Η μελέτη βασίστηκε σε 150 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ακτινοθεραπεία για τον καρκίνο του μαστού μεταξύ των ετών 1998 και 1999 στο πανεπιστημιακό νοσοκομείο του Tampere, στη Φινλανδία. Η ομάδα των ασθενών επιλέχτηκε χωρίς συνειδητή προκατάληψη σχετικά με την χρησιμοποιούμενη τεχνική ακτινοθεραπείας. Ενενήντα έξι από τις ασθενείς δεν παρουσίασαν κανένα σύμπτωμα και επομένως χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα ελέγχου (control group). Οι υπόλοιπες ασθενείς εμφάνισαν μία ποικιλία επιπλοκών του πνεύμονα, ξεκινώντας από πολύ ήπιες όπως βήχας, δύσπνοια κατά την άσκηση ή ήπιο πόνο στη δερματική επιφάνεια του μαστού (39 ασθενείς), αλλά και σοβαρότερα συμπτώματα όπως οξύ βήχα και δύσπνοια κατά την ανάπαυση (15 ασθενείς).

Από τις 150 συνολικά, μόλις τριάντα έξι ασθενείς (24%) είχαν υποβληθεί σε μαστεκτομή ενώ οι υπόλοιπες είχαν υποβληθεί σε συντηρητική εκτομή (76%). Για τον σχεδιασμό της θεραπείας και τον καθορισμό του όγκου θεραπείας (PTV) χρησιμοποιήθηκε αποκλειστικά αξονική τομογραφία (CT). Η τοποθέτηση κατά την τομογραφία ήταν σε ύπτια θέση, με τους βραχίονες επάνω από την κεφαλή. Ο καθορισμός του PTV πραγματοποιήθηκε στο τρισδιάστατο σύστημα σχεδιασμού θεραπείας (TPS) CADPLAN, της εταιρίας Varian. Η ίδια θέση διατηρήθηκε και κατά την εξομοίωση της θεραπείας στον εξομοιωτή αλλά και κατά τη διάρκεια ολόκληρης της θεραπείας για όλες τις ασθενείς. Οι τομογραφικές εικόνες ελήφθησαν σε διαστήματα 15 ή 20 mm. Καλύπτοντας το σύνολο της προγραμματισμένης PTV περιοχής, με μέγεθος ογκοστοιχείου (pixel) περίπου 1,3 mm και του πάχους τομής 8 mm.

Οι τεχνικές θεραπείας που χρησιμοποιήθηκαν, περιελάμβαναν δύο αντίθετα ή σχεδόν αντίθετα ισοκεντρικά εφαπτόμενα πεδία φωτονίων (6 MV) και ανάλογα με την περίπτωση ένα πεδίο ηλεκτρονίων για το θωρακικό τοίχωμα και τους παραστερνικούς και μασχαλιαίους λεμφαδένες. Ο μέσος όγκος του ακτινοβολημένου πνεύμονα ήταν  $1333 \pm 291 \text{ cm}^3$  (διάμεσος:  $1452 \text{ cm}^3$ , εύρος:  $442\text{-}3404 \text{ cm}^3$ ). Η συνολική δόση ήταν 50 Gy και δόθηκε σε μία περίοδο πέντε εβδομάδων. Οι φυσικές κατανομές της δόσης διορθώθηκαν αναφορικά με τον κανονικοποιημένο κερματισμό χρησιμοποιώντας το γραμμικό-τετραγωνικό μοντέλο με τιμή του λόγου  $\alpha / \beta = 3 \text{ Gy}$ <sup>[74,75]</sup>. Όλες οι δόσεις που αναφέρονται σε αυτήν την εργασία έχουν διορθωθεί.

Πιο αναλυτικά, οι ραδιοβιολογικές παράμετροι που εφαρμόζονται σε ένα μοντέλο, περιγράφοντας τη σχέση δόσης – απόκρισης ενός οργάνου αναφέρονται σε μία συγκεκριμένη κατανομή της δόσης ανά συνεδρία, δηλαδή σε αυτή για την οποία έχουν υπολογιστεί. Συνεπώς πρέπει να πραγματοποιηθεί διόρθωση της δόσης ανά συνεδρία.

Όταν η ακτινοθεραπευτική τεχνική είναι απλή, με την έννοια ότι διατηρείται η ίδια τεχνική εφαρμογής της ακτινοβολίας για όλες τις συνεδρίες, η διόρθωση είναι μία σχετικά απλή διαδικασία.

Εντούτοις ο υπολογισμός της δόσης σε τεχνικές οι οποίες περιλαμβάνουν αλλαγές στο πλάνο θεραπείας μεταξύ συνεδριών ή διαφορές στον κερματισμό της δόσης αυτή η διόρθωση περιπλέκεται σημαντικά. Σε αυτές τις περιπτώσεις πρέπει να γίνει η διόρθωση του τροποποιημένου κερματισμού για κάθε περίπτωση ξεχωριστά και στη συνέχεια να συνδυαστούν προκειμένου να παραχθεί η τελική κατανομή της δόσης ως άθροισμα των επιμέρους.

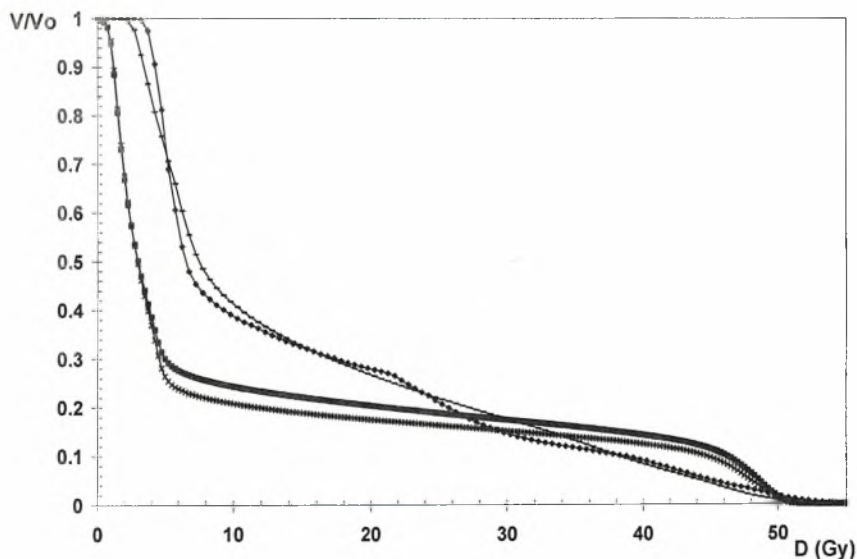
Σε όλα τα τμήματα αυτής της εργασίας η διόρθωση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το γραμμικό – τετραγωνικό μοντέλο (LQ) σύμφωνα με τον τύπο:

$$D_{\text{διορθ.}} = \frac{D * \left[ \frac{1 + (D/n)}{(\alpha/\beta)} \right]}{1 + \frac{d}{(\alpha/\beta)}}$$

Όπου  $n$  ο αριθμός των συνεδριών της συγκεκριμένης θεραπείας,  $D$  η δόση στο κάθε ογκοστοιχείο,  $d$  η ημερήσια δόση και ο λόγος  $\alpha/\beta$ .

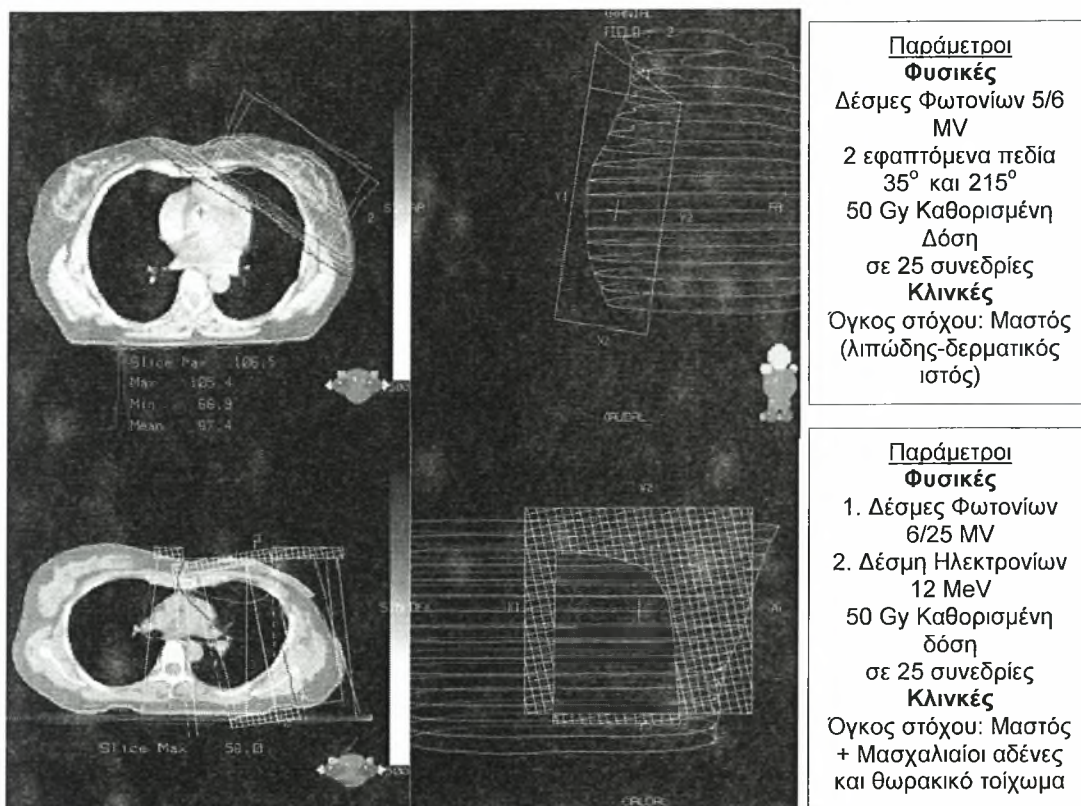
Είναι βέβαια γεγονός ότι το γραμμικό – τετραγωνικό μοντέλο, ενώ έχει αποδειχθεί πολύ ακριβές στις υψηλές δόσεις, δεν έχει ακόμα εξακριβωθεί στις δόσεις κάτω του ενός Gy. Συνειπώς η διόρθωση μπορεί να είναι μόνο προσεγγιστική σε αυτήν την χαμηλή περιοχή δόσεων, που όμως δεν είναι αμελητέα αφού είναι αποδεδειγμένο από διάφορες μελέτες ότι ειδικά οι φυσιολογικοί ιστοί είναι ιδιαίτερος ευαίσθητοι σε αυτήν την περιοχή, και άρα ενδεχομένως να απαιτείται μία διαφοροποίηση του φορμαλισμού του μοντέλου

[79,80,81,82,83,84,85,86]



Σχήμα 2.1 Ιστογράμματα δόσης – όγκου (DVH) πριν και μετά τη διόρθωση της κατανομής της δόσης για τον τροποποιημένο κερματισμό.

Ο σχεδιασμός των δεσμών στο πλάνο θεραπείας και η γεωμετρική τους σχέση με τον ακτινοβολημένο ιστό, παρουσιάζονται σε δύο αντιπροσωπευτικές αξονικές τομογραφίες αναφοράς δύο ασθενών που ακτινοβλήθηκαν με τις δύο διαφορετικές τεχνικές στην εικόνα 2.2. Απεικονίζονται οι ανατομικές δομές που περιελήφθησαν σε κάθε κλινική περίπτωση όπως και η κατανομή της απορροφώμενης δόσης στον αντίστοιχο ασθενή υπό τη μορφή ισοδοσιακών καμπυλών.



**Εικόνα 2.2** Αξονικές τομογραφίες αναφοράς που απεικονίζουν τον σχεδιασμό των δεσμών στο πλάνο θεραπείας και τη γεωμετρική τους σχέση με τον ακτινοβολημένο ιστό για την κλινική περίπτωση της μερικής χειρουργικής αφαίρεσης (άνω διάγραμμα), και την κλινική περίπτωση της μαστεκτομής (κάτω διάγραμμα). Οι πίνακες περιέχουν μια περίληψη των φυσικών και κλινικών παραμέτρων του εφαρμοσμένου πλάνου θεραπείας.

Η θεραπευτική προσέγγιση ενός μέρους των ασθενών με μονομερή στάδια επιθετικού καρκίνου του μαστού I και II πραγματοποιήθηκε με συντηρητική εκτομή, λεμφαδενικό καθαρισμό της μασχάλης και ακτινοθεραπεία. Η τοπική υποτροπή της νόσου μετά από συντηρητική χειρουργική επέμβαση είναι πολύ χαμηλή για τον καρκίνο του μαστού που βρίσκεται σε πρώιμο στάδιο και ειδικά όταν συνδυάζεται με την μετά-χειρουργική ακτινοθεραπεία. Σε αυτού του είδους τις περιπτώσεις χρησιμοποιούνται δύο αντίθετα επαπτόμενα πεδία φωτονίων 5 ή 6 MV και το πλάνο θεραπείας συνήθως συμπεριλαμβάνει το στήθος, το θωρακικό τοίχωμα και τους περιφερειακούς λεμφαδένες (εικόνα 2.2, άνω διάγραμμα).

Ανάλογα με την περίπτωση, μία επιπλέον δέσμη φωτονίων εφαρμόζεται προκειμένου να συμπεριληφθούν οι λεμφαδένες της κορυφή της μασχάλης και ο υπερκλείδιος βόθρος. Για τους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ολική μαστεκτομή, το πλάνο θεραπείας αποτελείται από δύο αντίθετα πεδία φωτονίων και ένα πεδίο ηλεκτρονίων για την ακτινοβόληση του θωρακικού τοιχώματος και των παραστερνικών λεμφαδενικών περιοχών (εικόνα 2.2, κάτω διάγραμμα).

Μια περίληψη της θεραπευτικής προσέγγισης και του συνόλου της ομάδας ασθενών απεικονίζεται στον πίνακα 2.1α.

<b>Ηλικία (έτη)</b>	
Μέση	61
Εύρος	30-83
Γένος	Θήλυ
<b>Βαθμός Ακτινικής Πνευμονίτιδας</b>	
Όχι – Ήπια	135 (90%)
Μέση - Δριμεία	15 (10%)
<b>Κλινική Περίπτωση</b>	
Μαστεκτομή	36 (24%)
Μερική εκτομή	114 (76%)
<b>Πλευρά (%)</b>	
Αριστερά	78
Δεξιά	22
<b>Χημειοθεραπεία (%)</b>	
Ναί	20.5
Όχι	79.5
Δόση ανά Συνεδρία	2.0 Gy

**Πίνακας 2.1α Κλινικά χαρακτηριστικά της ομάδας ασθενών**

Το κλινικό αποτέλεσμα που εξετάζεται ως επιπλοκή στην παρούσα μελέτη είναι η ακτινική πνευμονίτιδα. Η αξιολόγησή της πραγματοποιήθηκε αναδρομικά βάση των στοιχείων της κλινικής διάγνωσης και των ακτινολογικών ευρημάτων.

#### **Ταξινόμηση και βαθμονόμηση των μετακτινικών αντιδράσεων.**

Για την ακριβέστερη καταγραφή στην στατιστική ανάλυση είναι απαραίτητη η αντικειμενική περιγραφή των μετακτινικών αντιδράσεων. Οι αντιδράσεις αυτές είναι φυσικά διαφορετικές μεταξύ των υγιών-φυσιολογικών ιστών και των νεοπλασμάτων, αλλά γενικά ανάλογα με το βιολογικό αποτέλεσμα που μελετάται έχουμε τα εξής είδη :

- Δυαδικές: είναι του τύπου ναι/ όχι, π.χ. ακτινική μυελίτιδα.

- Βαθμιδωτές: ο βαθμός της αντίδρασης αυξάνεται: 0 (καμία), I (ελαφρά), II (μέτρια), III (βαριά), IV (πολύ βαριά, θάνατος). Παραδείγματα: τηλεαγγειεκτασία, ακτινική κυστίτιδα, ακτινική εντερίτιδα κ.α.
- Συνεχείς: η αντίδραση περιγράφεται από έναν αριθμό- εργαστηριακή τιμή, π.χ. η τιμή FEV<sub>1</sub> μετά από ακτινοβολήση του πνεύμονα.

Διαφορετικά κέντρα ακτινοθεραπείας εφαρμόζουν διαφορετικά συστήματα ταξινόμησης για να καταγράψουν τα αποτελέσματα αυτά. Τέτοια συστήματα ταξινόμησης για τις επιπλοκές του φυσιολογικού ιστού είναι το RTOG το EORTC και LENT SOMA [63,90,91,92]. Οι επιπλοκές του ιστού είναι συνήθως ταξινομημένες ως δυαδικά ή βαθμολογημένα αποτελέσματα. Τα δυαδικά αποτελέσματα σχετίζονται με τα αυξανόμενα ποσοστά επίπτωσης της δόσης και όχι με την αυξανόμενη ένταση της απόκρισης. Αντίθετα, τα βαθμολογημένα αποτελέσματα αποτελούνται από διάφορα στοιχεία και συμπτώματα (π.χ. μετρήσεις πυκνότητας CT και διάρροιας), τα οποία μπορούν να μεταφραστούν σε βαθμολογημένες απαντήσεις.

Ειδικά στην περίπτωση του καρκίνου του μαστού, τουλάχιστον με τις πιο σύγχρονες τεχνικές τα ποσοστά εμφάνισης της επιπλοκής της ακτινικής πνευμονίτιδας εμφανίζονται πολύ χαμηλά. Οι επιπλοκές που παρατηρούνται είναι πολύ ήπιες και έτσι τα παραδοσιακά κριτήρια ενδεχομένως να μην μπορούν να απεικονίσουν την πραγματική κατάσταση.

Κατά συνέπεια τα κριτήρια αξιολόγησης που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ένας συνδυασμός των σημαντικότερων δημοσιευμένων κριτηρίων τοξικότητας, RTOG/EORTC και LENT SOMA ώστε να ληφθεί υπόψη η μειωμένη εμφάνιση της εξεταζόμενης κλινικής επιπλοκής. Τα συμπτώματα που υποβοήθησαν την κλινική διάγνωση όπως: αναπνευστικά προβλήματα, πόνος στη δερματική περιοχή του στήθους κ.λ.π. επαναξιολογήθηκαν και μειώθηκαν σε έναν βαθμό επιπλοκής από 0 έως 2, αντί της παραδοσιακής κλίμακας 0 έως 5. Τρεις διαφορετικές μετρήσεις χρησιμοποιήθηκαν για να αξιολογήσουν τη συχνότητα αλλά και τη δριμύτητα των ακτινικών αντιδράσεων στους φυσιολογικούς ιστούς (δέρμα, μαστός, πνεύμονας) και την σχέση μεταξύ των συμπτωμάτων κατά τη διάρκεια και μετά της ακτινοθεραπείας μέχρι ενός διαστήματος 6 μηνών.

Προκειμένου να καταγραφούν τα κλινικά αποτελέσματα, χρησιμοποιήθηκε ένα κλινικό πρωτόκολλο παρακολούθησης αποτελούμενο από ερωτήσεις που αφορούσαν συμπτώματα ενόχλησης στην περιοχή της εφαρμογής της ακτινοβολίας καθώς επίσης και συμπτώματα αναφορικά με την αναπνευστική λειτουργία (π.χ. δύσπνοια, βήχας, πυρετός, πόνος). Επίσης αξιολογήθηκαν από ιατρό-ακτινολόγο, ευρήματα σε

ακτινογραφίες θώρακος κατά το ξεκίνημα της θεραπείας και 3, 6 και 12 μήνες μετά από την λήξη της. Τέλος, η αξιολόγηση ενισχύθηκε από την εκτίμηση των συμπτωμάτων και των κλινικών συμπερασμάτων από ειδικευμένο παθολόγο ως μια αντικειμενική άποψη, στην αρχή της θεραπείας και σε επισκέψεις των 3 και 6 μηνών. Μια περίληψη των κριτηρίων αξιολόγησης που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτήν την μελέτη απεικονίζεται στον πίνακα 2.1.β.

RTOG/EORTC Βαθμοί Αξιολόγησης	0 (Όχι Α.Π.)	1 (Πολύ ήπια/ Όχι Α.Π.)	2 (Ήπια Α.Π.)	3 (Α.Π.)	4 (Οξεία Α.Π.)
<b>Κλινικά συμπτώματα (Οξεία εκτίμηση)</b>	Καμία αλλαγή	Ήπια συμπτώματα ή ξηρός βήχας ή δύσπνοια στην άσκηση	Επίμονος βήχας που απαιτεί ναρκωτικά αντιβηχικά	Οξύς βήχας που δεν αποκρίνεται σε ναρκωτικά αντιβηχικά ή ακτινολογικά ευρήματα οξείας πνευμονίτιδας	Οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια Υποβοηθούμενη αναπνευστική λειτουργία
<b>Κλινικά συμπτώματα (Όψιμη εκτίμηση)</b>	Καμία αλλαγή	Ασυμπτωματικά ή ήπια συμπτώματα (ξηρός βήχας)	Μέτρια συμπτωματική ίνωση (οξύς βήχας) Ετερόκλητα ακτινογραφικά ευρήματα	Οξεία συμπτωματική ίνωση ή πνευμονίτιδα Αξιοσημείωτες ακτινογραφικές αλλαγές	Οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια Υποβοηθούμενη αναπνευστική λειτουργία
SOMA Βαθμοί Αξιολόγησης		1 (Όχι Α.Π.)	2 (Πολύ ήπια/ Όχι Α.Π.)	3 (Α.Π.)	4 (Οξεία Α.Π.)
<b>Κλινικά συμπτώματα</b>		Ήπια συμπτώματα/ καμία θεραπεία	Μέτρια συμπτώματα/ ήπια θεραπεία	Οξεία συμπτώματα / επιθετική θεραπεία	Οξεία συμπτωματική ίνωση ή πνευμονίτιδα
Βαθμοί Αξιολόγησης Tsougos και συν	0 (Όχι Α.Π.)	1 (Πολύ ήπια/ Όχι Α.Π.)	2 (Α.Π.)		
<b>Κλινικά συμπτώματα</b>	Καμία αλλαγή	Ήπια συμπτώματα ή ξηρός βήχας ή δύσπνοια στην άσκηση ή με την ελάχιστη προσπάθεια αλλά όχι σε ανάπαυση. Πόνος στην περιοχή του μαστού.	Ελλείπει εντονότερων συμπτωμάτων: κλινικά και ακτινολογικά στοιχεία πνευμονίτιδας, αναπνευστική ανεπάρκεια, βήχας και δύσπνοια σε ανάπαυση.		

**Πίνακας 2.1β Κλινικά κριτήρια αξιολόγησης της ακτινικής πνευμονίτιδας (Α.Π.) (συνδυασμός του RTOG/EORTC, και LENT-SOMA).**



### Τα Ραδιοβιολογικά Μοντέλα που αξιολογήθηκαν

Ο στόχος της ανάλυσης ήταν να αξιολογηθεί η δύναμη πρόβλεψης επιπλοκής των διαφορετικών μοντέλων δόσης-απόκρισης, με χρήση δημοσιευμένων παραμέτρων. Τα μοντέλα NTCP που εξετάστηκαν είναι α) το μοντέλο σχετικής σειριακότητας (Seriality) με τρία διαφορετικά σύνολα παραμέτρων, (Gagliardi και συν 2000, Mah και συν 1987, Serpenwoolde και συν 2003) β) το μοντέλο LKB με παραμέτρους Burman και συν 1991 και γ) το μοντέλο παραλληλότητας (Parallel) με παραμέτρους από Serpenwoolde και συν 2003 [74,89,90].

**α) Το μοντέλο σχετικής σειριακότητας.** Για να αναλυθεί η μαθηματική έκφρασή του, το γραμμικό-τετραγωνικό μοντέλο Poisson παρουσιάζεται πρώτα ως: [66]

$$P(D) = \exp\left(-e^{\gamma} - \alpha nd - \beta nd^2\right) \approx \exp\left[-e^{\gamma - \left(D/D_{50}\right) \cdot (\gamma - \ln \ln 2)}\right] \quad (1)$$

Όπου το  $P(D)$  εκφράζει την πιθανότητα πρόκλησης ακτινικής επιπλοκής του φυσιολογικού ιστού (σε αυτήν την περίπτωση Α.Π. στον πνεύμονα) όταν αυτός ακτινοβολείται ομοιόμορφα με μια δόση  $D$ . Η δόση ανά συνεδρία ισούται με  $d=D/n$ , όπου το  $n$  είναι ο αριθμός των συνεδριών.  $D_{50}$  είναι η δόση, η οποία δίνει μια πιθανότητα απόκρισης 50%, και  $\gamma$  είναι η μέγιστη κανονικοποιημένη κλίση της καμπύλης δόσης-απόκρισης, η οποία είναι τοποθετημένη λίγο υψηλότερα από το σημείο απόκρισης του 37% στην καμπύλη δόσης-απόκρισης. Η δεύτερη ισότητα της εξίσωσης (1) ισχύει στην περιοχή δόσεων γύρω από το  $D_{50}$  και δίνει την πιθανότητα επιπλοκής χρησιμοποιώντας δεύτερου βαθμού προσέγγιση μιας τροποποιημένης Poisson εξίσωσης (βλ. Kallman και συν 1992, παράρτημα [94]).

Προκειμένου να συγκριθεί η θεραπεία που έλαβαν οι ασθενείς, οι φυσικές κατανομές της δόσης υπο τη μορφή ιστογραμμάτων δόσης όγκου, διορθώθηκαν αναφορικά με τον κερματισμό της δόσης [95], και κάθε βήμα δόσης στα ιστογράμματα διορθώθηκε ξεχωριστά χρησιμοποιώντας το γραμμικό-τετραγωνικό πρότυπο με λόγο  $\alpha/\beta=3,0$  Gy.

Σε αυτή τη φάση η ενδογενής ακτινευαισθησία υποτέθηκε ότι ήταν ομοιογενής για όλο τον όγκο των πνευμόνων. Οι παράμετροι  $D_{50}$  και  $\gamma$  (ή  $\alpha$  και  $\beta$ ) είναι συγκεκριμένες για κάθε όργανο και συγκεκριμένες για το είδος επιπλοκής (κλινικό αποτέλεσμα) που εξετάζεται.

Οι επιπλοκές που παρατηρήθηκαν στους φυσιολογικούς ιστούς κατόπιν ακτινοθεραπείας αναλύονται από την άποψη της αδρανοποίησης των λειτουργικών υπομονάδων του οργάνου (FSUs). Η οργάνωση του FSUs περιγράφεται σαν σειριακή, παράλληλη ή ένας

συνδυασμός αυτών των δύο τύπων. Τα όργανα με παράλληλη υποδομή έχουν ισχυρή εξάρτηση όγκου δεδομένου ότι το όργανο μπορεί να διατηρήσει το μεγαλύτερο μέρος της λειτουργίας του ακόμα και όταν βλάπτεται ένα μεγάλο ποσοστό των υπομονάδων του. Αφ' ετέρου, τα όργανα με σειριακή υποδομή έχουν μικρή εξάρτηση όγκου δεδομένου ότι κάθε υπομονάδα είναι ζωτικής σημασίας για τη λειτουργία οργάνων.

Το μοντέλο σχετικής σειριακότητας είναι ένα από τα μοντέλα που συνυπολογίζουν αυτή την επίδραση όγκου. Συνεπώς για μια ετερογενή κατανομή δόσης, η απόκριση των φυσιολογικών ιστών  $P_1$  [94,96] δίνεται από την έκφραση:

$$P_1 = [1 - \prod_{i=1}^M (1 - P(D_i)^s)^{\Delta v_i}]^{1/s} \quad (2)$$

Σε αυτήν την μελέτη, όγκος αναφοράς θεωρείται ολόκληρος ο πνεύμονας στον οποίο αναφέρονται οι παράμετροι  $D_{50}$  και  $\gamma$  [97,98].

Υπάρχει η άποψη ότι το μοντέλο σχετικής σειριακότητας είναι μια μίξη της θεωρούμενης σχετικής σειριακότητας του ιστού με μια παράλληλη συμπεριφορά, η οποία μπορεί να έχει σαν συνέπεια την ερμηνεία του μοντέλου ως φαινομενολογικού (Stavreva και Stavren 2002) [99]. Εντούτοις, ο Brahme (2002) [100], επισημαίνει ότι κατα τον ίδιο τρόπο χαρακτηρίζονται σχεδόν όλα τα μοντέλα που προσπαθούν να περιγράψουν τις επιπλοκές των φυσιολογικών ιστών

Επειδή κάθε ασθενής στον πληθυσμό της μελέτης λαμβάνει μια διαφορετική κατανομή δόσεων, και προκειμένου να είμαστε σε θέση να συγκρίνουμε αυτές οι κατανομές με ραδιοβιολογικούς όρους, χρησιμοποιήθηκε η έννοια της βιολογικά ισοδύναμης ομοιόμορφης δόσης  $\bar{D}$ .

Βιολογικά ισοδύναμη, θεωρείται η ομοιόμορφη δόση που προκαλεί ακριβώς τον ίδιο έλεγχο όγκων ή την πιθανότητα επιπλοκής φυσιολογικού ιστού με την πραγματική κατανομή δόσης [101].

$$\bar{D} = \frac{e\gamma - \ln(-\ln(P_1(\bar{D})))}{e\gamma - \ln(\ln 2)} \quad (3)$$

Έτσι υπολογίζεται η ομοιόμορφη δόση που είναι βιολογικά τόσο αποτελεσματική όσο η κατανομή της δόσης που αποδίδεται στον πνεύμονα για κάθε ασθενή.

**β) Το μοντέλο LKB και το μοντέλο Παραλληλότητας** Από την άποψη της φυσικής κατανομής της δόσης, το DVH μιας ομοιόμορφης κατανομής μπορεί να αντικαταστήσει την τρισδιάστατη κατανομή της δόσης ενός οργάνου σε κίνδυνο μόνο προσεγγιστικά. Ομοίως, μια ομοιόμορφη δόση που ακτινοβολεί ολόκληρο το όργανο θεωρείται ως αντίστοιχη της αρχικής ετερογενούς κατανομής της δόσης μόνο όταν παράγουν και οι δύο το ίδιο NTCP <sup>[69]</sup>. Αυτή η δόση καλείται ισοδύναμη ομοιόμορφη δόση (EUD).

Στο μοντέλο LKB (Kutcher και Burman 1989, Lyman 1985), οι εκτιμήσεις NTCP βασίζονται σε έναν αλγόριθμο αναγωγής του DVH, ο οποίος δημιουργεί ένα απλού βήματος ιστόγραμμα που έχει την ίδια πιθανότητα επιπλοκής με το αρχικό ιστόγραμμα. Κατά αυτό τον τρόπο η ετερογενής κατανομή της δόσης μετασχηματίζεται σε μια ισοδύναμη ομοιόμορφη ακτινοβολή ολόκληρου του πνεύμονα με μια ισοδραστική δόση. Για το μοντέλο LKB, οι κατανομές αυτές μπορούν να μετασχηματιστούν σε πιθανότητες επιπλοκής με τη χρήση του μοντέλου τεσσάρων-παραμέτρων του Lyman, αφού πρώτα αναχθεί το DVH σε EUD με την εξής σχέση:

$$EUD_{LKB} = \left( \sum_i D_i^{1/n} \frac{V_i}{V_{tot}} \right)^n \quad (4)$$

Με τον ίδιο τρόπο, για το μοντέλο παραλληλότητας <sup>[102]</sup>, η μαθηματική έκφραση EUD αλλάζει ως εξής:

$$EUD_{parallel} = D_{50} \left( \left[ \sum_i \frac{1}{1 + (D_{50}/D_i)^k} \cdot \frac{V_i}{V_{tot}} \right]^{-1} - 1 \right)^{\frac{1}{k}} \quad (5)$$

Και τα δύο μοντέλα είναι παραλλαγές του γενικού μοντέλου παραλληλότητας, και στην ειδική περίπτωση που:  $D_{50} \rightarrow \infty \cdot D_{50} \rightarrow 0$  τότε  $EUD_{parallel} = EUD_{LKB}$  με  $n=1/k$

Η κύρια υπόθεση που γίνεται στο μοντέλο Lyman είναι ότι  $D_{50}$  κατανέμεται κανονικά μεταξύ του πληθυσμού. Ως εκ τούτου, εάν ένα όργανο ακτινοβολείται ομοιογενώς με μια δόση  $D$  η πιθανότητα της επιπλοκής μπορεί να περιγραφεί από την ακόλουθη συσσωρευτική κανονική κατανομή:

$$NTCP = \Phi \left( \frac{D - D_{50}}{\sigma_{50}} \right) \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\frac{D - D_{50}}{\sigma_{50}}} e^{-\frac{t^2}{2}} dt \quad (6)$$

Η περίπτωση της μερικώς ομοιόμορφης ακτινοβολίας συμπεριλαμβάνεται υπολογίζοντας εκ νέου το  $D_{50}$  (Schultheiss και λοιποί 1983, withers και λοιποί το 1984) ως εξής:  $D_{50}(v) = D_{50}(\text{Whole Organ})v^{-n}$ , όπου το  $n$  είναι μια συγκεκριμένη άγνωστη παράμετρος του οργάνου [98,103]. Διάφορες ομάδες έχουν προτείνει τρόπους συνυπολογισμού της ετερογενούς ακτινοβόλησης και έχουν εισαγάγει την ιδέα της αναγωγής του ιστογράμματος της δόσης (Dose histogram reduction algorithm) (Kutcher και Burman 1989, Kutcher και συν 1991, Lyman και Wolbarst 1987, Lyman και Wolbarst 1989). Για τις περιπτώσεις των ετερογενώς ακτινοβολημένων οργάνων, οι Niemierko και Goitein [44] έχουν προτείνει την ακόλουθη έκφραση για την ομοιόμορφη ισοδύναμη δόση, EUD:

$$EUD = \left( \sum_i v_i \sqrt{D_i} \right)^n \quad (7)$$

όπου χρησιμοποιείται το διαφορικό ιστόγραμμα δόσης-όγκου (DDVH) και καθορίζεται από το σύνολο  $\left( v_i = \frac{V_i}{V_{\text{organ}}}, D_i \right) \cdot \left( \sum_i v_i \sqrt{D_i} \right)^n$  που προτείνεται από τον Lyman. Στην πραγματικότητα, ο όρος  $\left( \sum_i v_i \sqrt{D_i} \right)^n$  αντιπροσωπεύει την γενικευμένη μέση δόση (generalized mean dose) που αναφέρεται από αρκετούς συγγραφείς [104].

Προκειμένου να υπολογιστεί η πιθανότητα επιπλοκής του φυσιολογικού ιστού NTCP από το EUD, έχει χρησιμοποιηθεί η ακόλουθη μαθηματική έκφραση από Serpenwoolde και συν 2003:

$$NTCP = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^t e^{-\frac{x^2}{2}} dx \quad (8)$$

όπου:  $t = (EUD - TD_{50}) / m * TD_{50}$ .

Η λύση της ανωτέρω εξίσωσης μπορεί να προσεγγιστεί μέσω της εξίσωσης λάθους (error function ή erf) που υπολογίζεται εύκολα ως εξής: Μια κανονικοποιημένη μορφή της συσσωρευτικής εξίσωσης κανονικής κατανομής, που δίνει την πιθανότητα ότι μία μεταβλητή δίνει μία τιμή στο διάστημα  $[0, x]$ , ισούται:

$$\Phi(x) \equiv Q(x) \equiv \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_0^x e^{-t^2/2} dt. \quad (i)$$

Και συσχετίζεται με το ολοκλήρωμα της πιθανότητας ως εξής:

$$\alpha(x) \equiv \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-x}^x e^{-t^2/2} dt \quad (ii)$$

από

$$\Phi(x) = \frac{1}{2} \alpha(x). \quad (\text{iii})$$

Εάν υποθέσουμε ότι  $u \equiv t/\sqrt{2}$  τότε  $du = dt/\sqrt{2}$ .

Οπότε:

$$\Phi(x) = \frac{1}{\sqrt{\pi}} \int_0^{x/\sqrt{2}} e^{-u^2} du = \frac{1}{2} \operatorname{erf}\left(\frac{x}{\sqrt{2}}\right). \quad (\text{iv})$$

Όπου, erf καλείται η εξίσωση λάθους (Error Function) και υπολογίζεται εύκολα.

