

РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ

УДК 612.112.94:616.65:616.006.6:539.1.04

Памяти Николая Александровича Дружини

ПОСТЛУЧЕВОЙ АПОПТОЗ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КАК МАРКЕР ИНДИВИДУАЛЬНОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ: КРАТКИЙ ОБЗОР

© 2021 г. А. А. Фильченков^{1,*}

¹ Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев, Украина

*E-mail: a.philch@gmail.com

Поступила в редакцию 11.05.2021 г.

После доработки 22.06.2021 г.

Принята к публикации 30.06.2021 г.

Лучевая терапия представляет собой широко используемый метод лечения больных злокачественными новообразованиями. Несмотря на свою эффективность, она сопряжена с осложнениями из-за нежелательного облучения окружающих опухоль нормальных органов и тканей. Оптимальный способ минимизации этой проблемы – выявить пациентов, предрасположенных к поздним лучевым поражениям. За прошедшие годы было разработано множество методов для определения индивидуальной радиочувствительности, включая использование клеточных моделей. Один из таких многообещающих подходов основан на оценке радиационной чувствительности лимфоцитов периферической крови (ЛПК), в частности, на количественном учете постлучевых апоптотических изменений. Появляется все больше сообщений, которые демонстрируют значительную обратную корреляцию между выраженностью апоптоза, индуцированного в определенных субпопуляциях ЛПК ионизирующим излучением, и риском возникновения поздних лучевых осложнений и их тяжестью у пациентов с опухолями различной локализации. Хотя о механизмах, лежащих в основе такой взаимосвязи, известно мало, недавнее проспективное многоцентровое исследование подтвердило значимую прогностическую ценность высокого уровня апоптоза в облученных *ex vivo* CD8⁺ Т-лимфоцитах для выявления больных с минимальным риском развития позднего постлучевого фиброза. В обзоре раскрыта методология оценки радиационного апоптоза в ЛПК онкологических больных с помощью проточной цитометрии. Особое внимание уделяется модификациям этого функционального анализа, используемым в различных лабораториях. Обсуждаются возможности клинического применения метода с целью индивидуализации лучевой терапии.

Ключевые слова: лучевая терапия, ранние реакции, поздние осложнения, рак предстательной железы, рак молочной железы, прогноз, выживаемость онкологических больных, риск вторичного рака, CD8 и CD4 Т-клетки

DOI: 10.31857/S0869803121050052

Впервые предположение об индивидуальной чувствительности к действию рентгеновских лучей было высказано более 100 лет назад французским врачом Léon Vouchacourt (1865–1949) – одним из пионеров в области радиологии и лучевой терапии (ЛТ) [1]. Вопрос о существовании индивидуальных различий в чувствительности к ионизирующему излучению (ИИ) вновь поднял выдающийся немецкий радиолог Herman Holthusen (1886–1971). В одной из его работ [2] была представлена кривая “доза–эффект”, имеющая сигмовидную форму. В последующие годы результаты многочисленных исследований подтвердили высокую степень вариабельности клинического

ответа на терапевтическое облучение и показали, что индивидуальная радиочувствительность (ИР) имеет генетическую природу (например, повышенная чувствительность к рентгеновскому излучению больных с врожденной атаксией-телеангиоэктазией и мутациями гена *ATM* [3]). Как установили I. Turesson и соавт. [4], до 80% различий между пациентами в реакциях нормальных тканей и органов на ИИ обусловлено генетическими факторами. Согласно современным представлениям, ИР является полигенным признаком, зависящим от взаимодействия многих генов и их продуктов, участвующих в регуляции различных клеточных процессов [5]. Если гово-

речь о человеческой популяции в целом, то с точки зрения ИР она крайне неоднородна: для 14–20% людей характерна относительная радиорезистентность, для 10–20% – повышенная радиочувствительность и 7–10% обладают сверхрадиочувствительностью [6]. Более детально проблема ИР рассмотрена в одной из наших недавних работ [7].

ЛТ в сочетании с хирургическими методами, химио- и иммунотерапией составляет основу современного комплексного лечения онкологических больных. Свыше 60% всех больных злокачественными новообразованиями получают сегодня ЛТ [8]. В последнее десятилетие благодаря использованию высокотехнологических методов облучения и режимов фракционирования дозы было достигнуто значительное улучшение результатов терапевтического воздействия, однако все же полностью исключить облучение нормальных тканей не удастся. Побочные эффекты ЛТ могут не только отрицательно повлиять на качество жизни пациента (как во время, так и после проведения терапевтического курса), но также потребовать понижения дозы облучения, что может снизить эффективность проводимого лечения.

Для предотвращения или ослабления развития острых лучевых реакций и поздних осложнений разрабатывается несколько подходов, один из которых связан с индивидуализацией схем терапевтического облучения с учетом ИР больного до начала лечения. Целью данной работы был критический анализ данных литературы и результатов собственных исследований особенностей постлучевой гибели лимфоцитов периферической крови (ЛПК) онкологических больных и возможностей использования ее количественной оценки для проведения индивидуализированной ЛТ.

