บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความนำ

รังสีรักษา (radiation therapy) คือ การใช้รังสียับยั้งการเจริญเติบโตของโรคมะเร็ง โดยเนื้อเยื่อมะเร็งนั้น จะประกอบด้วย clonogenic cell ที่มีความสามารถในการแบ่งตัวอย่างไม่จำกัด[1] การรักษาด้วยรังสีก็เพื่อที่จะใช้รังสีทำลาย clonogenic cell ให้หมดไป ทั้งนี้เนื่องจากมะเร็งสามารถเกิดได้จาก clonogenic cell เพียงเซลล์เดียว [2] และจำนวนของ clonogenic cell นี้เองที่เป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่จะกำหนดโอกาสในการรักษาโรคมะเร็งให้หายขาด[3,4] และโอกาสในการควบคุมโรคมะเร็ง (tumor control probability : TCP) สามารถประเมินได้โดยใช้กฎของ Poisson ดังสมการ 1-1 โดยค่า TCP มีความสัมพันธ์กับจำนวน tumor clonogenic cell (k) และสัดส่วนการอยู่รอดของเซลล์เมื่อได้รับรังสี (surviving fraction, S)

$$TCP = \exp(-KS) \qquad (1\text{-}1)$$

ซึ่งเป้าหมายในการรักษาคือ ให้ค่า TCP สูงสุด ซึ่งหมายถึงสัดส่วนการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งหลังจากได้รับรังสีต้องน้อยที่สุดเช่นกัน

1.2 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

การฉายรังสีเป็นวิธีหนึ่งที่นำมาใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง โดยเป้าหมายที่สำคัญในการรักษาคือให้ก้อนมะเร็งได้รับปริมาณรังสีสูงสุด เพื่อเพิ่มโอกาสในการควบคุมโรคมะเร็ง ในขณะเดียวกันให้เนื้อเยื่อปกติได้รับปริมาณรังสีน้อยที่สุด เพื่อลดโอกาสของการเกิดผลข้างเคียง (normal tissue complication probability : NTCP) ปัจจุบันได้มีการพัฒนาการฉายรังสีเทคนิคขั้นสูง (advanced radiotherapy techniques) ขึ้นมาหลายวิธี เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการรักษา เช่น การฉายรังสีพิกัดจุด (Stereotactic radiotherapy : SRT) เป็นการรักษาโรคมะเร็งด้วยเทคนิคการฉายรังสีจากภายนอกที่มีการใช้อุปกรณ์กำหนดพิกัดแบบสามมิติ โดยใช้ลำรังสีขนาดเล็กจากหลายทิศทาง ในแนวของสามมิติพุ่งตรงสู่เป้าหมาย อาจจะมีจุดศูนย์กลาง (isocenter) จุดเดียวหรือหลายจุดก็ได้ [5] สำหรับเทคนิคการฉายรังสีพิกัดจุดแยกตามชนิดของแหล่งกำเนิดรังสี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

อุปกรณ์และวิธีการได้หลายวิธี คือ การฉายรังสีแกมมาไนฟ์ (Gamma knife) และการฉายรังสีเอกซ์ไนฟ์ (X-knife) ซึ่งการฉายรังสีด้วยเครื่องที่ให้กำเนิดรังสีเอกซ์ จะขึ้นอยู่กับอุปกรณ์ที่ใช้กำกับลำรังสีในการเปิดพื้นที่รังสี เช่น เครื่องกำกับลำรังสีทรงกระบอก (cylindrical cone collimator) ขนาดของลำรังสีจะขึ้นกับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ส่วนเครื่องกำกับลำรังสีแบบไมโครมัลติลีฟคอลลิเมเตอร์ (micro-multileaf collimator: mMLC) ใช้มัลติลีฟคอลลิเมเตอร์ปรับรูปร่างลำรังสีให้เหมือนกับรอยโรคในทิศทางลำรังสีนั้นๆ สำหรับเครื่องกำกับลำรังสีทรงกระบอกแขนกล (Cyber knife) จะมีลักษณะการเคลื่อนที่ได้ทุกทิศทาง ทุกองศาของมุม มีอุปกรณ์ในการตรวจสอบความถูกต้องของตำแหน่งการฉาย จึงทำให้การฉายรังสีด้วยเครื่อง Cyber knife สามารถฉายได้ทุกส่วนของร่างกาย [6,7]

นอกจากนี้การฉายรังสีเทคนิคขั้นสูงที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในปัจจุบันได้แก่ เทคนิคการฉายรังสีแปรความเข้ม (Intensity modulated radiation therapy : IMRT) ซึ่งเป็นการให้รังสีที่มีความเข้มไม่สม่ำเสมอในแต่ละทิศทางของลำรังสี ขึ้นอยู่กับรูปร่างและขนาดของก้อนมะเร็งและอวัยวะสำคัญที่อยู่ในลำรังสีนั้น โดยจะใช้ระบบกำกับลำรังสีแบบมัลติลีฟคอลลิเมเตอร์ (Multileaf collimator : MLC) โดยการแปรความเข้มในแต่ละลำรังสีจะเกิดจากการแบ่งพื้นที่ ที่ฉายรังสีรวมในแต่ละลำรังสี เป็นพื้นที่รังสีย่อย ๆ เรียกว่า segment หรือ beamlet ซึ่งในแต่ละทิศทางรังสีจะประกอบด้วยพื้นที่รังสีย่อยจำนวนมาก โดยรูปร่างแต่ละ segment จะเกิดจากการเคลื่อนที่จัดเรียงตัวของมัลติลีฟคอลลิเมเตอร์ และเมื่อนำปริมาณรังสีในพื้นที่รังสีย่อยทั้งหมดในแต่ละลำรังสีรวมกัน จะทำให้เกิดความเข้มของลำรังสีที่ไม่สม่ำเสมอ ซึ่งการแปรความเข้มของลำรังสีจะขึ้นอยู่กับลักษณะการเคลื่อนที่ของมัลติลีฟคอลลิเมเตอร์

โดยเทคนิคการให้รังสีแปรความเข้มมี 2 วิธีคือ Dynamic IMRT เป็นวิธีการแปรความเข้มในแต่ละลำรังสี โดยมัลติลีฟคอลลิเมเตอร์จะมีการเคลื่อนที่ตลอดเวลาในขณะที่มีการให้รังสี ส่วน Step and shoot IMRT แหล่งกำเนิดรังสี และ มัลติลีฟคอลลิเมเตอร์จะอยู่กับที่ในขณะให้รังสี ซึ่งจะมีการจัดเรียงรูปร่างพื้นที่รังสีย่อยทุกครั้งก่อนการฉายรังสี แต่ขณะที่มัลติลีฟคอลลิเมเตอร์มีการจัดเรียงรูปร่างตามพื้นที่รังสีย่อยจะไม่มีการให้รังสี และหลังจากจัดเรียงรูปร่างเรียบร้อยแล้ว จะให้รังสีจนครบปริมาณที่กำหนดแล้วจึงหยุดฉาย ทำเช่นนี้จนครบทุกพื้นที่รังสีย่อยในทุก ๆ ตำแหน่งของมุมฉายรังสี ข้อดีของการฉายรังสีแปรความเข้มคือ การกระจายของปริมาณรังสีกระชับกับรอยโรค (target conformality) สามารถเพิ่มปริมาณรังสีที่ให้แก่ก้อนมะเร็งได้สูงขึ้น (dose escalation) ในขณะเดียวกันเนื้อเยื่อปกติข้างเคียงยังคงได้รับปริมาณรังสีในระดับต่ำ [5,8,9]