Συνεπώς η πιθανότητα μιας φυσιολογικής μεταβλητής να δώσει τιμή στο διάστημα  $[x_1, x_2]$  δίνεται από :

$$\Phi(x_1, x_2) = \frac{1}{2} \left[ \operatorname{erf}\left(\frac{x_2}{\sqrt{2}}\right) - \operatorname{erf}\left(\frac{x_1}{\sqrt{2}}\right) \right]. \quad (\text{v})$$

Στην περίπτωση που κανείς αναφέρεται στο διάστημα  $[-\infty, 0]$  τότε η  $\Phi(x)$  εκφράζεται από:

$$\begin{aligned} \mathbf{n}(x) & \equiv \left| \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^x e^{-t^2/2} dt \right. & (\text{vi}) \\ & = \Phi(-\infty, x) & (\text{vii}) \\ & = \frac{1}{2} + \Phi(x) & (\text{viii}) \\ & = \frac{1}{2} \left[ 1 + \operatorname{erf}\left(\frac{x}{\sqrt{2}}\right) \right] & (\text{ix}) \end{aligned}$$

Ιδιαίτερη προσοχή χρειάζεται κατά την εφαρμογή σε αρνητικές τιμές του t, όπου πρέπει να εφαρμοστεί:

$$\Phi(-t) = 1 - \Phi(t) = 1 - \Phi(-(-t))$$

Είναι σαφές ότι η σχέση NTCP καθορίζεται από τη δόση για ποσοστό επιπλοκής 50% ( $TD_{50}$ ), και την παράμετρο της κλίσης της καμπύλης  $m$  (η κλίση αυξάνεται με τη μείωση της  $m$ )<sup>[74]</sup>.

Οι έννοιες  $\bar{D}$  και EUD έχουν διαφορές στους ορισμούς και τον τρόπο υπολογισμού τους, εντούτοις από φιλοσοφική άποψη και οι δύο προσπαθούν να εξυπηρετήσουν τον ίδιο σκοπό. Συνεπώς, προκειμένου να επισημανθούν οι διαφορές και οι ομοιότητές τους, και οι δύο σημειογραφίες χρησιμοποιήθηκαν ταυτόχρονα για το μοντέλο της σειριακής παραλληλότητας ως εξής  $\bar{D} | EUD_{R-S}$ .

## Διαφορά μεταξύ $\bar{\bar{D}}$ και EUD

Για την εξέταση των καμπυλών δόσης-αντίδρασης, χρησιμοποιήθηκαν και η βιολογικά ισοδύναμη ομοιόμορφη δόση  $\bar{\bar{D}}$ , και η ισοδύναμη ομοιόμορφη δόση EUD, έτσι ώστε η θέση κάθε ασθενούς του πληθυσμού της μελέτης να μπορεί να βρεθεί στη θεωρητική καμπύλη απόκρισης.

Η διάκριση μεταξύ των εννοιών  $\bar{\bar{D}}$  και EUD βασίζεται στο γεγονός ότι η πρώτη προσπαθεί να συνδέσει την κατανομή της δόσης που αποδίδεται σε έναν ιστό με την πιθανότητα της ακτινικής απόκρισης του ιστού (δηλαδή την πιθανότητα εκδήλωσης μιας ορισμένης κλινικής παρενέργειας μετά από την ακτινοθεραπεία), ενώ η δεύτερη έννοια προσπαθεί να συνδέσει την κατανομή της δόσης με τα λειτουργικά επίπεδα επιβίωσης των κυττάρων (τουλάχιστον οι αρχικοί ορισμοί EUD). Η διαφορά γίνεται περισσότερο αντιληπτή από τους ορισμούς των δύο εννοιών, οι οποίοι ακολουθούν:

- Βιολογικά ισοδύναμη ομοιόμορφη δόση  $\bar{\bar{D}}$ , καλείται η ομοιόμορφη δόση ακτινοβολίας που μπορεί να προκαλέσει ακριβώς τον ίδιο έλεγχο όγκου ή πιθανότητα επιπλοκής φυσιολογικού ιστού, που θα προκαλούσε μια δεδομένη ετερογενής κατανομή δόσης ακτινοβολίας <sup>[75]</sup>.
- EUD, καλείται η ισοδύναμη ομοιόμορφη δόση, η οποία υποθέτει ότι οποιεσδήποτε δύο κατανομές δόσης ακτινοβολίας είναι ισοδύναμες εάν μπορούν να προκαλέσουν ακριβώς την ίδια βιολογική επίδραση από την άποψη των επιζώντων κλωνογόνων κυττάρων <sup>[76]</sup>.

Επιπλέον, είναι φανερό από την εργασία των Kwa και συν (1998) <sup>[46]</sup> ότι προκειμένου να υπολογιστεί η πιθανότητα επιπλοκής του φυσιολογικού ιστού, NTCP, πρέπει πρώτα να υπολογιστεί η EUD με τεχνική αναγωγής του DVH.

Αντίθετα, στην περίπτωση της  $\bar{\bar{D}}$ , υπολογίζεται πρώτα η NTCP από την τρισδιάστατη κατανομή της δόσης και στη συνέχεια από αυτήν την τιμή της NTCP καθορίζεται η τιμή της  $\bar{\bar{D}}$ . Σε αυτή την περίπτωση, η θεμελιώδης υπόθεση ότι τα αρχικά και τα τελικά DVHs αποδίδουν την ίδια πιθανότητα επιπλοκής ισχύει εξ ορισμού.

Στην περίπτωση της EUD αυτή η υπόθεση δεν είναι δεδομένη ειδικά όταν δεν λαμβάνεται υπόψη η πιθανή ενδογενής ακτινοευαισθησία του ιστού. Η έννοια της EUD συνεχίζει να υφίσταται ως ένα ορισμένο βαθμό τους περιορισμούς της έννοιας  $D_{EFF}$  <sup>[78]</sup>.

Τα στοιχεία των κατανομών δόσης - όγκου από το πλάνο κάθε ασθενούς εισάγονταν στα ραδιοβιολογικά μοντέλα και υπολογίζονταν οι αντίστοιχες τιμές NTCP, για το σύνολο των δημοσιευμένων παραμέτρων.

### **Δημιουργία Λογισμικού για τον αυτοματοποιημένο υπολογισμό των πιθανοτήτων.**

Για την αυτοματοποίηση της διαδικασίας υπολογισμού των πιθανοτήτων από τα ραδιοβιολογικά μοντέλα, δημιουργήθηκε ένα λογισμικό με δυνατότητα προσαρμογής των ραδιοβιολογικών παραμέτρων, βασισμένο σε Excell.

Στο λογισμικό αυτό περιλαμβάνονται προεγκατεστημένα όλα τα διαθέσιμα ραδιοβιολογικά μοντέλα σε διαφορετικά φύλλα εργασίας του προγράμματος EXCELL. Από το χρήστη επιλέγεται το φύλλο που αντιστοιχεί στο μοντέλο ενδιαφέροντος, και στη συνέχεια του δίνεται η δυνατότητα εισαγωγής των ραδιοβιολογικών παραμέτρων που θα χρησιμοποιηθούν (π.χ.  $D_{50}$ ,  $\gamma$ ,  $s$ ,  $m$ ,  $n$ )

Στη συνέχεια δίνεται η δυνατότητα εισαγωγής των δεδομένων επεξεργασίας, από το σύστημα σχεδιασμού θεραπείας (τιμές δόσης και όγκου). Με την εισαγωγή της απορροφώμενης δόσης γίνεται αυτόματα η διόρθωση της δόσης από το πρόγραμμα, χρησιμοποιώντας το γραμμικό – τετραγωνικό μοντέλο (LQ).

Μετά τη διόρθωση της δόσης, το πρόγραμμα υπολογίζει αυτόματα την τελική τιμή επιπλοκής του φυσιολογικού ιστού (NTCP), και παράλληλα σχεδιάζει την καμπύλη δόσης –απόκρισης.

Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται σε τέσσερα διαφορετικά βήματα.

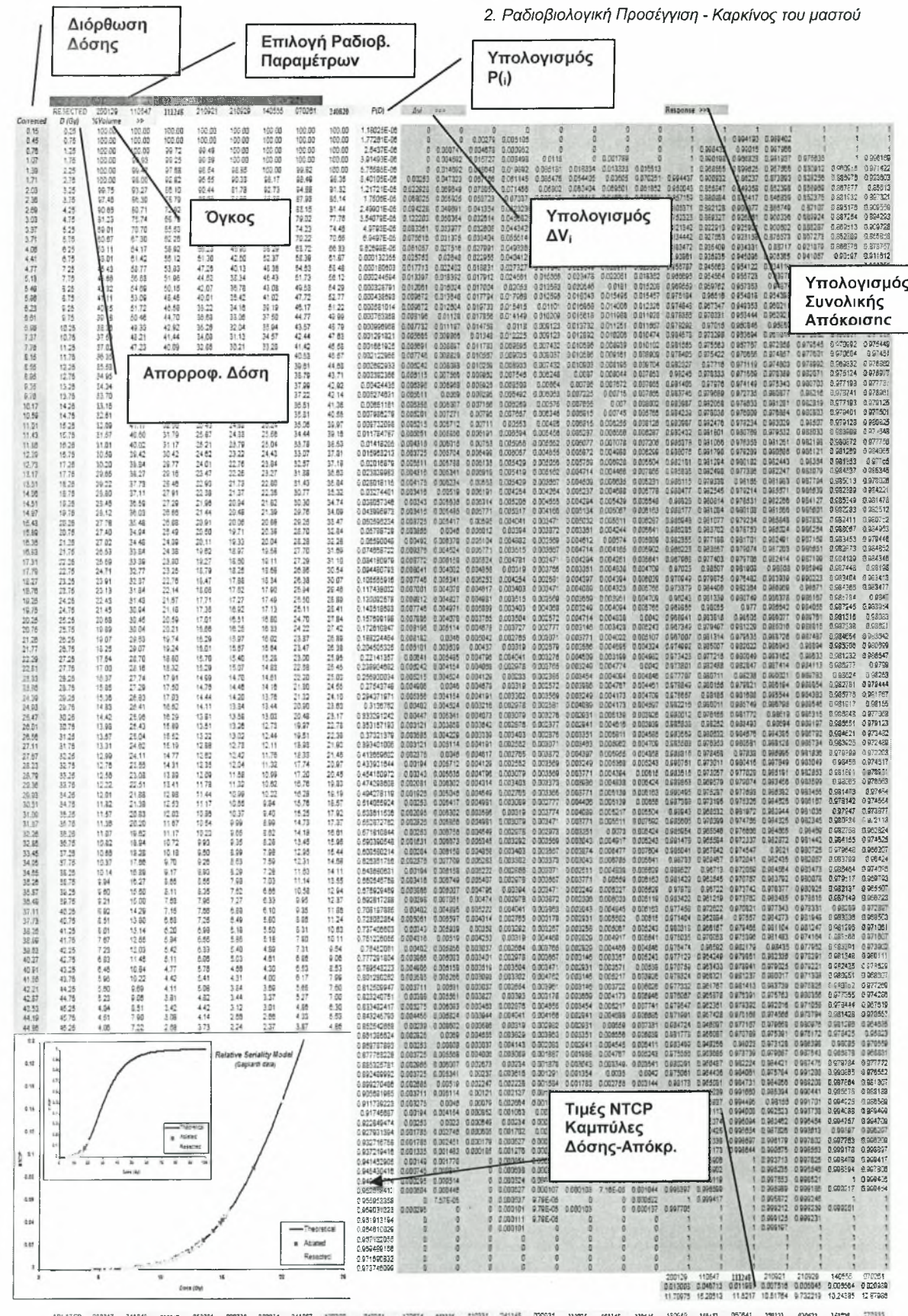
Βήμα 1<sup>ο</sup> : Υπολογισμός της πιθανότητας  $P(i)$  για κάθε ογκοστοιχείο (voxel)

Βήμα 2<sup>ο</sup> : Υπολογισμός του κλασματικού όγκου ( $\Delta V_i$ )

Βήμα 3<sup>ο</sup> : Υπολογισμός της συνολικής απόκρισης

Βήμα 4<sup>ο</sup> : Υπολογισμός NTCP και δημιουργία καμπύλης Δόσης - Απόκρισης

Στην εικόνα 2.3 παρατίθεται ένα ενδεικτικό παράδειγμα της μορφής του λογισμικού, όπου απεικονίζεται το σύνολο των διαδικασιών του υπολογισμού της πιθανότητας επιπλοκής και της δημιουργίας της καμπύλης δόσης - απόκρισης.



Εικόνα 2.3 Ενδεικτικό παράδειγμα που λογισμικό που δημιουργήθηκε για τον υπολογισμό των πιθανοτήτων επιπλοκής βάσει ραδιοβιολογικών μοντέλων, από τα δεδομένα του συστήματος σχεδιασμού θεραπείας.



Οι τιμές των ραδιοβιολογικών παραμέτρων αλλά και τα διαστήματα εμπιστοσύνης τους δεν ήταν δυνατό να υπολογιστούν για την συγκεκριμένη ομάδα των ασθενών η οποία μελετήθηκε γιατί η εμφάνιση της Α.Π. ήταν πάρα πολύ χαμηλή (επίπτωση ομάδας < 10%). Συνεπώς, χρησιμοποιήθηκαν πρότυπες παράμετροι και που έχουν ήδη δημοσιευθεί από άλλες ομάδες (Burman και συν 1991, Gagliardi και συν 2000, Mah και συν 1987, Serpenwoolde και συν 2003).

Εντούτοις το γεγονός αυτό αποδείχθηκε χρήσιμη παράμετρος δεδομένου ότι έτσι μπορεί να πραγματοποιηθεί μία εκτίμηση της ασφάλειας με την οποία μπορεί κανείς να χρησιμοποιεί δημοσιευμένες παραμέτρους στην κλινική πράξη αναφορικά με παρόμοιο υλικό που είναι άλλωστε και ο απώτερος στόχος. Μια περίληψη των τιμών αυτών απεικονίζεται στον πίνακα 2.2.

Μοντέλα	Τιμές Παραμέτρων*			
<b>Σχετικής Σειριακότητας</b>	<b><math>D_{50}</math> (Gy)</b>	<b><math>\gamma</math></b>	<b><math>s</math></b>	<b><math>\alpha/\beta</math></b>
Serpenwoolde συν 2003	34	0.9	0.06	2.5 - 3.0
Gagliardi συν 2000	30.1	0.97	0.01	3.0
Mah συν 1987	26	2	0.031	-
<b>Μοντέλο LKB</b>	<b><math>TD_{50}</math> (Gy)</b>	<b><math>m</math></b>	<b><math>n</math></b>	<b><math>\alpha/\beta</math></b>
Burman συν 1991	24.5	0.18	0.87	-
<b>Μοντέλο Παραλληλότητας</b>	<b><math>TD_{50}</math> (Gy)</b>	<b><math>m</math></b>	<b><math>n</math></b>	<b><math>\alpha/\beta</math></b>
Serpenwoolde <i>et al</i> 2003	31	0.32	0.67	2.5 - 3.0

\*Όπως έχουν δημοσιευθεί από Serpenwoolde και συν 2003

**Πίνακας 2.2** Συνοπτικός πίνακας των χρησιμοποιούμενων δημοσιευμένων ραδιοβιολογικών παραμέτρων που εφρμόστηκαν σε όλα τα μοντέλα.

Ειδικά αναφορικά με τις παραμέτρους του LKB μοντέλου πρέπει να τονισθεί ότι τα στοιχεία που χρησιμοποιήθηκαν από τον Burman και συν (1991) στην αξιολόγηση του μοντέλου LKB δεν βασίστηκαν σε πραγματικά δεδομένα, και ότι αυτές οι τιμές υπολογίστηκαν με βάση την εμπειρία χωρίς να έχει εκτιμηθεί η ετερογένεια του ιστού (καμία διόρθωση πυκνότητας για τον πνεύμονα κατά τη διάρκεια του σχεδιασμού θεραπείας).

Ως εκ τούτου, λαμβάνοντας υπόψη την εξέλιξη των ραδιοβιολογικών παραμέτρων LKB και την σύγχυση που χαρακτηρίζει την κλινική τους εφαρμογή, εξετάστηκε και διευκρινίστηκε περαιτέρω, ειδικά αυτό το μοντέλο με την εφαρμογή διαφορετικών συνόλων δημοσιευμένων παραμέτρων που συνοψίζονται στον πίνακα 2.3.

<i>Παράμετροι μοντέλου LKB</i>	<i>TD<sub>50</sub> (Gy)</i>	<i>m</i>	<i>n</i>
<i>Burman/Emami Και συν (1991)</i>	<i>24.5</i>	<i>0.18</i>	<i>0.87</i>
<i>Martel και συν (1994)</i>	<i>28</i>	<i>0.18</i>	<i>0.87</i>
<i>Kwa και συν (1998)</i>	<i>30.5</i>	<i>0.30</i>	<i>1</i>
<i>Seppenwoolde Και συν (2003)</i>	<i>30.8</i>	<i>0.37</i>	<i>0.99</i>

**Πίνακας 2.3 Μοντέλο LKB και συμπληρωματικές ραδιοβιολογικές παράμετροι**

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε και για τις διαφορετικές παραμέτρους του LKB μοντέλου ήταν η ίδια με προηγουμένως, οπότε για κάθε ασθενή, υπολογίστηκε η πιθανότητα απόκρισης χρησιμοποιώντας αυτές τις παραμέτρους και βρέθηκε η μεμονωμένη κατανομή της δόσης, και οι αντίστοιχες EUD τιμές, εφαρμόζοντας την έννοια της ισοδύναμης ομοιόμορφης δόσης.

Επίσης και εδώ οι ασθενείς ομαδοποιήθηκαν σύμφωνα με τις EUD τιμές τους σε διαφορετικά διαστήματα δόσεων. Η ικανοποιητική προσαρμογή ερευνήθηκε μέσω της σύγκρισης των παρατηρούμενων και αναμενόμενων αποτελεσμάτων επιπλοκής.

## 2.2 Αποτελέσματα

---

Στη διάρκεια της μελέτης, η μέση ηλικία των ασθενών που ανήκαν στην ομάδα χωρίς επιπλοκές ήταν 61 έτη έναντι 65 ετών της ομάδας ασθενών που εμφάνισαν επιπλοκές. Χρησιμοποιώντας τη στατιστική δοκιμή του Pearson δεν βρέθηκε κανένας σημαντικός θετικός συσχετισμός της ακτινικής πνευμονίτιδας με την ηλικία ( $P < 0.05$ ), αν και το ποσοστό της εμφάνισης επιπλοκής μπορεί να θεωρηθεί πάρα πολύ χαμηλό για να επιτραπεί μια τέτοια ανάλυση.

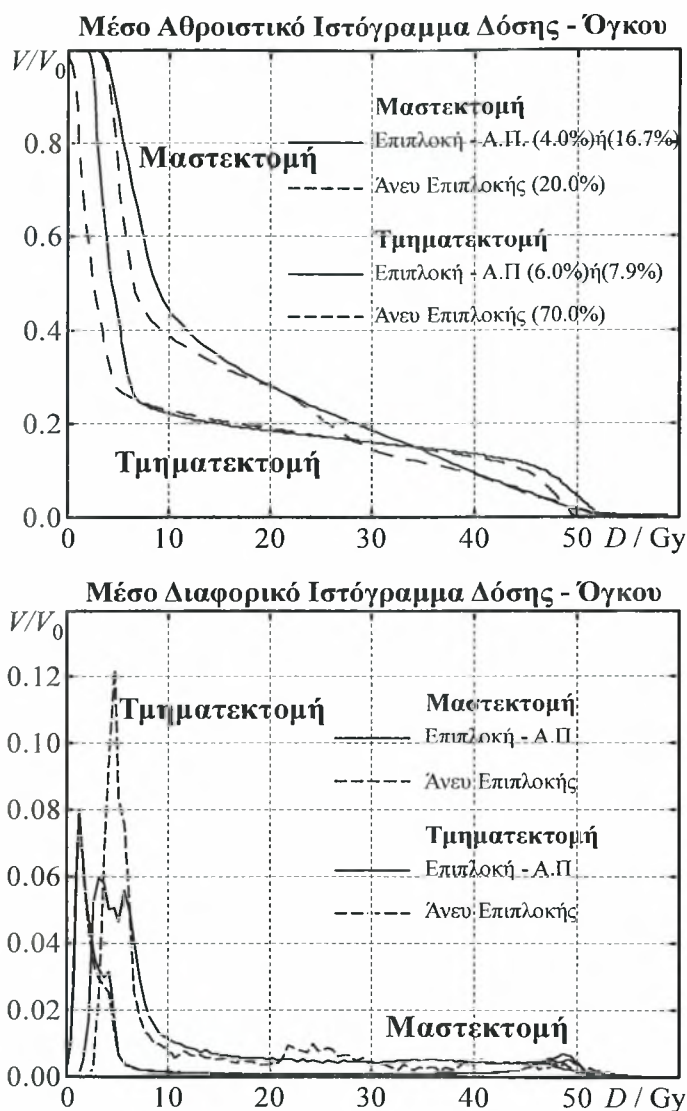
Η βαθμολόγηση της πνευμονίτιδας βασίστηκε στα κλινικά συμπτώματα που παρουσιάστηκαν στον πίνακα 2.1.β, συνεπικουρούμενη από τα ακτινολογικά ευρήματα. Εντούτοις, υπήρξαν μερικές αποκλίσεις μεταξύ των κλινικών εκδηλώσεων και των ακτινογραφικών ευρυμάτων.

Κατ' αρχάς, οι 150 ασθενείς διαιρέθηκαν σε τρεις ομάδες: 15 ασθενείς (10%) στις οποίες θεωρήθηκε ότι ανέπτυξαν Α.Π. (βαθμός 2), 39 ασθενείς (26%) με ήπιο ή κανένα σύμπτωμα Α.Π. (βαθμός 1), και 96 ασθενείς (64%) χωρίς καθόλου συμπτώματα (βαθμός 0). Επιπλέον, το σύνολο των ασθενών υποδιαιρέθηκε σε έξι ομάδες σύμφωνα με το εάν η κλινική περίπτωση περιελάμβανε μαστεκτομή, ή μερική χειρουργική εκτομή.

Από τα πλάνα θεραπείας της κάθε ασθενούς υπολογίστηκαν τα μέσα Ιστογράμματα Δόσης – Όγκου και διαχωρίστηκαν μεταξύ των ασθενών που εμφάνισαν επιπλοκή και αυτών που δεν εμφάνισαν, αλλά και μεταξύ διαφορετικής θεραπευτικής προσέγγισης, δηλαδή τμηματεκτομής και μαστεκτομής. Στα διαγράμματα του σχήματος 2.4, απεικονίζονται τα Μέσα Αθροιστικά και Διαφορικά Ιστογράμματα Δόσης – Όγκου για όλες τις περιπτώσεις, και αναφέρονται και τα ενδεικτικά ποσοστά επιπλοκής.

Παρατηρείται ότι ο μεγαλύτερος όγκος του πνεύμονα λαμβάνει αρκετά χαμηλή δόση και στις δύο περιπτώσεις θεραπείας. Είναι όμως επίσης εμφανές ότι ειδικά για δόσεις πάνω από 40 Gy, ακτινοβολείται μεγαλύτερος όγκος πνευμόνων στην περίπτωση των ασθενών με μερική αφαίρεση, σε σχέση με την αντίστοιχη ομάδα των ασθενών με μαστεκτομή. Παρά το ότι η διαφορά δεν είναι μεγάλη, δεν παύει να αποτελεί ένα λόγο της αύξησης στο ποσοστό επιπλοκής.

Αφ' ετέρου, τα ιστογράμματα των ασθενών με μαστεκτομή παρουσιάζουν πολύ μικρές διαφορές γεγονός που υποδεικνύει ότι η δόση μπορεί να μην είναι ο μόνος παράγοντας που καθορίζει την εκδήλωση της Α.Π., αλλά ενδεχομένως να παίζει ιδιαίτερο ρόλο η ενδογενής ακτινευαισθησία της κάθε ασθενούς.



Σχήμα 2.4 Ιστογράμματα Δόσης Όγκου για όλες τις ασθενείς και των δύο Θεραπευτικών προσεγγίσεων

Προκειμένου να διερευνηθεί η ικανοποιητική προσαρμογή των μοντέλων, εφαρμόστηκε αρχικά η δοκιμή του Pearson, η αλλιώς το  $\chi^2$  τεστ.

Το σύνολο της ομάδας των ασθενών διαιρέθηκε σε υπο-ομάδες, οι οποίες ταξινομήθηκαν κατά σειρά αυξανόμενης μέσης απορροφώμενης δόσης. Ως εκ τούτου, κάθε υποομάδα κάλυπτε ένα διαφορετικό εύρος δόσεων της καμπύλης δόσης-απόκρισης. Κατά συνέπεια, η πιθανότητα  $P(\chi^2, \nu)$ , παρήγε μια τιμή του  $\chi^2$  ίση ή μεγαλύτερη από την παρατηρηθείσα κλινική έκβαση με  $\nu$  βαθμούς ελευθερίας.

Μια πιθανότητα κοντά στην τιμή του 1 σημαίνει ότι η υποτιθέμενη κατανομή περιγράφει καλά τη διασπορά των αποτελεσμάτων. Εάν αφ' ετέρου η πιθανότητα είναι μικρή και κοντά στο μηδέν, είτε το ραδιοβιολογικό μοντέλο και οι παράμετροι δεν προβλέπουν

πολύ καλά την κλινική έκβαση, ή το δείγμα δεν είναι αντιπροσωπευτικό αυτής της συγκεκριμένης κατανομής. Η δοκιμή  $\chi^2$  εφαρμόστηκε σε ολόκληρη την ομάδα ασθενών καθώς επίσης και σε μια μειωμένη ομάδα ασθενών που λαμβάνουν δόσεις  $\bar{D}|EUD$  υψηλότερες από 8 Gy. (120 απο τις 150 ασθενείς)

Η δεύτερη μέθοδος εκτίμησης της ικανοποιητικής προσαρμογής των μοντέλων που πραγματοποιήθηκε, ήταν η παροχή αριθμητικής αξιολόγησης των θεωρητικών τιμών NTCP, οι οποίες υπολογίστηκαν από τα διαφορετικά μοντέλα και τα σύνολα των παραμέτρων, με την μέθοδο Monte Carlo.

Δημιουργήθηκαν πέντε σύνολα θεωρητικών τιμών NTCP, που υπολογίστηκαν βάσει των διαφορετικών τιμών παραμέτρων και εκτιμήθηκαν σύμφωνα με τη διαδικασία που περιγράφεται αναλυτικά στο κεφάλαιο 2.

Τέλος υπολογίστηκαν οι καμπύλες ROC παρά το γεγονός ότι τα ποσοστά επιπλοκής ήταν χαμηλά, επειδή αυτή η μέθοδος επικυρώνει τη δυνατότητα ενός μοντέλου να διακρίνει ασθενείς που ανέπτυξαν μια συγκεκριμένη επιπλοκή από εκείνους που δεν ανέπτυξαν<sup>[105]</sup>. Οπότε δεν παίζει ρόλο εάν τα ποσοστά απόκρισης είναι χαμηλά ή υψηλά επειδή οι ασθενείς ταξινομούνται σύμφωνα με τη δόση που έλαβαν ή τις πιθανότητες επιπλοκής τους και έπειτα με τη χρήση διάφορων σημείων που χρησιμοποιούνται ως ουδοί (thresholds) διαμορφώνεται η ROC καμπύλη.

Πιο αναλυτικά, καθορίστηκε ο συνολικός αριθμός των ασθενών χωρίς επιπλοκές, υπολογίζοντας την αληθώς θετική αναλογία (TruePositiveRatio), που είναι η αναλογία των παρατηρηθέντων επιπλοκών σε διάφορες δόσεις, στο συνολικό αριθμό επιπλοκών, και της ψευδώς θετικής αναλογίας (FalsePositiveRatio), που είναι η αναλογία των παρατηρηθέντων ασθενών χωρίς επιπλοκές.

Στη συνέχεια διαμορφώθηκαν οι ROC καμπύλες, που είναι η γραφική παράσταση του TPR έναντι του FPR για διάφορες τιμές δόσης που πιθανών σχετίζονται με την εμφάνιση επιπλοκής. Συνεπώς, δεν πειράζει εάν δεν υπάρχει κανένας ασθενής που να εμπίπτει στην κατηγορία του μοντέλου που προβλέπει μια επιπλοκή, αλλά η σχετική ταξινόμηση των ασθενών από το μοντέλο.

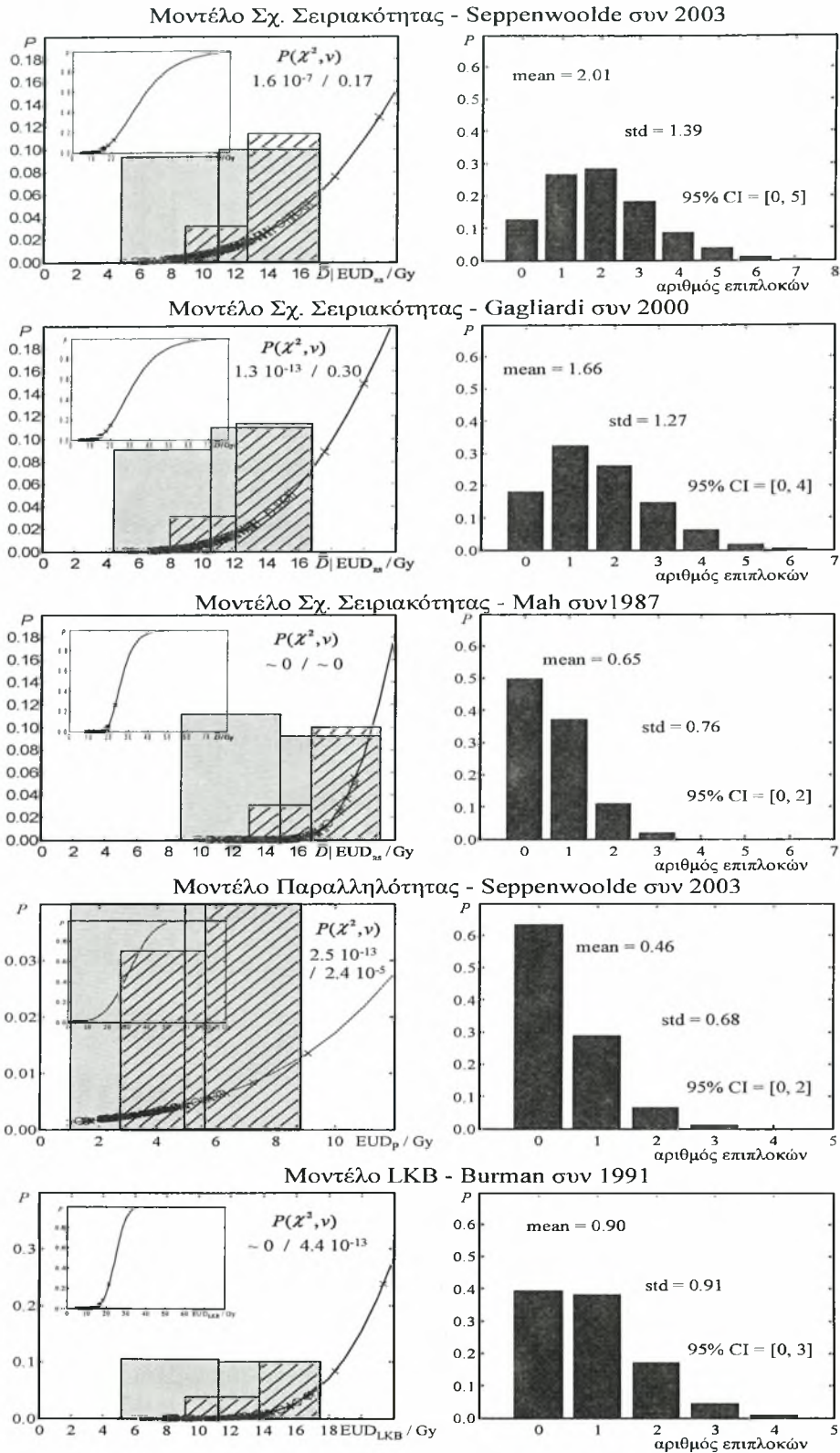
Εάν ένα μοντέλο δεν μπορεί να διακρίνει τις δύο ομάδες των ασθενών ικανοποιητικά μπορεί να οφείλεται στο ότι δεν λαμβάνει υπόψη άλλους σημαντικούς παράγοντες που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση μιας επιπλοκής (π.χ. ενδογενής ακτινοευαισθησία μεταξύ των ασθενών ή μέσα στο ίδιο το όργανο).

Τα αποτελέσματα της ραδιοβιολογικής ανάλυσης των μοντέλων με τη μορφή καμπυλών δόσης απόκρισης, που συνοδεύονται και από την στατιστική ανάλυση του  $\chi^2$  τεστ, καθώς επίσης και την Monte Carlo ανάλυση, απεικονίζονται στην εικόνα 2.5.

Με την εφαρμογή των εννοιών της βιολογικά ισοδύναμης ομοιόμορφης δόσης και της ισοδύναμης ομοιόμορφης δόσης, υπολογίστηκαν για κάθε ασθενή οι αντίστοιχες τιμές  $\bar{D}$  |EUD. Κάθε ασθενής του πληθυσμού της μελέτης τοποθετείται πάνω στην καμπύλη δεδομένου ότι εξ ορισμού τα αντίστοιχα σημεία δόσης-αντίδρασης τους αφορούν ακριβώς τη θεωρητική καμπύλη δόσης-αντίδρασης, όταν σχεδιάζονται στο ίδιο διάγραμμα (εικόνα 2.4 αριστερά διαγράμματα). Στη μικρή γραφική παράσταση (άνω αριστερά) παρουσιάζεται η θεωρητική καμπύλη που αντιστοιχεί σε κάθε ένα από τα διαφορετικά μοντέλα και τα σύνολα παραμέτρων, ενώ η κύρια γραφική παράσταση απεικονίζει τον περιοχή ενδιαφέροντος δηλαδή την περιοχή όπου βρίσκονται οι (υπολογισμένες) πιθανότητες της συγκεκριμένης ομάδας ασθενών.

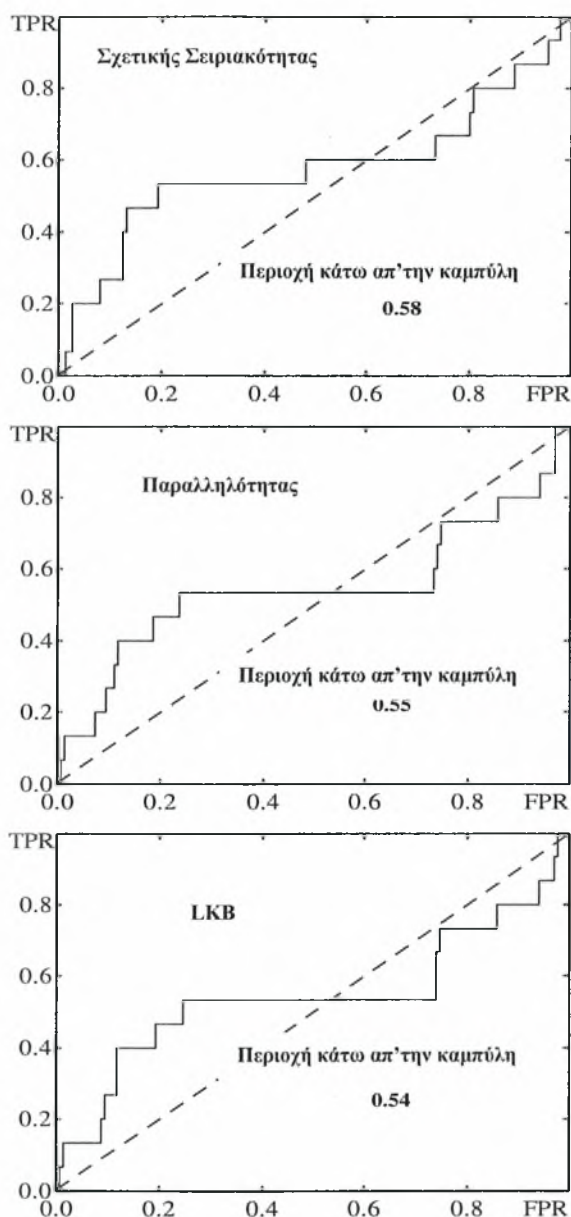
Τα ζευγάρια  $\bar{D}$  |EUD και NTCP ταξινομήθηκαν σύμφωνα με τις τιμές των  $\bar{D}$  |EUD σε αύξουσα σειρά και ομαδοποιήθηκαν στη συνέχεια σε 10 διαφορετικά διαστήματα δόσεων και ως εκ τούτου, κάθε υποομάδα ασθενών κάλυψε μια διαφορετική σειρά δόσεων της καμπύλης δόσης-απόκρισης. Έπειτα ερευνήθηκε η ικανοποιητική προσαρμογή των μοντέλων με σύγκριση των παρατηρηθέντων και αναμενόμενων αποτελεσμάτων επιπλοκής στις 10 υποομάδες που η κάθε μία αποτελείται από 15 ασθενείς.