РАННИЕ И ПОЗДНИЕ РЕАКЦИИ ЗДОРОВЫХ ТКАНЕЙ НА ЛУЧЕВУЮ ТЕРАПИЮ

Тканевые реакции онкологических больных после локального лучевого воздействия на один и тот же участок тела с одинаковой лечебной дозой и на аналогичном оборудовании могут сильно различаться [9]. Даже при использовании современных высокоточных технологий лучевого лечения (ЛТ с модуляцией интенсивности дозы, трехмерная конформная ЛТ, стереотаксическая ЛТ, четырехмерная конформная ЛТ), позволяющих наиболее точно подводить требуемую дозу к опухоли, невозможно полностью избежать лучевой нагрузки на неопухолевые ткани. Для оценки степени тяжести лучевого поражения здоровых тканей и критических органов во время и после проведения терапевтического облучения используется классификация, разработанная радиотерапевтической онкологической группой совместно с Европейской организацией по исследованию и лече-

нию рака (RTOG/EORTC, 1995) и дополненная критериями кооперативной группы исследователей для более точной характеристики преимущественно ранних токсических эффектов [10]. Эта классификация основана главным образом на тканевых реакциях, которые включают воспаление и фиброз, и построена с учетом степени тяжести ранних и поздних радиационных повреждений. К ранним относят лучевые реакции, развивающиеся в процессе радиотерапии или в ближайшие 3 мес. после ее окончания (крайний период восстановления сублетально поврежденных клеток). Любые симптомы, развившиеся после указанного срока, считаются поздними лучевыми повреждениями. В отличие от ранних лучевых реакций, поздние радиационные повреждения носят необратимый, прогрессирующий характер, могут приводить к значительному снижению качества жизни больных и часто требуют дополнительного лечения. Для некоторых органов и тканей развитие поздних радиационных повреждений сопряжено с клиническим проявлением ранних лучевых реакций [11]. Однако острые лучевые реакции не обязательно свидетельствуют о предрасположенности к поздней радиационной токсичности [9]. Тяжесть лучевых повреждений в основном зависит от вида ИИ (его относительной биологической эффективности), величины дозы, режима фракционирования, объема облучения, использования противоопухолевых химиотерапевтических препаратов, возраста пациента, наличия сопутствующих заболеваний, генетических особенностей [12] и ряда других факторов (например, курения [13]).

Согласно дополненной классификации RTOG/EORTC, реакцию здоровых тканей пациентов на ЛТ оценивают по шестибальной (от 0 до 5) шкале. У большинства больных реакция практически отсутствует (0–1 баллов). Легкая реакция за пределами “нормального” диапазона оценивается в 2 балла, тогда как уровни “3–5” соответствуют ответам возрастающей степени тяжести вплоть до летального исхода (5 баллов). Как правило, у 10–15% пациентов наблюдаются реакции 2–4-й степени [14]. Подходы по оптимизации схемы терапевтического воздействия после выявления онкологических больных с различной степенью ИР представлены на рис. 1.

ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Исходя из сказанного выше, в радиологической клинике, где до сих пор не учитывается ИР пациентов, несомненно, необходим надежный и быстрый тест для прогнозирования вероятности развития лучевых повреждений. За последние 30 лет было предпринято немало усилий для разработки подобных тест-систем с целью персонафика-



Рис. 1. Прецизионная медицина и лучевая терапия. Схема условного разделения онкологических больных на разные когорты на основе ИР и риска постлучевой токсичности (адаптировано из [15]).

Fig. 1. Precision medicine and radiotherapy. Patients could be stratified into different cohorts based on predicted intrinsic radiosensitivity and risk of toxicity (adapted from [15]).

ции ЛТ. Значительная часть работ в этом направлении связана с проведением цитологических и цитогенетических исследований. Учитывая важность фиброза в развитии поздних лучевых эффектов, долгое время оптимальной моделью нормальной ткани для оценки радиационных повреждений считалась культура дермальных фибробластов. Одна из первых работ, связанная с использованием такой модели, появилась еще в 1992 г. [16]. Результаты нескольких исследований показали, что радиочувствительность фибробластов *in vitro* может коррелировать с ранними реакциями [17] или поздними радиационными осложнениями [18], наблюдавшимися при стандартных схемах лучевого лечения. Однако в последующих исследованиях, выполненных на большей выборке больных, статистически значимую связь между результатами клонированного анализа с использованием фибробластов и постлучевой токсичностью у пациентов подтвердить не удалось [19, 20]. На модели фибробластов были разработаны другие методы, основанные на регистрации радиационных повреждений ДНК и хромосом (образование фокусов фосфорилированной формы гистона H2AX (γ -H2AX), формирование микроядер, анализ ДНК-комет). Они показали обнадеживающие результаты, однако в настоящее время данных для их рутинного клинического использования недостаточно. Помимо прочих препятствий, тесты на культуре фибробластов отнимают много времени и достаточно трудоемки.

Альтернативной моделью для оценки радиационных повреждений стала культура ЛПК. Эти клетки имеют ряд преимуществ по сравнению с фибробластами: во-первых, они обладают большей степенью радиочувствительности; во-вто-

рых, для их получения не требуется взятия биопсийного материала, и, в-третьих, ЛПК культивируются в виде суспензии, что существенно снижает неизбежные потери при проведении различных манипуляций. Фактически все методы анализа, разработанные на первичных культурах фибробластов, были воспроизведены на ЛПК. В частности, с целью прогнозирования поздних токсических эффектов ЛТ изучались такие тесты, как клоногенный рост клеток, кинетика формирования фокусов γ -H2AX, анализ аберраций хромосом (G_2 -тест), образование микроядер (G_0 -тест), метод ДНК-комет и анализ апоптотической гибели облученных клеток [21–25].

