

VÝZNAM CALIFORNIA-252 PRO ZLEPŠENÍ RADIOKURABILITY RAKOVINY HRDLA DĚLOŽNÍHO - DLOUHODOBÉ LÉČEBNÉ VÝSLEDKY

IMPORTANCE OF CALIFORNIUM-252 FOR A BETTER RADIO-CURABILITY OF CARCINOMA OF THE CERVIX UTERI: LONG-TIME TREATMENT RESULTS PRESENTED

TAČEV T., PTÁČKOVÁ B., STRNAD V., KOUKALOVÁ H., KRYŠTOF V., RAŠOVSKÁ O.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

Souhrn: Výhodiska: Při fotonové radioterapii cervikálního karcinomu, přes výrazný pokrok v technice radioterapie a quality assurance, nedochází k výraznějšímu zlepšení léčebných výsledků v důsledku rozdílné radiosenzitivity různých nádorových populací. Použití Californium-252, jako zdroj gama-neutronového záření v brachyterapii, vytváří předpoklady k překonání této rezistence. **Typ studie a soubor:** Od ledna 1985 do prosince 1992 bylo v randomizované studii léčeno 294 nemocných s cervikálním karcinomem, z nich 184 (81 II. a 103 III. st.) bylo intrakavitárně léčeno ^{252}Cf a 110 (50 II. st. a 60 III. st.) pouze zářením gama. Kritéria randomizace byly věk, stadium onemocnění, histologie a histopatologický grading. **Metody a výsledky:** U všech nemocných byla intrakavitárně aplikována stejná dávka 56 Gy - ekvivalentní, doplněna zevním ozářením dávkou 40 Gy. Souhrnná aplikovaná dávka byla v bodě A 85 Gy resp. 59 Gy v bodě B. U léčených ^{252}Cf byly tyto zdroje aplikovány v 1. týdnu léčby za použití uvedených schémat: u 23 nemocných byla aplikována pouze dávka 9 Gy (56 Gy-ekv) neutronové komponenty, u 117 a 44 nemocných byla aplikována dávka 6 Gy (40 Gy-ekv) resp. 2 Gy (16 Gy-ekv) neutronové komponenty doplněna zářením gama dávkou 16 resp. 40 Gy. RBE neutronové komponenty byla v hodnotě 6. U nemocných léčených pouze zářením gama byla intrakavitární dávka 56 Gy aplikována ve dvou frakcích. Výsledky 5-tiletého přežití jsou u léčených ^{252}Cf o 14,3 % (70,6 % vs. 56,3 %) ($p < 0,05$) lepší oproti konvenčnímu postupu léčby a zlepšují se s pokročilostí onemocnění, kde u IIb st. činí tento rozdíl 11,9 % (83,9 vs. 72,0 %) a u IIIb st. 16,9 % (60,2 % vs. 43,3 %) ($p < 0,05$). Lepší přežití u léčených ^{252}Cf je důsledkem signifikantního snížení výskytu recidiv v pánvi o 16,1 % (20,7 % vs. 31,8 %), které u IIIb st. činí až 24,7 % (20,3 % vs. 45 %). Použití ^{252}Cf v brachyterapii cervikálního karcinomu dále signifikantně snižuje výskyt časných postiradiačních proktitid a minimalizuje komplikaci léčby. **Závěry:** Použití ^{252}Cf v brachyterapii cervikálního karcinomu vytváří kvalitativně nové předpoklady pro signifikantní zlepšení léčebných výsledků a snížení vedlejších reakcí a komplikací léčby.

Klíčová slova: rakovina hrdla děložního - brachyterapie - 252-Californium - léčebné výsledky

Abstract: Backgrounds: When applying photon radiotherapy at the cervical carcinoma it has been stated that, in spite of an important progress in the radiotherapy technique and quality assurance, and consequently of different radiosensitivity in various tumorous populations, a pronounced progress of curative results has not been reached. The application of ^{252}Cf as a source of gamma-neutron radiation in brachytherapy creates certain presuppositions to overcome this resistency. **Design and Subjects:** Since January 1985 and till December 1992, 294 patients with a cervical carcinoma were, in a randomized study, cured out of which 184 (81 IIb. and 103 IIIb. grades) were treated intracavitarily ^{252}Cf and 110 (50 IIb. and 60 IIIb. grades) patients were treated by gamma radiation only. As criteria of randomized choice the patients' age, progress of illness, histology and histological grading were applied. **Methods and Results:** In all patients an equal dosis of 56 Gy-equivalent was intracavitarily applied, supported by external radiation of 40 Gy. The total applied dosis in point A was 85 Gy, or 59 Gy in point B, resp. In patients treated by ^{252}Cf these sources were applied in the first treatment week while using the following schemes: in 23 patients only a dosis of 9 Gy (56 Gy-eg) of the neutron component was applied, whereas in 117 and 44 patients a dosis of 6 Gy (40 Gy-eg) or 2 Gy (16 Gy-eg) of the neutron component were used, added by gamma radiation of 16 or 40 Gy, resp. RBE of the neutron component had the value 6. In patients treated by gamma radiation was the intracavitary dosis of 56 Gy applied in the two fraction. The results of 5-year survival scoring in ^{252}Cf patients are 14,3% (70,6% vs. 56,3%; $p < 0,05$) better when compared with a conventional treatment, and they are even better than that in more progressive grades of illness where in IIb. grade this difference makes 11,9% (83,9% vs. 72,0%), and IIIb grade making 16,9% (60,2% vs. 43,3%; $p < 0,05$). A better survival scoring in ^{252}Cf patients is the result of a significant decrease of relapse cases in the pelvis of 16,1% (20,7% vs. 31,8%), which in IIIb. gr. cases amounts to 24,7% (20,3% vs. 45,0%). The ^{252}Cf application in the brachytherapy of cervical carcinoma significantly reduces the early postirradiation proctitides and minimizes treatment risks. **Conclusions:** The ^{252}Cf application in the brachytherapy of cervical carcinoma creates totally new quality prerequisites for significantly better treatment results and a lowering of side effect and treatment complications.

Key words: carcinoma of the cervix uteri, brachytherapy, 252-Californium, treatment results

Radioterapie má u rakoviny čípku děložního dominantní postavení, protože umožňuje u nemocných s pokročilým, již inoperabilním nádorem, relativně vysoké léčebné přežití. Dosažované léčebné výsledky jsou důsledkem kombinovaného postupu radioterapie umožňující aplikaci vysoce tumorocidní dávky ozáření v oblasti primárního nádoru a spádového lymfatického řečiště.

