

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В. Н. КАРАЗІНА
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

СИПКО ТЕТЯНА СЕРГІЇВНА

УДК 575.224:576.316:612.112.94:615.849:616.006

ДИСЕРТАЦІЯ

**ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ЕФЕКТІВ
У ЛІМФОЦИТАХ ОНКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ ЗА УМОВ ДИСТАНЦІЙНОЇ
ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ ПРИ РІЗНИХ ОБСЯГАХ
ТА РЕЖИМАХ ОПРОМІНЕННЯ**

Спеціальність 03.00.15 – «Генетика»
(Біологічні науки)

Подається на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Т. С. Сипко

Науковий керівник – Мазник Наталія Олександрівна, доктор біологічних наук,
старший дослідник

Харків – 2021

АНОТАЦІЯ

Сипко Т. С. Особливості формування цитогенетичних ефектів у лімфоцитах онкологічних хворих за умов дистанційної променевої терапії при різних обсягах та режимах опромінення. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика. – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, Київ, 2021.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню закономірностей формування цитогенетичних ефектів у онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин в залежності від режимів дистанційного опромінення з низькою лінійною передачею енергії для вдосконалення біологічного супроводу променевої терапії.

Із року в рік важливість вивчення біологічних ефектів опромінення лише зростає. З одного боку, зростає інтенсивність використання радіації у всіх галузях, зокрема і у медичній. З іншої сторони, терапевтичне опромінення спричиняє пошкодження геному у непухлинних клітинах, чого не можливо повністю уникнути та що може бути причиною ранніх та віддалених наслідків радіаційного впливу, таких як променеві реакції та вторинний канцерогенез. Тож актуальною задачею генетики є вивчення цитогенетичних ефектів у нормальних тканинах людини за дії опромінення.

При виконанні дисертаційної роботи обстежено пацієнтів, максимально подібних за віком та умовами проведення радіотерапевтичного лікування. При цьому відсутність у хворих попереднього протипухлинного променевого лікування була головною умовою залучення до цитогенетичного дослідження. Серед 65 хворих віком від 43 до 84 років були присутні 35 онкогінекологічних пацієнток, 16 хворих на рак легені, 14 пацієнтів з пухлинами голови та шиї. Дистанційну променеву терапію хворим проводили на гамма-терапевтичному апараті, де енергія випромінювання дорівнювала 1,25 MeV, а потужність поглинутої дози складала 0,47 – 0,63 Гр / хв, або на лінійному прискорювачі

електронів з енергією фотонного випромінювання 6 MeV та потужність поглинутої дози 2,5 Гр / хв.

Хромосомний аналіз препаратів та електронних зображень метафазних клітин, пофарбованих за технікою Гімза- або флуоресцентного-плюс-Гімза (FPG) забарвлення, проводили у короткострокових культурах лімфоцитів периферичної крові до отримання першого сеансу променевої терапії, через 24 год після проведення першого сеансу / першої фракції, в середині курсу (СОД 20 – 22 Гр) та наприкінці опромінення (СОД 40 – 44 Гр).

Для проведення експерименту *ex vivo* з опромінення крові у дозі 2 Гр та подальшої симуляції локального опромінення серед обстежених онкологічних хворих додатково проведено забір біоматеріалу від 30 пацієнтів у віці 53 – 79 років, серед яких було 13 онкогінекологічних хворих, 9 хворих на рак легені і 8 хворих з пухлинами голови та шиї.

У рамках комплексного дослідження аналіз цитогенетичних показників у хворих з онкопатологією при променевої терапії виявив особливості реалізації цитогенетичних ефектів та показав залежність виходу хромосомних пошкоджень від таких головних чинників, як джерело опромінення та об'єм опроміненої фракції тіла. Під час дослідження, незважаючи на однакову тенденцію зростання рівня цитогенетичних пошкоджень впродовж променевого лікування, встановлено різницю у накопиченні аберації хромосом, яка залежала від джерела опромінення та локалізації пухлин. При цьому вищу інтенсивність приросту аберацій хромосом спостерігали у групі онкогінекологічних хворих. Співвідношення сумарного рівня аберацій хромосомного типу у онкогінекологічних пацієнток, хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та шиї дорівнювало до середини курсу 1 : 0,55 : 0,39, к кінцю курсу – 1 : 0,56 : 0,37. Водночас, незважаючи на вищу потужності випромінювання на лінійному прискорювачі, отримані дані свідчать про більш виражений генотоксичний ефект у лімфоцитах периферичної крові онкологічних пацієнтів за дії гамма-терапії. Співвідношення сумарного рівня аберацій хромосомного типу при гамма- та мегавольтному опроміненні у групі онкогінекологічних хворих

складало до середини курсу $1 : 0,81$, в кінці курсу – $1 : 0,85$, а у групі хворих на рак легені дорівнювало $1 : 0,63$ та $1 : 0,69$, відповідно. Інтенсивність розширення спектру клітин з абераціями хромосомного типу також була вища під час гамма-терапевтичного опромінення пацієнтів.

Характеристика цитогенетичного статусу онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин в ході терапевтичного опромінення доповнена аналізом радіаційно-неспецифічних аберацій хромосом та геномних порушень. Показано, що на відміну від онкогінекологічних хворих та пацієнтів з пухлинами голови та шиї, рівень аберацій хроматидного типу у групі хворих на рак легені зростав від початку і до кінця курсу променевого лікування, при цьому переважно за рахунок хроматидних фрагментів. Співвідношення рівня сумарної частоти аберацій хроматидного типу до початку лікування в групах онкогінекологічних пацієнток, хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та шиї дорівнювало $1,0 : 1,4 : 0,7$, до середини курсу складало $1,0 : 1,7 : 1,0$; в кінці курсу – $1,0 : 2,2 : 0,8$. При цьому, окрім рівня поліплоїдних клітин в онкогінекологічній групі, який монотонно зростав впродовж всього курсу променевого лікування, зміни рівня геномних порушень носили флуктуаційний характер та не проявляли залежності від джерела опромінення та локалізації пухлин.

На початковому етапі променевої терапії встановлено, що частота утворення маркерів радіаційного впливу залежала від локалізації пухлин, а джерело опромінення значною мірою не змінювало загальну цитогенетичну картину. Показана статистично значуща різниця для цитогенетичних показників хромосомного типу у онкогінекологічних хворих при порівнянні з іншими групами пацієнтів. Співвідношення аберацій хромосомного типу для груп онкогінекологічних пацієнток, хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та шиї дорівнювало $1 : 0,67 : 0,57$.

За даними експерименту *ex vivo* з опромінення крові пацієнтів у дозі 2 Гр встановлено, що рівень цитогенетичних пошкоджень залежав від джерела опромінення, а такий чинник, як локалізація пухлин, не впливав на результати дослідження. Так, спостерігали відносно невелике, проте статистично значуще,

перевищення сумарного рівня аберацій хромосомного типу за дії мегавольтного опромінення порівняно з гамма-опроміненням. При цьому рівень зазначених показників в групі при гамма-опроміненні перевищував значення на нульовій точці приблизно у 19,5 рази, а в групі мегавольтного опромінення – у 22 рази.

На експериментальній точці опромінення *ex vivo* в дозі 2 Гр з розведенням 1 : 9 сумарний рівень аберацій хромосомного типу був статистично значуще вищий за значення нульового контролю за обох джерел опромінення. Крім того розподіл дицентриків по клітинах мав наддисперсний характер.

Проведено співставлення даних експерименту *ex vivo* з симуляцією часткового опромінення з результатами дослідження *in vivo* при γ -опроміненні ^{60}Co та мегавольтному опроміненні. Оцінено чутливість цитогенетичного тесту за можливістю детекції радіаційного впливу та його локальності на початковому етапі променевої терапії та в експерименті *ex vivo* із симуляцією локальності опромінення.

Результати представленої роботи свідчать про важливість комплексного вивчення наслідків опромінення від різних джерел у немішених здорових клітинах, що поєднує в собі дослідження в умовах *ex vivo* та *in vivo*. Саме такий підхід та розроблений дизайн досліджень дають можливість коректно оцінити ефекти локального фракціонованого радіаційного впливу, що є одним із складних випадків сценарію опромінення та наслідки якого залежать від багатьох факторів, зокрема таких як джерело та об'єм опроміненої фракції тіла. Все це сприятиме вдосконаленню системи біологічного супроводу онкологічних хворих впродовж променевого лікування.

Ключові слова: аберації хромосом, дистанційна гамма-терапія, мегавольтна променева терапія на лінійному прискорювачі, онкогінекологічні хворі, хворі на рак легені, хворі з пухлинами голови та шиї.

АННОТАЦИЯ

Сипко Т. С. Особенности формирования цитогенетических эффектов в лимфоцитах онкологических больных во время дистанционной лучевой терапии при разных объемах и режимах облучения. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.15 – генетика. – Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина Министерства образования и науки Украины, Харьков, 2021.

Диссертационная работа посвящена исследованию закономерностей формирования цитогенетических эффектов у онкологических больных с разными локализациями опухолей в зависимости от режимов дистанционного облучения с низкой линейной передачей энергии для усовершенствования биологического сопровождения лучевой терапии.

Из года в год важность изучения биологических эффектов облучения только растет. С одной стороны, растет интенсивность использования радиации во всех областях, в том числе и в медицинской. С другой стороны, терапевтическое облучение вызывает повреждения генома в неопухолевых клетках, чего невозможно полностью избежать и что может быть причиной ранних и отдаленных последствий радиационного воздействия, таких как лучевые реакции и вторичный канцерогенез. В связи с этим актуальной задачей генетики является изучение цитогенетических эффектов в нормальных тканях человека при воздействии облучения.

При выполнении диссертационной работы обследованы пациенты, максимально подобные по возрасту и условиями проведения радиотерапевтического лечения. При этом отсутствие у больных предыдущего противоопухолевого лучевого лечения было главным условием вовлечения в цитогенетическое исследование. Среди 65 больных в возрасте от 43 до 84 лет присутствовали 35 онкогинекологических пациенток, 16 больных раком легкого,

14 пациентов с опухолями головы и шеи. Дистанционную лучевую терапию больным проводили на гамма-терапевтическом аппарате, где энергия излучения была равна 1,25 МэВ, а мощность поглощенной дозы составляла 0,47 – 0,63 Гр / мин, или на линейном ускорителе электронов с энергией фотонного излучения 6 МэВ и мощность поглощенной дозы 2,5 Гр / мин.

Хромосомный анализ препаратов и электронных изображений метафазных клеток, крашенных по технике Гимза- или флуоресцентного-плюс-Гимза (FPG) окрашивания, проводили в краткосрочных культурах лимфоцитов периферической крови до получения первого сеанса лучевой терапии, через 24 ч после проведения первого сеанса / первой фракции, в середине курса (СОД 20 – 22 Гр) и в конце облучения (СОД 40 – 44 Гр).

Для проведения эксперимента *ex vivo* с облучением крови в дозе 2 Гр и дальнейшей симуляцией локального облучения среди обследованных онкологических больных дополнительно проведен забор биоматериала от 30 пациентов в возрасте 53 – 79 лет, среди которых было 13 онкогинекологических больных, 9 больных раком легкого и 8 больных с опухолями головы и шеи.

В рамках комплексного исследования анализ цитогенетических показателей у больных с онкопатологией при лучевой терапии выявил особенности реализации цитогенетических эффектов и показал зависимость выхода хромосомных повреждений от таких главных факторов, как источник облучения и объем облученной фракции тела. В ходе исследования, несмотря на одинаковую тенденцию роста уровня цитогенетических повреждений в течение лучевого лечения, установлено разницу в накоплении аберрации хромосом, которая зависела от источника излучения и локализации опухолей. При этом более высокую интенсивность прироста аберраций хромосом наблюдали в группе онкогинекологических больных. Соотношение суммарного уровня аберраций хромосомного типа у онкогинекологических пациенток, больных раком легкого и пациентов с опухолями головы и шеи было равно к середине курса 1 : 0,55 : 0,39, к концу курса – 1 : 0,56 : 0,37. В то же время, несмотря на более

высокую мощности излучения на линейном ускорителе, полученные данные свидетельствуют о более выраженном генотоксическом эффекте в лимфоцитах периферической крови онкологических пациентов при действии гамма-терапии. Соотношение суммарного уровня aberrаций хромосомного типа при гамма- и мегавольтном облучении в группе онкогинекологических больных составляло к середине курса $1 : 0,81$, в конце курса – $1 : 0,85$, а в группе больных раком легкого было равно $1 : 0,63$ и $1 : 0,69$, соответственно. Интенсивность расширения спектра клеток с aberrациями хромосомного типа также была выше во время гамма-терапевтического облучения пациентов.

Характеристика цитогенетического статуса онкологических больных с разными локализациями опухолей в ходе терапевтического облучения дополнена анализом радиационно-неспецифических aberrаций хромосом и геномных нарушений. Показано, что в отличие от онкогинекологических больных и пациентов с опухолями головы и шеи, уровень aberrаций хроматидного типа в группе больных раком легкого возрастал от начала и до конца курса лучевого лечения, при этом преимущественно за счет хроматидных фрагментов. Соотношение уровня суммарной частоты aberrаций хроматидного типа до начала лечения в группах онкогинекологических пациенток, больных раком легкого и пациентов с опухолями головы и шеи было равно $1,0 : 1,4 : 0,7$, к середине курса составляло $1,0 : 1,7 : 1,0$; в конце курса – $1,0 : 2,2 : 0,8$. При этом, кроме уровня полиплоидных клеток в онкогинекологической группе, который монотонно возрастал в течение всего курса лучевого лечения, изменения уровня геномных нарушений носили флуктуационный характер и не проявляли зависимости от источника облучения и локализации опухолей.

На начальном этапе лучевой терапии установлено, что частота образования маркеров радиационного воздействия зависела от локализации опухолей, а источник облучения в значительной мере не менял общую цитогенетическую картину. Показана достоверная разница для цитогенетических показателей хромосомного типа у онкогинекологических больных при сравнении с другими группами пациентов. Соотношение aberrаций хромосомного типа для групп

онкогинекологических пациенток, больных раком легкого и пациентов с опухолями головы и шеи было равно 1 : 0,67 : 0,57.

По данным эксперимента *ex vivo* с облучением крови пациентов в дозе 2 Гр установлено, что уровень цитогенетических повреждений зависел от источника облучения, а такой фактор, как локализация опухолей, не влиял на результаты исследования. Так, наблюдали относительно небольшое, однако достоверное, превышение суммарного уровня aberrаций хромосомного типа при воздействии мегавольтного облучения в сравнении с гамма-облучением. При этом уровень указанных показателей в группе при гамма-облучении превышал значения на нулевой точке примерно в 19,5 раза, а в группе мегавольтного облучения – в 22 раза.

На экспериментальной точке облучения *ex vivo* в дозе 2 Гр с разведением 1 : 9 суммарный уровень aberrаций хромосомного типа был достоверно выше значения нулевого контроля при обоих источниках облучения. Кроме того распределение дицентриков по клеткам имело наддисперсный характер.

Проведено сопоставление данных эксперимента *ex vivo* с симуляцией частичного облучения с результатам исследования *in vivo* при γ -облучении ^{60}Co и мегавольтном облучении. Оценено влияние цитогенетического теста относительно возможности детекции радиационного воздействия и его локальности на начальном этапе лучевой терапии и в эксперименте *ex vivo* с симуляцией локальности облучения.

Результаты представленной работы свидетельствуют о важность комплексного изучения последствий облучения от разных источников в немишенных здоровых клетках, сочетающий в себе исследования в условиях *ex vivo* и *in vivo*. Именно такой подход и разработанный дизайн исследований дают возможность корректно оценить эффекты локального фракционированного радиационного воздействия, являющийся одним из сложных случаев сценария облучения и последствия которого зависят от многих факторов, в частности таких как источник и объем облученной фракции тела. Все это будет способствовать

совершенствованию системы биологического сопровождения онкологических больных при лучевом лечении.

Ключевые слова: аберрации хромосом, дистанционная гамма-терапия, мегавольтная лучевая терапия на линейном ускорителе, онкогинекологические больные, больные раком легкого, больные с опухолями головы и шеи.

ABSTRACT

Tetiana S. Sypko. The features of cytogenetic effects formation in lymphocytes of cancer patients undergone external radiation therapy at different volumes and regimen of irradiation. – Qualification scientific work with the manuscript copyright.

Thesis for a Candidate Degree in Biology, Speciality 03.00.15 – Genetics. – V. N. Karazin Kharkiv National University, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, 2021.

This research was devoted to the study of the cytogenetic effects formation regularities in cancer patients with different tumor localizations, depending on the regimen of irradiation with low linear energy transfer to improve the biological support of radiation therapy.

In recent years the importance of studying the biological effects of radiation only grows. The intensity of radiation use is increasing in all areas, including medical. At the same time therapeutic irradiation causes genome damage in non-tumor cells, which cannot be completely avoided and which may be the cause of early and long-term consequences of radiation exposure, such as radiation reactions and secondary carcinogenesis. Therefore, one of the main tasks of genetics is study of the radiation cytogenetic effects in normal human tissues.

For performing the study patients who are similar in age and conditions of radiotherapy treatment were examined. The absence of previous radiotherapy in patients was the main condition for involvement in cytogenetic research. Among the 65 patients aged 43 to 84 years, there were 35 oncogynecological patients, 16 patients with lung cancer, 14 patients with head and neck tumors. External radiation therapy to patients

was performed on gamma-therapy apparatus with radiation energy 1,25 MeV and the absorbed dose rate 0,47 – 0,3 Gy / min or on a linear electron accelerator with photon energy 6 MeV and absorbed dose rate 2,5 Gy / min.

Cytogenetic analysis of slides and electronic images of metaphase cells stained by Giemsa- or fluorescence-plus-Giemsa (FPG) technique was carried out in short-term cultures of peripheral blood lymphocytes before the radiation therapy starts, 24 hours after the first fraction, in the middle of the course (CD 20 – 22 Gy) and at the end of irradiation (CD 40 – 44 Gy).

For *ex vivo* experiment with blood irradiation at 2 Gy dose and further local irradiation simulation among the examined cancer patients, additional biomaterial were collected from 30 patients aged 53 – 79 years, including 13 oncogynecological patients, 9 lung cancer patients and 8 head and neck cancer patients.

In a comprehensive study the cytogenetic parameters analysis in radiotherapy cancer patients revealed the cytogenetic effects features and showed the dependence of chromosomal damage on such factors as the radiation source and the volume of the irradiated body fraction. In the study, despite the similar trend of increasing levels of cytogenetic damage during radiation therapy, was found a difference in the accumulation of chromosome aberration, which depended on the irradiation source and the tumor localizations. The higher intensity of chromosome aberration growth was observed in the group of oncogynecological patients. The ratio of the total level of chromosomal aberrations in oncogynecological patients, lung cancer patients and head and neck cancer patients was equal in the middle of the course 1 : 0,55 : 0,39 and at the end of the course – 1 : 0,56 : 0,37. At the same time, despite the higher radiation power on the linear accelerator, the obtained data indicate a more pronounced genotoxic effect in the peripheral blood lymphocytes of cancer patients due to gamma therapy. The ratio of the total level of chromosome type aberrations undergone gamma- and megavolt irradiation in the group of oncogynecological patients was 1 : 0,81 in the middle of the course, at the end of the course – 1 : 0,85, and in the group of lung cancer patients was equal 1 : 0,63 and 1 : 0,69, respectively. The expansion degree of the range of cells with

chromosome type aberrations was also higher during gamma-therapeutic irradiation of patients.

The cytogenetic status characteristic of cancer patients with different tumor localizations during therapeutic irradiation was supplemented by the analysis of radiation-nonspecific chromosome aberrations and genomic abnormalities. It was shown that, in contrast to oncogynecological patients and head and neck cancer patients, the level of chromatid type aberrations in the group of lung cancer patients increased from the beginning to the end of radiation therapy, mainly due to chromatid fragments. The ratio of the level of the total chromatid type aberrations frequency before treatment in the groups of oncogynecological patients, lung cancer patients and head and neck cancer patients was 1,0 : 1,4 : 0,7, in the middle of the course was 1,0 : 1,7 : 1,0; at the end of the course – 1,0 : 2,2 : 0,8. At the same time, except for the monotonic growing of polyploid cells level in the oncogynecological group during the course of radiation treatment, changes in the level of genomic abnormalities were found to have fluctuating character and did not depend on the source of radiation and tumors localization.

At the early stage of radiotherapy, it was found that the frequency of radiation exposure markers depended on the tumor localizations but the radiation source did not significantly change the overall cytogenetic picture. A significant difference for chromosome type aberrations in oncogynecological patients in comparison with other patient groups was shown. The ratio of chromosome aberrations for groups of oncogynecological patients, lung cancer patients and head and neck cancer patients was 1 : 0,67 : 0,57.

According to an *ex vivo* experiment with irradiation of patients' blood at 2 Gy it was found that the cytogenetic damage level depended on the irradiation source but tumor localizations did not affect the study results. Thus, the small, but significant excess of the total chromosome type aberrations level was observed due to megavolt irradiation compared with gamma-irradiation. The level of these parameters in the group with gamma-irradiation exceeded the value at point before radiotherapy starts about 19,5-folds and in the group with megavolt irradiation – 22-fold.

At the experimental point of *ex vivo* irradiation at 2 Gy dose with 1 : 9 dilution the total chromosome type aberration level was significantly higher than zero control value for both radiation sources. In addition, the per-cell-distribution of dicentrics was over-dispersed.

The data of the *ex vivo* experiment with the simulation of partial body irradiation were compared with the results of the *in vivo* study at γ -irradiation with ^{60}Co and megavolt irradiation. The sensitivity of the cytogenetic test was assessed by the possibility of detecting radiation exposure and its locality at early stage of radiotherapy and in an *ex vivo* experiment with simulation of local irradiation.

The results of the presented work indicate the importance of a comprehensive study of the irradiation effects from different sources in non-target healthy cells, combining *ex vivo* and *in vivo* research. This approach and the developed research design make it possible to correctly assess the effects of local fractionated radiation exposure, which is one of the difficult cases of the irradiation scenario and the consequences of which depend on many factors, such as the source and volume of the irradiated body fraction. All this will contribute to the improvement of the system of biological support of cancer patients during radiation treatment.