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จะเห็นได้ว่าการฉายรังสีเทคนิคขั้นสูงเป็นการฉายรังสีที่มีความซับซ้อน ส่งผลให้ใช้เวลาในการฉายรังสีต่อครั้งนาน (prolonged fraction delivery time) โดยการฉายรังสีด้วยเทคนิค SRT ใช้ระยะเวลาในการฉายรังสี ประมาณ 16-60 นาที [10] Dynamic IMRT ใช้เวลาในการฉายรังสีประมาณ 10-12 นาที [11] และ Step and shoot IMRT ใช้เวลาในการฉายรังสีประมาณ 15-45 นาที ซึ่งการฉายรังสีเทคนิคทั่วไป (conventional technique) ใช้ระยะเวลาในการฉายรังสีประมาณ 2-5 นาที [12]

อนึ่งในปัจจุบันมีการพัฒนาระบบการสร้างภาพที่ใช้ร่วมกับการฉายรังสีคือ Image guided radiotherapy (IGRT) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ถ่ายภาพรังสีเพื่อตรวจสอบตำแหน่งของก้อนมะเร็งและพื้นที่ฉายรังสีให้ถูกต้องตามแผนการรักษาก่อนและขณะฉายรังสี โดยอุปกรณ์จะติดอยู่กับเครื่องฉายรังสี และถ้าพบว่าตำแหน่งไม่ตรงตามแผนการรักษา ก็จะหยุดการให้รังสี แล้วปรับตำแหน่งให้ถูกต้อง โดยจะปรับที่ระนาบและตำแหน่งของเตียง IGRT มีบทบาทสำคัญอย่างมากในการนำมาใช้ร่วมกับการฉายรังสีเทคนิคขั้นสูง ซึ่งจะช่วยเพิ่มความถูกต้องและประสิทธิภาพในการฉายรังสีมากยิ่งขึ้น แต่อย่างไรก็ตามจะส่งผลให้ระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีเพิ่มขึ้นเช่นกัน

ดังที่กล่าวมาแล้วว่าการพัฒนาการฉายรังสีเทคนิคขั้นสูง ก็เพื่อต้องการเพิ่มประสิทธิภาพของการรักษาซึ่งการประเมินประสิทธิภาพของเทคนิคการรักษานั้น โดยส่วนใหญ่จะพิจารณาจากพารามิเตอร์ในทางฟิสิกส์ (physical parameters) เช่น การกระจายของปริมาณรังสี (isodose distribution) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรังสีและปริมาตรของเนื้อเยื่อที่ได้รับรังสี (Dose volume histogram; DVH) แต่ยังขาดการประเมินประสิทธิภาพของเทคนิคการฉายรังสี โดยใช้พารามิเตอร์ในทางชีววิทยา (biological parameters) เช่น อัตราการอยู่รอด (surviving fraction) ซึ่งจะแสดงถึงการตอบสนองของเซลล์ต่อวิธีการรักษา ดังนั้นการประเมินประสิทธิภาพของเทคนิคการฉายรังสีทั้งในด้านฟิสิกส์ควบคู่กับทางชีววิทยา จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งที่จะสามารถประเมินผลการรักษา และอธิบายผลของการตอบสนองของเซลล์มะเร็งที่ฉายรังสีด้วยเทคนิคนั้นๆได้ ในการศึกษานี้ได้มุ่งเน้นประเด็น ผลกระทบของระยะเวลาที่ใช้ในการรังสีเทคนิคขั้นสูงต่ออัตราการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.3 สรุปสาระสำคัญจากเอกสารที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาผลกระทบของระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีเทคนิคขั้นสูง ได้มีรายงานผลการวิจัยบ้างแล้ว โดยในการศึกษาผู้ทำวิจัยได้ใช้รูปแบบและวิธีการศึกษาที่แตกต่างกันออกไป โดย

Benedict SH. และคณะ (1997) [10] ได้ศึกษาผลของระยะเวลาในการฉายรังสีแบบไม่ต่อเนื่อง สำหรับเทคนิคการฉายรังสีแบบพิกัดจุด ใน human glioma cell โดยประเมินอัตราการรอดชีวิตและทำการปรับปริมาณรังสี เพื่อให้ผลทางชีววิทยาเท่ากัน พบว่าระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีนานขึ้นจะทำให้เซลล์มีอัตราการรอดชีวิตเพิ่มขึ้น และต้องเพิ่มปริมาณรังสีประมาณ 2-3 cGy ต่อนาที เมื่อระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีต่อครั้งมากกว่า 48 นาทีซึ่งเป็นเวลามาตรฐานที่คณะวิจัยใช้ในการฉายรังสีด้วยเทคนิคนี้

Wang JZ. และคณะ (2003) [12] ได้ศึกษาผลของระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีเทคนิค IMRT ต่อโอกาสในการควบคุมโรคมะเร็ง โดยประเมินจากค่า TCP โดยใช้สมการ Linear Quadratic (LQ) model ; $S = e^{(-\alpha D - \beta GD\hat{}2 + \gamma T)}$ ซึ่งอธิบายถึงผลการตอบสนองของเซลล์ต่อปริมาณรังสีในระยะเวลาต่าง ๆ และแสดงถึงความสามารถในการซ่อมแซมความเสียหายของเซลล์ เพื่อคำนวณประสิทธิภาพของการทำลายเซลล์มะเร็งในแต่ละแผนการรักษา สำหรับเทคนิค IMRT ที่จำลองขึ้นในการฉายรังสีมะเร็งต่อมลูกหมาก โดยใช้พารามิเตอร์ดังนี้ $\alpha = 0.15$ Gy^{-1}, $\alpha/\beta = 3.1$ Gy, repair half time = 16 นาที และปริมาณรังสี 1.8 Gy/fraction โดยประเมินผลของระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีตั้งแต่เวลา 0 - 45 นาที พบว่าการฉายรังสีนาน 15-45 นาที จะส่งผลให้ประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งลดลง โดยเฉพาะเซลล์ที่มีค่า α/β ต่ำ และเซลล์ที่มีความสามารถในการซ่อมแซมความเสียหายได้เร็ว

Mu X. และคณะ (2003) [11] ได้ศึกษาผลของระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีด้วยเทคนิค IMRT ที่จำลองรูปแบบการฉายรังสีให้มีความซับซ้อน โดยประเมินอัตราการรอดชีวิตของ Chinese hamster fibroblast (V79) จากการใช้สมการ LQ model ; $S = e^{(-n\alpha d - n\beta Gd\hat{}2)}$ และศึกษาโดยการทดลอง พบว่าเมื่อใช้ระยะเวลาในการฉายรังสีนานขึ้นเซลล์จะมีอัตราการรอดชีวิตเพิ่มขึ้น ซึ่งผลการประเมินอัตราการรอดชีวิตจากแบบจำลองชีววิทยา (biological model) ต่ำกว่าผลที่ได้จากการทดลอง และได้เสนอว่าการนำแบบจำลองมาใช้จะต้องมีการตรวจสอบด้วยการทดลองอีกครั้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Shibamoto Y. และคณะ (2004) [13] ได้ศึกษาผลของการฉายรังสีแบบไม่ต่อเนื่อง (intermittent exposure) เปรียบเทียบกับการฉายรังสีแบบครั้งเดียว จากการประเมินอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ EMT6 และ SCCVII โดยให้ปริมาณรังสีอย่างต่อเนื่องและมีการเว้นช่วงการให้ปริมาณรังสีตั้งแต่ 1 นาทีถึง 6 ชั่วโมง พบว่าอัตราการรอดชีวิตของ EMT6 และ SCCVII เพิ่มขึ้นเมื่อเว้นช่วงเวลาการให้รังสีตั้งแต่ 2 นาทีขึ้นไป และได้เสนอแนะว่าการฉายรังสีด้วยเทคนิค IMRT ใช้เวลาในการฉายรังสีนานและยังเป็นการให้รังสีแบบไม่ต่อเนื่อง อาจจะส่งผลต่อการเพิ่มอัตราการอยู่รอดของเซลล์ ดังนั้นการนำเทคนิค IMRT มาใช้ในการรักษาจำเป็นที่จะต้องมีการแก้ค่าปริมาณรังสีชดเชยการเกิดผลในทางชีววิทยาที่แตกต่างกัน