Výrazný pokrok v technice ozáření a quality assurance za uplynulých třicet let nezpůsobil významné zlepšení léčebných výsledků. Stagnace radiokurability cervikálního karcinomu, v podmínkách konvenční fotonové terapie je nutně vidět v příčinné souvislosti s charakteristickou interakcí fotonů s buněčnými elementy nádorů. Následné biologické změny, podmiňující smrt nádorových buněk, nejsou důsledkem

přímé interakce, ale vznikají zprostředkovaně prostřednictvím četných faktorů a jeví na buněčné a tkáňové úrovni. Největší vliv má zde stav oxigenace nádorové tkáně, faktory buněčné kinetiky, včetně schopnosti reparace radičního poškození a dalších inherentních vlivů, které ve svém souhrnu podmiňují rozdíly v radiosenzitivitě buněk různých nádorových populací (24).

Rezistenci nádorů, v podmínkách fotonové terapie, je možné překonat léčbou zářením s vysokým LET (lineární přenos energie), jako jsou např. neutrony, nebo použitím modifikátorů radičního efektu. Použití neutronů k zevnímu ozařování je stále problematické, ekonomicky náročné s potenciálně větším nebezpečím pozdního poškození zdravých tkání.

V roce 1950 byl objeven prvek 244- Californium (36) a posléze v roce 1956 jeho nuklid 252- Californium (5), zdroj záření alfa, při jehož spontánním rozpadu dochází k emisi neutronů a doprovodného záření beta a gama. Při střední energii spektra neutronů v intervalu 2,10 - 2,37 MeV je jejich měrná emise $2,3 \cdot 10^{12} \text{ s}^{-1} \text{ g}^{-1}$, tedy dostatečně vysoká pro použití v brachyterapii nádorů.

Záhy po objevení nového zdroje vznikla představa o jeho použití v brachyterapii nádorů, která se stala podnětem k předběžným pokusným aplikacím ^{252}Cf u vybraných nádorových lokalizací. Vzhledem k neúplnosti poznatků o fyzikální a biologické podstatě zdroje byly dosaženy značně rozpačité výsledky (1,3,25,26,38,41). Soustavný klinický výzkum byl zahájen až v sedmdesátých letech a to na Lexingtonske University v USA při léčbě pokročilého nádoru hrdla děložního a ve Výzkumném radiologickém centru v Obninsku, Rusko u nádorů dutiny ústní. Již první dlouhodobé léčebné výsledky u cervikálního karcinomu potvrdily, že v kombinované léčbě se zářením gama dochází k významnějšímu zlepšení léčebných výsledků pouze za předpokladu aplikace gama-neutronového záření ^{252}Cf v iniciační fázi léčebného cyklu (16, 19).

Tyto výsledky se v roce 1985 staly východiskem k vybudování experimentálního pracoviště pro neutronovou brachyterapii (27) na radioterapeutickém oddělení Masarykova onkologického ústavu v Brně. Výzkumný program byl zaměřen na použití ^{252}Cf v brachyterapii rakoviny čípku děložního. Kromě klinicko-experimentální studie, zaměřené k optimalizaci léčebných postupů (29), součástí programu byla klinická studie porovnání léčebného efektu ^{252}Cf a pouze záření gama v brachyterapii cervikálního karcinomu za aplikace stejné Gy-ekvivalentní dávky. Zde uvádíme dlouholeté léčebné výsledky.

Materiál a metodika

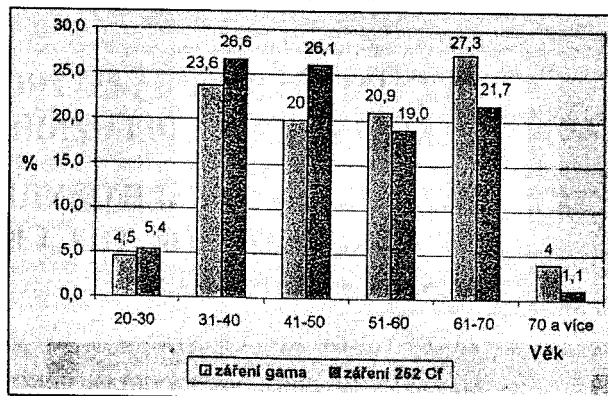
Od ledna 1985 do prosince 1992 bylo léčeno 294 nemocných s pokročilým nádorem hrdla děložního, z nich 184 (81 IIb st. a 103 IIIb st.) bylo léčeno intrakavitárně zdroji ^{252}Cf a 110 (50 IIb st. a 60 IIIb st.) pouze zdroji záření gama. Stadium pokročilosti onemocnění bylo stanovováno dle klasifikačního systému FIGO.

K vyloučení vlivu možných subjektivních chyb bylo vyšetření, léčba a dlouhodobé sledování nemocných prováděno stejným kolektivem lékařů. Kritéria randomizace nemocných do skupin byly následující: stadium pokročilosti onemocnění, věk v době zahájení léčby, histologie a histopatologický grading. Při zařazování nemocných do skupin byla uvedena kritéria zohledněna tak, aby nevznikly u porovnávaných souborů signifikantní rozdíly v zastoupení jednotlivých parametrů. Graf 1. uvádí věkové rozložení nemocných v porovnávaných souborech a tab. 1. a 2. histologickou strukturu a histopatologický grading.

Při intrakavitární léčbě zdroji ^{252}Cf jsme vycházeli z empirického zjištění Maruyamy, že pouze aplikace v iniciační fázi léčebného cyklu způsobuje zlepšení léčebných výsledků (16). Vycházeli jsme také z výsledků naší optimalizační studie (31,32,33).