Key words: chromosome aberrations, gamma-therapy, megavolt radiation therapy on the linear accelerator, oncogynecological patients, lung cancer patients, head and neck cancer patients.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Публікації у фахових виданнях України:

1. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Пшенічна Н. Д., Старенький В. П., Кругова І. М. Радіаційно-індуковані аберації хромосом у онкогінекологічних хворих та хворих з пухлинами голови та шиї при променевій терапії на лінійному прискорювачі. *ScienceRise: Biological Science*. 2018. № 3 (12). С. 24–28. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні статті)*
2. **Сипко Т. С.**, Мазник Н. О., Пшенічна Н. Д., Старенький В. П., Сухіна О. М., Кругова І. М. Вихід аберацій хромосомного типу у онкогінекологічних хворих при променевій терапії на апараті РОКУС-АМ та лінійному прискорювачі Clinac 600С. *ScienceRise: Biological Science*. 2018. № 5 (14). С. 15–21. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні статті)*
3. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Старенький В. П. Цитогенетичні ефекти у лімфоцитах онкологічних хворих в залежності від джерела опромінення та локальності радіаційного впливу у експерименті *ex vivo*. *ScienceRise: Biological Science*. 2019. № 3 (18). С. 25–31. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні статті)*
4. **Сипко Т. С.** Цитогенетичні пошкодження хроматидного типу та геномні порушення у лімфоцитах онкологічних пацієнтів з різною локалізацією пухлин при променевій терапії. *Біологія та валеологія*. 2019. Вип. 21. С. 110–120. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та*

аналіз метафазних препаратів, опрацювання отриманих результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні статті)

**Публікація у фаховому виданні України,
що входить до міжнародної наукометричної бази:**

5. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Старенький В. П., Богатиренко Н. Д., Білозор Н. В. Цитогенетичні пошкодження у хворих на рак легені при дистанційній променевої терапії. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2019. Вип. 24. С. 411–425. (**Scopus**). *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні статті)*

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

6. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Пшенічна Н. Д., Старенький В. П. Спосіб визначення надмірного опромінення у онкологічних хворих під час фракціонованої променевої терапії: пат. 107824 Україна: МПК G01N33/50. № u201512232; заявл. 10.12.2015; опубл. 24.06.2016, Бюл. № 12. 3 с. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні патенту)*

7. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Старенький В. П. Визначення надмірного опромінення в онкологічних хворих під час фракціонованої променевої терапії: Інформ. лист № 140-2017; ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва НАМН України». Київ: Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2017. 3 с. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні інформаційного листа)*

8. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Старенький В. П. Спосіб оцінки цитогенетичних ефектів променевої терапії від різних джерел опромінення онкологічних хворих. *Інформаційний бюлетень: дод. до «Журнал Національної академії медичних наук України»*. 2017. Вип. 43. С. 65–66. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні нововведення)*

9. **Сипко Т. С.**, Мазник Н. О. Цитогенетичні показники у онкологічних хворих при дистанційній променевої терапії від різних джерел опромінення. *Український радіологічний журнал*. 2017. Т. 25, вип. 4. С. 297–308. *(Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, участь у написанні статті)*

10. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Старенький В. П., Сухіна О. М., Кругова І. М. Аберації хромосом у онкологічних хворих на початковому етапі променевої терапії на апараті РОКУС-АМ та лінійному прискорювачі Clinac 600C. *Онкологія*. 2019. Т. 21, № 2. С. 165–169. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні статті)*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. Maznyk N., Vinnikov V., Sukhina A., Mikhanovsky A., **Sypko T.**, Irkha A., Schegol'kov A., Pavlenko V. Cytogenetic Technique Applications in Radiation Protection of Radiotherapy Patients // Regional and global aspects of radiation protection : Proceedings of IRPA Regional Congress for Central and Eastern Europe, 24–28 September 2007, Brasov, Romania, 2007. P. 63 (Paper T1 O-6). *(Особистий внесок здобувача – участь у обговоренні результатів та написанні тез)*

2. **Сипко Т. С.**, Пшенічна Н. Д., Мазник Н. О., Старенький В. П. Хроматидні аберації у хворих на рак легенів на різних етапах променевої терапії //

Внесок молодих спеціалістів в розвиток медичної науки і практики : матеріали наук.-практ. конф. з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки, 15 травня 2014 р., Харків, 2014. С. 180. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

3. Maznyk N., **Sypko T.**, Pschenichna N., Krugova I., Zabobonina L., Starenkiy V. Chromosome aberrations in cancer patients with different tumour localizations undergone Co⁶⁰ radiotherapy // Proceedings of the 2nd International Conference on Radiation and Dosimetry in Various Fields of Research (RAD 2014), 27–30 May 2014, Nis, Serbia, 2014. P. 391. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних)*

4. Maznyk N., Fehringer F., Johannes C., **Sipko T.**, Pshenichna N., Mueller W.-U. Cytogenetic biodosimetry for radiation emergencies: Application of image analysis and its advantage for small networks // Radiation Protection Culture – A global challenge : Proceedings of the 4th European IRPA Congress, 23–27 June 2014, Geneva, Switzerland, 2014. P. 235–236 (PS3-2/11). *(Особистий внесок здобувача – аналіз метафазних препаратів та електронних зображень, участь у статистичному аналізі даних)*

5. Maznyk N., **Sypko T.**, Pshenichna N., Krugova I., Zabobonina L., Shustov I., Starenkiy V. Comparison of chromosome aberrations outcome in cancer patients with different tumor localizations undergone ⁶⁰Co radiotherapy // Proceedings of 11th International Symposium on Chromosomal Aberrations (ISCA 11), 12–14 September 2014, Rhodes, Greece, 2014. P. 25. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних)*

6. **Сипко Т. С.**, Пшенічна Н. Д., Мазник Н. О. Мітотична активність в культурах лімфоцитів крові онкологічних хворих під час гамма-терапії ⁶⁰Co на апараті Рокус-АМ // Внесок молодих вчених і спеціалістів у розвиток медичної

науки і практики: нові перспективи : матеріали наук.-практ. конф. з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки, 15 травня 2015 р., Харків, 2015. С. 81–82. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

7. Maznyk N., **Sypko T.**, Pshenichna N., Vinnikov V., Krugova I., Zabobonina L., Shustov I., Starenkiy V. Comparison of chromosome aberrations outcome in cancer patients with different tumor localizations undergone megavolt therapy on linear accelerator // Proceedings of the 3rd International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research (RAD 2015), 8–12 June 2015, Nis, Serbia, 2015. P. 425. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних)*

8. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Пшенічна Н. Д., Ірха О. Е., Кругова І. М., Забобоніна Л. В., Шустов І. Б., Старенький В. П. Динаміка рівня аберацій хромосом у хворих з пухлинами голови та шиї, на рак легенів та на рак тіла матки в ході дистанційної променевої терапії на лінійному прискорювачі // Матеріали VI з'їзду радіобіологічного товариства України, 5–9 жовтня 2015 р., Київ, 2015. С. 86. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез, доповідь на конференції)*

9. **Сипко Т. С.**, Пшенічна Н. Д., Мазник Н. О. Мітотична активність культур лімфоцитів крові онкологічних хворих на різних етапах променевої терапії на лінійному прискорювачі // Матеріали VI з'їзду радіобіологічного товариства України, 5–9 жовтня 2015 р., Київ, 2015. С. 118–119. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез, доповідь на конференції)*

10. **Сипко Т. С.**, Мазник Н. О., Пшенічна Н. Д., Ірха О. Є. Динаміка рівня аберацій хромосомного типу у хворих на рак тіла матки під час дистанційної

гамма-терапії ^{60}Co на апараті РОКУС-АМ // Медична наука та клінічна практика – 2016 : матеріали наук.-практ. конф. з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки, 20 травня 2016 р., Харків, 2016. С. 86. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

11. **Сипко Т. С.**, Мазник Н. О., Ірха О. Є., Старенький В. П. Аберації хроматидного типу у хворих на рак легенів на різних етапах мегавольтної променевої терапії на лінійному прискорювачі Clinac 600C // Матеріали XVI Конгресу Світової Федерації Товариств, 8–23 серпня 2016 р., Берлін – Київ, 2016. С. 203. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

12. Maznyk N., **Sypko T.**, Pshenichna N., Sukhina O., Krugova I., Starenkiy V. Chromosome aberrations in lymphocytes of oncogynecological patients undergone ^{60}Co radiotherapy or megavolt therapy on linear accelerator // Proceedings of the 42nd Conference of the European Radiation Research Society (ERR 2016), 4–8 September 2016, Amsterdam, the Netherlands, 2016. P. 207. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

13. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Пшенічна Н. Д., Ірха О. Є., Сухіна О. М., Кругова І. М., Забобоніна Л. В., Старенький В. П. Аберації хромосом у онкогінекологічних хворих під час дистанційної гамма-терапії на апараті РОКУС-АМ та мегавольтної терапії на лінійному прискорювачі // Ефекти радіації та інших ксенобіотиків на репродуктивну систему і організм : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 4–7 жовтня 2016 р. : тези доп. Долина, 2016. С. 47. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

14. Maznyk N., **Sypko T.**, Pshenichna N., Sukhina O., Starenkiy V. Chromosome aberrations as biomarkers of partial body exposure in cancer patients undergone radiotherapy with different irradiation volume // Proceedings of Global Conference on Radiation Topics (ConRad 2017), 8–11 May 2017, Munich, Germany, 2017. P. 60–61. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

15. **Сыпко Т. С.** Цитогенетические эффекты у больных с опухолями головы и шеи, раком легких и раком тела матки в ходе лучевой гамма-терапии на аппарате РОКУС-АМ // Медична наука на перетині спеціальностей: сьогодення і майбутнє : матеріали наук.-практ. конф. з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки, 19 травня 2017 р., Харків, 2017. С. 104. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, опрацювання отриманих результатів, статистичний аналіз даних, написання тез, доповідь на конференції)*

16. Maznyk N., **Sypko T.**, Pshenichna N., Irkha A., Krugova I., Sukhina O., Starenkiy V. The investigation of cytogenetic effects outcome in oncogynecological cancer patients undergoing external and internal radiotherapy // Proceedings of the 5th International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research (RAD 2017), 12–16 June 2017, Nis, Serbia, 2017. P. 352. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

17. Maznyk N., **Sypko T.**, Pshenichna N., Sukhina O., Starenkiy V. Study of chromosome aberrations as biomarkers of partial body exposure in cancer patients in early stages of radiotherapy course // Proceedings of EPR-BioDose 2018, 11–15 June 2018, Munich, Germany, 2018. P. 15 (OP-11). *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

18. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Пшенічна Н. Д., Сухіна О. М., Старенький В. П. Цитогенетичні ефекти у онкогінекологічних хворих під час дистанційної та поєднаної променевої терапії. *Радіологічний вісник*. 2018. № 1–2 (66–67). С. 74. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

19. **Сипко Т. С.**, Мазник Н. О. Цитогенетичні ефекти у хворих на рак легенів на початковому та кінцевому етапах дистанційної променевої терапії. *Журнал НАМН України*. 2018. Спеціальний випуск. С. 111. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

20. Maznyk N., **Sypko T.**, Bohatyrenko N., Sukhina O., Krugova I., Starenkiy V. Cytogenetic effects in lymphocytes of cancer patients with different tumor localizations on early and late stages of radiotherapy treatment // *Proceedings of the 7th International Conference on Radiation in Various Fields of Research (RAD 2019)*, 10–14 June 2019. Nis, Serbia, 2019. P. 360. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

21. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Старенький В. П., Сухіна О. М., Красносельський М. В. Роль цитогенетичних досліджень у радіобіологічному супроводі мегавольтної променевої терапії. *Український радіологічний журнал*. 2019. Т. 27, вип. 1. Додаток 1. С. 47–48. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

22. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Старенький В. П., Сухіна О. М., Кругова І. М., Гайсенюк Л. О. Радіаційно-обумовлені та нерадіаційні цитогенетичні ефекти променевої терапії у лімфоцитах онкологічних хворих з

різними локалізаціями пухлин // Матеріали VII з'їзду радіобіологічного товариства України, 1–4 жовтня 2019 р., Київ, 2019. С. 86. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ	26
ВСТУП	28
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	35
1.1 Основні напрямки цитогенетичних досліджень радіаційного впливу непухлинні клітини при променевій терапії	35
1.2 Вивчення впливу опромінення від джерел з різною лінійною передачею енергії	45
1.3 Методологічні особливості проведення цитогенетичних досліджень при променевій терапії	57
Висновки до розділу 1	59
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	61
2.1 Характеристика обстежених пацієнтів	61
2.2 Донори крові для експерименту <i>ex vivo</i>	63
2.3 Методика проведення опромінення <i>ex vivo</i>	63
2.4 Методика проведення цитогенетичного дослідження	64
2.5 Методи статистичного аналізу результатів дослідження	67
РОЗДІЛ 3 ДОПРОМЕНЕВІ РІВНІ РАДІАЦІЙНО-СПЕЦИФІЧНИХ ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ЛІМФОЦИТАХ КРОВІ ОНКОГІНЕКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ, ХВОРИХ НА РАК ЛЕГЕНІ ТА З ПУХЛИНАМИ ГОЛОВИ ТА ШИЇ	68
Висновки до розділу 3	71
РОЗДІЛ 4 РІВЕНЬ РАДІАЦІЙНО-ІНДУКОВАНИХ ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ПОШКОДЖЕНЬ У ЛІМФОЦИТАХ КРОВІ ОНКОГІНЕКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ ТА ХВОРИХ НА РАК ЛЕГЕНІ ВПРОДОВЖ ГАММА-ТЕРАПІЇ ^{60}Co НА АПАРАТІ РОКУС-АМ	72
Висновки до розділу 4	79

РОЗДІЛ 5 РІВЕНЬ РАДІАЦІЙНО-ІНДУКОВАНИХ ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ПОШКОДЖЕНЬ У ЛІМФОЦИТАХ КРОВІ ОНКОГІНЕКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ, ХВОРИХ НА РАК ЛЕГЕНІ І ПУХЛИНАМИ ГОЛОВИ ТА ШИЇ ВПРОДОВЖ МЕГАВОЛЬТНОЇ ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ НА ЛІНІЙНОМУ ПРИСКОРЮВАЧІ CLINAC 600C	80
Висновки до розділу 5	88
РОЗДІЛ 6 РІВЕНЬ ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ПОШКОДЖЕНЬ ХРОМОСОМНОГО ТИПУ У ЛІМФОЦИТАХ КРОВІ ОНКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ ПРИ ПРОМЕНЕВІЙ ТЕРАПІЇ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ЛОКАЛІЗАЦІЇ ПУХЛИН	89
Висновки до розділу 6	97
РОЗДІЛ 7 ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ПОШКОДЖЕННЯ ХРОМАТИДНОГО ТИПУ ТА ГЕНОМНІ ПОРУШЕННЯ У ЛІМФОЦИТАХ ОНКОЛОГІЧНИХ ПАЦІЄНТІВ З РІЗНОЮ ЛОКАЛІЗАЦІЄЮ ПУХЛИН ПРИ ПРОМЕНЕВІЙ ТЕРАПІЇ	98
Висновки до розділу 7	106
РОЗДІЛ 8 РІВЕНЬ ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ПОШКОДЖЕНЬ У ЛІМФОЦИТАХ КРОВІ ОНКОГІНЕКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ, ХВОРИХ НА РАК ЛЕГЕНІ І ПУХЛИНАМИ ГОЛОВИ ТА ШИЇ НА ПОЧАТКОВОМУ ЕТАПІ ГАММА- ТА МЕГАВОЛЬТНОЇ ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ	108
Висновки до розділу 8	111
РОЗДІЛ 9 ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ЕФЕКТИ У ЛІМФОЦИТАХ ОНКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ДЖЕРЕЛА ОПРОМІНЕННЯ ТА ЛОКАЛЬНОСТІ РАДІАЦІЙНОГО ВПЛИВУ В УМОВАХ <i>EX VIVO</i>	113
9.1 Цитогенетичні ефекти у лімфоцитами онкологічних хворих в умовах <i>ex vivo</i> за дії ^{60}Co гамма- та мегавольтного випромінення	113
9.2 Цитогенетичні ефекти у лімфоцитах онкологічних хворих в експерименті з симуляції локального опромінення в умовах <i>ex vivo</i> за дії ^{60}Co гамма- та мегавольтного випромінення	119

	25
Висновки до розділу 9	121
РОЗДІЛ 10 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	122
ВИСНОВКИ	150
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ	153
Додаток А Список опублікованих праць за темою дисертації та відомості про апробацію результатів дисертації	169
Додаток Б Акт впровадження кафедри радіології та радіаційної медицини Харківського національного медичного університету	180

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ

А Кл – аберантні клітини

А Хр – аберації хромосом

А Хс – аберації хромосомного типу

А Хс_{unst} – аберації хромосомного типу (нестабільні)

А Хт – аберації хроматидного типу

Ац Фр – вільні ацентричні хромосомні фрагменти

Гіп – гіперплоїди

ГП – геномні порушення

ГТ – дистанційна гамма-терапія

Диц – дицентрики з супутніми фрагментами

Диц+ЦК – сума дицентриків і центричних кілець з супутніми фрагментами

Ерп – ендореplikації

Іхт Дел – ізохроматидні делеції

ЛПЕ – лінійна передача енергії

МТ – мегавольтна променева терапія

Ппл – поліплоїди

ПТ – променева терапія

РГШ – рак голови та шиї

РЛ – рак легені

РОД – разова осередкова доза

РТМ – рак тіла матки

СОД – сумарна осередкова доза

Тн – атипові моноцентрики (транслокації і делетовані хромосоми)

Хт Обм – хроматидні обміни

Хт Фр – хроматидні фрагменти

p – статистична вірогідність

SE – стандартна похибка середнього

t – значення критерію Стюдента

u – значення тесту Папворта

Y – середня частота цитогенетичних пошкоджень

σ^2 – дисперсія поклітинного розподілу аберацій

σ^2/Y – відношення дисперсії до середнього

ВСТУП

Актуальність теми. Використання іонізуючого випромінювання у різноманітних сферах життя людини є невід'ємною частиною сьогодення. Медицина є одним з прикладів успішного застосування радіації. Так, ефективність променевого лікування у протипухлинній терапії онкологічних захворювань обумовила його широке використання. Однак разом з цим збільшується чисельність випадків впливу опромінення на організм людини, зокрема на хромосомний апарат. Тож однією з головних задач генетики є необхідність вивчення питання щодо пошкодження геному соматичних клітин, обумовлене дією іонізуючого опромінення. При цьому одним із непростих випадків для досліджень є часткове опромінення. Водночас дослідження у експериментах *in vitro* не дозволяють в повній мірі відтворити всі нюанси процесів, що відбуваються з плином часу за дії іонізуючого випромінювання. Тож терапевтичне опромінення як найкраще підходить в якості моделі для вивчення генетичних ефектів локального фракціонованого опромінення в умовах *in vivo*, в тому числі і в динаміці. Висока радіочутливість і специфічність утворення хромосомних аберацій обумовлює ефективне використання хромосомного аналізу.

Сучасна медицина володіє багатьма методами лікування онкопатологій, серед яких сьогодні є дуже затребуваною променева терапія [1 – 3]. Відомо, що із клітинами пухлини пошкоджуючого впливу радіації водночас зазнають і клітини здорових тканин, які безпосередньо знаходяться в зоні опромінення [4, 5]. Це може спричиняти променеві реакції різного ступеню важкості і, як наслідок, на фоні незапланованих перерв у лікуванні погіршувати ефективність променевої терапії [6]. Проте ще неможливо повністю запобігти ускладненням, які часто супроводжують терапевтичне опромінення та впливають на загальну результативність променевої терапії [7]. Також існують підстави вважати, що іонізуюче опромінення може бути причиною вторинного канцерогенезу. При динамічному розвитку радіотерапії існує прагнення до мінімізації генотоксичного впливу радіації на непухлинні клітини організму [4, 8]. Постійно йде пошук

модифікації режимів опромінення, вдосконалюється вже існуюче та з'являється нове обладнання, застосовуються якісно нові джерела опромінення [9]. Таким чином, разом із поглибленням знань про дію вже існуючих джерел опромінення, є потреба у дослідженні наслідків променевого лікування за допомогою нових джерел іонізуючого випромінювання. Променева терапія з використанням джерел опромінення з високою лінійною передачею енергії лише набуває активного застосування та вивчення. При цьому опромінення з низькою лінійною передачею енергії, таких як гамма-терапія ^{60}Co та мегавольтна терапія на лінійному прискорювачі, нині широко застосовується у лікуванні. Проте багато генетичних аспектів, що стосуються впливу та наслідків даних видів променевої терапії, потребують більш детального дослідження. Незважаючи на необхідність подібних досліджень, робіт з вивчення динаміки цитогенетичних ефектів за дії різних джерел опромінення з урахуванням локалізації онкопатології зустрічається небагато. Доволі часто виникає проблема, пов'язана із складнощами співставлення результатів різних досліджень або порівняння показників в рамках одного дослідження. Це обумовлено тим, що і досі не створено уніфікованих підходів до цитогенетичних досліджень. Зустрічаються роботи, в яких у групі дослідження об'єднували хворих з різними локалізаціями пухлин або з різними режимами опромінення, що може бути завадою для коректної оцінки впливу терапевтичного опромінення [10]. Досить часто аналіз цитогенетичних ефектів опромінення обмежувався вивченням показників на якомусь одному етапі променевої терапії. Тому на сьогодні існує брак саме комплексних досліджень, в яких би відстежували зміни цитогенетичних пошкоджень впродовж всього курсу терапії із урахуванням режиму опромінення та локалізації пухлин. Слід також відзначити, що дослідження прямих біологічних ефектів опромінення є вкрай важливими і слугуватимуть основою для подальшого вивчення віддалених та непрямих наслідків іонізуючого випромінювання.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана на кафедрі генетики і цитології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна на базі лабораторії радіаційної цитогенетики Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології

ім. С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України» в рамках планової прикладної науково-дослідної роботи шифр НАМН.01.13 «Порівняльний аналіз динаміки цитогенетичних ефектів у онкологічних хворих під час променевої гамма-терапії ^{60}Co на апараті РОКУС-АМ та мегавольтної фотонної терапії на лінійному прискорювачі» (2013–2015 рр., № державної реєстрації 0113U000049), а також є фрагментом фундаментальної науково-дослідної роботи шифр НАМН.01.16 «Визначення особливостей реалізації цитогенетичних ефектів променевої терапії у пацієнтів з різними обсягами та режимами опромінення» (2016–2018 рр., № державної реєстрації 0116U001003). Здобувач була співвиконавцем науково-дослідної роботи шифр НАМН.01.13 та відповідальним виконавцем науково-дослідної роботи шифр НАМН.01.16.

Мета дослідження. Визначити закономірності формування цитогенетичних ефектів у онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин в залежності від режимів дистанційного опромінення з низькою лінійною передачею енергії для вдосконалення біологічного супроводу променевої терапії.

Завдання дослідження.

1. Визначити цитогенетичні ефекти на етапах променевої γ -терапії ^{60}Co на апараті РОКУС-АМ у онкогінекологічних хворих та хворих на рак легені.
2. Визначити цитогенетичні ефекти на етапах променевої мегавольтної терапії на лінійному прискорювачі Clinac 600C у онкогінекологічних хворих, хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та ший.
3. Проаналізувати перебіг цитогенетичних показників у лімфоцитах онкологічних хворих при променевій терапії в залежності від локалізації пухлин.
4. Оцінити вклад різних типів аберацій хромосом у формування цитогенетичних ефектів в залежності від джерела опромінення та локалізації пухлин.
5. Визначити особливості формування цитогенетичних ефектів у лімфоцитах онкологічних хворих на початковому етапі променевої терапії у порівнянні з тестовим γ -опроміненням ^{60}Co на апараті РОКУС-АМ та мегавольтним опроміненням на лінійному прискорювачі Clinac 600C в умовах *ex vivo*.

Об'єкт дослідження: ураження хромосомного апарату лімфоцитів периферичної крові онкологічних пацієнтів з різними локалізаціями пухлин при різних режимах дистанційного опромінення.

Предмет дослідження: цитогенетичні показники в клітинах культури лімфоцитів периферичної крові онкологічних хворих до та під час променевої терапії за дії γ -випромінення ^{60}Co та мегавольтного випромінення на лінійному прискорювачі в умовах *in vivo* та *ex vivo*.

Методи дослідження: методика короткострокового культивування лімфоцитів периферичної крові людини; класичний цитогенетичний аналіз для визначення аберацій хромосомного типу, аберацій хроматидного типу та геномних порушень; аналіз електронних зображень метафазних клітин, статистичні методи для аналізу даних.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше у рамках одного дослідження було виявлено особливості формування цитогенетичних ефектів у онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин впродовж дистанційної променевої γ -терапії ^{60}Co на апараті РОКУС-АМ та мегавольтної терапії на лінійному прискорювачі Clinac 600C. Вперше було проведено порівняння цитогенетичних показників у онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин при опроміненні *in vivo* та *ex vivo* при γ -опроміненні ^{60}Co та мегавольтному опроміненні. Оцінено доцільність цитогенетичного тесту в умовах *in vivo* на початковому етапі променевої терапії при різних обсягах опроміненої фракції тіла та в умовах *ex vivo* із симуляцією локальності опромінення для детекції факту опромінення та його локальності. Вперше у рамках одного дослідження надано порівняльну оцінку змін аберацій хромосомного та хроматидного типів впродовж дистанційної променевої терапії у хворих з різними локалізаціями пухлин. Дослідження має теоретичне значення для уявлення про перебіг та реалізацію цитогенетичних ефектів у онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин при опроміненні від різних джерел.

Практичне значення отриманих результатів. Було визначено особливості формування цитогенетичних ефектів у лімфоцитах онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин на етапах променевої γ -терапії ^{60}Co на апараті РОКУС-АМ

та мегавольтної терапії на лінійному прискорювачі Clinac 600C і в умовах *ex vivo* при γ -опроміненні ^{60}Co та мегавольтному опроміненні, що вдосконалило біологічний супровід променевої терапії.

На підставі отриманих даних було проведено співставлення цитогенетичних показників у онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин при опроміненні *in vivo* та *ex vivo*. За результатами дослідження було розроблено корисну модель визначення надмірного опромінення у онкологічних хворих під час фракціонованої променевої терапії (патент на корисну модель № 107824 від 24.06.2016 р.), яка дозволить вчасно фіксувати факти переопромінення та дасть можливість скорегувати подальше радіотерапевтичне лікування хворих з онкопатологією.

Впровадження результатів дисертаційної роботи оформлено у вигляді патенту (UA 107824), а також видано інформаційний лист (№ 140-2017) про нововведення у системі МОЗ України. Результати проведеного дослідження включено до матеріалів лекцій і семінарських занять під час викладання курсу радіаційної медицини на кафедрі радіології та радіаційної медицини Харківського національного медичного університету (підтверджено Актом впровадження від 20.02.2020 р.).

Результати дослідження є важливим підґрунтям для цитогенетичного моніторингу пацієнтів з онкопатологією під час променевого лікування.

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи було опубліковано 7 статей, з яких 5 статей – у фахових виданнях України (в тому числі 1 стаття – у періодичному виданні, що входить до міжнародної наукометричної бази даних Scopus), 2 статті – в інших наукових виданнях України, 22 тези доповідей, 1 нововведення, 1 інформаційний лист, отримано 1 патент на корисну модель.

Особистий внесок здобувача. Здобувачем спільно з науковим керівником дисертації сформульовано тему та мету роботи, розроблено завдання дослідження та структуру дисертації. Здобувачем проведено аналіз літературних джерел за темою дисертації. Автор безпосередньо приймав участь у розробці методичних підходів до виконання завдань дисертаційної праці, координував та здійснював збір матеріалу для цитогенетичних досліджень. Здобувачем виконану переважну

більшість процесів з культивування лімфоцитів периферичної крові онкологічних хворих впродовж променевої терапії, процесінгу та забарвлення метафазних препаратів. Автором особисто проведено цитогенетичний аналіз із визначенням частоти аберацій хромосом та геномних порушень у культурах лімфоцитів крові хворих. Здобувачем самостійно виконано статистичний аналіз отриманих результатів, проведено узагальнення одержаних даних, написано всі розділи дисертаційної роботи, підготовлено матеріали для публікацій.

Апробація результатів дисертації. Результати дослідження було представлено на вітчизняних та міжнародних наукових конференціях:

- IRPA Regional Congress for Central and Eastern Europe (Brasov, Romania, 2007);
- 4th European IRPA Congress (Geneva, Switzerland, 2014);
- 11th International Symposium on Chromosomal Aberrations (ISCA 11) (Rhodes, Greece, 2014);
- 2nd International Conference on Radiation and Dosimetry in Various Fields of Research (RAD 2014) (Nis, Serbia, 2014);
- Науково-практична конференція з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки *«Внесок молодих спеціалістів в розвиток медичної науки і практики: матеріали»* (Харків, Україна, 2014);
- 3rd International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research (RAD 2015) (Budva, Montenegro, 2015);
- VI з'їзд радіобіологічного товариства України (Київ, Україна, 2015);
- Науково-практична конференція з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки *«Внесок молодих вчених і спеціалістів у розвиток медичної науки і практики: нові перспективи»* (Харків, Україна, 2015);
- 42nd Conference of the European Radiation Research Society (ERR 2016) (Amsterdam, the Netherlands, 2016);
- Науково-практична конференція з міжнародною участю *«Ефекти радіації та інших ксенобіотиків на репродуктивну систему і організм»* (Долина, Україна, 2016);

- XVI Конгрес Світової Федерації Товариств (Берлін, Німеччина – Київ, Україна, 2016);
- Науково-практична конференція з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки «*Медична наука та клінічна практика – 2016*» (Харків, Україна, 2016);
- 5th International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research (RAD 2017) (Budva, Montenegro, 2017);
- Global Conference on Radiation Topics (ConRad 2017) (Munich, Germany, 2017);
- Науково-практична конференція з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки «*Медична наука на перетині спеціальностей: сьогодення і майбутнє*» (Харків, Україна, 2017);
- EPR-BioDose International Conferences (Munich, Germany, 2018);
- 6-й Національний конгрес з міжнародною участю «*Радіологія в Україні*» (Київ, Україна, 2018);
- Науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 25-річчю Національної академії медичних наук України (Київ, Україна, 2018);
- 7th International Conference on Radiation in Various Fields of Research (RAD 2019) (Herceg Novi, Montenegro, 2019);
- Науково-практична конференція Українського товариства радіаційних онкологів (УТРО) за участі міжнародних фахівців «*Актуальні питання радіаційної онкології в Україні*» (Полтава, Україна, 2019);
- VII з'їзд радіобіологічного товариства України (Київ, Україна, 2019).