Sterzing F. และคณะ (2005) [14] ได้ศึกษาผลของระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีด้วยเทคนิค IMRT เปรียบเทียบกับการฉายรังสีด้วยเทคนิคทั่วไป โดยประเมินจากอัตราการรอดชีวิตของhuman melanoma และ human lymphoblast cells โดยให้ปริมาณรังสีแก่เซลล์ทั้งหมด 2 Gy พบว่าจากการจำลองรูปแบบการฉายรังสีด้วยเทคนิค IMRT ทำให้ human melanoma และ lymphoblast cells มีอัตราการรอดชีวิตเพิ่มขึ้น 6% และ 2.2% ตามลำดับ และได้ประเมินอัตราการรอดชีวิตของเซลล์โดยฉายรังสีเทคนิค IMRT ตามแผนการรักษาผู้ป่วยจริงเปรียบเทียบกับการให้รังสีด้วย four-fields box technique โดยส่งผ่านข้อมูลเพื่อฉายรังสีแก่เซลล์ที่อยู่ภายในหุ่นจำลองเนื้อเยื่อ พบว่าเซลล์มีอัตราการรอดชีวิตเพิ่มขึ้น 5.1% ดังนั้นการนำเทคนิค IMRT มาใช้ในการรักษาควรจะคำนึงถึงผลในด้านรังสีชีววิทยาด้วย

จากการศึกษารายงานวิจัยที่กล่าวมาขั้นต้นสรุปได้ว่า การใช้ระยะเวลาในการฉายรังสีต่อครั้งนาน ส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตของเซลล์เพิ่มขึ้น แต่ยังไม่มีงานวิจัยใดที่ศึกษาว่าอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ที่เพิ่มขึ้นนี้ เนื่องมาจากความเสียหายของดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้ จึงได้ทำการศึกษาผลของระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีที่มีต่อความเสียหายของดีเอ็นเอซึ่งเป็นส่วนสำคัญของเซลล์ และมีความสำคัญอย่างมากในการที่จะอธิบายถึงผลที่เกิดขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.3.1 เกณฑ์ในการวัดการตอบสนองต่อรังสี

เมื่อรังสีถ่ายเทพลังงานให้กับเซลล์จะทำให้เกิด excitation และ ionization ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงได้หลายระดับ ตั้งแต่การเปลี่ยนแปลงของ อะตอม โมเลกุล ส่วนประกอบและโครงสร้างของเซลล์ ถ้าการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นมากถึงระดับที่เซลล์ไม่สามารถซ่อมแซมกลับสู่ภาวะปกติได้จะทำให้เกิดการตาย แต่ถ้าเกิดการเปลี่ยนแปลงน้อยเซลล์ก็จะสามารถซ่อมแซมตัวเองได้ ดังนั้นในการอธิบายถึงผลการตอบสนองต่อรังสีจะหมายถึง การวัดผลของรังสีที่ทำให้เกิดการตายของเซลล์มากน้อยเพียงไร ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการประเมินโอกาสในการควบคุมโรคมะเร็ง

ในทางรังสีชีววิทยาเซลล์ตาย (cell death) หมายถึง

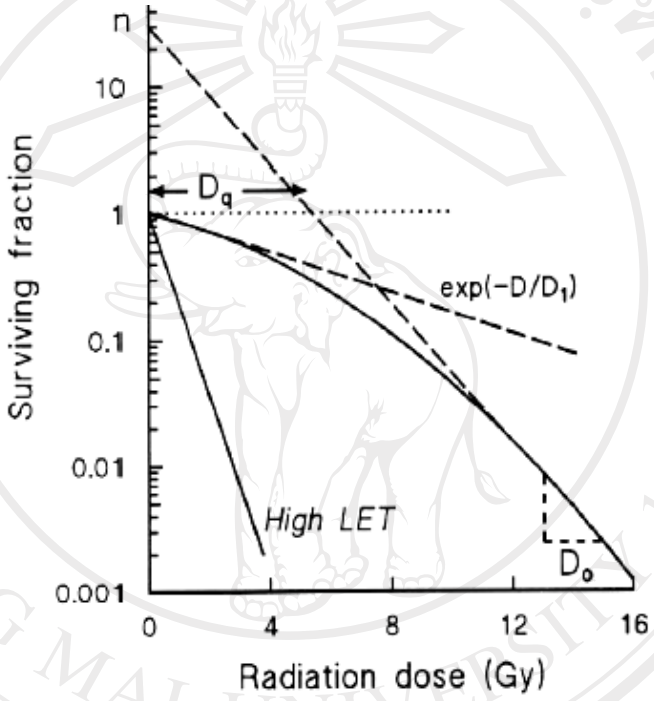
- เซลล์ไม่สามารถแบ่งตัวต่อไปได้อีก หรือแบ่งตัวได้ช้ามาก เมื่อเทียบกับเซลล์ปกติ (loss of reproductive integrity)
- เซลล์แบ่งตัวเป็นกลุ่มเซลล์ (colony) แล้วในกลุ่มเซลล์ประกอบด้วยจำนวนเซลล์น้อยกว่า 50 เซลล์ (loss of colony forming ability)
- เซลล์ไม่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ (loss of specific function) เช่น การตายของเซลล์ตับ เซลล์กล้ามเนื้อ เซลล์ประสาท

โดยจำนวนเซลล์ที่ตายหรือเสียความสามารถในการแบ่งตัวหลังจากได้รับรังสี จะเป็นสัดส่วนกับปริมาณรังสีที่ใช้ ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตกับปริมาณของรังสีเมื่อนำมาพล็อตกราฟจะได้กราฟที่เรียกว่า Cell survival curve

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.3.2 Survival curve

เป็นกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรังสี (D) กับสัดส่วนการอยู่รอดของเซลล์ (surviving fraction) ดังรูป 1.1 โดย survival curve เป็นกราฟ semi-log ซึ่งแกน x คือ ปริมาณรังสี พล็อตบน linear scale และแกน y คือ สัดส่วนการอยู่รอดของเซลล์ พล็อตบน log scale



รูป 1.1 แสดงลักษณะโดยทั่วไปของ survival curve ของ mammalian cellที่ได้รับรังสีชนิด high-LET และ low-LET [15]

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดย survival curve ของเซลล์ที่ได้รับรังสีชนิด high LET เมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้นอัตราการรอดชีวิตจะลดลงมีความสัมพันธ์เป็นแบบเส้นตรง สำหรับ survival curve ของเซลล์ที่ได้รับรังสีชนิด low LET มีลักษณะสำคัญคือ

– Shoulder region

เป็นบริเวณส่วนโค้งตอนต้นของกราฟ สำหรับ mammalian cell ความกว้างของ Shoulder region เรียกว่า Dq เป็นบริเวณที่เซลล์โดนรังสีแต่ยังไม่ตาย ซึ่งในกรณีของสัตว์ชั้นสูง

– Straight-line

เป็นบริเวณที่ต่อมาจากส่วนต้นของกราฟ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้นการตายของเซลล์ก็เพิ่มขึ้นด้วย