K přepočtu fyzikální dávky ^{252}Cf v Gy-ekvivalentní byla použita rovnice

Graf 1. Věkové rozložení nemocných (%)



Tab. 1. Rozložení nemocných v souborech podle histologie

	ca spinocellulare	adeno-ca
léčené pouze záření gama		
stadium IIb (n=50)	48 96 %	2 4 %
stadium IIIb (n=60)	56 93 %	4 6 %
celkem (n=110)	104 94 %	6 5 %
léčené ^{252}Cf		
stadium IIb (n=81)	77 95 %	4 5 %
stadium IIIb (n=103)	92 89 %	11 10 %
celkem (n=184)	169 92 %	15 8 %

Tab. 2. Rozložení nemocných v souborech podle histopatologického gradingu

	G1	G2	G3	G4	nezjištěno
záření gama					
stadium IIb (n=50)	4 8,0 %	13 26,0 %	20 40,0 %	5 10,0 %	8 16,0 %
stadium IIIb (n=60)	3 5,0 %	15 25,0 %	25 41,7 %	9 15,0 %	8 13,3 %
celkem (n=110)	7 6,4 %	28 25,5 %	45 40,9 %	14 12,7 %	16 14,5 %
záření ^{252}Cf					
stadium IIb (n=81)	8 9,9 %	22 27,2 %	40 49,4 %	4 4,9 %	7 8,6 %
stadium IIIb (n=103)	5 4,9 %	22 21,4 %	53 51,5 %	13 12,6 %	10 9,7 %
celkem (n=184)	13 7,1 %	44 23,9 %	93 50,5 %	17 9,2 %	17 9,2 %

$$D (\text{Gy-ekv}) = D_n \cdot \text{RBE}_n + D_\gamma \cdot \text{RBE}_\gamma$$

kde

D_n - dávka neutronové komponenty ^{252}Cf

D_γ - dávka gama komponenty ^{252}Cf

RBE_n - relativní biologický efekt neutronů

RBE_γ - relativní biologický efekt záření gama

RBE neutronové komponenty ^{252}Cf pro spinocelulární karcinom byla uvažována v hodnotě 6 (6, 16, 19).

U obou porovnávaných souborů byly použity k brachyterapii zdroje LDR a byla aplikována v paracervikálním prostoru (bod A) stejná 56 Gy-eq dávka.

U nemocných léčených intrakavitárně ^{252}Cf byla použita tři různá schémata ozaření:

- u 23 nemocných (7 st.IIb + 16 IIIb st.) byla aplikována plná dávka 9 Gy neutronové komponenty ^{252}Cf (56 Gy-ekv) v 1. týdnu léčby,
- u 117 nemocných (51 st.IIb + 66 IIIb st.) byla aplikována dávka 6 Gy neutronové komponenty ^{252}Cf (40 Gy-ekv) v 1. týdnu léčby a doplněna v 5. týdnu léčby dávkou 16 Gy záření gama,
- u 44 nemocných (23 st.IIb + 21 IIIb st.) byla aplikována dávka 2 Gy neutronové komponenty ^{252}Cf (16 Gy-ekv) v 1. týdnu léčby a doplněna ve 3. týdnu léčby dávkou 40 Gy záření gama.

V kontrolní skupině nemocných byla aplikována v paracervikálním prostoru dávka 56 Gy, rozdělena do dvou frakcí aplikovaných ve 3. a 5. týdnu. Ozáření bylo provedeno zdroji ^{226}Ra a ^{137}Cs .

K zevnímu ozáření byl použit brzdný svazek lineárního urychlovače s energií spektra fotonů 20 MeV. U nemocných s pozitivním lyfografickým nebo CT obrazem metastáz v regionálních a juxta-regionálních lymfatických uzlinách bylo pole ozáření prodlouženo až do výše Th-12. Aplikovaná dávka byla 40 Gy, rozdělena v oblasti malé pánve po 20 Gy v plném a děleném poli.

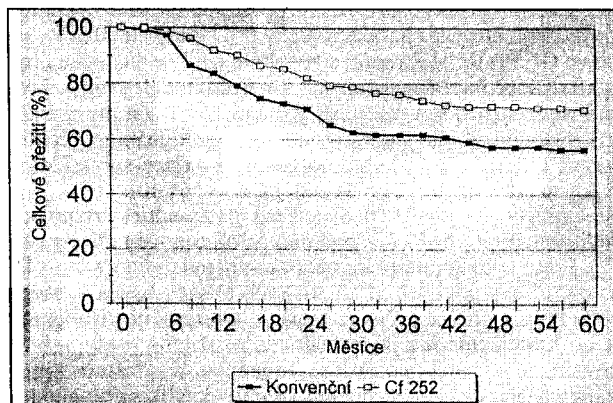
U nemocných všech skupin, byla v průběhu léčebného cyklu aplikována v bodě A souhrnná ložisková dávka 85 Gy-ekv a 59 Gy-ekv v bodě B. K statistickému porovnání výsledků byl použit Fischerův test.

Výsledky

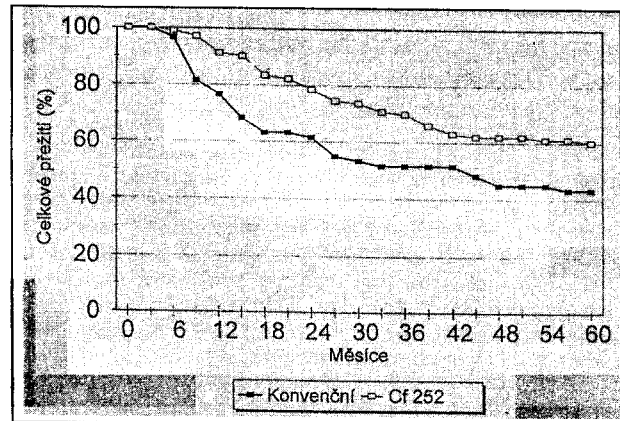
Graf 2 uvádí souhrnné porovnání léčebných výsledků. U nemocných léčených ^{252}Cf je celkové přežití vyšší o 14,3 % (70,6 % vs. 56,3 %) ($p < 0,05$) v porovnání s přežitím u nemocných léčených pouze zářením gama. Při porovnání léčebných výsledků dle stadia pokročilosti onemocnění je u IIIb stupně choroby (graf 3) přežití u nemocných léčených ^{252}Cf vyšší o 16,9 % (60,2 % vs. 43,3 %) ($p < 0,05$), přičemž u stadia IIb (graf 4), činí tento rozdíl pouze 11,9 % (83,9 % vs. 72,0 %) a není statisticky významný.