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 180 сторінках та ілюстрована 21 таблицею та 12 рисунками. Дисертація містить вступ, розділ з огляду наукової літератури, розділ опису матеріалів і методів дослідження, 7 розділів з результатами досліджень, розділ аналізу та узагальнень результатів дослідження, висновки, список використаних джерел, який містить 118 найменувань, 2 додатки.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Основні напрямки цитогенетичних досліджень радіаційного впливу на непухлинні клітини при променевій терапії

З моменту відкриття явища радіації масштаб її використання з кожним роком лише зростає, а сфери застосування стають все більш різноманітними. Так, іонізувальне випромінювання широко використовують у медицині. На теперішній час променева терапія (ПТ) була та залишається одним з головних і ефективних методів, що використовують у боротьбі з онкопатологією. Терапевтичний ефект радіотерапії досягається за рахунок пошкоджуючого впливу на клітини пухлини, які у кінцевому рахунку можуть спричинити їх проліферативну або інтерфазну загибель [11 – 13]. Однак одночасно із клітинами пухлини пошкоджуючого впливу радіації зазнають також клітини здорових тканин, які знаходяться в зоні опромінення, що може стати причиною променевих реакцій в нормальних тканинах. У подальшому це ускладнює проведення стандартного курсу ПТ, за якого не передбачаються перерви у лікуванні, і тим самим знижується ефективність променевої терапії [6].

Хромосомний апарат є основним об'єктом для дослідження радіобіологічних ефектів на клітинному рівні. Пошкодження хромосом, чи то кількісні, чи то якісні, можуть порушувати проліферацію, спричиняти загибель клітин на стадії інтерфази або впродовж мітотичного поділу, що призводить до розвитку радіаційно-обумовлених детерміністичних та стохастичних ефектів [14]. Індуковані опроміненням структурні зміни у ДНК є головною передумовою виникнення у подальшому різних видів хромосомних пошкоджень у вигляді аберацій та геномних порушень, для виявлення та дослідження яких досить широко застосовується цитогенетичний метод аналізу. Саме радіаційно-специфічні аберації хромосомного типу є дуже специфічними та чутливими

цитогенетичними біоіндикаторами радіаційного впливу на людину [15]. Такі властивості, як невисока спонтанна частота хромосомних аберацій у лімфоцитах периферичної крові людини, з одного боку, і висока радіочутливість хромосом, з іншого, надають можливість застосовувати хромосомний аналіз як інформативний метод дослідження в галузі радіобіології та генетики [16, 17].

До того ж, у низці досліджень було виявлено явище опосередкованої нестабільності геному, яке пов'язане з перебуванням неопромінених інтактних клітин серед безпосередньо опромінених, що властиво для локального опромінення організму. В свою чергу підвищена індивідуальна чутливість є фактором ризику, що може спровокувати розвиток радіаційно-індукованого канцерогенезу [18].

Останнім часом широкої уваги набули дослідження реакції соматичних клітин людини на вплив іонізуючого опромінення впродовж променевого лікування [19]. З удосконаленням протипухлинної терапії продовжується тривалість життя онкологічних хворих. У зв'язку з цим стає важливим вивчення ранніх та віддалених ефектів радіотерапевтичного лікування у організмі людини. Також спостерігається інтерес до опосередкованих ефектів опромінення. Проте можливість виявлення опосередкованих ефектів тісно пов'язана з розумінням процесів реалізації прямих радіаційно-індукованих пошкоджень.

Здебільшого у лабораторіях, в залежності від обраного напрямку цитогенетичних досліджень та матеріально-технічного забезпечення, найчастіше використовують наступні методи: класичний цитогенетичний аналіз для визначення нестабільних аберацій хромосом, мікроядерний тест та G-бендінг або флуоресцентну *in situ* гібридизацію (FISH) для подальшого визначення транслокацій.

Так, використання техніки FISH є доцільним та інформативним при дослідженні постпроменевої динаміки рівня цитогенетичних порушень. У той же час, у представлених нижче прикладах даних досліджень, автори отримують нову інформацію щодо методологічних аспектів застосування FISH-досліджень. У роботі [20] у хворих на рак щитоподібної залози за допомогою FISH-методу до

терапії, через 1 тиждень, 1 рік та приблизно 3,5 роки після лікування аналізували транслокації, дицентрики та ацентричні фрагменти (мічені хромосоми 1, 4 та 10). Було показано статистично значуще зростання частоти хромосомних розривів в майже 3,5 рази через 1 тиждень після лікування для всіх видів хромосомних аберацій з приблизно однаковою участю всіх мічених хромосом. Значне зниження рівня дицентриків спостерігали протягом першого року після ПТ і після 41 – 47 місяців після лікування частота аберацій хромосом дорівнювала контрольних значень. Подібні результати відносно індукції та персистенції хромосомних ушкоджень автори спостерігали у своїх попередніх експериментах *in vitro*. Також автори спростовують припущення про підвищену радіочутливість хромосоми 10 *in vivo* і, відповідно, вважають, що результати ретроспективних досліджень радіаційно-індукованих аберацій не залежать від конкретної обраної хромосоми для аналізу. Однак не всі автори дотримуються такої точки зору.

У дослідженнях [21] виявили підвищену частоту транслокацій у пацієнтів з раком яєчка порівняно з контрольною групою. Флуоресцентну *in situ* гібридизацію (мічені хромосоми 4, 6 та 7) проводили до початку лікування (у деяких пацієнтів), наприкінці променевої терапії та на декількох часових точках після ПТ, які відрізнялись для досліджуваних пацієнтів і коливались у межах від 1 до 254 місяців 1 – 254 місяці. Дослідники, виявлену ними хромосомну нестабільність, пов'язують із підвищеною частотою вторинних раків у цих пацієнтів. Після ПТ частота транслокацій зростала в 2 – 8 разів та впродовж 20 місяців після променевого лікування знижувалась до допроменевих значень. На думку авторів, саме доза та обсяг опромінення кісткового мозку мають безпосереднє значення у формуванні та збереженні стабільних аберацій хромосом.

Так само у своєму дослідженні автори [22], використовуючи FISH-техніку (мічені хромосоми 1, 3 та 4), визначали частоту стабільних хромосомних аберацій у хворих на рак грудної залози до ПТ та через 4 і 12 місяців після променевого лікування. Високий і стабільний вихід транслокацій мав місце впродовж першого року після дистанційного опромінення. Обсяг опромінення, до якого потрапляли

великі кровоносні судини, був головним визначальним фактором спостережуваних цитогенетичних наслідків та біологічної дози опромінення.

У дослідженні [23] забір крові у хворих на рак прямої кишки проводили до радіотерапії та через 2 – 3 роки після закінчення променевого лікування. Сумарна осередкова доза по закінченні променевої терапії становила 55,8 Гр. Дицентрики, центричні кільця, прості та реципрокні транслокації, а також інші складні радіаційно-специфічні перебудови аналізували за допомогою 24-кольорового FISH-тесту. При співставленні рівня хромосомних пошкоджень через 2 – 3 роки після проведення радіотерапевтичного лікування у хворих спостерігали високу міжіндивідуальну варіабельність.

Кількість робіт, де для вивчення стабільних аберації хромосом у хворих після променевої терапії використовували G-бендінг, набагато менша.

В одній із ранніх робіт [24] до та після ПТ, використовуючи методику G-бендінгу, досліджували рівень аберацій хромосомного та хроматидного типів у пацієнтів з різними онкопатологіями: 15 хворих з раком сечового міхура, 4 хворих з раком грудної залози, 3 хворих з раком легені, 2 хворих з лімфомою Ходжкіна та 1 хворий з семіномою. Частота аберантних метафаз до початку лікування дорівнювала 10 %, а по завершенню променевої терапії зростала до 33 %. Частота хромосомних аберацій до опромінення була, за виключенням хворих з раком грудної залози, значно вище за лабораторний контроль. Порівняння хромосомних аномалій, що спостерігали до та після променевого лікування, показало, що із завершенням протипухлинної терапії рівень дицентриків, кілець та реципрокних транслокацій зростав у 23, 13 та 11 разів відповідно. Іонізувальне опромінення викликало більше асиметричних, ніж симетричних хромосомних аберацій та більше двониткових розривів, ніж одониткових аномалій. Однак відсутність досліджень безпосередньо впродовж променевого лікування не дає можливості в повній мірі відобразити динаміку змін частоти та спектру цитогенетичних пошкоджень.

У дослідженні [25] були залучені пацієнти з різними онкопатологіями (лімфома Ходжкіна, пухлини голови та шиї, грудної залози, сечового міхура,

яєчника, гіпофізу) на етапах обстеження 0 – 12, 12 – 36 та 36 – 60 місяців після променевого лікування, за якого сумарна осередкова доза становила 40 – 80 Гр. Під час дослідження транслокацій за допомогою методики G-бендінгу дослідники, що спостерігали зниження частоти стабільних аберацій у хворих після завершення променевої терапії, зробили припущення щодо причин цього явища [25, 26]. Зниження рівня стабільних аберацій могло бути пов'язане із зменшенням, у зв'язку з нестабільністю, кількості клітин, що містили одночасно транс локації та дицентрики. При врахуванні клітин без нестабільних пошкоджень істотних відмінностей між різними етапами після проведення лікування за рівнем транслокації не спостерігалось. Отже, незважаючи на те, що рівень транслокацій у стабільних клітинах з плином часу не змінювався, екстраполювати ці дані для подальшого співставлення з дозою опромінення досить проблематично за дії локального опромінення у високих дозах.

Дослідження, в яких використовують мікроядерний тест при вивченні цитогенетичних ефектів протипухлинного лікування зустрічаються найчастіше при співставленні генотоксичності променевого та хіміотерапевтичного лікування. Однак бажано використання даного тесту у тандемі з іншими методами. Так, у дослідженні [27] при співставленні рівнів цитогенетичних показників за дії променевого лікування хворих на рак легені та рак яєчників застосовували виключно аналіз мікроядер, інформативність якого порівняно з аналізом хромосомних пошкоджень є досить обмеженою, про що свідчить зниження частоти мікроядер у хворих в кінці курсу ПТ, у той час, як для аберацій хромосом спостерігали протилежну ситуацію [28 – 30].

Також [31], застосовуючи мікроядерний тест, вивчали вплив хіміотерапевтичного лікування впродовж радіотерапії у пацієнтів з раком стравоходу. Дані дослідження до початку, впродовж та після завершення ПТ показують, що, незалежно від схеми проведеного лікування, не було виявлено принципової різниці за рівнем мікроядер в лімфоцитах периферичної крові хворих. В середині курсу ПТ, тобто через 12 фракцій рівень мікроядер в обох досліджуваних групах збільшувався в 4 рази при співставленні з показниками до

початку лікування. Після завершення променевої терапії, тобто через 24 фракції фракції відбувалось підвищення рівня мікроядер, що було достовірно вищим для пацієнтів, які зазнавали дії хіміопроменевого лікування. На думку авторів, помірне зростання частоти мікроядер лише після отримання повного курсу хіміопроменевого лікування може бути наслідком резистентності до кластогенних ефектів випромінювання, яка обумовлена хіміотерапією. Тому застосування хіміопрепаратів при лікуванні онкопатологій в поєднанні з радіотерапією може не спричиняти суттєвих негативних біологічних ефектів у клітинах здорових тканин. На наш погляд, для підтвердження цих висновків, є доцільним дослідити інші цитогенетичні пошкодження. Це дозволяє зробити класичний хромосомний аналіз, який серед існуючих методів є одним з найінформативніших методів для виявлення впливу радіації, в тому числі і при променевому лікуванні онкологічних пацієнтів. Нестабільні аберації хромосом в циркулюючих лімфоцитах є визнаним біологічним об'єктом для оцінки впливу іонізуючої радіації на індивідуальному та груповому рівні.

Зокрема [10], при обстеженні 8 пацієнтів з пухлинами голови та шиї вивчали в умовах *in vivo* залежність «доза-ефект» за дії локального фракціонованого опромінення впродовж променевого лікування. Забір крові проводили у кожного пацієнта до променевої терапії, впродовж (після 1-ї, 5-6-ї фракцій) та по завершенні ПТ. Майже для всіх пацієнтів обстеження здійснювали і через 4 – 6 місяців після променевої терапії. При цьому аналізували аберації хромосомного типу. Було показано, що після першого сеансу ПТ еквівалентна доза за розрахунками на все тіло виявилась нижчою ($0,07 \pm 0,04$ Гр) за дозу на все тіло, оцінену за рівнем дицентриків і центричних кілець ($0,35 \pm 0,2$ Гр). А от доза за локального опромінення тіла, розрахована за допомогою моделі Qdr, становила $2,2 \pm 0,3$ Гр, що гарно співпадає з дозою, отриманою на пухлину ($2,1 \pm 0,1$ Гр). Загальний розподіл дицентриків і центричних кілець за u-тестом Папворта був наддисперсним відносно статистики Пуассона. В цілому, ці дані свідчать, що кількість непошкоджених лімфоцитів може зростати з потужністю дози.

У дослідженні [32] аналізували аберації хромосом в лімфоцитах крові від двох пацієнтів до і після того (через 30 хв та 24 год), як вони отримали один сеанс локального ^{60}Co гамма-опромінення (6 та 8 Гр, відповідно) для паліативного лікування. Оцінку проводили виключно серед метафаз першого поділу для нестабільних аберацій хромосомного типу, включаючи дицентрики, центричні кільця і ацентричні фрагменти. Незважаючи на відсутність суттєвої різниці між середніми частотами дицентриків, отриманими після променевої терапії (через 30 хв і 24 год), дані, отримані протягом 24 год, були більш корисними щодо оцінки дози. Більш висока доза (8 Гр) на менший відсоток тіла характеризувалась недооцінкою дози. У роботі показана можливість використання цитогенетичних пошкоджень в лімфоцитах периферичної крові людини в якості маркерів для біологічної дозиметрії.

На практиці ретроспективна біологічна дозиметрія за допомогою стабільних аберацій найчастіше потрібна з плином часу у випадках рівномірного опромінення, при цьому доза повинна бути не настільки велика, щоб викликати появу багатьох клітин більше ніж з однією аберацією [25, 26]. У таких випадках частоту транслокацій, яка спостерігається через кілька років можливо використовувати для оцінки дози.

Біодозиметрія заснована на дослідженні кореляції радіаційно-індукованих біомаркерів з дозою опромінення. При цьому необхідні калібрувальні криві, що дозволяють інтерпретувати частоту дицентриків у відповідне значення поглинутої дози. Будь-яку дозову криву необхідно будувати з урахуванням головного фізичного параметру, такого як тип іонізувального випромінювання, що має низьку або високу лінійну передачу енергії (ЛПЕ) та певну потужність дози [16]. В літературі існує досить робіт з побудови дозових кривих для опромінення з низькою ЛПЕ [33], але зустрічається менше робіт для опромінення з високою ЛПЕ чи з низькою ЛПЕ в діапазоні високих доз [34].

У роботі Kadam та співавторів [35] відбувалось дозозалежне зростання цитогенетичних порушень в лімфоцитах крові онкологічних пацієнтів. При спробі біодозиметричної інтерпретації отриманих результатів, автори відзначають, що

дані дослідження можуть мати користь при прогнозуванні ймовірного вторинного канцерогенезу у хворих в залежності від дози опромінення, якого вони зазнали при променевому лікуванні.

Автори [36] після першого сеансу ПТ (1 – 6 Гр) та в деяких випадках – після третьої фракції променевої терапії здійснювали у метафазах першого мітозу аналіз аберацій хромосомного типу (дицентрики, центричні кільця, ацентричні фрагменти) серед пацієнтів з пухлинами хребта, хворих на рак шийки матки та легені. Отримані дані свідчать про нерівномірний розподіл опромінених в організмі лімфоцитів, на що вказує розподіл дицентриків по клітинах, яких залежав від ділянок радіаційного впливу.

Можливість застосування цитогенетичного аналізу для оцінки та передбачення ефектів іонізуючого випромінювання на організм людини було додатково підтверджено у дослідженнях при співставленні даних *in vivo* при гострому тотальному терапевтичному опроміненні з результатами розрахунків за дозовими кривими, що були побудовані у експериментах *in vitro* [37, 38].

Дані нечисельних досліджень вказують на належну високу інформативність цитогенетичних пошкоджень у лімфоцитах крові людини як тест-системи для кількісної оцінки гострого часткового опромінення після першої фракції ПТ [36]. Але локальний характер та різні обсяги опромінення є тими факторами, що ускладнюють інтерпретацію отриманих даних. Це обумовлює потребу у подальших дослідженнях в цьому напрямку.

Деякі автори під час досліджень використовували декілька методів аналізу. Так, дослідники [39] вивчали рівень дицентриків та вільних ацентричних фрагментів у препаратах з Гімза-забарвленням, а FISH-техніку використовували для детекції транслокацій, при цьому до розрахунків входили прості обміни, що дорівнювали сумі реципрокних транслокацій та дицентриків. Обстеження здійснювали до початку ПТ, впродовж, в кінці та через 1 рік після завершення променевої терапії у пацієнтів, хворих на рак передміхурової залози, що раніше не отримували протипухлинного лікування. У хворих до початку ПТ встановлено суттєве перевищення рівня обмінів та ацентричних фрагментів при порівнянні

з показниками у контролі, що, на думку авторів, вказує на хромосомну нестабільність у цих пацієнтів. Як і слід було очікувати, рівень дицентриків та ацентриків, а також частота простих обмінів, підвищувались з початком радіотерапії. Рівень цих показників через 1 рік після завершення ПТ неочікувано мав значення подібні до частоти відразу після проведення променевого лікування, що вказує на персистенцію хромосомної нестабільності впродовж цього періоду. Автори припускають, що виявлена ними підвищена спонтанна хромосомна нестабільність геному у обстежених хворих могла бути спричинена саме дефектами у системі репарації двониткових розривів ДНК.

Слід відзначити, що налічується багато робіт, де автори зосередили увагу на дослідженні непрямих (опосередкованих) наслідків впливу радіаційного випромінювання.

Дослідниками [40] всі обстежені хворі були розподілені за онкопатологіями на три групи – з лімфомою Ходжкіна, з семіномою яєчка та з раком гортані, а до останньої, четвертої, групи увійшли пацієнти з різними локалізаціями пухлин – з раком сечового міхура, яєчників, грудної залози, кишківника, гіпофізу, носу). Внаслідок такого групування, не зважаючи на загальний діапазон СОД від 35 до 80 Гр, у всіх досліджуваних групах, за винятком четвертої, СОД були схожі після завершення ПТ. Автори здійснювали аналіз на декількох часових точках після ПТ (від 6 до понад 60 місяців після ПТ) та досліджували не лише пошкодження хромосомного типу, а ще й хроматидного типу. В той час як для частоти клітин з нестабільними абераціям хромосомного типу спостерігали зростання з подальшим стійким зниженням, рівень клітин лише з абераціями хроматидного типу впродовж всього періоду спостереження залишався низьким. У подальшому дослідники не спостерігали зростання рівня клітин з цитогенетичними пошкодженнями, відповідно не було виявлено радіаційно-індукованої нестабільності геному.

Гіпотеза щодо можливої ролі індукції геномної нестабільності у розвитку радіаційного канцерогенезу та спадкових захворювань, обумовила інтерес до вивчення питання нестабільності хромосом на тлі протипухлинної терапії

у дитячому віці. Подальші дослідження [41] за допомогою цитогенетичного аналізу у клітинах перших мітозів серед дорослих, що зазнавали променевого лікування в дитинстві, та їх нащадків виявили схожу з ранніми дослідженнями картину. Попередні наслідки променевої терапії у дитинстві обумовили статистично значуще перевищення рівня дицентриків у цих дорослих порівняно із значеннями в групі контролю. На противагу цьому, частота хроматидних пошкоджень, найбільш пов'язаних з постійною геномною нестабільністю, не зростала. Таким чином, отримані результати не підтвердили факт передачі нащадкам геномної нестабільності, що могла бути обумовлена опроміненням кісткового мозку батьків. Рівень аберацій як хромосомного, так і хроматидного типів у групі нащадків був відчутно нижчим за значення у контрольній групі, за винятком дицентриків, зниження частоти яких не мало статистичної значущості. Нижчий рівень серед нащадків не має доказів того, що нестабільність хромосом проявляється у соматичних клітинах обстежених нащадків. Відповідно, у рамках даного дослідження нестабільність геному не була обумовлена променевою терапією у тих хворих, що зазнавали побідної терапії, і не підтверджено, що це трансгенераційний ефект радіаційного впливу.

Останнім десятиріччям стрімко розвивається пошук нових біомаркерів радіаційного впливу, які можуть бути використані в якості показників виникнення ускладнень у клітинах нормальних тканин після терапевтичного опромінення. Але не дивлячись на високу кошовність даних досліджень, поки не має певності у інформативності таких біомаркерів. Підтвердженням цього є роботи, в яких не вдається повторити отримані у попередніх дослідженнях результати [42, 43]. Разом із нестабільними і стабільними абераціями хромосомного типу, досліджують також інформативність мікроядерного тесту [44], гамма-H2AX-локусів [45 – 48], ідентифікацію мікро-РНК біомаркерів [49] та ведеться пошук генів та метаболітів, чутливих до дії радіації [50 – 52]. Так, наприклад, [52] досліджували експресію генів у p53-дефіцитних клітинах Т-лімфоми людини при опроміненні альфа-частками та гамма-опроміненні для виявлення генів з високою інформативністю, за змінами експресії яких можливо було б розпізнавати якість

радіації. Дослідники [48] вивчали у нормальних культурах клітин та ракових клітинних лініях такі показники, як відновлення двониткові та одониткові розривів ДНК за дії рентгенівського випромінювання та альфа-частинок. Під час виконання зазначених тестів використовують різні модельні об'єкти за дії різних джерел та енергій опромінення [53], тому їх результати не є достатньо певними і не можуть однозначно підтвердити інформативність даних досліджень. Інтерпретація цитогенетичних показників у хворих впродовж променевого лікування, окрім іншого, значно ускладнюється браком даних щодо специфіки залежності «доза-ефект» за рівнем цитогенетичних перебудов в діапазоні високих доз радіації. Є лише незначна кількість робіт, де проводилися цитогенетичні експерименти з опромінення у дозах понад 6 Гр [13, 34, 54, 55]. Тому особливе значення мають роботи, спрямовані на дослідження специфіки утворення радіаційно-індукованих пошкоджень хромосомного апарату як в умовах *in vivo*, так і в експериментах *in vitro* під впливом локального опромінення за дії різних джерел [13].

1.2 Вивчення впливу опромінення від джерел з різною лінійною передачею енергії

Слід відзначити, що наслідки радіаційного впливу на нормальні клітини тканин залежать від коефіцієнту відносної біологічної ефективності опромінення, що характеризує тип іонізувального опромінення. Це насамперед проявляється у вигляді кількісних та якісних відмінностей утворення цитогенетичних пошкоджень, що є маркерами опромінення [16].

Зважаючи на це доволі активно досліджують ефекти променевої терапії за дії різних джерел опромінення, в тому числі за дії джерел з низькою лінійною передачею енергії. Протягом багатьох років гамма-терапія була одним із найпоширеніших видів променевої терапії у онкологічних хворих з різним онкопатологіями. Однак існує небагато робіт з дослідження динаміки цитогенетичних ефектів у хворих впродовж та після завершення променевого

лікування. В основній частині робіт з вивчення цієї проблематики проводяться дослідження лише на окремих етапах променевої терапії у пацієнтів з різними локалізаціями пухлин.

Так, автори [56] за допомогою провели одноразове дослідження, де співставляли цитогенетичні ефекти до гамма-терапії у 34 хворих на рак грудної залози та після променевого лікування у 49 хворих, що мали різні онкопатології (пухлини голови та шиї, рак легені, рак грудної залози, рак простати, рак сечового міхура, рак прямої кишки, лімфома Ходжкіна). При цьому у групі опромінених хворих СОД коливалась від 40 до 100 Гр. Дані розподілу аберацій хромосом по клітинам співставляли з розподілом Пуассона і геометричним розподілом. Наявність складних перебудов у розподілах дозволило виявити пацієнтів з високою радіочутливістю у порівнянні з іншими хворими, які характеризувались середньою клінічною реакцією на терапевтичне опромінення. За низького рівня хромосомних аберацій у неопромінених пацієнтів найчастіше спостерігали відповідність експериментального розподілу до обох теоретичних розподілів. У протилежність зазначеної групи, в групі попередньо опромінених пацієнтів у більшості випадків емпіричний розподіл описувався лише геометричним розподілом. У експериментах з опромінення *in vitro* лімфоцитів обох груп пацієнтів відзначали значну міжіндивідуальну варіабельність. Використання параметрів розподілу аберацій по клітинах дозволило виявити відмінності між досліджуваними групами хворих та віднайти чутливих до радіації пацієнтів. Автори відмічають високу ефективність FISH-техніки для виявлення і аналізу хронічних ефектів виникнення хромосомних ушкоджень.

Спеціалізованих системних досліджень з порівняння цитогенетичних реакцій радіотерапевтичного лікування у хворих з різними локалізаціями пухлин зустрічається доволі мало. Існує небагато досліджень з вивчення динаміки до, впродовж та після променевого лікування [10, 22].