ПОСТЛУЧЕВОЙ АПОПТОЗ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

ИИ могут вызывать по меньшей мере пять форм регулируемой гибели клеток: апоптоз, аутофагальную гибель, некроптоз, ферроптоз и иммунногенную гибель [26–28]. В ответ на воздействие ИИ часто инициируется механизм митотической катастрофы, приводящий к утрате пролиферативной активности клеток (клеточному старению) либо их жизнеспособности (см. [26]). Еще одним типом гибели клеток, вызванным, как правило, высокими дозами ИИ, является радионекроз, который считается случайным (нерегулируемым) явлением.

Одним из наиболее перспективных подходов к определению ИР с помощью культур ЛПК оказалась оценка уровня постлучевого апоптоза. D.R. Voreham и соавт. [29] в образцах ЛПК из крови доноров исследовали динамику апоптоза, вызванного относительно низкими дозами (до

1.0 Гр) рентгеновского или γ -излучения. Установлен зависимый от дозы характер индукции апоптоза ЛПК, который был высоким через 48 ч инкубации облученных клеток, достигая максимальных значений через 72 ч после облучения. Кроме того, определена зависимость индукции апоптоза от плотности ЛПК (не менее 4.0×10^5 /мл) и наблюдались различия между донорами как по уровню спонтанного, так и радиационного апоптоза [29].

В наших пилотных исследованиях оценивался уровень апоптоза нестимулированных ЛПК 16 больных раком предстательной железы (РПЖ) и здоровых мужчин после тестового *ex vivo* воздействия рентгеновскими лучами в дозе 2.0 Гр [30]. Анализ возможных корреляций между показателями апоптоза ЛПК, выделенных из венозной крови, проводился на различных этапах курса ЛТ больных РПЖ: до начала лечения, после первой фракции (2.5 Гр) и по окончании лучевого воздействия (суммарная доза 76.0 Гр). Для уровня спонтанного апоптоза (без тест-облучения) в пробах ЛПК как до начала терапевтического облучения пациентов, так и после первой фракции облучения либо после завершения курса радиотерапии были характерны значительные колебания. После однократного рентгеновского облучения суспензий ЛПК, выделенных у больных РПЖ на всех этапах лучевого воздействия, отмечен еще более широкий диапазон значений апоптотического индекса (соответственно 1.6–42.6, 2.8–43.0, 4.3–36.6%), что свидетельствует о вариабельности ИР. Следует отметить тенденцию к снижению фракции апоптотических клеток в ЛПК доноров без тест-облучения в сравнении с таковой у больных РПЖ до начала ЛТ (соответственно 5.1 ± 1.4 и $10.6 \pm 2.3\%$; $0.05 < p < 0.1$). Низкие значения относительного содержания апоптотических клеток в культурах ЛПК сохранялись и после ионизирующего воздействия *ex vivo*, что может указывать на меньшую вариабельность ИР условно здоровых лиц по сравнению с больными РПЖ.

Обнаружена положительная корреляция между показателями апоптотической гибели через 48 ч после тест-облучения и без него в ЛПК больных РПЖ, выделенных как до начала терапевтического облучения ($r = 0.88$; $p = 0.0008$), так и после его первой фракции ($r = 0.77$; $p = 0.0159$). В то же время после окончания курса радиотерапии такая корреляция нивелировалась ($r = 0.48$; $p = 0.3287$) [30].

Поскольку индукция апоптоза часто бывает связана с окислительным стрессом, развивающимся вследствие нарушения равновесия между продукцией активных форм кислорода (АФК) и антиоксидантной защитой, нас интересовало также возможное наличие связи между уровнем спонтанного апоптоза ЛПК и содержанием АФК в плазме крови больных. Корреляционная связь

между этими показателями была отмечена только при исследовании, проведенном после первой фракции ЛТ ($r = 0.77$; $p = 0.0053$). Корреляции уровня радиационного апоптоза ЛПК крови больных РПЖ с клиническими характеристиками обнаружено не было [30].

Другой фрагмент нашей работы был связан с исследованием характера зависимости радиационной гибели ЛПК больных РПЖ от дозы тест-облучения. Как видно на рис. 2, в диапазоне доз от 0 до 6 Гр кривые 1 и 2 – практически горизонтальны, тогда как кривая 3 имеет выраженный отрицательный угол наклона, т.е. процент гиподиплоидных (апоптотических) клеток уменьшается с повышением дозы. Может ли характер зависимости радиационной гибели ЛПК больных РПЖ от дозы тестового облучения объективно отражать ответ больного на ЛТ – покажут дальнейшие клинические исследования.