Tab. 3 uvádí příčiny neúspěchu léčby, jejichž analýza ukazuje, že dochází u nemocných léčených pouze zářením gama k prevalenci recidiv nádorového procesu v pánvi (35/110, 31,8 %), jejich počet stoupá s pokročilostí onemocnění (IIIst. 27/60, 45 %). U nemocných léčených ^{252}Cf je procentuální výskyt recidiv v pánvi 15,7 % (29/184) a je tedy o 16,1 % (15,7 % vs. 31,8 %) ($p < 0,05$) nižší proti léčeným pouze zářením gama a tento rozdíl se zvyrazňuje s pokročilostí onemocnění. U III st. onemocnění je u léčených ^{252}Cf výskyt lokálních recidiv 21/103 (20,3 %) a je tedy sníženo 24,7 % (20,3 % vs. 45 %) ($p < 0,05$) v porovnání s nemocnými léčenými konvenčním postupem. Průměrný procentuální výskyt vzdálených metastáz je u porovnávaných souborů vyrovnaný (10,8 % vs. 9,1 %), avšak jejich počet stoupá s pokročilostí onemocnění a činí u nemocných IIIb st. léčených ^{252}Cf 14,5 % oproti 6,6 % u léče-

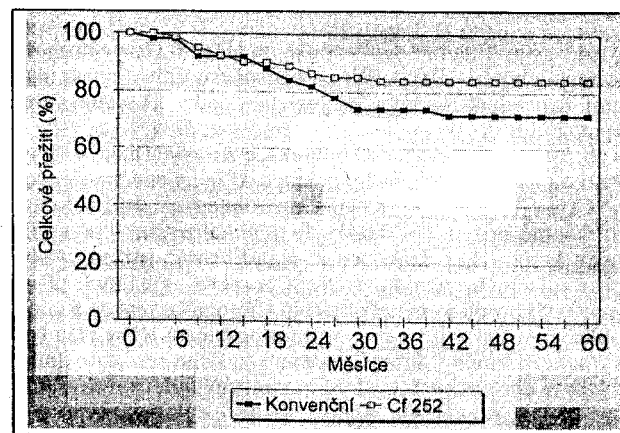
Graf 2. Stadium IIb + IIIb. Porovnání léčebných výsledků



Graf 3. Stadium IIIb. Porovnání léčebných výsledků



Graf 4. Stadium IIb. Porovnání léčebných výsledků



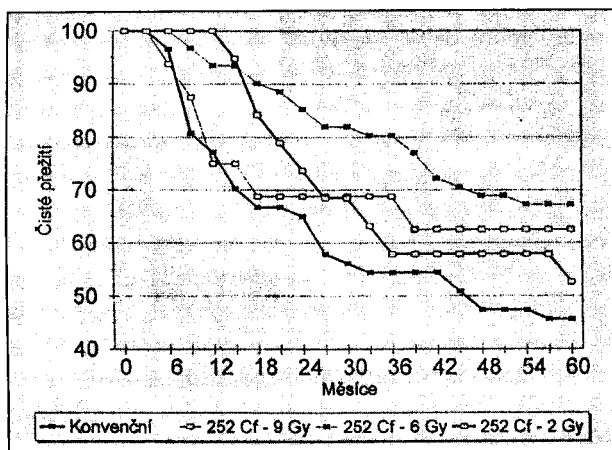
Tab. 3. Příčiny úmrtí dle způsobu léčby a pokročilosti onemocnění

	stadium IIb	stadium IIIb	celkem
	(n = 50)	záření gama (n = 60)	
recidivy v malé pánvi	8 16,0 %	27 45,0 %	35 31,8 %
vzdálené metastázy	6 12,0 %	4 6,7 %	10 9,1 %
jiná příčina	0 0,0 %	3 5,0 %	3 2,7 %
	záření 252 Cf		
	(n = 81)	(n = 103)	(n = 184)
recidivy v malé pánvi	8 9,9 %	21 20,4 %	29 15,8 %
vzdálené metastázy	5 6,2 %	15 14,6 %	20 10,9 %
jiná příčina	0 0,0 %	5 4,9 %	5 2,7 %

ných pouze fotonovým zářením. U nemocných s nádorem IIb st. pokročilosti onemocnění je výskyt lokálních recidiv a metastáz u léčených ^{252}Cf procentuálně nižší v porovnání s konvenčním postupem léčby, avšak tyto rozdíly nejsou statisticky významné.

Graf 5 porovnává léčebné výsledky u nemocných IIIb st. stadia pokročilosti onemocnění v závislosti na aplikované dávce neutronové komponenty ^{252}Cf . Nejvyšší přežití je ve skupině nemocných léčených dávkou 6 Gy (67,2 %). U nemocných léčených dávkou 9 Gy přežívá 62,5 %, je tedy nižší a u léčených dávkou 2 Gy neutronové komponenty je 52,6 %. V porovnání s konvenčním postupem léčby zářením gama jsou tyto

Graf 5. Stadium IIIb. Porovnání léčebných výsledků podle podílu dávky neutronové komponenty 252-Cf.



rozdíly signifikantně lepší pouze po léčbě 6 Gy neutronové komponenty ($p < 0,05$). Příčiny neúspěchu léčby (tab. 4) ukazují, že uvedené rozdíly v léčebných výsledcích korelují s procentuálním výskytem lokálních recidiv v pánvi.

Tab. 5 porovnává reakce a komplikace zdravých tkání v závislosti na použitém léčebném postupu. U nemocných léčených ^{252}Cf je výskyt časných reakcí v gastrointestinálním traktu signifikantně snížen ($p < 0,001$). Je minimalizován výskyt vážných komplikací. Dokonce je signifikantně snížen výskyt postradiačních slizničních vředů a rektovaginálních píštěl ($p < 0,05$) oproti konvenční léčbě. Urologické reakce a komplikace v porovnání s konvenčním postupem léčby jsou bez výraznější změny, kromě poněkud vyššího procentuálního výskytu chronických cystitid u nemocných léčených ^{252}Cf .

Tab. 4. Příčiny úmrtí u nemocných IIIb st. onemocnění v závislosti na dávce neutronové komponenty 252-Cf.

	$^{252}\text{Cf} - 2 \text{ Gy}$ n=19	$^{252}\text{Cf} - 6 \text{ Gy}$ n=61	$^{252}\text{Cf} - 9 \text{ Gy}$ n=16
recidivy v malé pánvi	7 37 %	10 16 %	4 25 %
vzdálené metastázy	2 11 %	10 16 %	2 13 %

Tab. 5. Reakce a komplikace podle způsobu léčby

	GASTROINTESTINÁLNÍ				
	akutní proktitida	chronická proktitida	ulcus rektální	píštěl rektovaginál.	operace střeva
záření gama (n = 110)	50 45,5 %	9 8,2 %	6 5,5 %	5 4,5 %	0 0,0 %
záření 252 Cf (n = 184)	32 17,4 %	6 3,3 %	1 0,5 %	1 0,5 %	2 1,1 %
	UROLOGICKÉ				
	akutní cystitida	chronická cystitida	ulcus vesikální	píštěl vesikovagin.	operace ureteru
záření gama (n = 110)	9 8,2 %	7 6,4 %	4 3,6 %	0 0,0 %	0 0,0 %
záření 252 Cf (n = 184)	13 7,1 %	17 9,2 %	6 3,3 %	0 0,0 %	1 0,5 %

Diskuse

Porovnání léčebných výsledků ukazuje, že použití zdrojů ^{252}Cf v brachyterapii pokročilého nádoru čípku děložního signifikantně zlepšuje léčebné výsledky. Příčina vyšší kurability cervikálního karcinomu, jak ukazuje analýza příčin neúspěchu léčby, je důsledkem snížení lokálních recidiv v pánvi, tedy

v místech bezprostřední interakce neutronů s buněčnými elementy nádoru. Je zřejmé, že neutronová komponenta ^{252}Cf vytváří předpoklady k inaktivaci té části buněčné populace nádoru, která zůstává rezistentní na záření gama. K pochopení příčinných souvislostí podmiňující efekt ozáření s rozdílným lineárním přenosem energie (LET) je nutné porovnat některé biologické děje na buněčné a tkáňové úrovni.