Дослідження дозової залежності за локального опромінення [35] здійснювали у лімфоцитах периферичної крові пацієнтів з плоскоклітинною карциномою голови та шиї, які отримували лікування за допомогою ^{60}Co гамма-

терапії з різними кумулятивними дозам та енергією опромінення у 1,25 MeV. Опромінення пацієнтів проводилося за стандартною схемою – 5 днів на тиждень з разовою осередковою дозою у 2 Гр. Аналіз цитогенетичних пошкоджень здійснювали до початку променевої терапії і надалі протягом наступних шести тижнів з накопиченням дози у 10, 20, 30, 40, 50 та 60 Гр. Для визначення генотоксичного ефекту гамма-опромінення радіочутливість хворих вивчали, використовуючи лінійний регресійний аналіз радіаційно-індукованих аберацій хромосом. Отримані дані співставляли з результатами дослідження у тих самих хворих до проведення ПТ. Двосторонній тест ANOVA при дослідженні таких цитогенетичних показників, як дицентрики, центричні кільця та хроматидні фрагменти, показав відчутну внутрішньо- і між індивідуальну варіабельність генотоксичного ефекту. На думку авторів значні відмінності у пошкодженнях ДНК у різних пацієнтів свідчать про зміну чутливості до опромінення. Це може залежати від різних анатомічних особливостей опромінених ділянок тіла, зокрема щільність лімфатичних вузлів, ступінь кровопостачання. Зменшення розміру пухлини спостерігається щотижнево і, відповідно, повинна зменшуватися глибина проникнення дози. Оскільки великий розмір поля пухлини на початку лікування вимагає великої дози і глибини проникнення випромінювання, а через 3 тижні розмір пухлини не залишається таким самим, він зменшується, але глибина проникнення дози залишається тією ж, що має більший вплив на непухлинні клітини. Отримані дані можуть бути корисні та мати прогностичну цінність щодо можливого розвитку вторинних онкопатологій у онкохворих.

Дослідження [57] було присвячено вивченню в умовах *in vivo* дозової залежності для виходу радіаційно-специфічних аберацій хромосом в лімфоцитах периферичної крові пацієнтів з раком легені, що отримували дистанційну ^{60}Co гамма-терапію з СОД 47,5 – 70 Гр. Нестабільні хромосомні пошкодження досліджували на початку променевої терапії, через 24 години та наприкінці курсу ПТ. За біодозиметричною оцінкою даних цитогенетичного аналізу було показано, що середня локальна доза у трьох обстежених хворих, опромінених у сумарні дозі 2,5 Гр (1 Гр + 1,5 Гр), через 24 години варіювала у межах 2,1 – 3,0 Гр. Аналіз

результатів цитогенетичного дослідження виявив, що розбіжність між оцінками індивідуальних доз за рівнем хромосомних аберацій та значеннями фізичних сумарних осередкових доз в середньому становила $93 \pm 9 \%$, загалом коливаючись в діапазоні 50 – 154 %. Тож, обраний дослідниками метод Qdr для даних біодозиметричних розрахунків виявився непридатним через занижену оцінку СОД. Отримані результати свідчать про необхідність пошуку інших методів обчислення даних для удосконалення біологічної дозиметрії під час радіотерапевтичного лікування онкологічних хворих.

У роботі [58] всім хворим на рак тіла матки надавали променеве лікування із використанням ^{60}Co гамма-терапії, за якої поля опромінення становили 14 x 16 та 16 x 18 см, а СОД дорівнювала 40 Гр. Дослідження цитогенетичних показників здійснювали на FPG-забарвлених препаратах до початку, в кінці курсу лікування та через 1 рік після завершення ПТ. Аналіз пошкоджень хромосомного та хроматидного типів проводили в клітинах першого та третього і послідовних мітозів. Як і слід було очікувати, у лімфоцитах хворих під впливом променевої терапії відбувалося суттєве зростання рівня радіаційно-індукованих пошкоджень хромосом, при цьому віддалена хромосомна нестабільність проявлялась як надмірний вихід клітин з одночасною наявністю в них аберацій хромосомного та хроматидного типів. Через один рік після завершення променевого лікування середній рівень лімфоцитів з хромосомною нестабільністю знижувався до передпроменевого рівня.

Leonard із співавторами [59] вивчали наявність ди- та поліцентричних хромосом в лімфоцитах периферичної крові 10 пацієнтів з раком грудної залози віком 39 – 67 років, які раніше не зазнавали променевого або хіміотерапевтичного лікування. Обстеження проводили до початку дистанційного гамма-терапевтичного лікування, через 24 години після отримання пацієнтами дози у 10, 20 та 30 Гр (РОД 2,5 Гр). Показано, що середній рівень аберацій відповідав квадратичній функції. Під час побудови дозової кривої кількість аберацій була меншою за очікувану, особливо у діапазоні високих доз. Отримані дані автори співставляли з минулими своїми дослідженнями [60]. Дослідники припускають,

що через меншу кількість опромінених лімфоцитів вихід аберацій хромосом є меншим для побудованої кривої у порівнянні з кривими «доза-ефект», що були побудовані раніше при обстеженні хворих під час ^{60}Co гамма-терапії.

Автори [61], використовуючи зразки крові від 5 пацієнтів з раком шийки матки, досліджували кореляцію між абераціями хромосом в лімфоцитах та поглиненою дозою при променевій ^{60}Co гамма-терапії. Забір зразків крові відбувався у три етапи: до опромінення, через 24 години по отриманні 0,08 Гр і 1,8 Гр відповідно. Дози, розраховані авторами за допомогою калібрувальних кривих, знаходилися в гарній відповідності з дозами, яких зазнавали пацієнти при променевому лікуванні. Автори також приділяють увагу методології біодозиметрії, яка використовується в якості важливого інструменту для оцінки дози в результаті впливу часткового опромінення іонізуючим випромінюванням і пов'язана з визначенням необхідної кількості проаналізованих клітин для дослідження.

Фахівці [62] згідно діючих в лікарнях Мексики протоколів при наданні радіотерапевтичного лікування пацієнтам з раком шийки матки проводили розрахунки розподілу дози у лімфоцитах периферичної крові хворих. Так, середні значення доз на клітини крові впродовж та в кінці курсу гамма-терапії співставляли з даними дослідження цитогенетичних показників серед 5 хворих в умовах *in vivo*. За розрахунками авторів значення середньої дози у циркулюючій крові дорівнює приблизно 2 % від дози, що припадає на пухлину, при цьому значення середньої дози у циркулюючих лімфоцитах може становити до 7 % від підведеної до пухлини дози.

Аналіз [63] таких цитогенетичних показників, як, дицентрики, центричні кільця, хроматидні фрагменти та пробіли, здійснювали серед 20 хворих на рак легені, що проходили лікування за допомогою ^{60}Co гамма-терапії. Забір крові відбувався до початку лікування та впродовж наступних 5 тижнів під час ПТ. Доза на тиждень дорівнювала 10 Гр. Статистично значуще зростання рівня аберантних клітин та аберацій хромосом порівняно з допроменевими показниками автори відмічали серед всіх досліджуваних хворих. Наприкінці

п'ятого тижня курсу ПТ рівень цитогенетичних пошкоджень був найвищим. Обстеження пацієнтів продемонструвало, що променева терапія володіє значним впливом на зростання частоти аберацій хромосом, які є дуже чутливими і корисними біомаркерами для дослідження наслідків радіаційного впливу. Дослідники вважають, що аберації хромосом можуть використовуватися як можливі «відбитки» променевої терапії.

Автори [64] використовували авторадіографічний аналіз при дослідженні аберацій хромосом та *hprt*-мутацій для дослідження швидкості прояву і стійкості підвищеної частоти *hprt*-варіантів і дицентриків серед 12 пацієнтів (5 хворих на рак шийки матки, 2 хворих на рак сечового міхура, 1 хворий на рак легені, 1 хворий на рак товстої кишки, 1 хворий на рак передміхурової залози, 1 хворий на рак ендометрія та 1 хворий з пухлиною голови та шиї), які отримували рентген-терапію. Забір крові у хворих, які отримували 1,8 – 2,0 Гр / доб, 5 днів / тиждень, протягом 3 – 7 тижнів, проводили до лікування, з різними тижневими інтервалами впродовж лікування і після ПТ. Було показано, що тільки після 3-го і 4-го тижнів лікування у всіх хворих відбувалося статистично значуще зростання рівня *hprt*-варіантів у порівнянні з даними цитогенетичного аналізу, за яким вже після 1 тижня ПТ було зафіксовано зростання частоти лімфоцитів з дицентричними абераціями хромосом. Спостерігалось також дозозалежне підвищення у ранні тижні лікування, а частка лімфоцитів з дицентриками залишалася підвищеною в клітинах, досліджених впродовж 1 року після закінчення терапії.

До обстеження [65] було залучено 22 пацієнтки з раком грудної залози, які після хірургічного втручання зазнавали променевої терапії з використанням рентгенівського опромінення потужністю 6 МеВ. Дослідження було проведено до променевої терапії, після отримання пацієнтами половини сеансів і в кінці курсу променевої терапії по досягненню дози у 50 Гр. Цитогенетичні показники досліджували, використовуючи хімічно-індуковану передчасну хромосомну конденсацію хромосом у поєднанні з FISH-методом. Променеве лікування викликало суттєве зростання частоти аберацій хромосом. При цьому значна

міжіндивідуальна варіабельність не мала зв'язку з розміром поля опромінення, хіміотерапевтичним лікуванням та виживаністю обстежених хворих. Автори відзначають, що рівень хромосомних аберацій у лімфоцитах в кінці курсу лікування був набагато вищим у тих хворих, яким не проводили видалення лімфатичних вузлів перед терапевтичним опроміненням, порівняно з хворими, у яких під час хірургічної операції було видалено понад 10 лімфатичних вузлів. Отже дослідниками показано, що у пацієнтів, хворих на рак грудної залози, одну з головних ролей у формуванні радіаційного-специфічних аберацій хромосомного типу відграє кількість лімфатичних вузлів, що знаходяться в полі опромінення.

Радіотерапія із використанням лінійного прискорювача є досить новим методом порівняно із традиційним гамма-терапевтичним лікуванням, але у літературі зустрічають і досить ранні роботи.

Так, у хворого з лімфомою Ходжкіна під час променевої терапії на лінійному прискорювачі з енергією фотонів 15 MeV [66] досліджували структурні аберації хромосомного типу. СОД становила 44,6 Гр. Кров відбирали через 5 хв після фракції і / або через 24, 48 або 72 год після цього. Впродовж всього курсу ПТ співвідношення дицентриків, ацентриків та центричних кілець дорівнювало 37 : 14 : 1. Незалежно від часу взяття крові після фракції розподіл дицентриків та ацентричних фрагментів мав наддисперсний та негативний біноміальний характер. Вихід аберацій, які сліджували впродовж променевої терапії найбільш відповідає лінійно-квадратичній функції з негативним квадратичним членом. Обидві криві «доза-ефект» (для 5 хв і 24 – 72 год після фракції) дицентриків і ацентричних фрагментів істотно не розрізняються. По досягненню СОД приблизно у 20 Гр кількість клітин з абераціями хромосом зростала до 48 – 65 % і на цій позначці залишалась сталою до завершення променевого лікування.

Автори [26] вели обстеження впродовж 36 місяців, проводячи забір зразків крові онкологічних пацієнтів до початку лікування, через 8 тижнів, а потім через 5, 8, 12, 18, 24, 30, 36 місяців після ПТ. Всі пацієнти отримували ПТ із використанням фотонів від лінійного прискорювача і лише в одному випадку використовували додатково електронні пучки на лінійному прискорювачі.

Використовуючи FISH-метод спостерігали значний спад рівня транслокацій з плином часу після ПТ у хворих із семіноюю, герміноюю та неходжкінською лімфою. Тож було зроблено висновок, що реципрокні транслокації за дії локального опромінення не є стабільними з плином часу. Для ретроспективного оцінювання дози необхідно брати до уваги часозалежне зниження рівня хромосомних перебудов.

У дослідженні [67] було обстежено дві групи пацієнтів – з раком простати (60 – 73 року) і з раком ендометрія (61 – 81 років), яким проводилася променева терапія на лінійному прискорювачі з енергією фотонів 10 MeV. Для вивчення рівня дицентриків забір крові у хворих проводили до опромінення, впродовж та наприкінці лікування. Значення середніх доз на кістковий мозок для пацієнтів з раком простати варіювали в межах від 2,8 до 4,2 Гр і для хворих на рак ендометрія від 12,8 до 14,8 Гр. Рівень аберації хромосом зростав із збільшенням обсягу опромінення та середньої дози на кістковий мозок.

У роботі [38] було обстежено 15 хворих із злоякісними захворюваннями крові, що проходили повне опромінення тіла на лінійному прискорювачі (18 MeV, 0,158 Гр / хв). Загальну дозу 12 Гр за 2,5 дня пацієнти отримували фракціоновано за 2 або 3 добові дози по 1,8 Гр. Аналіз здійснювали у хворих до початку лікування та після першої фракції 1,8 Гр. Дослідження проводили за допомогою цитогенетичного аналізу та флуоресцентної *in situ* гібридизації. У хворих на допроменевому етапі рівень дицентриків та транслокацій четвертої хромосоми дорівнював 2 та 1,1 %, відповідно. Після проведення першого сеансу значення біологічно оціненої дози за допомогою класичного цитогенетичного аналізу дорівнювала 1,93 Гр, а за допомогою FISH-аналізу – 2,06 Гр. Це гарно відповідає значенням поглинутої дози випромінювання, обчисленої методами, що використовуються у фізичній дозиметрії.

В останні роки спостерігається зростання інтенсивності досліджень, спрямованих на вивчення наслідків опромінення протонами, нейтронами, альфа-частками, катон-іонами, що мають високу лінійну передачу енергії.

Наприклад, променева терапія частками, протонами та нейтронами, представляє новий перспективний підхід у лікуванні онкопатологій. Однак питання ефективності та ризиків, пов'язаних з даним видом променевого лікування, відображені у невеликій кількості робіт та потребують більш детального вивчення [68]. Протонна ПТ використовується для лікування лише деяких видів раку. Специфічні властивості протонної радіотерапії дозволяють променевим терапевтам та фізикам ефективніше проводити променеве лікування, зменшуючи область опромінення прилеглих здорових тканин. Нейтронна променева терапія часто застосовується у тих випадках, коли пухлина проявляє резистентність до рентгенівського опромінення. Порівняно з іншими видами випромінювання терапія нейтронами завдає більшого біологічного впливу на клітини. Однак на сьогодні устаткування для радіотерапії протонами та нейтронами є в наявності лише в деяких онкологічних центрах та клініках світу.

У лікарнях Японії та Німеччини вже понад 10 років вдало застосовується у протипухлинній терапії такий вид променевого лікування, як терапія іонами карбону. Завдяки високій радіобіологічній ефективності порівняно з випромінюванням низької ЛПЕ та максимальній дозі в кінці пробігу карбон-терапія використовується при лікуванні глибоко розташованих укорінених пухлин [69].

Новизна та обмеженість застосування променевого лікування від джерел з високою ЛПЕ у багатьох випадках обумовлює дослідження ефектів радіаційного впливу часток з високою ЛПЕ в умовах *in vitro*. Незважаючи на це, слід зазначити, що спектр цитогенетичних показників, що вивчаються, є доволі широким.

Використовуючи аналіз мікроядер, автори [68] вивчали ефекти у лімфоцитах периферичної крові від здорових донорів при опроміненні за допомогою протонів в умовах *in vitro* в діапазоні від 0 до 4 Гр із потужністю 60 МеВ. При дослідженні мітотичного індексу та пошкоджень ДНК отримані дані співставляли з ефектами рентгенівського опромінення. Активність проліферації лімфоцитів була зворотно-пропорційна до дози опромінення за обох досліджуваних типів випромінювання. Однак, на противагу рентгенівському

опроміненню, опромінення протонами забезпечувало більш високий індекс проліферації за більш низьких доз 0,75 та 1,0 Гр. Порівняно з рентгенівським опроміненням ефективність протонів при індукції мікроядер у діапазоні доз понад 1,75 Гр була вищою. Калібрувальні криві «доза-ефект» для рівнів мікроядер найбільш вдало відповідають кубічній моделі для протонів, у той час як для рентгенівського опромінення функція мала лінійну залежність. Розбіжності для досліджуваних типів випромінювання за енергією опромінення та її розподілом у клітинах підтверджуються розподілом мікроядер по двоядерним клітинам.

Технікою передчасної конденсації хромосом [70] досліджували вихід хромосомних пошкоджень в лімфоцитах периферичної крові людини за дії альфа-часток. Лімфоцити зазнавали радіаційного впливу у дозах від 0 до 2,5 Гр. Рівень вільних парних фрагментів був вищим за частоту центричних кілець. На відміну від центричних кілець, дицентрики та вільні парні фрагменти мали наддисперсний характер розподілу по клітинах. Побудовані криві «доза-ефект» гарно відповідали лінійній залежності. Авторами зроблено припущення, що пошкоджені альфа-частками клітини зазнають більше труднощів при проходженні мітозу порівняно з пошкодженими гамма-опроміненням клітинами. За дії опромінення високої ЛПЕ сумарна частота аберацій хромосом зростала з лінійною залежністю до дози, крім того це опромінення мало більшу зтатність до індукції дицентриків і вільних парних фрагментів у порівнянні з гамма-опроміненням.

Існує припущення, що саме висока міжіндивідуальна варіабельність радіочутливості серед населення, може суттєво позначатися на клінічних наслідках променевого лікування. Тож проводяться дослідження, в яких автори не лише вивчаються наслідки впливу часток з високою ЛПЕ, але і намагаються дослідити різницю цитогенетичних ефектів за дії опромінення з низькою та високою ЛПЕ.

Так, автори ранньої класичної роботи [71] демонструють результати щодо розподілу дицентриків і ацентричних фрагментів, які реєстрували при культивуванні лімфоцитів людини протягом 48 год після рентгенівського, гамма-

і нейтронного опромінення. Під час дослідження наддисперсний характер розподілу дицентриків мав місце лише при опроміненні нейтронами більш високих енергій, у всіх інших випадках розподіл дицентричних хромосом для досліджуваних типів опромінення відповідав статистиці Пуассона. Явище наддисперсності спостерігали також і для ацентричних фрагментів незалежно від використовуваного випромінювання.

Дослідники [72] співставляли ефекти у лімфоцитах периферичної крові здорових донорів, спричинені дією карбон-іонів та гамма-опромінення в дозі 2 Гр. Частоту двониткових розривів ДНК вивчали за допомогою TC-FISH-методу. Показано вищу частоту радіаційно-індукованих розривів в геномі у радіочутливих індивідуумів, ніж у радіорезистентних осіб після впливу тієї ж дози. Крім того, для карбон-іонів спостерігали вищу ефективність у формуванні двониткових розривів ДНК в діапазоні доз від 0,2 до 15 Гр порівняно з гамма-опроміненням. Опромінення карбон-іонами в дозі 2 Гр було в три рази більш ефективним для індукції двониткових розривів ДНК у порівнянні з гамма-опроміненням. Дослідження радіочутливості за інших доз виявило залежність між біологічною ефективністю та дозою опромінення. Так, співвідношення дії карбон-іонів до гамма-опромінення вище при низьких дозах і наближається до 1 при високих дозах. Автори припускають, що отримані результати можуть бути застосовані у клінічній практиці, оскільки радіаційно-специфічні ушкодження ДНК обумовлюють формування хромосомних аберацій і геномної нестабільності, що може призвести до серйозних наслідків для довгострокового впливу на здоров'я людини за дії радіації, таких як поява вторинних злоякісних пухлин та інших наслідків ускладнень променевої терапії.

В наявності є значно менша кількість досліджень з вивчення наслідків опромінення в умовах *in vivo* за дії опромінення з високою ЛПЕ, ніж після опромінення з низькою ЛПЕ. Дані подібних досліджень можуть бути використані у галузі біологічної дозиметрії, оскільки існує брак знань щодо ефекти при локальному опроміненні тіла важкими іонами. Нерідко в таких роботах дослідження проводяться як в умовах *in vivo*, так і в експериментах *in vitro*.

У доволі ранньому дослідженні [73] було проаналізовано співвідношення «доза-ефект» для цитогенетичних показників у лімфоцитах людини при опроміненні *in vitro* безконтактним пучком нейтронів за енергії випромінювання 15,0 MeV. При цьому зміни рівня дицентриків, сума дицентриків і центричних кілець, а також ацентричних фрагментів найбільш відповідали лінійній квадратичній моделі. Відносна біологічна ефективність нейтронів з енергією 15,0 MeV у порівнянні з рентгенівським опроміненням 220 кВ значно зменшувалось із зростанням дози.

У дослідженні [74] вперше наведено результати аналізу цитогенетичних показників у хворих на карциному та саркому нижніх кінцівок, які отримували терапевтичне опромінення за допомогою швидких нейтронів. Отримані дані співставляли з результатами експерименту *in vitro*. Дане дослідження показало, що не зважаючи на комплексний вплив біологічних та фізичних факторів на вихід аберацій, спостерігається значна кореляція з терапевтичною дозою опромінення. На думку авторів цитогенетична дозиметрія можлива і при частковому опроміненні з високою ЛПЕ, якщо за допомогою поправкових коефіцієнтів враховувати область тіла, яка зазнає радіаційного впливу.

У дослідженні [69] терапія карбон-іонами була поєднана з радіотерапією модульованої інтенсивності (РТМІ) при лікуванні хворих з раком передміхурової залози. Одночасно у лімфоцитах тих самих хворих вивчали рівень хромосомних аберацій, що дало змогу провести порівняння ефектів опромінення *in vivo* із використанням карбон-іонів та РТМІ. Одна з досліджуваних груп хворих зазнавала терапевтичного опромінення з використанням РТМІ (38 фракцій по 2 Гр), інша група пацієнтів отримувала поєднану променевою терапію, де карбон-терапія (6 фракцій по 3 Гр-еквівалент) передувала РТМІ (30 фракцій по 2 Гр). Кожного хворого було обстежено на декількох етапах протипухлинного лікування до, впродовж, наприкінці та через 1 рік після ПТ. Здійснено було також експерименти по опроміненню *in vitro*. Аналіз проводили із використанням технік FPG- та mFISH-забарвлення. Рівень цитогенетичних пошкоджень в лімфоцитах пацієнтів з раком передміхурової залози зростав під час променевого лікування та

несуттєво знижувався впродовж перших 12 місяців після завершення променевої терапії. Помітна різниця поміж пацієнтами, які отримували поєднану ПТ, і хворими, що зазнавали виключно РТМІ, була відсутня.

1.3. Методологічні особливості проведення цитогенетичних досліджень при променевій терапії

Невід'ємною складовою вивчення цитогенетичних ефектів є правильність побудови дослідження. Трапляється, що розбіжності у методології виконання цитогенетичного аналізу, ускладнюють, а в деяких випадках навіть унеможлиблюють, порівняння отриманих результатів. Тому відбір досліджуваних груп хворих, особливості лікування пацієнтів та умови проведення експериментальних досліджень відіграють дуже важливу роль. У багатьох випадках дотримуватися відповідності протоколів дослідження вдається лише у рамках однієї роботи або циклу робіт.

Група пацієнтів у дослідженні автори [22] була досить неоднорідною. У групі були хворі, що раніше вже проходили променеве лікування. Трохи менше половини з обстежених до початку ПТ отримували хемотерапію. Третина пацієнтів була опромінена не лише за допомогою фотонів, а із використанням електронів. При цьому загальна доза опромінення, отримана хворими, варіювала від 45 до 65 Гр.

Автори [25] самі зазначають гетерогенність їх групи пацієнтів, що призвело до значних відмінностей виходу транслокацій на початковій точці дослідження. Так, групу складали хворі з різною онкопатологією (лімфома Ходжкіна, рак гортані, грудної залози, сечового міхура, яєчника, гіпофізу та носу), а загальна отримана доза складала 40 – 80 Гр.

Дослідникам [26] вдалося сформувати відносно однорідну групу пацієнтів, які раніше не отримували ані променеве, ані хіміотерапевтичне лікування. Проте, як і у багатьох дослідженнях інших авторів, ці хворі мали різні діагнози (семінома яєчка, гермінома та фолікулярна неходжкинська лімфома) та проходили ПТ за дії

різних джерел опромінення (фотони або електрони) з загальною отриманою дозою від 25 до 45 Гр.

У роботі [40] до однієї з чотирьох досліджуваних груп потрапили хворі з різними онкопатологіями, тому загальний діапазон сумарної осередкової дози у цій групі дорівнював від 40 до 80 Гр. У даному дослідженні така ж двократна різниця у значеннях СОД (35 – 65 Гр) спостерігалась і у іншій групі пацієнтів, хоча вони були подібні за локалізацією пухлин.

Не останнє значення має і вік хворих, особливо це важливо для FISH-дослідження. Ще у роботі [75] зазначено про вікову залежність частоти стабільних аберацій хромосомного типу.

У роботі [70] дослідники відмічають вільні парні фрагменти в клітинах з передчасною конденсацією хромосом як гарний кандидат для використання в якості біомаркерів для оцінки дози. Однак на спостереження частоти різних типів хромосомних аберацій можуть впливати деякі методологічні аспекти; з цієї причини і з метою уникнення можливого методологічного ускладнення бажана стандартизація техніки передчасної конденсації хромосом. Інші методи не є винятком і дане ствердження стосується всіх тестів, що можуть застосовуватися у дослідженнях цитогенетичних ефектів.

Але не дивлячись на складнощі, які можуть супроводжувати дослідження, зустрічаються роботи, де автори досить вдало змогли сформувати обстежувані групи. У дослідженні [58] приймали участь онкологічні хворі, що були максимально схожі за клінічними характеристиками та схемами лікування. Одним із критеріїв відбору пацієнтів була відсутність хіміотерапії до та впродовж ПТ. У роботі [35] також у пацієнтів раніше не було хіміо- або радіотерапії та всі хворі зазнавали стандартизованого локального опромінення.