После открытия возможности использования количественной оценки радиационного апоптоза в культуре ЛПК для прогнозирования реакции организма на ИИ были предприняты многочисленные усилия, направленные на усовершенствование метода, повышение его чувствительности и воспроизводимости результатов. Среди прочего, отработывались различные режимы облучения *in vitro* и сроки культивирования облученных клеток, оценивалась гибель различных субпопуляций клеток периферической крови, подбирался оптимальный метод выявления фракции апоптотических клеток. Из всего многообразия существующих разработок наибольшую популярность получила технология RILA (Radiation-Induced Lymphocyte Apoptosis), предложенная группой швейцарских радиобиологов [31]. К ее особенностям следует отнести следующее: 1) тестовому облучению подвергаются образцы цельной крови, а не выделенная фракция ЛПК; 2) уровень апоптоза определяется среди субпопуляции $CD8^+$ Т-лимфоцитов; 3) общее время анализа составляет не более 72 ч. Схема проведения теста RILA показана на рис. 3 (адаптировано из [32]). Одно из первых проспективных исследований, включающее 399 онкологических больных, прошедших курс ЛТ, показало существенное снижение интенсивности постлучевого апоптоза $CD8^+$ Т-лимфоцитов у пациентов с тяжелой радиотоксичностью: частота поздних осложнений 2-й и 3-й степени составила 70 и 12% при показателях RILA-анализа соответственно ≤ 16 и $> 24\%$ [25]. При этом среди 28 пациентов с осложнениями 3-й степени тяжести не оказалось ни одного больного со значениями теста RILA выше 24%. Значимой коррелятивной связи между уровнем радиационного апоптоза $CD8^+$ Т-клеток и острыми эффектами терапевтического облучения не выявлено.

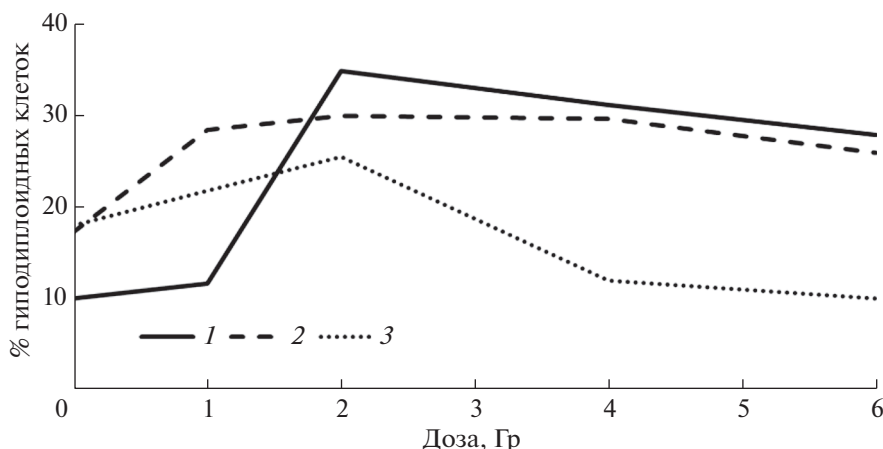


Рис. 2. Кривые зависимости “доза–индукция апоптоза” ЛПК больного РПЖ: 1 – до начала лучевой терапии; 2 – после первой фракции облучения (2,5 Гр); 3 – по окончании курса лучевой терапии (суммарная доза 76,0 Гр).

Fig. 2. The dose–apoptosis induction curves for peripheral blood lymphocytes from the same prostate cancer patient at different time-points in the course of radiotherapy. The induction of apoptosis was assayed in cultured lymphocytes following their *ex vivo* test-irradiation: 1 – prior to the radiotherapy; 2 – after the first fraction (2.5 Gy); 3 – after treatment completion (total dose of 76 Gy).

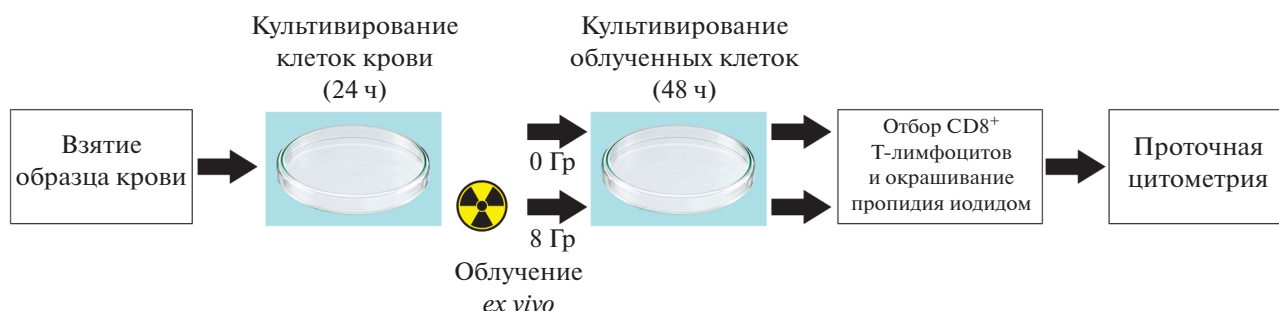


Рис. 3. Принципиальная схема “классического” варианта теста RILA (адаптировано из [32]).

Fig. 3. The basic chart of RILA assay (adapted from [32]).

Последующие исследования, выполненные на образцах крови онкологических больных в разных странах и с различными типами злокачественных новообразований (РПЖ, рак молочной железы (РМЖ), рак органов головы и шеи, рак шейки матки, нейроэндокринная карцинома кожи из клеток Меркеля) подтвердили наличие обратной корреляции между значениями показателя RILA и риском развития поздних радиационных осложнений после проведения ЛТ [33–37]. Сравнительный анализ данных теста RILA, полученных в двух разных лабораториях с использованием одних и тех же образцов крови 25 больных (рак органов головы и шеи), показал их полную сопоставимость, что свидетельствует о надежности данной технологии [38].

О предиктивной ценности технологии RILA свидетельствуют результаты проспективного многоцентрового исследования с участием более 500 больных с инвазивными формами РМЖ [39].