Σε αυτά τα διαγράμματα υπάρχουν δύο τύποι από ενδεικτικές ράβδους εκ των οποίων ο ένας τύπος είναι σκιασμένος και άλλος ένας είναι ριγέ. Η αναγκαιότητα αυτών έγκειται στο να επεξηγηθεί καλύτερα η σχέση μεταξύ των προβλεφθέντων ποσοστών επιπλοκής των μοντέλων (στερεά γραμμή) και των ποσοστών των κλινικών αποτελεσμάτων (το ύψος των ραβδών δείχνει τα παρατηρηθέντα ποσοστά περιπλοκής). Ιδανικά, το ύψος τους θα έπρεπε να αυξάνει με αυξανόμενη δόση δεδομένου ότι η πιθανότητα πρόκλησης της Α.Π. είναι αποδεδειγμένο ότι αυξάνεται με τη δόση (Kwa και συν 1998).



**Εικόνα 2.5** Αριστερά: Σχέσεις δόσης απόκρισης όπως υπολογίστηκαν με εφαρμογή των μοντέλων Σχετικής Σειριακότητας, Παραλληλότητας και LKB, βάσει των δημοσιευμένων ραδιοβιολογικών παραμέτρων, με αντίστοιχες τιμές του  $\chi^2$ . Δεξιά: Αντίστοιχα Διαγράμματα της Monte Carlo ανάλυσης προσαρμογής.

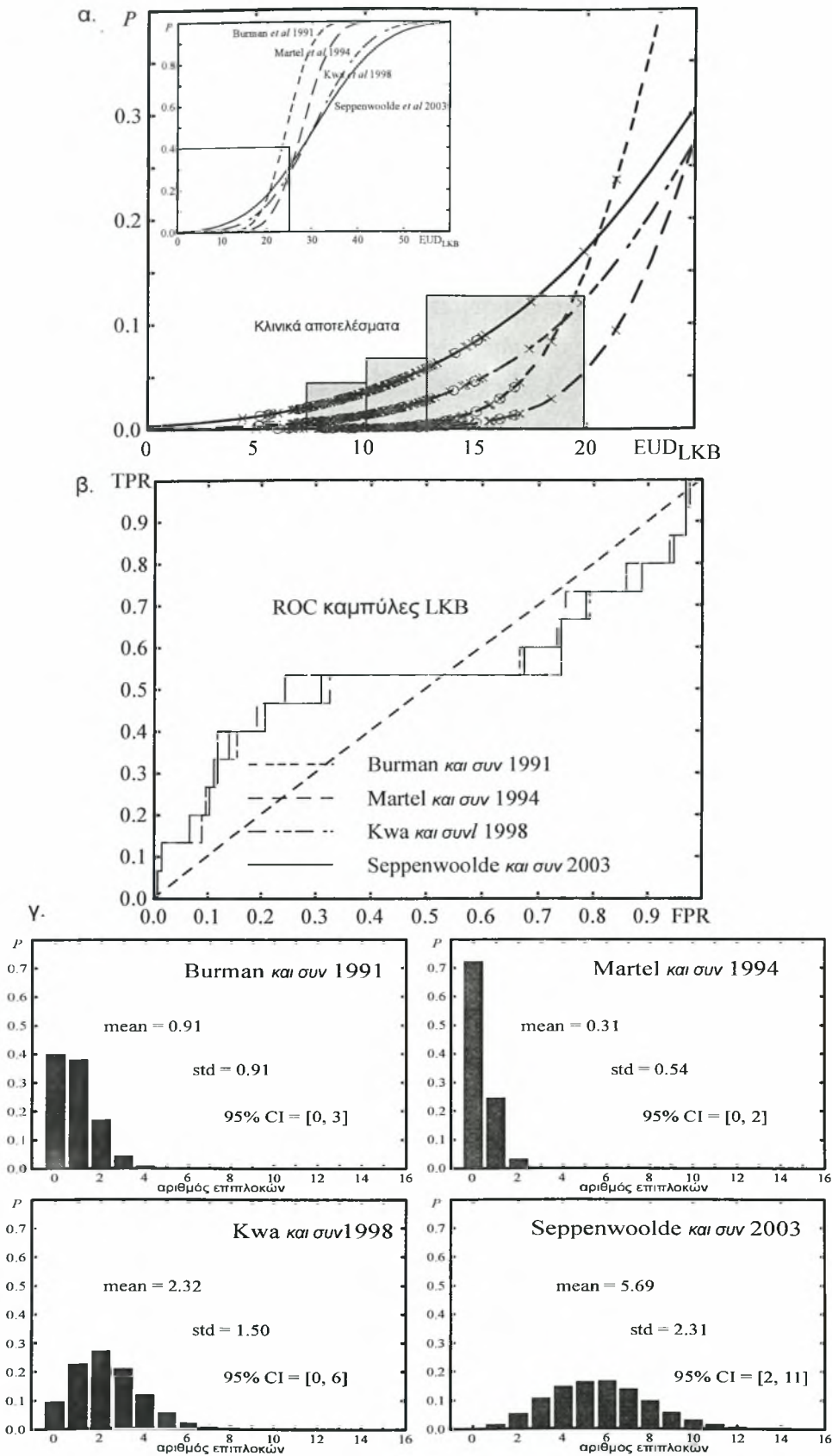
Κατ' αντιστοιχία οι ROC καμπύλες ταξινόμησης των τριών διαφορετικών μοντέλων παρατίθενται στην εικόνα 2.6.



**Εικόνα 2.6 Τα αποτελέσματα της ανάλυσης Receiver Operator Characteristics για τα μοντέλα Σχετικής Σειριακότητας, Παράλληλότητας και LKB.**

Ειδικά για το μοντέλο LKB και το σύνολο των διαφορετικών παραμέτρων που εφαρμόστηκαν, τα αποτελέσματα με τη μορφή α) καμπυλών δόσης απόκρισης, καθώς επίσης και β) ROC ανάλυση και γ) Monte Carlo ανάλυση παρουσιάζονται αντίστοιχα στην εικόνα 2.7.α, β, και γ.





Εικόνα 2.7.α. Καμπύλες δόσης απόκρισης β. ROC ανάλυση και γ. Monte Carlo ανάλυση για το μοντέλο LKB με τέσσερα διαφορετικά σύνολα παραμέτρων.

Η μικρή γραφική παράσταση άνω αριστερά στο σχήμα 2.7.α αναπαριστά τις τέσσερις θεωρητικές καμπύλες που αντιστοιχούν σε κάθε σύνολο παραμέτρων, ενώ η κύρια γραφική παράσταση εστιάζεται στον τομέα ενδιαφέροντος, όπου βρίσκονται οι πιθανότητες απόκρισης της ομάδας των συγκεκριμένων ασθενών.

Οι ασθενείς ομαδοποιήθηκαν σύμφωνα με τις EUD τιμές τους σε διαφορετικά διαστήματα δόσεων. Κατ' αυτό τον τρόπο, θα μπορούσε να υπολογιστεί η πιθανότητα της υποτιθέμενης κατανομής που περιγράφει καλά τη διακύμανση των δεδομένων. Στο κυρίως διάγραμμα, οι σκιασμένες ράβδοι επεξηγούν καλύτερα τη σχέση μεταξύ των προβλεφθέντων ποσοστών επιπλοκής των μοντέλων (συνεχείς και διακεκομμένες γραμμές) και των ποσοστών επιπλοκής μετά από την κλινική αξιολόγηση (το ύψος των ράβδων δηλώνει ποσοστά επιπλοκής που παρατηρήθηκαν).

Τα αποτελέσματα της  $\chi^2$  στατιστικής ανάλυσης για όλα τα μοντέλα απεικονίζονται στον πίνακα 2.4. Η εκτίμηση της καλής περιγραφής της κλινικής έκβασης, εκφράζεται μέσω της υπολογιζόμενης πιθανότητας  $P_x(\chi^2, \nu)$ .

Η απόπειρα σύνδεσης της προκληθείσας Α.Π. με ένα κατώτατο όριο δόσης με σημαντικό θετικό στατιστικό συσχετισμό, δεν ήταν εφικτή για οποιαδήποτε από τα μοντέλα και τα σύνολα των παραμέτρων που χρησιμοποιήθηκαν για ολόκληρη την ομάδα ασθενών όπως παρουσιάζεται στον πίνακα 2.4. Η πρώτη στήλη των αποτελεσμάτων έχει υπολογιστεί χρησιμοποιώντας όλες τις 10 υποομάδες, και αποδεικνύει ότι για όλα τα εξεταζόμενα μοντέλα και τα σύνολα παραμέτρων, οι θεωρητικές τιμές NTCP δεν περιγράφουν καλά τα παρατηρηθέντα κλινικά αποτελέσματα.

Αυτό υποδεικνύεται και στο *σχήμα 2.5* από την αξιολόγηση των σκιασμένων ραβδών.

Εντούτοις, λόγω της διαμόρφωσης των ασθενών σε υποομάδες αυξανόμενης δόσης, ήταν δυνατός ο διαχωρισμός αυτών που έλαβαν υψηλότερη από 8 Gy μέση δόση. Κρίνοντας αυτή την περιορισμένη ομάδα ασθενών (120 από τις συνολικά 150) που έλαβαν υψηλότερη σχετικά μέση δόση, (δεύτερη στήλη του πίνακα 2.4) τότε οι πιθανότητες επιπλοκής και τα παρατηρηθέντα αποτελέσματα φαίνονται να συμφωνούν επαρκώς στην περίπτωση του μοντέλου σειριακότητας. Ειδικά για τις ραδιοβιολογικές παραμέτρους από Seppenwoolde και συν (2003) και Gagliardi και συν (2000) αυτό επιβεβαιώνεται από τις τιμές της  $P_x(\chi^2, \nu)$ , οι οποίες είναι 0,17 και 0,30 αντίστοιχα.

Κατ' αντιστοιχία στον πίνακα 2.5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για τα διαφορετικά σύνολα των παραμέτρων, του μοντέλου LKB.,

Μοντέλο σχετικής σειριακότητας	$P_{\chi}(\chi^2, \nu)$	$P_{\chi}(\chi^2, \nu)^*$	Odd Ratio	Odd Ratio*
Seppenwoolde και συν 2003	$1.57^E-7$	0.17	1.87 CI = 0.63-5.49 Ουδός 12Gy	5.53 CI = 1.10-27.89 Ουδός 12Gy
Gagliardi και συν 2000	$1.31^E-13$	0.30	1.63 CI = 0.56-4.79 Ουδός 11Gy	4.77 CI = 0.95-23.99 Ουδός 11Gy
Mah και συν 1987	0	$7.2^E-290$	0.6 CI = 0.2-1.75 Ουδός 14Gy	5.25 CI = 1.18-23.41 Ουδός 16Gy
<b>LKB</b>				
Burman και συν 1991	$3.21^E-201$	$4.36^E-13$	1.39 CI = 0.47-4.07 Ουδός 12Gy	3.97 CI = 0.79-19.97 Ουδός 12Gy
<b>Parallel Model</b>				
Seppenwoolde και συν 2003	$2.46^E-13$	$2.38^E-05$	2.40 CI = 0.81-7.11 Ουδός 4Gy	7.29 CI = 1.44-36.88 Ουδός 4Gy

\*Ομάδα ασθενών που λαμβάνει  $\bar{D}$  |EUD μεγαλύτερη από 8 Gy

**Πίνακας 2.4 Σύνοψη της στατιστικής ανάλυσης των ραδιοβιολογικών μοντέλων και των επιμέρους ομάδων των ραδιοβιολογικών παραμέτρων.**

Παράμετροι μοντέλου LKB	$P_{\chi}(\chi^2, \nu)$	$P_{\chi}(\chi^2, \nu)^*$	Odd Ratio	Odd Ratio*
Burman/Emami Και συν (1991)	$3.2125^E-201$	$4.36401^E-13$	1.39 CI = 0.47-4.07 Threshold 12Gy	3.97 CI = 0.79-19.97 Threshold 12Gy
Martel και συν (1994)	0	$1.91434^E-38$	1.61 CI = 0.25-6.11 Threshold 12Gy	2.26 CI = 0.68-7.49 Threshold 12Gy
Kwa και συν (1998)	0.0067	0.6809	2.00 CI = 0.50-7.90 Threshold 14Gy	3.10 CI = 0.69-13.74 Threshold 14Gy
Seppenwoolde Και συν (2003)	0.6520	0.9690	2.20 CI = 0.55-8.76 Threshold 14Gy	3.16 CI = 0.71-14.03 Threshold 14Gy

\*Ομάδα ασθενών που λαμβάνει  $\bar{D}$  |EUD μεγαλύτερη από 8 Gy

**Πίνακας 2.5 Σύνοψη της στατιστικής ανάλυσης ειδικά για το μοντέλο LKB και των επιμέρους ραδιοβιολογικών παραμέτρων.**

Η πρώτη στήλη των αποτελεσμάτων υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας ολόκληρη την ομάδα ασθενών, και αποδεικνύει ότι από όλες τις παραμέτρους που εξετάστηκαν, το σύνολο των Seppenwoolde και συν (2003) θα μπορούσε να συνδέσει επαρκώς τις θεωρητικές τιμές NTCP με τα παρατηρούμενα κλινικά αποτελέσματα στο σύνολο των

ασθενών. Αυτό αναπαριστάται και στο σχήμα 2.7.α μέσω της σχέσης της συνεχούς γραμμής (παράμετροι Serppenwoolde) με τις σκιασμένους ράβδους.

Αφ' ετέρου, τα παρατηρούμενα αποτελέσματα των 8 υποομάδων των ασθενών που έλαβαν υψηλότερη δόση έρχονται επίσης σε συμφωνία με την NTCP, όταν χρησιμοποιούνται τα σύνολα των παραμέτρων των Kwa και συν (1998) και Serppenwoolde και συν (2003) και αυτό εκφράζεται από τις τιμές  $P_{\chi}(\chi^2, \nu)$ , οι οποίες είναι 0,68 και 0,97, αντίστοιχα (πίνακας 2.5).

Αναφορικά με την εκτίμηση της ικανοποιητικής προσαρμογής με τη μέθοδο Monte Carlo που απεικονίζεται για όλα τα μοντέλα στα δεξιά διαγράμματα της εικόνας 2.5 διαφαίνεται ότι ο πιθανότερος αριθμός επιπλοκών που προβλέπονται από τις θεωρητικές τιμές NTCP των διαφορετικών μοντέλων και των συνόλων παραμέτρων, είναι πολύ κοντά στο μέσο όρο της αντίστοιχης κατανομής. Όμως, σε κάθε περίπτωση οι μέσες τιμές και οι πιο πιθανοί αριθμοί παρεκκλίνουν σημαντικά από τον παρατηρηθέντα αριθμό επιπλοκών. Παραδείγματος χάριν, εξετάζοντας το μοντέλο σχετικής σειριακότητας με παραμέτρους από Gagliardi και συν (2000), η πιθανότερη τιμή επιπλοκών είναι 1 ενώ ο μέσος όρος της κατανομής είναι 1,66 με μια σταθερή απόκλιση (SD) 1,27 και το διάστημα εμπιστοσύνης 95% (CI) είναι 0-4. Ο αριθμός επιπλοκών που παρατηρήθηκε βάσει των κριτηρίων αξιολόγησης είναι 15, αρκετά έξω από το διάστημα εμπιστοσύνης 95%.

Στην μεμονωμένη περίπτωση του μοντέλου LKB, που αναπαριστάται στα διαγράμματα του σχήματος 2.7.γ, όπου απεικονίζεται το αποτέλεσμα της μεθόδου καλής προσαρμογής Monte Carlo, φαίνεται ότι ο πιθανότερος αριθμός επιπλοκών που προβλέπονται από τις θεωρητικές τιμές NTCP των διαφορετικών συνόλων παραμέτρων, είναι πολύ κοντά στο μέσο όρο της αντίστοιχης κατανομής. Χρησιμοποιώντας το σύνολο των παραμέτρων από τον Burman και συν (1991), η πιο πιθανή τιμή επιπλοκών είναι 1, ενώ ο μέσος όρος της κατανομής είναι 0,91, με σταθερή απόκλιση (SD) 0,91 και διάστημα εμπιστοσύνης 95% (CI) [ 0,3 ]. Ομοίως, ο πιθανότερος αριθμός επιπλοκών για το σύνολο των παραμέτρων Martel και συν (1994) είναι 0 (μέσος όρος = 0.31), για τους Kwa και συν (1998) είναι 2 (μέσος όρος = 2.32) και για τους Serppenwoolde και συν (2003) είναι 6 (μέσος όρος = 5,69, SD = 2,31 και 95%CI = [ 2 , 11 ]).

Από τις ROC καμπύλες που προέκυψαν χρησιμοποιώντας τις παραμέτρους όλων των μοντέλων για να υπολογίσουν τις αναμενόμενες πιθανότητες επιπλοκής των ασθενών (σχήμα 2.6) και συγκεκριμένα από την περιοχή που περικλείεται κάτω αυτές, επιβεβαιώνεται ότι το μοντέλο σχετικής σειριακότητας με τιμή 0.58 είναι λίγο καλύτερο από τα μοντέλα παραλληλότητας και LKB με τιμές 0.55 και 0.54 αντιστοίχως. Εντούτοις, σε όλες τις περιπτώσεις το συμπέρασμα είναι ότι οι ασθενείς με επιπλοκές δεν διαχωρίζονται ικανοποιητικά από εκείνους που δεν είχαν επιπλοκές.

Αντίστοιχα, ειδικά για το μοντέλο LKB, στο σχήμα 2.7.β, για τα σύνολα των παραμέτρων των *Burman και συν* (1991) και *Martel και συν* (1994) η περιοχή κάτω από τη ROC καμπύλη είναι ίση με 0,543, η οποία είναι λίγο μεγαλύτερη από τις τιμές 0,536 και 0,537 που αντιστοιχούν στα σύνολα των παραμέτρων του *Kwa και συν* (1998) και *Serpenwoolde και συν* (2003).

Γενικό συμπέρασμα αποτελεί ότι σε όλες τις περιπτώσεις οι τιμές της ROC περιοχής δείχνουν ότι τα μοντέλα με όλα τα σύνολα παραμέτρων δεν διακρίνουν καλά τους ασθενείς που εμφάνισαν επιπλοκές από εκείνους που δεν εμφάνισαν επιπλοκές. Όλες οι τιμές είναι κοντά σε 0,5, το οποίο σημαίνει ότι η κατανομή των πιθανοτήτων είναι σχεδόν τυχαία.

Βέβαια όπως φαίνεται και στα σχήματα 2.5 και 2.7.α οι ασθενείς βρίσκονται στο χαμηλότερο τμήμα της καμπύλης δόσης- απόκρισης και συνεπώς το αποτέλεσμα της ROC ήταν αναμενόμενο. Αυτές οι παρατηρήσεις οφείλονται στο γεγονός ότι τα μοντέλα δεν λαμβάνουν υπόψη σημαντικές ραδιοβιολογικές πληροφορίες όπως η υπερευαισθησία χαμηλών δόσεων, η ακτινοευαισθησία του κάθε ασθενούς, οι ενδοπνευμονικές παραλλαγές πυκνότητας κ.λπ., οι οποίες παίζουν καθοριστικό ρόλο στην πρόβλεψη της ακτινικής πνευμονίτιδας.

Στην ομάδα ασθενών που λαμβάνουν δόσεις EUD υψηλότερες από 8 Gy κλινικά παρατηρήθηκαν 9 επιπλοκές. Αυτή η τιμή είναι κοντά στο μέσο όρο των τελευταίων παραμέτρων και βρίσκεται μέσα στο διάστημα εμπιστοσύνης της 95%. Φυσικά αυτό εξαρτάται από τα κριτήρια αξιολόγησης που χρησιμοποιούνται, τα οποία αλλάζουν την βαθμονόμηση της ακτινικής πνευμονίτιδας και συνεπώς την συνολική έκβαση. Στην πραγματικότητα ο παρατηρούμενος αριθμός ασθενών που έχουν ακτινική πνευμονίτιδα θα ήταν πολύ χαμηλότερος από 9, εάν τα κριτήρια αξιολόγησης που είχαν εφαρμοστεί ήταν λιγότερο ήπια (π.χ. τα αρχικά κριτήρια της RTOG).

Τέλος, για την πολλαπλή σύγκριση μεταξύ των διαφορετικών μοντέλων και των διαφορετικών παραμέτρων, εκτελέστηκε δοκιμή ανάλυσης της διασποράς χρησιμοποιώντας το ειδικό στατιστικό λογισμικό SPSS. Δεδομένου ότι καθορίστηκε ότι υπάρχουν διαφορές μεταξύ των μέσων τιμών των  $\bar{D}$  και |EUD, μια πολλαπλή σύγκριση θα μπορούσε να καθορίσει ποιες μέσες τιμές διαφέρουν σημαντικά. Αυτό επιτεύχθηκε με τον προσδιορισμό των ομοιογενών υποσυνόλων των μέσων τιμών που δεν είναι διαφορετικά το ένα από το άλλο. Έτσι πραγματοποιήθηκαν πολλαπλές συγκρίσεις ζευγαριών εξετάζοντας τη διαφορά μεταξύ των μέσων τιμών κάθε συνόλου, και παρήχθησαν αποτελέσματα που έδειξαν τους σημαντικά διαφορετικούς μέσους όρους ομάδας σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05.

## 2.3 Συζήτηση

---

Οι υπολογισμοί της πιθανότητας επιπλοκής φυσιολογικού ιστού (NTCP) που χρησιμοποιούνται στην παρούσα εργασία είναι όλοι βασισμένοι σε ιστογράμματα δόσης - όγκου (DVHs) του πνεύμονα. Αυτά υπολογίστηκαν από τις πλήρεις κατανομές της δόσης που ήταν διαθέσιμες από το σύστημα σχεδιασμού θεραπείας, και περιέχουν όλες τις απαραίτητες χωρικές πληροφορίες.

Στην εξέταση της ακτινικής πνευμονίτιδας ως μετακτινικής επιπλοκής, στην συγκεκριμένη μελέτη υποτέθηκε ότι η ενδογενής ακτινοευαισθησία του πνεύμονα είναι ομοιόμορφη. Πρέπει όμως να ληφθεί υπόψη ότι εάν όντως η ακτινοευαισθησία ποικίλλει μέσα στο όργανο μπορεί να επιφέρει υπολογίσιμη διαφορά στον προσδιορισμό της πιθανότητας NTCP.

Μια πιο προσεκτική αξιολόγηση των ποσοστών στο σχήμα 2.4 αποκαλύπτει ότι το ποσοστό του βαθμού επιπλοκής 2 (δηλαδή ένδειξη ακτινικής πνευμονίτιδας) στους ασθενείς με μαστεκτομή είναι αρκετά υψηλότερο έναντι των ασθενών που δεν υπέστησαν μαστεκτομή. Πιο συγκεκριμένα, το ποσοστό αυτό είναι 16,7% μέσα στην υποομάδα, (6 από τους 36 με μαστεκτομή) ενώ σε ολόκληρη την ομάδα των ασθενών είναι μόνο 4,0%. Αφ' ετέρου, το ποσοστό ασθενών με ένδειξη Α.Π. και χωρίς μαστεκτομή είναι 7,9% μέσα στην υποομάδα (9 από τους 114), και 6,0% αναφορικά σε ολόκληρη την ομάδα των ασθενών.

Αναλύοντας τη σύγκριση των μέσων συσσωρευτικών ιστογραμμάτων δόσης – όγκου για τις δύο διαφορετικές τεχνικές (σχήμα 2.4) είναι εμφανές ότι οι ασθενείς με μαστεκτομή λαμβάνουν χαμηλή δόση (< 30 GY) για μεγαλύτερο ποσοστό του ακτινοβολημένου όγκου τους έναντι των ασθενών με τμηματεκτομή. Παραδείγματος χάριν, το 50% του όγκου τους λαμβάνει διπλάσια δόση από ότι το 50% του ακτινοβολημένου όγκου των άλλων ασθενών.

Όστος σε μεγαλύτερες δόσεις (> 30 GY) η κατάσταση αντιστρέφεται με τις ασθενείς με τμηματεκτομή να λαμβάνουν μια δόση 30-45 Gy άνω του 20% του ακτινοβολημένου όγκου τους ενώ στην ίδια περιοχή δόσεων ο όγκος των ασθενών με μαστεκτομή μειώνεται γραμμικά από 20 σε 5%. Μετά από μια προσεκτική εξέταση των πλάνων θεραπείας το γεγονός αυτό εξηγήθηκε σε σχέση με την τεχνική θεραπείας. Ειδικά στην περίπτωση των ασθενών με μαστεκτομή, η εφαρμογή ενός πρόσθετου πεδίου ηλεκτρονίων αυξάνει σημαντικά την κατανομή της δόσης στον ακτινοβολούμενο όγκο των πνευμόνων.

Κατ' αυτόν τον τρόπο εξηγείται η μεγάλη διαφορά των αποτελεσμάτων μεταξύ των δύο διαφορετικών τεχνικών θεραπείας, αφού είναι αποδεδειγμένο ότι υψηλότερη δόση επιφέρει υψηλότερες πιθανότητες επιπλοκής, δεδομένου ότι υπάρχει σαφής αυξανόμενη επίπτωση της συμπτωματικής πνευμονίτιδας όσο η μέση βιολογική δόση των πνευμόνων αυξάνεται (Kwa και συν 1998).

Βάση της ανωτέρω δήλωσης, το μέσο DVH των ομάδων με βαθμό αξιολόγησης 2 θα έπρεπε να είναι υψηλότερο από εκείνο των ομάδων με βαθμό 0 και 1, που πράγματι επιβεβαιώνεται σε όλους τους ασθενείς, με εξαίρεση ενός συγκεκριμένου εύρους κατανομής της δόσης. Μετά από τη λεπτομερή ανάλυση των DVHs της ομάδα ασθενών με βαθμό 2, επιβεβαιώθηκε ότι μεγαλύτερος όγκος πνεύμονα ακτινοβολήθηκε με δόσεις υψηλότερες από 40 Gy, έναντι του υπολοίπου των ασθενών.

Στην περίπτωση των μέσων διαφορικών DVHs (σχήμα 2.4 κάτω διάγραμμα), όπου απεικονίζεται η σύγκριση μεταξύ της τμηματεκτομής και της μαστεκτομής και των ασθενών με επιπλοκή και μή, αποδεικνύεται ότι οι ασθενείς μαστεκτομής με και χωρίς επιπλοκές έχουν ελάχιστες διαφορές μεταξύ τους, γεγονός που επισημαίνει ότι λαμβάνουν σχεδόν την ίδια κατανομή δόσης στο σύνολο του ακτινοβολημένου όγκου τους. Αυτό μπορεί να είναι μια έκφραση της διαφορετικής κατανομής ακτινοευαισθησίας μέσα στην ίδια ομάδα ασθενών. Τα ιστογράμματα της μεθόδου συντηρητικής εκτομής παρουσιάζουν διαφορές ειδικά στις περιοχές 5-9 και 40-50 Gy με ομάδα μη-επιπλοκών να λαμβάνει υψηλότερη συμβολή χαμηλής δόσης για ένα μεγαλύτερο ποσοστό του ακτινοβολημένου όγκου, όπως θα ήταν αναμενόμενο.

Για την συγκεκριμένη κλινική επιπλοκή που εξετάζεται (*ακτινική πνευμονίτιδα μετά από ακτινοθεραπεία του μαστού*) έχουν δημοσιευθεί αποκλίνουσες απόψεις. Για τις περισσότερες ερευνητικές ομάδες τα παρατηρούμενα ποσοστά επιπλοκής είναι της τάξης του 0-2% <sup>[69,74,75]</sup>. Βέβαια σε κάποιες περιπτώσεις έχουν αναφερθεί πολύ υψηλότερα ποσοστά έως και 25% <sup>[90,64,87]</sup>. Αυτά τα ποσοστά όμως πιθανόν να εξαρτώνται από τις τεχνικές ακτινοθεραπείας που εφαρμόζονται, οι οποίες περιλαμβάνουν συνήθως πολλαπλές δέσμες φωτονίων και ηλεκτρονίων.

Αυτή η πιθανή εξάρτηση επιβεβαιώθηκε και από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, δεδομένου ότι η πιθανότητα της επίπτωσης της πνευμονίτιδας ήταν αρκετά υψηλότερη (16,7%) για τα πλάνα θεραπείας που περιλάμβαναν πολλαπλές δέσμες φωτονίων και ηλεκτρονίων, έναντι των καθιερωμένων δύο επαπτόμενων πεδίων (πιθανότητα 7,9%).

Για την εξέταση των καμπυλών δόσης-απόκρισης, χρησιμοποιήθηκαν τόσο η βιολογικά ισοδύναμη ομοιόμορφη δόση  $\bar{D}$ , όσο και η ισοδύναμη ομοιόμορφη δόση EUD, έτσι ώστε η θέση κάθε ασθενούς της μελέτης να μπορεί να βρεθεί στη θεωρητική καμπύλη απόκρισης.

Στα αριστερά διαγράμματα του σχήματος 2.5, παρουσιάζονται οι θεωρητικές καμπύλες δόσης-απόκρισης για όλα τα μοντέλα και τις διαφορετικές ραδιοβιολογικές παραμέτρους που χρησιμοποιήθηκαν.

Οι σκιασμένες και ριγέ ράβδοι που παρουσιάζονται σε αυτά τα διαγράμματα αποτελούν μέτρηση της επιπλοκής βαθμού 2 σύμφωνα με την κλινική παρακολούθηση. Οι σκιασμένες ράβδοι είναι μια πρώτη ένδειξη ότι τα αναμενόμενα ποσοστά επιπλοκής δεν βρίσκονται σε ικανοποιητική συμφωνία με την κλινική εικόνα. Όμως, στην ομάδα που περιλαμβάνονται οι ασθενείς με δόσεις  $\bar{D}$  | EUD υψηλότερες από 8 Gy (ριγωτές ράβδοι), παρατηρείται μια σχετικά καλή συμφωνία για το μοντέλο σχετικής σειριακότητας με σύνολα παραμέτρων από Serpenwoolde και συν (2003) και Gagliardi και συν (2000).

Το συμπέρασμα αυτό ενισχύεται από τη  $\chi^2$  ανάλυση που παρουσιάζεται στον πίνακα 2.4. Αποδεικνύεται ότι για όλο το εύρος της ομάδας ασθενών, όλα τα μοντέλα και οι παράμετροι παρουσιάζουν εξαιρετικά πτωχή δυνατότητα πρόβλεψης με τιμές  $P_{\chi}(\chi^2, \nu)$  οι οποίες είναι πολύ κοντά στο μηδέν.

Ωστόσο, κατά την εφαρμογή της στατιστικής δοκιμής ( $\chi^2$ ) αποκλείοντας την ομάδα ασθενών (30 ασθ.) που λαμβάνουν  $\bar{D}$  | EUD δόσεις λιγότερο από 8 Gy, η δύναμη όλων των μοντέλων βελτιώθηκε. Μόνο το μοντέλο σχετικής σειριακότητας όμως έδωσε στατιστικά αποδεκτή περιγραφή των κλινικών αποτελεσμάτων με τιμές  $P_{\chi}(\chi^2, \nu)$  0,17 και 0,30.

Ειδικά για το μοντέλο LKB, στο διάγραμμα του σχήματος 2.7.α, οι σκιασμένες ράβδοι, που αντιπροσωπεύουν και εδώ την εμφάνιση ακτινικής πνευμονίτιδας, δείχνουν ότι δεν σχετίζονται επαρκώς με τα αναμενόμενα ποσοστά επιπλοκής που υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας τις παραμέτρους του Burman και συν (1991) και Martel και συν (1994).

Εντούτοις, παρατηρείται μια καλή συμφωνία για τις παραμέτρους του Kwa και συν (1998) και Serpenwoolde και συν (2003).

Για ολόκληρη την ομάδα ασθενών όπως φαίνεται στον πίνακα 2.5, όλα τα σύνολα παραμέτρων (εκτός από Serpenwoolde και συν) παρουσιάζουν χαμηλή δυνατότητα πρόβλεψης με τιμές  $P_{\chi}(\chi^2, \nu)$  πολύ κοντά στο μηδέν. Όμως, στην μειωμένη ομάδα ασθενών (που λαμβάνουν EUD λιγότερο από 8 Gy), η δύναμη όλων των παραμέτρων



βελτιώθηκε με τις παραμέτρους από Kwa και συν (1998) και Serpenwoolde και συν (2003) να περιγράφουν απολύτως ικανοποιητικά την κλινική επιπλοκή με τιμές  $P_{\chi}(\chi^2, \nu)$  0,68 και 0,96 αντίστοιχα.

Επιπλέον, αυτό είναι ξεκάθαρο στο σχήμα 2.7.γ, όπου από τα διαγράμματα, είναι προφανές ότι για τα σύνολα των παραμέτρων του Burman και συν (1991), Martel και συν (1994) και Kwa και συν (1998), ο πιθανότερος αριθμός επιπλοκών είναι πολύ χαμηλός και αυτό παρεκκλίνει σημαντικά από τον αριθμό των επιπλοκών (9) που παρατηρήθηκαν στη μειωμένη ομάδα ασθενών.

Αντίθετα, για τις παραμέτρους του Serpenwoolde και συν (2003) ο αριθμός των ασθενών που πιθανόν να εμφάνισαν επιπλοκές ήταν 6, που είναι αρκετά κοντά στον αριθμό των ασθενών που όντως εμφάνισε ακτινική πνευμονίτιδα (9).

Βέβαια οι ROC τιμές της περιοχής που περικλείεται κάτω από την καμπύλη (απεικονίζονται στις ROC καμπύλες στα διαγράμματα της εικόνας 2.5 και ειδικά για LKB στο σχήμα 2.7.β) δείχνουν ότι τα μοντέλα και οι παραγόμενες παράμετροι δεν διακρίνουν ικανοποιητικά τις ομάδες ασθενών με και χωρίς περιπλοκές. Όλες οι τιμές είναι κοντά στο 0,5, το οποίο σημαίνει ότι η κατανομή των πιθανοτήτων είναι σχεδόν τυχαία. Αυτό εν μέρει ήταν αναμενόμενο επειδή πολλοί από τους ασθενείς βρίσκονται στο χαμηλότερο μέρος της καμπύλης δόσης-απόκρισης. Αυτές οι παρατηρήσεις προέρχονται από το γεγονός ότι τα εξεταζόμενα μοντέλα δεν λαμβάνουν υπόψη κάποιες πολύ σημαντικές ραδιοβιολογικές πληροφορίες όπως, την υπερευαισθησία στις χαμηλές δόσεις, την ενδογενή ακτινοευαισθησία, τις παραλλαγές πυκνότητας μεταξύ των πνευμόνων κ.λπ., οι οποίες μπορούν να ασκήσουν μεγάλη επίδραση στην πρόβλεψη της εξεταζόμενης κλινικής επιπλοκής. Αυτό εκφράζεται από μαθηματική άποψη από τη μειωμένη κλίση των καμπυλών δόσης-απόκρισης (χαμηλό  $\gamma$  ή υψηλές τιμές  $m$ ).

Συνεπώς διαφαίνεται ότι η βελτίωση της συμπεριφοράς των μοντέλων προέρχεται από τα εύρη των απορροφώμενων δόσεων που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή των τιμών των παραμέτρων. Για παράδειγμα, οι Gagliardi και συν έχουν υπολογίσει τις τιμές αυτές από θεραπείες 5 πεδίων που επιβαρύνουν μεγαλύτερο όγκο πνεύμονα με υψηλότερη δόση. Αυτό κυρίως οφείλεται στην επέκταση της ακτινοβολούμενης περιοχής. Ομοίως, οι Serpenwoolde και συν έχουν υπολογίσει τιμές παραμέτρων από τρισδιάστατα πλάνα θεραπείας που χρησιμοποιήθηκαν κυρίως για ακτινοθεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα και όχι του μαστού.