1.3.3 Linear-Quadratic (LQ) model

สมการ Linear – Quadratic model เป็นสมการพื้นฐานที่อธิบายผลการตอบสนองของเซลล์ต่อรังสีที่ปริมาณรังสีต่างๆ โดย LQ model มีข้อสมมุติฐานที่อธิบายถึงการตายของเซลล์ด้วยรังสีว่าประกอบด้วย 2 ส่วนคือ การตายเนื่องมาจากจากความเสียหายที่ไม่สามารถซ่อมแซมได้ nonrepairable damage ซึ่งจะเป็นสัดส่วนกับปริมาณรังสี (D) และการตายเนื่องมาจากส่วนของ repairable damage ที่ไม่ได้รับการซ่อมแซม ซึ่งเป็นสัดส่วนกับกำลังสองของปริมาณรังสี (D^2) ดังสมการที่ (1-2) [15,16]

$$S = \exp\left(-\alpha D - \beta D^2\right) \qquad (1\text{-}2)$$

โดยที่

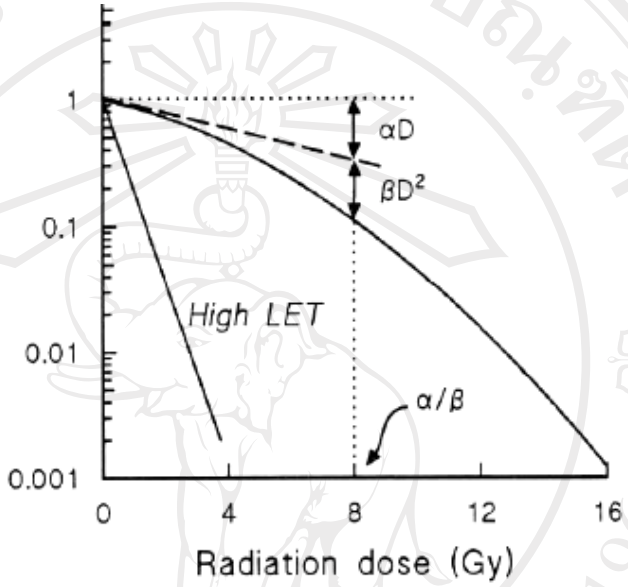
S หมายถึง สัดส่วนการรอดชีวิตของเซลล์ (surviving fraction)

α/β หมายถึง ค่าความไวในการตอบสนองต่อรังสีตามคุณสมบัติเฉพาะของเซลล์แต่ละชนิด (intrinsic radiosensitivity)

D หมายถึง ปริมาณรังสีทั้งหมด (total dose)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยค่า α เป็น rate constant of inactivation เนื่องมาจาก nonrepairable damage มีหน่วย Gy^{-1} หรือค่าความชันของกราฟส่วนต้น และค่า β เป็น rate constant of inactivation เนื่องมาจากส่วนของ repairable damage ที่ไม่ได้รับการซ่อมแซม มีหน่วย Gy^{-2} หรือค่าความชันของกราฟส่วนปลาย



รูป 1.2 แสดงลักษณะของ survival curve ที่มีพื้นฐานมาจาก LQ model ของ mammalian cell ที่ได้รับรังสีชนิด high-LET และ low-LET [15]

จากการวิเคราะห์ survival curve อาจกล่าวได้ว่า α/β เป็นปริมาณรังสีที่เหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์โดย α-process เท่ากับการตายที่เกิดจาก β-process (ดังรูป 1.2)

$$\alpha D = \beta D^2 \qquad (1\text{-}3)$$

$$D = \alpha/\beta \qquad (1\text{-}4)$$

และ α/β จะเป็นพารามิเตอร์ที่ใช้ในการบ่งบอกถึงลักษณะของ curve ว่า มีการโค้งตัวตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้นเร็วหรือช้าเพียงใด กราฟที่โค้งตัวเร็วจะมีค่า α/β น้อย ส่วนกราฟที่โค้งตัวช้าจะมีค่า α/β มาก นอกจากนี้ค่า α/β ยังใช้กำหนดถึงความไวในการตอบสนองต่อรังสีของเซลล์ โดยค่า α/β ต่ำ (late responding tissue) จะทนต่อรังสีได้ดีกว่าค่า α/β สูง (early

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

<u>การประยุกต์ใช้สมการ LQ model</u>

ได้มีการนิยมนำสมการ LQ model มาใช้ในการอธิบาย การตอบสนองต่อรังสีของเซลล์ โดย LQ model ที่แสดงในสมการที่ 1-2 เป็นสมการพื้นฐานซึ่งแสดงถึงผลการตอบสนองของเซลล์ต่อการได้รับรังสีครั้งเดียว (single dose) ที่ปริมาณรังสีต่างๆ $S = \exp\left(-\alpha D - \beta D^2\right)$ จากสมการพื้นฐานได้มีการนำสมการ LQ model มาประยุกต์ โดยนำพารามิเตอร์อื่นๆ มาพิจารณาร่วมด้วยเช่น รูปแบบการฉายรังสี ระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสี รวมถึงความสามารถในการซ่อมแซมความเสียหายของเซลล์ เพื่อที่จะอธิบายถึงการตอบสนองของเซลล์ต่อรังสีในรูปแบบต่างๆ ได้อย่างแม่นยำขึ้น

เช่นสมการที่แสดงถึงผลการตอบสนองของการฉายรังสีที่แบ่งปริมาณรังสีรวมออกเป็นการฉายรังสีย่อยหลายครั้ง (fraction) โดยที่ระยะเวลาระหว่างการฉายรังสีครั้งถัดไปนานเพียงพอที่จะเกิดการซ่อมแซมความเสียหายของ sublethal อย่างสมบูรณ์ คือ

$$S = \exp\left(-\alpha n d - n\beta d^2\right) \qquad (1\text{-}5)$$

โดยที่

n หมายถึง จำนวนครั้งในการฉายรังสี (number of fractions)

d หมายถึง ปริมาณรังสีที่ฉายต่อครั้ง (dose per fraction)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สำหรับการฉายรังสีแบบ low dose rate หรือการแบ่งปริมาณรังสีรวมต่อครั้งออกเป็นการฉายรังสีรูปแบบย่อยหลายๆครั้ง (subfraction) ซึ่งในระหว่างการฉายรังสีอาจเกิดการซ่อมแซมความเสียหายของ sublethal เกิดขึ้นได้ สามารถนำสมการ L-Q model พื้นฐานมาประยุกต์ใช้เพื่ออธิบายผลการตอบสนองของเซลล์ต่อรังสี ดังสมการ

$$S = \exp\left(-n\alpha d - nG\beta d^2\right) \qquad (1\text{-}6)$$

โดยที่

G หมายถึง ค่าแก้สำหรับการซ่อมแซมความเสียหายของ sublethal ที่เกิดขึ้นในขณะที่มีการฉายรังสี (correction for sublethal damage repair)

ซึ่งค่าแก้ G สามารถหาได้จากสมการของ Lea และ Catheside (1942) [17,18] โดยค่า G จะขึ้นกับระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีและความสามารถในการซ่อมแซมความเสียหายของ sublethal ของเซลล์ ดังสมการ

$$G_T = \frac{2\tau}{T_\delta}\left[1 - \frac{\tau}{T_\delta}\left(1-\chi\right)\right] \qquad (1\text{-}7)$$

$$\chi = \exp\left(-\frac{T_\delta}{\tau}\right) \qquad (1\text{-}8)$$

$$\tau = \left(\frac{T_{1/2}}{\ln(2)}\right) \qquad (1\text{-}9)$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยที่

T_δ	หมายถึง	ระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีต่อหนึ่งครั้ง (fraction delivery time)
τ	หมายถึง	Recovery time of sub-lethal damage
χ	หมายถึง	Exponential decay of sub-lethal damage
$T_{1/2}$	หมายถึง	Half time of sub-lethal damage repair