Ще одним аспектом методологічно вдалого дослідження є застосування с флуоресцентного-плюс-Гимза забарвлення, бо для більш повного уявлення про цитогенетичні ефекти у пацієнтів під час променевого лікування необхідна також оцінка змін мітотичної активності в динаміці. Це стає можливим при використанні методики FPG-фарбування. З методологічних причин рівень

радіаційно-індукованих хромосомних аберацій рекомендовано вивчати в перших мітозах, але з початком ПТ погіршується відповідь лімфоцитів крові на стимуляцію фітогемаглютиніном за критерієм виходу метафаз. У деяких випадках це спостерігається навіть до початку лікування. Збільшення терміну культивування клітин дозволяє підвищити вихід метафаз, але може приводити до подальшого зростання частки клітин другого і наступних мітозів. Частина авторів, не дивлячись на складнощі застосування, використовує даний вид забарвлення у своїх дослідженнях, або принаймні використовують FPG-контроль для визначення долі других та послідуєчим мітозів з метою корегування часу культивування лімфоцитів. Так, авторами [39] за допомогою FPG-забарвлення було підібрано оптимальний строк культивування, при якому не більше 6 % клітин знаходились не в першому мітозі.

У своїй роботі автори [74] акцентують увагу на необхідності проведення дослідження в клітинах першого постпроменевого мітозу, оскільки підрахунок пошкоджень у метафазах другого та послідуєчих циклів призводить до зниження виходу нестабільних аберацій.

Низка авторів використовувала FPG-забарвлення в повній мірі та проводила свої дослідження лише в клітинах першого мітозу [4, 32, 36, 58].

Звичайно є певні складності для використання FPG-методики як рутинного способу фарбування. Як і будь-який інший метод, цей метод не є винятком і має свої переваги і свої недоліки. FPG-фарбування більш дорогий і тривалий за часом метод в порівнянні з G-фарбуванням. Крім того, на фоні зниженої мітотичної активності, властивою онкопацієнтів, використання FPG-фарбування зменшує число клітин, придатних для цитогенетичного аналізу. Тому оптимальним рішенням цієї проблеми є саме FPG-контроль для виявлення випадків індивідуальної варіабельності.

Висновки до розділу 1

Аналіз даних літератури показав наявність ще невирішених проблем у галузі дослідження цитогенетичних ефектів при променевої терапії. Під час

вивчення наслідків радіаційного опромінення виникають труднощі як суто методологічного характеру, так і ускладнення, пов'язані з дослідженням впливу променевого лікування за дії різних джерел опромінення у пацієнтів з різними локалізаціями пухлин і, відповідно, з різними обсягами опроміненої фракції тіла. Таким чином, застосування в лікувальній практиці нових джерел опромінення обумовлює необхідність подальших досліджень цитогенетичних наслідків променевої терапії у онкологічних хворих.

Результати досліджень розділу 1 наведено в публікаціях автора [86].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Характеристика обстежених пацієнтів

Відбір біологічного матеріалу для цитогенетичного тесту проводили у клініці Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України» (сертифікована ліцензія від 31.05.12 р. за № 600389, серією АГ Міністерства охорони здоров'я України; акредитаційний сертифікат № 010188, серія МЗ МОЗ України від 28.11.2012 р. по 28.11.2015 р.; акредитаційний № 012834, серія МЗ МОЗ України від 17.03.2016 р. по 17.03.2019 р.). При цьому було вжито необхідні заходи з дотримання морально-етичних норм та забезпечення конфіденційності стану здоров'я обстежених пацієнтів, що передбачені Гельсінкською декларацією прав людини, конвенцією Ради Європи про права людини і біомедицини та Законами України.

Відбір пацієнтів проводився таким чином, щоб групи були максимально подібні за віком та умовами проведення променевого лікування. Одним з головних критеріїв відбору була відсутність у пацієнтів попереднього протипухлинного променевого лікування. У роботі представлено дані 232 досліджень у 65 хворих на різних етапах променевого лікування віком від 43 до 84 років – 35 онкогінекологічних пацієнток (РТМ), 16 хворих на рак легені (РЛ), 14 пацієнтів з пухлинами голови та шиї (РГШ). Хворі, що були залучені до дослідження, лікування отримували у ДУ «ІМРО НАМН України». Дистанційну променеву терапію методом класичного фракціонування проводили із застосуванням гамма-терапевтичного апарату РОКУС-АМ з середньою енергією випромінювання 1,25 MeV (потужність поглинутої дози становила від 0,47 до 0,63 Гр / хв) або лінійного прискорювача електронів Clinac 600C з енергією фотонного випромінювання 6 MeV (потужність поглинутої дози становила

2,5 Гр / хв). При цьому пацієнти, що отримували променеве лікування на лінійному прискорювачі, додатково проходили передпроменеву підготовку з використанням комп'ютерної 3D-плануючої системи Eclipse та симулятора Asuity.

Серед онкогінекологічних хворих віком 43 – 77 роки (середній вік $60,0 \pm 1,4$ років) у 33 пацієнток діагностовано рак тіла матки, у 2 пацієнток – рак шийки матки. Група хворих, що отримували дистанційну ^{60}Co гамма-терапію (ГТ) на апараті РОКУС-АМ складала 17 пацієнток (середній вік $59,4 \pm 2,1$ років). Кількість онкогінекологічних обстежених, які отримували післяопераційний курс мегавольтної терапії (МТ) гальмівним випромінюванням на лінійному прискорювачі, становила 18 хворих (середній вік $60,6 \pm 1,8$ років). Для всіх онкогінекологічних пацієнтів опромінення проводили методом класичного фракціонування на ділянку таза фракціями з РОД 2 Гр, СОД дорівнювала 44 Гр.

Хворим на рак легені, серед яких було 14 чоловіків та 2 жінки у віці від 53 до 79 років (середній вік складав $69,9 \pm 2,2$ років), терапевтичне опромінення проводили на ділянку середостіння фракціями з РОД 1,8 – 2 Гр по 5 фракцій на тиждень до СОД близько 60 – 66 Гр за два етапи лікування із запланованою перервою при досягненні СОД 40 Гр. Цитогенетичне обстеження завершували після першого етапу лікування. Групи пацієнтів, до яких застосовували ГТ або МТ, налічувала по 8 хворих (середній вік дорівнював $69,1 \pm 3,3$ та $70,9 \pm 3,4$ років, відповідно). Запланований обсяг опромінення включав клінічний об'єм мішені і навколишні тканини до 1 см з урахуванням його зміщення при диханні.

Група хворих з пухлинами голови та шиї складала 14 осіб (12 чоловіків та 2 жінки) віком від 44 до 84 років (середній вік становив $62,6 \pm 2,4$ років). Лікування за допомогою гамма-опромінення ^{60}Co проводили для 2 пацієнтів, мегавольтну терапію застосовували до 12 хворих. Під час променевого лікування у цій групі РОД становила 1,8 – 2,0 Гр. СОД на первинну пухлину дорівнювала 65 – 70 Гр, на лімфовузли шиї – 50 Гр. Межі обсягу опромінення: при раку гортані: передня межа – передня поверхня шиї, задня – задня межа кивательних м'язів і передня межа тіл шийних хребців, з включенням всієї гортані та зони

залягання шийних лімфовузлів. Цитогенетичне обстеження закінчували перед запланованою перервою у два тижні по отриманні пацієнтами СОД у 40 Гр.

2.2 Донори крові для експерименту *ex vivo*

Хромосомний аналіз здійснювали під біоетичним контролем з дотриманням всіх правил та норм, які регламентують порядок одержання і використання людського біоматеріалу в біологічних (експериментах). Всі дії, пов'язані з проведенням дослідження, виконувались згідно протоколів комітету з біоетики та деонтології ДУ «ІМРО НАМН України», на базі якого в межах науково-дослідних робіт виконувався експеримент. Пацієнти надавали інформовану згоду щодо використання біологічного матеріалу у дослідженні та вільного представлення результатів цитогенетичного аналізу в наукових цілях.

Експеримент проведено на 79 точках дослідження із застосуванням лімфоцитів периферичної крові 30 онкологічних хворих (15 чоловіків та 15 жінок), серед яких було 13 онкогінекологічних хворих, 9 хворих на рак легені та 8 хворих з пухлинами голови та шиї. Вік хворих, залучених до експерименту, коливався в межах 53 – 79 років, а середньогруповий вік дорівнював $65,2 \pm 1,5$ роки. Зразки крові було опромінено на апараті РОКУС-АМ для 12 донорів та на лінійному прискорювачі Clinac 600С – для 18 донорів.

2.3 Методика проведення опромінення *ex vivo*

Забір зразків периферичної крові у хворих здійснювали перед початком променевого лікування. Протягом 5 – 7 хв зразки біоматеріалу транспортували з відділень ДУ «ІМРО НАМН України» до лабораторії у медичному біксі за кімнатної температури. Підготовка біоматеріалу до опромінення, що здійснювалась у стерильному боксу, полягала у перенесенні зразків крові у одноразові пластикові пробірки.

Процедура опромінення, умови якого відповідали міжнародним рекомендаціям [16], відбувалась безпосередньо у відділі радіології ДУ «ІМРО НАМН України». Для досягнення максимально рівномірного опромінення, зразки крові у пробірках ретельно, але дбайливо перемішували, та у горизонтальному положенні вкладали на стіл апарату. Опромінення *ex vivo* проводили в дозі 2 Гр із використанням джерела ^{60}Co на апараті РОКУС-АМ та на лінійному прискорювачі електронів Clinac 600С. Умови гамма-опромінення були наступні: відстань між зразками з кров'ю та джерелом 75 см, потужність поглинутої дози коливалась від 0,47 до 0,63 Гр / хв, енергія випромінювання 1,25 МеВ. При мегавольтному опроміненні дистанція від зразків до джерела дорівнювала 100 см, потужність поглинутої дози становила 2,5 Гр / хв при енергії фотонного випромінювання 6 МеВ. При обох типах опромінення поле опромінення та товщина слою крові були однаковими, відповідно, 12 см x 12 см і 0,5 см. Тривалість експозиції було розраховано фахівцями відділу радіології ДУ «ІМРО НАМН України», де хворі надалі отримували променеву терапію.

2.4 Методика проведення цитогенетичного дослідження

Дослідження рівнів цитогенетичних показників було здійснено у лабораторії радіаційної цитогенетики ДУ «ІМРО НАМН України», що атестована на підставі Закону України «Про метрологію та метрологічну діяльність» відповідно до Правил уповноваження та атестації в державній метрологічній систем. Свідоцтва про атестацію № 100-058/2012 (видане 26.03.12 р., чинне до 25.03.16 р.) та № 100-274/2015 (видане 20.11.15 р., чинне до 19.11.18 р.) надають дозвіл на проведення вимірювань у сфері поширення державного метрологічного нагляду згідно з галуззю атестації, що є обов'язковим додатком до свідоцтв.

Для здійснення цитогенетичного аналізу у хворих, розподілених по групах в залежності від локалізації пухлин та застосованого режиму опромінення, проводили забір венозної крові на декількох етапах впродовж променевого

лікування: до отримання першого сеансу променевої терапії, через 24 год після проведення першого сеансу / першої фракції, в середині курсу (СОД 20 – 22 Гр) та наприкінці опромінення (СОД 40 – 44 Гр). Межі точок обстеження визначались кількістю сеансів дистанційного променевої терапії на апараті РОКУС-АМ або мегавольтного терапії на лінійному прискорювачі Clinac 600С.

Паралельно у частини обстежених пацієнтів додатково проводили забір біоматеріалу для проведення експерименту *ex vivo*. Після опромінення зразки крові витримували 2 год у медичному біксі в темряві при кімнатній температурі. Зразки крові, що у подальшому планувались використовувати як нульовий контроль, піддавали всім процедурам, що і опроміненні зразки, а саме: транспортування до апаратів опромінення та витримування 2 год після опромінення.

В умовах стерильного боксу культивування лімфоцитів периферичної крові здійснювали за стандартною методикою [16] впродовж 50 – 55 год при температурі 37,5 °С. Цільну гепаринізовану кров у об'ємі 0,5 мл вносили до культуральної суміші, у складі якої було 4 мл середовища Ігла та RPMI 1640 (BioWest) у співвідношенні 1 : 1, бромдезоксіуридин (Sigma) у масовій концентрації 0,5 мкг / мл, 1 мл сироватки великої рогатої худоби (Gibco) та фітогемагглютинін (Gibco, ПанЕко) у концентрації, що рекомендована фірмою-виробником. Для кожного хворого ставили по 4 – 10 культур лімфоцитів на кожному етапі обстеження (точці дослідження). Зупинку клітинного поділу проводили додаванням за 4 години до фіксації розчину колхіцину або колцеміду у концентрації 0,1 мкг / мл. Розчин хлориду калію (KCl) у робочій концентрації 0,56 мг / мл використовували для гіпотонічної обробки, тривалість якою обиралась емпірично. Фіксацію метафазних клітин здійснювали сумішшю метанолу та крижаної оцтової кислоти у співвідношенні 3 : 1. Предметне скло з нанесеною суспензією клітин висушували при кімнатній температурі та перевіряли на якість за допомогою фазово-контрастного мікроскопу Olympus CX41. Фарбування цитогенетичних препаратів проводили технікою Гімза- або флуоресцентного-плюс-Гімза (FPG) забарвлення для контролю номеру

мітозу [16].

Дослідження *ex vivo* проводили на трьох експериментальних точках. В першому варіанті до культуральної суміші додавали 0,5 мл цільної крові донорів, опроміненої в дозі 2 Гр. В іншому випадку для симуляції локального опромінення додавали 0,45 мл цільної неопроміненої крові та 0,05 мл крові, опроміненої в дозі 2 Гр. Третю експериментальну точку складали культури з додаванням 0,5 мл цільної неопроміненої крові тих самих донорів.

Кодовані препарати аналізували, використовуючи світлові мікроскопи дослідницького класу з масляною імерсією Axioskop, Micros MC300X, Olympus BX43 та систему пошуку зображень.

Для вивчення структурних аберацій хромосом та геномних порушень у онкологічних хворих на різних етапах променевого лікування було проаналізовано 40177 клітин, зокрема 11087 клітин – на початковому етапі після отримання хворими першого сеансу. Також було проаналізовано 15973 клітини у експерименті *ex vivo* з опромінення крові та подальшої симуляції часткового опромінення.

При розпізнанні цитогенетичних перебудов та контролі клітинного циклу при світловій мікроскопії та при дослідженні електронних зображень застосовували загальноприйняті міжнародні критерії [16]. Аналізуючи метафазні препарати враховували весь спектр геномних порушень (ГП) та аберацій хромосом (А Хр), які було можливо розпізнати в аберантних клітинах (А Кл) за використаними методами забарвлення. Серед аберацій хромосомного типу (А Хс) реєстрували дицентричні хромосоми (Диц), центричні кільця (ЦК), вільні ацентричні хромосомні фрагменти (Ац Фр) та стабільні аберації хромосом, такі як транслокації та делетовані моноцентрики (Тн), що розпізнавали без каріотипування за нетиповим центромірним індексом. В якості аберацій хроматидного типу (А Хт) визначали хроматидні фрагменти (Хт Фр), хроматидні обміни (Хт Обм) та ізохроматичні делеції (Іхт Дел). До геномних порушень відносили поліплоїди (Ппл), ендореplikації (Ерп) та гіперплоїди (Гіп), тобто метафази з 47 або 48 центромірами. Гіпоплоїдні клітини не розглядали як геномні порушення, бо

частково їх наявність може бути зумовлена специфікою приготування метафазних препаратів.

Номер мітозу (для FPG-забарвлених препаратів) визначався за характером забарвлення хромосом у клітині [16]. Для метафаз першого мітозу характерне рівномірне забарвлення обох хроматид у всіх хромосомах. Другий мітоз визначався за двокольоровим забарвленням, тобто одна хроматида світла, інша – темна. Для третього та подальших мітозів обов'язкова наявність трьохкольорового забарвлення, а саме: обидві хроматида деяких хромосом цілком світлі або темні, деякі хромосоми мають світлу та темну хроматиди, деякі хромосоми мають хроматиди з проміжним забарвленням.

Аналіз хромосомних перебудов проводили у метафазах першого мітозу та у об'єднаних вибірках клітин в незалежності від номеру мітозу (Гімза-еквівалент) з подальшим розрахунком на 100 нормоплоїдних клітин.

2.5 Методи статистичного аналізу результатів дослідження

Для аналізу даних використовували загальнозживані для радіаційної цитогенетики статистичні методи [16], що включало визначення середньої частоти (Y) аберантних клітин, суми аберацій хромосом та їх окремих видів, гіперплоїдів у перерахунку на 100 проаналізованих нормоплоїдних клітин, для поліплоїдів та ендореplikацій середні рівні розраховували на 100 всіх проаналізованих клітин. Стандартні похибки середніх рівнів цитогенетичних показників (SE) обчислювали, зважаючи на дисперсію розподілів аберацій по клітинах в вибірках метафазних клітин (σ^2). Статистичну значущість різниці між середніми рівнями цитогенетичних показників визначали за допомогою t -критерію Стьюдента [76]. Оцінку рандомізованості розподілу частот цитогенетичних перебудов та відповідності розподілу аберацій хромосом по клітинах статистиці Пуассона проводили за відношенням дисперсії до середнього (σ^2/Y) та u -тестом Папворта [77].

РОЗДІЛ 3
ДОПРОМЕНЕВІ РІВНІ РАДІАЦІЙНО-СПЕЦИФІЧНИХ
ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ЛІМФОЦИТАХ КРОВІ
ОНКОГІНЕКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ, ХВОРИХ НА РАК ЛЕГЕНІ І
ПАЦІЄНТІВ З ПУХЛИНАМИ ГОЛОВИ ТА ШИЇ

Встановлено, що рівень окремих видів аберацій хромосомного типу до терапевтичного опромінення не мав статистично значущої різниці між групами спостереження ГТ та МТ ($p > 0,05$), тому для проведення цього етапу дослідження індивідуальні дані від онкологічних пацієнтів до початку терапії об'єднували за локалізацією пухлин незалежно від виду застосованого променевого лікування.

До променевої терапії рівень хромосомних пошкоджень співставляли з відповідними показниками у групі порівняння (30 донорів без онкологічних захворювань, 8000 проаналізованих клітин).

Загальний рівень цитогенетичних перебудов та окремих видів аберацій хромосомного типу в об'єднаних вибірках лімфоцитів крові пацієнтів перед початком променевої терапії, наведено у табл. 3.1.

Під час аналізу показано, що рівень А Хр був вищий за рівень А Кл, що є наслідком присутності у культурах лімфоцитів онкологічних хворих клітин з двома та більше хромосомними пошкодженнями (рис. 3.1). При співставленні рівня А Кл та А Хр у всіх групах пацієнтів спостерігали статистично значуще перевищення відповідних показників у групі порівняння (для А Кл: $t = 8,57$, $t = 9,08$ та $t = 5,20$; $p < 0,001$, для А Хр: $t = 9,42$, $t = 9,58$ та $t = 6,17$; $p < 0,001$, для груп РТМ, РЛ та РГШ, відповідно). При цьому частота аберантних клітин та загальний рівень аберацій в групі пацієнтів РЛ були статистично значуще вищими за показники у хворих групи РГШ ($t = 3,06$ та $t = 2,70$; $p < 0,01$, відповідно). Також частота клітин з абераціями у онкогінекологічних хворих на межі статистичної значущості перевищувала значеннями у пацієнтів з пухлинами голови та шиї ($t = 1,96$; $p < 0,05$).

Таблиця 3.1

**Загальні цитогенетичні пошкодження хромосом та аберації хромосомного типу у онкологічних хворих до
променевого лікування**

Група	Проаналізовано нормоплоїдних клітин	$Y \pm SE$ на 100 клітин					
		А Кл	А Хр	А Хс	Диц+ЦК	Ац Фр	Тн
РТМ	7125	$3,94 \pm 0,24$	$4,25 \pm 0,24$	$2,22 \pm 0,18$	$0,36 \pm 0,07$	$1,74 \pm 0,16$	$0,07 \pm 0,03$
РЛ	3212	$4,64 \pm 0,38$	$4,86 \pm 0,39$	$1,99 \pm 0,25$	$0,44 \pm 0,12$	$1,46 \pm 0,21$	$0,09 \pm 0,05$
РГШ	3504	$3,17 \pm 0,30$	$3,51 \pm 0,32$	$2,05 \pm 0,24$	$0,20 \pm 0,08$	$1,80 \pm 0,23$	$0,03 \pm 0,03$
Контроль	8000	$1,64 \pm 0,14$	$1,65 \pm 0,14$	$0,88 \pm 0,15$	$0,08 \pm 0,02$	$0,80 \pm 0,15$	0



Рис. 3.1 Метафазна клітина, що містить дицентрик з супутнім фрагментом (суцільна стрілка) та вільний ацентричний фрагмент (пунктирна стрілка). FPG-забарвлення (клітина першого мітозу), збільшення 10 x 100

Показано, що рівень радіаційно-специфічних обмінів, а саме Диц+ЦК був вищим за спонтанні значення для груп пацієнтів РТМ та РЛ ($t = 3,78$ та $t = 3,99$; $p < 0,001$, відповідно). Це відмічали і для рівня вільних ацентричних фрагментів – середній рівень Ац Фр у онкохворих приблизно вдвічі перевищував показники у групі порівняння ($t = 5,18$, $t = 3,19$ та $t = 4,69$; $p < 0,001$, для груп РТМ, РЛ та РГШ, відповідно). На відміну від групи порівняння, серед пошкоджень хромосомного типу до променевої терапії у метафазних клітинах всіх обстежених пацієнтів спостерігали також окремі стабільні хромосомні аберації ($t = 2,37$; $p < 0,05$ та $t = 2,73$; $p < 0,01$, для груп РТМ та РЛ, відповідно). Сумарні значення А Хс, як і у випадку Ац Фр, до початку ПТ у онкогінекологічних хворих, хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та шиї були вище за контрольний рівень ($t = 6,68$, $t = 4,86$ та $t = 5,21$; $p < 0,001$, відповідно) [78 – 80].

Висновки до розділу 3

– До початку променевої терапії в групах онкогінекологічних хворих, хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та шиї середній рівень окремих видів аберацій хромосомного типу та їх сумарні значення перевищували спонтанний рівень.

Результати досліджень розділу 3 наведено в публікаціях автора [78 – 80].

РОЗДІЛ 4

**РІВЕНЬ РАДІАЦІЙНО-ІНДУКОВАНИХ ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ
ПОШКОДЖЕНЬ У ЛІМФОЦИТАХ КРОВІ ОНКОГІНЕКОЛОГІЧНИХ
ХВОРИХ ТА ХВОРИХ НА РАК ЛЕГЕНІ ВПРОДОВЖ ГАММА-ТЕРАПІЇ
⁶⁰СО НА АПАРАТІ РОКУС-АМ**

Через перевищення над спонтанним рівнем допроменевих значень цитогенетичних показників у онкологічних хворих надалі вивчення їх змін на всіх досліджуваних етапах терапевтичного опромінення під час гамма- та мегавольтної променевої терапії проводили у співставленні не з групою порівняння, а з результатами обстежень до початку променевого лікування.

Під час виконання даного фрагменту роботи вивчали зміни рівнів радіаційно-специфічних цитогенетичних показників у онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин впродовж проведення гамма-терапії ⁶⁰Со на апараті РОКУС-АМ [79, 80].

Для оцінки вкладу структурних перебудов в загальне збільшення рівня аберацій хромосомного типу було проаналізовано рівень окремих видів цитогенетичних пошкоджень хромосомного типу у об'єднаних вибірках клітин онкогінекологічних хворих в ході променевого лікування на апараті РОКУС-АМ (табл. 4.1).

У онкогінекологічних хворих до середини курсу ГТ середній рівень абераційних клітин зростав більш ніж в 7 разів, а сумарний рівень аберацій хромосом – більш ніж в 10,5 раза. Подальше зростання, що відбувалось до завершення ГТ, було статистично значущим при співставленні із значеннями до початку лікування, так і з серединою курсу ($t = 38,49$ та $t = 4,44$; $p < 0,001$ для А Кл та $t = 60,57$ та $t = 10,26$; $p < 0,001$ для А Хр, відповідно). К кінцю ГТ рівень А Кл зростав майже у 9,5 раза, а рівень А Хр – майже у 17 разів у порівнянні із значеннями цих цитогенетичних показників до початку лікування.

Таблиця 4.1

Загальні цитогенетичні пошкодження хромосом та аберації хромосомного типу у онкогінекологічних хворих на різних етапах променевої гамма-терапії на апараті РОКУС-АМ

Етап обстеження	Проаналізовано нормоплоїдних клітин	$Y \pm SE$ на 100 клітин					
		А Кл	А Хр	А Хс _{unst}	Диц	Ац Фр	Тн
До ПТ	7125	$3,94 \pm 0,24$	$4,25 \pm 0,24$	$2,15 \pm 0,17$	$0,35 \pm 0,07$	$1,74 \pm 0,16$	$0,07 \pm 0,03$
Середина ГТ	1737	$28,55 \pm 1,28$	$45,42 \pm 1,62$	$41,05 \pm 1,54$	$23,32 \pm 1,16$	$13,87 \pm 0,89$	$1,09 \pm 0,25$
Кінець ГТ	1762	$37,17 \pm 1,45$	$72,02 \pm 2,02$	$67,82 \pm 1,96$	$41,15 \pm 1,53$	$21,11 \pm 1,09$	$2,04 \pm 0,34$

Середня частота нестабільних аберацій хромосомного типу збільшувалась від початку до закінчення курсу ГТ, статистична значущість зберігалась також при порівнянні даного показника з серединою та кінцем курсу ($t = 63,39$ та $t = 10,72$; $p < 0,001$). Розподіли суми нестабільних аберацій хромосомного типу по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона ($\sigma^2/Y = 1,66$, $u = 19,35$ для середини ГТ; $\sigma^2/Y = 2,12$, $u = 33,24$ для кінця ГТ).