V podmínkách brachyterapie nádorů je biologický efekt gamma-neutronového záření ^{252}Cf způsoben převážně neutrony, i když jejich komponenta tvoří pouze 60 % spektra záření zdroje. Tento fenomén je podmíněn vzrůstem hodnoty RBE neutronů v důsledku rychlého poklesu dávkového příkonu na vzdálenost již několika málo centimetrů. Tím dochází v souhrnném biologickém efektu k výraznému převýšení významu záření gama (10).

Vycházíme-li z podmínek námi použitého postupu intrakavitární léčby je prolongovaný charakter ozáření důležitým radiobiologickým faktorem při brachyterapii zářením gama. Při gama ozáření s nízkým dávkovým příkonem vzrůstá veličina střední letální dávky. Jde o efekt charakteristický pro buňky proliferující ve všech stadiích buněčného cyklu dělení, včetně ve stavu stacionárním, jehož základem je reparace subletálně poškozených buněk během ozáření. Při dostatečně dlouhé prolongaci ozáření s nízkým dávkovým příkonem se mění charakteristický tvar křivky „dávka-efekt“ ze tvaru S na křivku exponenciální (4, 11, 40). Dochází tedy v podmínkách prolongovaného ozáření k reparaci většinou subletálně poškozených buněk a letální buněčné efekty jsou pak důsledkem přímých zásahů při interakci (4, 13) podobně jako při záření s vysokým LET.

Základní údaje o biologickém efektu ^{252}Cf na buněčné úrovni pochází z výzkumu Pucka a Mercuse (23), na jejichž výsledky navazují práce Luckhardta a Elkinda (15). Ukazuje se, že v podmínkách záření s vysokým LET prakticky již neexistuje ta část křivky biologického efektu ozáření, která je podmíněna reparací subletálních poškození. Do popředí vystupují letální efekty způsobené jednorázovým zásahem neutronové komponenty. Výsledná křivka je ve tvaru exponenciální. Proto při léčbě nádorů zářením ^{252}Cf mizí význam prolongace pro výsledný biologický efekt. Konstantnost efektivity záření ^{252}Cf v širokém rozsahu změn dávkového příkonu je důležitá z hlediska možnosti léčby standardními dávkami (39).

Rozdílná radiosenzitivita buněk v závislosti na cyklu dělení je charakteristická v podmínkách fotonového ozáření. Nejradioresistentnější jsou buňky v pozdní S fázi a počátku G₂ fázi a nejradioresenzitivnější v G₂ fázi a ve stavu mitozy. U záření s vysokým LET je výrazně snížena závislost radiosenzitivity buněk na fázi cyklu buněčného dělení i když zcela nevymizí (8).

Důležitým fenoménem účinku záření s vysokým LET je úbytek reparačních dějů v buněčných systémech v porovnání se zářením s nízkým LET, kde dochází ke třem typům reparačních procesů na buněčné úrovni - reparace subletálních poškození, reparace potenciálně letálních poškození a reparace neobnovujících se a pomalu obnovujících se buněčných systémů (2). Zvláštní pozornost zasluhuje proces potenciálně letálních poškození, který je charakteristický pro klonogenní buňky ve stavu G₀. Při léčbě zářením s vysokým LET, v důsledku charakteristické interakce neutronů s buněčnými elementy, kromě usmrcení nádorových buněk jednorázovými zásahy, dochází k uvolnění většího množství energie, v porovnání se zářením gama, což má za následek potlačení reparace subletálních a potenciálně letálních poškození buněk (16, 40).

Stav oxigenace tkáně během ozáření má zásadní význam pro radiosenzitivitu nádorů v podmínkách fotonové radioterapie (7). Proto je radiokurabilita nádorů výrazně ovlivňována přítomností hypoxických až anoxických ložisek buněk v nádorové tkáni, jejichž počet se zvyšuje s pokročilostí onemocnění. Vycházíme-li z podmínek zde použitého postupu brachyterapie je nutné podotknout, že jednou se zvláštností prolongovaného ozáření je snížení veličiny kyslíkového efektu.

Snížení dávkového příkonu u záření gama z 4,3 Gy/min na 0,5Gy/hod vyvolává pokles veličiny kyslíkového efektu z 3,3 na 2,0 (12). Pro rychlé neutrony v širokém spektru změny energií je hodnota kyslíkového efektu kolem 1,7. U neutronové komponenty ^{252}Cf je průměrná hodnota kyslíkového efektu 1,4, která je zatím nejnižší dosaženou hodnotou kyslíkového efektu v radioterapii.

Biologický efekt záření neutronů je obecně vyjadřován pojmem RBE (relativní biologická účinnost), který představuje hodnotu poměru dávky fotonů a neutronů potřebné k vyvolání kvantitativně stejného efektu. Pro gama-neutronové záření ^{252}Cf je hodnota RBE v rozsahu 3 - 8(9, 17). V případě prodlouženého ozáření, jak bylo použito v našem souboru, činí tato hodnota 6 (6, 16, 19).

Další zvláštnosti gama-neutronového záření ^{252}Cf je výraznější narušení schopnosti stromatu nádoru podporovat růst nádorových buněk. Tím vznikají lepší předpoklady k inaktivaci nádorů s větším počtem frakcí hypoxických buněk, výraznější schopnost reparace atd.