Статистически значимое снижение риска развития фиброза молочной железы 2-й степени и выше после проведения адъювантной радиотерапии наблюдалось у пациенток со значениями показателя RILA $\geq 12\%$, что позволяло с точностью более 90% выявить больных РМЖ, не входящих в группу риска развития этого осложнения. Кроме того, доказана возможность использования RILA-анализа для скрининга больных перед проведением ЛТ. Следует отметить, что RILA представляет собой более дешевый и быстрый метод прогнозирования лучевого фиброза по сравнению с генетическим тестированием [40]. В недавнем исследовании сравнивалась эффективность выявления больных РМЖ с хроническими осложнениями ЛТ с помощью четырех типов анализа ЛПК [34]. Наиболее оптимальным показателем оказался уровень радиационного апоптоза CD8⁺ Т-лимфоцитов.

По мнению С. Vandevoorde и соавт., причины неудач при верификации технологии RILA, отмеченные в ряде исследований, могут быть связаны с различиями в протоколах постановки теста: использования образцов замороженной крови (вместо свежeweделенной), дозы тестового облучения ниже 8.0 Гр, анализа общей фракции лимфоцитов, выбранного метода выявления апоптотических клеток [34]. С целью стандартизации метода и оценки его воспроизводимости проведено многоцентровое исследование с использованием образцов крови здоровых доноров, которые анализировали одновременно в лабораториях трех европейских стран [41]. Сравнение данных, полученных в разных лабораториях, позволило выявить ряд факторов, влияющих на результаты теста: время доставки и хранения образцов крови, длительность периода инкубации клеток после облучения и тип эмбриональной сыворотки, используемой в культуральных средах *in vitro*. После стандартизации указанных условий значительной разницы в результатах, полученных в разных лабораториях, отмечено не было. Существенные отличия показателей теста RILA были обнаружены между больными с различной локализацией злокачественного новообразования (предстательная железа > молочная железа > легкое), статусом курильщика (некурящие > курильщики) и сопутствующим заболеванием ревматоидным артритом (артрит > без артрита). Хотя в предыдущих работах данные теста RILA не служили прогнозом ранних лучевых реакций, его результаты в указанном многоцентровом исследовании предсказывали наличие острых болей в области молочной железы в период до 6 нед. после проведения радиотерапии. Авторы исследования справедливо считают, что ограничением текущего протокола RILA для рутинной практики является необходимость культивирования клеток в течение 1 сут до облучения и на протяжении 2 сут после облучения. Продолжается разработка экспресс-вариантов данного теста, исключающих инкубацию клеток до облучения и предполагающих сокращение сроков инкубации после облучения [41].

Примечательно, что, помимо использования для прогнозирования поздних радиационных повреждений здоровых тканей и органов, тест RILA показал клиническую значимость как фактор прогноза выживаемости больных РМЖ, раком органов головы и шеи [25], РПЖ [42], раком шейки матки [43] или раком прямой кишки [44] после проведения ЛТ. При этом высокие значения показателя RILA коррелируют с более благоприятным прогнозом.

К лучевым осложнениям относят также вторичные онкологические заболевания, развившиеся в результате проведенной радиотерапии. По литературным данным, их частота может ко-

лебаться от 3.5 до 8.0% и существенно отличается для разных типов злокачественных новообразований [45, 46]. Как оказалось, показатель теста RILA может быть успешно использован для прогнозирования индивидуального риска развития вторичного радиогенного рака. Показано, что у больных РМЖ со значениями показателя RILA > 21.3% риск развития саркомы после ЛТ значимо снижен [47].

Помимо CD8⁺ Т-клеток полезным объектом для проведения теста RILA оказалась субпопуляция ЛПК, представленная CD4⁺ Т-лимфоцитами. При долгосрочном наблюдении (медиана 11.6 года) за больными РМЖ, получившими ЛТ, установлена значимая связь между низкими значениями показателя RILA в CD4⁺ клетках и повышенным риском развития телеангиэктазий и, в меньшей степени, подкожного фиброза молочной железы [48]. По мнению авторов, для прогноза поздних постлучевых реакций нормальных тканей у больных РМЖ результаты теста RILA, проведенного на CD4⁺ Т-клетках, являются более надежными по сравнению с CD8⁺-лимфоцитами. К аналогичному выводу пришли Р. Фога и соавт. [42], которые изучали риск развития хронических осложнений со стороны органов мочеполовой системы у больных РПЖ, прошедших курс радиотерапии.

Хотя с момента разработки технологии RILA прошло около четверти века, четкого понимания механизмов, обеспечивающих адекватную оценку ИР с помощью данного метода, пока нет. Полагают, что низкий уровень постлучевого апоптоза ЛПК у больных с выраженными осложнениями в отдаленные сроки после терапевтического облучения может быть обусловлен рядом причин, в том числе повышением продукции цитокинов и привлечением воспалительных иммунных клеток к облученной ткани, усилением нестабильности генома, дефектами генов, активирующихся в ответ на повреждения ДНК, снижением способности к репарации повреждений ДНК, повышением выработки АФК (особенно супероксид-аниона) и аномальной реакцией на хронический окислительный стресс [49, 50].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установление факта активации апоптотической гибели опухолевых и нормальных клеток после проведения ЛТ стало основой для разработки различных методов оценки постлучевого апоптоза с целью оценки ИР в клинике. Наибольшую предиктивную ценность продемонстрировал метод количественного анализа радиационного апоптоза ЛПК с помощью проточной цитометрии (известный как RILA), который позволяет еще до начала терапевтического облучения выявить боль-

