

# Biológiai dózisbecslés a sugárterápiában alkalmazott különböző sugárminőségű fotonnyaláboknál

FARKAS GYÖNGYI<sup>1</sup>, SZÉKELY GÁBOR<sup>1</sup>, PÓCZA TAMÁS<sup>2</sup>, KOCSIS S. ZSUZSA<sup>1</sup>, MIHÁLY DALMA<sup>2</sup>, KUN-GAZDA MÁRTA<sup>1</sup>, PESZNYÁK CSILLA<sup>2</sup>, MAJOR TIBOR<sup>2</sup>, POLGÁR CSABA<sup>2,3</sup>, JURÁNYI ZSOLT<sup>1</sup>

Országos Onkológiai Intézet, <sup>1</sup>Klinikai Sugárbiológiai és Onkocytogenetikai Osztály, <sup>2</sup>Sugárterápiás Központ, <sup>3</sup>Semmelweis Egyetem, Onkológiai Tanszék, Budapest

## Levelezési cím:

Farkas Gyöngyi, Országos Onkológiai Intézet, Klinikai Sugárbiológiai és Onkocytogenetikai Osztály, 1122 Budapest, Ráth Gy. u. 7-9. Tel.: +362248600/1561, +362248776, e-mail: farkas.gyongyi@oncol.hu

## Közlésre érkezett:

2020. október 7.

## Elfogadva:

2020. november 27.

Lineáris gyorsítóknál az utóbbi évtizedekben elterjedt a kiegyenlítő szűrő nélküli mód használata, de ennek ellenére a biológiai hatás vizsgálatával kevesen foglalkoztak. Kísérleteinkben a szűrővel, illetve szűrő nélküli mód összehasonlítását a perifériás vér limfocitáinak besugárzásával végeztük. Vizsgálatunkban ugyanazon egészséges személy perifériális vér limfocitáit sugaraztuk be lineáris gyorsítóval különböző dózisteljesítménnyel (3,57–23,08 Gy/min), két gyorsítófeszültséggel (6 és 10 MV), szűrővel (FF mód) és szűrő nélkül (FFF mód). A sugárhatásra képződő kromoszómaaberrációk (dicentrikus és ring kromoszómák) számának dózis-hatás összefüggését lineáris-kvadratikus modellel vizsgáltuk. CABAS (Chromosomal Aberration Calculation Software) szoftvert alkalmaztunk a görbék elkészítéséhez. Meghatároztuk és összehasonlítottuk a görbék együtthatóit és egyenleteit, majd azokat irodalmi adatokkal is összevetettük. Szignifikáns különbségeket találtunk az aberrációk számában a különböző besugárzási paramétereknél, eredményeink alapján az FFF módnak 10–20%-kal nagyobb a biológiai hatása, mint az FF módnak. A kapott eredményeket a sugárterápiás kezeléseknel, ill. sugárbaletet esetén a biológiai dózis becslésére használhatjuk fel. *Magy Onkol* 65:30-37, 2021

**Kulcsszavak:** lineáris gyorsító, szűrő nélküli mód, biológiai dozimetria, dicentrikus és ring kromoszómák, lineáris-kvadratikus modell

*Flattening filter free mode (FFF) has been introduced in radiotherapy during the past decades, however, not much has been reported on its radiobiological effect. The purpose of our study was to compare the radiobiological effects of flattening filter and flattening filter free photon beams on chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes. In our study the blood of the same healthy donor was irradiated with linear accelerator using both conventional flattening filter (FF) and FFF photon beams at dose rate of 3.57–23.08 Gy/min, using 6 or 10 MV. The dose-response calibration curves for dicentric + ring chromosomes induced by irradiation were fitted with linear-quadratic model. CABAS (Chromosomal Aberration Calculation Software) was used to prepare the curves. The coefficients and equations of the curves were calculated and compared with the results of other authors. We found significant differences in the number of aberrations at different irradiation parameters. Based on our results, FFF mode has a 10-20% higher biological effect than FF mode. These results can be used during radiotherapy or to estimate the biological doses in case of an accidental exposure to radiation.*

*Farkas G, Székely G, Pócza T, Kocsis Z, Mihály D, Kun-Gazda M, Pesznyák C, Major T, Polgár C, Jurányi Z. Biological dose estimation for photons of different qualities in radiation therapy. *Magy Onkol* 65:30-37, 2021*

**Key words:** linear accelerator, flattening filter free mode, biological dosimetry, dicentric and ring chromosome, linear-quadratic model

## BEVEZETÉS

A sugárterápiában használt lineáris gyorsítók besugárzási mezőinek kialakításában fontos szerepet játszanak a kiegyenlítő szűrők (flattening filter, FF). Szerepük a pontforrásból induló sugárnyaláb intenzitásának a kiegyenlítése, és használatukkal még nagy besugárzási mezőknél is homogén dóziseloszlás alakítható ki egy adott szöveti mélységben. A hagyományos sugárterápiában (3D konformális besugárzás) fontos cél volt a homogenitás elérése. Az újabb besugárzási technikák, mint az intenzitásmodulált sugárterápia (IMRT) vagy a sztereotaxiás besugárzások (SBRT) elterjedésével azonban a mezőhomogenitás szerepe már nem lényeges, mert ezeknél a technikáknál már kis mezőket vagy mezőszegmenseket használunk, melyeknek az intenzitását a számítógépes tervezés során egyedileg határozzuk meg. Ezért a modern lineáris gyorsítóknak van egy olyan üzemmódjuk is, ahol nincs kiegyenlítő szűrő a nyaláb útjában. Ezt hívjuk FFF (flattening filter free) módnak. A szűrő eltávolításának következménye a nagyobb dózisteljesítmény, ami két-háromszorosa is lehet a hagyományosnak, továbbá kisebb lesz a besugárzófejből származó szórt sugárzás [1]. Utóbbi csökkenti a mezőn kívüli területek dózist. A megnövelt dózisteljesítmény pedig rövidebb besugárzási időket eredményez, ami több szempontból is kedvező. Egyrészt a betegnek kevesebb időt kell a kezelőasztalon töltenie, másrészt az esetleges elmozdulások és belső szervmozgások mértéke is kisebb lesz, ami pontosabbá teszi a dózisleadást és kisebb besugárzási térfogatokat eredményez [2].