นอกจากนี้ยังได้มีการประยุกต์นำระยะเวลาทั้งหมดที่ใช้ในการฉายรังสีจนครบเพื่อให้ได้ปริมาณรังสีรวมตามที่กำหนด (overall treatment time) โดยคำนึงถึงเซลล์มะเร็งที่รอดชีวิตว่า จะมีการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ (repopulation) ซึ่งสามารถอธิบายถึงผลการตอบสนองต่อรังสีของเซลล์ ดังสมการ

$$S = \exp\left(-n\alpha d - nG\beta d^2 + \gamma T\right) \qquad (1\text{-}10)$$

$$\gamma = \ln(2)/\,\mathrm{Td} \qquad (1\text{-}11)$$

โดยที่

γ	หมายถึง	อัตราการเพิ่มจำนวนของเซลล์ต่อระยะเวลา(effective tumor cell repopulation rate)
Td	หมายถึง	ระยะเวลาที่เซลล์มะเร็งเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (effective tumor-potential doubling time)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.3.4 การประเมินอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ด้วยวิธีการ Colony formation assay

ในการศึกษาอัตราการรอดชีวิตของเซลล์จะสามารถประเมินอัตราการรอดชีวิตด้วยวิธี Colony formation assay ซึ่งเป็นวิธีการวัดจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตจากรังสีแบบ invitro คิดค้นโดย Puck TT. และ Marcus PI. [16] โดยนำเซลล์ที่ต้องการศึกษาซึ่งมีคุณสมบัติในการแบ่งตัวเป็น colony มาแยกเป็นเซลล์เดี่ยว แล้วนำไปฉายรังสีหลังจากนั้นนำไปเลี้ยงในจานเลี้ยงเซลล์ที่มีอาหาร (media) ที่เหมาะสม ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาพที่ปราศจากเชื้อเป็นเวลา 2 สัปดาห์ เซลล์เดี่ยวที่รอดชีวิตจะต้องมีความสามารถแบ่งตัวเป็น colony โดย 1 colony ที่มาจากเซลล์ที่รอดชีวิต จะต้องประกอบด้วยจำนวนเซลล์ตั้งแต่ 50 เซลล์ขึ้นไป อัตราการรอดชีวิตของเซลล์สามารถคำนวณได้จากค่า % plating efficiency [16] (PE) (ดังสมการที่ 1-12 และ 1-13)

$$\%\,PE = \frac{\text{จำนวนเซลล์ ที่รอดชีวิ ต}}{\text{จำนวนเซลล์เริ่มต้นในจานเลี้ยงเซลล์}} x100 \qquad (1\text{-}12)$$

$$\text{Surviving fraction (S)} = \frac{\%\,PE\ \text{เซลล์ที่ได้รับรังสี}}{\%\,PE\ \text{เซลล์ที่ไม่ได้รับรังสี}} \qquad (1\text{-}13)$$

1.3.5 การหาค่าพารามิเตอร์แสดงคุณสมบัติในการตอบสนองต่อรังสีของเซลล์

– การหาค่า α/β

ดังที่กล่าวมาแล้วว่า α/β คือ ค่าคงที่แสดงถึงความไวในการตอบสนองต่อรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ ซึ่งหาได้จากกราฟการตอบสนองต่อรังสีของเซลล์ (dose response curve) โดยนำเซลล์ไปฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่างๆ กัน จากนั้นนำเซลล์ที่ฉายรังสีเสร็จแล้ว ไปศึกษาอัตราการรอดชีวิตด้วยวิธีการ Colony formation assay เพื่อหา survival curve แล้วประเมินหาค่า α/β จากกราฟ โดยค่า α หาได้จากความชันของกราฟส่วนต้น ส่วน ค่า β หาได้จากความชันของกราฟส่วนปลาย ซึ่งค่า α/β ที่หาได้จากการทดลองแบบ invitro นั้นสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิกได้ [15]

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- **การหาค่า repair half-time (T1/2)**

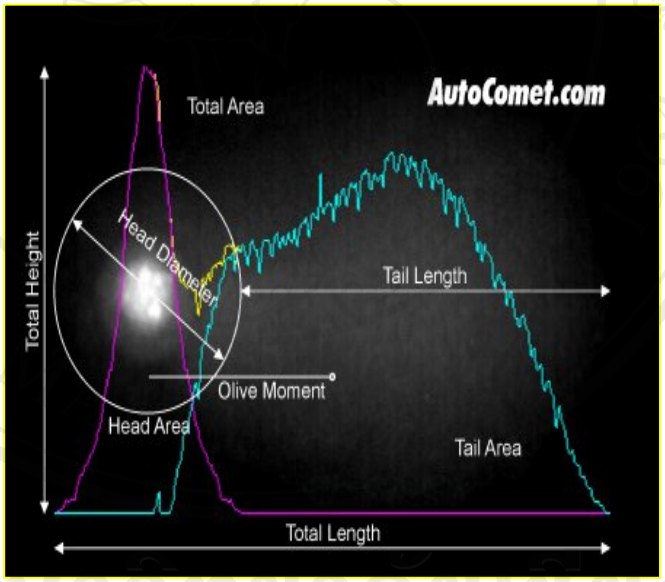
หรือระยะเวลาที่เซลล์ใช้ในการซ่อมแซมความเสียหายจนเหลือครึ่งหนึ่งของความเสียหายทั้งหมดที่เกิดขึ้น หาได้ด้วยวิธี split-dose experiment โดยนำเซลล์ไปฉายรังสี ซึ่งแบ่งปริมาณรังสีที่ต้องการฉายให้แก่เซลล์ออกเป็นสองส่วน แล้วมีการเว้นระยะเวลาระหว่างการให้รังสีทั้งสองส่วนนี้ นำเซลล์ที่ฉายรังสีเสร็จแล้วไปประเมินอัตราการรอดชีวิตด้วยวิธีการ Colony formation assay เพื่อหาอัตราการรอดชีวิต จากนั้นพล็อตกราฟระหว่างอัตราการรอดชีวิตและระยะเวลาระหว่างการให้รังสี จากกราฟสามารถหาค่า repair half-time ได้ โดยหาระยะเวลาที่ทำให้เซลล์มีอัตราการรอดชีวิตครึ่งหนึ่ง ระหว่างอัตราการรอดชีวิตสูงสุด และอัตราการรอดชีวิตต่ำสุด