ных, имеющих низкую степень риска развития выраженных лучевых осложнений. К преимуществам технологии RILA следует отнести простоту, высокий уровень автоматизации, хорошую воспроизводимость результатов. Методы анализа постлучевого апоптоза ЛПК в сочетании с другими функциональными тестами для определения клинической радиочувствительности больного открывают новые возможности для повышения эффективности ЛТ, уменьшения степени тяжести ее побочных эффектов и сохранения качества жизни после лечения. Не менее перспективным представляется использование подобных лабораторных тестов в радиационной онкологии с прогностической целью, включая определение риска развития вторичных радиогенных опухолей. Наконец, нельзя исключить, что выявление с помощью RILA-анализа лиц с повышенной ИР окажется полезным при отборе персонала для работы с источниками ИИ. Хотя в настоящее время технология RILA уже используется в ряде радиологических клиник, для более широкого внедрения метода требуются стандартизация протокола и проведение дополнительных валидационных исследований.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает признательность канд. биол. наук М.П. Завелевичу, канд. биол. наук А.А. Главину, д-ру биол. наук Э.А. Деминой и д-ру биол. наук Н.А. Дружине, принимавшим участие в выполнении целевой программы научных исследований ОБФМБ НАН Украины “Молекулярно-биологические факторы гетерогенности клинического течения гормонозависимых опухолей”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Bouchacourt M.L.* Sur la différence de sensibilité aux rayons de Roentgen de la peau des différents sujets, et, sur le même sujet des différents régions du corps // Proceedings of the 40th Congress of the French Association for the Advancement of Science, Lyon, France, 1911. Paris, France: Masson, 1911. P. 942–947.
2. *Holthusen H.* Erfahrungen über die Veträglichkeitsgrenze für Röntgenstrahlen und deren Nutzenanwendung zur Verhütung von Schäden // Strahlentherapie. 1936. V. 57. P. 254–269.
3. *Taylor A.M., Harnden D.G., Arlett C.F. et al.* Ataxia telangiectasia: a human mutation with abnormal radiation sensitivity // Nature. 1975. V. 258. № 5534. P. 427–429.
4. *Turesson I., Nyman J., Holmberg E., Odén A.* Prognostic factors for acute and late skin reactions in radiotherapy patients // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1996. V. 36. № 5. P. 1065–1075.
5. *Andreassen C.N., Alsner J., Overgaard J.* Does variability in normal tissue reactions after radiotherapy have a genetic basis – where and how to look for it? // Radiother. Oncol. 2002. V. 64. № 2. P. 131–140.
6. *Kovalev E.E., Smirnova O.A.* Estimation of Radiation Risk Based on Concept of Individual Variability of Radiosensitivity. Bethesda: Armed Forces Radiobiology Research Institute, 1996. 198 p.
7. *Domina E.A., Philchenkov A., Dubrovskaya A.* Individual response to ionizing radiation and personalized radiotherapy // Crit. Rev. Oncogen. 2018. V. 23. № 1–2. P. 69–92.
8. *Orth M., Lauber K., Niyazi M. et al.* Current concepts in clinical radiation oncology // Radiat. Environ. Biophys. 2014. V. 53. № 1. P. 1–29.
9. *Bentzen S.M., Overgaard J.* Patient-to-patient variability in the expression of radiation-induced normal tissue injury // Semin. Radiat. Oncol. 1994. V. 4. № 2. P. 68–80.
10. *Столярова И.В., Винокуров В.Л.* Проблемы больных после лечения рака шейки матки (профилактика и лечение постлучевых осложнений) // Практик. онкология. 2002. Т. 3. № 3. С. 220–227. [*Stolyarova I.V., Vinokurov V.L.* Problems of patients after treatment of cervical cancer. Prophylaxis and treatment of postradiation complications // Pract. Oncol. 2002. V. 3. № 3. P. 220–227. (in Russian)]
11. *Dorr W.* Radiobiology of tissue reactions // Ann. ICRP. 2015. V. 44. Suppl. 1. P. 58–68.
12. *Нуднов Н.В., Сотников В.М., Леденев В.В., Барышников Д.В.* Возможности качественной оценки лучевых повреждений легких методом компьютерной томографии // Мед. визуализация. 2016. № 1. С. 39–46. [*Nudnov N.V., Sotnikov V.M., Ledenev V.V., Baryshnikov D.V.* Features a qualitative assessment of radiation-induced lung damage by CT // Med. Visual. 2016. № 1. P. 39–46. (in Russian)]
13. *Des Rochers C., Dische S., Saunders M.I.* The problem of cigarette smoking in radiotherapy for cancer in the head and neck // Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.) 1992. V. 4. № 4. P. 214–216.
14. *Averbeck D., Candéias S., Chandna S. et al.* Establishing mechanisms affecting the individual response to ionizing radiation // Int. J. Radiat. Biol. 2020. V. 96. № 3. P. 297–323.
15. *Jiang M., Yang J., Li K. et al.* Insights into the theranostic value of precision medicine on advanced radiotherapy to breast cancer // Int. J. Med. Sci. 2021. V. 18. № 3. P. 626–638.
16. *Burnet N.G., Nyman J., Turesson I. et al.* Prediction of normal-tissue tolerance to radiotherapy from *in vitro* cellular radiation sensitivity // Lancet. 1992. V. 339. № 8809. P. 1570–1571.
17. *Oppitz U., Baier K., Wulf J. et al.* The *in vitro* colony assay: a predictor of clinical outcome // Int. J. Radiat. Biol. 2001. V. 77. № 1. P. 105–110.
18. *Geara F.B., Peters L.J., Ang K.K. et al.* Prospective comparison of *in vitro* normal cell radiosensitivity and normal tissue reactions in radiotherapy patients // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1993. V. 27. № 5. P. 1173–1179.
19. *Rudat V., Dietz A., Nollert J. et al.* Acute and late toxicity, tumour control and intrinsic radiosensitivity of primary fibroblasts *in vitro* of patients with advanced head and neck cancer after concomitant boost radiochemo-