Зростання $A X_{unst}$ від початку до середини курсу ГТ відбувалось за рахунок збільшення рівня як обмінних, так і фрагментних аберацій. Так, середній рівень Диц статистично значуще зростав приблизно у 66,5 раза до середини (рис. 4.1) та у 117,5 раза – по закінченню курсу ГТ (рис. 4.2) у порівнянні з показником до початку лікування ($t = 38,97$ та $t = 52,79$; $p < 0,001$, відповідно). При цьому темп зростання середньої частоти Диц був досить монотонним, що призвело до статистично значущого збільшення рівня Диц в кінці ГТ при співставленні з точкою спостереження у середині курсу ($t = 9,28$; $p < 0,001$).

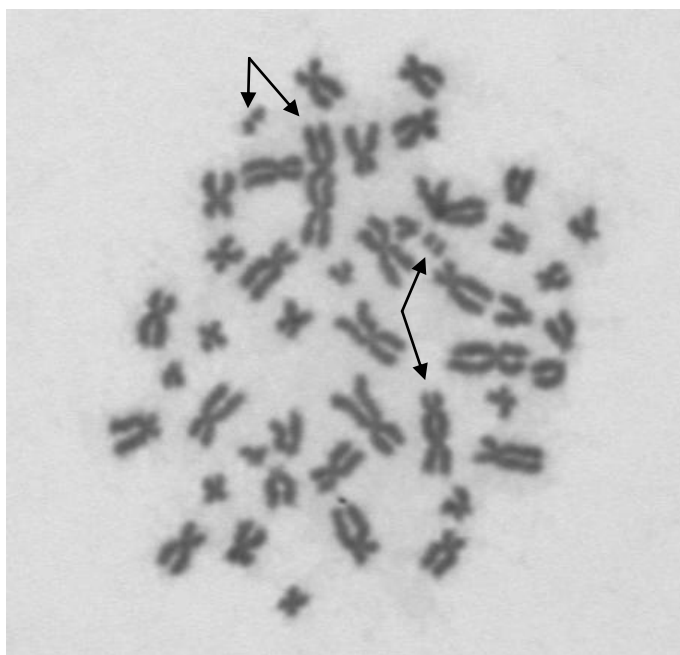


Рис. 4.1 Метафазна клітина з декількома радіаційно-індукованими абераціями, що характерна для середини променевої терапії. FPG-забарвлення (клітина першого мітозу), збільшення 10 x 100

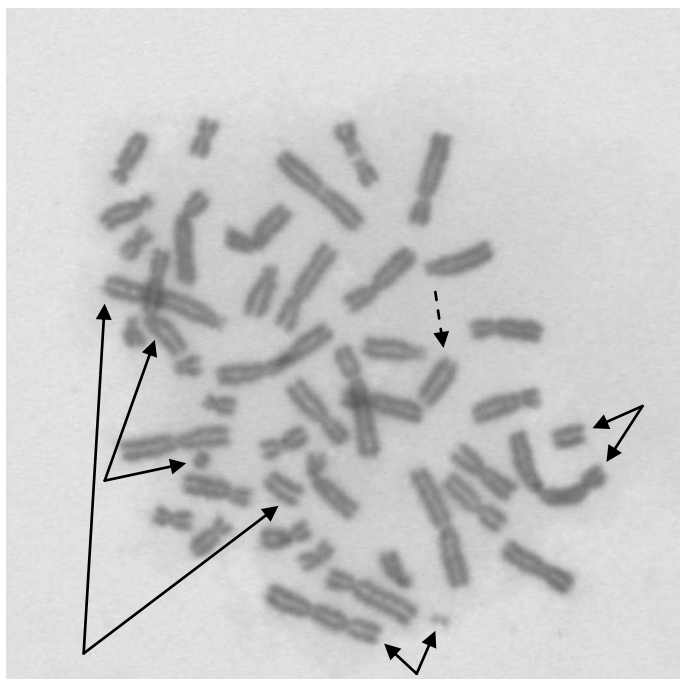


Рис. 4.2 Метафазна клітина з чисельними радіаційно-індукованими абераціями, що зустрічається наприкінці променевої терапії. FPG-зabarвлення (клітина першого мітозу), збільшення 10 x 100

Розподіли Диц по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона як в середині, так і в кінці курсу ГТ ($\sigma^2/Y = 1,43$, $u = 12,81$ для середини ГТ та $\sigma^2/Y = 1,80$, $u = 23,61$ для кінця ГТ). До початку лікування у групі РТМ розподіл Диц по клітинах був дещо наддисперсним відносно статистики Пуассона ($\sigma^2/Y = 1,08$, $u = 4,67$).

Середня частота вільних ацентричних фрагментів теж зростала до середини майже у 8 разів та по закінченню ГТ у 12 разів при співставленні з рівнем до початку лікування ($t = 22,35$ та $t = 30,82$; $p < 0,001$, відповідно). Як і у випадку дицентриків, спостерігали статистично значуще збільшення рівня Ац Фр в кінці ГТ у порівнянні з серединою курсу ($t = 5,11$; $p < 0,001$). Темпи зростання рівня Ац Фр були дещо нижчими, ніж для рівня Диц, так відношення середнього рівня Диц до Ац Фр складало до початку ПТ 1 : 4,97; в середині – 1 : 0,59; в кінці курсу – 1 : 0,51.

Спектр клітин з $A X_{c_{unst}}$ розширювався в процесі ГТ: в середині курсу спостерігалися метафази з 1 – 7 хромосомними пошкодженнями, а наприкінці лікування – з 1 – 11 абераціями.

Таким чином, наддисперсний характер розподілу по клітинах аберацій хромосомного типу загалом і дицентриків зокрема спостерігали у групі онкогінекологічних хворих як в середині, так і наприкінці курсу променевого лікування.

Стабільні аберації хромосом, які було можливо виявити за допомогою застосованого забарвлення, суттєво не впливали на загальне збільшення рівня $A X_c$, але слід відзначити, що рівень їх статистично значуще зростав від початку лікування впродовж всього курсу променевої терапії ($t = 7,35$ та $t = 10,92$; $p < 0,001$, в середині та наприкінці курсу, відповідно), при цьому, як і для інших цитогенетичних пошкоджень хромосомного типу, різниця показника між серединою та кінцем променевої терапії була статистично значущою ($t = 2,24$; $p < 0,05$).

Було проаналізовано рівень окремих видів цитогенетичних пошкоджень хромосомного типу у хворих на рак легені в ході променевого лікування на апараті РОКУС-АМ (табл. 4.2).

У пацієнтів, хворих на рак легені, до середини курсу ГТ середній рівень аберантних клітин зростав майже в 5 разів, а сумарний рівень аберацій хромосом – в 6,5 раза. Наприкінці променевого лікування частота $A K_l$ та $A X_r$ зростала статистично значуще як при співставленні з показниками до ПТ, так і з показниками в середині курсу ($t = 22,45$ та $t = 3,60$; $p < 0,001$ для $A K_l$ та $t = 31,80$ та $t = 6,09$; $p < 0,001$ для $A X_r$, відповідно). По закінченню ГТ рівень $A K_l$ зростав більш ніж у 6,5 раза, а рівень $A X_r$ – більш ніж у 10 разів у порівнянні з рівнем цитогенетичних пошкоджень до початку лікування.

Таблиця 4.2

Загальні цитогенетичні пошкодження хромосом та аберації хромосомного типу у хворих на рак легені на різних етапах променевої гамма-терапії на апараті РОКУС-АМ

Етап обстеження	Проаналізовано нормоплоїдних клітин	$Y \pm SE$ на 100 клітин					
		А Кл	А Хр	А Хс _{unst}	Диц	Ац Фр	Тн
До ПТ	3212	$4,64 \pm 0,38$	$4,86 \pm 0,39$	$1,90 \pm 0,24$	$0,44 \pm 0,12$	$1,46 \pm 0,21$	$0,09 \pm 0,05$
Середина ГТ	889	$22,50 \pm 1,59$	$31,83 \pm 1,89$	$24,63 \pm 1,67$	$13,72 \pm 1,24$	$9,22 \pm 1,02$	$1,12 \pm 0,36$
Кінець ГТ	1139	$30,90 \pm 1,65$	$49,43 \pm 2,08$	$40,47 \pm 1,89$	$25,72 \pm 1,50$	$10,97 \pm 0,98$	$1,14 \pm 0,32$

Середня частота нестабільних аберацій хромосомного типу збільшувалась від початку до закінчення курсу ГТ, при цьому статистична значущість зберігалась і при порівнянні даного показника в середині та в кінці курсу ($t = 32,30$ та $t = 6,11$; $p < 0,001$). Розподіли суми нестабільних аберацій хромосомного типу по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона на обох досліджуваних точках впродовж ГТ ($\sigma^2/Y = 1,53$, $u = 11,22$ для середини ГТ; $\sigma^2/Y = 1,92$, $u = 22,08$ для кінця ГТ).

Від початку до середини курсу променевої терапії підвищення $A X_{c_{unst}}$ відбувалось завдяки збільшенню рівня обмінних та фрагментних аберацій. Середній рівень Диц статистично значуще зростав більш ніж у 31 раз до середини та майже у 58,5 разів – по закінченню курсу променевої терапії при співставленні зі значенням до початку лікування ($t = 19,26$ та $t = 27,61$; $p < 0,001$, відповідно). При цьому швидкість зростання середньої частоти Диц була такою, що забезпечила статистично значущу різницю даного показника в кінці променевої терапії у порівнянні з точкою спостереження в середині курсу ($t = 5,93$; $p < 0,001$).

Розподіли Диц по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона в середині і в кінці курсу променевого лікування ($\sigma^2/Y = 1,39$, $u = 8,23$ для середини ГТ та $\sigma^2/Y = 1,55$, $u = 13,13$ для кінця ГТ). До початку лікування розподіл Диц по клітинах відповідав статистиці Пуассона.

Середня частота Ац Фр теж зростала до середини курсу більш ніж у 6 разів та по закінченню променевої терапії – у 7,5 разів відносно допроменевого рівня ($t = 11,55$ та $t = 13,87$; $p < 0,001$, відповідно). Проте на відміну від дицентриків, а також від групи РТМ, в групі РЛ не було виявлено статистично значущого збільшення рівня Ац Фр в кінці променевої терапії у порівнянні з серединою курсу ($t = 1,22$; $p > 0,05$). Швидкість зростання рівня Ац Фр була нижче, ніж для рівня Диц, так відношення середнього рівня Диц до Ац Фр складало до початку променевої терапії 1 : 3,32; в середині – 1 : 0,67; в кінці курсу – 1 : 0,43.

Спектр клітин з $A X_{c_{unst}}$ розширювався в процесі променевої терапії: в середині курсу спостерігалися метафази з 1 – 5 хромосомними пошкодженнями, а в кінці лікування – з 1 – 10 абераціями.

Стабільні аберації хромосом, які і у групі РТМ, не мали значного впливу на зростання сумарного рівня А Хс. Разом з тим треба зазначити, що рівень цього показника статистично значуще зростав від початку лікування впродовж всього курсу променевої терапії ($t = 4,84$ та $t = 5,01$; $p < 0,01$, в середині та в кінці курсу, відповідно). Однак, як і у випадку вільних ацентричних фрагментів, різниця показника між серединою та кінцем променевої терапії не була статистично значущою ($t = 0,03$; $p > 0,05$).

Висновки до розділу 4

– За дії терапевтичного опромінення на апараті РОКУС-АМ зростання рівня структурних перебудов хромосомного типу, здебільшого за рахунок хромосомних обмінів – дицентриків і кілець із супутніми фрагментами, у групі онкогінекологічних хворих відбувалось швидше у порівнянні з групою хворих на рак легені. Від початку лікування до середини курсу частота нестабільних аберацій хромосомного типу зросла, відповідно, у 19 та 13 разів, позавершені променевої терапії – у 30 та 20 разів.

– В процесі променевого лікування розподіли частот нестабільних хромосомних обмінів були наддисперсними відносно статистики Пуассона, а спектр клітин з нестабільними абераціями хромосомного типу розширювався у онкогінекологічних хворих та хворих на рак легені: в середині курсу спостерігали, відповідно, клітини з 1 – 7 та 1 – 5 пошкодженнями; наприкінці курсу – з 1 – 11 та 1 – 10 нестабільними абераціями.

Результати досліджень розділу 4 наведено в публікаціях автора [79, 80].

РОЗДІЛ 5

РІВЕНЬ РАДІАЦІЙНО-ІНДУКОВАНИХ ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ПОШКОДЖЕНЬ У ЛІМФОЦИТАХ КРОВІ ОНКОГІНЕКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ, ХВОРИХ НА РАК ЛЕГЕНІ І ПАЦІЄНТІВ З ПУХЛИНАМИ ГОЛОВИ ТА ШИЇ ВПРОДОВЖ МЕГАВОЛЬТНОЇ ТЕРАПІЇ НА ЛІНІЙНОМУ ПРИСКОРЮВАЧІ CLINAC 600C

При проведенні цього фрагменту дослідження вивчали зміни рівнів радіаційно-специфічних цитогенетичних показників у онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин впродовж проведення мегавольтного променевого лікування на лінійному прискорювачі Clinac 600C [78 – 80].

Для оцінки вкладу структурних перебудов в загальне збільшення рівня аберацій хромосомного типу було проаналізовано рівень окремих видів цитогенетичних пошкоджень хромосомного типу у онкогінекологічних хворих в ході променевого лікування на лінійному прискорювачі (табл. 5.1).

У онкогінекологічних хворих до середини курсу МТ середній рівень аберантних клітин зростав майже у 6 разів, а сумарний рівень аберацій хромосом – у 8,5 раза. Зростання, що відбувалось до завершення МТ, було статистично значущим при співставленні із значеннями до початку лікування, так і з серединою курсу ($t = 34,57$ та $t = 6,01$; $p < 0,001$ для А Кл та $t = 54,67$ та $t = 12,08$; $p < 0,001$ для А Хр, відповідно). К кінцю МТ рівень А Кл зростав більш ніж у 8 разів, а рівень А Хр – більш ніж у 14,5 раза у порівнянні із значеннями цих цитогенетичних показників до початку лікування.

Середня частота нестабільних аберацій хромосомного типу збільшувалась від початку до закінчення курсу МТ, статистична значущість зберігалась також при порівнянні даного показника з серединою та кінцем курсу ($t = 57,31$ та $t = 11,54$; $p < 0,001$). Розподіли суми нестабільних аберацій хромосомного типу по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона ($\sigma^2/Y = 1,81$, $u = 28,39$ для середини МТ; $\sigma^2/Y = 2,22$, $u = 35,49$ для кінця МТ).

Таблиця 5.1

Загальні цитогенетичні пошкодження хромосом та аберації хромосомного типу у онкогінекологічних хворих на різних етапах мегавольтної променевої терапії на лінійному прискорювачі Clinac 600C

Етап обстеження	Проаналізовано нормоплоїдних клітин	$Y \pm SE$ на 100 клітин					
		А Кл	А Хр	А Хс _{unst}	Диц	Ац Фр	Тн
До ПТ	7125	$3,94 \pm 0,24$	$4,25 \pm 0,24$	$2,15 \pm 0,17$	$0,35 \pm 0,07$	$1,74 \pm 0,16$	$0,07 \pm 0,03$
Середина МТ	2441	$22,86 \pm 0,97$	$36,09 \pm 1,22$	$33,51 \pm 1,17$	$17,86 \pm 0,86$	$13,60 \pm 0,75$	$0,74 \pm 0,17$
Кінець МТ	1683	$32,74 \pm 1,40$	$62,27 \pm 1,92$	$57,58 \pm 1,85$	$34,88 \pm 1,44$	$17,47 \pm 1,02$	$1,84 \pm 0,33$

Зростання $A X_{c_{unst}}$ від початку до середини курсу МТ відбувалось за рахунок збільшення рівня як обмінних, так і фрагментних аберацій. Так, середній рівень Диц статистично значуще зростав у 51 раз до середини та більш ніж у 99,5 раза – по закінченню курсу МТ у порівнянні з показником до початку лікування ($t = 34,01$ та $t = 48,34$; $p < 0,001$, відповідно). При цьому темп зростання середньої частоти Диц був достатнім для забезпечення статистично значущого збільшення рівня Диц в кінці МТ при співставленні з точкою спостереження у середині курсу ($t = 10,78$; $p < 0,001$).

Розподіли Диц по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона як в середині, так і в кінці курсу МТ ($\sigma^2/Y = 1,51$, $u = 17,84$ для середини МТ та $\sigma^2/Y = 1,97$, $u = 28,28$ для кінця МТ).

Середня частота вільних ацентричних фрагментів теж зростала до середини, як і у групі РТМ під час гамма-терапії, майже у 8 разів та по закінченню МТ у 10 разів при співставленні з рівнем до початку лікування ($t = 23,16$ та $t = 26,64$; $p < 0,001$, відповідно). Як і у випадку дицентриків, спостерігали статистично значуще збільшення рівня Ац Фр в кінці МТ у порівнянні з серединою курсу ($t = 3,13$; $p < 0,01$). Темпи зростання рівня Ац Фр були дещо нижчими, ніж для рівня Диц, так відношення середнього рівня Диц до Ац Фр, що складало до початку лікування $1 : 4,97$, в середині дорівнювало $1 : 0,76$, а в кінці курсу – $1 : 0,50$.

Спектр клітин з $A X_{c_{unst}}$ розширювався в процесі МТ: в середині курсу спостерігалися метафази з 1 – 7 хромосомними пошкодженнями, а наприкінці лікування – з 1 – 9 абераціями.

Стабільні аберації хромосом не мали принципового впливу на динаміку сумарної частоти $A X_c$. Проте, як і у випадку пацієток з групи РТМ, що отримували гамма-терапію, у онкологічних хворих за дії магевольтної променевої терапії рівень атипових моноцентриків підвищувався з початком лікування і впродовж всього курсу терапії на лінійному прискорювачі ($t = 5,80$ та $t = 10,23$; $p < 0,001$, в середині МТ та наприкінці курсу МТ, відповідно). До того ж різниця

між серединою та кінцем мегавольтної променевої терапії також була статистично значущою ($t = 3,20$; $p < 0,01$).

Тим же чином, що і для онкогінекологічних пацієнток, було проаналізовано рівень окремих видів цитогенетичних пошкоджень хромосомного типу у хворих на рак легені в ході променевого лікування на лінійному прискорювачі (табл. 5.2).

У хворих на рак легені середній рівень аберантних клітин до середини курсу МТ зростав у 3 рази, а сумарний рівень аберацій хромосом – майже у 4 рази. По завершенні мегавольтної терапії частота А Кл та А Хр статистично значуще зростала при порівнянні із значеннями до початку лікування та в середині курсу МТ ($t = 15,13$ та $t = 3,57$; $p < 0,001$ для А Кл та $t = 21,55$ та $t = 5,62$; $p < 0,001$ для А Хр, відповідно). К кінцю МТ рівень А Кл зростав більш ніж у 4,5 раза, а рівень А Хр – у 6,5 раза у співставленні з рівнем цитогенетичних порушень до початку лікування.

Середня частота нестабільних аберацій хромосомного типу збільшувалась від початку до закінчення курсу МТ, при цьому статистична значущість зберігалась і при порівнянні даного показника в середині та в кінці курсу ($t = 25,10$ та $t = 6,09$; $p < 0,001$). Розподіли суми нестабільних аберацій хромосомного типу по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона на обох досліджуваних точках впродовж МТ ($\sigma^2/Y = 1,42$, $u = 9,60$ для середини МТ; $\sigma^2/Y = 1,79$, $u = 16,50$ для кінця МТ).

Від початку до середини курсу мегавольтної променевої терапії підвищення $A X_{c_{unst}}$ було обумовлено зростанням рівня обмінних та фрагментних аберацій. Середній рівень Диц до середини курсу статистично значуще зростав більш ніж у 16,5 раза та по закінченню променевої терапії – більш ніж у 41 раз при порівнянні із значенням до початку лікування ($t = 13,21$ та $t = 22,60$; $p < 0,001$, відповідно). При цьому темпи приросту Диц забезпечили статистично значущу різницю цього показника в кінці мегавольтної променевої терапії у порівнянні з точкою спостереження в середині курсу ($t = 6,74$; $p < 0,001$).

Таблиця 5.2

Загальні цитогенетичні пошкодження хромосом та аберації хромосомного типу у хворих на рак легені на різних етапах мегавольтної променевої терапії на лінійному прискорювачі Clinac 600C

Етап обстеження	Проаналізовано нормоплоїдних клітин	$Y \pm SE$ на 100 клітин					
		А Кл	А Хр	А Хс _{unst}	Диц	Ац Фр	Тн
До ПТ	3212	$4,64 \pm 0,38$	$4,86 \pm 0,39$	$1,90 \pm 0,24$	$0,44 \pm 0,12$	$1,46 \pm 0,21$	$0,09 \pm 0,05$
Середина МТ	1029	$14,29 \pm 1,18$	$18,76 \pm 1,35$	$15,26 \pm 1,22$	$7,29 \pm 0,84$	$7,19 \pm 0,84$	$0,87 \pm 0,29$
Кінець МТ	870	$21,15 \pm 1,56$	$31,61 \pm 1,91$	$28,16 \pm 1,80$	$18,16 \pm 1,45$	$7,93 \pm 0,96$	$0,69 \pm 0,28$

Розподіли Диц по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона в середині і в кінці курсу променевого лікування ($\sigma^2/Y = 1,36$, $u = 8,10$ для середини МТ та $\sigma^2/Y = 1,64$, $u = 13,45$ для кінця МТ). До початку лікування розподіл Диц по клітинах відповідав статистиці Пуассона.

Середня частота Ац Фр, як і рівень Диц, підвищувалась до середини курсу майже у 5 разів, проте к кінцю променевої терапії практично залишалась незмінною, зростаючи у приблизно 5,5 раза відносно допроменевого рівня ($t = 9,47$ та $t = 10,04$; $p < 0,001$, відповідно). То ж, як наслідок, не було виявлено статистично значущої різниці між серединою та кінцем МТ ($t = 0,59$; $p > 0,05$). Інтенсивність зростання рівня Ац Фр була очікувано нижчою за підвищення рівня Диц, так відношення середнього рівня Диц до Ац Фр складало до початку МТ $1 : 3,32$; в середині – $1 : 0,99$; в кінці курсу – $1 : 0,44$.

Спектр клітин з А Хс_{unst} не набагато розширювався в процесі променевої терапії: в середині курсу спостерігалися метафази з 1 – 4 хромосомними пошкодженнями, а в кінці лікування – з 1 – 5 абераціями.

Рівень стабільних пошкоджень статистично значуще зростав від початку лікування до середини курсу МТ ($t = 4,10$; $p < 0,001$) та залишався незмінним до завершення мегавольтного променевого лікування, тому, як наслідок, різниця показника між серединою та кінцем МТ була статистично незначущою ($t = 0,45$; $p > 0,05$).

Рівень окремих видів цитогенетичних пошкоджень хромосомного типу у хворих з пухлинами голови та шийі в ході променевого лікування на лінійному прискорювачі представлено в табл. 5.3.

У пацієнтів з пухлинами голови та шийі середня частота клітин з абераціями хромосом до середини курсу МТ зростав майже у 4 рази, а сумарний рівень аберацій хромосом – майже у 5 разів. З завершенням мегавольтної променевої терапії рівень А Кл та А Хр статистично значуще зростав при співставленні зі значеннями цих показників до початку лікування та в середині курсу МТ ($t = 17,25$ та $t = 4,24$; $p < 0,001$ для А Кл та $t = 25,57$ та $t = 7,68$; $p < 0,001$ для А Хр, відповідно). По закінченні МТ частота А Кл зростала майже у 6 разів, а частота А Хр – у 9 разів при порівнянні з рівнем цитогенетичних пошкоджень до початку лікування.

Таблиця 5.3

Загальні цитогенетичні пошкодження хромосом та аберації хромосомного типу у хворих з пухлинами голови та шиї на різних етапах мегавольтної променевої терапії на лінійному прискорювачі Clinac 600C

Етап обстеження	Проаналізовано нормоплоїдних клітин	$Y \pm SE$ на 100 клітин					
		А Кл	А Хр	А Хс _{unst}	Диц	Ац Фр	Тн
До ПТ	3504	$3,17 \pm 0,30$	$3,51 \pm 0,32$	$2,03 \pm 0,24$	$0,20 \pm 0,08$	$1,80 \pm 0,23$	$0,03 \pm 0,03$
Середина МТ	1686	$12,46 \pm 0,86$	$17,50 \pm 1,02$	$14,35 \pm 0,92$	$7,65 \pm 0,67$	$5,10 \pm 0,55$	$0,59 \pm 0,19$
Кінець МТ	1118	$18,78 \pm 1,30$	$31,75 \pm 1,69$	$28,35 \pm 1,59$	$16,73 \pm 1,22$	$9,57 \pm 0,93$	$0,72 \pm 0,25$

Середній рівень нестабільних аберацій хромосомного типу зростав від початку до закінчення МТ і статистична значущість мала місце між серединою та кінцем курсу лікування ($t = 26,46$ та $t = 8,13$; $p < 0,001$). Розподіли суми нестабільних аберацій хромосомного типу по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона впродовж МТ ($\sigma^2/Y = 1,57$, $u = 16,52$ для середини МТ; $\sigma^2/Y = 2,26$, $u = 29,92$ для кінця МТ).

За рахунок обмінних та фрагментних порушень від початку до кінця МТ відбувалось зростання $A X_{c_{unst}}$. Середня частота Диц до середини курсу статистично значуще підвищувалась більш ніж у 38 разів, к кінцю – більш ніж у 83,5 раза по відношенню до значень перед початком мегавольтного лікування ($t = 15,53$ та $t = 23,49$; $p < 0,001$, відповідно). Швидкість зростання рівня Диц була такою, що зумовила статистично значущу різницю цього виду пошкодження між серединою та кінцем курсу МТ ($t = 7,01$; $p < 0,001$).