Az elméleti becslések és korai sugárbiológiai kísérletek [3–5] szerint a biológiai különbségeket tekintve úgy vélték, hogy az FFF módban alkalmazott nagyobb dózisteljesítmény az FF mód kisebb dózisteljesítményéhez képest nem okoz a kezelt sejtek túlélésében változást. Más szerzők feltételezték, hogy a rövidebb kezelési idő a szubletális károsodás repairjének csökkenését okozza és így hatásosabb a tumor kezelésében, de nagyobb a kockázata a normálszöveti károsodásnak is [6]. Később számos tanulmány jelent meg a sejtek túléléséről *in vitro* FFF sugárzás hatására, de különböző eredményekkel [7, 8]. Lohse és mtsai [2011] két glioblasztóma-sejtvonalat sugaraztak be 5 és 10 Gy-vel, különböző dózisteljesítménnyel, FF és FFF módban. Az eredmények azt mutatták, hogy az FFF mód sokkal hatékonyabb a glioblasztóma-sejtvonalnál a kolóniaképzés csökkenésében, mint a standard FF mód, és a különbség kifejezettebb volt a dózis növelésével [8]. Nakano és mtsai [2018] tanulmányozták az FFF mód hatását az A549 humán tüdő-adenokarcinóma sejtvonal túlélésére és a sejtek motilitására. A sejteket 300 MU/min FF, 500 MU/min és 2000 MU/min FFF dózisteljesítmény mellett sugarazták be. A sejtek túlélését szintén kolóniaképző assay-vel vizsgálták. A nagy dózisteljesítményű FFF fotonsugárzás hatása nem különbözött az FF módtól sem a sejtek túlélésében, sem a sejtek mozgásában [9]. Egy másik tanulmányban szintén 2 glioblasztóma-sejtvonalat használtak 5 és 10 Gy besugárzásnál különböző dózisteljesítményekkel. A klonogén

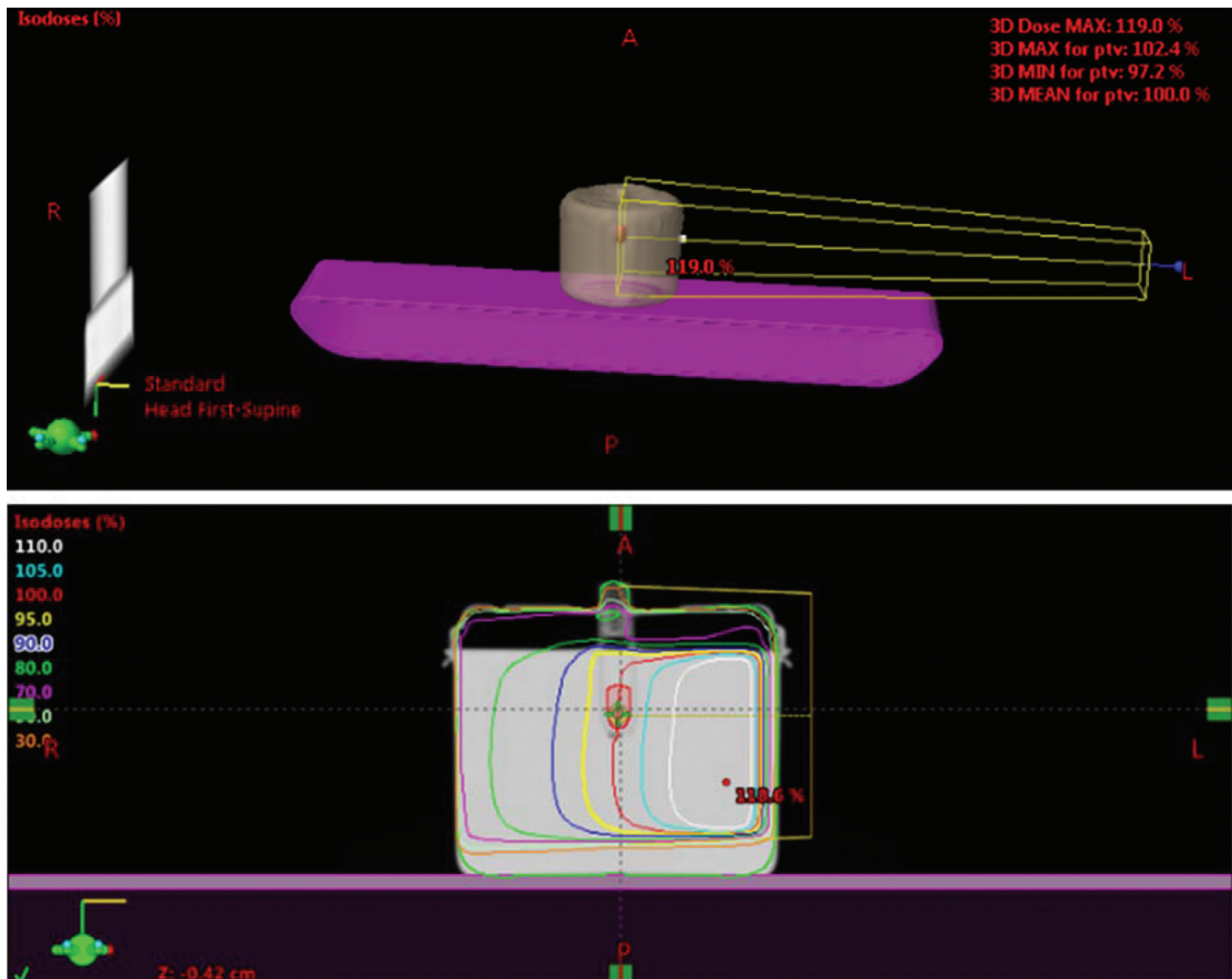
sejtpopuláció csökkenése FFF módnál hatékonyabb volt, mint FF módban. Az FFF mód sugárbiológiai hatása inkább a dózis/pulzustól függött, mint a sugárzás idejétől (delivery time-től) [8].

A sejtvonalak mellett a perifériás vér limfociták kromoszómaaberrációi is alkalmasak a szűrővel és anélkül alkalmazott különböző energiájú és dózisteljesítményű fotonsugárzások összehasonlítására. Kísérleteinkben a legismertebb és leggyakrabban használt módszert, az ionizációs sugárzás hatására keletkező dicentrikus és ring kromoszómák kimutatását alkalmaztuk. A limfociták a véráramban keringve és a nyirok-utakba bejutva a szervezet valamennyi szervével kapcsolatba kerülnek. Általuk a behatolási kaputól függetlenül bárhol észlelhető a sugáréxpozíció, így a limfociták egésztest-expozíciót reprezentálnak. A vér keringő limfocitáinak két fő típusa van, a T- és a B-limfociták. A T-limfociták mitogénnel, pl. fitohemagglutininnal osztódásra készíthetők. A limfociták indukálását követő első osztódási ciklus metafázisában leállítva az osztódást jól láthatók a kromoszómaaberrációk, amelyek az ionizáló sugárzás hatására alakultak ki [10]. A dicentrikus és ring alakú kromoszómák képződése specifikus az ionizáló sugárzásra, és mennyiségük arányos a sugárzás dózisével. Az exponált személy vérlimfocitáinak dicentrikus kromoszóma számából lehet következtetni az abszorbeált dózissra, ha a kapott értéket megfelelő kalibrációs görbéhez viszonyítjuk. A dicentrikus assay-t a biodozimetria „gold standard” módszerének tartják az alacsony háttérszintje (1 dicentrikus kromoszóma 1000 sejtben), a nagy érzékenysége miatt (küszöbdózis 0,05 Gy), valamint, hogy parciális besugárzás becslésére is alkalmas [11].

A különböző energiájú, dózisteljesítményű fotonsugárzások (röntgen, gamma) kalibrációs görbéi között eltérések lehetnek, ezért javasolt, hogy minden laboratórium a saját besugárzókészülékeire saját kalibrációs görbékkel rendelkezzen [12]. A jelen munkában *in vitro* kalibrációs görbéket vettünk fel dicentrikus kromoszóma assay segítségével 6 és 10 MV FF és FFF módban, különböző dózisteljesítmények mellett, és összehasonlítottuk a kapott eredményeket. Az adatokra lineáris-kvadratikus görbét illesztettünk és számoltuk a görbe lineáris és kvadratikus koefficienseit. Eredményeinket összehasonlítottuk irodalmi adatokkal.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

Limfocitatenyésztés és metafázisos kenetkészítés: Az összes kísérlethez különböző időpontokban, ugyanattól az egészséges, nem dohányzó személytől (nő, 45 éves), (Li-heparinnal alvadásgátolt) perifériás vénás vért vettünk és 2 ml-enként kriocsőbe mértük ki. A homogén dóziseloszlás érdekében a kriocsövet vízzel telt műanyag fantomba helyezve végeztük a besugárzást. A besugárzást megelőzően Eclipse tervezőrendszerrel (Varian, Palo Alto, USA) készítettük el a besugárzási tervet (1. ábra). A minta besugárzása a sugármező izocentrumában szobahőmérsékleten történt, 8×8 cm-es mezőmérettel, 600 MU/min 6 MV FF és 600 MU/min 10 MV



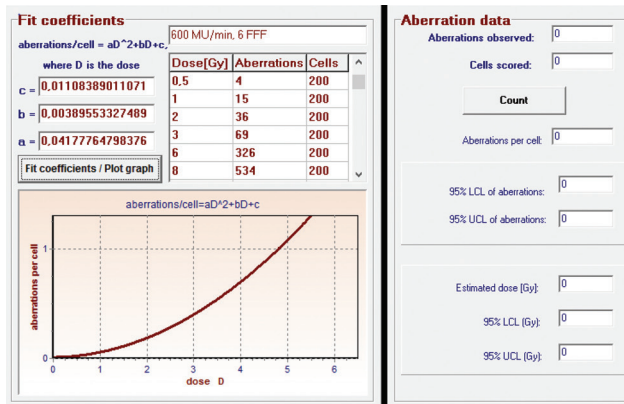
1. ÁBRA. A vér besugárzására használt műanyag fantom (közepén a kriocső) CT-képe a dóziseloszlással

FF, továbbá 400, 600 és 1400 MU/min 6 MV FFF valamint 400, 1600 és 2400 MU/min 10 MV FFF fotonsugárzással, 0,5–8 Gy tartományban TrueBeam (Varian, Palo Alto, USA) besugárzóképzővel. Lineáris gyorsítóknál a besugárzási idő jellemzésére a monitoregységet (MU) használják, mert a forrásérosség időben nem állandó, impulzusszerűen változik. A készülék 1 MU alatt 100 cm forrás-felület távolságban  $10 \times 10 \text{ cm}^2$ -es mezőméret esetén dózismaximumban mérve 1 cGy dózist ad le. A dózisteljesítmény, ami gyakorlatban az időegység alatt elnyelt dózist adja meg, mértékegysége MU/min vagy Gy/min.

A kromoszómaanalízis első osztódásban lévő perifériás vér limfocita kultúrákból származó sejteken történt az IPCS-ajánlások alapján [13]: 0,8 ml vért adtunk 9 ml RPMI-1640 (Gibco) tápléveshez, amit kiegészítettünk 15% borjúsavóval és penicillin/sztreptomocinnal (0,5 ml/l). A limfocitákat fitohemagglutinin M kezeléssel készítettük osztódásra (0,2 ml, Gibco). Az inkubálás 50–52 óráig

37 °C-on történt. Az osztódási ciklus befejeződése előtt 2 órával kolcemiddel (0,2 ml/l, Gibco) blokkoltuk a sejteket. A limfocitákat inkubáció után centrifugáltuk és 0,075 M KCl-lel 15 percig 37 °C-on hipotonizáltuk, majd hideg metanol-ecetsav keverékével 4–5-ször fixáltuk. A metafázisos sejtosztódásokat tárgylemezre cseppentettük és 3% Giemsa-oldattal festettük meg. A limfocitatenyészetekből történt a kromoszómák preparálása és dózispontonként minimum 200 metafázist értékeltünk 1500-szoros fénymikroszkópos nagyítás mellett. A szerkezeti aberrációk közül a következő aberrációtípusokat különítettük el: kromatid- (deléció, exchange), kromoszóma típusú aberrációk (dicentrikus és ring kromoszómák és a hozzájuk tartozó fragmentum, kromoszómatorés, ill. -transzlokáció), valamint összes aberráció.

Az aberrációk számát (Y) 100 sejtre vonatkoztatva adtuk meg. Az aberráció átlageltérését (standard error, SE) a sejtek közötti aberrációs eltérésekből ( $\sigma^2$ ) számítottuk. Az egyes



**2. ÁBRA.** A perifériás vér dicentrikus és ring kromoszómaaberrációinak lineáris-kvadratikus dózisgörbéje a CABAS szoftverben. A besugárzás paramétere: 600 MU/min, 6 MV FFF

kísérleti pontok aberrációinak sejtek közötti megoszlását Poisson-moddal ellenőriztük a variancia/átlag ( $\sigma^2/Y$ ) és Papworth-féle U-teszt alkalmazásával.

A mért értékekre lineáris-kvadratikus modelfüggvényt illesztettünk. CABAS 2.0 programot használtunk a dózisgörbék felvételéhez és meghatároztuk az egyenletek  $a$  és  $b$  értékét [2. ábra] (14). Student-féle t-tesztet használtunk a statisztikai analízishez. A szignifikáns különbségeket 95% konfidenciaintervallum mellett határoztuk meg és  $P < 0,05$  értéket tekintettük szignifikanciaszintnek. Az adatok értékelése és elemzése GraphPad InStat 3, GraphPad Prism 5 és Origin Pro 8 szoftvercsomaggal történt.

A vizsgálatot megbeszéltük donorunkkal, aki írásbeli engedélyt adott hozzá. Tanulmányunk a Helsinki irányelveket követi és támogatja az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásügyi Bizottsága. Az engedély száma: ETT TUKEB (23546-3/2017/EKU).

## EREDMÉNYEK

A 600 MU/min, 6 MV FFF módban történő besugárzásnál a dózis növelésével mindegyik típusú aberráció értéke nőtt, a kromatid-törések száma a dózissal lineárisan és csak kis mértékben, míg a kromoszóma-típusú aberrációk száma, a dicentrikus és ring kromoszómák, kromoszómafragmentumok, transzlokációk, valamint az összes aberrációk száma négyzetesen növekedett. Kísérletünkben a kis dózisoknál ( $\leq 1$  Gy) az acentrikus kromoszómafragmentumok (nem tévesztendő össze a dicentrikus kromoszóma mellett keletkező fragmentummal) és a kromatid-törések, míg  $> 2$  Gy-nél a fragmentumok mellett a dicentrikus kromoszómák domináltak [1. táblázat]. A transzlokációk száma körülbelül egy nagyságrenddel alacsonyabb volt, mint a dicentrikusok és ringek száma. Bár a kromoszómatörések száma is négyzetesen növekedést mutatott a besugárzás hatására – ellentétben a dicentrikus és ring kromoszómákkal –, nemcsak sugárzás, hanem vegyi expozíció hatására is képződnek, ezért nem tekintjük azokat sugárzás-specifikus biomarkereknek.

A limfocitákban lévő dicentrikus kromoszómák eloszlását egy mérés példáján a 2. táblázat mutatja. Ahhoz, hogy egyszerű varianciaanalízist alkalmazhassunk, a mért pontok populációjának normáloszlásúnak kell lennie. A szórás Papworth U-tesztjével számolva az U értékének  $-1,96$  és  $+1,96$  között kell elhelyezkednie.

A táblázatból látható, hogy ennek a feltételnek megfeleltek a kapott értékek, így alkalmazhattuk az összehasonlító statisztikát. Az így kapott görbe esetén meghatároztuk az  $a$ - és  $b$ -értékeket. 600 MU/min 6 MV FFF esetén:  $a=0,004$  Gy $^{-1}$ ,  $b=0,042$  Gy $^{-2}$ .

A lineáris-kvadratikus modell egyenlete:

$$Y = c + a \times D + b \times D^2$$

ahol  $Y$  = a dicentrikus és ring kromoszómaaberrációk száma/sejt,  $D$  a sugárzás dózisa Gray-ben,  $c$  a háttérérték,  $a$  a li-

**1. TÁBLÁZAT.** Perifériás vér limfociták kromoszómaaberrációi lineáris gyorsítón történő fotonbesugárzást követően

Dózis Gy	Kromoszómaaberrációk/100 sejt, átlag $\pm$ SE					
	Kromatid-törés	Kromoszóma-fragmentum	Dicentrikus és ring kromoszóma	Transzlokáció	Összes aberráció	Aberráns sejt (%)
0	0	0	1,0 $\pm$ 0	0	1,0 $\pm$ 0	1,0 $\pm$ 0
0,5	2,0 $\pm$ 1,0	2,5 $\pm$ 0,5	1,5 $\pm$ 1,5	1,0 $\pm$ 0	6,5 $\pm$ 2,5	6,0 $\pm$ 3,0
1	3,0 $\pm$ 2,0	4,0 $\pm$ 1,0	7,0 $\pm$ 3,0	1,0 $\pm$ 0	14,5 $\pm$ 5,5	12,5 $\pm$ 3,5
2	5,5 $\pm$ 2,5	14,0 $\pm$ 1,0	18,0 $\pm$ 1,0	4,0 $\pm$ 1,0	42,0 $\pm$ 3,0	31,0 $\pm$ 2,5
3	9,5 $\pm$ 5,5	15,5 $\pm$ 5,5	35,0 $\pm$ 3,0	8,5 $\pm$ 0,5	68,5 $\pm$ 2,5	43,5 $\pm$ 3,5
6	6,5 $\pm$ 2,5	61,0 $\pm$ 17,0	165,5 $\pm$ 19,5	17,5 $\pm$ 5,5	252,0 $\pm$ 38,0	88,0 $\pm$ 8,0
8	6,0 $\pm$ 3,0	170,0 $\pm$ 10,0	282,5 $\pm$ 0,5	24,5 $\pm$ 10,5	489,0 $\pm$ 5,0	95,0 $\pm$ 5,0

600 MU/min, 6 MV FFF módban 8 $\times$ 8 cm mezőméret, 2 mérés átlaga

**2. TÁBLÁZAT.** Perifériás vér limfociták dicentrikus és ring kromoszómaaberrációinak megoszlása lineáris gyorsítón történő fotonbesugárzást követően

Dózis, Gy	Sejt	Dic+R átl./sejt	Dic+R össz.	Dicentrikus és ring kromoszómák megoszlása									$\sigma^2/y$	U-érték	
				0	1	2	3	4	5	6	7	8			
0	100	0,01	1	99	1	0	0	0	0	0	0	0	0	-0,91	-0,1
0,5	200	0,02	4	196	4	0	0	0	0	0	0	0	0	-0,64	-0,28
1	200	0,08	15	186	13	1	0	0	0	0	0	0	0	0,02	1,38
2	200	0,18	36	168	28	4	0	0	0	0	0	0	0	1,03	0,60
3	200	0,35	69	141	50	8	1	0	0	0	0	0	0	2,03	-0,38
6	200	1,63	326	47	58	44	30	16	4	1	0	0	0	3,40	-0,78
8	200	2,67	534	30	21	44	37	31	18	10	1	1	0	4,32	0,40

600 MU/min, 6 MV FFF módban 8x8 cm mezőméret,  $\sigma$ : variancia,  $y$ : átlag, 1 mérés

**3. TÁBLÁZAT.** A különböző paraméterekkel történő besugárzások dózis-hatás görbéinek  $\alpha$ - és  $\beta$ -értékei

Dózisteljesítmény, gyorsítófeszültség, szűrő mód	$\alpha$ , átlag $\pm$ SE (Gy <sup>-1</sup> )	$\beta$ , átlag $\pm$ SE (Gy <sup>-2</sup> )
400 MU/min (3,57 Gy/min), 6 MV, FFF	0,009 $\pm$ 0,012	0,030 $\pm$ 0,003
400 MU/min (3,85 Gy/min), 10 MV, FFF	0,023 $\pm$ 0,01	0,027 $\pm$ 0,002
600 MU/min (5,36 Gy/min), 6 MV, FFF	0,007 $\pm$ 0,001	0,043 $\pm$ 0,002
600 MU/min (5,56 Gy/min), 6 MV, FF	0,005 $\pm$ 0,011	0,030 $\pm$ 0,003
600 MU/min (5,88 Gy/min), 10 MV, FF	0,0009 $\pm$ 0,008	0,023 $\pm$ 0,002
1400 MU/min (12,5 Gy/min), 6 MV, FFF	0,001 $\pm$ 0,001	0,046 $\pm$ 0,005
1600 MU/min (15,40 Gy/min), 10 MV, FFF	0,011 $\pm$ 0,006	0,034 $\pm$ 0,003
2400 MU/min (23,08 Gy/min), 10 MV, FFF	0,047 $\pm$ 0,005	0,031 $\pm$ 0,004

neáris,  $\beta$  a kvadratikus együttható. A 2. táblázatból számolt görbe egyenlete:  $Y=0,11+0,004D+0,042D^2$

A CABAS programmal egyenként felvettük a különböző energiával, dózisteljesítménnyel, szűrővel, ill. anélkül besugárzott vérminták dóziszgörbéit. A kalibrációs görbe lineáris-kvadratikus modell alapján készült, melynél az  $\alpha$  tényező a lineáris, míg a  $\beta$  tényező a négyzetes valószínűségi együttható. A görbét leíró egyenletet jellemző lineáris és kvadratikus értékeket a 3. táblázatban tüntettük fel (2-3 kísérlet átlaga egy-egy dózisteljesítményre vonatkoztatva) a standard hiba (SE) értékekkel együtt.

A lineáris és a kvadratikus együtthatók negatív korreláción keresztül kölcsönösen függnek egymástól. A 3. táblázat adataiból látható, hogy az  $\alpha$ -értékek nagyon alacsonyak, tehát a kvadratikus komponens került túlsúlyba, ami a nagy LET- (lineáris energiáttranszfer) értékű sugárzások jellemzője. Azonban a dózisteljesítmény is befolyásolja az alfa- és béta-értéket, nem csak a gyorsítófeszültség. 6 MV esetén nincs nagy különbség az alfa-értékekben, viszont ha növeljük a gyorsítófeszültséget 10 MV-re, a lineáris komponens kezd

dominálni, az alfa-érték növekszik és a  $\beta$ , vagyis a kvadratikus valószínűségi együttható értéke csökken.