Kurativní radioterapie cervikálního karcinomu je kombinovaný proces ozáření, kde v průběhu léčebného cyklu se vzájemně doplňují prodloužené intrakavitární se zevním frakcionovaným ozářením. Použitím gama-neutronového záření ^{252}Cf v intrakavitární léčbě je tento proces dále ovlivňován kvalitativně odlišným účinkem záření s vysokým LET. Složitost problému potvrdily již první klinické zkušenosti Maruyamy (19). Charakteristické zde bylo, že intrakavitární aplikace zdrojů ^{252}Cf byla ve vztahu k zevnímu fotonovému ozáření ve dvou rozdílných časových sledech - v iniciální fázi resp. v konečné fázi léčby. Bylo zjištěno, že při aplikaci zdrojů ^{252}Cf v iniciální fázi léčebného cyklu jsou léčebné výsledky signifikantně lepší v porovnání s konvenčním postupem léčby, zatímco u nemocných ozářených ^{252}Cf v konečné fázi léčebného cyklu byly tyto výsledky ekvivalentní s konvenčním postupem léčby. Při interpretaci příčin rozdílných léčebných výsledků Maruyama vyslovil hypotézu o senzibilizujícím vlivu případné reoxigenace přežívající nádorové tkáně po předchozím ozáření ^{252}Cf v iniciální fázi léčby. Vycházel z předpokladu, že v důsledku interakce neutronů s nádorem již v 1. týdnu léčby je inaktivován značný počet nádorových buněk, včetně buněk hypoxických. V důsledku toho dochází k uvolnění tlaku na cévním řečišti, jeho rozvinutí a zvýšení pO_2 nádorové tkáně (14).

Maruyamova reoxigenační hypotéza se nám stala podnětem k rozvaze o možné optimalizaci terapeutického efektu intrakavitární léčby, vhodnou kombinací záření ^{252}Cf se zářením gama, které by bylo aplikováno jako boost v době maximální reoxigenace nádorové tkáně (29,31,32,33). V klinickém experimentu, za použití speciálních metodik sledování dynamiky změn v procesech reoxigenace a regrese v průběhu léčebného cyklu se zdroji ^{252}Cf (31,32), jsme získali nové poznatky o některých patofyziologických procesech na buněčné a tkáňové úrovni (31, 32,33). Polarograficky bylo zjištěno, že v průběhu léčby pouze zářením gama nedochází k žádným signifikantním změnám v pO_2 nádorové tkáně, pokud u nádorů léčených ^{252}Cf dávkou 2, 6 a 9 Gy neutronové komponenty zdroje, vždy aplikované v iniciální fázi léčby, byly tyto změny výrazně signifikantní. Dále bylo zjištěno, že reoxigenační schopnost nádorů je nepřímo úměrná hodnotě aplikované dávky neutronů. Nejvýraznější je u nádorů ozářených malou a střední dávkou (2 a 6 Gy) neutronů, pokud po ozáření vyšší dávkou (9 Gy) je reoxigenační schopnost tkání výrazně zpomalena.

V průběhu sledování změn dynamiky regrese nádorové tkáně během léčebného cyklu bylo zjištěno, že již dávka 2 Gy neutronové komponenty ^{252}Cf způsobuje oproti záření gama signifikantní zrychlení doby nutné k 50% regresi nádorové tkáně. Nejrychlejší je regrese nádoru po ozáření dávkou 6 Gy neutronové komponenty. U nádorů ozářených dávkou 9 Gy má regresní křivka již odlišný průběh. Po ozáření dochází k pře-

chodnému zvětšení objemu nádoru s následnou rychlou regresi až v závěrečné fázi léčby.

Dále se ukazuje, že tyto procesy jsou ovlivňovány objemem ozářované nádorové leze. U nádorů menšího objemu jsou signifikantně rychlejší v porovnání s nádory většího objemu. Uvedené rozdíly jsou zřejmě důsledkem korelace mezi počtem nádorových buněk, tedy objemu ozářovaného nádoru, a realizovanými interakcemi s neutrony, dané hodnotou aplikované dávky neutronové komponenty zdroje. Podobnou signifikantní závislost jsme nepozorovali u nádorů léčených pouze fotonovým zářením. Musíme zde podotknout, že uvedené změny v dynamice procesů oxygenace a regrese nádorů v průběhu léčebného cyklu mohou být kromě dávky ozáření neutronové komponenty ^{252}Cf , dále ovlivňovány výchozím stavem a následným postiradiačním poškozením stromálních elementů nádoru a to především kapilárního řečiště.

Korelace mezi uvedenými fenomény, jako odraz změn v nádorové tkáni po interakci s různě velkými dávkami neutronové komponenty ^{252}Cf a léčebnými výsledky byla zjištěna již v předběžném hodnocení léčebných výsledků (33). Zde uváděné dlouhodobé léčebné výsledky (graf 5) a jejich analýza z hlediska příčiny neúspěchu léčby (tab. 4) jsou potvrzením vztahu mezi dávkou neutronové komponenty, dosaženou reoxigenací a regresi nádorové populace. Jsou důležité pro klinickou praxi z hlediska možnosti optimalizace léčebných postupů.

Maruyamou předpokládaný význam procesu reoxigenace po ozáření nádorové tkáně ^{252}Cf v iniciální fázi léčby může být jedním z faktorů ovlivňujících léčebné výsledky. Jistým důkazem je skutečnost, že již dávka 2 Gy neutronové komponenty zlepšuje léčebné výsledky o cca 8 % i když její podíl tvoří pouze 16 % z celkové aplikované dávky během léčebného cyklu. Dnes je již potvrzeno, že kromě zonální heterogenity produkované faktory mikroprostředí jako hypoxie, vnitřní genetická heterogenita kmenové buňky nádorové populace podmiňuje rychlost jejího růstu včetně reparace subletálních a potenciálně letálních poškození buněk, tedy faktory se vztahem k determinaci odpovědi nádoru na léčbu. (43). I když tyto faktory ovlivňují radioseznitivitu nádorových buněk v podmínkách fotonové terapie, nelze vyloučit jejich vztah k léčebným výsledkům kombinovaného postupu léčby ^{252}Cf s frakcionovaným fotonovým ozářením.

V této souvislosti se Yaest (44) pokouší na matematickém modelu vysvětlit příčiny fenoménu časné a pozdní aplikace ^{252}Cf ve vztahu k fotonovému frakcionovanému ozáření během léčebného cyklu. Vychází z předpokladu, že nádor má dva typy buněk predominantní buňky radiosensitivní a malý počet douby rezistentních (DR), které vznikají mutací senzitivních buněk. Jsou vysoce radiorezistentní na záření gama, protože mají schopnost reparovat subletální a potenciálně letální poškození DNA a vyznačují se krátkým generačním cyklem buněčného dělení. Na základě matematického modelu Yaest dokazuje větší efektivitu léčby při časné aplikaci neutronových zdrojů (44).