Розподіли Диц по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона як в середині, так і в кінці мегавольтного променевого лікування ($\sigma^2/Y = 1,45$, $u = 13,16$ для середини МТ та $\sigma^2/Y = 1,70$, $u = 16,60$ для кінця МТ). До початку лікування розподіл Диц по клітинах відповідав статистиці Пуассона.

Середній рівень Ац Фр також, як і частота Диц, зростав впродовж всього курсу лікування. Так, по відношенню до початку МТ, рівень зазначеного показника зростала до середини курсу майже у 3 рази, а к кінцю мегавольтного променевого лікування – більш ніж у 5 разів ($t = 6,58$ та $t = 11,80$; $p < 0,001$, відповідно). До того ж різниця між серединою та кінцем МТ була статистично значущою ($t = 4,42$; $p < 0,001$). Темпи підвищення частоти Ац Фр були дещо нижчими при співставленні з динамікою рівня Диц, відповідно відношення середнього рівня Диц до Ац Фр дорівнювало до початку МТ 1 : 9,00; в середині – 1 : 0,67; в кінці курсу – 1 : 0,57.

Спектр клітин з $A X_{c_{unst}}$ розширювався в процесі мегавольтної променевої терапії: в середині курсу спостерігалися метафази з 1 – 4 хромосомними пошкодженнями, а в кінці лікування – з 1 – 8 абераціями.

Підвищення рівня стабільних аберацій хромосом суттєво не впливало на зміну загальної частоти А Хс. Рівень транслокацій статистично значуще зростав з початком МТ до середини курсу ($t = 4,14; p < 0,001$), подальше підвищення від середини к кінцю мегавольтного променевого лікування не було статистично значущим ($t = 0,40; p > 0,05$).

Висновки до розділу 5

– В групах під впливом мегавольтного опромінення підвищення частоти структурних перебудов хромосомного типу відбувалось переважно за рахунок обмінних перебудов впродовж всього курсу променевого лікування. Швидкість накопичення хромосомних аберацій у онкологічних хворих була вищою за темпи підвищення цього показника у хворих на рак легені та пацієнтів з пухлинами голови та шиї. В середині курсу рівень нестабільних аберацій хромосомного типу, відповідно, зростав у 15,5, 8 та 7 разів, в кінці курсу – у 27, 15 та 14 разів.

– Спектр клітин з нестабільними абераціями хромосомного типу розширювався в процесі променевої терапії у всіх досліджуваних групах з різною інтенсивністю. В середині курсу у онкогінекологічних пацієнтів виявлено клітини з 1 – 7 пошкодженнями, у хворих на рак легені та пацієнтів з пухлинами голови та шиї – з 1 – 4 абераціями. Наприкінці променевого лікування кількість пошкоджень на клітину у групах онкогінекологічних хворих та пацієнтів з пухлинами голови та шиї була подібною та дорівнювала, відповідно, 1 – 9 та 1 – 8 аберацій, у хворих на рак легені спостерігали метафази з 1 – 5 пошкодженнями.

Результати досліджень розділу 5 наведено в публікаціях автора [78 – 80].

РОЗДІЛ 6

РІВЕНЬ ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ПОШКОДЖЕНЬ ХРОМОСОМНОГО ТИПУ У ЛІМФОЦИТАХ КРОВІ ОНКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ ПРИ ПРОМЕНЕВІЙ ТЕРАПІЇ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ЛОКАЛІЗАЦІЇ ПУХЛИН

Вплив розміру об'єму опроміненої фракції тіла у обстежених осіб з онкопатологією було оцінено у вибірках, об'єднаних за локалізацією пухлин незалежно від джерела опромінення.

Рівні структурних перебудов хромосомного типу у досліджуваних групах перевищували спонтанні значення, що показано у попередніх розділах представленої роботи. Надалі у досліджуваних групах радіаційно-специфічні цитогенетичні показники в ході променевої терапії, як і при виконанні попередніх етапів дослідження, порівнювали зі значеннями у об'єднаній вибірці пацієнтів до початку променевого лікування [78 – 80].

Для оцінки вкладу структурних перебудов в загальне збільшення рівня аберацій хромосомного типу було проаналізовано рівень окремих видів цитогенетичних пошкоджень хромосомного типу у об'єднаних вибірках клітин онкогінекологічних хворих в ході променевого лікування на апараті РОКУС-АМ та лінійному прискорювачі Clinac 600C (табл. 6.1).

Показано, що у групі онкогінекологічних хворих до середини курсу дистанційної променевої терапії середній рівень аберантних клітин зростав майже у 6,5 раза, а сумарний рівень аберацій хромосом – майже у 9,5 раза. К кінцю променевого лікування спостерігали чергове значне підвищення рівня аберантних клітин та аберацій хромосом, що мало статистично значущу різницю зі значеннями до початку терапевтичного опромінення та в середині курсу ПТ ($t = 39,91$ та $t = 7,80$; $p < 0,001$ для А Кл та $t = 60,99$ та $t = 16,39$; $p < 0,001$ для А Хр, відповідно). Кількість аберантних клітин у лімфоцитах хворих зростала майже у 9 разів, а рівень аберацій хромосом – майже у 16 разів при порівнянні з частотою цих цитогенетичних показників до початку лікування.

Загальні цитогенетичні пошкодження хромосом та аберації хромосомного типу у онкогінекологічних хворих на різних етапах променевої терапії

Етап обстеження	Проаналізовано нормоплоїдних клітин	$Y \pm SE$ на 100 клітин					
		А Кл	А Хр	А Хс _{unst}	Диц	Ац Фр	Тн
До ПТ	7125	$3,94 \pm 0,24$	$4,25 \pm 0,24$	$2,15 \pm 0,17$	$0,35 \pm 0,07$	$1,74 \pm 0,16$	$0,07 \pm 0,03$
Середина ПТ	4178	$25,23 \pm 0,78$	$39,97 \pm 0,98$	$36,64 \pm 0,94$	$20,13 \pm 0,69$	$13,71 \pm 0,57$	$0,89 \pm 0,15$
Кінець ПТ	3445	$35,01 \pm 1,01$	$67,26 \pm 1,40$	$62,82 \pm 1,35$	$38,08 \pm 1,05$	$19,33 \pm 0,75$	$1,94 \pm 0,24$

Середній рівень $A Xc_{unst}$ зростав від початку і до отримання пацієнтами повного курсу променевої терапії, при цьому була наявна статистично значуща різниця даного показника в середині та в кінці курсу ($t = 62,45$ та $t = 16,33$; $p < 0,001$). Розподіли суми нестабільних аберацій по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона (для середини ПТ: $\sigma^2/Y = 1,74$, $u = 33,97$; для кінця ПТ: $\sigma^2/Y = 2,17$, $u = 48,55$).

Підвищення частоти $A Xc_{unst}$ від початку до середини курсу ПТ відбувалось в наслідок зростання рівня обмінних та фрагментних аберацій. Середня частота Диц з статистично значущою різницею зростала у 57,5 раза до середини та майже у 109 разів по завершенні променевого лікування у співставленні цього показника зі значенням до початку ПТ ($t = 36,67$ та $t = 51,13$; $p < 0,001$, відповідно). До того ж темпи підвищення середнього рівня Диц від середини к кінцю курсу лікування були статистично значущими між вказаними точками спостереження ($t = 14,68$; $p < 0,001$).

Розподіли Диц поміж клітинами були наддисперсними відносно статистики Пуассона в середині та в кінці курсу ПТ ($\sigma^2/Y = 1,48$, $u = 21,80$ для середини ПТ та $\sigma^2/Y = 1,88$, $u = 36,42$ для кінця ПТ).

Кількісна доля Ац Фр зростала майже у 8 разів до середини курсу та у 11 разів к кінцю курсу променевого лікування у порівнянні з рівнем до початку лікування ($t = 24,75$ та $t = 31,01$; $p < 0,001$, відповідно). Так само, як і у випадку Диц, статистично значуще підвищення рівня Ац Фр спостерігали у проміжку між серединою та кінцем курсу ПТ ($t = 6,05$; $p < 0,001$). Для Ац Фр швидкість підвищення частоти була нижче, ніж для Диц, і відношення середнього рівня Диц до Ац Фр становило до початку ПТ 1 : 4,97; в середині – 1 : 0,68; в кінці курсу – 1 : 0,51.

Спектр клітин з $A Xc_{unst}$ розширювався під час ПТ: клітини з 1 – 7 абераціями в середині курсу та з 1 – 11 хромосомними пошкодженнями в кінці променевого лікування.

Підвищення частоти стабільних аберацій хромосомного не змінювало загальної картини збільшення рівня $A Xc$, проте від самого початку лікування це

підвищення було статистично значущим впродовж всього курсу ПТ ($t = 6,87$ та $t = 10,95$; $p < 0,001$, в середині та в кінці ПТ, відповідно). Як і для інших цитогенетичних показників хромосомного типу, для Ац Фр різниця була статистично значущою при порівнянні значень в середині та в кінці променевого лікування ($t = 3,95$; $p < 0,001$).

Результати аналізу окремих видів цитогенетичних пошкоджень хромосомного типу у хворих на рак легені в ході променевого лікування на апараті РОКУС-АМ та лінійному прискорювачі Clinac 600С наведено у табл. 6.2.

Встановлено, що у хворих на рак легені до середини курсу променевого лікування середній рівень аберантних клітин зростав майже у 4 рази, а сумарний рівень аберацій хромосом – трохи більше ніж у 5 разів. До кінця курсу променевої терапії відбувалось подальше відчутне зростання рівня аберантних клітин та аберацій хромосом, що було статистично значущим по підношенню до допроменевих значень та середини курсу ($t = 21,39$ та $t = 5,67$; $p < 0,001$ для А Кл та $t = 29,70$ та $t = 9,15$; $p < 0,001$ для А Хр, відповідно). Так, рівень аберантних клітин у лімфоцитах пацієнтів зростав майже у 6 разів, а рівень аберацій хромосом – більш ніж у 8,5 раза відповідно до рівня цитогенетичних показників у об'єднаній вибірці до початку лікування.

Середня частота $A Xc_{unst}$ збільшувалась від початку до закінчення курсу променевої терапії, водночас статистична значущість зберігалась також при порівнянні даного показника в середині та в кінці курсу ($t = 30,49$ та $t = 9,27$; $p < 0,001$). Розподіли частот суми нестабільних аберацій по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона (для середини ПТ: $\sigma^2/Y = 1,50$, $u = 15,40$; для кінця ПТ: $\sigma^2/Y = 1,89$, $u = 28,14$).

Зростання рівня $A Xc_{unst}$ від початку до середини курсу променевого лікування було реалізовано завдяки збільшенню частоти як обмінних, так і фрагментних аберацій. Середній рівень Диц статистично значуще зростав більш ніж у 23 рази до середини та у 51 раз на час завершення курсу променевої терапії при порівнянні зі значенням до початку лікування ($t = 16,81$ та $t = 25,93$; $p < 0,001$, відповідно). Крім того, швидкість приросту середньої частоти Диц від середини к кінцю ПТ обумовила статистично значуще підвищення рівня дицентричних хромосом в межах зазначених точок обстеження ($t = 9,39$; $p < 0,001$).

Таблиця 6.2

Загальні цитогенетичні пошкодження хромосом та аберації хромосомного типу у хворих на рак легені на різних етапах променевої терапії

Етап обстеження	Проаналізовано нормоплоїдних клітин	$Y \pm SE$ на 100 клітин					
		А Кл	А Хр	А Хс _{unst}	Диц	Ац Фр	Тн
До ПТ	3212	$4,64 \pm 0,38$	$4,86 \pm 0,39$	$1,90 \pm 0,24$	$0,44 \pm 0,12$	$1,46 \pm 0,21$	$0,09 \pm 0,05$
Середина ПТ	1918	$18,09 \pm 0,97$	$24,82 \pm 1,14$	$19,60 \pm 1,01$	$10,27 \pm 0,73$	$8,13 \pm 0,65$	$0,99 \pm 0,23$
Кінець ПТ	2009	$26,68 \pm 1,15$	$41,71 \pm 1,44$	$35,14 \pm 1,32$	$22,45 \pm 1,06$	$9,66 \pm 0,69$	$0,95 \pm 0,22$

Розподіли частот Диц по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона і в середині, і в кінці курсу променевого лікування ($\sigma^2/Y = 1,39$, $u = 11,96$ для середини ПТ та $\sigma^2/Y = 1,59$, $u = 18,65$ для кінця ПТ).

Середній рівень Ац Фр підвищувався до середини курсу більш ніж у 5,5 раза, а к кінцю променевої терапії – більш ніж у 6,5 раза відносно рівня до початку лікування ($t = 11,62$ та $t = 13,41$; $p < 0,001$, відповідно). Однак на противагу до дицентриків, не було зафіксовано статистично значущого зростання частоти Ац Фр по закінченню ПТ при співставленні з серединою курсу ($t = 1,60$; $p > 0,05$). Інтенсивність зростання рівня Ац Фр була дещо нижчою, ніж у випадку Диц, відповідно, відношення середнього рівня Диц до Ац Фр дорівнювало до початку ПТ 1 : 3,32; в середині – 1 : 0,79; в кінці курсу – 1 : 0,43.

Спектр клітин з А Хс_{unst} розширювався в процесі отримання ПТ хворими групи РЛ до 5 хромосомних пошкоджень на клітину в середині курсу та до 10 аберацій на метафазу в кінці лікування.

Стабільні аберації хромосом не мали значного внеску у загальне збільшення рівня А Хс. Проте частота даного показника статистично значуще підвищувався з початку курсу ПТ і до завершення курсу лікування ($t = 4,75$ та $t = 4,62$; $p < 0,001$, в середині та в кінці ПТ, відповідно). Так само, як і для Ац Фр, не було статистично значущої різниці значень між серединою та кінцем променевого лікування ($t = 0,14$; $p > 0,05$).

Дані дослідження окремих видів цитогенетичних пошкоджень хромосомного типу у хворих з пухлинами голови та шиї в ході променевого лікування на апараті РОКУС-АМ та лінійному прискорювачі Clinac 600C відображено у табл. 6.3.

Таблиця 6.3

**Загальні цитогенетичні пошкодження хромосом та аберації хромосомного типу у хворих з пухлинами голови та шиї
на різних етапах променевої терапії**

Етап обстеження	Проаналізовано нормоплоїдних клітин	$Y \pm SE$ на 100 клітин					
		А Кл	А Хр	А Хс _{unst}	Диц	Ац Фр	Тн
До ПТ	3504	$3,17 \pm 0,30$	$3,51 \pm 0,32$	$2,03 \pm 0,24$	$0,20 \pm 0,08$	$1,80 \pm 0,23$	$0,03 \pm 0,03$
Середина ПТ	1981	$12,27 \pm 0,79$	$17,16 \pm 0,93$	$13,98 \pm 0,84$	$7,42 \pm 0,61$	$5,15 \pm 0,51$	$0,71 \pm 0,19$
Кінець ПТ	1718	$16,01 \pm 0,97$	$25,84 \pm 1,23$	$23,34 \pm 1,17$	$14,09 \pm 0,91$	$7,57 \pm 0,66$	$0,47 \pm 0,16$

Виявлено, що у пацієнтів з пухлинами голови та шиї до середини променевої терапії середній рівень аберантних клітин підвищувався майже у 4 рази, а сумарний рівень аберацій хромосом – майже у 5 разів. К кінцю курсу лікування спостерігали чергове зростання частоти аберантних клітин та аберацій хромосом, що мало статистично значущу різницю зі значеннями до початку ПТ та в середини курсу ($t = 16,03$; $p < 0,001$ та $t = 3,03$; $p < 0,01$ для А Кл та $t = 23,01$ та $t = 5,72$; $p < 0,001$ для А Хр, відповідно). Частота аберантних клітин підвищувалась у 5 разів, а рівень аберацій хромосом – більш ніж у 7 разів при співставленні зі значеннями цих показників до початку променевого лікування.

Для середнього рівня А Хс_{unst} мало місце підвищення від початку до завершення курсу терапевтичного опромінення, крім того спостерігали статистично значущу різницю цього показника у порівнянні з серединою та кінцем ПТ ($t = 24,07$ та $t = 6,63$; $p < 0,001$). Розподіли частот суми нестабільних аберацій по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона (для середини ПТ: $\sigma^2/Y = 1,60$, $u = 18,83$; для кінця ПТ: $\sigma^2/Y = 2,17$, $u = 34,30$).

Підвищення рівня А Хс_{unst} від початку до середини курсу променевого лікування проходило на тлі зростання рівня обмінних та фрагментних пошкоджень хромосомного типу. Середня частота Диц статистично значуще підвищувалась до середини курсу майже у 7 разів та к кінцю променевого лікування – в 11 разів у співставленні зі значенням до початку ПТ ($t = 15,33$ та $t = 21,59$; $p < 0,001$, відповідно). При цьому інтенсивність підвищення середнього рівня Диц забезпечила статистично значущу різницю даного показника між серединою та кінцем ПТ ($t = 6,23$; $p < 0,001$).

Розподіли частот Диц по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона в середині та в кінці курсу ПТ ($\sigma^2/Y = 1,48$, $u = 15,29$ для середини ПТ та $\sigma^2/Y = 1,66$, $u = 19,43$ для кінця ПТ).

Середня частота Ац Фр до середини курсу зростала майже у 3 рази, к кінцю променевого лікування – більш ніж у 4 рази відносно допроменевих значень ($t = 6,87$ та $t = 10,19$; $p < 0,001$, відповідно). При цьому від середини к кінцю курсу ПТ спостерігали зростання рівня Ац Фр, що було статистично значущим ($t = 2,93$;

$p < 0,01$). Темпи підвищення частоти Ац Фр були менш інтенсивними, ніж для Диц, тому відношення середнього рівня Диц до Ац Фр складало до початку ПТ 1 : 9,00; в середині – 1 : 0,69; в кінці курсу – 1 : 0,54.

Спектр клітин з $A X_{c_{unst}}$ розширювався в ході надання хворим з РГШ променевого лікування: метафази з 1 – 4 абераціями в середині курсу та з 1 – 8 хромосомними пошкодженнями в кінці ПТ.

Стабільні аберації хромосом істотно не впливало на зміни рівня $A X_c$ продовж ПТ. Рівень зазначеного показника статистично значуще зростав від початку і до завершення променевого лікування ($t = 4,61$ та $t = 3,58$; $p < 0,001$, в середині та в кінці ПТ, відповідно). Однак між серединою та кінцем ПТ не виявлено статистично значущої різниці ($t = 0,95$; $p > 0,05$).

Висновки до розділу 6

– Темпи індукції цитогенетичних пошкоджень у онкологічних хворих залежали від локалізації пухлин, тобто від обсягів опромінення. Так, рівень аберацій хромосомного типу у групі онкогінекологічних хворих, що зазнавали найбільшого обсягу опромінення, як в середині, так і наприкінці променевого лікування зростав в майже у 2 рази швидше у порівнянні з групою хворих на рак легені та більш ніж у 2,5 рази при співставленні з групою пацієнтів з пухлинами голови та ший.

– Спектр клітин з абераціями хромосомного типу у всіх досліджуваних групах від середини до закінчення курсу променевої терапії розширювався приблизно вдвічі.

Результати досліджень розділу 6 наведено в публікаціях автора [78 – 80].

РОЗДІЛ 7

ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ПОШКОДЖЕННЯ ХРОМАТИДНОГО ТИПУ ТА ГЕНОМНІ ПОРУШЕННЯ У ЛІМФОЦИТАХ ОНКОЛОГІЧНИХ ПАЦІЄНТІВ З РІЗНОЮ ЛОКАЛІЗАЦІЄЮ ПУХЛИН ПРИ ПРОМЕНЕВІЙ ТЕРАПІЇ

Для даного етапу дослідження індивідуальні дані від пацієнтів до початку променевої терапії об'єднали у групи в залежності від локалізації пухлин [81]. Сумарний рівень аберацій хроматидного типу та їх окремих видів, а також геномні порушення в узагальнених вибірках клітин наведено у табл. 7.1.

Загальний рівень цитогенетичних пошкоджень хроматидного типу у пацієнтів до ПТ був вищим за контрольні значення. Так, співставлення з лабораторним контролем рівня А Хт виявило статистично значущу різницю для всіх досліджуваних груп ($t = 6,58$, $t = 8,50$ та $t = 3,36$; $p < 0,001$ для РТМ, РЛ та РШГ, відповідно). Для Хт Фр (рис. 7.1) спостерігали аналогічну картину ($t = 6,65$, $t = 8,00$ та $t = 3,61$; $p < 0,001$ для РТМ, РЛ та РГШ, відповідно). У випадку Хт Обм (рис. 7.2) мала місце статистично значуща різниця в групі РЛ при порівнянні з контролем ($t = 2,59$; $p < 0,01$). На відміну від контрольної групи та групи РГШ, в групах РТМ та РЛ також зустрічались поодинокі Іхт Дел.

Стосовно ГП слід відзначити, що у вибірці клітин контрольної групи не було виявлено Гіп на відміну від груп РТМ, РЛ та РГШ ($t = 3,82$, $t = 3,53$ та $t = 3,70$; $p < 0,001$, відповідно), а поліплоїдні клітини (рис. 7.3) мали нижчий рівень, ніж в групах пацієнтів, однак статистично значущу різницю з контролем спостерігали у групах РТМ та РГШ ($t = 3,05$; $p < 0,01$ і $t = 2,15$; $p < 0,05$, відповідно). Ендореplikації в жодній групі не було виявлено.

Таблиця 7.1

Аберації хроматидного типу та геномні порушення у онкологічних пацієнтів до променевого лікування

Група	<i>n</i>	Проаналізовано нормоплоїдних клітин	$Y \pm SE$ на 100 клітин				
			А Хт	Хт Фр	Хт Обм	Геномні порушення	
						Гіп	Ппл
РТМ	35	7125	$2,04 \pm 0,17$	$1,92 \pm 0,16$	$0,10 \pm 0,04$	$0,18 \pm 0,05$	$0,25 \pm 0,06$
РЛ	16	3212	$2,86 \pm 0,30$	$2,55 \pm 0,28$	$0,28 \pm 0,09$	$0,16 \pm 0,07$	$0,09 \pm 0,05$
РГШ	14	3504	$1,46 \pm 0,20$	$1,40 \pm 0,20$	$0,06 \pm 0,04$	$0,17 \pm 0,07$	$0,20 \pm 0,08$
Контроль	30	8000	$0,78 \pm 0,11$	$0,70 \pm 0,11$	$0,08 \pm 0,03$	0	$0,06 \pm 0,03$

Примітка: *n* – кількість обстежених.

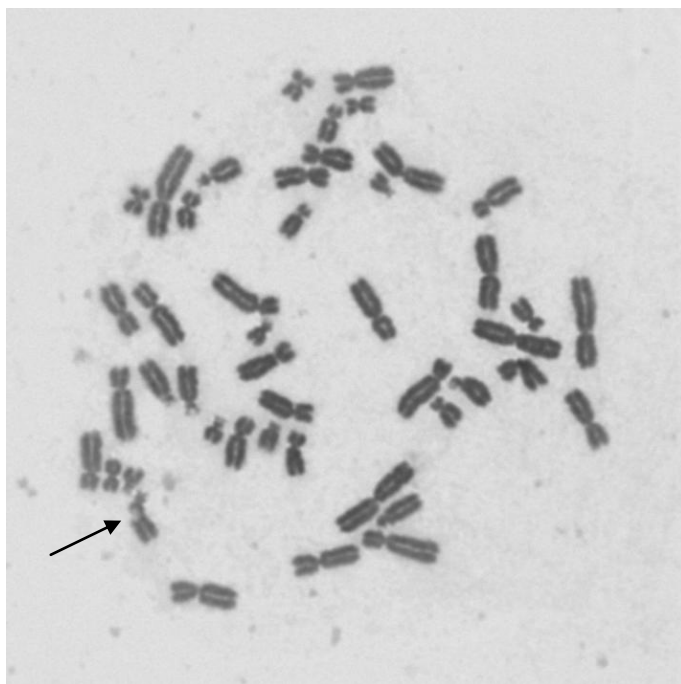


Рис. 7.1 Метафазна клітина з хроматидним фрагментом. Giemsa-зabarвлення, збільшення 10 x 100



Рис. 7.2 Метафазна клітина з хроматидним обміном. Giemsa-зabarвлення, збільшення 10 x 100

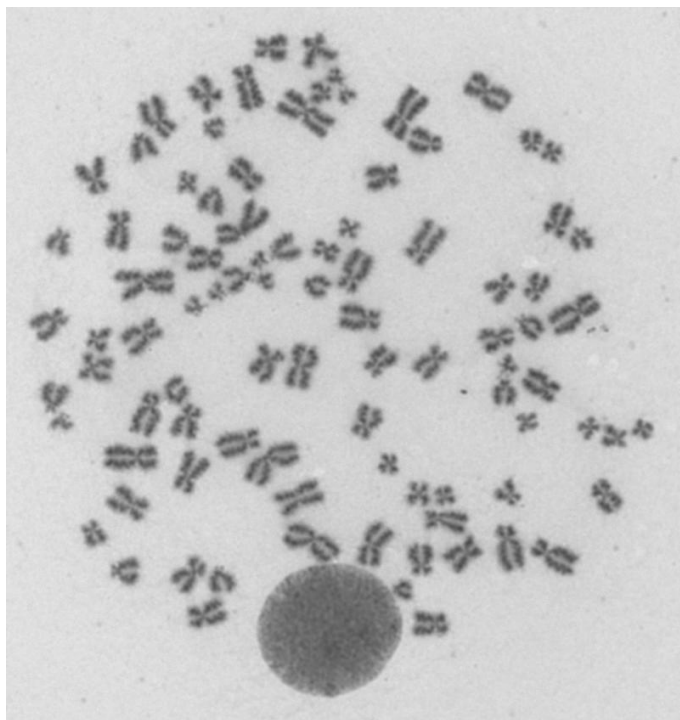


Рис. 7.3 Поліплоїдна клітина, що містить два діплоїдних набору хромосом.
Giemsa-забарвлення, збільшення 10 x 100

Сумарний рівень пошкоджень хроматидного типу та їх окремих видів у онкогінекологічних хворих, у хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та шиї на різних етапах ПТ при співставленні із значеннями у об'єднаних вибірках цих пацієнтів до початку променевого лікування у наведено у табл. 7.2, 7.3, 7.4, відповідно. Слід відзначили, що переважна більшість клітин з пошкодженнями хроматидного типу містила одну аберацію, проте зустрічались клітини з двома і більше абераціями хроматидного типу. Так, відсоток метафаз з більше ніж однією А Хт до ПТ у всіх групах був майже однаковим та становив 2,0 – 2,2 % від загального числа клітин з А Хт. В середині курсу променевого лікування цей відсоток зростав у групі РМТ до 3,0 %, у групі РЛ – до 12,5 %, у групі РГШ залишався майже незмінним і складав 2,1 %. К кінцю ПТ у онкогінекологічних хворих зазначений показник дорівнював 4,9 %, у хворих на рак легені – 8,7 %, у хворих з пухлинами голови та шиї – 2,9 %.