1.3.6 การประเมินความเสียหายของดีเอ็นเอด้วยวิธีการ Comet assay

ขบวนการ single cell gel electrophoresis หรือ comet assay เป็นการตรวจหาความเสียหายของดีเอ็นเอ ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและมีความไวในการตรวจหาการเกิดความเสียหายของดีเอ็นเอแม้เกิดในจำนวนน้อย สามารถตรวจหาได้ในแต่ละเซลล์ คิดค้นโดย Ostling และ Johanson ในปี 1984 [19] โดยอาศัยกระบวนการไลซิส (lysis) ซึ่งเป็นขบวนการย่อยเยื่อหุ้มเซลล์และเยื่อหุ้มนิวเคลียสเพื่อให้ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอสามารถเคลื่อนที่ออกมาได้ แล้วเข้าสู่กระบวนการ DNA unwinding เป็นกระบวนคลายเกลียวของสายดีเอ็นเอ (double helix) แล้วแยกโมเลกุลของดีเอ็นเอ ด้วยกระบวนการอิเล็กโตรโฟริซิส (electrophoresis) ซึ่งเป็นกระบวนการแยกโมเลกุลที่มีขนาดแตกต่างกันด้วยกระแสไฟฟ้า ดีเอ็นเอเมื่อถูกทำลายด้วยรังสี ถ้าไม่ได้รับการซ่อมแซมจะเกิดเป็นชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ (DNA fragment) เมื่อมีการให้สนามไฟฟ้า ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอซึ่งมีประจุเป็นลบ จะเคลื่อนที่จากนิวเคลียสเข้าหาขั้วบวก โดยความเร็วของการเคลื่อนที่จะขึ้นอยู่กับขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอซึ่งชิ้นส่วนเล็กจะเคลื่อนที่ได้เร็วกว่า ทำให้สามารถแยกชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ถูกทำลายออกมาได้ หลังจากนั้นทำการย้อมสีดีเอ็นเอด้วยสารเรืองแสงที่มีคุณสมบัติจำเพาะกับดีเอ็นเอ (DNA specific fluorescent dye) แล้วนำไปถ่ายภาพด้วยกล้อง fluorescent microscope โดยใช้แสงในช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสมกับสารย้อมสี ภาพที่ปรากฏจะเห็นแสง ซึ่งจะแสดงถึงตำแหน่งของดีเอ็นเอที่อยู่ในนิวเคลียสและชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่เคลื่อนที่ออกมา ซึ่งจะปรากฏลักษณะคล้ายกับดาวหาง ประกอบด้วยส่วนหัวคือ นิวเคลียสหรือ ดีเอ็นเอที่ยังไม่ถูกทำลาย (intact DNA) และส่วนหาง (tail) คือ ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ถูกทำลาย โดยดีเอ็นเอที่แยกออกมาจากส่วนหัวเป็นสัดส่วนโดยตรงกับจำนวนของดีเอ็นเอ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- % Head intensity คือ ความเข้มส่วนหัวจะแสดงถึงดีเอ็นเอที่ไม่ถูกทำลาย
- % Tail intensity คือ ความเข้มในส่วนหางจะแสดงถึงดีเอ็นเอที่ถูกทำลาย
- Tail length คือ ความยาวทั้งหมดของส่วนหาง ซึ่งจะแสดงถึงชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่เคลื่อนที่
- Tail moment = (Tail length) x (% Tail Intensity)
- % DNA in tail = (Tail Intensity x 100) / Total Intensity



รูปที่1.3 แสดงพารามิเตอร์ที่ใช้ในการประเมินความเสียหายของดีเอ็นเอโดยวิธี Comet assay

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.4 หลักการและทฤษฎีพื้นฐาน

1.4.1 การเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยาจากรังสี

ในทางรังสีชีววิทยา เมื่อรังสีถ่ายเทพลังงานให้แก่เซลล์ จะทำให้เกิดขบวนการ excitation หรือ ionization โดยขบวนการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากผลของรังสีจะเกิดขึ้นทันทีที่รังสีทำปฏิกิริยากับเซลล์ โดยมีการเปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาต่างๆ ดังตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 การเปลี่ยนแปลงของเซลล์หลังจากทำปฏิกิริยากับรังสีในระยะเวลาต่างๆ

Stage	Time scale	Initial event	Final event
Physical	10^{-16} - 10^{-12} sec	ionization of atom	free radical formation
Physico-Chemical	10^{-12} - 10^{-2} sec	free radical formation	DNA damage
Biochemical	10sec–several hrs	DNA damage	unrepaired, misrepaired DNA
Biological	hrs - yrs	unrepaired, misrepaired DNA	death, apoptosis, mutagenesis, carcinogenesis

– การเปลี่ยนแปลงระยะ Physical

เป็นการเกิดปฏิกิริยาทางฟิสิกส์จะเกิดภายในระยะเวลา 10^{-16} ถึง 10^{-12} วินาที หลังจากได้รับรังสี โดยรังสีจะถ่ายเทพลังงานให้แก่อะตอมของตัวกลางทำให้เกิดการแตกตัวได้อิเล็กตรอนอิสระหลุดออกจากวงโคจรออกไปชน และถ่ายเทพลังงานให้แก่อิเล็กตรอนในอะตอมอื่น ๆ ข้างเคียง ซึ่งการถ่ายเทพลังงานจะถ่ายเทจนหมดพลังงานที่ได้รับมา จึงจะหยุดปฏิกิริยา และอะตอมที่สูญเสียอิเล็กตรอนนั้นเรียกว่า ionized atom ซึ่งอะตอมเหล่านี้จะไม่คงตัว และแตกตัวไปเป็นอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งจะมีความไวต่อการทำปฏิกิริยาเคมี และนำไปสู่ปฏิกิริยาลูกโซ่ทางเคมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- การเปลี่ยนแปลงระยะ Physico-Chemical

  เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในระยะเวลา 10^{-12} ถึง 10^{-2} วินาที โดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในขั้นตอน physical stage จะทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารชีวโมเลกุลต่างๆ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์ เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และกรดนิวคลีอิก

- การเปลี่ยนแปลงระยะ Biochemical

  เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในระยะเวลาตั้งแต่ 10 วินาทีจนถึงชั่วโมง โดยความเสียหายที่เกิดขึ้นกับส่วนต่าง ๆ ของเซลล์ เช่น ดีเอ็นเอ จะมีกระบวนการในการซ่อมแซมความเสียหาย ถ้าความเสียหายของดีเอ็นที่เกิดขึ้นได้รับการซ่อมแซมจะทำให้เซลล์เข้าสู่สภาวะปกติ แต่หากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนั้นรุนแรงจนทำให้ไม่สามารถซ่อมแซมความเสียหายได้ หรือซ่อมแซมไม่สมบูรณ์ก็จะทำให้สายดีเอ็นผิดปกติไป

- การเปลี่ยนแปลงระยะ Biological

  เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในระยะเวลาชั่วโมงถึงปี ซึ่งดีเอ็นเอหรือสารชีวโมเลกุลที่ไม่ได้รับการซ่อมแซมหรือซ่อมแซมไม่สมบูรณ์ อาจทำให้เกิดความผิดปกติในหน้าที่ เช่น ทำให้เกิดการตายของเซลล์หรือเกิดการผ่าเหล่า (mutation) ของเซลล์ รวมถึงการเกิดมะเร็ง โดยผลที่แสดงออกนั้นจะอยู่ในช่วงระยะเวลาตั้งแต่ชั่วโมงถึงปี ขึ้นอยู่กับระดับความเสียหาย

1.4.2 รูปแบบของความเสียหายและกระบวนการซ่อมแซมของเซลล์

ในทางรังสีชีววิทยาการถ่ายเทพลังงานของรังสีให้กับเซลล์เกิดขึ้นแบบสุ่ม ไม่แน่นอน (random) ดังนั้นการเกิดปฏิกิริยาแต่ละครั้ง อาจเกิดความเสียหายมากน้อยแตกต่างกัน ความเสียหายที่เกิดขึ้นแบ่งตามระดับความรุนแรงคือ ความเสียหายที่เซลล์ไม่สามารถซ่อมแซมได้ (irrepairable damage) นำไปสู่การตายที่เรียกว่า lethal damage และความเสียหายที่เซลล์สามารถซ่อมแซมได้ (repairable damage) ได้แก่ sublethal damage (SLD) และ potential lethal damage (PLD) [16]

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ระดับความเสียหายของเซลล์แบ่งได้เป็น 3 แบบ

1. Lethal damage (LD)

   ความเสียหายที่เซลล์ไม่สามารถซ่อมแซมได้เป็นสาเหตุทำให้เซลล์ตาย ซึ่งจะเกิดเมื่อรังสีทำปฏิกิริยากับส่วนสำคัญของเซลล์ เช่น ดีเอ็นเอ

2. Potential lethal damage (PLD)

ความเสียหายที่สามารถซ่อมแซมได้ จะขึ้นกับสภาวะของเซลล์หลังจากได้รับรังสีเช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง และ ปริมาณออกซิเจน แต่ถ้าสภาวะของเซลล์ไม่เอื้อต่อการซ่อมแซมจะมีความรุนแรงพอที่จะทำให้เซลล์ตายได้