Výsledky klinického výzkumu použití ^{252}Cf v brachyterapii zhoubných novotvarů ukazují, že jde o kvalitativně novou, vysoce efektivní léčebnou metodu, s poněkud odlišnou filosofii v léčebném přístupu při kombinované léčbě se zářením gama, schopnou překonat rezistenci nádorové populace na konvenční fotonové ozáření. Důkazem toho jsou uvedené léčebné výsledky u nemocných s pokročilým nádorem hrdla děložního, které jsou ve shodě s léčebnými výsledky publikovanými jinými autory (21, 22). Zlepšení léčebných výsledků je následkem zvýšení radiokurability primární nádorové leze, tedy místa bezprostřední interakce převážné části neutronů s buněčnými elementy nádoru. Bezprostřední interakce převážné části neutronů s nádorem a s přihlédnutím k rozdílným hodnotám v RBE zdravé a nádorové tkáně je také signifikantně snížen výskyt postiradiačních změn ve zdravé tkáni.

Současný stav výzkumu a klinického využití California-252

v brachyterapii nádorů byl zhodnocen na workshopu „Californium-252 Isotope for 21st Century Radiotherapy“, konaného v Detroitu, USA, v roce 1996 (42). Bylo konstatováno, že jsou dosaženy fyzikálně-dozimetrické a klinické předpoklady k zavedení zdrojů ²⁵²Cf do klinické praxe. Nedořešena zůstává komerční výroba afterloadingového systému při použití zdrojů ²⁵²Cf střední a vyšší aktivity. Jeho výroba s při-

hlédnutím k charakteru interakce neutronů vyžaduje kvalitativně odlišný přístup při zajištění ochrany a bezpečnosti práce personálu a nemocných v průběhu léčby. V současné době je z našeho podnětu realizován koncepční návrh výroby afterloadingového systému zdrojů ²⁵²Cf, čímž budou vytvořeny požadované předpoklady k zpřístupnění brachyterapie nádorů Californiem-252 v širší klinické praxi.