- therapy // *Radiother. Oncol.* 1999. V. 53. № 3. P. 233–245.
20. *Russell N.S., Grummels A., Hart A.A. et al.* Low predictive value of intrinsic fibroblast radiosensitivity for fibrosis development following radiotherapy for breast cancer // *Int. J. Radiat. Biol.* 1998. V. 73. № 6. P. 661–670.
 21. *West C.M., Davidson S.E., Elyan S.A. et al.* Lymphocyte radiosensitivity is a significant prognostic factor for morbidity in carcinoma of the cervix // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2001. V. 51. № 1. P. 10–15.
 22. *Chua M.L.K., Somaiah N., A'Hern R. et al.* Residual DNA and chromosomal damage in *ex vivo* irradiated blood lymphocytes correlated with late normal tissue response to breast radiotherapy // *Radiother. Oncol.* 2011. V. 99. № 3. P. 362–366.
 23. *Widel M., Jedrus S., Lukaszczyk B. et al.* Radiation-induced micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes is correlated with normal tissue damage in patients with cervical carcinoma undergoing radiotherapy // *Radiat. Res.* 2003. V. 159. № 6. P. 713–721.
 24. *Sterpone S., Cornetta T., Padua L. et al.* DNA repair capacity and acute radiotherapy adverse effects in Italian breast cancer patients // *Mutat. Res.* 2010. V. 684. № 1–2. P. 43–48.
 25. *Ozsahin M., Crompton N.E., Gourgou S. et al.* CD4 and CD8 T-lymphocyte apoptosis can predict radiation-induced late toxicity: a prospective study in 399 patients // *Clin. Cancer Res.* 2005. V. 11. № 20. P. 7426–7433.
 26. *Philchenkov A.* Radiation-induced cell death: Signaling and pharmacological modulation // *Crit. Rev. Oncog.* 2018. V. 23. № 1–2. P. 13–37.
 27. *Lei G., Zhang Y., Koppula P. et al.* The role of ferroptosis in ionizing radiation-induced cell death and tumor suppression // *Cell Res.* 2020. V. 30. № 2. P. 146–162.
 28. *Procureur A., Simonaggio A., Bibault J.E. et al.* Enhance the immune checkpoint inhibitors efficacy with radiotherapy induced immunogenic cell death: A comprehensive review and latest developments // *Cancers (Basel)*. 2021. V. 13. № 4. P. 678.
 29. *Boreham D.R., Gale K.L., Maves S.R. et al.* Radiation-induced apoptosis in human lymphocytes: potential as a biological dosimeter // *Health Phys.* 1996. V. 71. № 5. P. 685–691.
 30. *Фильченков А.А., Завелевич М.П., Демина Э.А., Главин А.А.* Апоптоз лимфоцитов периферической крови больных раком предстательной железы, индуцированный облучением *in vitro* // *Онкология*. 2019. Т. 21. № 4. С. 282–289. [*Philchenkov A.A., Zavelevich M.P., Domina E.A., Glavin A.A.* Apoptosis of peripheral blood lymphocytes of prostate cancer patients induced by *in vitro* irradiation // *Oncology (Kyiv)*. 2019. V. 21. № 4. P. 282–289. (in Russian)]
 31. *Ozsahin M., Ozsahin H., Shi Y. et al.* Rapid assay of intrinsic radiosensitivity based on apoptosis in human CD4 and CD8 T-lymphocytes // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1997. V. 38. № 2. P. 429–440.
 32. *Bregues M., Lapiere A., Bourcier C. et al.* T lymphocytes to predict radiation-induced late effects in normal tissues // *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2017. V. 17. № 2. P. 119–127.
 33. *Pinkawa M., Brzozowska K., Kriehuber R. et al.* Prediction of radiation-induced toxicity by *in vitro* radiosensitivity of lymphocytes in prostate cancer patients // *Future Oncol.* 2016. V. 12. № 5. P. 617–624.
 34. *Vandevoorde C., Depuydt J., Veldeman L. et al.* *In vitro* cellular radiosensitivity in relationship to late normal tissue reactions in breast cancer patients: a multi-end-point case-control study // *Int. J. Radiat. Biol.* 2016. V. 92. № 12. P. 823–836.
 35. *Bordón E., Henríquez-Hernández L.A., Lara P.C. et al.* Prediction of clinical toxicity in locally advanced head and neck cancer patients by radio-induced apoptosis in peripheral blood lymphocytes (PBLs) // *Radiat. Oncol.* 2010. V. 5. P. 4.
 36. *Bordón E., Henríquez Hernández L.A., Lara P.C. et al.* Prediction of clinical toxicity in localized cervical carcinoma by radio-induced apoptosis study in peripheral blood lymphocytes (PBLs) // *Radiat. Oncol.* 2009. V. 4. P. 58.
 37. *Chaouni S., Lecomte D.D., Stefan D. et al.* The possibility of using genotoxicity, oxidative stress and inflammation blood biomarkers to predict the occurrence of late cutaneous side effects after radiotherapy // *Antioxidants (Basel)*. 2020. V. 9. № 3. P. 220.
 38. *Mirjolet C., Merlin J.L., Dalban C. et al.* Correlation between radio-induced lymphocyte apoptosis measurements obtained from two French centres // *Cancer Radiother.* 2016. V. 20. № 5. P. 391–394.
 39. *Azria D., Riou O., Castan F. et al.* Radiation-induced CD8 T-lymphocyte apoptosis as a predictor of breast fibrosis after radiotherapy: results of the prospective multicenter French trial // *EBioMedicine*. 2015. V. 2. № 12. P. 1965–1973.
 40. *Habash M., Bohorquez L.C., Kyriakou E. et al.* Clinical and functional assays of radiosensitivity and radiation-induced second cancer // *Cancers (Basel)*. 2017. V. 9. № 11. P. 147.
 41. *Talbot C.J., Veldwijk M.R., Azria D. et al.* Multi-centre technical evaluation of the radiation-induced lymphocyte apoptosis assay as a predictive test for radiotherapy toxicity // *Clin. Transl. Radiat. Oncol.* 2019. V. 18. P. 1–8.
 42. *Foro P., Algara M., Lozano J. et al.* Relationship between radiation-induced apoptosis of T lymphocytes and chronic toxicity in patients with prostate cancer treated by radiation therapy: a prospective study // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2014. V. 88. № 5. P. 1057–1063.
 43. *Ordoñez R., Henríquez-Hernández L.A., Federico M. et al.* Radio-induced apoptosis of peripheral blood CD8 T lymphocytes is a novel prognostic factor for survival in cervical carcinoma patients // *Strahlenther. Onkol.* 2014. V. 190. № 2. P. 210–216.
 44. *Winkler S., Hoppe P., Haderlein M. et al.* *Ex vivo* apoptosis in CD8⁺ lymphocytes predicts rectal cancer patient outcome // *Gastroenterol. Res. Pract.* 2016. V. 2016. 5076542.
 45. *Berrington de Gonzalez A., Curtis R.E., Kry S.F. et al.* Proportion of second cancers attributable to radiotherapy treatment in adults: a cohort study in the US SEER cancer registries // *Lancet Oncol.* 2011. V. 12. № 4. P. 353–360.

46. *Li W., Xiao H., Xu X., Zhang Y.* The impact of radiotherapy on the incidence of secondary malignancies: A pan-cancer study in the US SEER cancer registries // *Curr. Oncol.* 2021. V. 28. № 1. P. 301–316.
47. *Mirjolet C., Merlin J.L., Truc G. et al.* RILA blood biomarker as a predictor of radiation-induced sarcoma in a matched cohort study // *EBioMedicine.* 2019. V. 41. P. 420–426.
48. *Veldwijk M.R., Seibold P., Botma A. et al.* Association of CD4⁺ radiation-induced lymphocyte apoptosis with fibrosis and telangiectasia after radiotherapy in 272 breast cancer patients with >10-year follow-up // *Clin. Cancer Res.* 2019. V. 25. № 2. P. 562–572.
49. *Azria D., Bourgier C., Brengues M.* One size fits all: Does the dogma stand in radiation oncology? // *EBioMedicine.* 2016. V. 10. P. 19–20.
50. *Lacombe J., Brengues M., Mangé A. et al.* Quantitative proteomic analysis reveals AK2 as potential biomarker for late normal tissue radiotoxicity // *Radiat. Oncol.* 2019. V. 14. № 142.

Postirradiation Apoptosis of Peripheral Blood Lymphocytes as a Marker of Individual Radiosensitivity: a Mini-Review

A. A. Philchenkov^{a,#}

^a R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology & Radiobiology, Kyiv, Ukraine

[#] E-mail: a.philch@gmail.com

Radiotherapy is a commonly used modality for cancer treatment. Despite its effectiveness, radiation therapy has been associated with complications due to the undesirable radiation exposure of surrounding normal organs and tissues. The optimal way to minimize this problem is to identify patients who are prone to late radiation injury. Over the years, a variety of techniques has been designed to measure individual radiosensitivity, including cell-based assays. One such promising approach exploits the radiation sensitivity of human peripheral blood lymphocytes (PBLs), in particular, postirradiation apoptotic changes in these cells. An increasing number of reports demonstrates a significant inverse correlation between the radiation-induced apoptosis rate in specific subpopulations of PBLs and the risk and severity of radiotherapy late toxicity in patients with different cancers. Although little is known about the mechanism(s) underlying such relationship, a recent prospective multicenter study has confirmed a powerful negative-predictive value of high apoptotic rate in *ex vivo* irradiated CD8⁺ T lymphocytes for late fibrosis occurrence following radiotherapy. The review discloses the methodology for flow cytometric assessment of the radiation-induced apoptosis in PBLs of cancer patients focusing on the modifications of this functional assay used in different laboratories. The prospects for clinical application of this technique aimed at the individualization of radiotherapy are discussed.

Keywords: radiation therapy, early reactions, late complications, prostate cancer, breast cancer, prognosis, survival of cancer patients, risk of secondary cancer, CD8 and CD4 T cells