Σε αυτές τις περιπτώσεις, τα πρωτόκολλα και οι τεχνικές ακτινοβολίας αποδίδουν πολύ υψηλότερες δόσεις στον πνεύμονα σε σχέση με την ακτινοβολία που δίδεται κατά την ακτινοθεραπεία καρκίνου του μαστού. Επιπλέον, μεταξύ των διαφορετικών μελετών, παρουσιάζονται σημαντικές διαφορές στα κριτήρια αξιολόγησης που χρησιμοποιούνται

κατά τη διάρκεια του προσδιορισμού των παραμέτρων και της κατανομής των ασθενών μέσα στους διαφορετικούς βαθμούς ακτινικής πνευμονίτιδας.

Συμπερασματικά, είναι λογικό να παρατηρηθεί καλύτερη συμφωνία των προβλέψεων των μοντέλων στην περιοχή υψηλότερων δόσεων.

Για παράδειγμα, στη μελέτη από *Burman και συν* (1991) είναι πολύ ασαφές ποιο σύστημα κατάταξης χρησιμοποιήθηκε δεδομένου ότι η αξιολόγηση βασίστηκε σε μεγάλο βαθμό στην προσωπική εμπειρία. Ο *Martel και συν* (1994), αν και χρησιμοποίησαν ένα ορισμένο πρωτόκολλο κατάταξης (SWOG), ρύθμισαν μόνο την παράμετρο του  $TD_{50}$  από τις προτεινόμενες από *Burman και συν* (1991). Σε καμία από τις δύο περιπτώσεις, δεν δόθηκε καμία πληροφορία για την κατανομή των ασθενών μέσα στους διαφορετικούς βαθμούς ακτινικής πνευμονίτιδας.

Στη μελέτη του *Kwa και συν* (1998) υπήρξαν 14, 18, 22 και 13 ασθενείς με βαθμούς ακτινικής πνευμονίτιδας 2, 3, 4, και 5 αντίστοιχα (SWOG). Τέλος, ο *Serpenwoolde και συν* (2003) είχαν 37 ασθενείς με βαθμό 2 και μόνο 7 με ακτινική πνευμονίτιδα βαθμού 3 ή υψηλότερου (SWOG).

Στην δική μας ομάδα ασθενών υπάρχει μόνο ακτινική πνευμονίτιδα βαθμού 2, γεγονός που εξηγεί την θετική συσχέτιση μεταξύ των κλινικών παρατηρήσεων και των προβλέψεων του μοντέλου κατά τη χρήση των παραμέτρων του *Serpenwoolde και συν* (2003).

Τελικά το μοντέλο που αποδείχθηκε ακριβέστερο στην παρούσα μελέτη, ειδικά για την μειωμένη ομάδα ασθενών, ήταν το LKB αλλά με πολύ συγκεκριμένες παραμέτρους.

Συνεπώς, πρέπει να εκτιμηθεί το είδος των δεδομένων που χρησιμοποιήθηκαν και πώς αυτά τα τέσσερα σύνολα έχουν υπολογιστεί.

Οι τιμές των παραμέτρων του μοντέλου LKB από τους *Burman και συν* (1991) ( $TD_{50} = 24,5$ ,  $m = 0,18$ ,  $n = 0,87$ ) έχουν υπολογιστεί με δεδομένα από τη μελέτη των *Emami και συν* (1991).

Αυτή η ερευνητική ομάδα παρήγαγε δόσεις ανοχής συνοψίζοντας δοσιμετρικά δεδομένα για πιθανότητες επιπλοκής της τάξης του 5% και 50% σε διάστημα 5 ετών μετά την ακτινοβολήση. Λόγω ελλείψεως μιας ακριβούς και περιεκτικής βάσης δεδομένων, η αξιολόγηση βασίστηκε στις απόψεις και την εμπειρία ιατρών από τέσσερα διαφορετικά πανεπιστήμια, τα οποία συμμετείχαν σε αυτήν την μελέτη. Τα κλινικά δεδομένα προέρχονταν από μια ανομοιογενή ομάδα ασθενών με διάφορες νόσους του θώρακα, και κυρίως από ασθενείς που έπασχαν από ασθένεια Hodgkin, καρκίνο του πνεύμονα ή

ασθενείς που δέχτηκαν ολόσωμη ή ημίσωμη ακτινοβολήση. Οι δόσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αποτέλεσμα ανασκόπησης της βιβλιογραφίας.

Στη μελέτη των Martel και συν (1994), αναλύθηκαν τα πλάνα θεραπείας από 21 ασθενείς που έπασχαν από την ασθένεια Hodgkin και από 42 ασθενείς με μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνευμόνων, χρησιμοποιώντας τα κριτήρια τοξικότητας SWOG. <sup>[111,112,113]</sup>

Για τους υπολογισμούς NTCP, το  $TD_{50}$  αυξήθηκε σε 28 Gy (χωρίς αλλαγή της παραμέτρου  $m$  ή του εκθέτη όγκου  $n$ ) με αποτέλεσμα μια μέση αύξηση ~9% στη μέγιστη δόση στον πνεύμονα (μέση διαφοροποίηση στη δόση κανονικοποίησης του DVH) αλλά και μια μέση αύξηση ~5% στο  $V_{\text{eff}}$  (αποτελεσματικός όγκος). Η δεύτερη ρύθμιση 5% έγινε για να συμπεριληφθεί η αλλαγή του σχήματος του DVH μεταξύ των διορθωμένων και μη διορθωμένων πλάνων.

Αν και τα χρησιμοποιούμενα κλινικά στοιχεία ήταν περιεκτικότερα και πιο λεπτομερή σε σχέση με εκείνα των Burman και συν (1991), οι ραδιοβιολογικές παράμετροι για το μοντέλο LKB δεν προήλθαν πραγματικά από αυτό το υλικό αλλά απλώς διορθώθηκαν μερικώς, προκειμένου να συμπεριλάβουν την ανομοιογένεια του πνευμονικού ιστού. Συνεπώς, ο προσδιορισμός και των δύο συνόλων παραμέτρων (Burman και συν (1991) και Martel και συν (το 1994)) χαρακτηρίζονται από σημαντικές ανακρίβειες.

Παρόλα αυτά, αυτές οι τιμές έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως στη βιβλιογραφία μέχρι σήμερα <sup>[68,69,74,110,114,115]</sup>.

Στη μελέτη των Kwa και συν (1998), αναλύθηκαν 540 ασθενείς, από πέντε διαφορετικά κέντρα, με καρκίνο του πνεύμονα (399), καρκίνο του οισοφάγου (1), καρκίνο του μαστού (59), κακοήθες λέμφωμα (78), σάρκωμα (2) και καρκίνου του θύμου (1). Σε αυτήν την ανάλυση, χρησιμοποιήθηκαν DVHs από τρισδιάστατα πλάνα θεραπείας, αφού ελήφθησαν υπόψη παράμετροι σε σχέση με την ετερογένεια του ιστού και τον κερματισμό της δόσης. Πραγματοποιήθηκε, λεπτομερής στατιστική ανάλυση για να βρεθούν οι καλύτερες εκτιμήσεις των παραμέτρων του μοντέλου ( $TD_{50} = 30.5$ ,  $m = 0.30$ ), ενώ υπέθεσαν ότι  $n=1$  για τον εκθέτη του όγκου χρησιμοποιώντας τη μέση δόση πνευμόνων. Αυτές οι παράμετροι υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας τα κριτήρια τοξικότητας της ομάδας SWOG.

Η Serppenwoolde και συν (2003) υπολόγισαν το σύνολο των ραδιοβιολογικών τους παραμέτρων από ομάδα ασθενών που υποβλήθηκαν σε ακτινοθεραπεία, στο ίδρυμα NKI και το πανεπιστήμιο του Μίσιγκαν (UM). Την ομάδα ασθενών αποτελούσαν 42 ασθενείς με καρκίνο του μαστού, 66 ασθενείς με λέμφωμα και 274 ασθενείς με μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνευμόνων. Ο υπολογισμός των παραμέτρων των μοντέλων πραγματοποιήθηκε με αυτόματη προσαρμογή των ελεύθερων παραμέτρων στην μεγιστοποίηση του μοντέλου λογιστικής παλινδρόμησης.

Οι παράμετροι που βρέθηκαν ( $TD_{50} = 30,8$ ,  $m = 0,37$ ,  $n = 0,99$ ) βρίσκονται σε συμφωνία με τις εκτιμήσεις που είχαν προτείνει οι Kwa και συν (1998) (πίνακας 2.3). Εντούτοις, για το μοντέλο LKB υπήρξαν μεγάλες διαφορές στον εκθέτη όγκου,  $n$  που ήταν 0,5 για το NKI και 1,6 για το UM.

Βασικό συμπέρασμα της παρούσας μελέτης αποτελεί το γεγονός ότι η επιρροή της επίδρασης του όγκου  $n$  στον υπολογισμό της πιθανότητας επιπλοκής είναι ιδιαίτερα σημαντική λόγω της μερικής ακτινοβόλησης του όγκου με ανομοιογενή κατανομή δόσης μέσα στον πνεύμονα. Κρίνοντας τις παραμέτρους που τελικά επιφέρουν το καλύτερο αποτέλεσμα στην πρόβλεψη επιπλοκής της Α.Π., υπάρχει η ένδειξη ότι η χρήση ενός μεγαλύτερου εκθέτη οδηγεί σε καλύτερη έκβαση όταν συνδυάζεται με μεγαλύτερες τιμές  $m$  και του  $TD_{50}$ , ειδικά στην περίπτωση των ασθενών με καρκίνο του μαστού, λαμβάνοντας υπόψη ότι χρησιμοποιείται μια σχετικά ήπια βαθμολόγηση.

Επίσης όπως προκύπτει από την έκβαση της παρούσας έρευνας, αποδεικνύεται ότι το ζήτημα της επιλογής κατάλληλων κριτηρίων αξιολόγησης (π.χ. RTOG/EORTC, LENT/SOMA, ή συνδυασμός) είναι πολύ σημαντικό στην ραδιοβιολογική διαμόρφωση και ειδικά όταν συγκρίνονται ραδιοβιολογικές παράμετροι και η χρήση τους σε διαφορετικές ομάδες ασθενών <sup>[106,107]</sup>.

Ο βαθμός 2, όπως αυτός εκφράζεται με τα κριτήρια αξιολόγησης που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη, στην πραγματικότητα αναφέρεται σε σχετικά ηπιότερα συμπτώματα έναντι των άλλων μελετών. Εδώ ο βαθμός αξιολόγησης 2 είναι και ο μέγιστος υποδεικνύοντας εμφάνιση ακτινικής πνευμονίτιδας.

Η ομάδα των Serpenwoolde και συν καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι το μοντέλο της μέσης πνευμονικής δόσης είναι το μοντέλο που περιγράφει σε ικανοποιητικό βαθμό την εμφάνιση Α.Π. Εντούτοις το κλινικό υλικό που χρησιμοποίησαν προήρχετο στην πλειοψηφία από κακοήγη λεμφώματα και Μη Μικροκυτταρικό Καρκίνο του πνευμονα, ενώ μόνο 42 από τους 382 ήταν ασθενείς με καρκίνο του μαστού, από τις οποίες σύμφωνα με τα κριτήρια αξιολόγησης όλες βαθμολογήθηκαν με βαθμό < 2.

Οι περισσότερες ομάδες βρίσκουν τον βαθμό αξιολόγησης 1 (RTOG ή LENT/SOMA) απολύτως αναξιόπιστο για την ακτινοθεραπεία του καρκίνου του μαστού και καταλήγουν στη χρήση ενός βαθμού 2 ή μεγαλύτερου <sup>[87,69,74,108]</sup>. Επιπλέον, ένας κλινικός καθορισμός ήπιας ή μέτριας Α.Π. που εκφράζεται από το βαθμό 2 έχει χρησιμοποιηθεί και από άλλες ομάδες (Rancati και συν 2003, Wennberg και συν 2002) <sup>[109,110]</sup>, αν και δεν εφαρμόζεται καθαρά σε ραδιοβιολογική προσέγγιση παρά σε εκτίμηση κλινικών παραγόντων που συνδέονται με δεδομένη κλινική έκβαση.

Πρέπει να αναφερθεί ότι στην τρέχουσα κλινική πρακτική βαθμοί αξιολόγησης της Α.Π. υψηλότεροι από 2 παρατηρούνται πολύ σπάνια, και κυρίως χρησιμοποιούνται ηπιότερα συμπτώματα για να καθορίσουν την εμφάνιση της επιπλοκής.

Εξετάζοντας την εικόνα 2.5 (δεξιά διαγράμματα) μπορεί να υποθέσει κανείς ότι η περιγραφή των κλινικών δεδομένων από τα διαφορετικά μοντέλα και τα σύνολα παραμέτρων δεν μπορεί να χαρακτηριστεί ικανοποιητική και συνεπώς δεν είναι σε θέση να προβλέψουν ασφαλώς την κλινική έκβαση. Αυτό στηρίζεται στο γεγονός ότι ο αριθμός επιπλοκών που παρατηρούνται βρίσκεται έξω από το 95% διάστημα εμπιστοσύνης των αντίστοιχων Monte Carlo κατανομών.

Ωστόσο εάν όντως χρησιμοποιηθεί βαθμός αξιολόγησης υψηλότερος από 2, η εκτίμηση του ποσοστού συμπτωματικής ακτινικής πνευμονίτιδας θα εμφανιζόταν μηδενική και συνεπώς όλα τα μοντέλα που τώρα αποτυγχάνουν, θα εθεωρούντο άκρως επιτυχή. Επεξήγηση αυτού αποτελεί το γεγονός ότι στα μοντέλα στα οποία παρήχθησαν ραδιοβιολογικές παράμετροι, υπήρξαν επιπλοκές βαθμού 3 έως και 4, και έτσι είναι προφανές ότι η εφαρμογή τους σε ασθενείς με χαμηλότερα ποσοστά επιπλοκής μπορεί να επιφέρει υπερεκτίμηση της αναμενόμενης κατάστασης.

Προφανώς, αυτό συσχετίζεται άμεσα με την επιλογή κατάλληλων κριτηρίων αξιολόγησης για ένα ορισμένο κλινικό αποτέλεσμα όπως η Α.Π., και αυτό κατέστη ιδιαίτερα σαφές δεδομένης της μεγάλης διαφοράς της συμπεριφοράς του Μοντέλου LKB ανάλογα με τις ραδιοβιολογικές παραμέτρους που χρησιμοποιήθηκαν.

Με τις κατάλληλες παραμέτρους, αναφορικά με την ομοιότητα του κλινικού υλικού από το οποίο παρήχθησαν, τόσο το Μοντέλο Σειριακότητας όσο και το LKB αποδείχθηκαν ικανά να προβλέψουν την επιπλοκή της Α.Π. στον καρκίνο του μαστού, παρά τα πολύ χαμηλά ποσοστά εμφάνισης.

Το γεγονός αυτό αποκαλύπτει την αδυναμία επαρκούς αξιολόγησης των κριτηρίων βαθμολόγησης κλινικών επιπλοκών, τουλάχιστον λαμβάνοντας υπόψη τη σύγχρονη πρακτική αλλά και τις πρόσφατες τεχνολογικές εξελίξεις στην ακτινοθεραπεία του μαστού. Η περιγραφή των κλινικών αποτελεσμάτων που χρησιμοποιούνται σε ένα ορισμένο μοντέλο και σύνολο ραδιοβιολογικών παραμέτρων συσχετίζεται άμεσα με την επιλογή των κατάλληλων κριτηρίων και βαθμών αξιολόγησης για το συγκεκριμένο κλινικό αποτέλεσμα.

Το ποια κριτήρια αξιολόγησης είναι τα βέλτιστα για να χρησιμοποιούνται στην ραδιοβιολογική προσέγγιση (π.χ. RTOG/EORTC, LENT/SOMA, SWOG, CTC-NCI) και ιδιαίτερα όταν πραγματοποιείται σύγκριση των παραμέτρων δόσης – απόκρισης και

εφαρμογή αυτών σε διαφορετικές ομάδες ασθενών είναι η πλέον σημαντική παράμετρος στην κλινική εφαρμογή των ραδιοβιολογικών μοντέλων.

Ειδικά στην περίπτωση που εξετάστηκε στα πλαίσια αυτής της μελέτης, η ακτινική πνευμονίτιδα (όπως αυτή εκφράζεται από την διαμορφωμένη τελική κατάσταση) αναφέρεται σε σχετικά ηπιότερα συμπτώματα έναντι άλλων μελετών. Οι περισσότερες ομάδες βρίσκουν το βαθμό αξιολόγησης 1 αναξιόπιστο για την ακτινοθεραπεία καρκίνου του μαστού και καταλήγουν στην χρήση του βαθμού 2 ή μεγαλύτερου (Βλ. Κεφ. 2).

Στην πραγματικότητα ακτινική πνευμονίτιδα με βαθμό υψηλότερο από 2 παρατηρείται πολύ σπάνια στην θεραπεία του καρκίνου του μαστού, και στην τρέχουσα κλινική πρακτική χρησιμοποιούνται κυρίως ηπιότερα συμπτώματα για να καθορίσουν την εμφάνιση της.

Συνεπώς, για μια ασφαλή και αξιόπιστη σύνδεση μεταξύ των μοντέλων και της δυνατότητας πρόβλεψης των κλινικών αποτελεσμάτων παρακολούθησης που προκύπτουν, το κατάλληλο σύνολο ραδιοβιολογικών παραμέτρων που τίθεται για μια ομάδα ασθενών καθορίζεται από τα κριτήρια αξιολόγησης που χρησιμοποιούνται και τη μέθοδο θεραπείας που εφαρμόζεται.

### 3. Ραδιοβιολογική Προσέγγιση της Ακτινικής Πνευμονίτιδας στην ακτινοθεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα και αξιολόγηση δοκιμών πνευμονικής λειτουργίας.

---

#### Περίληψη

**Σκοπός.** Ο σκοπός της εργασίας αυτής ήταν να αξιολογηθούν τα συνηθέστερα χρησιμοποιούμενα Ραδιοβιολογικά Μοντέλα (Σχετικής σειριακότητας - Seriality, Παραλληλότητας - Parallel και LKB) σχετικά με την επίπτωση της Ακτινικής Πνευμονίτιδας (Α.Π.), σε μια ομάδα ασθενών μετά από ακτινοθεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα. Επίσης να αξιολογηθεί ο συσχετισμός της ραδιοβιολογικής προσέγγισης με τα αποτελέσματα των δοκιμών πνευμονικής λειτουργίας (Pulmonary Function Tests).

**Μεθοδολογία.** Η μελέτη βασίστηκε σε 47 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ακτινοθεραπεία για καρκίνο του πνεύμονα. Για κάθε ασθενή, ήταν διαθέσιμη η τρισδιάστατη κατανομή της δόσης στο σύνολο του πνευμονικού ιστού, με και χωρίς τον όγκο του πλάνου θεραπείας. Προκειμένου να αξιολογηθεί η εκδήλωση των επιπλοκών της ακτινοθεραπείας συνεκτιμήθηκαν τα κλινικά συμπτώματα και τα ακτινολογικά ευρήματα, όπως επίσης και ένα ερωτηματολόγιο συμπτωμάτων ενόχλησης για κάθε ασθενή.

Επίσης πραγματοποιήθηκαν δοκιμές πνευμονικής λειτουργίας (PFTs) για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 18 μηνών μετά την θεραπεία. Χρησιμοποιώντας αυτό το υλικό, αξιολογήθηκαν διαφορετικές μέθοδοι εκτίμησης της πιθανότητας εμφάνισης μετακτινικής επιπλοκής. Η αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε αναλύοντας τα στοιχεία των ασθενών με βάση την πλήρη κατανομή της δόσης και συσχετίζοντας τα αναμενόμενα ποσοστά επιπλοκής με την παρατηρούμενη κλινική εικόνα μετά την θεραπεία.

**Αποτελέσματα.** Σύμφωνα με τα κριτήρια αξιολόγησης που χρησιμοποιήθηκαν (RTOG) δέκα τρεις ασθενείς (~28%) εμφάνισαν ακτινική πνευμονίτιδα (βαθμός αξιολόγησης 3). Η αξιολόγηση των πνευμόνων πραγματοποιήθηκε τόσο στον πνεύμονα που υποβλήθηκε σε θεραπεία, όσο και στο σύνολο του πνευμονικού ιστού, οπότε και υπήρξε μεγάλη διαφορά στα ραδιοβιολογικά αποτελέσματα. Όλα τα ραδιοβιολογικά μοντέλα που χρησιμοποιήθηκαν είχαν ικανοποιητική προσαρμογή με τα παρατηρούμενα ποσοστά επιπλοκής, αλλά το ραδιοβιολογικό μοντέλο που αποδείχθηκε πιο ικανό να περιγράψει την κλινική έκβαση, βάσει της στατιστικής ανάλυσης ( $P_x(\chi^2, \nu) \sim 0,34$ ) είναι το Μοντέλο Παραλληλότητας με το σύνολο των παραμέτρων Serpenwoolde και σύν.

Εντούτοις, δεν αποδείχθηκε θετικός συσχετισμός μεταξύ των αποτελεσμάτων δόσης-όγκου και των αλλαγών σε PFTs. Ωστόσο, υπήρξε η ένδειξη ότι οι ασθενείς με καλύτερα αποτελέσματα στα PFTs πριν από τη θεραπεία θα μπορούσαν να συσχετιστούν πιο ικανοποιητικά με τα αποτελέσματα των μοντέλων.

**Συζήτηση.** Τα μοντέλα εκτίμησης της επιπλοκής είναι ιδιαίτερα σημαντικά για την θεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα, λαμβάνοντας υπόψη τη συχνή εμφάνιση αυτής της νόσου, αλλά και των επιπλοκών που προκαλεί η ακτινοβολία. Επιπλέον, η εφαρμογή τους, είναι ιδιαίτερος ενδιαφέρουσα λόγω των διαφορών που υπάρχουν μεταξύ των ασθενών στην πνευμονική τους λειτουργία προ της ακτινοθεραπείας αλλά και την υψηλή διαφοροποίησή τους κατόπιν θεραπείας.

Ωστόσο, στην παρούσα μελέτη δεν επιβεβαιώθηκε η δυνατότητα να προβλεφθούν οι πνευμονικές αλλαγές βάσει των παραμέτρων Δόσης – Όγκου, και αυτό κυρίως επειδή η ανάλυση των δοκιμών πνευμονικής λειτουργίας (PFTs) δεν έδειξε διαφορές οι οποίες θα μπορούσαν να συνδεθούν με τα ραδιοβιολογικά μοντέλα NTCP.



### 3.1 Θεραπευτική Μεθοδολογία και Κλινικά δεδομένα.

Τα κλινικά δεδομένα προήλθαν από 140 ασθενείς οι οποίοι συμμετείχαν σε μία τυχαίοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη μεταξύ των ετών 1994 και 1998 από διάφορα κέντρα ακτινοθεραπείας (Karolinska, Lund, Malmö, Oslo), αναφορικά με την αξιολόγηση της ακτινοθεραπείας του Μη Μικροκυτταρικού Καρκίνου του Πνεύμονα, σταδίου IIIa και IIIb.

Όλοι οι ασθενείς που συμμετείχαν στην μελέτη, ήταν τουλάχιστον 30 ετών, και η επιλογή τους πραγματοποιήθηκε βάσει κλινικής αξιολόγησης. Αυτή η αξιολόγηση περιελάμβανε ιστολογική ή κυτταρολογική επιβεβαίωση για την ύπαρξη μη - χειρουργήσιμου μικροκυτταρικού καρκίνου ISS σταδίου III, και βαθμό στην κλίμακα επίδοσης Karnofsky μεγαλύτερο ή ίσο με 50. Επιπλέον, σε κάθε ασθενή που επιλέχθηκε πραγματοποιήθηκαν τα εξής: φυσική εξέταση, ακτινογραφία θώρακος, θωρακική αξονική τομογραφία και σπιρομέτρηση (συμπεριλαμβανομένων FEV<sub>1</sub> και FVC).

Η θεραπευτική αγωγή της ακτινοθεραπείας που χρησιμοποιήθηκε στη μελέτη (1.8-2.0 Gy/συνεδρία καθημερινά με συνολική δόση 60 Gy) αναφέρεται συχνά ως "χρυσό πρότυπο" για την θεραπεία των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα, αν και ακόμη δεν έχει υπάρξει απόλυτη συμφωνία σχετικά με την ακτινοθεραπεία του MMK καρκίνου του πνεύμονα. Η συνολική απορροφημένη δόση δόθηκε στον όγκο προγραμματισμού του πλάνου θεραπείας (PTV), με μία συνεδρία ημερησίως για 5 μέρες την εβδομάδα σε σύνολο 30-33 συνεδριών.

Εφαρμόστηκαν δύο περιοριστικοί κανόνες που ήταν:

1. Η μέγιστη επιτρεπόμενη συνολική μέση δόση στην σπονδυλική στήλη καθορίστηκε στα 45 Gy,
2. Ο μέγιστος όγκος πνεύμονος που επιτρεπόταν να λάβει μέση δόση πάνω από 20 Gy καθορίστηκε στο ήμισυ του συνολικού του όγκου.

Το εύρος της χρησιμοποιούμενης ενέργειας της ακτινοβολίας ήταν από 4 έως 10 MV, με συνιστώμενη ενέργεια τα 6MV. Σε ειδικές περιπτώσεις θώρακος αυξημένης πυκνότητας και με πολύ μικρούς όγκους αέρα, εφαρμόστηκε επιλεκτικά υψηλότερη ενέργεια φωτονίων.

Η διαδικασία του σχεδιασμού του πλάνου θεραπείας περιγράφηκε σε πρωτόκολλο και βασίστηκε σε πολλαπλές τομές αξονικής τομογραφίας του προγραμματισμένου όγκου θεραπείας (PTV). Η δόση υπολογίστηκε σε τρισδιάστατο αυτοματοποιημένο σύστημα σχεδιασμού θεραπείας με διορθώσεις για την ανομοιογένεια.

Η τοποθέτηση των ασθενών πραγματοποιήθηκε σε ύπτια θέση με το κεφάλι σε τυποποιημένη βάση στήριξης και με τους βραχίονες κατά προτίμηση επάνω από το κεφάλι, επιτρέποντας έτσι την εφαρμογή θεραπείας με πολλαπλά πεδία. Η διαμόρφωση των πεδίων πραγματοποιήθηκε με μπλοκ μολύβδου κατασκευασμένα ειδικά για κάθε ασθενή ή με διαμορφωτή πολλαπλών φύλλων (multileaf collimator). Η βέλτιστη παραλλαγή δόσης μέσα στο PTV ήταν στο διάστημα 57-63 Gy (ισοδοσιακή καμπύλη 95-105%) σύμφωνα με το πλάνο θεραπείας.

Ορισμένοι ασθενείς που συμμετείχαν στο πρωτόκολλο, έλαβαν μια συγκεκριμένη δόση μιας ουσίας της οποίας η δράση εξετάστηκε ως ακτινο-ευαίσθητοποιός (metoclopramide, 2 mg/kg). Όμως η ανάπτυξη σκευασμάτων ή εφαρμογών που ευαίσθητοποιούν την ακτινοθεραπεία, έχουν επίπτωση και τον φυσιολογικό ιστό που συμπεριλαμβάνεται στο πεδίο ακτινοβολήσης. Εάν ο φυσιολογικός ιστός ευαίσθητοποιείται στον ίδιο βαθμό με το νεόπλασμα, τότε η επίδραση του φαρμάκου θα επιφέρει το ίδιο αποτέλεσμα με μια αυξημένη δόση ακτινοβολίας. Οπότε αυτοί οι ασθενείς αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

Τελικά σπό τους 140 ασθενείς που συμπεριλήφθησαν στη μελέτη μόνο 47 ήταν επιλέξιμοι για την παρούσα ανάλυση.

Μια περίληψη του προγράμματος θεραπείας και κλινικής παρακολούθησης, και των χαρακτηριστικών των ασθενών απεικονίζεται στους πίνακες 3.1α και 3.1β.

<b>Γένος</b>	
Ανδρες	73%
Γυναίκες	27%
<b>Ιστολογικά Χαρακτηριστικά</b>	
Αδενοκαρκίνωμα	28%
Squamous cell carcinoma	54%
Άλλο	17%
<b>Δείκτης Karnofsky</b>	
Κάτω από 80	16%
80	27%
Πάνω από 80	57%
<b>Ηλικία (έτη)</b>	
Μέση	64
Εύρος	39–82
<b>BMI (kg/ cm<sup>2</sup>)</b>	
Μέσο	24
Εύρος	16–42
<b>Σταδιοποίηση Νεοπλάσματος (ISS)</b>	
IIIa	51%
IIIb	47%
<b>Μέση Επιφάνεια</b>	30cm <sup>2</sup>

**Πίνακας 3.1.α Χαρακτηριστικά Εισαγωγής**

Επίσης χρησιμοποιήθηκε πρωτόκολλο εξέτασης των ασθενών που περιελάμβανε ερωτήσεις για πόνο και άλλα συμπτώματα στην περιοχή της θεραπείας, καθώς επίσης και για συμπτώματα στα αναπνευστικά όργανα (δύσπνοια, βήχας, πυρετός, πόνος). Με βάση τα παραπάνω στοιχεία έγινε καταγραφή των κλινικών αποτελεσμάτων.

Τέλος χρησιμοποιήθηκαν σπιρομετρήσεις για τον υπολογισμό της εισπνευστικής χωρητικότητας (IC), λειτουργικής υπολειπόμενης χωρητικότητας (FRC), ζωτικής χωρητικότητας (VC), και ολικής πνευμονικής χωρητικότητας (TLC).<sup>ο</sup>

Η αξιολόγηση της Α.Π. πραγματοποιήθηκε αναδρομικά, με συνδυασμό κλινικής διάγνωσης και ακτινολογικών ευρημάτων. Η ταξινόμηση και βαθμονόμηση των μετακινικών αντιδράσεων πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τα κριτήρια RTOG / EORTC αναφορικά με την εμφάνιση ακτινικής πνευμονίτιδας. Στην ακτινοθεραπεία του πνεύμονα τα ποσοστά εμφάνισης της ακτινικής πνευμονίτιδας είναι αρκετά υψηλά οπότε και τα υπάρχοντα συστήματα αξιολόγησης περιγράφουν ικανοποιητικά το αποτέλεσμα.

Τα ραδιοβιολογικά μοντέλα που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της πιθανότητας επιπλοκής ήταν το Μοντέλο Σχετικής Σειριακότητας, το μοντέλο Παραλληλότητας και το μοντέλο LKB. Τα στοιχεία των κατανομών δόσης - όγκου απο το πλάνο του κάθε ασθενούς εισήχθησαν στα ραδιοβιολογικά μοντέλα, απο τα οποία υπολογίστηκαν οι αντίστοιχες τιμές NTCP, για συγκεκριμένες τιμές δημοσιευμένων παραμέτρων.

Στη διαδικασία αυτή, χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό που δημιουργήθηκε για τον αυτόματο υπολογισμό των πιθανοτήτων, του οποίου η λειτουργία παρουσιάζεται στο κεφάλαιο 2 (σελ. 92-93).

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, μοντέλα που λαμβάνουν δεδομένα μόνο απο δοσιμετρικές παραμέτρους δεν αποτελούν ασφαλή κριτήρια για τον προσδιορισμό των επιπλοκών στην περίπτωση της ακτινοθεραπείας του πνεύμονα<sup>[46,111]</sup>. Θεωρείται ότι θα ήταν πιο ασφαλές τα μοντέλα πρόβλεψης να μπορούν να συμπεριλάβουν λειτουργικές πληροφορίες, όπως είναι η πνευμονική λειτουργία πριν την ακτινοθεραπεία.

Έχει διαπιστωθεί ότι η ακρίβεια των μοντέλων πρόβλεψης που βασίζονται μόνο σε δοσιμετρικές παραμέτρους, όπως είναι η μέση δόση των πνευμόνων (MLD), αυξάνεται, όταν αποκλείονται απο τη μελέτη οι ασθενείς που παρουσιάζουν σχετικά μειωμένη πνευμονική λειτουργία πριν από την ακτινοθεραπεία<sup>[118,119,120]</sup>.

Επιπλέον θεωρείται ότι, οι δοκιμές πνευμονικής λειτουργίας (PFTs) είναι μια αντικειμενική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της τοξικότητας της ακτινοβολίας.<sup>[88]</sup> Σε ασθενείς με

<sup>ο</sup> Βλ. περιγραφή των όρων στο Παράρτημα

περιοριστικού τύπου διαταραχή αερισμού παρατηρείται σημαντική μείωση της ζωτικής χωρητικότητας. Η διαφοροποίηση της 'ταχέως εκπνεόμενης ζωτικής χωρητικότητας' (FVC) και ειδικά η μείωση της, αποτελεί ένδειξη περιοριστικού συνδρόμου διαταραχής του αερισμού. Επίσης μείωση του λόγου του 'ταχέως εκπνεόμενου όγκου αέρα στο πρώτο δευτερόλεπτο' (FEV<sub>1</sub>) προς την τιμή της 'ταχέως εκπνεόμενης ζωτικής χωρητικότητας' (FVC) FEV<sub>1</sub>/FVC με δυσανάλογα σημαντική μείωση της ζωτικής χωρητικότητας, θέτει την υποψία συνύπαρξης απόφραξης και περιορισμού που συνιστά παρουσία πνευμονίτιδας.

Το συνολικό πρόγραμμα της θεραπείας και της κλινικής παρακολούθησης συνοψίζεται στον πίνακα 3.1.β. Οι χρονικές περίοδοι χωρίστηκαν σε περίοδο εισαγωγής, περίοδο θεραπείας και περίοδο παρακολούθησης και αντίστοιχα σε μέρες και εβδομάδες.

Δυναμικές Μελέτες	Περίοδος Εισαγωγής		Περίοδος Θεραπείας (Περίπου επτά εβδομάδες)							Περίοδος Παρακολούθησης		Περιπτ. αποκλ.
	Πρώτη Φάση	Δευτ. Φάση	Μέρα 1-5	Μέρα ≈12	Μέρα ≈19	Μέρα ≈26	Μέρα ≈33	Μέρα ≈40	Μέρα ≈45	Εβδομάδα 8,12,16	Μήνας 6,9,12,18	
<b>Τοπική απόκρ. νεοπλασματος:</b>												
CT	X									X	X <sup>c</sup>	
Ακτινογραφία Φυσική Εξέταση	X									X <sup>b</sup>	X	
Αντιθετικά αποτελέσματα Εργαστηρ. Μετρήσεις	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Ζωτικά σημεία <sup>d</sup>	X	X <sup>a</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X <sup>e</sup>	X	X
Σωματικό Βάρος	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<b>RTOG/EORTC αξιολόγηση</b>		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ECG		X							X	X <sup>e</sup>		
Σπυρομέτρηση Δείκτης Karnofsky	X	X								X	X	X

<sup>a</sup> Στην περίπτωση που τα δεδομένα εισαγωγής ήταν παλαιότερα από 7 μέρες.

<sup>b</sup> Μόνο στην 16<sup>η</sup> εβδομάδα

<sup>c</sup> Μόνο στην 18<sup>η</sup> εβδομάδα

<sup>d</sup> Μόνο για ασθενείς με χορήγηση φαρμάκου

<sup>e</sup> Μόνο στην 8<sup>η</sup> εβδομάδα

### Πίνακας 3.1.β Σύνοψη του προγράμματος Θεραπείας και Κλινικής Παρακολούθησης

Καθορίστηκε ότι τα όργανα κινδύνου σε αυτήν την μελέτη ήταν: δέρμα, πνεύμονες, φάρυγγας, λάρυγγας, οισοφάγος και ο προμήκης μυελός. Οι πίνακες 3.6.α και β παρουσιάζουν τα αποτελέσματα της αξιολόγησης RTOG, όλων των ασθενών στη μελέτη, με σύγκριση του χειρότερου αποτελέσματος κατά τη διάρκεια της θεραπείας με το χειρότερο αποτέλεσμα κατά την εισαγωγή. Επίσης, παρουσιάζεται η σύγκριση του χειρότερου αποτελέσματος κατά τη διάρκεια της περιόδου παρακολούθησης μετά τη θεραπεία με το χειρότερο αποτέλεσμα στη διάρκεια θεραπείας.

Τα αποτελέσματα RTOG για το δέρμα, το φάρυγγα και τον οισοφάγο δείχνουν ότι ένας μεγάλος αριθμός ασθενών επιδεινώθηκε κατά τη διάρκεια της περιόδου θεραπείας αλλά βελτιώθηκε αμέσως μετά τη λήξη της.