Literatura

- Berry, R. J., Pain, Ch., Wiernik, G., Stedeford, J. B. H., Baker, C., Weatherburn, H., Young C. M. A.: Clinical experience with californium-252: Brachytherapy at aoxford, in: Californium-252: radiobiology and medical applications, Proceedings of the Brussels symposium on californium-252 utilisation, April 1976, Mewissen, D. J.(ed.), El Dupont-de Nemours and Co: aiken, South Carolina, 1979, 65-75.
- Bedford, J. S., Hall, E. G.: Survival of He-La cells cultured in vitro and exposed to protracted gamma radiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 7, 1963, 377-380.
- Castro, J. R., Oliver, G. D., Withers, H. R., Almond, P. R.: Experience with Californium-252 in clinical radiotherapy. *Amer. J. Roenthenol.*, 117, 1973, 182-194.
- Elkind, M. M., Whitmore, G. F.: The radiobiology of cultured mammalian cells. Gordon and Beach Sci. publ., New York - London, 1967.
- Fields, P. R.: Transplutonium elements in thermonuclear test debris. *Phys.Rev.*, 102, 1956, 180.
- Feola, J. M., Nava, C. A., Maruyama, Y.: Biological effects of ²⁵²Cf neutrons at low dose rate. *Int. J. Radiat. Biol.*, 41, 1982, 33-46.
- Gray, L. H., Conger, A. D., Ebert, M., Hornsey, B., Scott, O. C. A.: The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. *Brit. J. Radiol.*, 25, 1953, 638-648.
- Gragg, R. L., Huphrey, P. M., Thames, H. D. Jr., Meyn, R. E.: The response of Chinese hamster ovary cells to fast neutron radiotherapy beams. III. Variation in relative biological effectiveness with position in the cell cycle. *Radiat. Res.* 76, 1978, 283-289.
- Hall, E. J., Rossi, H. H., Roizin, L.: Low-dose-irradiation of mammalian cells with radium and californium-252. *Radiology*, 102, 1971, 445-451.
- Hall, E. J.: A comparison of radium and californium-252 using cultured mammalian cells. *Radiology*, 102, 1972, 173-179.
- Hall, E. J.: Radiobiology for the radiologist (2 Ed.). N.Y.-Evanson-San Francisco-London: Med. Dept. Harper a. Row. Publ. Hagerstown, 1982.
- Hall, E. J., Roizin-Towle, L. A., Colvett, R. D.: RBE and OER determination for radium and californium-252. *Radiology*, 110, 1974, 699-701.
- Jarmonenko, S. P., Vajinson, A. A., Kalendo, G. S., et al.: Biologičeskije osnovy lučevoj terapij opucholey. Moskva, Medicina, 1976.
- Kallman, R. F.: The phenomenon of reoxygenation and its implication for fractionated radiotherapy. *Radiology*, 105, 1972, 135-142.
- Lockhard, R. Z., Elkind, M. M., Moses, W. B.: Radiation response of mammalian cells grown in culture: II. Survival and recovery characteristics of several subcultures of He-La S cells after X-irradiation. *JNCI*, 27, 1961, 1392-1404.
- Maruyama, Y., Beach, J. L., Feola, J.: Scheduling of hypoxic tumor therapy using neutron brachytherapy. *Radiology*, 137, 1980, 775-778.
- Maruyama, Y., Feola, J., Beach, J. L.: A tumor/normal tissue advantage for low dose rate neutron brachytherapy. In *t.J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 9, 1983, 1715-1721.
- Maruyama, Y., Kryscio, R., Van Nagel, J. R., Yoneda, J., Donaldson, E., Hanson, M., Beach, J. L., Feola, J., Martin, A., Parker, C.: Clinical trial of ²⁵²Cf neutron brachytherapy for advanced cervical cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 11, 1985, 1475-1482.
- Maruyama, Y., Yoneda, J., Krolkiewicz, H., Mendiondo, O., Beach, J. L., Coffey, C. W., Thomson, D., Wilson, L. C., Feola, J., Van Nagel, J. R., Donaldson, E. S., Powell, D.: A clinical trial for advanced cervico-vaginal pelvis carcinomas using californium-252 fast neutron therapy: report of early responses. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 6, 1980, 1629-1637.
- Maruyama, Y., Muir, W.: Human cervical cancer clearance after ²⁵²Cf neutron brachytherapy versus conventional photon brachytherapy. *Amer. J. Clin. Oncol.*, 7, 1984, 347-352.
- Maruyama, Y., Van Nagel, J. R., Yoneda, J., Donaldson, E. S., Gallion, H. H., Powell, D., Kryscio, R. J.: A review of Californium-252 neutron brachytherapy for cervical cancer. *Cancer*, 68, 1991, 1189-1197.
- Marjina, L. A., Kiseleva, V. N., Nechushkin, M. I., Cherhonadsky, V. N., Elisjutin, G. P.: The results of treatment of patients with endometrial cancer and carcinoma cervix using californium-252 HDR. In: J.G. Wierzbicki (ed.), *Californium-252. Isotope for 21st Century radiotherapy*. NATO ASI series. High technology vol. 29, 1997, 105-114. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.
- Puck, T. T., Marcus, P. I.: Action of X-rays on mammalian cells. *J. Exp. Med.*, 103, 1959, 653-666.
- Steel, G. G.: Peacock, J. H.: Why are some human tumours more radiosensitive than other? *Radiother. and Oncol.*, 15, 1989, 63-72.
- Seydel, G.: The clinical use of californium-252 sources in the United States, in: *Californium-252: radiobiology and medical applications*, Proceedings of the Brussels symposium on californium-252 utilisation, April 1976, 77-82. Mewissen, D.J.(ed.), El Dupont-de Nemours and Co(Inc): Aiken, South Caroline, 1979.
- Schlea, C. S., Stoddard, D. H.: Californium isotopes proposed for intracavitary and interstitial radiation therapy with neutrons. *Nature*, 206, 1965, 1058-1059.
- Tačev, T., Kryštof, V., Ott, O., Rašovská, O., Strnad, V.: A technical equipment for workroom with Californium-252 used for the gamma-neutron brachytherapy. *Strahlenther. Oncol.* 164, 1988, 296-299.
- Tačev, T., Prokeš, B., Strnad, V., Rašovská, O., Kryštof, V., Nikodemová, D.: Effect of small doses of ²⁵²Cf on the tumour regression in cervix uteri during combined radiotherapy. *Strahlenther. Oncol.*, 165, 1989, 837-843.
- Tačev, T., Kryštof, V., Rašovská, O., Strnad, V.: Studium intrakavitární aplikace kalifornia-252 při Ca cervicis uteri a využití plynné hypoxie při zevním ozáření. Závěrečná zpráva výzkumného úkolu č. P12-561-817-06/07 v roce 1990.
- Tačev, T., Strnad, V., Vacek, A.: Radiotherapy of cervix uteri carcinoma with ²⁵²Cf and hypoxyradiotherapy in the course of external irradiation. *Radiosensitization Newsletter*, 10, 1991, 10-12.
- Tačev, T., Strnad, V., Vacek, A., Rašovská, O., Prokeš, B., Ptáčková, B., Kryštof, V.: Radiotherapy of cervix uteri carcinoma with ²⁵²Cf implant and external hypoxyradiotherapy. *Nuclear Science Applications*, 4, 1991, 201-212.
- Tačev, T., Vacek, A., Prokeš, B., Rašovská, O., B. Ptáčková, Strnad, V., Kryštof, V.: The relationship of ²⁵²Cf and ²²⁶Ra radiation doses to the reoxygenation and regression of the cervix uteri tumors. Part I.: Clinical experimental study. In J.G. Wierzbicki (ed.), *Californium-252. Isotope for 21st Century Radiotherapy*. NATO ASI series, High technology , Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands, Vol. 29, 1997, 57-75.
- Tačev, T., Ptáčková, B., Vacek, A., Rašovská, O., Prokeš, B., Strnad, V., Kryštof, V.: The relationship of ²⁵²Cf and ²²⁶Ra radiation doses to the reoxygenation and regression of the cervix uteri tumor. Part II.: Preliminary results in advanced cervical carcinoma. In J.G. Wierzbicki(ed.), *Californium-252. Isotope for 21st Century Radiotherapy*, NATO ASI series, High technology, Kluwer Academic Publisher. Printed in the Netherlands, vol. 29, 1997, 77-82.
- Tačev, T., Ptáčková, B., Vacek, A., Rašovská, O., Strnad, V.: Californium-252 and hypoxyradiotherapy in treatment of advanced carcinoma of the cervix uteri. In J.G. Wierzbicki (ed.), *Californium-252. Isotope for 21st Century Radiotherapy*, NATO ASI Series, High Technology, Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands, vol. 29, 1997, 83-97.
- Tačev, T., Zalužník, J., Janáková, L., Vagunda, V.: Early changes in flow cytometric DNA profiles induced by Californium-252 neutron brachytherapy in squamocellular carcinoma of the cervix uteri. *Neoplasma*, 45, 1998, 96-101.
- Thomson, S. G., Street, K., Chiroso, A., Seabork, G. T.: The new element californium (number 98). *Phys. Rev.*, 80, 1950, 790-796.
- Todd, P.: Biological aspects of high LET radiation therapy. *Radiology*, 125, 1977, 493-499.
- Vallejo, A., Hilaris, B. S., Anderson, L. L.: Californium-252 interstitial implantation: a clinical study at Memorial Hospital. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2, 1977, 731-737.
- Vtyurin, B. M., Ivanov, V. M., Konopljnikov, A. G., Cyb, A. F., Karelin, K. A., Elisjutin, G. P., Komar, V. J., Abdulajev, V. D., Nikišin, B. K.: Effekty nejtronnogo a gama uzlučenij istočnikov na osnove ²⁵²Cf, Moskva, Energoatomizdat, 1986.
- Van Outten, L. M.: Reoxygenation of hypoxic tumor cells. *Strahlenther.*, 153, 1977, 380-383.
- Wiernik, G., Young, C. M. A.: Late effects of Californium-252 therapy, in: *High LET radiations in clinical radiotherapy*, Barendsen, G.W.(ed.), Pergamon press, Oxford, 1979, 206-207. *Nucl. Sci. Applic.*, 4, 1991, 107-111.
- Wierzbicki, J. G. (ed.), *Californium-252. Isotope for 21st century radiotherapy*. NATO ASI Series .High technology, vol-29. Kluwer Academic publishers. Printed in the Netherlands.
- Yaes, R. J.: Tumour heterogeneity, tumor size and radioresistence. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 17, 1989, 993-1005.
- Yaes, R. J., Berner, B., Yoneda, J., Feola, J. M., Maruyama, Y.: Explanation for the efficacy of early versus delayed Californium brachytherapy for bulky cervix cancer, *Nucl. Sci. Applic.*, 4, 1991, 107-111.