3. Sublethal damage (SLD)

ความเสียหายของเซลล์ที่สามารถซ่อมแซมให้กลับสู่ภาวะปกติได้ ถ้าไม่ได้รับการทำลายซ้ำซึ่งจะใช้เวลาในการซ่อมแซมภายในระยะเวลาเพียงไม่กี่ชั่วโมง แต่ถ้าไม่ได้รับการซ่อมแซม ความเสียหายจะถูกสะสมและเมื่อได้รับรังสีต่อไปจะทำให้เกิดการตายได้

1.4.3 การซ่อมแซมความเสียหายของ Sublethal damage

ในการซ่อมแซมความเสียหายของ sublethal damage นอกจากจะขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์แล้วยังขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้

- ระยะห่างในการฉายรังสี (interval time)

จากการศึกษาของ Elkind และ Sutton (1960) [20] พบว่าถ้าแบ่งปริมาณรังสีที่ฉายออกเป็นสองส่วน (split dose) โดยมีการเว้นระยะเวลาในการฉายรังสีให้ห่างกันพบว่าอัตราการอยู่รอดของเซลล์เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับการให้ปริมาณรังสีนั้นเพียงครั้งเดียว (single dose) และอัตราการอยู่รอดของเซลล์จะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเว้นระยะเวลาให้ห่างกันเพิ่มขึ้น การที่อัตราการอยู่รอดของเซลล์เพิ่มขึ้นนี้ เนื่องจากเซลล์มีการซ่อมแซมความเสียหายแบบ sublethal damage ซึ่งเป็นการซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดขึ้นในระหว่างการฉายรังสี

- อัตราการแผ่รังสี (dose rate) และระยะเวลาในการฉายรังสี (delivery time)

อัตราการฉายรังสีและระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีเพื่อให้ได้ปริมาณรังสีตามที่กำหนดนั้น เป็นปัจจัยในการกำหนดการอยู่รอดของเซลล์ ที่ปริมาณรังสีเดียวกันการฉายรังสีด้วย low dose rate จะทำให้เซลล์มีอัตราการรอดชีวิตมากกว่าการฉายรังสีด้วย high dose rate เนื่องจากเกิดการซ่อมแซมความเสียหายของ sublethal damage ในระหว่างการฉายรังสี ส่วนระยะเวลาในการให้รังสี เป็นปัจจัยที่กำหนดโอกาสในการซ่อมแซมความเสียหายของ sublethal damage ในระหว่างการฉายรังสี[4,21] โดยทั่วไปเซลล์มีค่า repair half time

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.4.4 ดีเอ็นเอ (Deoxyribonucleic acid : DNA)

สารชีวโมเลกุล (biological molecules หรือ biomolecules) เป็นโมเลกุลที่ทำหน้าที่ต่างๆในร่างกาย เมื่อโมเลกุลเหล่านี้ทำปฏิกิริยากับรังสีจะเกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นเช่น มีการขาดของพันธะที่สำคัญ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในรูปร่างและหน้าที่ของโมเลกุลดังกล่าว หากมีความเสียหายรุนแรงจนไม่สามารถไม่สามารถซ่อมแซมได้หรือซ่อมแซมผิดจะทำให้สารชีวโมเลกุลไม่สามารถทำงานได้ ผลที่ตามมาคือการตายของเซลล์หรือเนื้อเยื่อ หรือเกิดการกลายพันธุ์

จากการศึกษาพบว่า ดีเอ็นเอเป็นกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ชนิดหนึ่งเป็นสารที่มีความสำคัญในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม และเป็นสารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของเซลล์ ดีเอ็นเอเป็นสารชีวโมเลกุลที่มีความสำคัญด้านรังสีชีววิทยาของเซลล์ โดยรังสีปริมาณน้อยเมื่อทำปฏิกิริยากับดีเอ็นเอก็สามารถทำให้เกิดการตายของเซลล์ได้ แต่เมื่อเทียบส่วนประกอบอื่นของเซลล์ต้องใช้ปริมาณรังสีสูงกว่า [16]

โครงสร้างของดีเอ็นเอประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วนคือ

1. เบส (base) ได้แก่

   Purine ซึ่งมี adenine (A) และ guanine (G)

   Pyrimidines มี thymine (T) และ cytosine (C)

2. น้ำตาล (sugar) คือ deoxyribose

3. Phosphate group

ดีเอ็นเอมีโครงสร้างเป็นเกลียวคู่ (double helix) ประกอบด้วย ดีเอ็นเอ 2 สายพันรอบกันคล้ายบันไดเวียน แต่ละเส้นมี deoxyribose และ phosphate เป็นโครงสร้าง (back bone) เบสต่างๆซึ่งต่อกับโมเลกุลของ deoxyribose จะหันตัวเข้าสู่แนวตั้งฉากกับแกนของโครงสร้าง เบสของดีเอ็นเอเส้นหนึ่งจะจับคู่กับเบสของอีกเส้นหนึ่ง โดยจะยึดเหนี่ยวกันด้วยพันธะไฮโดรเจน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลของรังสีต่อดีเอ็นเอ

เมื่อรังสีทำปฏิกิริยากับ ดีเอ็นเอจะมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นภายในโมเลกุล ซึ่งจะขึ้นกับชนิดและขนาดของรังสี รวมทั้งตำแหน่ง โดยการเกิดปฏิกิริยาจะแบ่งเป็น 3 รูปแบบคือ

1. Base damage

รังสีจะทำให้เบสถูกทำลาย ส่งผลต่อลำดับของเบสในสายของดีเอ็นเอ ซึ่งเป็นตัวกำหนดลำดับของกรดอะมิโนในโมเลกุลของโปรตีน หากมีการเปลี่ยนแปลงลำดับของเบสในดีเอ็นเอ จะทำให้โปรตีนที่ถูกสร้างขึ้นมีลำดับของกรดอะมิโนเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งถ้าโปรตีนนั้นมีความสำคัญอาจทำให้เซลล์ไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ หรือไม่สามารถทำงานได้ตามปกติหรือเกิดการกลายพันธุ์ (mutation)

2. Strand breakage

รังสีทำให้เกิดการขาดของสาย ดีเอ็นเอซึ่งการขาดจะมีอยู่ 2 ลักษณะคือ

2.1 Single-strand breakage เป็นการขาดของสาย ดีเอ็นเอเส้นใดเส้นหนึ่งในโมเลกุลของดีเอ็นเอ หรืออาจเกิดจากการขาดในทั้ง 2 สายในตำแหน่งที่ไม่ตรงกัน

2.2 Double-strand breakage เป็นการขาดของสายทั้ง 2 ของ ดีเอ็นเอที่เกิดในตำแหน่งที่ตรงกันและในเวลาใกล้เคียงกัน

3. Cross-linking

รังสีทำให้เกิดการ cross-link แบ่งได้เป็น 2 แบบคือ

3.1 interstrand cross-linking คือ การที่สายของดีเอ็นเอคนละคู่มาต่อกันหลังจากที่ถูกทำลายด้วยรังสี การที่โมเลกุลของดีเอ็นเอมาต่อกัน ทำให้น้ำหนักของโมเลกุลเพิ่มขึ้น ความสามารถในการละลายในน้ำลดลง และไม่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ

3.2 intrastrand cross-linking เป็น cross linking ที่เกิดขึ้นภายในโมเลกุลของดีเอ็นเอ โดยเฉพาะระหว่างเบสบางตัวเช่น thymine เป็น thymine dimmer