Továbbá, míg 600 MU/min 6 MV FF módban 0,005 $\pm$ 0,011 Gy<sup>-1</sup>  $\alpha$ - és 0,030 $\pm$ 0,003 Gy<sup>-2</sup>  $\beta$ -értéket kaptunk, azonos dózistartományt és gyorsítófeszültséget használva, a szűrő elhagyásával, vagyis 600 MU/min 6 MV FFF módban, 0,007 $\pm$ 0,001 Gy<sup>-1</sup>  $\alpha$ - és 0,043 $\pm$ 0,002 Gy<sup>-2</sup>  $\beta$ -értéket. Tehát szűrő elhagyásával a  $\beta$  értéke nőtt, a görbe meredekebb emelkedést mutat azonos dózistartomány és gyorsítófeszültség alkalmazása esetén, ami azt jelzi, hogy a szűrő a kisebb energiák felé tolja a sugárzás átlagenergiáját.

A különböző besugárzási körülmények között kapott lineáris-kvadratikus görbék  $\alpha$ - és  $\beta$ -értékeit összehasonlítottuk más kutatók röntgen- és gammasugárzásokkal kapcsolatos vizsgálati eredményeivel (15–20) (4. táblázat).

Az 5. táblázatban látható, hogy különböző besugárzási paraméterek mellett mekkora becsült dózis okozza a megadott, azonos biológiai hatást.

Korábban a klinikai kezelések során jellemzően 2 Gy dózist adtak le frakciónként. Látható, hogy 2 Gy dóziszál

**4. TÁBLÁZAT.** Saját dóziszgörbék paramétereinek összehasonlítása más szerzők által kapott értékekkel

Szerző	Energia/gyorsítófeszültség dózisteljesítmény	Dózistartomány, Gy	$\alpha$ -érték Gy <sup>-1</sup>	$\beta$ -érték Gy <sup>-2</sup>
Barquinero et al (18)	Co 60; 1,25 MeV 1,07–1,18 Gy/min	0–5	0,021±0,005	0,063±0,004
Prasanna et al (20)	Co 60; 1,25 MeV 1,0 Gy/min	0–5	0,098±0,021	0,044±0,009
Wilkins et al (25)	Co 60 gamma 0,638 Gy/min	0–5	0,029±0,008	0,036±0,003
Bauchinger (24)	Co 60; 1,25 MeV 0,5 Gy/min	0–4	0,011±0,004	0,056±0,003
Lloyd et al (26)	Co 60; 1,25 MeV 0,5 Gy/min	0–5	0,011±0,004	0,056±0,003
Vinnikov et al (27)	Co 60; 0,5–1,2 Gy/min	0–20,3	0,129±0,009	0,033±0,001
LemosPinto et al (15)	Rtg; 6 MV lineáris gy. 0,54 Gy/min	0–3	0,013±0,007	0,056±0,004
Saját	Rtg; 6 MV FFF 5,36 Gy/min	0–8	0,007±0,001	0,043±0,002
Saját	Rtg; 6 MV 5,56 Gy/min	0–8	0,005±0,011	0,030±0,003
Saját	Rtg; 10 MV FFF 23,08 Gy/min	0–8	0,047±0,05	0,031±0,004
Saját	Rtg; 10 MV 5,88 Gy/min	0–8	0,0009±0,008	0,023±0,002

**5. TÁBLÁZAT.** Adott számú dicentrikus és ring kromoszómaaberráció kialakulásához tartozó becsült dózisok a különböző dózis-hatás görbék paramétere alapján, CABAS programmal becsülve

Dózisteljesítmény, gyorsítófeszültség, szűrő mód	Becsült dózis [Gy]				
	Konfidenciaintervallum, 95% LCL (Gy) – 95% UCL (Gy)				
	2 dic + ring/ 100 sejt	20 dic + ring/ 100 sejt	70 dic + ring/ 100 sejt	100 dic + ring/ 100 sejt	200 dic + ring/ 100 sejt
400 MU/min, 10 MV, FFF	0,51 0,06–1, 25	2,31 1,73–2,97	4,66 4,07–5, 29	5,65 5,06–6, 27	8,16 7,56–8,77
400 MU/min, 6 MV, FFF	0,64 0,15–1, 28	2,16 1,68–2,69	4,08 3,59–4,59	4,88 4,40–5,39	6,92 6,44–7,42
600 MU/min, 10 MV, FF	0,82 0,17–1,68	2,89 2,23–3,62	5,51 4,85–6, 21	6,61 5,95–7,30	9,40 8,7–10,08
600 MU/min, 6 MV, FFF	0,58 0,11–1, 20	2,06 1,59–2,59	3,94 3,47–4,44	4,72 4,25–5, 22	6,72 6,24–7,20
600 MU/min, 6 MV, FF	0,50 0,05–1,25	2,33 1,73–2,99	4,72 4,12–5,36	5,73 5,12–6,36	8,29 7,68–8,91
1400 MU/min, 6 MV, FFF	0,67 0,18–1,30	2,18 1,70–2,72	4,10 3,62–4,61	4,90 4,42–5,40	6,93 6,45–7,43
1600 MU/min, 10 MV, FFF	0,57 0,09–1,26	2,23 1,70–2,82	4,35 3,81–4,91	5,23 4,70–5,79	7,49 6,95–8,04
2400 MU/min, 10 MV, FFF	0,54 0,08–1,20	2,13 1,62–2,70	4,16 3,65–4,71	5,02 4,50–5,55	7,18 6,67–7,71

nincs jelentős különbség az általunk vizsgált sugárzások által létrehozott biológiai hatások közt. Ezzel szemben a hipofrakcionált sugárterápia során minél nagyobb frakciódózist alkalmazunk (6–8 Gy), a sugárzások által létrehozott aberrációs számok között annál jelentősebb különbségeket tapasztalhatunk. Azonos biológiai dózis eléréséhez (pl. 200 dicentrikus + ring kromoszómaaberráció kialakulásához) 6,93 Gy leadása kell, ha a besugárzás 1400 MU/min, 6 MV/FFF-vel történik, ugyanakkor már 9,40 Gy leadása szükséges, ha a besugárzás 600 MU/min, 10 MV/FF-vel történik.

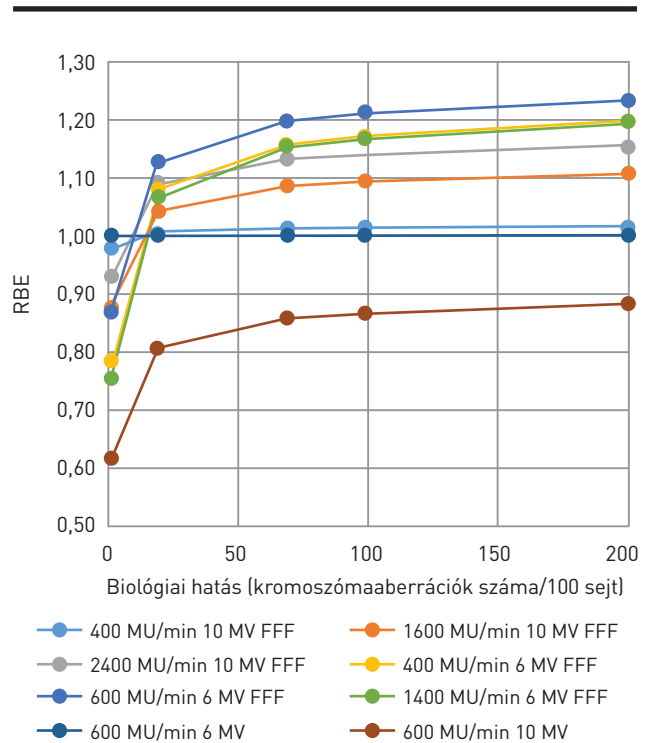
### MEGBESZÉLÉS

A nemzetközi ajánlások szerint érdemes dóziszgörbét készíteni minden laboratóriumban a különböző energiájú sugárzásokra, illetve külön gamma- és röntgensugárzásra, hogy minden baleset esetén minél jobban közelítsük az expozíciós körülményt. Ezenkívül fontos az alkalmazott dózistartomány megadása is a görbék összehasonlítása szempontjából. Mert ugyanazon görbének különbözőek az együtthatói, ha pl. 0–3, 0–6 vagy 0–8 Gy közötti értékekkel számolunk. Érdemes minél szélesebb tartományt vizsgálni, mert ha egy kisebb tartományban rendelkezünk dóziszgörbével, az extrapolálás nagyobb értékre a biológiai dózis alulbecsülését fogja jelenteni [21]. Azonban 8 Gy fölött ennél a módszernél már technikai problémáink akadhatnak a limfociták lassú osztódása, rossz minőségű metafázisok, nehezen értékelhető nagy számú és összetett aberráció miatt. Az  $\alpha$ -értékről leírták továbbá, hogy LET-függő, illetve a kisebb energiákat alkalmazva is csökken, mint ahogy vizsgálatunkban is tapasztalható volt. A  $\beta$ -érték szintén ismert módon a dózisteljesítménytől függ, tehát, ha csökkentjük a dózisteljesítményt, a lineáris komponens kezd dominálni [11, 22–24].

A biológiai dozimetria döntő fontosságú lehet a véletlenszerű baleseti expozíció esetén. Az ajánlások szerint sürgős esetben [23] először 20 metafázis értékelendő, amennyiben a dicentrikusok száma 4 vagy a fölött van, a becsült dózis  $\geq 2$  Gy (az alsó konfidenciahatár 0,85 Gy). Ebben az esetben még 50 metafázist szükséges értékelni, hogy eldönthetővé váljon a dicentrikusok eloszlásának homogenitása. A továbbiakban kalibrációs görbe, ill. kockázatbecslési táblázat segítségével becsüljük a kapott dózist. Azonban, ha kevés sejtet értékelünk, alulbecsülhetjük az expozíciós dózist kis LET-értékű, alacsony dózisu sugárzás esetén, ill. ha a test kis részét érte a sugárzás. Ezért lehetőség szerint inkább 500 metafázist értékeljünk.

A kalibrációs görbék paramétereire ezennél még más tényezők is hatással lehetnek, pl. a limfocitadonorok, a tenyésztés körülményei közötti különbségek, a lemezpreparálási és értékelési különbségek. Kísérleteinkben ezért ugyanattól a donortól vett vérmintákat sugaraztunk be, hogy elkerüljük a donorok közötti interindividuális különbségeket. Ezen túl, laborunk 30 éve változatlan protokollja miatt a további változókat is kiküszöböltük.

A biológiai dóziszgörbe sugárterápiás kezelésnél a megfelelő kezelési paraméterek kiválasztásában segíthet. Ahhoz,



3. ÁBRA. Különböző paraméterek mellett, lineáris gyorsítón előállított röntgensugárzás relatív biológiai hatása 100 sejtben értékelt dicentrikus és ring kromoszómaaberrációk alapján

hogy összehasonlítsuk a különböző besugárzási protokollokat, relatív biológiai hatás értékeket (RBE) számoltunk. Az RBE megadja a referenciasugárzás dózisének és a vizsgált sugárzás dózisének arányát, amelyek ugyanazt a biológiai hatást eredményezik. Referenciasugárzásként a 600 MU/min 6 MV FF sugárzást használtuk.

Száz dicentrikus + ring/100 sejt értéknél, amit 5–7 Gy dózisu sugárzások okoznak, a referenciához képest 10–20% RBE-eltérés is megfigyelhető (3. ábra). A fentiek alapján legkisebb biológiai hatással az általunk alkalmazott sugárzási paraméterek közül a 600 MU/min 10 MV, míg legnagyobb biológiai hatással a 600 MU/min 6 FFF rendelkezik.

Összefoglalva, vizsgálatunkban kimutattuk, hogy különböző besugárzási paraméterekkel történő sugárzásokból mekkora dózis szükséges azonos biológiai hatás létrejöttéhez. Ezek az összefüggések fontosak a sugárterápia során, mivel így a sugárzás típusa és a leadott dózis függvényében figyelembe tudjuk venni a biológiai hatást. Egy sugárbalesetet szenvedett személy vizsgálata során különösen lényeges ennek ismerete, mivel az értékelés során kapott kromoszómaaberráció-számot különböző sugárzások esetén eltérő dózisok hozhatták létre. Az utólagos dózisbecslés pontossága azért is fontos, mert alulbecsülve a kapott dózist nem megfelelő, helytelen klinikai kezelést kaphat a beteg, míg ha túlbecsüljük a dózist, indokolatlan szorongásnak tesz-

szük ki a sugársérült személyt, valamint az egészségügyi infrastruktúrát is szükségtelenül terheljük.

### KUTATÁSI TÁMOGATÁS

A munka a 2020. évi tématerületi kiválósági program keretén belül készült (TKP2020\_NKA-26).

### KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A szerzők ezúton is szeretnék megköszönni a TrueBeam besugárzó készülék személyzetének a segítségét a kísérletek lebonyolításában, valamint Vass Nagyzezsda és Kiss Krisztina asszisztensek munkáját a kromoszómaaberrációk kiértékelésében.

### IRODALOM

- Georg D, Knoos T, McClean B. Current status and future perspective of flattening filter free photon beams. *Med Phys* 38:1280–1293, 2011
- Xiao Y, Kry SF, Popple R, et al. Flattening filter-free accelerators: a report from the AAPM Therapy Emerging Technology Assessment Work Group. *J Appl Clin Med Phys* 16:5219, 2015
- Tillman C, Grafstrom G, Jonsson AC, et al. Survival of mammalian cells exposed to ultrahigh dose rates from a laser-produced plasma x-ray source. *Radiology* 213:860–865, 1999
- Ling CC, Spiro IJ, Mitchell J, et al. The variation of OER with dose rate. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 11:1367–1373, 1985
- Michaels HB, Epp ER, Ling CC, et al. Oxygen sensitization of CHO cells at ultrahigh dose rates: prelude to oxygen diffusion studies. *Radiat Res* 76:510–521, 1978
- Ling CC, Gerweck LE, Zaider M, et al. Dose-rate effects in external beam radiotherapy redux. *Radiother Oncol* 95:261–268, 2010
- Sorensen BS, Vestergaard A, Overgaard J, et al. Dependence of cell survival on instantaneous dose rate of a linear accelerator. *Radiother Oncol* 101:223–225, 2011
- Lohse I, Lang S, Hrbacek J, et al. Effect of high dose per pulse flattening filter-free beams on cancer cell survival. *Radiother Oncol* 101:226–232, 2011
- Nakano H, Minami K, Yagi M, et al. Radiobiological effects of flattening filter-free photon beams on A549 non-small-cell lung cancer cells. *J Radiat Res* 59:442–445, 2018
- Savage JR. Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. *J Med Genet* 13:103–122, 1976
- Edwards AA. The use of chromosomal aberrations in human lymphocytes for biological dosimetry. *Radiat Res* 148(5 Suppl):S39–44, 1997
- Albertini RJ, Anderson D, Douglas GR, et al. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. International Programme on Chemical Safety. *Mutat Res* 463:111–172, 2000
- IAEA-International Atomic Energy Agency. Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation Emergencies. In: *EPR Biodosimetry*. Vienna 2011
- Deperas J, Szluinska M, Deperas-Kaminska M, et al. CABAS: a freely available PC program for fitting calibration curves in chromosome aberration dosimetry. *Radiat Prot Dosimetry* 124:115–123, 2007
- Lemos-Pinto MM, Cadena M, Santos N, et al. A dose-response curve for biodosimetry from a 6 MV electron linear accelerator. *Braz J Med Biol Res* 48:908–914, 2015
- Martins V, Antunes AC, Monteiro Gil O. Implementation of a dose-response curve for gamma-radiation in the Portuguese population by use of the chromosomal aberration assay. *Mutat Res* 750:50–54, 2013
- Schroder H, Heimers A. Chromosome aberrations induced in human lymphocytes by in vitro and in vivo X-rays. *Mutat Res* 517:167–172, 2002
- Barquinero JF, Barrios L, Caballin MR, et al. Establishment and validation of a dose-effect curve for gamma-rays by cytogenetic analysis. *Mutat Res* 326:65–69, 1995
- Beinke C, Braselmann H, Meineke V. Establishment of an x-ray standard calibration curve by conventional dicentric analysis as prerequisite for accurate radiation dose assessment. *Health Phys* 98:261–268, 2010
- Prasanna PG, Moroni M, Pellmar TC. Triage dose assessment for partial-body exposure: dicentric analysis. *Health Phys* 98:244–251, 2010
- Vinnikov VA, Ainsbury EA, Maznyk NA, et al. Limitations associated with analysis of cytogenetic data for biological dosimetry. *Radiat Res* 174:403–414, 2010
- Lindholm C, Luomahaara S, Koivistoinen A, et al. Comparison of dose-response curves for chromosomal aberrations established by chromosome painting and conventional analysis. *Int J Radiat Biol* 74:27–34, 1998
- Romm H, Oestreicher U, Kulka U. Cytogenetic damage analysed by the dicentric assay. *Ann Ist Super Sanita* 45:251–259, 2009
- Bauchinger M. Microdosimetric aspects of the induction of chromosome aberrations. In: *Radiation induced chromosome damage in man*. Ed. Ishihara T, Alan R. Liss, Inc, New York 1983, pp. 1–22
- Wilkins RC, Romm H, Kao TC, et al. Interlaboratory comparison of the dicentric chromosome assay for radiation biodosimetry in mass casualty events. *Radiat Res* 169:551–560, 2008
- Lloyd D, Edwards AA, Prosser JS. Chromosome aberrations induced in human lymphocytes by in vitro acute X and gamma radiation. *Radiat Prot Dosimetry* 15:83–88, 1986
- Vinnikov VA, Maznyk NA. Cytogenetic dose-response in vitro for biological dosimetry after exposure to high doses of gamma-rays. *Radiat Prot Dosimetry* 154:186–197, 2013