Ο στόχος της ανάλυσης ήταν να αξιολογηθεί η δύναμη των διαφορετικών μοντέλων δόσης-απόκρισης στην περίπτωση του καρκίνου του πνεύμονα σε συνθήκες αναλογίας με την προηγούμενη μελέτη στο μαστό, ώστε να μπορούν να προκύψουν ασφαλή συμπεράσματα και συγκρίσεις. Συνεπώς η μεθοδολογία αξιολόγησης, στατιστικής ανάλυσης, αλλά και τελικής σύγκρισης αναφέρεται αναλυτικά στο κεφάλαιο 2.

Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται το σύνολο των χρησιμοποιούμενων μοντέλων και ραδιοβιολογικών παραμέτρων.

Μοντέλα	Τιμές Παραμέτρων*			
<b>Σχετικής Σειριακότητας</b>	<b><math>D_{50}</math> (Gy)</b>	<b><math>\gamma</math></b>	<b><math>s</math></b>	<b><math>\alpha/\beta</math></b>
Serpenwoolde <i>συν</i> 2003	34	0.9	0.06	2.5 - 3.0
Gagliardi <i>συν</i> 2000	30.1	0.97	0.01	3.0
Mah <i>συν</i> 1987	26	2	0.031	-
<b>Μοντέλο LKB</b>	<b><math>TD_{50}</math> (Gy)</b>	<b><math>m</math></b>	<b><math>n</math></b>	<b><math>\alpha/\beta</math></b>
Serpenwoolde και <i>συν</i> 2003	30.8	0.37	0.99	-
Burman <i>συν</i> 1991	24.5	0.18	0.87	-
<b>Μοντέλο Παραλληλότητας</b>	<b><math>TD_{50}</math> (Gy)</b>	<b><math>m</math></b>	<b><math>n</math></b>	<b><math>\alpha/\beta</math></b>
Serpenwoolde <i>et al</i> 2003	31	0.32	0.67	2.5 - 3.0

**Πίνακας 3.1.γ Συνοπτικός πίνακας όλων των χρησιμοποιούμενων δημοσιευμένων ραδιοβιολογικών παραμέτρων των μοντέλων.**

### 3.2 Αποτελέσματα

Οι πίνακες 3.2.α και 3.2.β παρουσιάζουν την αξιολόγηση των δεικτών της δοκιμής Karnofsky, για τις εβδομάδες 8<sup>η</sup>-16<sup>η</sup> και από την 17<sup>η</sup> και μετά αντίστοιχα. Η συνολική εικόνα των ασθενών επιδεινώθηκε κατά την διάρκεια της θεραπείας.

**Πίνακας 3.2.α**

**Δείκτης Karnofsky: Αριθμός των ασθενών με τον χαμηλότερο δείκτη Karnofsky κατά την διάρκεια των εβδομάδων 8-16 έναντι εισαγωγής**

	Αριθμός ασθενών							
	Κατά την εισαγωγή	Χαμηλότερος δείκτης Karnofsky κατά την διάρκεια των εβδομάδων 8-16						
		Δ.Α.	100-90	80-70	60-50	40-30	20-10	Σύνολο
Ακτινο-θεραπεία	100-90	4	24	20	10	1	1	60
	80-70	3	8	19	5	2	1	38
	60-50	1	.	.	.	.	1	2
	Σύνολο %	8	32	39	15	3	3	100

Κάθε κουκίδα αντιστοιχεί στον αριθμό μηδέν.

Δ.Α.: δεν αξιολογήθηκε

**Πίνακας 3.2.β**

**Δείκτης Karnofsky: Αριθμός των ασθενών με τον χαμηλότερο δείκτη Karnofsky από την 17<sup>η</sup> εβδομάδα και μετά έναντι εισαγωγής**

	Αριθμός ασθενών							
	Κατά την εισαγωγή	Χαμηλότερος δείκτης Karnofsky από την 17 <sup>η</sup> εβδομάδα και μετά						
		Δ.Α.	100-90	80-70	60-50	40-30	20-10	Σύνολο
Ακτινο-θεραπεία	100-90	22	12	16	8	2	.	60
	80-70	20	2	10	4	1	1	38
	60-50	2	.	.	.	.	.	2
	Σύνολο %	45	14	26	12	3	1	100

Κάθε κουκίδα αντιστοιχεί στον αριθμό μηδέν.

Δ.Α.: δεν αξιολογήθηκε

Η ενδογενής ακτινευσιασθησία, τα διαφορετικά χαρακτηριστικά των όγκων καθώς επίσης και η διαφορετική πνευμονική λειτουργία των ασθενών, δυσκολεύουν τη διαδικασία εκτίμησης της όψιμης και οξείας τοξικότητας, αλλά συγχρόνως την καθιστούν ιδιαίτερως χρήσιμη.

Διάφορα μοντέλα NTCP είναι χρήσιμα στον καθορισμό των κατώτατων ορίων δόσης πάνω από τα οποία δύναται να εμφανιστεί Α.Π., αλλά κανένα μοντέλο δεν ήταν σε θέση να ποσοτικοποιήσει την πνευμονική λειτουργική αλλαγή, είτε μακροχρόνια είτε βραχυπρόθεσμα.

Ως εκ τούτου η πρόβλεψη των αλλαγών της πνευμονικής λειτουργίας (PFT) βασιζόμενη σε παραμέτρους δόσης-όγκου δεν έχει επιτευχθεί ακόμα, αν και έχουν αναφερθεί ελπιδοφόρα στοιχεία.

Στον πίνακα 3.3. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της περιγραφικής στατιστικής ανάλυσης της αξιολόγησης του δείκτη απόδοσης υπολογισμένα με τη μέθοδο Kaplan-Meier.

Ομάδα Απόδοση	Θεραπεία	Τετραμνηνο επιβίωσης			Ποσοστό επιβίωσης (%)			
		25% εκτίμηση	50% (median) εκτίμηση	75% εκτίμηση	6 μήνες	1 χρόνος	18 μήνες	
<80	ακτινοθεραπεία (16%)	17.8	6.7	3.7 - 15.1 C. I.	3.1	63	31	25
=80	ακτινοθεραπεία (26%)	15.9	8.9	6.0 - 14.2	5.6	64	36	24
>80	ακτινοθεραπεία (58%)	19.6	12.0	8.7 - 18.0	5.5	71	49	36
<b>Στάδιο ISS</b>								
στάδιο IIIa	ακτινοθεραπεία (53%)	20.5	11.9	10.1 -	6.0	74	49	38
στάδιο IIIb	ακτινοθεραπεία (47%)	17.9	6.8	5.8 - 12.4	3.9	62	36	24
<b>Ιστολογικά</b>								
Non-squamous cell carcinoma	ακτινοθεραπεία (46%)	20.5	12.2	8.2 - 18.5	5.8	72	54	36
Squamous cell carcinoma	ακτινοθεραπεία (55%)	19.6	8.7	6.6 - 11.9	3.7	65	33	28
<b>Θεραπεία</b>								
ακτινοθεραπεία ≥54 Gy	ακτινοθεραπεία (90%)	21.2	11.8	8.9 - 14.2	6.1	75	47	34

**Πίνακας 3.3 Περιγραφική στατιστική με δείκτη απόδοσης, υπολογιζόμενη με την μέθοδο Kaplan-Meier**

Στον πίνακα 3.4 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης  $\chi^2$ . Αποδεικνύεται ότι για όλα τα μοντέλα και τα σύνολα των παραμέτρων που χρησιμοποιήθηκαν, η σύνδεση της Α.Π. με ένα κατώτατο όριο δόσης ήταν εφικτή με σημαντικό στατιστικό συσχετισμό, για ολόκληρη την ομάδα ασθενών.

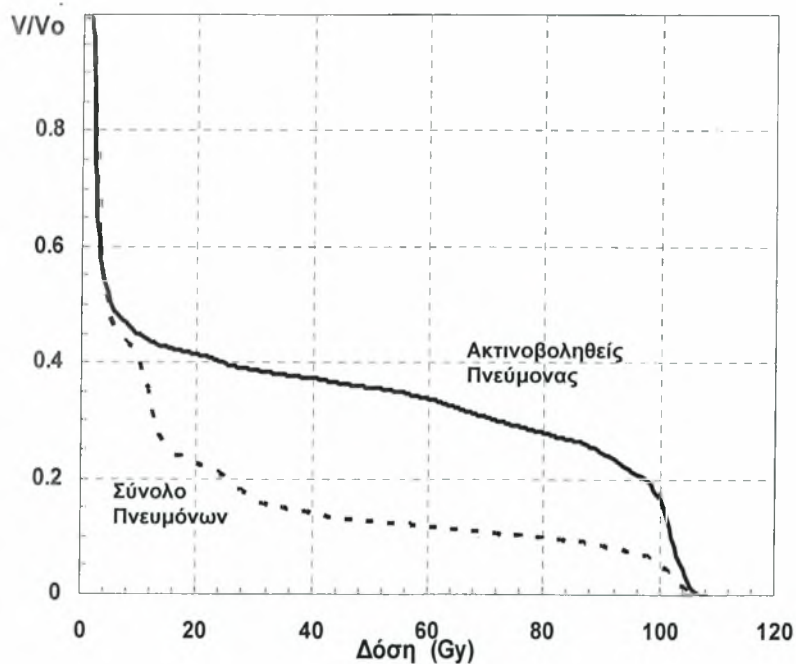
Στο μοντέλο LKB εφαρμόστηκαν τόσο οι παράμετροι Burman και συν και Seppenwoolde και συν, και αποδεικνύεται ότι για την περίπτωση του καρκίνου του πνεύμονα και τα δυο σύνολα παραμέτρων δίνουν εξίσου καλά αποτελέσματα.

Επιβεβαιώνεται έτσι η διαπίστωση της προηγούμενης έρευνας ότι η επιλογή παραμέτρων συνδέεται άμεσα με την θεραπευτική τεχνική.

Στο σχήμα 3.4 απεικονίζονται τα μέσα συσσωρευτικά ιστογράμματα δόσης όγκου, για τον ακτινοβολημένο πνεύμονα και το σύνολο των πνευμόνων αντίστοιχα.

Μοντέλο Σχετικής Σειριακότητας	$P_{\chi}(\chi^2, \nu)$	Odds Ratio
Seppenwoolde και συν 2003	0.3044	3.86 CI = 0.63-5.49 Threshold 12Gy
Gagliardi και συν 2000	0.2838	2.68 CI = 0.56-4.79 Threshold 14Gy
Mah και συν 1987	0.2347	1.6 CI = 0.2-1.75 Threshold 14Gy
<b>Μοντέλο LKB</b>		
Burman και συν 1991	0.2218	2.46 CI = 0.47-4.07
Sepewoolde και συν 2003	0.2867	Threshold 12Gy
<b>Μοντέλο Παραλληλότητας</b>		
Seppenwoolde <i>et al</i> 2003	0.3393	5.54 CI = 0.81-7.11 Threshold 14Gy

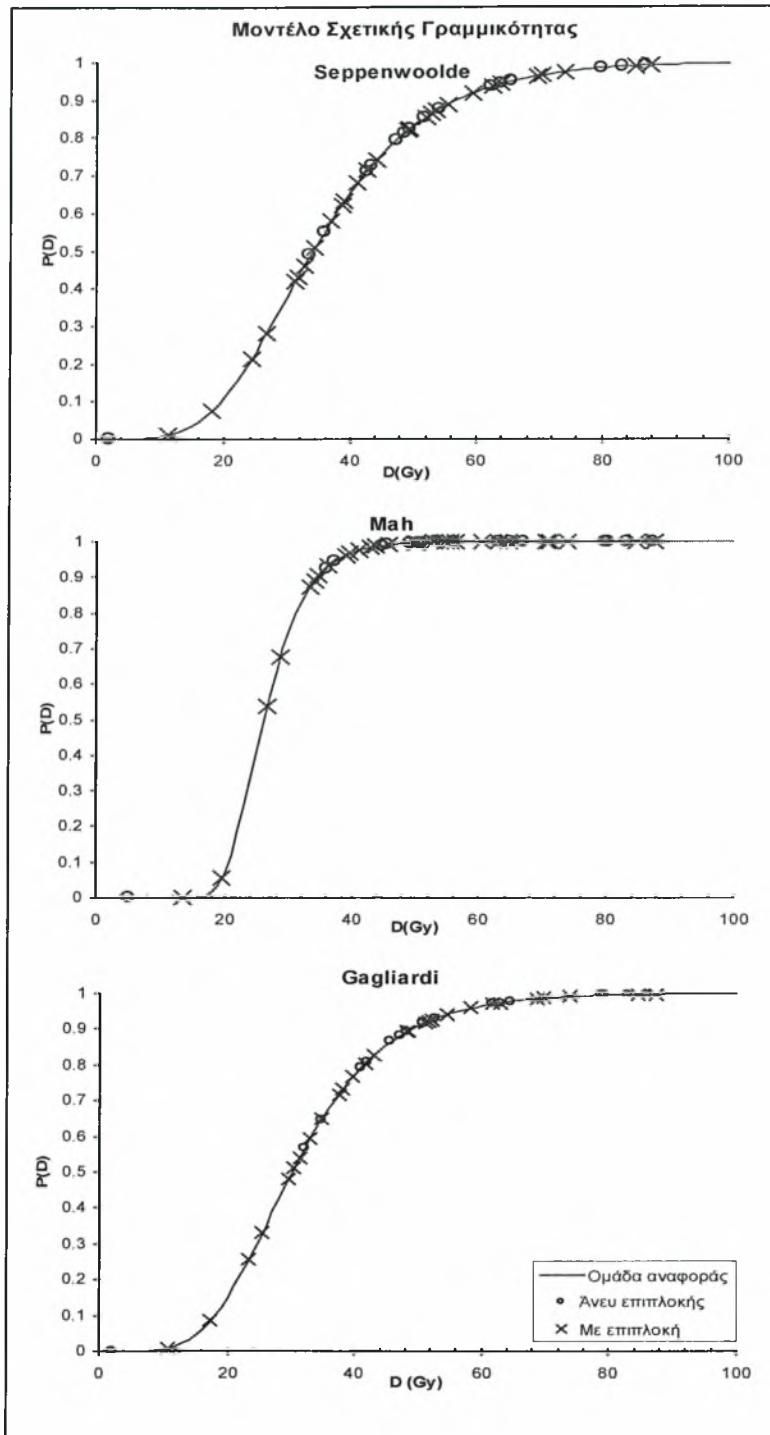
Πίνακας 3.4 Σύνοψη της στατιστικής ανάλυσης των ραδιοβιολογικών μοντέλων με τα επιμέρους σύνολα των ραδιοβιολογικών παραμέτρων.



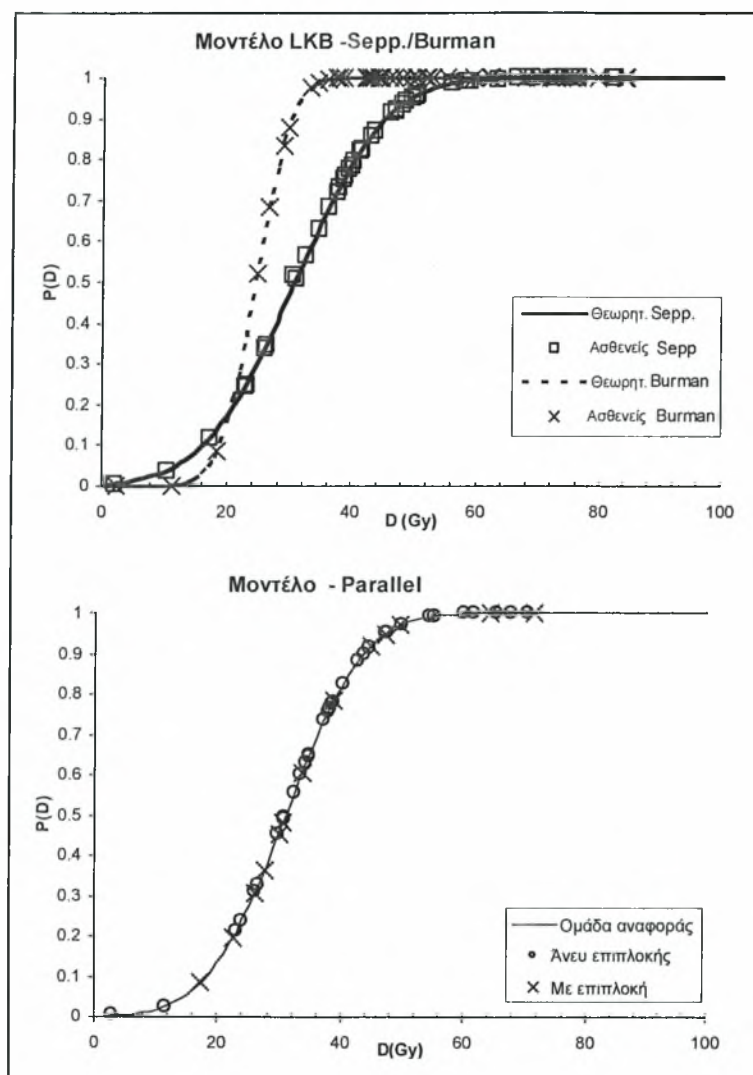
Σχήμα 3.4 Μέσα Συσσωρευτικά Ιστογράμματα Δόσης-Όγκου



Στα σχήματα 3.5.α και 3.5.β αντίστοιχα παρουσιάζονται οι σχέσεις δόσης απόκρισης όπως έχουν υπολογιστεί με εφαρμογή των μοντέλων Σχετικής Σειριακότητας και μοντέλων LKB και Παραλληλότητας.



Σχήμα 3.5.α: Σχέσεις δόσης απόκρισης όπως υπολογίστηκαν με εφαρμογή του μοντέλου Σχετικής Σειριακότητας, με παραμέτρους από Seppenwoolde, Mah και Gagliardi<sup>[74]</sup>.



Σχήμα 3.5.β: Σχέσεις δόσης απόκρισης όπως υπολογίστηκαν με εφαρμογή του μοντέλου LKB, με παραμέτρους από Serpenwoolde<sup>[74]</sup>, και Burman<sup>[50]</sup>, και το μοντέλο Παραλληλότητας με παραμέτρους από Serpenwoolde.

Το ραδιοβιολογικό μοντέλο που αποδείχθηκε πιο ικανό να περιγράψει την κλινική έκβαση στην ακτινοθεραπεία του πνεύμονα, βάση της στατιστικής ανάλυσης ( $P_{\chi}(\chi^2, \nu) \sim 0,34$ ) είναι το Μοντέλο παραλληλότητας με το σύνολο των παραμέτρων Serpenwoolde και σύν.

Ωστόσο στην παρούσα μελέτη δεν επιβεβαιώθηκε η δυνατότητα να προβλεφθούν οι πνευμονικές αλλαγές λειτουργίας βάσει των παραμέτρων Δόσης – Όγκου, και αυτό κυρίως επειδή η ανάλυση των δοκιμών πνευμονικής λειτουργίας (PFTs) δεν έδειξε διαφορές οι οποίες θα μπορούσαν να συνδεθούν με το ραδιοβιολογικό μοντέλο NTCP.

Τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα της αξιολόγησης των δοκιμών πνευμονικής λειτουργίας απεικονίζονται στον πίνακα 3.5. Από τους μέσους όρους των διαφορών των αποτελεσμάτων από την 8<sup>η</sup> μέχρι την 78<sup>η</sup> εβδομάδα, δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά που να μπορεί να συνδεθεί με κάποιο συγκεκριμένο κλινικό αποτέλεσμα. Η διαφορά αναφέρεται πάντα σε σχέση με την μέτρηση κατά την εισαγωγή.

Περιγραφή	Εβδομάδα επίσκεψης	n (%)	Αποτελέσματα	
			Μέσος όρος	std
VC	Εισαγωγή	100	3.1	0.93
Διαφορά VC από εισαγωγή	8	78	-0.02	0.55
	12	69	-0.07	0.54
	16	63	-0.18	0.57
	26	46	-0.17	0.68
	39	44	-0.31	0.7
	52	29	-0.26	0.58
	78	23	-0.34	0.6
<i>Συνολική Διαφ. VC</i>	<i>Τελ. Αξιολόγηση</i>	<i>100</i>	<i>-0.31</i>	<i>0.61</i>
FEV1	Εισαγωγή	100	2.1	0.66
ΔιαφοράFEV1 από εισαγωγή	8	78	0.06	0.43
	12	69	0	0.43
	16	62	-0.05	0.39
	26	46	-0.07	0.56
	39	44	-0.19	0.56
	52	29	-0.18	0.58
	78	23	-0.17	0.44
<i>Συνολική Διαφ. FEV1</i>	<i>Τελ. Αξιολόγηση</i>	<i>100</i>	<i>-0.16</i>	<i>0.46</i>
FEV1/VC	Εισαγωγή	100	67.2	10.35
Διαφ. FEV1/VC από εισαγωγή	8	78	2.03	8.64
	12	69	3.36	12.91
	16	62	2.97	11.5
	26	46	2.4	9.45
	39	44	1.2	8.28
	52	29	-0.25	10.05
	78	23	2.24	9.15
<i>Συνολική Διαφ FEV1/VC</i>	<i>Τελ. Αξιολόγηση</i>	<i>100</i>	<i>1.8</i>	<i>8.29</i>

**Πίνακας 3.5 Συγκεντρωτικά αποτελέσματα της αξιολόγησης των δοκιμών πνευμονικής λειτουργίας, από την εισαγωγή μέχρι και τον 18 μήνα παρακολούθησης.**

Η κατάταξη των ασθενών ανάλογα με τα κριτήρια αξιολόγησης RTOG πραγματοποιήθηκε για διάφορα όργανα και ιστούς εκτός από το κύριο όργανο ενδιαφέροντος της παρούσας μελέτης (πνεύμονας), ώστε να εξαχθούν αποτελέσματα για την γενικότερη τοξικότητα των συγγενών ιστών και οργάνων στην περίπτωση της ακτινοθεραπείας του πνεύμονα.

Τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα παρατίθενται στους πίνακες 3.6.α και 3.6.β, προσανατολισμένα έτσι ώστε να είναι εμφανής η επιδείνωση του αποτελέσματος έναντι της κατάστασης κατά την εισαγωγή, τόσο κατά τη διάρκεια της θεραπείας, όσο και 8 εβδομάδες μετά τη λήξη της.

**Πίνακας 3.6.α**  
Χαμηλότερος δείκτης RTOG/EORTC κατά την διάρκεια της  
θεραπείας έναντι της εισαγωγής

Όργανο/ Ιστός	Αριθμός ασθενών (%)		
	Δ.Α.	Καλύτερο ή ίσο	Χειρότερο
ΚΝΣ	6	92	2
Καρδιά	6	91	3
Λάρυγγας	6	82	12
Πνεύμονες	6	71	23
Φάρυγγας, Οισοφάγος	6	40	54
Δέρμα	6	36	58
Άνω γαστρεντερικό σύστημα	6	83	11

Δ.Α.: δεν αξιολογήθηκε

**Πίνακας 3.6.β**  
Χαμηλότερος δείκτης RTOG/EORTC 8 εβδομάδες μετά την  
θεραπεία σε σύγκριση με την φάση της θεραπείας.

Όργανο/ Ιστός	Αριθμός ασθενών (%)		
	Δ.Α.	Καλύτερο ή ίσο	Χειρότερο
ΚΝΣ	9	91	.
Καρδιά	9	90	1
Λάρυγγας	9	87	4
Πνεύμονες	9	59	32
Φάρυγγας, Οισοφάγος	9	86	5
Δέρμα	9	78	13
Άνω γαστρεντερικό σύστημα	9	88	3

Κάθε κουκίδα αντιστοιχεί στον αριθμό μηδέν.

Δ.Α.: δεν αξιολογήθηκε

Βάσει των αποτελεσμάτων σε ποσοστιαίες μονάδες, η επιδείνωση πνευμονικής λειτουργίας των ασθενών είναι εμφανής, ειδικά μετά τη λήξη της θεραπείας. Σε απόλυτους αριθμούς το αποτέλεσμα αυτό συνδέεται ικανοποιητικά με την πρόβλεψη των ραδιοβιολογικών μοντέλων. Επίσης μεγάλη επιδείνωση παρουσιάζουν ο φάρυγγας, οισοφάγος και το δέρμα στην περιοχή της ακτινοβολήσης κατά τη διάρκεια της θεραπείας, αλλά μετά τη λήξη της παρουσιάζεται ύφεση με επιστροφή στα φυσιολογικά επίπεδα.

### 3.3 Συζήτηση

Όλα τα ραδιοβιολογικά μοντέλα που χρησιμοποιήθηκαν είχαν ικανοποιητική προσαρμογή με τα παρατηρούμενα ποσοστά επιπλοκής. Εντούτοις δεν αποδείχθηκε κανένας ικανός συσχετισμός μεταξύ αποτελεσμάτων δόσης-όγκου και των αλλαγών στα PFTs. Υπήρξε όμως ένδειξη ότι οι ασθενείς με καλύτερα αποτελέσματα στα PFTs πριν από τη θεραπεία θα μπορούσαν να συσχετιστούν πιο ικανοποιητικά με τα αποτελέσματα των μοντέλων.

Παρά το ότι η δόση ανοχής για την ακτινοβόληση ολόκληρου του πνεύμονα είναι χαμηλή, μικροί όγκοι πνεύμονα μπορούν να λάβουν υψηλές δόσεις με μικρή πιθανότητα εμφάνισης παρενεργειών <sup>[114,117]</sup>.

Ο πνεύμονας είναι από τους πιο ευαίσθητους όψιμα αντιδρώντες ιστούς, αλλά μόνο όταν ακτινοβολούνται μεγάλοι όγκοι του. Αυτό οφείλεται στη δομική οργάνωση των λειτουργικών υπομονάδων του. Ο τραυματισμός του πνευμονικού ιστού λόγω της ακτινοβολίας εξαρτάται από τη συνολική δόση, το πλάνο κερματισμού, τον όγκο των πνευμόνων που θα ακτινοβοληθεί και την ακτινοευαισθησία του κάθε ασθενούς.

Κατά συνέπεια είναι πιο δύσκολο να αναπτυχθούν μοντέλα που να προβλέπουν συγκεκριμένα φαινόμενα στον πνεύμονα σε σχέση με πολλά άλλα όργανα. <sup>[118,119]</sup>

Τα μοντέλα εκτίμησης της επιπλοκής είναι ιδιαίτερα σημαντικά για την θεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα, λαμβάνοντας υπόψη τη συχνή εμφάνιση αυτής της νόσου, αλλά και των επιπλοκών που προκαλεί η ακτινοβολία. Επιπλέον, η εφαρμογή τους, είναι ιδιαίτερος ενδιαφέρουσα λόγω των διαφορών που υπάρχουν μεταξύ των ασθενών στην πνευμονική τους λειτουργία προ της ακτινοθεραπείας αλλά και την υψηλή διαφοροποίησή τους κατόπιν θεραπείας.

Οι Fan και συν (2000) ισχυρίζονται ότι επιβεβαίωσαν την δυνατότητα να προβλεφθούν οι πνευμονικές αλλαγές των ασθενών επί ακτινοθεραπείας βάσει των παραμέτρων Δόσης – Όγκου αναφέροντας συντελεστές συσχετισμού της τάξης του 0.2-0.4.

Επίσης οι Theuws και συν (1999) μπόρεσαν να αποδείξουν έναν συσχετισμό της σχετικής μείωσης των δοκιμών της πνευμονικής λειτουργίας PFTs με τη μέση δόση του πνεύμονα (MLD), με συντελεστές συσχετισμού 0.6-0.7.

Εντούτοις, πρέπει να σημειωθεί ότι μόνο το 61% των ασθενών που αναλύθηκαν από τους Fan και συν, και 0% των ασθενών από τη μελέτη των Theuws και συν δεν υποβλήθηκε σε ακτινοθεραπεία για τον καρκίνο του πνεύμονα, αλλά για καρκίνο του μαστού και λεμφώματα.

Αντίθετα, οι Marks και συν (1997) μετά από ανάλυση 67 ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα, δεν μπόρεσαν να αποδείξουν συσχέτισμό μεταξύ δεδομένων δόσης-όγκου και αλλαγών σε PFTs. Βέβαια και αυτοί πρότειναν ότι οι ασθενείς με καλύτερα αποτελέσματα στα PFTs πριν από τη θεραπεία θα μπορούσαν να συσχετιστούν ικανοποιητικά στις καμπύλες δόσης - απόκρισης.

Τέλος οι Allen και συν (2003) επιβεβαίωσαν αυτήν την υπόθεση δεδομένου ότι δεν βρήκαν επίσης κανέναν συσχέτισμό μεταξύ των σχέσεων δόσης – όγκου (όπως το  $V_{20}$ , και  $V_{eff}$  (ισοδύναμου όγκου και όγκου που ακτινοβολείται με το 20% της δόσης)) και των αλλαγών στα MLD και PFT, ακόμα και όταν υποδαίρεσαν την ομάδα των ασθενών σε αρκετές υπο-ομάδες με διαφορετική απορροφώμενη δόση <sup>[118,121,122,123]</sup>.

Τα ραδιοβιολογικά μοντέλα που αναλύθηκαν στηρίζονται κυρίως σε φυσικές παραμέτρους και δεν περιλαμβάνουν βιολογικούς παράγοντες όπως προηγούμενη χημειοθεραπεία ή πνευμονική λειτουργία κατά την εισαγωγή. Στην παρούσα μελέτη παρόλο που δεν μπορεί να αποδειχθεί με ικανοποιητικό στατιστικό συσχέτισμό, υπάρχει ένδειξη σύνδεσης των ασθενών με καλύτερη πνευμονική λειτουργία εισαγωγής (βάση των αποτελεσμάτων PFT) με λιγότερες ακτινο-προκλητές επιπλοκές.

Συμπερασματικά η χρήση μοντέλων που βασίζονται σε φυσικές παράμετρους (NTCP) με συνδυασμό συγκεκριμένων βιολογικών παραγόντων πρόβλεψης, όπως οι δοκιμές πνευμονικής λειτουργίας μπορεί να επιφέρει σημαντικά αποτελέσματα στην εκτίμηση των μετακτινικών αντιδράσεων στην ακτινοθεραπεία του πνεύμονα.

Βασική προϋπόθεση αποτελεί η συστηματική αξιολόγηση βιολογικών παραγόντων και η εισαγωγή αυτών στον υπολογισμό των πιθανοτήτων, με απώτερο σκοπό την χρήση τους στα συστήματα σχεδιασμού θεραπείας ως βοηθητικά εργαλεία.

#### 4. Ακτινοβόληση κυτταρικής σειράς και μελέτη της ενδογενούς ακτινευαισθησίας και της αποδοτικότητας της ακτινοθεραπείας.

---

##### Περίληψη

**Σκοπός.** Διενέργεια έρευνας με ακτινοβόληση καρκινικής κυτταρικής σειράς αναφορικά με τον προσδιορισμό βιολογικού παράγοντα εκτίμησης του αποτελέσματος της θεραπείας, και παραγόντων αξιολόγησης της ενδογενούς ακτινευαισθησίας.

Η δραστηριότητα της τελομεράσης σχετίζεται με ποικίλες διαδικασίες του κυττάρου όπως είναι η κυτταρική διαίρεση, ο πολλαπλασιασμός, και η απόπτωση<sup>[124]</sup>. Έχει βρεθεί ότι η πλειοψηφία των καρκινικών κυττάρων παρουσιάζουν έκφραση της τελομεράσης, αντίθετα με τους καλοήθεις όγκους στους οποίους η απουσία της έκφρασης περιορίζει την δυνατότητα πολλαπλασιασμού των κυττάρων τους και τελικά οδηγεί σε απόπτωση. Κατά συνέπεια, η τελομεράση ενδεχομένως να μπορεί να χρησιμοποιηθεί όχι μόνο για την διάγνωση μιας κακοήθειας, αλλά και ως βιολογικός δείκτης για την εκτίμηση του αποτελέσματος της ακτινοθεραπείας<sup>[125,126,127]</sup>.

**Μεθοδολογία.** Πραγματοποιήθηκε ακτινοβόληση καρκινικής κυτταρικής σειράς σε εκθετική φάση ανάπτυξης με αυξανόμενη δόση ιοντίζουσας ακτινοβολίας από 0 έως 20 Gy (1-10 Gy σε βήματα του ενός Gy, εφάπαξ 15 και εφάπαξ 20 Gy). Για την σωστή τοποθέτηση και ακινητοποίηση των πλακών καλλιέργειας και των φλασκών, κατασκευάστηκε ένα πρότυπο ομοιογενές ομοίωμα από πλέξιγκλας (polymethyl methacrylate C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>). Μελετήθηκε η επίδραση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας στην κυτταρική βιωσιμότητα και στην έκφραση της τελομεράσης, σε πέντε διαφορετικές χρονικές στιγμές : 0, 24, 48, 72 και 96 ώρες μετά την ακτινοβόληση, διατηρώντας αντίστοιχα κύτταρα ελέγχου δηλαδή μη ακτινοβολημένα. Τέλος προσδιορίστηκε η κατανομή του κυτταρικού κύκλου με κυτταρομετρία ροής.

**Αποτελέσματα - Συζήτηση.** Στην συγκεκριμένη μελέτη παρατηρήθηκε μείωση της βιωσιμότητας των κυττάρων ανάλογη της απορροφώμενης δόσης. Επιπλέον διαπιστώθηκε μεταβολή στην έκφραση της τελομεράσης μετά από την επίδραση της ακτινοβολίας. Αναλυτικότερα, παρατηρήθηκε αύξηση της δραστηριότητας της τελομεράσης τις πρώτες 24 ώρες μετά την ακτινοβόληση, η οποία ήταν ανάλογη με τις δόσεις ακτινοβολίας που χορηγήθηκαν. Επίσης, διαπιστώθηκε ότι η δραστηριότητα της τελομεράσης εξαρτάται από την μεταγραφή του hTERT, αν και δεν είναι ξεκάθαρος ο μηχανισμός με τον οποίο η ακτινοβολία επηρεάζει την ενεργότητα της. Συμπερασματικά, η επίδραση της ακτινοβολίας δεν μπορεί να συσχετιστεί ικανοποιητικά με την σχετική διαφοροποίηση της έκφρασης του ενζύμου της τελομεράσης, και άρα με την αναπαραγωγική ικανότητα των κυττάρων, οπότε βάσει της παρούσας μελέτης, ειδική αλλαγή στην δραστηριότητα της τελομεράσης δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της διαφορετικής ακτινευαισθησίας.

## 4.1 Πειραματική μεθοδολογία

Η τελομεράση είναι ένα ριβονουκλεοπρωτεϊνικό σύμπλοκο που αποτελείται από δύο υπομονάδες: την RNA υπομονάδα (hTR), που είναι συμπληρωματική με την μονόκλωνη τελομερική προεξοχή και χρησιμοποιείται ως καλούπι για την σύνθεση των αλληλουχιών TTAGGG στα τελομερή και την πρωτεϊνική υπομονάδα (hTERT), που καταλύει την σύνθεση του τελομερικού DNA <sup>[128129130131]</sup>. Επιπλέον, η hTERT υπομονάδα αλληλεπιδρά με τα τελομερή και επηρεάζει την έκφραση των γονιδίων μέσω της συσχέτισης των τελομερών με το πυρηνόπλασμα <sup>[132]</sup>.

Εκτός από την δράση της στα άκρα των χρωμοσωμάτων η τελομεράση διαθέτει και επιδιορθωτική δράση αφού μπορεί να επιδιορθώσει τις βλάβες σε μη τελομερικές περιοχές των χρωμοσωμάτων <sup>[133]</sup>. Οι 'ρίξεις' στην διπλή έλικα του DNA που δημιουργούνται από την επίδραση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας αποτελούν υπόστρωμα για την επιδιορθωτική δράση της τελομεράσης, αφού το ένζυμο απαιτεί μικρές μόνο ομόλογες περιοχές TTAGGG <sup>[134]</sup>.

Έχει αποδειχθεί ότι η ιοντίζουσα ακτινοβολία διαθέτει σημαντική θεραπευτική δράση στην κλινική αντιμετώπιση των κακοηθειών, διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο στην θεραπεία των νεοπλασμάτων και πιθανόν να έχει την δυνατότητα να μειώσει την δράση της τελομεράσης άρα και την αναπαραγωγική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων. Επιπλέον, ειδική αλλαγή στην δραστηριότητα της τελομεράσης θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης για την εκτίμηση του αποτελέσματος της ακτινοβόλησης και για την παρακολούθηση της συνολικής επίδρασης της ακτινοβολίας <sup>[135]</sup>.