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สำหรับกระบวนการในการซ่อมแซมความเสียหายของดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจะประกอบด้วย 2 ส่วนคือ fast component หรือ fast repair จะเป็นการซ่อมแซมดีเอ็นเอภายในระยะเวลาประมาณ 18 นาที หลังได้รับรังสี อีกส่วนคือ slow component จะเกิดขึ้นภายในช่วงระยะเวลาประมาณ 4 ชั่วโมงหลังจากได้รับรังสี ดังนั้นในการฉายรังสีที่ใช้ระยะเวลาในการฉายรังสีต่อครั้งนาน อาจจะเกิดการซ่อมแซมความเสียหายของดีเอ็นเอแบบ fast component [23]

1.5 สมมุติฐาน

จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง จึงทำให้เกิดสมมติฐานในทางรังสีชีววิทยาว่า การฉายรังสีเทคนิคขั้นสูงเป็นวิธีการฉายรังสีที่ใช้เวลาในการฉายรังสีต่อครั้งนาน เมื่อเทียบกับการฉายรังสีเทคนิคทั่วไป ซึ่งอาจเกิดการซ่อมแซมความเสียหายของเซลล์ขึ้นในช่วงเวลาดังกล่าวและอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำลายเซลล์ที่แตกต่างกัน ทำให้เซลล์มะเร็งมีโอกาสรอดชีวิตมากขึ้น

ดังนั้นการศึกษาผลของระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีเทคนิคขั้นสูงที่มีต่อการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งและความเสียหายของดีเอ็นเอ จะสามารถประเมินถึงประสิทธิภาพของเทคนิคการฉายรังสี จากพารามิเตอร์ในทางชีววิทยานอกเหนือจากการประเมินจากพารามิเตอร์ในทางฟิสิกส์ รวมทั้งศึกษาวิธีการปรับผลในทางชีววิทยา ซึ่งผลที่ได้จะสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในทางคลินิกต่อไป

1.6 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.6.1 ศึกษาผลกระทบของระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีเทคนิคขั้นสูงต่อ

1.6.1.1 การรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งปากมดลูก เปรียบเทียบกับการฉายรังสีเทคนิคทั่วไป

1.6.1.2 ความเสียหายของดีเอ็นเอของเซลล์มะเร็งปากมดลูกเปรียบเทียบกับการฉายรังสีเทคนิคทั่วไป

1.6.2 หาปริมาณรังสีที่เหมาะสมที่ฉายให้แก่เซลล์มะเร็งปากมดลูก เพื่อชดเชยผลทางชีววิทยาที่แตกต่างกันเนื่องจากระยะเวลาในการฉายรังสี

1.7 ประโยชน์ที่จะได้รับจากการศึกษาเชิงทฤษฎีและ/หรือเชิงประยุกต์

1.7.1 ทราบถึงผลของระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีเทคนิคขั้นสูงที่มีต่อการรอดชีวิตและความเสียหายของดีเอ็นเอของเซลล์มะเร็งเปรียบเทียบกับการฉายรังสีเทคนิคทั่วไป

1.7.2 สามารถนำข้อมูลมาเป็นแนวทางในการประเมินประสิทธิภาพในการควบคุมโรคมะเร็งของการฉายรังสีเทคนิคขั้นสูง

1.7.3 สามารถนำข้อมูลไปประยุกต์ใช้ในการวางแผนการรักษาด้วยการฉายรังสีเทคนิคขั้นสูง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.8 ขอบเขตของการศึกษาวิจัย

เป็นการศึกษาถึงผลของระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีเทคนิคขั้นสูงเปรียบเทียบกับการฉายรังสีเทคนิคทั่วไป โดยประเมินผลจากการรอดชีวิตและความเสียหายของดีเอ็นเอ และหาปริมาณรังสีเพื่อชดเชยผลทางชีววิทยาที่แตกต่างกันเนื่องจากระยะเวลาดังกล่าวในเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง งานวิจัยนี้ประกอบด้วยขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

1.8.1 ศึกษาขบวนการ เครื่องมือ อุปกรณ์ และการวางแผนการรักษาด้วยการฉายรังสีเทคนิคขั้นสูง

1.8.2 ศึกษาคุณสมบัติของเซลล์ที่ใช้ในการวิจัย

เพื่อให้ทราบถึงคุณสมบัติในด้านการตอบสนองต่อรังสีของเซลล์โดย เซลล์ที่นำมาใช้ในการวิจัยคือ เซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa cell line)

1.8.2.1 ศึกษาค่า α/β

α/β หาได้จาก กราฟการตอบสนองต่อรังสีของเซลล์ (dose response curve)

1.8.2.2 ศึกษาค่า repair half-time (T1/2)

หรือระยะเวลาที่เซลล์ใช้ในการซ่อมแซมความเสียหายจนเหลือครึ่งหนึ่งของความเสียหายทั้งหมดที่เกิดขึ้น หาได้ด้วยวิธี Split-dose experiment

1.8.3 ศึกษาผลของระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีเทคนิคขั้นสูงที่มีต่อการรอดชีวิต และความเสียหายของดีเอ็นเอ เปรียบเทียบกับการฉายรังสีด้วยเทคนิคทั่วไป

- ฉายรังสีให้แก่เซลล์มะเร็งปากมดลูก โดยใช้เครื่องเร่งอนุภาคที่ให้รังสีเอกซ์พลังงาน 6 ล้านโวลต์ ตามรูปแบบที่จำลองขึ้นให้สอดคล้องกับการฉายรังสีเทคนิคขั้นสูง แบ่งเป็น 4 รูปแบบ ได้แก่ 1) เทคนิค SRT 2) Dynamic IMRT 3) Step and shoot IMRT และ 4) เทคนิคทั่วไป โดยใช้ปริมาณรังสี 200 cGy ซึ่งเป็นปริมาณรังสีมาตรฐาน สำหรับทุกรูปแบบการฉายรังสีที่จำลองขึ้น และในแต่ละรูปแบบการฉายรังสีใช้ระยะเวลาในการฉายรังสีต่างๆกัน
- ประเมินผลการรอดชีวิตด้วยวิธีการ Colony formation assay และประเมินความเสียหายของดีเอ็นเอด้วยวิธีการ Comet assay

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

– วิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธีการทางสถิติ T-test และ ANOVA

นำผลการศึกษาอัตราการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งปากมดลูก แต่ละรูปแบบการฉายรังสีเทคนิคขั้นสูง เปรียบเทียบกับการฉายรังสีด้วยเทคนิคทั่วไป ด้วย สถิติ T-test และวิเคราะห์ผลการศึกษาอัตราการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งปากมดลูก ทุกรูปแบบการฉายรังสีด้วยสถิติ ANOVA

1.8.4 ศึกษาวิธีการและสมการเพื่อประยุกต์ใช้ในการปรับผลทางชีววิทยา

ในกรณีที่อัตราการรอดชีวิตของเซลล์ที่ฉายรังสีในระยะเวลาต่าง ๆ กันตามรูปแบบที่จำลองขึ้นต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบการฉายด้วยเทคนิคทั่วไป นำสมการ LQ model สมการที่ (1-6) มาประยุกต์ใช้ในการคำนวณหาปริมาณรังสีเพื่อปรับผลทางชีววิทยาให้เท่ากัน โดยใช้ค่า α/β และค่า repair half-time ที่ได้จากการศึกษา

– นำปริมาณรังสีที่คำนวณได้ ฉายให้แก่เซลล์มะเร็งปากมดลูกแล้วประเมินผลอัตราการรอดชีวิตด้วยวิธีการ Colony formation assay เพื่อหาปริมาณรังสีที่ให้ผลทางชีววิทยาที่เท่ากัน คือ สามารถทำลายเซลล์มะเร็งได้เท่ากัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved