

ОБЪЕДИНЕННЫЙ
ИНСТИТУТ
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА

P19-85-824

Н.Л.Шмакова,* К.Лазэр, С.Козубек, В.И.Корогодин,
С.П.Ярмоненко*

ПАРАМЕТРЫ КРИВЫХ ВЫЖИВАНИЯ КЛЕТОК
АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА
ПРИ ОБЛУЧЕНИИ ГАММА-ЛУЧАМИ
В ПРИСУТСТВИИ КИСЛОРОДА И В ГИПОКСИИ

Направлено в журнал "Neoplasma", ЧССР.

* Всесоюзный онкологический научный центр
АМН СССР, Москва

1985

В работе /1/ мы описали простую математическую модель канцерогенеза, вызываемого у мышей внутрибрюшинным введением клеток асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ). На основании этой модели были выведены уравнения, связывающие смертность мышей-реципиентов (P) и среднюю продолжительность их жизни (τ) с числом введенных животным клеток АКЭ (M). Были также определены параметры этих уравнений для случая интактных (контрольных) клеток АКЭ /2/. Оказалось, что смертность мышей хорошо описывается функцией

$$P = 1 - \exp(-qM_i), \quad (1)$$

где $q = 0,0016 (0,0011 + 0,0024)$ есть канцерогенность АКЭ в расчете на одну клетку, а средняя продолжительность жизни равна

$$\tau = \tau_0 - b_0 \ln(M_i) \quad \text{для } M_i \leq M_K \quad (2^a)$$

и

$$\tau = \tau_0 \quad \text{для } M_i > M_K, \quad (2^b)$$

где $\tau_0 = \tau_c + 1/\beta \cdot \ln(M_K)$, $b_0 = 1/\beta$, средняя скорость роста опухоли $\beta = 0,23 \text{ час}^{-1}$, критическое число клеток АКЭ $M_K = 2,6 \cdot 10^5$, а $\tau_c = 15,3$ дни.

Располагая этой информацией, можно анализировать результаты экспериментов по действию на клетки АКЭ разных повреждающих агентов, в том числе ионизирующих излучений. В радиобиологических исследованиях клетки АКЭ облучали *in vitro* гамма-лучами ^{137}Cs в условиях оксигенации и гипоксии, используя методики, описанные ранее /2/. В этой работе мы приводим анализ результатов этих экспериментов, для того, чтобы в последующем использовать их при рассмотрении многофакторных воздействий на опухолевые клетки.

Выживаемость клеток АКЭ после облучения в присутствии кислорода

Определение зависимости смертности мышей (P) и средней продолжительности их жизни (τ) от величины дозы облучения (D) клеток АКЭ в присутствии кислорода дало серию экспериментальных точек, из которых все, за исключением одной, хорошо соответствовали нашему критерию согласия /1/. В принятой нами модели /1/ функция P(D) определяется двумя параметрами кривой выживания облученных клеток.

АКЭ: их радиочувствительностью (D_0^{-1}) и экстраполяционным числом (m). Наклон кривой $P(D)$ непосредственно связан с величиной D_0^{-1} , но не поддается точной оценке. Наши экспериментальные данные удовлетворительно согласуются с величиной $1/\Delta D \approx 0,15 \text{ Гр}^{-1}$. Следовательно, величина D_0 не может превышать 2,4 Гр.

Величину TLD50 можно оценить с более высокой точностью: $\text{TLD50} = 15,0 \pm 1,4 \text{ Гр}$. Эту величину можно использовать для уточнения значения D_0 . В соответствии с уравнением /1/

$$D_0 = \frac{\text{TLD50}}{\ln(qM_C) - \ln(\ln 2) + \ln(m)}, \quad (3)$$

где M_C - число облученных клеток АКЭ, при изменении экстраполяционного числа m от 1 до 100 величина D_0 может варьировать от 1,06 до 1,57 Гр.

Зависимость $\mathcal{T}(D)$ можно использовать для того, чтобы m и D_0 определить другим методом. Для этого, однако, следует проверить, изменяется ли или нет скорость роста опухоли β после облучения клеток АКЭ.

Зависимость $\mathcal{T}(D)$ можно описать уравнением /1/

$$\mathcal{T}(D) = a_2 + c_0 D, \quad (4)$$

которое при $a_2 = 10 \pm 3$ дня и $c_0 = (3,5 \pm 0,5) \text{ дня} \cdot \text{Гр}^{-1}$ хорошо согласуется с экспериментальными данными.

В соответствии с нашей моделью /1/

$$D_0 = \frac{a_2}{c_0 (\ln(M_C/M_K) - \ln(m))}, \quad (5)$$

где $M_C = 5 \cdot 10^6$ и $M_K = 2,6 \cdot 10^5$ клеток (см. /2/). Из (3) и (5) можно рассчитать значения m и D_0 . Оптимальными оказались величины $D_0 = 1,23 \pm 0,13 \text{ Гр}$ и $m = 17 (8 + 45)$, причем скорость роста опухоли $\beta = 0,23 \pm 0,06 \text{ час}^{-1}$ оказалась примерно такой же, как и для интактных клеток /2/.

На рис. 1 и 2 приводятся сопоставления экспериментальных данных (точки) и теоретических кривых (сплошные линии), рассчитанных описанными выше способами. Наклон зависимости $P(D)$ принят равным $1/\Delta D = 0,29 \text{ Гр}^{-1}$.

Выживаемость клеток АКЭ после облучения в условиях гипоксии

Результаты определения зависимостей $P(D)$ и $\mathcal{T}(D)$ при облучении клеток АКЭ в условиях гипоксии также приведены на рис. 1 и 2. Наклон зависимости $P(D)$ дает нам верхний предел для D_0 около 3,5 Гр. Оценка D_0 , проведенная с использованием уравнения (3) при

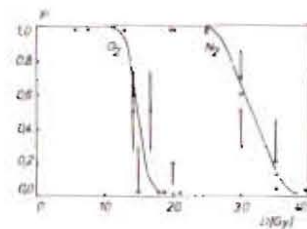


Рис. 1 Зависимость смертности мышей (P) от дозы облучения клеток АКЭ (D) в присутствии кислорода (O_2) или в гипоксии (N_2). Число облученных клеток АКЭ постоянно и равно $M_C = 5 \cdot 10^6$. Экспериментальные данные (точки) сопоставляются с теоретическими кривыми (сплошные линии).

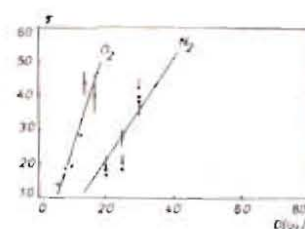


Рис. 2 Зависимость средней продолжительности жизни мышей (\mathcal{T}) от дозы облучения клеток АКЭ (D) в присутствии кислорода (O_2) и в гипоксии (N_2). Число облученных клеток АКЭ постоянно и равно $M_C = 5 \cdot 10^6$. Экспериментальные данные (точки) сопоставляются с теоретическими кривыми (сплошные линии).

$\text{TLD50} = 33 \pm 4 \text{ Гр}$ (рис. 1), для $m = 1 + 100$, дает величину порядка $2,4 + 3,5 \text{ Гр}$. Если считать (как это общепринято), что величина экстраполяционного числа не зависит от условий оксигенации во время облучения, и принять, что $m = 17$ (см. выше), то, согласно (3), при облучении клеток АКЭ в гипоксии $D_0 = 2,71 \text{ Гр}$.

Зависимости $P(M)$ и $\mathcal{T}(M)$ при облучении клеток АКЭ в дозе 20 Гр приведены на рис. 3 и 4. Используя эти данные, параметры кривых выживания клеток АКЭ после облучения в гипоксии можно рассчитать по результатам четырех независимых серий экспериментов, приведенных на рис. 1-4. Для этого напишем четыре независимых (т.е. не связанных между собой) соотношения между m и D_0 :

- 1) Уравнение (3) с $q = 0,0016$, $M_C = 5 \cdot 10^6$ клеток и $\text{TLD50} = 33 \pm 4 \text{ Гр}$;
- 2) Для зависимости $P(M)$ (см. рис. 3) имеем /1/:

$$D_0 = \frac{D_C}{\ln(qM50) - \ln(\ln 2) + \ln(m)}, \quad (6)$$

где $M50$ - число клеток АКЭ, приводящее к 50% гибели животных-реципиентов. Согласно (6), для $D_C = 20 \text{ Гр}$, $M50 = 5 \cdot 10^4 (2 \cdot 10^4 + 10^5)$ клеток. Отсюда, для $m = 17$, величина $D_0 = 2,64 \text{ Гр}$.

3) Кроме этого, можно использовать зависимость $\mathcal{T}(D)$ /1/

$$D_0 = \frac{D}{\ln(M_C/M_K) + \ln(m)}. \quad (7)$$

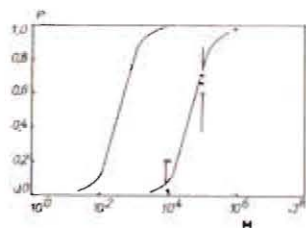


Рис.3 Зависимость смертности мышей (P) от числа клеток АКЭ (M), облученных в гипоксии в дозе 20 Гр. Экспериментальные данные (точки) сопоставляются с теоретической кривой (сплошная линия). Слева для сравнения приведена кривая P(M) для необлученных клеток АКЭ^{/2/}.

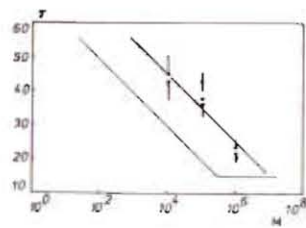


Рис.4 Зависимость средней продолжительности жизни мышей (T) от числа клеток АКЭ (M), облученных в гипоксии в дозе 20 Гр. Экспериментальные данные (точки) сопоставляются с теоретической кривой (сплошная линия). Слева для сравнения приведена кривая T(M) для необлученных клеток АКЭ^{/2/}.

где D — максимальная доза, при которой $T = T_0$. Согласно (7), $D = 18,5 \pm 1,0$ Гр, $M_c = 5 \cdot 10^6$ клеток, а $M_k = 2,6 \cdot 10^5$ клеток. Тогда для $m = 17$ величина $D_0 = 3,2$ Гр.

4) Наконец, зависимость $T(M)$ (см. рис. 4) описывается ^{/1/} уравнением

$$D_0 = \frac{D_c}{\ln(M/M_k) + \ln(m)} \quad (8)$$

где M — минимальное количество клеток АКЭ, при котором $T = T_0$. Согласно (8), $M = 2 \cdot 10^7 \cdot (7 \cdot 10^6 + 3 \cdot 10^7)$, $D_c = 20$ Гр, $M_k = 2,6 \cdot 10^5$ клеток. Тогда для $m = 17$ величина $D_0 = 2,79$ Гр.

Заметим, что последнее уравнение получено при допущении, что $T = T_0$. Величина M в уравнении (8), так же как и величина D в уравнении (7), были определены при условии, что скорость роста опухоли β не изменяется после облучения клеток в условиях гипоксии, т.е. что кривые на рис. 4 параллельны, а величина D_0 имеет минимально возможное значение, равное 2,4 Гр (см. выше). Величины D_0 были рассчитаны по уравнениям (3), (6), (7) и (8) из экспериментальных данных при допущении, что $m = 17$. В этом случае наилучшее согласие с этими уравнениями дает величина $D_0 = 2,85 \pm 0,43$ Гр. Для больших значений m мы получили бы меньшие значения D_0 ; так, для $m = 100$ величина D_0 была бы равна примерно (2,14 + 2,45) Гр.

Теоретические кривые на рис. 1-4 были рассчитаны для $m = 17$, $D_0 = 2,85$ Гр и $\beta = 0,233$ час⁻¹. Эти значения параметров дают наилучшее соответствие рассчитанных зависимостей P(D) и P(M) экспериментальным данным. Предсказания для средней продолжительности жизни животных T, однако, не столь хороши. Они не улучшаются, даже если предположить, что β не остается постоянной величиной. Чтобы добиться лучшего согласия между теорией и экспериментом, можно было бы допустить одновременное уменьшение и β , и M_k ; это, однако, противоречит другим экспериментальным данным. Кроме того, мало правдоподобно, чтобы величина β не изменялась после облучения в присутствии кислорода, но уменьшалась после облучения в гипоксии.

Заключение

Проведенные нами эксперименты по облучению клеток АКЭ гамма-лучами с последующей их инъекцией мышам-реципиентам и регистрацией развития опухолей позволили определить параметры, характеризующие радиочувствительность этих клеток. После облучения в присутствии кислорода скорость роста опухоли in vivo $\beta = 0,23$ час⁻¹, т.е. такая же, как и в контрольных образцах^{/2/}. Параметры кривой выживания после облучения в этих условиях следующие: $m = 17$ (8 + 45) и $D_0 = 1,23 \pm 0,13$ Гр. После облучения в условиях гипоксии $D_0 = 2,85 \pm 0,43$ Гр, при том же значении m , что приведено выше. В случае облучения в гипоксии изменения β и M_k не могут быть исключены, что, однако, представляется маловероятным.

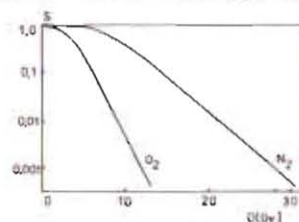


Рис.5 Кривые выживания клеток АКЭ после гамма-облучения в присутствии кислорода (O₂) и в гипоксии (N₂). Кривые построены в соответствии с параметрами, рассчитанными по нашим экспериментальным данным (пояснения в тексте).

Кривые выживания клеток АКЭ, построенные согласно этим значениям их параметров, приведены на рис. 5. Величину кислородного эффекта (ККУ) можно оценить равной 2,3. Полученные нами данные по радиочувствительности клеток АКЭ удовлетворительно согласуются с результатами других авторов^{/4/}.

ЛИТЕРАТУРА

1. Козубек С., Корогодин В.И., Лазар К., Шмакова Н.Л., Ярмоненко С.П. Математическая модель возникновения асцитной карциномы Эрлиха из клеток, вводимых мышам-реципиентам. Препринт ОИЯИ, Р19-85-822, Дубна.
2. Шмакова Н.Л., Лазар К., Козубек С., Ярмоненко С.П., Корогодин В.И. Зависимость канцерогенного действия асцитной карциномы Эрлиха мышей от числа интактных опухолевых клеток. Препринт ОИЯИ, Р19-85-823, Дубна, 1985.
3. Эйдус Л.Х., Корыстов Ю.Н. Кислород в радиобиологии. Энергоатомиздат, М., 1984, с. 43.
4. Hornsey S., Silini A. Recovery of tumor cells cultured in vivo after X-ray and neutron irradiation. Radistion Res., 1962, 16, p. 712.

Рукопись поступила в издательский отдел
18 ноября 1985 года.

Вниманию организаций и лиц, заинтересованных в получении публикаций Объединенного института ядерных исследований

Принимается подписка на препринты и сообщения Объединенного института ядерных исследований.

Установлена следующая стоимость подписки на 12 месяцев на издания ОИЯИ, включая пересылку, по отдельным тематическим категориям:

ИНДЕКС	ТЕМАТИКА	Цена подписки на год
1.	Экспериментальная физика высоких энергий	10 р. 80 коп.
2.	Теоретическая физика высоких энергий	17 р. 80 коп.
3.	Экспериментальная нейтронная физика	4 р. 80 коп.
4.	Теоретическая физика низких энергий	8 р. 80 коп.
5.	Математика	4 р. 80 коп.
6.	Ядерная спектроскопия и радиохимия	4 р. 80 коп.
7.	Физика тяжелых ионов	2 р. 85 коп.
8.	Криогеника	2 р. 85 коп.
9.	Ускорители	7 р. 80 коп.
10.	Автоматизация обработки экспериментальных данных	7 р. 80 коп.
11.	Вычислительная математика и техника	6 р. 80 коп.
12.	Химия	1 р. 70 коп.
13.	Техника физического эксперимента	8 р. 80 коп.
14.	Исследования твердых тел и жидкостей ядерными методами	1 р. 70 коп.
15.	Экспериментальная физика ядерных реакций при низких энергиях	1 р. 50 коп.
16.	Дозиметрия и физика защиты	1 р. 90 коп.
17.	Теория конденсированного состояния	6 р. 80 коп.
18.	Использование результатов и методов фундаментальных физических исследований в смежных областях науки и техники	2 р. 35 коп.
19.	Биофизика	1 р. 20 коп.

Подписка может быть оформлена с любого месяца текущего года.

Во всем вопросе оформления подписки следует обращаться в издательский отдел ОИЯИ по адресу: 101000 Москва, Главпочтамт, п/я 79.

НЕТ ЛИ ПРОБЕЛОВ В ВАШЕЙ БИБЛИОТЕКЕ?

Вы можете получить по почте перечисленные ниже книги, если они не были заказаны ранее.

D17-81-758	Труды II Международного симпозиума по избранным проблемам статистической механики. Дубна, 1981.	5 р. 40 к.
P18-82-117	Труды IV совещания по использованию новых ядерно-физических методов для решения научно-технических и народнохозяйственных задач. Дубна, 1981.	3 р. 80 к.
D2-82-568	Труды совещания по исследованиям в области релятивистской ядерной физики. Дубна, 1982.	1 р. 75 к.
D9-82-664	Труды совещания по коллективным методам ускорения. Дубна, 1982.	3 р. 30 к.
D3,4-82-704	Труды IV Международной школы по нейтронной физике. Дубна, 1982.	5 р. 00 к.
D11-83-511	Труды совещания по системам и методам аналитических вычислений на ЭВМ и их применению в теоретической физике. Дубна, 1982.	2 р. 50 к.
D7-83-644	Труды Международной школы-семинара по физике тяжелых ионов. Алушта, 1983.	6 р. 55 к.
D2,13-83-689	Труды рабочего совещания по проблемам излучения и детектирования гравитационных волн. Дубна, 1983.	2 р. 00 к.
D13-84-63	Труды XI Международного симпозиума по ядерной электронике. Братислава, Чехословакия, 1983.	4 р. 50 к.
D2-84-366	Труды 7 Международного совещания по проблемам квантовой теории поля. Алушта, 1984.	4 р. 30
D1,2-84-599	Труды VII Международного семинара по проблемам физики высоких энергий. Дубна, 1984.	5 р. 50 к
D17-84-850	Труды III Международного симпозиума по избранным проблемам статистической механики. Дубна, 1984. /2 тома/	7 р. 75 к
D10,11-84-818	Труды V Международного совещания по проблемам математического моделирования, программированию и математическим методам решения физических задач. Дубна, 1983	3 р. 50
	Труды IX Всесоюзного совещания по ускорителям заряженных частиц. Дубна, 1984 /2 тома/	13 р. 50 к
D4-85-851	Труды Международной школы по структуре ядра, Алушта, 1985.	3 р. 75

Заказы на упомянутые книги могут быть направлены по адресу:
101000 Москва, Главпочтамт, п/я 79
Издательский отдел Объединенного института ядерных исследований

Шмакова И.Л. и др. P19-85-824

Параметры кривых выживания клеток асцитной карциномы Эрлиха при облучении гамма-лучами в присутствии кислорода и в гипоксии

Клетки асцитной карциномы Эрлиха /АКЭ/ облучали *in vitro* в разных дозах гамма-лучей в присутствии кислорода и в гипоксии, а затем в разных количествах вводили в брюшную полость мышей-реципиентов. Определяли смертность этих мышей и их среднюю продолжительность жизни. Полученные результаты позволили рассчитать следующие значения параметров кривых выживания клеток АКЭ: при облучении в присутствии кислорода $D_0 = 1,23 \pm 0,13$ Гр и $m = 17$; при облучении в гипоксии $D_0 = 2,85 \pm 0,43$ Гр и $m = 17$.

Работа выполнена в Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1985

Перевод авторов

Shmakova N.L. et al. P19-85-824

Cell Survival Parameters of Ehrlich Ascites Tumour Cells Irradiated by Gamma-Radiation in Oxygenated and Anoxic Conditions Deduced from *in vivo* Assays of Ascites Tumour Cancerogenesis

Ehrlich ascites tumour (EAT) cells have been irradiated *in vitro* in oxygenated or anoxic conditions. Average mouse life length and mouse lethality have been determined for various doses and various EAT cell numbers. Cell survival parameters of EAT cells are deduced from the results.

The Investigation has been performed at the Laboratory of Nuclear Problems, JINR.

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna 1985