### **Καλλιέργεια κυττάρων**

Καλλιεργήθηκε κυτταρική σειρά HeLa με θρεπτικό υλικό RPMI-1640 (Gibco, Paisley, Scotland) το οποίο περιείχε 10% ορό βοός, 2mM L- γλουταμίνη, 100 IU/ml πενικιλίνη και 100 µg/ml στρεπτομυκίνη (Gibco, Paisley, Scotland) στους 37°C σε 5% CO<sub>2</sub>.

### **Ακτινοβόληση**

Η ακτινοβόληση των κυττάρων που βρίσκονταν σε εκθετική φάση ανάπτυξης πραγματοποιήθηκε με αυξανόμενη δόση από 0 έως 20 Gy, (1-10 Gy σε βήματα του ενός Gy, εφάπαξ 15 και εφάπαξ 20 Gy), με τη χρήση γραμμικού επιταχυντή φωτονίων ενέργειας 6MV, και ρυθμό δόσης 4.76 Gy/min σε θερμοκρασία δωματίου. Επαναλήφθηκαν τουλάχιστον τρία διαφορετικά πειράματα.



Για να διασφαλιστεί ομοιόμορφη ακτινοβόληση, τα κύτταρα τοποθετήθηκαν στο ισόκεντρο δύο εφαπτομένων αντίθετων πεδίων φωτονίων, με διαστάσεις  $20 \times 20 \text{ cm}^2$ .

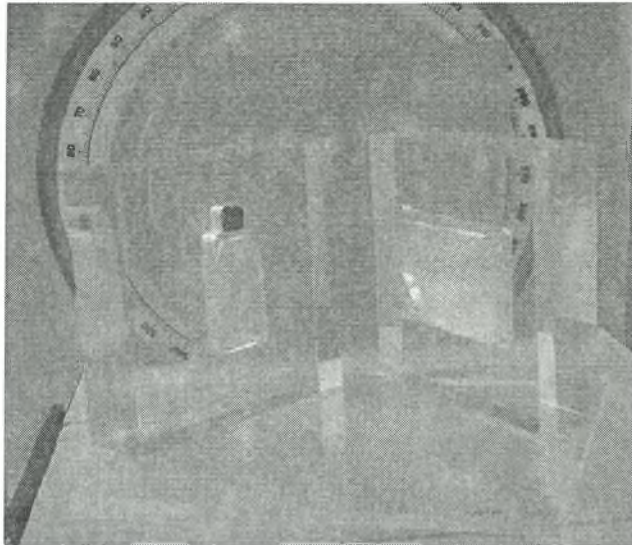
Για την σωστή τοποθέτηση και ακινητοποίηση των πλακών καλλιέργειας και των φλασκών, κατασκευάστηκε ένα πρότυπο ομοιογενές ομοίωμα από πλέξιγκλας (polymethyl methacrylate  $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$  ή PMMA). Το ομοίωμα αυτό αποτελείται από δύο ίδια τμήματα μεγέθους  $20 \times 20 \times 5 \text{ cm}^3$ , στα οποία έχει γίνει κατάλληλη επεξεργασία του εσωτερικού τους με εφαρμογή ακτίνας λέιζερ, ώστε να μπορούν να τοποθετούνται με ακρίβεια και απόλυτη επαναληψιμότητα οι πλάκες καλλιέργειας και οι φλάσκες.

Το ομοίωμα συνοδεύεται επίσης από PMMA πλάκες  $30 \times 30 \text{ cm}$ , διαφόρων παχών του μισού εκατοστού τα οποία τοποθετούνται πρόσθια και οπίσθια του κυρίως μέρους διαμορφώνοντας το πάχος του build up υλικού αλλά και αντίστοιχα του υλικού οπισθοσκέδασης, διασφαλίζοντας δευτερεύουσα ηλεκτρονική ισορροπία. Το ομοίωμα στην πραγματική του μορφή απεικονίζεται στην εικόνα 4.1.

Η τοποθέτηση του ομοιώματος πραγματοποιήθηκε σε απόσταση SSD 95 εκ. (Source to Skin Distance) από το ικρίωμα του επιταχυντή, οπότε τα κύτταρα ακτινοβολήθηκαν σε 5 εκ. ισοδύναμο βάθος νερού, αφού θεωρήθηκε ότι κείτονταν στην κάτω επιφάνεια των πλακών.

Η επαλήθευση της απόλυτης δοσιμετρίας εξασφαλίστηκε με Δοσίμετρα Θερμοφωταύγειας (Thermo Luminescence Dosimetry-TLD), κυβικού τύπου ( $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$ )  $\text{LiF:Mg,Ti}$ , της εταιρίας Harshaw/Bicron. Πρίν από κάθε πείραμα τα TLDs πυρακτώνονταν στους  $400 \text{ }^\circ\text{C}$  για 1h, και στη συνέχεια διατηρούντο σε παύση για περίπου 2 ώρες στους  $100 \text{ }^\circ\text{C}$ , σε προγραμματισμένο PTW TLDO κλίβανο. Ακριβώς πρίν τη μέτρηση επαναπυρακτώνονταν στους  $100 \text{ }^\circ\text{C}$  για 10 min.

Το σήμα φωταύγειας υπολογίστηκε στους μετρητές Harshaw 2000A και 2080B.



**Εικόνα 7.1** Το πρότυπο ομοίωμα πλέξιγκλας ( $\text{PMMA-C}_5\text{H}_8\text{O}_2$ ) που κατασκευάστηκε για να διασφαλίσει κατάλληλες συνθήκες ακτινοβόλησης και επαναληψιμότητα των μετρήσεων.

#### **Κυτταρική βιωσιμότητα**

Επιλέχθηκε η καρκινική κυτταρική σειρά HeLa, λόγω του ότι είναι θετική στην τελομεράση.

Μελετήθηκε η επίδραση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας στην κυτταρική βιωσιμότητα. Για το σκοπό αυτό τα ακτινοβολημένα κύτταρα συλλέχθηκαν σε πέντε διαφορετικές χρονικές στιγμές : 0, 24, 48, 72 και 96 ώρες μετά την ακτινοβόληση και μετρήθηκε η κυτταρική βιωσιμότητα, διατηρώντας αντίστοιχα κύτταρα ελέγχου δηλαδή μη ακτινοβολημένα.

Η κυτταρική βιωσιμότητα προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας το MTT [3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] με το kit TACS MTT (R&D Systems, Minneapolis, USA) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Το πείραμα κυτταρικού πολλαπλασιασμού και κυτταρικής βιωσιμότητας με το MTT είναι ένα *in vitro* πείραμα για τη μέτρηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού ή της μείωσης της κυτταρικής βιωσιμότητας όταν μεταβολικά αίτια οδηγούν σε απόπτωση ή νέκρωση<sup>[136]</sup>.

#### **Κυτταρομετρία ροής**

Η κατανομή του κυτταρικού κύκλου των μη ακτινοβολημένων κυττάρων προσδιορίστηκε με κυτταρομετρία ροής. Στα χρονικά σημεία: 0, 24, 48, 72, 96, 120 και 144 ώρες μετά τον εμβολιασμό, τα κύτταρα της σειράς HeLa αποκολλήθηκαν με θρυψίνη, επαναρραιώθηκαν σε θρεπτικό υλικό και μεταφέρθηκαν σε PBS. Η σήμανση του DNA των μη ακτινοβολημένων κυττάρων έγινε με το Kit Beckman Coulter DNA PREP Reagents (Beckman Coulter, Inc. Fullerton, CA). Στο κυτταρικό εναιώρημα προστέθηκαν 100 μl

από το DNA PREP LPR και στη συνέχεια 2 ml DNA PREP Stain, και τα επισημασμένα κύτταρα αναλύθηκαν με το κυτταρόμετρο ροής EPICS XL-MCL Counter (Beckman Coulter, USA). Η ανάλυση του κυτταρικού κύκλου πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το λογισμικό WinMDI (Salt Institute, La Jolla, CA). Τουλάχιστον 10000 γεγονότα συλλέχθηκαν για το κάθε δείγμα. Τα δείγματα αναλύθηκαν με FL3 σε λογαριθμική κλίμακα 4. Η κατανομή των κυττάρων με βάση το περιεχόμενο σε DNA έδειξε δύο κορυφές (κύτταρα στις φάσεις G0/G1 και G2/M) και ένα βοθρίο κυττάρων σε φάση S.

### **Πρωτόκολλο πολλαπλασιασμού των τελομερικών επαναλήψεων (TRAP)**

Το πρωτόκολλο TRAP θεωρείται ευαίσθητη και ειδική PCR μέθοδος που βασίζεται στην ενζυμική δραστηριότητα. Πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το kit TeloTAGGG telomerase PCR ELISA<sup>PLUS</sup> (Roche, Indianapolis, USA) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Το πρωτόκολλο TRAP δείχνει πολύ μεγάλη ευαισθησία ανιχνεύοντας ένα κύτταρο θετικό για την τελομεράση ανάμεσα σε 10000 κύτταρα αρνητικά για την τελομεράση. Συνοπτικά, κάθε παγωμένο ίζημα ομογενοποιήθηκε σε 200μl διαλύματος λύσης κυττάρων. Μετά από επώαση 30 λεπτών στον πάγο, επακολούθησε φυγοκέντρηση στις 13000 rpm για 30 min στους 4°C, τα υπερκείμενα συλλέχθηκαν σε καινούρια φιαλίδια και η πρωτεϊνική συγκέντρωσή τους προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Lowry. Στο kit συμπεριλαμβάνονται δείγματα τα οποία περιέχουν DNA θετικό για την τελομεράση και διαθέτουν την ίδια αλληλουχία με αυτή ενός προϊόντος τελομεράσης με 8 τελομερικές επαναλήψεις. Αρνητικά δείγματα ελέγχου ετοιμάστηκαν από κάθε κυτταρικό εκχύλισμα απενεργοποιώντας την ενεργότητα της τελομεράσης των δειγμάτων με υψηλή θερμοκρασία (10 λεπτά στους 85 °C). Η ανάλυση έγινε με ένα μίγμα αντίδρασης 30 μl που περιέχει 3μg πρωτεϊνικού κυτταρικού εκχυλίσματος.

Τα θετικά αποτελέσματα για την ενεργότητα της τελομεράσης επιβεβαιώθηκαν με TRAP, μετά από έκθεση των κυτταρικών εκχυλισμάτων σε υψηλή θερμοκρασία (85°C για 15 λεπτά) για να βρεθούν τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Η απορρόφηση των δειγμάτων στα 450 nm, με μήκος κύματος αναφοράς τα 650 nm μετρήθηκε χρησιμοποιώντας φασματο-φωτόμετρο και θεωρήθηκε θετική όταν η διαφορά μεταξύ της απορρόφησης του δείγματος και της απορρόφησης του αρνητικού δείγματος ελέγχου ήταν 2 φορές μεγαλύτερη από την μη ειδική ενεργότητα (background). Τα δείγματα διαχωρίστηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα πολυακρυλαμίδης παράγοντας το χαρακτηριστικό τελομερικό ladder 6 bp.

### **Απομόνωση RNA**

Η απομόνωση ολικού RNA έγινε με την μέθοδο του ισοθειοκυανικού γουανιδινίου ως εξής:

#### **1. Ομογενοποίηση.**

Προσθήκη 1600μl Trizol και 160 μl χλωροφόρμιο στα κύτταρα και διαδοχικές αναρροφήσεις με πιπέτα και χρήση του Vortex με στόχο την λύση των κυττάρων.

### II. Διαχωρισμός φάσεων.

Μετά την ομογενοποίηση, η οποία διαρκεί τουλάχιστον 15 λεπτά, κάθε δείγμα μεταγγίστηκε σε σωληνάριο των 2 ml και πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση για 15min στις 12000rpm στους 4°C. Μετά την φυγοκέντρηση σε κάθε σωληνάριο υπήρχαν τρεις φάσεις: η υποκείμενη φάση που περιέχει φαινόλη/ χλωροφόρμιο, η μεσόφαση και η ανώτερη υδατική φάση στην οποία έχει απομονωθεί και το RNA.

### III. Κατακρήμνιση.

Η ανώτερη υδατική φάση που περιείχε το RNA και μεταφερόταν σε νέο σωληνάριο των 2 ml. Έγινε κατακρήμνιση του RNA με προσθήκη ίσου όγκου ισοπροπυλικής αλκοόλης, καλή ανάδευση και τελικά τοποθέτηση του δείγματος στους -20°C για 12-16 ώρες.

### IV. Εκπλυση του RNA.

Μετά από 16 ώρες περίπου πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση για 30min στις 12000rpm στους 4°C. Αφαιρέθηκε το υπερκείμενο και στο ίζημα προστέθηκε 1ml κρύας αιθανόλης 70%. Ακολούθησε φυγοκέντρηση για 30min στις 12000rpm στους 4°C και επανάληψη του προηγούμενου βήματος.

### V. Επαναδιάλυση του RNA.

Τελικά αφαιρείται πολύ καλά το υπερκείμενο και το ίζημα, αφού στεγνώσει πολύ καλά, διαλυτοποιείται. Η διαλυτοποίηση του ιζήματος γίνεται με προσθήκη 80-100μl ddH<sub>2</sub>O και κάθε δείγμα αποθηκεύεται στους -80°C.

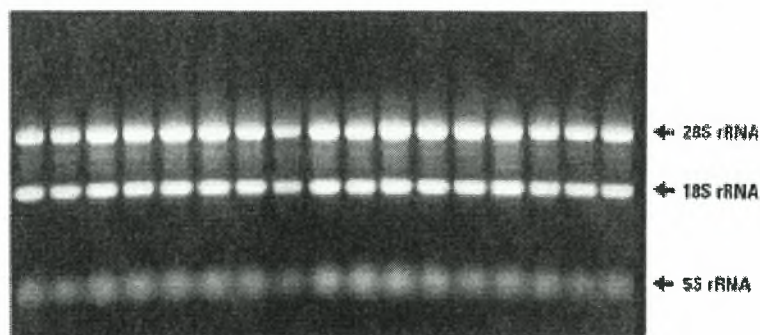
### VI. Φωτομέτρηση-Έλεγχος ποσότητας

Για να ελεγχθεί η ποσότητα του RNA πραγματοποιήθηκε φωτομέτρηση σε κάθε δείγμα. Αραιώσεις κάθε δείγματος (1:100) φωτομετρήθηκαν στα 260 και 280 nm. Υπολογίστηκε ο λόγος 260/280 καθώς και η συγκέντρωση του RNA ως εξής:

$$\text{συγκέντρωση RNA} = \text{αραίωση} \times \text{OD}_{260} \times 40 \quad (\text{mgr/ml})$$

### VII. Ηλεκτροφόρηση-Έλεγχος ποιότητας

Για να ελεγχθεί η ποιότητα του RNA πραγματοποιήθηκε σε κάθε δείγμα ηλεκτροφόρηση σε πηκτική αγαρόζης 2% (εικόνα 7.2).



Εικόνα 7.2: δείγματα RNA μετά από ηλεκτροφόρηση σε πηκτική αγαρόζης 2%

### Ποσοτικοποίηση του hTERT mRNA

Ανάλυση με ανιχνευτές υβριδισμού και σχετική ποσοτικοποίηση της καταλυτικής υπομονάδας της τελομεράσης (hTERT)

Για τον προσδιορισμό των επιπέδων του mRNA της υπομονάδας hTERT, πραγματοποιήθηκε εφαρμογή 5, 10, 15, 20 Gy ιοντίζουσας ακτινοβολίας σε κύτταρα HeLa, τα οποία στη συνέχεια επώαστηκαν για διάφορους χρόνους (μέχρι 144 ώρες με διαστήματα 24 ωρών).

Για τον προσδιορισμό της σχετικής έκφρασης της καταλυτικής υπομονάδας της τελομεράσης (hTERT) εφαρμόστηκε η ανάλυση RQ-PCR με ανιχνευτές υβριδισμού, με την χρήση του εμπορικά διαθέσιμου kit LightCycler TeloTAGGGhTERT Quantification Kit (Roche Molecular Diagnostics). Στην σχετική ποσοτικοποίηση γίνεται σύγκριση ανάμεσα στο δείγμα που αφορά το γονίδιο που μας ενδιαφέρει και στο αντίστοιχο δείγμα που χρησιμοποιείται ως γονίδιο αναφοράς. Συγκεκριμένα, ο υπολογισμός της σχετικής έκφρασης του hTERT επαναλήφθηκε 2 φορές για το ίδιο δείγμα. Από το κάθε δείγμα χρησιμοποιήθηκαν 200 ngr RNA, στα οποία πραγματοποιήθηκε αντίστροφη μεταγραφή και PCR τόσο για το γονίδιο hTERT όσο και για το γονίδιο αναφοράς PBGD. Αναλυτικότερα:

- το mRNA του γονιδίου hTERT μεταγράφηκε αντίστροφα και ένα τμήμα 198 ζευγών βάσεων ενισχύθηκε με ειδικούς εκκινητές. Οι ανιχνευτές, που αποτελούνται από δύο διαφορετικά ολιγονουκλεοτίδια, προσδένονται λόγω συμπληρωματικότητας σε μια εσωτερική αλληλουχία του πολλαπλασιαζόμενου τμήματος κατά την διάρκεια της φάσης της υβριδοποίησης του εκκινητή. Με την τεχνική αυτή ανιχνεύονται μόνο τα λειτουργικά μετάγραφα του γονιδίου hTERT και όχι προϊόντα που πιθανόν να προκύπτουν από εναλλακτικό μάτισμα του πρόδρομου mRNA του γονιδίου.
- το mRNA του γονιδίου αναφοράς (PBGD) μεταγράφηκε αντίστροφα και ένα τμήμα 150 ζευγών βάσεων ενισχύθηκε με ειδικούς εκκινητές. Το προϊόν της αντίδρασης ανιχνεύθηκε μέσω φθορισμού, όπως και στην περίπτωση του γονιδίου του hTERT. Το γονίδιο PBGD εδράζεται στο μεγάλο βραχίονα του χρωμοσώματος 11 (11q24.1-q24.2). Το μετάγραφο του γονιδίου αναφοράς, που χρησιμοποιήθηκε στην δική μας μελέτη, εκφράζεται σε όλους τους ιστούς. Η επιλογή του γονιδίου PBGD πραγματοποιήθηκε με βάση το γεγονός ότι δεν έχει ψευδογονίδια και παρουσιάζει χαμηλά επίπεδα έκφρασης, όπως και το γονίδιο hTERT <sup>[137,138]</sup>. Το προϊόν της ενίσχυσης του γονιδίου αναφοράς χρησιμεύει για τον προσδιορισμό της σχετικής έκφρασης του γονιδίου hTERT και για έλεγχο της

ποιότητας του RNA, αφού στην μελέτη έχουν συμπεριληφθεί μόνο τα δείγματα στα οποία ενισχύθηκε επιτυχώς το γονίδιο PBGD.

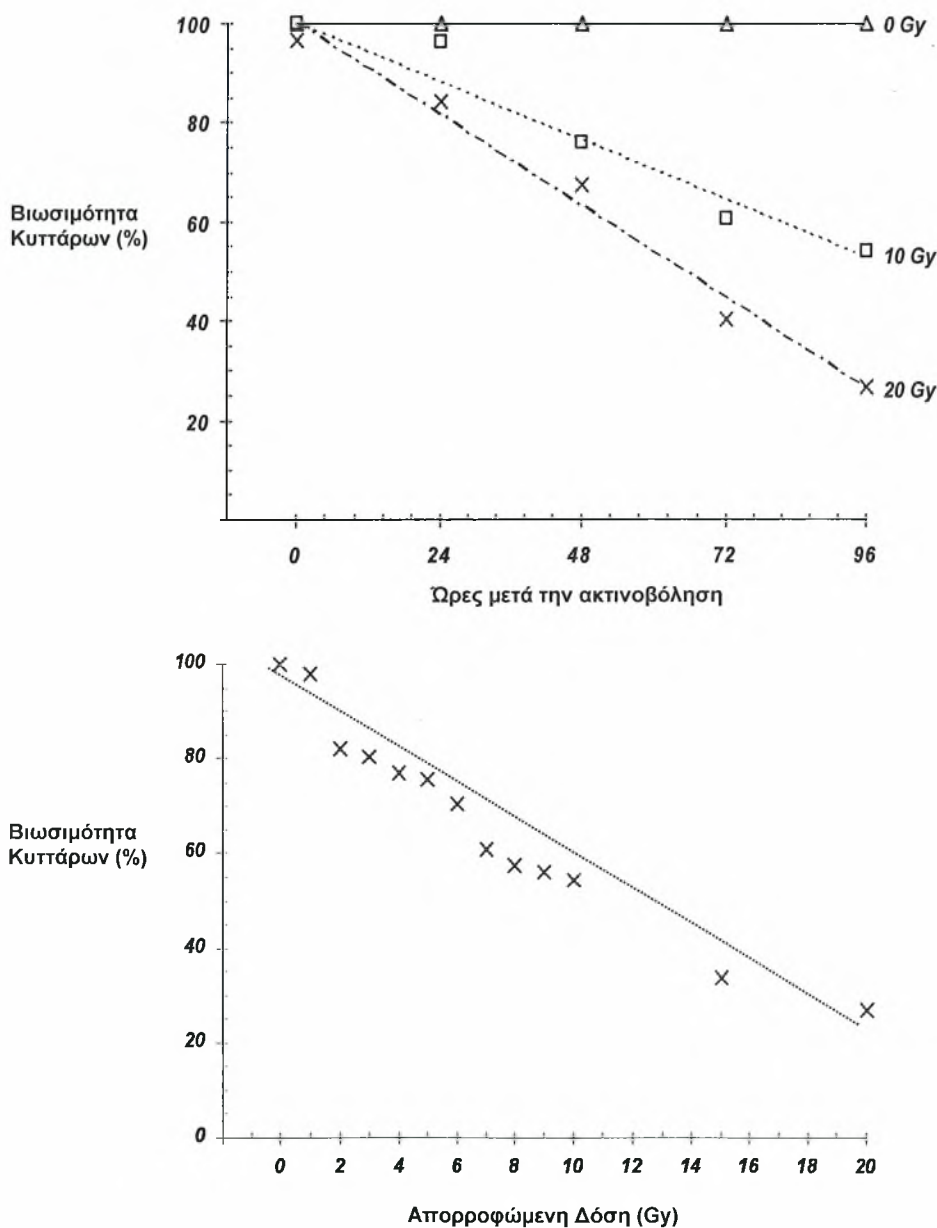
- Οι συνθήκες PCR που εφαρμόστηκαν ήταν οι εξής:
  - 10 λεπτά στους 60°C, για να πραγματοποιηθεί η αντίστροφη μεταγραφή και η δημιουργία του cDNA
  - 45 κύκλους στους οποίους πραγματοποιείται ενίσχυση της αλληλουχίας-στόχου σε τρία στάδια:
    - αποδιάταξη στους 95°C για 1 δευτερόλεπτο
    - υβριδοποίηση-σύνδεση των εκκινητών στους 60°C για 10 δευτερόλεπτα
    - επιμήκυνση στους 72°C για 2 δευτερόλεπτα.

Όπως αναφέρθηκε, η ποσοτικοποίηση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας την συσκευή και το λογισμικό του Light Cycler. Κατασκευάστηκε μια πρότυπη καμπύλη με βάση δείγματα που περιείχαν  $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$  και  $10^2$  αντίγραφα του mRNA του hTERT ανά 2 μl RNA.

Με την παραπάνω τεχνική πραγματοποιείται προσδιορισμός του προϊόντος την στιγμή της σύνθεσής τους και όχι αφού ολοκληρωθεί το πρόγραμμα της PCR <sup>[139]</sup>. Τελικά η τιμή που προκύπτει από τον λόγο των αντιγράφων των mRNA του γονιδίου hTERT προς τα αντίγραφα των mRNA του γονιδίου PBGD, αποτελεί την «κανονικοποιημένη» τιμή του hTERT (NhTERT) και είναι ο αριθμός των μεταγράφων του γονιδίου hTERT ως προς την έκφραση του PBGD.

## 4.2 Αποτελέσματα

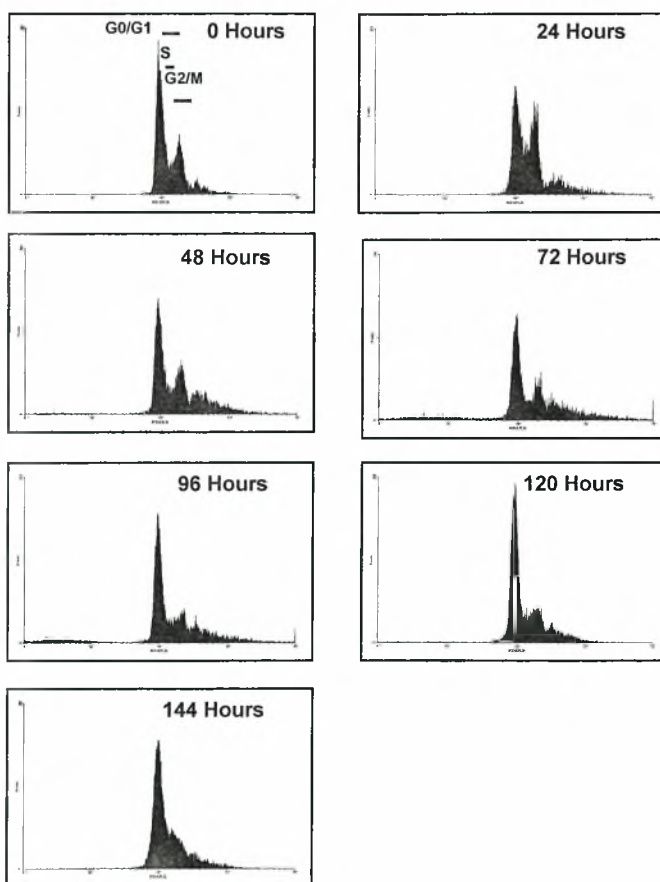
Στο σχήμα 4.1 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν σε σχέση με την βιωσιμότητα των κυττάρων μετά την εφαρμογή ιοντίζουσας ακτινοβολίας. Στο άνω διάγραμμα παρατηρείται ότι στα μη ακτινοβολημένα κύτταρα η βιωσιμότητα δεν επηρεάζεται στις διάφορες χρονικές στιγμές, ενώ στα ακτινοβολημένα κύτταρα παρουσιάζεται μείωση της όσο αυξάνεται η δόση της ακτινοβολίας. Επιπλέον, παρατηρείται ότι σε κύτταρα που ακτινοβολήθηκαν με 10 Gy δεν σημειώθηκε αξιόλογη μείωση της βιωσιμότητας κατά την διάρκεια των πρώτων 24 ωρών, ενώ σε κύτταρα που ακτινοβολήθηκαν με 20 Gy κατά το ίδιο χρονικό διάστημα παρατηρήθηκε μείωση 15%.



Σχήμα 4.1 Βιωσιμότητα των κυττάρων HeLa μετά την ακτινοβόληση

Επίσης, παρατηρείται συσχέτιση μεταξύ της βιωσιμότητας των κυττάρων και του χρονικού διαστήματος που μεσολάβησε μετά την ακτινοβόληση. Στο κάτω διάγραμμα του σχήματος 4.1 αναπαριστάται η επίδραση των διαφόρων δόσεων της ιοντίζουσας ακτινοβολίας στην βιωσιμότητα των κυττάρων 96 ώρες μετά την ακτινοβόληση, χρονικό σημείο στο οποίο και παρατηρήθηκε η μέγιστη μείωση.

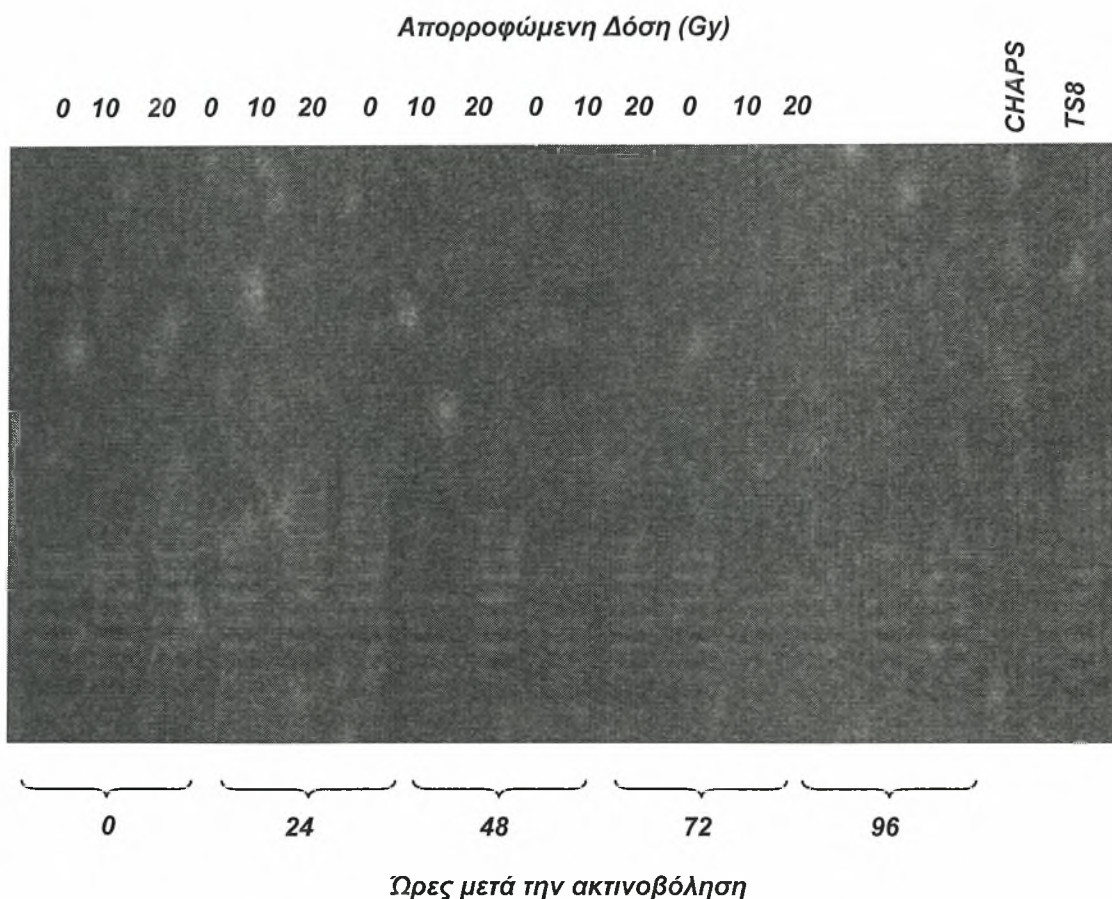
Στο σχήμα 4.2 αναπαριστάται η κατανομή των μη ακτινοβολημένων κυττάρων στις διάφορες φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν μετά από κυτταρομετρία ροής δείχνουν ότι για το χρονικό διάστημα 0-144 ώρες η κατανομή των κυττάρων στις διάφορες φάσεις του κυτταρικού κύκλου δεν παρουσιάζει σημαντικές διαφοροποιήσεις.



**Σχήμα 4.2** Κατανομή των μη ακτινοβολημένων κυττάρων στις διάφορες φάσεις του κυτταρικού κύκλου, όπως προσδιορίστηκαν από την κυτταρομετρία ροής.



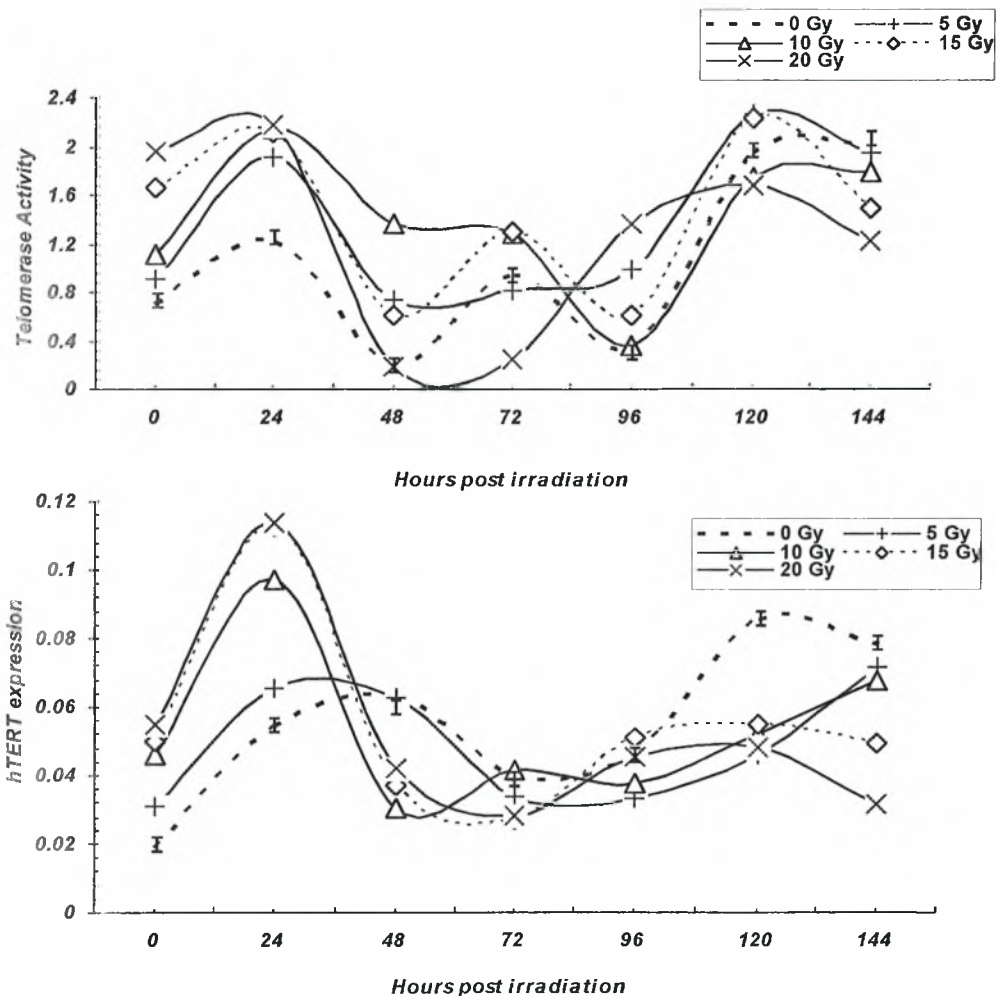
Για τον προσδιορισμό της δραστικότητας της τελομεράσης χρησιμοποιήθηκε η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης, τόσο στα μη ακτινοβολημένα όσο και στα ακτινοβολημένα κύτταρα, ανά 24 ώρες και για 6 μέρες μετά από την ακτινοβόληση. Στην εικόνα 4.3 φαίνεται μια αντιπροσωπευτική εικόνα μετά από ηλεκτροφόρηση των προϊόντων PCR σε πηκτή ακρυλαμίδης 12%. Περιλαμβάνονται δείγματα 0, 24, 48 και 96 ώρες μετά από την ακτινοβόληση με αυξανόμενες δόσεις 0, 10 και 20 Gy.



**Σχήμα 4.3** Ηλεκτροφόρηση των προϊόντων PCR σε πηκτή ακρυλαμίδης 12%, σε δείγματα 0, 24, 48 και 96 ώρες μετά από την ακτινοβόληση με αυξανόμενες δόσεις 0, 10 και 20 Gy.

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ποσοτικοποίηση των μεταγράφων της hTERT υπομονάδας της τελομεράσης με την εφαρμογή μιας ευαίσθητης μεθόδου PCR πραγματικού χρόνου. Αυτό πραγματοποιήθηκε για να προσδιοριστεί εάν οι αλλαγές στην δραστικότητα της τελομεράσης, μετά από την επίδραση ιοντίζουσας ακτινοβολίας σε κύτταρα HeLa που βρίσκονται σε εκθετική φάση ανάπτυξης, συνοδεύονται ή και οφείλονται σε αλλαγές στα επίπεδα mRNA του γονιδίου hTERT.

Οι μετρήσεις της δραστηριότητας της τελομεράσης και των επιπέδων του hTERT mRNA αναπαριστώνται στο σχήμα 4.4.



**Σχήμα 4.4** Μετρήσεις της δραστηριότητας της τελομεράσης και των επιπέδων του hTERT mRNA μετά την ακτινοβόληση

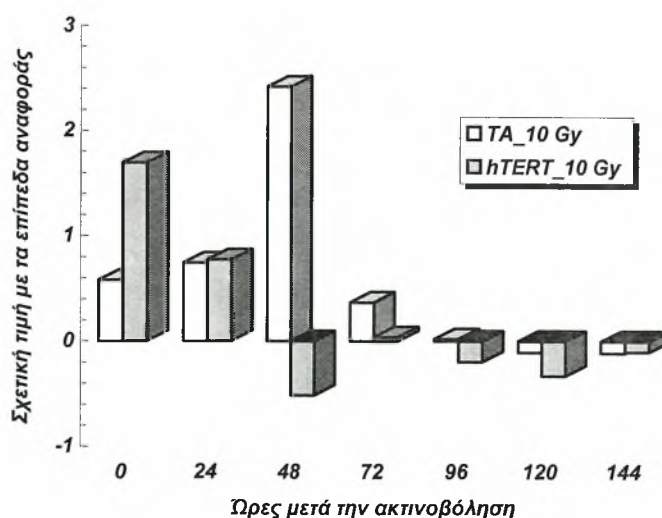
Από το σχήμα 4.4 είναι φανερό πως η ακτινοβόληση των κυτάρων HeLa με 6 MV δέσμη φωτονίων οδηγεί σε αύξηση της δραστηριότητας της τελομεράσης και της έκφρασης του hTERT mRNA αμέσως μετά την ακτινοβόληση. Αυτή η αύξηση διατηρείται για τις πρώτες 24 ώρες όπου και διπλασιάζεται, συγκρινόμενη πάντα με αντίστοιχες τιμές δραστηριότητας και έκφρασης που έχουν ληφθεί από μη ακτινοβολημένα κύτταρα. Επιπλέον, μέχρι τις 24 πρώτες ώρες η παραπάνω αύξηση ήταν ανάλογη με την δόση της ακτινοβολίας. Μετά τις 24 και μέχρι τις 48 ώρες η δραστηριότητα της τελομεράσης μειώθηκε κατά ανάλογο τρόπο με τα επίπεδα έκφρασης του hTERT mRNA.

Τα επίπεδα έκφρασης του hTERT mRNA κατά το χρονικό διάστημα 48-96 ώρες μετά την ακτινοβόληση, παρουσίασαν διακυμάνσεις αλλά διατηρήθηκαν πάντα κάτω από τα αντίστοιχα επίπεδα των μη ακτινοβολημένων κυττάρων. Στις 144 ώρες την μεγαλύτερη έκφραση του hTERT mRNA είχαν τα μη ακτινοβολημένα κύτταρα και την μικρότερη τα κύτταρα που ακτινοβολήθηκαν με 20 Gy, δηλαδή οι τιμές έκφρασης είναι αντίστροφες από αυτές που είχαν ληφθεί αμέσως μετά την ακτινοβόληση (χρονικό σημείο 0).

Κατά το χρονικό διάστημα 48-96 ώρες, η δραστικότητα της τελομεράσης μετά την ακτινοβόληση παρουσίασε αυξημένες τιμές με διακυμάνσεις ανάλογες με τα μη ακτινοβολημένα, με εξαίρεση τα κύτταρα που ακτινοβολήθηκαν με 20 Gy.

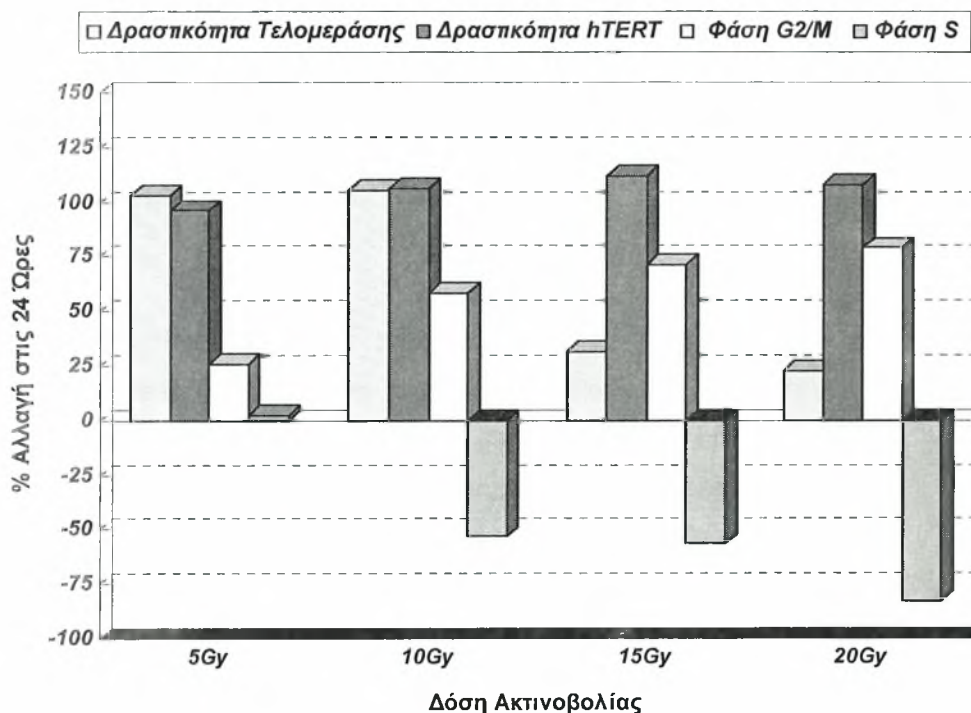
Η δραστικότητα της τελομεράσης και του hTERT mRNA δεν ήταν σταθερή από 0-144 ώρες. Αναλυτικότερα η δραστικότητα της τελομεράσης διακυμάνθηκε από την τιμή 706 (χρονικό σημείο 0) μέχρι την μέγιστη τιμή 2020 (144 ώρες), ενώ τα επίπεδα του hTERT mRNA επίσης παρουσίαζαν διακυμάνσεις μέχρι τις 144 ώρες όπου και απέκτησαν την μέγιστη τιμή.

Καθίσταται λοιπόν φανερό πως η ακτινοβολία επιδρά τόσο στην δραστικότητα της τελομεράσης όσο και στην έκφραση του hTERT mRNA στα κύτταρα HeLa. Επιπλέον, πρέπει να σημειωθεί ότι το αποτέλεσμα της επίδρασης της ακτινοβολίας στην δραστικότητα της τελομεράσης παρουσιάζει σημαντική συσχέτιση με το αποτέλεσμα της επίδρασης της ακτινοβολίας στην έκφραση του hTERT mRNA (Pearson  $r=0.619$  με στάθμη σημαντικότητας 0.01). Η συσχέτιση αυτή παρουσιάζεται στο σχήμα 4.5, στο οποίο φαίνονται οι τιμές της δραστικότητας της τελομεράσης και των επιπέδων του hTERT mRNA, μετά από την επίδραση ιοντίζουσας ακτινοβολίας 10 Gy, σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές που ελήφθησαν από μη ακτινοβολημένα κύτταρα.



**Σχήμα 4.5** Σχετική διαφοροποίηση των επιπέδων τελομεράσης και hTERT μετά από την επίδραση ιοντίζουσας ακτινοβολίας 10 Gy

Τέλος, προκειμένου να διερευνηθεί η σχέση μεταξύ της ακτινοβολίας και του κυτταρικού κύκλου, αλλά και η επίδραση αμφότερων στην έκφραση της τελομεράσης και του hTERT, δημιουργήθηκε μια συγκριτική γραφική παράσταση, που απεικονίζεται στο σχήμα 4.6. Σε αυτή τη γραφική παράσταση παρουσιάζεται η ποσοστιαία μεταβολή του αριθμού των κυττάρων που βρίσκονταν στην G2/M και S φάση, και των επιπέδων TA και hTERT για όλες τις δόσεις ακτινοβολίας που χορηγήθηκαν 24 ώρες μετά την ακτινοβόληση.



Σχήμα 4.6 Ποσοστιαία αλλαγή της δραστηριότητας της Τελομεράσης και του hTERT, και των αριθμών των κυττάρων σε φάση G2/M και S, σε σχέση με την απορροφώμενη δόση στις πρώτες 24 ώρες μετά την ακτινοβόληση.

### 4.3 Συζήτηση

Ένας όγκος αποτελείται από κύτταρα τα οποία βρίσκονται σε διαφορετικές φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Ο κύριος παράγοντας που καθορίζει τον ρυθμό ανάπτυξης του όγκου είναι ο κύκλος ζωής των κυττάρων που έχουν δυνατότητα πολλαπλασιασμού. Η ενεργοποίηση της τελομεράσης συσχετίζεται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και λαμβάνει χώρα στα αρχικά στάδια της δημιουργίας πολλών όγκων.

Επομένως, ο προσδιορισμός της δραστικότητας της τελομεράσης ίσως έχει δυνατότητα εφαρμογής στην κλινική διάγνωση, αλλά και στον προσδιορισμό της επανεμφάνισης της κακοήθειας μετά από την ακτινοθεραπεία.

Στην συγκεκριμένη μελέτη παρατηρήθηκε μεταβολή της έκφρασης της τελομεράσης μετά από την επίδραση ακτινοβολίας σε καρκινική κυτταρική σειρά θετική στην τελομεράση. Αναλυτικότερα, παρατηρήθηκε αύξηση της δραστικότητας της τελομεράσης τις πρώτες 24 ώρες μετά από την ακτινοβόληση, η οποία ήταν ανάλογη με τις δόσεις της ακτινοβολίας που χορηγήθηκαν.

Παράλληλα, η ιοντίζουσα ακτινοβολία προκάλεσε αύξηση των επιπέδων του hTERT mRNA, μέχρι ενός μεγίστου στις 24 ώρες μετά την ακτινοβόληση, χρονικό διάστημα που αντιστοιχεί στον χρόνο ημιζωής της τελομεράσης<sup>[140]</sup>.

Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με αντίστοιχες μελέτες στις οποίες βρέθηκε αύξηση της δραστικότητας της τελομεράσης μετά από την επίδραση ιοντίζουσας ακτινοβολίας<sup>[135,141,142,143,144,145]</sup>.

Εντούτοις, πρέπει να σημειωθεί πως στις προαναφερόμενες μελέτες η αύξηση της δραστικότητας της τελομεράσης δεν συνοδευόταν από αντίστοιχη αύξηση στα επίπεδα του hTERT mRNA.

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης υποδεικνύουν ότι η δραστικότητα της τελομεράσης εξαρτάται από την μεταγραφή του hTERT, αν και δεν είναι ξεκάθαρος ο μηχανισμός με τον οποίο η ακτινοβολία επηρεάζει την ενεργότητα της.

Η αύξηση της έκφρασης της τελομεράσης και των επιπέδων του hTERT mRNA μετά από την επίδραση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας μπορεί α αποδωθεί στην προσπάθεια της τελομεράσης να επιδιορθώσει τις ρίξεις που δημιουργήθηκαν από την ακτινοβολία στην διπλή έλικα του DNA<sup>[134,146,147]</sup>. Οι περιοχές αυτές αποτελούν ιδανικό υπόστρωμα, αφού η τελομεράση απαιτεί μικρές μόνο ομόλογες περιοχές TTAGGG για να δράσει<sup>[134]</sup>. Συνεπώς, ο πιθανότερος ρόλος της, αποτελεί η προστασία του DNA είτε άμεσα αποκαθιστώντας το σπάσιμο είτε έμμεσα προστατεύοντας το DNA από την δράση των νουκλεασών του κυττάρου οι οποίες τείνουν να αποσυνθέσουν την έλικα του DNA<sup>[148,149]</sup>.

Όσον αφορά στις τιμές της δραστικότητας της τελομεράσης και των επιπέδων του hTERT mRNA 48-120 ώρες μετά την ακτινοβόληση, παρατηρήθηκε διακύμανση διαφορετική από την αντίστοιχη διακύμανση των τιμών στα μη ακτινοβολημένα κύτταρα. Επιπλέον, κατά το χρονικό διάστημα 120-144 ώρες μετά την ακτινοβόληση σημειώθηκε μείωση της δραστικότητας της τελομεράσης και των επιπέδων του hTERT mRNA σε σχέση με τα μη ακτινοβολημένα κύτταρα.

Γενικά οι αλλαγές στην δραστικότητα της τελομεράσης οφείλονται στη νέκρωση και στην αποπτωση των κυττάρων, αλλά και στο γεγονός ότι η ιοντίζουσα ακτινοβολία προκαλεί καθυστερημένο αναπαραγωγικό θάνατο <sup>[150,151,152]</sup>. Έχει αποδειχθεί ότι κύτταρα που έχουν επιβιώσει από την ακτινοβολία μπορεί να φαίνονται υγιή, αλλά παρουσιάζουν γενετική αστάθεια, γονιδιακές μεταλλάξεις και αναπαραγωγικό θάνατο, γεγονός που σημαίνει ότι έχουν την δυνατότητα να επιτελέσουν έναν συγκεκριμένο αριθμό διαιρέσεων μέχρι να οδηγηθούν στον θάνατο.

Επομένως, η μείωση στην δραστικότητα της τελομεράσης μπορεί να είναι ένας από τους μηχανισμούς που προκαλεί γενετική αστάθεια και καθυστερημένο κυτταρικό θάνατο μετά από την επίδραση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας <sup>[153]</sup>. Επιπρόσθετα, οι διακυμάνσεις στην δραστικότητα της τελομεράσης που παρατηρήθηκαν 48 ώρες μετά από την ακτινοβόληση μπορεί να αποδοθούν στην ποικιλία που παρουσιάζεται μεταξύ των κυττάρων σε σχέση με την επανευαισθητοποίηση (re-sensitization) και στον επαναποικισμό (re-population).

Για αποτελέσματα της κυτταρομετρίας ροής δείχνουν πως η κατανομή των μη ακτινοβολημένων κυττάρων στις διάφορες φάσεις του κυτταρικού κύκλου παραμένει σχεδόν ίδια στις διάφορες χρονικές στιγμές στις οποίες πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις (0-144 ώρες). Επομένως μπορεί να υποτεθεί ότι οι παρατηρούμενες αλλαγές στην έκφραση της τελομεράσης πιθανόν να μην προκαλούνται από αλλαγές στη κατανομή των κυττάρων στις φάσεις του κύκλου ζωής τους. Αντίθετα η διαφοροποίηση της φάσης του κυτταρικού κύκλου 24 ώρες μετά την ακτινοβόληση, (Σχ. 4.6) εμφανίζεται στενά εξαρτώμενη από την απορροφώμενη δόση αφού τα κύτταρα στη φάση G2/M αυξάνονται με την αύξηση της δόσης, ενώ τα κύτταρα στη φάση S μειώνονται αντιστρόφως ανάλογα. Εντούτοις αυτές οι διαφορές δεν μπορούν να συνδεθούν με τη διαφοροποίηση της έκφρασης της τελομεράσης.

Το γεγονός αυτό έρχεται σε αντίθεση με τους Holt *et al.* (1996)<sup>[155]</sup>, οι οποίοι αναφέρουν ότι η δραστικότητα της τελομεράσης δεν εξαρτάται από τον κυτταρικό κύκλο, αλλά

σχετίζεται με ρυθμιστικούς παράγοντες του κυτταρικού κύκλου οι οποίοι αναστέλλουν την ενδοκυτταρική δράση της τελομεράσης όταν το κύτταρο δεν είναι στην φάση S.

Ωστόσο, ο μεγάλος χρόνος ημιζωής της τελομεράσης, ο οποίος είναι μεγαλύτερος από τον κύκλο ζωής ενός κυττάρου HeLa, συνηγορεί υπέρ της άποψης ότι η δραστικότητα της τελομεράσης δεν εξαρτάται απόλυτα από τις φάσεις του κυτταρικού κύκλου.

Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι η δραστικότητα της τελομεράσης μειώνεται πιο γρήγορα στις υψηλές δόσεις, γεγονός που έρχεται σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία<sup>[156,157]</sup>.

Δεν υπάρχουν σαφείς αποδείξεις για την λειτουργία της τελομεράσης μετά από την επίδραση της ακτινοβολίας σε καρκινικές κυτταρικές σειρές, αλλά είναι φανερό πως οι αλλαγές στην έκφρασή της, που προκαλούνται από την ακτινοβολία επηρεάζουν σημαντικά την σταθερότητα των κυττάρων για αρκετές διαιρέσεις μετά από την ακτινοβόληση.

Εάν η σχετική διαφοροποίηση της έκφρασης του ενζύμου της τελομεράσης ήταν δυνατόν να συσχετιστεί με την ακτινοβολία, και συνεπώς με την αναπαραγωγική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων, τότε ενδεχομένως, ειδική αλλαγή στην δραστικότητα της τελομεράσης να μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της διαφορετικής ακτινευαισθησίας.

Το μοντέλο των κυττάρων HeLa που χρησιμοποιήθηκε έδειξε ότι η έκφραση της καταλυτικής υπομονάδας της τελομεράσης επηρεάζεται από την ιοντίζουσα ακτινοβολία και συσχετίζεται με την δραστικότητα της τελομεράσης τόσο πριν όσο και μετά την ακτινοβολία. Όμως ο τρόπος με τον οποίο επηρεάζεται δεν μπορεί να καθοριστεί με ακρίβεια

Τα ευρήματα αυτά διαφοροποιούνται από πρόσφατες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε καρκινικές κυτταρικές σειρές και υποστηρίζουν πως η έκφραση του hTERT mRNA δεν επηρεάζεται από την ακτινοβολία και δεν συσχετίζεται με την δραστικότητα της τελομεράσης<sup>[135,156]</sup>. Πρέπει να σημειωθεί πως στις προηγούμενες μελέτες δεν χρησιμοποιήθηκε η ποσοτική PCR πραγματικού χρόνου η οποία εφαρμόστηκε στην συγκεκριμένη μελέτη και διαθέτει υψηλή ευαισθησία, ενώ έχει αποδειχθεί πως αποτελεί χρήσιμο εργαλείο για την εκτίμηση της έκφρασης της τελομεράσης.

Συμπερασματικά, η παραπάνω έρευνα αναφέρει αύξηση στην δραστικότητα της τελομεράσης και στα επίπεδα του hTERT mRNA, 24 ώρες μετά την ακτινοβόληση σε κύτταρα HeLa.

Επιπλέον, παρουσιάζεται σαφής επίδραση της ακτινοβολίας στην έκφραση του hTERT mRNA και σημαντική συσχέτιση αυτής με την δραστικότητα της τελομεράσης. Εντούτοις, απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να ξεκαθαριστεί ο μηχανισμός με τον οποίο η ακτινοβολία επιδρά στην δραστικότητα της.





## ΤΕΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

---

Βάσει των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, κατέστη σαφές ότι η βελτιστοποίηση της ακτινοθεραπείας εξαρτάται αυστηρά από τη χρήση πληροφοριών που θα αφορούν τον κάθε ασθενή.

Συνεπώς είναι απαραίτητη η εισαγωγή ραδιοβιολογικών παραμέτρων που θα περιγράφουν τόσο την απόκριση του νεοπλάσματος όσο και την αντίδραση του φυσιολογικού ιστού στον όγκο που ακτινοβολείται, τον κερματισμό της δόσης, και τη σχέση δόσης – χρόνου.

Επιπλέον απαραίτητη είναι η εισαγωγή και άλλων παραγόντων που επηρεάζουν την έκβαση του αποτελέσματος της θεραπείας και δέν λαμβάνονται υπόψιν επί του παρόντος, όπως η ενδογενής ακτινευαισθησία ή η πνευμονική λειτουργία.

Βέβαια η προσέγγιση αυτή θα είναι πάντα συνδεδεμένη με έναν βαθμό αβεβαιότητας που οφείλεται στο ότι η ίδια η φύση της ακτινοβολίας, και άρα η επίδραση της απορροφώμενης δόσης, μπορεί να θεωρηθεί πιθανολογική μικροσκοπικά, αφού οι μεταξύ των ασθενών διαφορές σε κυτταρικό επίπεδο είναι γενικά άγνωστες.

Η όλη διαδικασία εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα των κλινικών δεδομένων αλλά και την ακρίβεια με την οποία περιγράφονται και κατ' επέκταση εκτιμώνται οι υποβόσκοντες ακτινοθεραπευτικοί και βιολογικοί μηχανισμοί. Αποδείχθηκε ότι αυτή η διαδικασία είναι πολύπλοκη ακόμα και αν τα διαθέσιμα κλινικά δεδομένα είναι ακριβή, διότι η χρήσιμη πληροφορία συνήθως καλύπτει μόνο ένα περιορισμένο τμήμα της καμπύλης δόσης – απόκρισης. Κατά συνέπεια βασικό ρόλο παίζει η γνώση της κυτταρικής επιβίωσης σε μικροσκοπικό επίπεδο.

Αναλυτικότερα, στην παρούσα διατριβή αρχικά πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των καταλληλότερων στατιστικών μεθόδων που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την αντικειμενική αξιολόγηση μίας αντίστοιχης συγκριτικής μελέτης. Τα συμπεράσματα της μελέτης αυτής συνοψίζονται στα κάτωθι:

- η διερεύνηση της ικανοποιητικής προσαρμογής των μοντέλων, μπορεί να πραγματοποιηθεί ικανοποιητικά με τη δοκιμή  $\chi^2$ . Αυτή η στατιστική μέθοδος χαρακτηρίζει τη διακύμανση των παρατηρούμενων συχνοτήτων σε σχέση με τις αναμενόμενες συχνότητες, που εν προκειμένω μπορεί να διερευνηθεί με τη σύγκριση των παρατηρούμενων κλινικών αποτελεσμάτων έναντι των υπολογιζόμενων αποτελεσμάτων επιπλοκής.

Μόνη προϋπόθεση αποτελεί η διαίρεση του συνόλου των τιμών σε υπο-ομάδες, οι οποίες θα πρέπει να ταξινομούνται κατά σειρά αυξανόμενης μέσης εξαρτημένης μεταβλητής σύγκρισης (π.χ. απορροφώμενη δόση).

- Επίσης επιβεβαιώθηκε η χρήση της Monte Carlo μεθόδου και της ROC ανάλυσης, που εξ' ορισμού χρησιμοποιούνται για σύγκριση και αριθμητική αξιολόγηση θεωρητικών έναντι υπολογιζόμενων τιμών.
- Τέλος διαπιστώθηκε ότι η χρήση γραμμικής πιθανότητας και λογιστικής ιταλινδρόμησης αναφορικά με τον προσδιορισμό ραδιοβιολογικών παραμέτρων περιορίζεται σημαντικά από την παρατηρούμενη επίπτωση σε πραγματικά ποσοστά της επιπλοκής που εξετάζεται.

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε ραδιοβιολογική προσέγγιση της ακτινοθεραπείας, και κατ' επέκταση ερευνήθηκε η δυνατότητα πρόβλεψης και εκτίμησης των πιθανοτήτων των συνηθέστερα χρησιμοποιούμενων NTCP Ραδιοβιολογικών Μοντέλων, αναφορικά με την επίπτωση της Ακτινικής Πνευμονίτιδας (Α.Π.), σε μια σχετικά μεγάλη ομάδα ασθενών στην ακτινοθεραπεία του καρκίνου του μαστού και του πνεύμονα.

Αναφορικά με τα αποτελέσματα των ραδιοβιολογικών μοντέλων που εξετάστηκαν, γενικό συμπέρασμα αποτελεί ότι αυτού του είδους η προσέγγιση είναι πολύ ευαίσθητη στην επιλογή τόσο των μοντέλων, όσο και των χρησιμοποιούμενων παραμέτρων για την κλινική περίπτωση στην οποία εφαρμόζεται, ενώ δίνει αποδεκτά κλινικά αποτελέσματα μόνο σε ορισμένες περιπτώσεις επιλεκτικά.

Πιο συγκεκριμένα στην εφαρμογή ραδιοβιολογικών μοντέλων για την εκτίμηση της Ακτινικής Πνευμονίτιδας στην ακτινοθεραπεία του μαστού, τα τελικά συμπεράσματα της μελέτης συνοψίζονται στα κάτωθι:

- Τα ποσοστά εμφάνισης της Α.Π. στην ακτινοθεραπεία του μαστού είναι ιδιαίτερα χαμηλά και η ενδογενής ακτινευαισθησία διαδραματίζει έναν σημαντικό ρόλο στην πρόβλεψη τέτοιων χαμηλών ποσοστών επιπλοκών.
- Τα κριτήρια αξιολόγησης που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη (π.χ. RTOG-EORTC, LENT-SOMA) δεν μπορούν να περιγράψουν ικανοποιητικά την επίπτωση της Α.Π. στην ακτινοθεραπεία του μαστού, δεδομένου ότι αναφέρονται κυρίως σε περιπτώσεις θεραπειών του καρκίνου του πνεύμονα. Επομένως χρειάζονται αναθεώρηση, προκειμένου τα ραδιοβιολογικά μοντέλα να μην καταλήγουν σε υπο-εκτίμηση του κλινικού ευρήματος. (Tsongos και συν 2005)<sup>[62]</sup>.
- Η χρήση δημοσιευμένων παραμέτρων θα πρέπει να θεωρείται ασφαλής μόνο αφού εξασφαλιστεί επαρκής συμφωνία μεταξύ των εφαρμοζόμενων τεχνικών θεραπειών (Tsongos και συν 2005)<sup>[116]</sup>.

Στην ακτινοθεραπεία του πνεύμονα, όπου τα ποσοστά εμφάνισης της Α.Π. είναι σημαντικά, τα αποτελέσματα της μελέτης συνοψίζονται στα κάτωθι:

- Τα ραδιοβιολογικά μοντέλα συμπεριφέρονται ικανοποιητικά, συνδέοντας επαρκώς τις πιθανότητες επιπλοκής με τις σχέσεις δόσης-όγκου.
- Εντούτοις στην παρούσα μελέτη δεν επιβεβαιώθηκε η δυνατότητα να προβλεφθούν οι πνευμονικές αλλαγές βάσει των παραμέτρων Δόσης – Όγκου, και αυτό κυρίως επειδή η ανάλυση των δοκιμών πνευμονικής λειτουργίας (PFTs) δεν απέφερε αποτελέσματα ικανά να συσχετιστούν με στατιστική ακρίβεια με τα ραδιοβιολογικά μοντέλα NTCP.
- Ωστόσο, υπήρξε η ένδειξη ότι οι ασθενείς με καλύτερα αποτελέσματα στα PFTs πριν από τη θεραπεία θα μπορούσαν να συσχετιστούν καλύτερα με την πιθανότητα επιπλοκής φυσιολογικού ιστού.

Τέλος, ερευνήθηκε ο προσδιορισμός ενός βιολογικού παράγοντα εκτίμησης του αποτελέσματος της θεραπείας και της ενδογενούς ακτινευαισθησίας με ακτινοβόληση καρκινικής κυτταρικής σειράς. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι:

- Υπήρξε μεταβολή της έκφρασης της τελομεράσης μετά από την επίδραση της ακτινοβολίας. Αναλυτικότερα, παρατηρήθηκε αύξηση της δραστηριότητας της τελομεράσης, η οποία ήταν ανάλογη με τις δόσεις της ακτινοβολίας που χορηγήθηκαν αλλά μόνο για τις πρώτες 24 ώρες μετά από την ακτινοβόληση.
- Η δραστηριότητα της τελομεράσης εξαρτάται από την μεταγραφή του hTERT, αν και δεν είναι ξεκάθαρος ο μηχανισμός με τον οποίο η ακτινοβολία επηρεάζει την ενεργότητα της.
- Η επίδραση της ακτινοβολίας δεν μπορεί να συσχετιστεί ικανοποιητικά με την σχετική διαφοροποίηση της έκφρασης του ενζύμου της τελομεράσης, και άρα με την αναπαραγωγική ικανότητα των κυττάρων, οπότε βάσει της παρούσας μελέτης, ειδική αλλαγή στην δραστηριότητα της τελομεράσης δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της διαφορετικής ακτινευαισθησίας.



## ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

---

Πολύ σημαντική αναφορικά με τη ραδιοβιολογική προσέγγιση είναι η δυνατότητα αντικειμενικής αξιολόγησης των ακτινολογικών ευρημάτων, και ειδικά στην περίπτωση της ακτινικής πνευμονίτιδας.

Επίσης ο τοπικός έλεγχος ενός νεοπλασμάτος (εξάλειψη και του τελευταίου κλωνογόνου κυττάρου) με ακτινοβολία, εξαρτάται ουσιαστικά από τον αρχικό αριθμό των κλωνογόνων κυττάρων και από την ακτινευαισθησία τους. Εάν υπάρξει μέθοδος ακριβούς μέτρησης της ακτινευαισθησίας θα είναι εφικτή και επωφελής η τροποποίηση της ακτινοθεραπευτικής αγωγής για κάθε ασθενή.

Προς αυτήν την κατεύθυνση προσανατολίζονται οι υπό εξέλιξη εργασίες, σαν συνέχεια της παρούσας διατριβής, με τους εξής μελλοντικούς στόχους:

- Ανάπτυξη λογισμικού προγράμματος αυτοματοποιημένης αξιολόγησης ακτινολογικών ευρημάτων σε αξονικό τομογράφο.
- Διενέργεια έρευνας για τον προσδιορισμό της ενδογενούς ακτινευαισθησίας
- Επέκταση των ραδιοβιολογικών μελετών και σε διαφορετικούς τύπους νεοπλασμάτων.
- Δημιουργία μιας ελεγχόμενης κλινικής δοκιμασίας με ραδιοβιολογική προσέγγιση, μεγάλου αριθμού ασθενών, στην οποία να συμπεριληφθούν κι άλλες παράμετροι θεραπείας πλὴν των φυσικών, όπως: το στάδιο του νεοπλασμάτος, ο όγκος ( $\text{cm}^3$ ), ο ρυθμός ανάπτυξης, η ενδογενής ακτινευαισθησία κ.λπ.



## Βιβλιογραφία

---

1. Segawa Y, Takigawa N, Kataoka M, Takata I, Fujimoto N, Ueoka H. Risk factors for development of radiation pneumonitis following radiation therapy with or without chemotherapy for lung cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997 39(1):91-8
2. Morgan GW and Breit SN Radiation and the lung. A re-evaluation of the mechanisms mediating pulmonary injury. *Int. J. Radiat Oncol Biol. Phys.*, 1995 Vol. 31:361–369
3. Cox J., Stetz J., Pajak T. Toxicity criteria of the radiation therapy oncology group (RTOG) and the European organization for research and treatment of cancer (EORTG) *Int. J. Radiat Oncol Biol. Phys.* 1995 Vol. 31: 1341–1346
4. Yuhchayou C, Rubin P, Williams J, Hernady H, Smudzin T, Okunieff P. Circulating IL-6 as a predictor of Radiation Pneumonitis *Int. J. Radiat Oncol Biol. Phys.* 2001 Vol. 49:641–648
5. Goto K, Kodama T, Sekine I, et al Serum levels of KL-6 are useful biomarkers for severe radiation pneumonitis *Lung Cancer* 2001 34:141–148
6. Πλατανιώτης ΓΑ, Κλινική Ραδιοβιολογία University Studio Press Θεσσαλονίκη 2000
7. Hang H, Fox MH. Analysis of the mammalian cell cycle by flow cytometry. *Methods in Molecular and cellular Biology* 2004 241: 23-35.
8. Hendry JH. Genomic instability: potential contributions to tumour and normal tissue response, and second tumours after radiotherapy. *Radiotherapy and Oncology* 2001 59: 117-26.
9. Little J, Giorgio L, Vetrovs H Delayed appearance of lethal and specific gene mutations in irradiated mammalian cells *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1990 19: 1425-9.
10. Dewey WC, Ling CC, Meyn RE. Radiation induced apoptosis: Relevance to radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995 33:781-796
11. Steel G, *Basic Clinical Radiobiology*, 3<sup>rd</sup> ed. Arnold, London 2002.
12. Van Dyke J, Keane TJ et al. Radiation pneumonitis following large single dose irradiation. A re-evaluation based on absolute dose to the lung. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1981 1: 461-467.
13. Glantz C, *Primer of Biostatistics*, 5<sup>th</sup> ed. McGraw Hill, New York 2002
14. Munro TR, Gilbert CW, The relation between tumour lethal doses and the radiosensitivity of tumour cells. *Br J Radiol* 1961 34:246-251
15. Elkind MM, Sutton H, Radiation response of mammalian cells grown in culture. Repair of X-ray damage in surviving Chinese hamster ovary cells. *Rad. Res.* 1960 13: 556-593
16. Withers H R The four R's of Radiotherapy *Adv Radiat Biol* 1975 5:241-247
17. Steel GG McMillan Tj Peacock JH The 5 R's of Radiobiology *Int J Radiat Biol* 1989 56: 1045-8
18. Elkind M Sutton H Radiation Response of mammalian cells grown in culture. Repair of x-ray damage in surviving Chinese hamster cells. 1960 *Rad. Res* 13 556-593

19. Kellerer a Rossi H The theory of dual radiation action Current topic of Rad. Res 1972 85-158
20. Chadwick K Leenhouts H The molecular theory of cell survival Phys Med Biol 1973 1 78-87
21. Tobias CA The repair misrepair Model in Radiobiology Comparison to other models Rad Res 1985 104 77-95
22. Curtis S Lethal and Potential Lethal Lesions induced by radiation. A unified repair model Rad Res 106 252-270
23. Bergonie J and Tribondeau U L Interpretation of some results of radiotherapy and an attempt at determining a logical technique of treatment. Radiat Res. 1959 11:587-8.
24. Brahme A Development of radiation therapy optimization Acta Oncol 2000 39: 579-575
25. Fowler J F Biological factors influencing optimum fractionation in radiation therapy Nobel 2000 19-22
26. Mehta M Scrimger R Mackie R et al A new approach to dose escalation in non small cell lung cancer Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2001 49 23-33
27. Wolbarst A B Optimization of radiation therapy II: The critical-voxel model *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1984**10** 741-45
28. Hendry J H and Thames H D The tissue-rescuing unit 1986 *Br. J. Radiol.* **59** 628-30
29. ICRU Report 62 Prescribing, recording and reporting photon beam therapy. 1999 ICRU Publications
30. Μαυροειδής Π. Determination and Use of Radiobiological Response Parameters in Radiation Therapy Optimization PhD Thesis Karolinska Institutet 2001
31. Schultheiss TE Oorton CG Peck RA Models in Radiotherapy, Volume effects 1983 *Med Phys* 10: 410-415
32. Withers H R, Taylor J M G and Maciejewski B Treatment volume and tissue tolerance *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1988 14 751-59
33. Källman P, Lind B K and Brahme A An algorithm for maximizing the probability of complication free tumor control in radiation therapy *Phys. Med. Biol.* 1992 37 871-90
34. Brahme A, Ågren A-K Optimal dose distribution for eradication of heterogeneous tumors *Acta Oncol.* 1987 26 377
35. Källman P, Ågren A-K and Brahme A Tumor and normal tissue responses to fractionated non uniform dose delivery *Int. J. Radiat. Biol.* 1992 62 249-62
36. Moiseenko V, Battista J and van Dyk J Normal tissue complication probabilities: dependence on choice of biological model and dose-volume histogram reduction scheme *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2000 46 983-93
37. Yaes R J The biological effect of inhomogeneous dose distributions in fractionated radiotherapy *Int. J. Rad. Onc. Biol. Phys.* 1990 19 203-7
38. Ågren A-K, Brahme A and Turesson I Optimization of uncomplicated control for head and neck tumors *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1990 19 1077-85



39. Ågren A-K, Källman P and Brahme A Determination of the relative seriality of a tissue from its response to non-uniform dose delivery Modelling in clinical 1997 127-41
40. Mavroidis P, Axelson A et al Effects of positioning uncertainty and breathing on dose delivery and radiation pneumonitis prediction in breast cancer Acta Oncol. 2002 41 471-85
41. Niemierko A and Goitein M Calculation of normal tissue complication probability and dose-volume histogram reduction schemes for tissues with critical element architecture Radiother. Oncol. 1991 20 166-76
42. Alber M and Nusslin F An objective function for radiation treatment optimization based on local biological measures Phys. Med. Biol. 1999 44 479-93
43. Withers H R and Taylor J M G Critical volume model Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1992 25 151-2
44. Niemierko A and Goitein M Modelling of normal tissue response to radiation: the critical volume model Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1992 25 135-45
45. Levin-Plotnik D, Niemierko A and Akselrod S Effect of incomplete repair on normal tissue complication probability in the spinal cord Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2000 46 631-8
46. Kwa S L, Theuws J C M, Wagenaar A et al Evaluation of two dose-volume histogram reduction models for the prediction of radiation pneumonitis Radiother. Oncol. 1998 48 61-9
47. Niemierko A, Urie M and Goitein M Optimization of 3D radiation therapy with both physical and biological end-points and constraints Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1992 23 99-108
48. Lyman J T and Wolbarst A Optimization of radiation therapy, III: A method of assessing complication probabilities from dose-volume histograms Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1987 13 103-9
49. Kutcher G J and Burman C Calculation of complication probability factors for non-uniform normal tissue irradiation: the effective volume method Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1989 16 1623-30
50. Burman C, Kutcher G J, Emami B and Goitein M Fitting of normal tissue tolerance data to an analytic function Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1991 21 123-35
51. Jackson A, Kutcher G J and Yorke E D Probability of radiation-induced complications for normal tissues with parallel architecture subject to non-uniform radiation Med. Phys. 1993 20 613-25
52. Jackson A, Ten Haken R K, Robertson J M, et al Analysis of clinical complication data for radiation hepatitis using a parallel architecture model Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1995 31 883-91
53. Overgaard J Sensitization of hypoxic tumor cells – clinical experience. Int. J. Radiat Biol 1989 56: 801-11
54. Horsman MR Measurement of tumour oxygenation Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1998 42 701-4
55. Tucker S L, Thames H D, Taylor J M G How well is the probability of tumour cure after fractionated irradiation described by Poisson statistics? Rad. Res. 1990 124 273-82

56. Eriksson F, Gagliardi G, Liendberg A, Lax I, Lee C, Levitt S, Lind B and Rutqvist L-E Long-term cardiac mortality following radiation therapy for Hodgkin's disease: analysis with the relative seriality model *Radiother. Oncol.* 2000;55: 153-62
57. Gagliardi G, Bjöhle J, Lax I, Ottolenghi A, Eriksson F, Liedberg A, Lind P and Rutqvist L-E Radiation pneumonitis after breast cancer irradiation: Analysis of the complication probability using the relative seriality model *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2000; 46: 373-81
58. Flickinger J The integrated logistic formula and prediction of complications from radiosurgery *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1989; 17: 879-85
59. Karlsson B, Lax I and Söderman M Factors influencing the risk of complications following gamma knife radiosurgery of cerebral arteriovenous malformations *Radiother. Oncol.* 1997; 43: 275-80
60. Karlsson B, Lindquist C and Steiner L Prediction of obliteration after Gamma Knife surgery for cerebral arteriovenous malformations *Neurosurgery* 1997; 40: 425-31
61. Pollock B, Kondziolka D, Lunsford L D, Bissonette D and Flickinger J Factors that predict the bleeding risk of cerebral arteriovenous malformations *Stroke* 1996; 27: 1-6
62. Tsougos I, Mavroidis P, Theodorou K et al Evaluation of dose-response models and parameters predicting radiation induced pneumonitis using clinical data from breast cancer radiotherapy *Phys. Med. Biol.* 2005; 50: 3535-54
63. Boersma L J, Damen E M and De Boer R W Estimation of overall pulmonary function after irradiation using dose-effect relations for local functional injury *Radiother. Oncol.* 1995; 36: 15-23
64. Kutcher G J and Burman C Calculation of complication probability factors for non-uniform normal tissue irradiation: The effective volume method *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1989; 16: 1623-30
65. Kutcher G J, Burman C, Brewster L, Goitein M and Mohan R Histogram reduction method for calculating complication probabilities for 3-dimensional treatment planning evaluations *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1991; 21: 137-46
66. Källman P, Ågren A-K and Brahme A An algorithm for maximizing the probability of complication free tumor control in radiation therapy *Phys. Med. Biol.* 1992; 37: 871-90
67. Lyman J T Complication probability as assessed from dose-volume histograms *Rad. Res.* 8 (Suppl.) 1985: S13-9
68. Kwa S, Lebesque J et al Radiation pneumonitis as a function of mean lung dose: An analysis of pooled data of 540 patients *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1998; 42: 1-9
69. Kwa S, Theuvs C et al Evaluation of two dose-volume histogram reduction models for the prediction of radiation pneumonitis *Radiother. Oncol.* 1998; 48: 61-9
70. Cox J, Stetz J and Pajak T Toxicity criteria of the radiation therapy oncology group (RTOG) and the European organization for research and treatment of cancer (EORTG) *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1995; 31: 1341-46
71. Wayne W. Daniel *Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences*, 6<sup>th</sup> edition, John Wiley & sons Inc, 1995
72. Ross Maller, Xian Zhou *Survival analysis with long-term survivors*, John Wiley & sons, 1996

73. Glantz S. A. Primer of Biostatistics 5<sup>th</sup> Edition McGraw Hill 2002
74. Seppenwoolde Y, Lebesque J, Jaeger K et al Comparing different NTCP models that predict the incidence of radiation pneumonitis Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2003 55 724-35
75. Mavroidis P, Lind B K and Brahme A Biologically effective uniform dose for specification, report and comparison of dose response relations and treatment plans Phys. Med. Biol. 2001 46 2607-30
76. Niemierko A A generalized concept of equivalent uniform dose (EUD) Med. Phys. 1999 26 1100
77. Brahme A Dosimetric precision requirements in radiation therapy Acta Radiol. Oncol. 1984 23 379-91
78. Newcomb C H, Van Dyk J and Hill R P Evaluation of isoeffect formulae for predicting radiation-induced lung damage Radiother. Oncol. 1993 26 51-63
79. Bentzen SM Thames HD Overgaard J Overgaard M Some methodological problems in estimating radiobiological parameters from clinical data. Acta Oncol. 1988 27: 105-16
80. Persson L. Cell survival at low and high ionization densities investigated with a new model. Division of Medical Radiation Physics Stockholm University, PhD Thesis 2002
81. Turesson I, Joiner M Clinical Evidence of hypersensitivity to low doses in radiotherapy. Radiotherapy and Oncology 40 1-3, 1996
82. Short S, Mayes C, Woodcock M, Johns H, Joiner M. Low dose hypersensitivity in the T98G human glioblastoma cell line. International Journal of Radiation Biology 75(7), 847-855 (1999).
83. Marples b, Lampin P, Skov, Joiner M. Low dose hyperradiosensitivity and increased radioresistance in mammalian cells. International Journal of Radiation Biology 71(6), 721-735 (1997).
84. Singh B, Arrand J, Joiner M. Hypersensitive response of normal human lung epithelial cells at low radiation doses. International Journal of Radiation Biology 65(6), 457-464 (1994).
85. Joiner M et.al. Low dose hypersensitivity: Current status and possible mechanisms. International Journal of Radiation Biology 49(2), 379-389 (2001).
86. Altman D.G. Confidence Intervals for the number needed to treat. British Medical Journal 1998 317, 1309-1312
87. Gagliardi G, Lax I and Rutqvist L E Radiation therapy of stage I breast cancer: analysis of treatment technique accuracy using tree-dimensional treatment planning tools Radiother. Oncol. 1991 24 94-101
88. Abratt R A and Morgan G W Lung toxicity following chest irradiation in patients with lung cancer Lung Cancer 2002 35 103-9
89. Mah K, van Dyk J, Keane T and Poon P Y Acute radiation-induced pulmonary damage. A clinical study on the response to fractionated radiation therapy Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1987 13 179-88
90. LENT SOMA Tables Radiother. Oncol. 1995 35 17-60

91. Pavy J J, Denekamp J, Letschert J et al Late effects toxicity scoring: the SOMA scale *Radiother. Oncol.* 1995 35 11-5
92. Hoeller U, Tribius S, Kuhlmeier A et al Increasing the rate of late toxicity by changing the score? A comparison of RTOG/EORTC and LENT/SOMA scales *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2003 55 1013-8
93. Burman C, Kutcher G J, Emami B et al Fitting of normal tissue tolerance data to an analytical function *Int. J. Radiat. Biol. Phys.* 1991 21 123-35
94. Källman P, Ågren A-K and Brahme A Tumour and normal tissue responses to fractionated non-uniform dose delivery *Int. J. Radiat. Biol.* 1992 62 249-62
95. Lebesque J V and Keus R B The simultaneous boost technique: The concept of relative normalized total dose *Radiother. Oncol.* 1991 22 45-55
96. Lind B K Mavroidis P, Hyödynmaa S and Kappas C Optimization of the dose level for a given treatment plan to maximize the complication-free tumor cure *Acta Oncol.* 1999 38 787-98
97. Withers H R Biological bases for modifying conventional fractionation regimens in radiotherapy *Strahlentherapie* 1984 160 670-7
98. Withers H R, Taylor J M G and Maciejewski B Treatment volume and tissue tolerance *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1988 14 751-19
99. Stavreva N A and Stavrev P V Some limitations of the application of the NTCP model describing the response of organs with 'relatively serial' structure *Int. J. Radiat. Biol. Phys.* 2002 78 948-50
100. Brahme A Comments on the letter from Stavreva and Stavrev: Some limitations of the application of the NTCP model describing the response of organs with 'relatively serial' structure *Int. J. Radiat. Biol. Phys.* 2002 78 951-2
101. Brahme A Dosimetric precision requirements in radiation therapy *Acta Radiol. Oncol.* 1984 23 379-91
102. Boersma L J, Damen E M and De Boer R W Estimation of overall pulmonary function after irradiation using dose-effect relations for local functional injury *Radiother. Oncol.* 1995 36 15-23
103. Schultheiss T E, Orton C G and Peck R A 1983 Models in radiotherapy - Volume effects *Med. Phys.* 10 410-5
104. Abramowitz M and Stegun I A Handbook of mathematical functions with formulas, graphs and mathematical tables 1972
105. Venkatraman E S and Begg C A distribution free procedure for comparing receiver operating characteristic curves from a paired experiment *Biometrika* 1996 83 835-48
106. Hurkmans C W, Borger J H, Bos L J, van der Horst A, Pieters B R, Lebesque J V and Mijnheer B J Cardiac and lung complication probabilities after breast cancer irradiation *Radiother. Oncol.* 2000 55 145-51
107. Severin D, Connors S, Thompson H, Rathee S, Stavrev P and Hanson J Breast radiotherapy with inclusion of internal mammary nodes: A comparison of techniques with three-dimensional planning *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2003 55 633-44

108. Jenkins P, D'Amico K *et al* Radiation Pneumonitis following treatment for non-small-cell lung cancer with CHART *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2003 56 360-6
109. Wennberg B, Gagliardi G *et al* Early response of lung in breast cancer irradiation: radiologic density changes measured by CT and symptomatic radiation pneumonitis *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2002 52 1196-206
110. Rancati T, Ceresoli G L *et al* Factors predicting radiation pneumonitis in lung cancer patients: a retrospective study *Radiother. Oncol.* 2003 67 275-83
111. Martel MK, Ten Haken RK, Hazuka MB *et al* Dose-volume histogram and 3-D treatment planning evaluation of patients with pneumonitis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1994 28 575-81.
112. Martel MK, Strawderman M, Hazuka MB, Turrisi Volume and dose parameters for survival of non-small cell lung cancer patients. *Radiother Oncol.* 1997 44 :23-9.
113. Martel MK, Ten Haken RK, Hazuka MB, *et al* Estimation of tumor control probability model parameters from 3-D dose distributions of non-small cell lung cancer patients. *Lung Cancer.* 1999 24(1):31-7.
114. Yorke E D, Jackson A *et al* Dose-volume factors contributing to the incidence of radiation pneumonitis in non-small-cell lung cancer patients treated with three-dimensional conformal radiation therapy *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2002 54 329-39
115. Oetzel D, Schraube P *et al* 1995 Estimation of pneumonitis risk in three dimensional treatment planning using dose-volume histogram analysis *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 33 455-60
116. Tsougos I, Mavroidis P *et al* Clinical validation of the LKB model and parameter set for predicting radiation induced pneumonitis from breast cancer radiotherapy *Phys. Med. Biol.* 2005 in press
117. Robertson JM, Ten Haken RK, Hazuka MB, *et al.* Dose escalation for non-small-cell lung cancer using conformal radiation therapy *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1997 37 1079-1085
118. Marks L. B. Dosimetric predictors of radiation induced lung injury. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2002 54 2 313-316
119. Marks LB, Munley MP, Bentel GC, *et al.* Physical and biological predictors of changes in whole lung function following thoracic irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1997 39 563-570
120. Lind PA, Marks LB, Hollis D, *et al.* Utility of receiver operator curves (ROC) in assessing predictors of radiation induced symptomatic lung injury. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2002 54 340-347
121. Fan M, Marks LB, Lind P, *et al.* Relating radiation induced regional lung injury to changes in pulmonary function tests. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2001 51 311-317
122. Theuws JC, Muller SH, Seppenwoolde Y, *et al.* Effect of radiotherapy and chemotherapy on pulmonary function after treatment for breast cancer and lymphoma: A follow up study. *J Clin Oncol* 1999 17 3091-100
123. Allen A M, Henning G T, Ten Haken R K, *et al.* 2003 Do dose-volume metrics predict pulmonary function changes in lung irradiation? *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 55 921- 929

124. Chiu CP, Harley CB. Replicative senescence and cell immortality: the role of telomeres and telomerase. *Proceed of the Society for Exp Biol and Med* 1997;214: 99-106.
125. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, harley CB, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 1994;266: 2011-2015.
126. Shay JW, Bacchetti S. A survey of telomerase activity in human cancer. *European Journal of Cancer* 1997;33: 787-791.
127. Pandita TK, Roti roti JL. Role of telomerase in radiocurability (Review). *Oncology reports* 2003;10: 263-270.
128. Nakamura TM, Morin GB, Chapman KB. Telomerase catalytic subunit homologs from fission yeast and human. *Science* 1997;277: 955-959.
129. Holt ES, Wright WE, Shay JW. Regulation of Telomerase Activity in Immortal Cell Lines. *Molecular and cellular Biology* 1996;16: 2932-2939.
130. Yan P, Coindre MJ, Benhattar J, Bosman FT, Guillou L. Telomerase activity and human telomerase reverse transcriptase mRNA expression in soft tissue tumors: correlation with grade, histology and proliferative activity. *Cancer Research* 1999;59: 3166-3170.
131. Granger M, Wight W, Shay JW. Telomerase in cancer and aging. *Critical Reviews in Oncology/ Hematology* 2002;41: 29-40.
132. Sharma GG, Gupta A, Wang H, Scherthan H, Dhar S, Gandhi V, Iliakis G, Shay JW, Young CS, Pandita TK. hTERT associates with human telomeres and enhances genomic stability and DNA repair. *Oncogene* 2003;22: 131-146.
133. Wilkie AO, Lamb J, Harris PC, Finney RD, Higgs DR. A truncated human chromosome 16 associated with  $\alpha$ -thalassaemia is stabilized by the addition of telomeric repeats (TTAGGG) $_n$ . *Nature* 1990;346: 868-871.
134. Flint J, Craddock CF, Villegas A, Bently DP, Williams HJ, Galanello R, Cao A, Wood MG, Ayyub H, Higgs DR. Healing of broken chromosomes by addition of telomeric repeats. *American Journal of Human Genetics* 1994;55: 505-512.
135. Sawant SG, Gregoire V, Dhar S, Umbricht CB, Cvilic S, Sukumar S, Pandita TJ. Telomerase activity as a measure for monitoring radiocurability of tumor cells. *Federation of American Society for Experimental Biology Journal* 1999;13: 1047-1054.
136. Plumb JA. Cell sensitivity assays: the MTT assay. *Methods in Molecular Medicine* 2004;88: 165-9.
137. Luzar B, Marin IJ, Eberlinc A, Klopčic U, Gale N. Human telomerase catalytic subunit *gnr* re-expression is an early event in oral carcinogenesis. *Histopathology* 2004;45: 13-19.
138. Finke J, Fritzen R, Ternes P, Lange W, Dolken G. An improved strategy and a useful housekeeping gene for RNA analysis from formalin-fixed, parafin-embedded tissues by PCR. *Biotechniques* 1993;14: 448-453.
139. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Research* 1996;6: 986-994.
140. Zhang JX, Zhang ZK, Sheng HP, Tsao SW, Tatt-Tuck L. Telomerase activity is not related to apoptosis in leukemic cell lines. *Life Science* 2000;18: 1713-1723.

141. Leteutre F, Li X, Gluckman E, Carosella ED,. Telomerase activity during the cell cycle and in gamma-irradiated hematopoietic cells. *Leukemia* 1997 11: 1681-1689.
142. Hyeon J, Hande M, Landsdorp P, Natarajan A,. Induction of telomerase activity and chromosome aberrations in human tumor cell lines following irradiation. *Mutation Research* 1998 401: 121-31.
143. Terashima M, Ogawa Y, Toda K.. Effects of radiation on telomerase activity in human lymphoma and myeloma cell lines. *International Journal of Molecular Medicine* 1998 2: 567-71.
144. Neuhofer D, Ruess A, Wenz F, Weber KJ,. Induction of telomerase activity by irradiation in human lymphoblasts. *Radiation Research* 155: 693-697.
145. Schuck A, Poremba C, Lanvers C, Konemann S, Schleifer T, Wai D. Et al. Radiation-induced changes of telomerase activity in a Human Ewing Xenograft Tumor. *Strahlentherapie und Onkologie* 200212: 701-708.
146. Wood LD, Halvorsen TL, Dhar S, Baur JA, et al. Characterization of ataxia telangiectasia fibroblasts with extended life-span through telomerase expression. *Oncogene* 2001. 20: 278-288.
147. Bouffler SD, Blasco MA, Cox R, Smith PJ, Telomeric sequences, radiation sensitivity and genomic instability. *International Journal of Radiation Biology* 2001. 77 (10): 995-1005.
148. Melek M, Shippen DE, Chromosome helaing-spontaneous and programmed de novo telomere formation by telomerase. *Bioassays* 1996. 18: 301-308.
149. Pandita T, Hall E, Hei T, Piatyszek M, et al Chromosome end-to-end associations and telomerase activity during cancer progression in human cells after treatment with alpha-particles simulating radon progeny. *Oncogene* 1996. 13: 1423-1430.
150. Mothershill C, Kadhim MA, O'reilly S. Dose- and time-response relationship for lethal mutations and chromosomal instability induced by ionizing radiation in an immortalized human keratinocyte cell line. *Internat J of Rad Biol* 2000.76: 799-806.
151. Mothershill C, Kadhim MA, O'reilly S. Expression of delayed toxicity and lethal mutations in the progeny of human cells surviving exposure to radiation and other environmental mutagens. *International Journal of Radiation Biology* 1998. 74: 673-680.
152. Little J, Giorgio L, Vetrovs H. Delayed appearance of lethal and specific gene mutations in irradiated mammalian cells. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* 1990. 19: 1425-9.
153. Hendry JH, Genomic instability: potential contributions to tumour and normal tissue response, and second tumours after radiotherapy. *Radiotherapy and Oncology* 2001. 59: 117-26.
154. Holt ES, Wright WE, Shay JW, Regulation of Telomerase Activity in Immortal Cell Lines. *Molecular and cellular Biology* 1996.16: 2932-2939.
155. Holt SE, Shay JW, Role of telomerase in cell proliferation and cancer. *Journal of Cell Physiology* 1999. 180: 10-8.
156. Perez Rosario MD, Dubner D, Michelin S, et al Radiation induced up regulation of telomerase in KG1a cells is influenced by dose rate and radiation quality. *International Journal of Radiation Biology* 2002.78 (12): 1175-1183.

157. Aisner DL, Wright WE, Shay JW. Telomerase regulation: not just flipping the switch. *Current Opinion in Genetics and Development* 2002. 12: 80-85.
158. Finnon P, Cilver ARJ, Bouffler SD, Upregulation of telomerase activity by X-irradiation in mouse leukaemia cells is independent of Tert, Terc, Tnks and Myc transcription. *Carcinogenesis* 2000. 21 (4): 573-578.



## ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

**A.Π.** - Ακτινική Πνευμονίτιδα

**γ.** - Η μέγιστη κανονικοποιημένη τιμή της κλίσης της καμπύλης δόσης-αντίδρασης

**Clonogen- Κλωνογόνο κύτταρο.** - Κύτταρο που είναι ικανό για παραγωγή σειράς πανομοιότυπων γενετικά κυττάρων.

**C.T.** - Computed Tomography- Αξονική Τομογραφία

**DVH.** - Dose volume Histogram- Ιστόγραμμα Δόσης- Όγκου

$\bar{D}$  ή **BEUD**- Biological Effective Uniform Dose- Βιολογικά Ισοδύναμη Ομοιόμορφη Δόση

**D<sub>0</sub>.** - Δόση που αντιστοιχεί σε ένα θανατηφόρο ακτινικό πλήγμα ανά κύτταρο

**EUD.** - Effective Uniform Dose- Ισοδύναμη Ομοιόμορφη Δόση

**LQ.** - Linear quadratic- Γραμμικό τετραγωνικό μοντέλο

**LKB Model.** – Μοντέλο Lyman Kutcher Burman

**MMK.** - Μη μικροκυτταρικός

**MK.** - Μικροκυτταρικός

**MV.** - Μεγαβόλτ

**MeV.** - Μεγαηλεκτρονιοβόλτ

**m.** - Κλίση καμπύλης δόσης απόκρισης

**n.** - Παράγοντας εξάρτησης όγκου

**ΟΨ.Α.Ι.** - Οψίμως αντιδρώντες ιστοί

**ΟΞ.Α.Ι.** - Οξέως αντιδρώντες ιστοί

**P.T.V.** - Planning Target Volume- όγκος προγραμματισμού (πλάνου θεραπείας)

**s.** - Relative Seriality- 'Δείκτης Σειριακότητας'

**TPS.** - Treatment Planning System- Σύστημα Σχεδιασμού Θεραπείας

**PFTs.** Pulmonary functional tests- δοκιμές πνευμονικής λειτουργίας

**Parallel Model.** – Μοντέλο παραλληλότητας

**Relative Seriality Model.** – Μοντέλο σχετικής σειριακότητας

**TD<sub>50</sub>** - Η δόση που δίνει μια πιθανότητα απόκρισης 50%

**V<sub>eff</sub>.** - Ισοδύναμος όγκος

ANOVA

DOSE					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1647.307	4	411.827	177.599	.000
Within Groups	405.801	175	2.319		
Total	2053.108	179			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DOSE

Bonferroni

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	1.00					
	2.00	.3072	.35892	1.000	-.7133	1.3276
	3.00	-2.2325*	.35892	.000	-3.2529	-1.2120
	4.00	6.7113*	.35892	.000	5.6908	7.7317
	5.00	-.1099	.35892	1.000	-1.1303	.9106
2.00	1.00	-.3072	.35892	1.000	-1.3276	.7133
	2.00					
	3.00	-2.5396*	.35892	.000	-3.5601	-1.5192
	4.00	6.4041*	.35892	.000	5.3837	7.4246
	5.00	-.4170	.35892	1.000	-1.4375	.6034
3.00	1.00	2.2325*	.35892	.000	1.2120	3.2529
	2.00	2.5396*	.35892	.000	1.5192	3.5601
	3.00					
	4.00	8.9438*	.35892	.000	7.9233	9.9642
	5.00	2.1226*	.35892	.000	1.1022	3.1430
4.00	1.00	-6.7113*	.35892	.000	-7.7317	-5.6908
	2.00	-6.4041*	.35892	.000	-7.4246	-5.3837
	3.00	-8.9438*	.35892	.000	-9.9642	-7.9233
	4.00					
	5.00	-6.8212*	.35892	.000	-7.8416	-5.8007
5.00	1.00	.1099	.35892	1.000	-.9106	1.1303
	2.00	.4170	.35892	1.000	-.6034	1.4375
	3.00	-2.1226*	.35892	.000	-3.1430	-1.1022
	4.00	6.8212*	.35892	.000	5.8007	7.8416
	5.00					

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
NTCP	Between Groups	.001	4	.000	25.690	.000
	Within Groups	.002	175	.000		
	Total	.003	179			
DOSE	Between Groups	1647.307	4	411.827	177.599	.000
	Within Groups	405.801	175	2.319		
	Total	2053.108	179			

Oneway

Descriptives

NTCP						
	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
			Lower Bound	Upper Bound		
1.00	.004744612734	.000790768789	.0045294082	.00774010015	.000854242	.024969914
2.00	.004858321276	.000809720213	.0032690073	.00655664617	.000390145	.025796945
3.00	.000100268071	.000016711345	-.000013313	.00005453897	.000000000	.000601260
4.00	.000567629341	.000094604890	.0020339873	.00241810355	.001364220	.004158238
5.00	.001431565349	.000238594225	.0003036101	.00127235412	.000013957	.008157980
Total	.003879513563	.000289161868	.0022458396	.00338704900	.000000000	.025796945

ANOVA

NTCP						
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Between Groups	.001	4	.000	25.690	.000	
Within Groups	.002	175	.000			
Total	.003	179				

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: NTCP

Bonferroni

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	50% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	1.00					
	2.00	.00122192742	.000734062302	.978	-.00022682709	.00267068192
	3.00	.00611414103*	.000734062302	.000	.00466538652	.00756289554
	4.00	.00390870875*	.000734062302	.000	.00245995424	.00535746326
	5.00	.00534677208*	.000734062302	.000	.00389801757	.00679552659
2.00	1.00	-.0012219274	.000734062302	.978	-.00267068192	.00022682709
	2.00					
	3.00	.00489221361*	.000734062302	.000	.00344345911	.00634096812
	4.00	.00268678133*	.000734062302	.003	.00123802683	.00413553584
	5.00	.00412484466*	.000734062302	.000	.00267609015	.00557359917
3.00	1.00	-.0061141410*	.000734062302	.000	-.00756289554	-.004665387
	2.00	-.0048922136*	.000734062302	.000	-.00634096812	-.003443459
	3.00					
	4.00	-.0022054323*	.000734062302	.031	-.00365418679	-.000756678
	5.00	-.0007673690	.000734062302	1.000	-.00221612346	.00068138556
4.00	1.00	-.0039087088*	.000734062302	.000	-.00535746326	-.002459954
	2.00	-.0026867813*	.000734062302	.003	-.00413553584	-.001238027
	3.00	.00220543228*	.000734062302	.031	.00075667777	.00365418679
	4.00					
	5.00	.00143806333	.000734062302	.517	-.00001069118	.00288681784
5.00	1.00	-.0053467721*	.000734062302	.000	-.00679552659	-.003898018
	2.00	-.0041248447*	.000734062302	.000	-.00557359917	-.002676090
	3.00	.00076736895	.000734062302	1.000	-.00068138556	.00221612346
	4.00	-.0014380633	.000734062302	.517	-.00288681784	.00001069118
	5.00					

\*. The mean difference is significant at the .5 level.

Groups: 1=Relative Seriality Gagliardi data  
 2=Relative Seriality Seppenwoolde data  
 3=Relative Seriality Mah data  
 4=LKB  
 5=Parallel

Multiple Comparisons

Bonferroni							
Dependent Variable	(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
NTCP	1.00	1.00					
		2.00	.00122192742	*****	.978	-.000865059	*****
		3.00	.00611414103*	*****	.000	*****	*****
		4.00	.00390870875*	*****	.000	*****	*****
		5.00	.00534677208*	*****	.000	*****	*****
	2.00	1.00	-.0012219274	*****	.978	-.003308914	*****
		2.00					
		3.00	.00489221361*	*****	.000	*****	*****
		4.00	.00268678133*	*****	.003	*****	*****
		5.00	.00412484466*	*****	.000	*****	*****
	3.00	1.00	-.0061141410*	*****	.000	-.008201127	-.004027155
		2.00	-.0048922136*	*****	.000	-.006979200	-.002805227
		3.00					
		4.00	-.0022054323*	*****	.031	-.004292419	-.000118446
		5.00	-.0007673690	*****	1.000	-.002854355	*****
	4.00	1.00	-.0039087088*	*****	.000	-.005995695	-.001821723
		2.00	-.0026867813*	*****	.003	-.004773768	-.000599795
		3.00	.00220543228*	*****	.031	*****	*****
		4.00					
		5.00	.00143806333	*****	.517	-.000648923	*****
	5.00	1.00	-.0053467721*	*****	.000	-.007433758	-.003259786
		2.00	-.0041248447*	*****	.000	-.006211831	-.002037858
		3.00	.00076736895	*****	1.000	-.001319617	*****
		4.00	-.0014380633	*****	.517	-.003525050	*****
		5.00					
DOSE	1.00	1.00					
		2.00	.3072	.35892	1.000	-.7133	1.3276
		3.00	-2.2325*	.35892	.000	-3.2529	-1.2120
		4.00	6.7113*	.35892	.000	5.6908	7.7317
		5.00	-1.099	.35892	1.000	-1.1303	.9106
	2.00	1.00	-.3072	.35892	1.000	-1.3276	.7133
		2.00					
		3.00	-2.5396*	.35892	.000	-3.5601	-1.5192
		4.00	6.4041*	.35892	.000	5.3837	7.4246
		5.00	-.4170	.35892	1.000	-1.4375	.6034
	3.00	1.00	2.2325*	.35892	.000	1.2120	3.2529
		2.00	2.5396*	.35892	.000	1.5192	3.5601
		3.00					
		4.00	8.9438*	.35892	.000	7.9233	9.9642
		5.00	2.1226*	.35892	.000	1.1022	3.1430
	4.00	1.00	-6.7113*	.35892	.000	-7.7317	-5.6908
		2.00	-6.4041*	.35892	.000	-7.4246	-5.3837
		3.00	-8.9438*	.35892	.000	-9.9642	-7.9233
		4.00					
		5.00	-6.8212*	.35892	.000	-7.8416	-5.8007
	5.00	1.00	.1099	.35892	1.000	-.9106	1.1303
		2.00	.4170	.35892	1.000	-.6034	1.4375
		3.00	-2.1226*	.35892	.000	-3.1430	-1.1022
		4.00	6.8212*	.35892	.000	5.8007	7.8416
		5.00					

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

## Δοκιμές Πνευμονικής Λειτουργίας

---

Η μελέτη της αναπνοής γίνεται με την μέτρηση και την καταγραφή των μεταβολών των πιέσεων και των όγκων του αέρα στον θώρακα κατά τις διάφορες φάσεις της αναπνοής.

Η μεταβολή των πιέσεων στις αναπνευστικές κινήσεις ακολουθεί ορισμένους νόμους:

- ✓ Κάποιος όγκος αέρα εισέρχεται στους πνεύμονες, αν δημιουργηθεί διαφορά πίεσης μεταξύ ατμοσφαιρικού αέρα και του αέρα των πνευμονικών κυψελίδων (ενδοπνευμονική πίεση).
- ✓ Η μεταβολή της ενδοπνευμονικής πίεσης επιτυγχάνεται με την δράση των αναπνευστικών μυών στην φάση της εισπνοής.

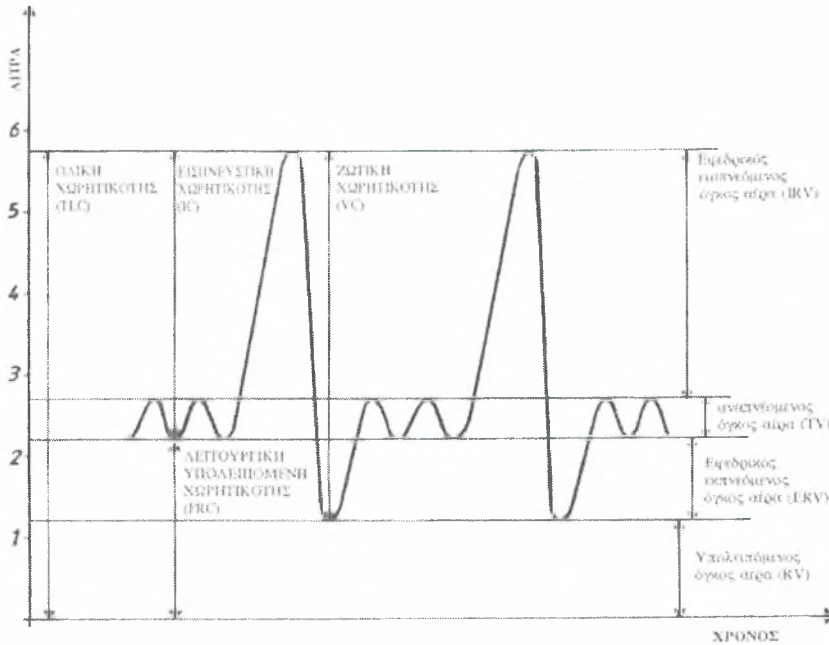
Στην εκπνοή πρέπει η ενδοπνευμονική πίεση να γίνει μεγαλύτερη από την ατμοσφαιρική για να μπορέσει κάποιος όγκος αέρα να βγει από τους πνεύμονες προς την ατμόσφαιρα.

Αν τοποθετείτο ένα μανόμετρο μεταξύ του θωρακικού τοιχώματος και των πνευμόνων (υπεζωκότας) θα ήταν εμφανές ότι η πίεση στην περιοχή αυτή (ενδοθωρακική πίεση) στην φάση της εκπνοής είναι μικρότερη από την ατμοσφαιρική ( $-3 \text{ cm H}_2\text{O}$ ).

Στην εισπνοή η ενδοθωρακική πίεση κατεβαίνει από  $-3 \text{ cm H}_2\text{O}$  στα  $-6 \text{ cm H}_2\text{O}$  και ανεβαίνει στην εκπνοή πάλι κατά  $3 \text{ cm H}_2\text{O}$  περίπου. Η ενδοπνευμονική πίεση, που στο τέλος της εισπνοής είναι ίση με την ατμοσφαιρική, στην εκπνοή ανεβαίνει κατά  $1,5 \text{ cm H}_2\text{O}$  ενώ στην εισπνοή κατεβαίνει κατά  $1,5 \text{ cm H}_2\text{O}$  σε σχέση με την ατμοσφαιρική. (Η τιμή της ατμοσφαιρικής θεωρείται  $0 \text{ cm H}_2\text{O}$ )

Οι επιμέρους όγκοι στους οποίους υποδιαιρείται ο συνολικός όγκος του αέρα των πνευμόνων είναι:

1. Αναπνεόμενος αέρας (TV): Όγκος αέρα που εισέρχεται στους πνεύμονες σε κάθε εισπνοή και είναι περίπου  $350 - 500 \text{ cm}^3$
2. Συμπληρωματικός αέρας (IRV): Ο όγκος του αέρα που εισέρχεται στους πνεύμονες μετά από την βαθύτερη δυνατή εισπνοή, πέραν του εισπνεόμενου αέρα και είναι  $1500 - 2000 \text{ cm}^3$ .
3. Εφεδρικός αέρας (ERV): Ο όγκος του εκπνεόμενου αέρα μετά από πλήρη βαθιά και εκούσια εκπνοή, πέραν του εκπνεόμενου αέρα και είναι περίπου  $1500 - 2000 \text{ cm}^3$ .
4. Υπολειπόμενος αέρας (RV): Ο όγκος του αέρα που παραμένει στους πνεύμονες και μετά από την δυνατή εκούσια εκπνοή και είναι περίπου  $1200 \text{ cm}^3$ .



**Σχήμα 1.4** Γραφική αναπαράσταση της χωρητικότητας των πνευμόνων.

Σε κατάσταση ηρεμίας ένας φυσιολογικός ενήλικας κάνει 16 – 18 αναπνοές το λεπτό και η ποσότητα αναπνεόμενου αέρα ανέρχεται στα 8 Lt. περίπου.

Η χωρητικότητα των πνευμόνων καθορίζεται με την βοήθεια των όγκων αέρα που προσλαμβάνουν οπότε :

1. Εισπνευστική χωρητικότητα (IC): Είναι το άθροισμα του αναπνεόμενου όγκου αέρα και του εφεδρικού εισπνεόμενου όγκου αέρα.
2. Λειτουργική υπολειπόμενη χωρητικότητα (FRC): Είναι το άθροισμα του εφεδρικού εκπνεόμενου όγκου και του υπολειπόμενου όγκου αέρα.
3. Ζωτική χωρητικότητα (VC): Είναι το άθροισμα του αναπνεόμενου όγκου αέρα, του εφεδρικού εισπνεόμενου όγκου αέρα και του εκπνεόμενου όγκου αέρα.
4. Ολική χωρητικότητα (TLC): Είναι το άθροισμα των τεσσάρων πνευμονικών όγκων αέρα που είναι στις μεν Γυναίκες 4,2 Lt. ενώ στους άνδρες 6 Lt.

Σχηματικά η όλη διαδικασία αναπαριστάται στο σχήμα 1.4.