Аберації хроматидного типу та геномні порушення у онкогінекологічних хворих на різних етапах променевої терапії

Етап обстеження	Проаналізовано нормоплоїдних клітин	$Y \pm SE$ на 100 клітин						
		Кл _{A X_T}	A X _T	X _T Фр	X _T Обм	I _{X_T} Дел	Геномні порушення	
							Гіп	Ппл
До ПТ	7125	$1,99 \pm 0,17$	$2,04 \pm 0,17$	$1,92 \pm 0,16$	$0,10 \pm 0,04$	$0,01 \pm 0,01$	$0,18 \pm 0,05$	$0,25 \pm 0,06$
Середина ПТ	4178	$2,37 \pm 0,24$	$2,44 \pm 0,24$	$2,20 \pm 0,23$	$0,14 \pm 0,06$	$0,10 \pm 0,05$	$0,14 \pm 0,06$	$0,50 \pm 0,11$
Кінець ПТ	3445	$2,35 \pm 0,26$	$2,50 \pm 0,27$	$2,29 \pm 0,26$	$0,20 \pm 0,08$	0	$0,20 \pm 0,08$	$1,42 \pm 0,20$

Примітка: Кл_{A X_T} – клітини з абераціями хроматидного типу.

Таблиця 7.3

Аберації хроматидного типу та геномні порушення у хворих на рак легені на різних етапах променевої терапії

Етап обстеження	Проаналізовано нормоплоїдних клітин	$Y \pm SE$ на 100 клітин						
		Кл _{A X_T}	A X _T	X _T Фр	X _T Обм	I _{X_T} Дел	Геномні порушення	
							Гіп	Ппл
До ПТ	3212	$2,80 \pm 0,30$	$2,86 \pm 0,30$	$2,55 \pm 0,28$	$0,28 \pm 0,09$	$0,03 \pm 0,03$	$0,16 \pm 0,07$	$0,09 \pm 0,05$
Середина ПТ	1918	$3,75 \pm 0,44$	$4,22 \pm 0,47$	$3,75 \pm 0,44$	$0,26 \pm 0,12$	$0,21 \pm 0,10$	$0,10 \pm 0,07$	$0,05 \pm 0,05$
Кінець ПТ	2009	$5,18 \pm 0,51$	$5,62 \pm 0,53$	$5,38 \pm 0,52$	$0,10 \pm 0,07$	$0,15 \pm 0,09$	$0,05 \pm 0,05$	$0,25 \pm 0,11$

Примітка: Кл_{A X_T} – клітини з абераціями хроматидного типу.

Аберації хроматидного типу та геномні порушення у хворих з пухлинами голови та шиї на різних етапах променевої терапії

Етап обстеження	Проаналізовано нормоплоїдних клітин	$Y \pm SE$ на 100 клітин						
		Кл _{A X_T}	A X _T	X _T Фр	X _T Обм	I _{X_T} Дел	Геномні порушення	
							Гіп	Ппл
До ПТ	3504	$1,43 \pm 0,20$	$1,46 \pm 0,20$	$1,40 \pm 0,20$	$0,06 \pm 0,04$	0	$0,17 \pm 0,07$	$0,20 \pm 0,08$
Середина ПТ	1981	$2,42 \pm 0,35$	$2,47 \pm 0,35$	$2,22 \pm 0,33$	$0,10 \pm 0,07$	$0,15 \pm 0,09$	$0,10 \pm 0,07$	$0,20 \pm 0,10$
Кінець ПТ	1718	$1,98 \pm 0,34$	$2,04 \pm 0,34$	$1,92 \pm 0,33$	$0,12 \pm 0,08$	0	$0,06 \pm 0,06$	$0,12 \pm 0,08$

Примітка: Кл_{A X_T} – клітини з абераціями хроматидного типу.

У онкогінекологічних хворих від початку і впродовж всього курсу ПТ було відсутнє статистично значуще зростання як рівня клітин з абераціями хроматидного типу, так і сумарного рівня аберацій хроматидного типу (для середини ПТ: $t = 1,32$ і $t = 1,41$; $p > 0,05$; для кінця ПТ: $t = 1,19$ і $t = 1,50$; $p > 0,05$, відповідно). Відповідно для Хт Фр та Хт Обм також не спостерігали відносно початку ПТ відчутного зростання під час променевого лікування (для середини ПТ: $t = 1,01$ і $t = 0,69$; $p > 0,05$; для кінця ПТ: $t = 1,25$ і $t = 1,39$; $p > 0,05$, відповідно). Частота Іхт Дел до середини ПТ дещо підвищувалась ($t = 1,99$; $p < 0,05$), проте по завершенні лікування зазначенні порушення у вибірці клітин були відсутні ($t = 0,70$; $p > 0,05$).

Геномні порушення, такі як гіперплоїдні та поліплоїдні клітини, спостерігали на всіх термінах обстеження, але впродовж ПТ лише рівень Ппл статистично значуще збільшувався до середини та к кінцю курсу ($t = 2,18$; $p < 0,05$ та $t = 7,08$; $p < 0,001$, відповідно). При цьому темпи зростання рівня Ппл забезпечили статистично значущу різницю між серединою та кінцем променевого лікування ($t = 4,17$; $p < 0,001$). На відміну від допроменевого етапу дослідження, в середині та наприкінці ПТ зустрічались поодинокі Ерп.

В групі РЛ від початку до середини курсу ПТ спостерігали тенденції до зростання кількості клітин з абераціями хроматидного типу, проте це зростання не досягало статистичної значущості ($t = 1,86$; $p > 0,05$). По закінченні лікування різниця була статистично значущою як по відношенню до середини, так і до початку ПТ ($t = 2,11$; $p < 0,05$ та $t = 4,33$; $p < 0,001$, відповідно). З початком ПТ підвищення сумарного рівня А Хт до середини курсу відбувалось за рахунок Хт Фр та Іхт Дел ($t = 2,40$ та $t = 1,97$; $p < 0,05$, відповідно). Подальше збільшення частоти зазначеного показника до завершення лікування було забезпечено виключно завдяки Хт Фр ($t = 5,20$; $p < 0,001$). При цьому статистично значуща різниця для Хт Фр зберігалась при співставленні значень в середині та в кінці ПТ ($t = 2,37$; $p < 0,05$). Частота Хт Обм залишалась незмінною протягом всього курсу променевого лікування по відношенню до значень перед початком ПТ ($t = 0,13$ та $t = 1,38$; $p < 0,05$, в середині та в кінці ПТ, відповідно).

У випадку ГП без виключення для всіх видів геномних аномалій не було виявлено їх статистично значущого зростання або зменшення в ході ПТ.

Зростання рівня клітин з абераціями хроматидного типу та загального рівня аберацій хроматидного типу у групі РГШ до середини курсу було статистично значущим у порівнянні із значеннями цих показників до ПТ ($t = 2,65$ та $t = 2,68$; $p < 0,01$, відповідно). Аналогічну картину спостерігали для деяких видів А Хт, а саме для Хт Фр ($t = 2,25$; $p < 0,05$). К кінцю променевого лікування рівні цитогенетичних показників хроматидного типу повертались до допроменевих значень ($t = 1,48$, $t = 1,54$ та $t = 1,42$; $p > 0,05$, для клітин з А Хт, А Хт та Хр Фр, відповідно). При цьому статистично значущого збільшення частоти Хт Обм не було виявлено, а Іхт Дел було знайдено лише в середині курсу ($t = 2,30$; $p < 0,01$).

Рівень ГП, гіперплоїдів та поліплоїдів не змінювався в ході ПТ ($t = 1,05$ та $t = 0,68$; $p > 0,05$). Ендореplikації були відсутні в ході всього терапевтичного опромінення.

Висновки до розділу 7

– Частота цитогенетичних пошкоджень хроматидного типу у всіх досліджуваних групах пацієнтів до початку лікування була вищою за спонтанні значення. При цьому найвищий допроменевий рівень цих показників спостерігали в групі хворих на рак легені.

– Рівень аберацій хроматидного типу у онкогінєкологічних хворих на пацієнтів з пухлинами голови та шиї залишався майже незмінним за дії радіотерапії. У хворих на рак легені підвищення відбувалось впродовж всього курсу променевої терапії, що забезпечило статистично значущу різницю в середині та в кінці лікування при порівнянні із значеннями у інших групах хворих.

– Накопичення нерадіаційно-індукованих цитогенетичних пошкоджень проходило переважно за рахунок хроматидних фрагментів, а рівень хроматидних обмінів залишався сталим в ході променевої терапії.

– Зміни частоти геномних порушень переважно мали флуктуаційний характер у всіх досліджуваних групах за винятком поліплодних клітин, рівень яких у онкогінекологічних хворих зростав під час променевої терапії, що обумовило статистично значущу різницю в середині та кінці курсу лікування у співставленні з допроменевими значеннями.

Результати досліджень розділу 7 наведено в публікаціях автора [81].

РОЗДІЛ 8

**РІВЕНЬ ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ПОШКОДЖЕНЬ У ЛІМФОЦИТАХ КРОВІ
ОНКОГІНЕКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ, ХВОРИХ НА РАК ЛЕГЕНІ
І ПАЦІЄНТІВ З ПУХЛИНАМИ ГОЛОВИ ТА ШИЇ НА ПОЧАТКОВОМУ
ЕТАПІ ГАММА- ТА МЕГАВОЛЬТНОЇ ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ**

Індивідуальні дані дослідження у онкологічних хворих, що були обстежені на початковому етапі променевого лікування, об'єднували у вибірки в залежності від локалізації пухлин та застосованого джерела опромінення [82]. Значення цитогенетичних пошкоджень від 21 онкогінекологічної пацієнтки, 16 хворих на рак легені і 8 хворих з пухлинами голови та шиї після отримання першого сеансу гамма-терапії ^{60}Co або мегавольтної променевої терапії порівнювали між собою та з даними обстеження тих самих хворих до початку лікування (табл. 8.1 та 8.2).

Таблиця 8.1

Аберації хромосомного типу у онкогінекологічних хворих на допроменевому та початковому етапах променевого лікування в залежності від джерела опромінення

Етап обстеження	n	Проаналізовано нормоплоїдних клітин	$Y \pm SE$ на 100 клітин			
			A $X_{c_{unst}}$	Диц	Ац Фр	Тн
До ПТ	18	3911	$2,76 \pm 0,27$	$0,33 \pm 0,09$	$2,33 \pm 0,24$	$0,05 \pm 0,04$
Перша фракція ГТ	12	3368	$7,51 \pm 0,47$	$3,09 \pm 0,30$	$3,98 \pm 0,34$	$0,33 \pm 0,10$
Перша фракція МТ	9	2611	$7,51 \pm 0,54$	$2,80 \pm 0,33$	$4,29 \pm 0,41$	$0,11 \pm 0,07$

Примітка: n – кількість обстежених.

Таблиця 8.2

Аберації хромосомного типу у хворих на рак легені на допроменевого та початковому етапах променевого лікування в залежності від джерела опромінення

Етап обстеження	n	Проаналізовано нормоплоїдних клітин	$Y \pm SE$ на 100 клітин			
			A Xc _{unst}	Диц	Ац Фр	Тн
До ПТ	16	3212	$1,90 \pm 0,24$	$0,44 \pm 0,12$	$1,46 \pm 0,21$	$0,09 \pm 0,05$
Перша фракція ГТ	8	703	$5,55 \pm 0,89$	$1,99 \pm 0,53$	$2,56 \pm 0,60$	$0,57 \pm 0,28$
Перша фракція МТ	7	1953	$4,86 \pm 0,50$	$1,79 \pm 0,30$	$2,61 \pm 0,37$	$0,20 \pm 0,10$

Примітка: n – кількість обстежених.

У хворих на рак тіла матки вже після першої фракції спостерігали відчутне зростання цитогенетичних порушень хромосомного типу у співставленні із значеннями до початку ПТ. Це стосувалось як пацієнтів, що отримували гамма-терапію, так і хворих за дії мегавольтного променевого лікування. До того ж темпи зростання були ідентичними для обох джерел опромінення, що обумовило відсутність статистично значущої різниці між різними видами променевого лікування. Так, середній рівень A Xc_{unst} у онкогінекологічних хворих з груп ГТ та МТ підвищувався у 2,7 раза ($t = 9,07$ та $t = 8,70$; $p < 0,001$, відповідно), а частота Диц зростала приблизно у 9,4 та 8,5 раза ($t = 9,25$ та $t = 8,49$; $p < 0,001$, відповідно). Як і для дицентричних хромосом, спостерігали збільшення рівня Ац Фр у 1,7 та 1,8 раза ($t = 4,00$ та $t = 4,40$; $p < 0,001$, у групах ГТ та МТ, відповідно). При цьому темпи зростання частоти Диц були вищими, ніж для Ац Фр. То ж до початку ПТ співвідношення рівня Диц до Ац Фр дорівнювало

1 : 7,1, після першого сеансу – 1 : 1,3 у групі ГТ та 1 : 1,5 у групі МТ. Рівень стабільних аберацій хромосом був статистично значуще вищим за значення на точці до променевого лікування у хворих після сеансу гамма-терапії ($t = 2,77$; $p < 0,01$).

У хворих на рак легені спостерігали схожу картину. Після першого сеансу статистично значуще підвищувалась як сумарна частота аберацій хромосомного типу, так і частота їх окремих видів у порівнянні з допроменевими значеннями цих показників. При цьому схожа швидкість зростання радіаційно-індукованих пошкоджень при обох видах застосованої променевої терапії не забезпечила статистично значущих розбіжностей між групами ГТ та МТ. Як за дії гамма-терапії, так і при опроміненні на лінійному прискорювачі, загальний рівень $A X_{c_{unst}}$ підвищувався у 2,9 та 2,6 раза ($t = 5,48$ та $t = 5,95$; $p < 0,001$, відповідно). В обох групах хворих на рак легені зростання Диц відбувалось з більшою інтенсивністю, ніж Ац Фр. Так, у групі ГТ підвищення Диц складало 4,1 раза, у групі МТ – 4,5 раза ($t = 4,42$ та $t = 4,85$; $p < 0,001$, відповідно). Приріст Ац Фр від початку лікування до першої фракції ПТ при використанні апарату РОКУС-АМ та лінійного прискорювача був однаковим і дорівнював 1,8 раза ($t = 2,05$; $p < 0,05$ та $t = 2,90$; $p < 0,01$, відповідно). До початку ПТ співвідношення рівня Диц до Ац Фр складало 1 : 3,3, після першої фракції – 1 : 1,3 та 1 : 1,5 у групі ГТ і МТ, відповідно. Частота транслокацій у хворих групи РЛ, як і у онкогінекологічних пацієнток, мала статистично значуще перевищення допроменевих значень лише у випадку застосування гамма-опромінення ($t = 2,70$; $p < 0,01$).

Для з'ясування впливу розміру опроміненої ділянки тіла на вихід цитогенетичних пошкоджень було проведено співставлення даних дослідження на ранніх етапах променевого лікування онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин (табл. 8.3). Для цього, окрім онкогінекологічних хворих та хворих на рак легені, додатково було обстежено хворих з пухлинами голови та шиї.

**Аберації хромосомного типу у онкологічних хворих після першої фракції
променевого лікування в залежності від локалізації пухлин**

Група	n	Проаналізо- вано нормо- плоїдних клітин	Y ± SE на 100 клітин			
			A X _{c_{unst}}	Диц	Ац Фр	Тн
РТМ	21	5979	7,51 ± 0,35	2,96 ± 0,22	4,11 ± 0,26	0,23 ± 0,06
РЛ	15	2656	5,05 ± 0,44	1,84 ± 0,26	2,60 ± 0,31	0,30 ± 0,11
РГШ	8	2452	4,28 ± 0,42	1,79 ± 0,27	2,28 ± 0,31	0,12 ± 0,07

Примітка: n – кількість обстежених.

У всіх обстежених групах пацієнтів направленість формування цитогенетичних перебудов була подібною. При цьому після першої фракції розподіли індивідуальних частот суми нестабільних аберацій по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона (для групи РТМ: $\sigma^2/Y = 1,33$, $u = 18,33$; для групи РЛ: $\sigma^2/Y = 1,16$, $u = 5,81$; для групи РГШ: $\sigma^2/Y = 1,53$, $u = 18,62$), що свідчить про локальність опромінення [83].

Висновки до розділу 8

– За дії опромінення під час променевої терапії на апараті РОКУС-АМ та лінійному прискорювачі вже після першого сеансу спостерігали підвищення рівня аберацій хромосомного типу відносно допроменевих значень у групах онкогінекологічних хворих та хворих на рак легені.

– Зростання частоти маркерів радіаційного впливу – дицентриків – відбувалось без статистично значущої різниці між джерелами променевого

лікування, однак темпи цього підвищення були майже в 2 рази вищими в групі онкогінекологічних хворих у порівнянні з хворими на рак легені та пацієнтами з пухлинами голови та ший.

Результати досліджень розділу 8 наведено в публікаціях автора [82].

РОЗДІЛ 9

ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ЕФЕКТИ У ЛІМФОЦИТАХ ОНКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ДЖЕРЕЛА ОПРОМІНЕННЯ ТА ЛОКАЛЬНОСТІ РАДІАЦІЙНОГО ВПЛИВУ В УМОВАХ *EX VIVO*

9.1 Цитогенетичні ефекти у лімфоцитах онкологічних хворих в умовах *ex vivo* за дії ^{60}Co гамма- та мегавольтного випромінювання

В експерименті з тестовим опроміненням та симуляцією локального опромінення, до якого було залучено 30 онкологічних пацієнтів, проаналізовано 15973 клітини на 79 точках дослідження [84].

Було проаналізовано рівень окремих видів цитогенетичних пошкоджень хромосомного типу у онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин до початку променевого лікування, що є нульовою дозовою точкою для експерименту *ex vivo*. Ці дані було співставлено з групою лабораторного контролю (табл. 9.1).

Рівень А Кл та А Хр в усіх групах пацієнтів до ПТ перевищувала контрольні значення (для групи РТМ: $t = 8,42$ та $t = 9,10$; для групи РЛ: $t = 9,88$ та $t = 10,41$; для групи РГШ: $t = 4,03$ та $t = 4,73$, відповідно; $p < 0,001$).

Середній сумарний рівень А Хс у групах РТМ, РЛ та РГШ статистично значуще перевищував значення у групі порівняння ($t = 5,39$, $t = 4,58$ та $t = 4,45$; $p < 0,001$, відповідно), але не мав статистично значущої різниці між зазначеними групами хворих ($p > 0,05$). При аналізі частоти окремих видів пошкоджень хромосомного типу для рівня Диц було показано перевищення контрольних значень у групах РТМ та РЛ ($t = 3,14$; $p < 0,01$ та $t = 3,33$; $p < 0,001$, відповідно), для групи РГШ статистично значущої різниці виявлено не було ($t = 1,42$; $p > 0,05$). У випадку Ац Фр за відсутності статистично значущої різниці між собою, у всіх досліджуваних групах середній рівень зазначеного показника перевищував

спонтанні значення приблизно у 2 рази ($t = 4,49$; $p < 0,001$, $t = 3,13$; $p < 0,01$ та $t = 3,93$; $p < 0,001$, для РТМ, РЛ та РГШ, відповідно).

Таблиця 9.1

Загальні цитогенетичні пошкодження хромосом та аберації хромосомного типу у лімфоцитах онкологічних хворих до опромінення *ex vivo*

Група	$Y \pm SE$ на 100 клітин				
	А Кл	А Хр	А Хс	Диц	Ац Фр
РТМ	$4,28 \pm 0,34$	$4,56 \pm 0,35$	$2,09 \pm 0,24$	$0,33 \pm 0,10$	$1,73 \pm 0,22$
РЛ	$5,27 \pm 0,47$	$5,53 \pm 0,48$	$2,02 \pm 0,29$	$0,38 \pm 0,13$	$1,52 \pm 0,25$
РГШ	$2,89 \pm 0,33$	$3,14 \pm 0,34$	$1,94 \pm 0,27$	$0,18 \pm 0,08$	$1,68 \pm 0,25$
Лабораторний контроль	$1,64 \pm 0,14$	$1,65 \pm 0,14$	$0,88 \pm 0,15$	$0,08 \pm 0,02$	$0,80 \pm 0,15$

Таким чином, у онкогінекологічних хворих, хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та шиї ще до проведення променевого лікування середні рівні цитогенетичних показників статистично значуще перевищували спонтанні значення. При цьому відсутність статистично значущої різниці для цих показників поміж досліджуваними групами дозволяє у випадку потреби об'єднати вибірки клітин від пацієнтів незалежно від локалізації пухлин.

Після гамма- та мегавольтного опромінення у дозі 2 Гр сумарні значення цитогенетичних показників стрімко зростали (табл. 9.2 та 9.3).

Таблиця 9.2

Загальні цитогенетичні пошкодження хромосом та аберації хромосомного типу у лімфоцитах онкологічних хворих після гамма-опромінення *ex vivo* в дозі 2 Гр

Група	$\bar{Y} \pm SE$ на 100 клітин				
	А Кл	А Хр	А Хс	Диц	Ац Фр
РТМ	32,19 $\pm$ 1,99	42,11 $\pm$ 2,27	38,68 $\pm$ 2,18	18,12 $\pm$ 1,49	16,40 $\pm$ 1,42
РЛ	37,07 $\pm$ 4,01	46,98 $\pm$ 4,51	41,81 $\pm$ 4,25	24,14 $\pm$ 3,23	15,09 $\pm$ 2,56
РГШ	30,45 $\pm$ 3,39	39,10 $\pm$ 3,84	37,97 $\pm$ 3,79	19,17 $\pm$ 2,69	13,91 $\pm$ 2,29

Таблиця 9.3

Загальні цитогенетичні пошкодження хромосом та аберації хромосомного типу у лімфоцитах онкологічних хворих після мегавольтного опромінення *ex vivo* в дозі 2 Гр

Група	$\bar{Y} \pm SE$ на 100 клітин				
	А Кл	А Хр	А Хс	Диц	Ац Фр
РТМ	33,22 $\pm$ 2,35	46,61 $\pm$ 2,78	43,64 $\pm$ 2,69	23,31 $\pm$ 1,96	15,54 $\pm$ 1,60
РЛ	36,45 $\pm$ 2,24	50,07 $\pm$ 2,63	46,63 $\pm$ 2,53	25,31 $\pm$ 1,87	15,68 $\pm$ 1,47
РГШ	35,60 $\pm$ 3,06	42,93 $\pm$ 3,36	39,53 $\pm$ 3,22	20,16 $\pm$ 2,30	14,40 $\pm$ 1,94

При опроміненні у дозі 2 Гр на апараті РОКУС-АМ у групі хворих РТМ середньогруповий рівень А Кл підвищувався в 7,5 раза, а сумарний рівень А Хр – більш ніж у 9 разів. У групі хворих РЛ середній рівень А Кл та сумарний рівень А Хр зростали у 7 та 8,5 раза, відповідно. У групі РГШ середній рівень А Кл підвищувався у 10,5 раза, а сумарний рівень А Хр – в 12,5 раза. Розбіжностей за рівнями структурних перебудов хромосомного типу поміж всіма обстеженими групами пацієнтів на точці 2 Гр не було виявлено (для груп РТМ і РЛ $t = 1,00$, для груп РТМ і РГШ $t = 0,66$, для груп РЛ і РГШ $t = 1,34$; $p > 0,05$, відповідно).

Підвищення сумарного рівня А Хс від нульової точки до точки 2 Гр було забезпечено зростанням частоти обмінних та фрагментних аберацій. У хворих групи РТМ середньогруповий рівень Диц статистично значуще зростав майже у 55 разів, у групі РЛ – у 63,5 раза та у групі РГШ – рівно у 106,5 раза ($t = 24,26$, $t = 21,89$ та $t = 21,68$; $p < 0,001$, відповідно), а частота Ац Фр підвищувалась приблизно у 9,5, 10 та 8 разів, відповідно, при співставленні із значеннями до опромінення ($t = 18,03$, $t = 11,95$ та $t = 11,45$; $p < 0,001$, відповідно). Інтенсивність приросту рівня Диц при опроміненні в дозі 2 Гр була більш вираженою відносно рівня Ац Фр. Так, співвідношення частоти Диц до Ац Фр у групі РТМ становило 1 : 0,91, у групі РЛ – 1 : 0,63 та у групі РГШ – 1 : 0,73.

У той же час, при очікуваному підвищенні сумарних частот А Хс та їх окремих видів, таких як Диц та Ац Фр, різниці на точці 2 Гр між всіма обстеженими групами хворих не було зафіксовано (для груп РТМ і РЛ $t = 0,67$, $t = 1,84$, $t = 0,44$; для груп РТМ і РГШ $t = 0,16$, $t = 0,35$, $t = 0,89$; для груп РЛ і РГШ $t = 0,68$, $t = 1,19$, $t = 0,34$, відповідно; $p > 0,05$). Це дозволяє об'єднати вибірки клітин від груп пацієнтів з різними локалізаціями пухлин в межах даної експериментальної точки для оцінки впливу джерела опромінення на вихід цитогенетичних пошкоджень в експерименті *ex vivo*.

За дії мегавольтного опроміненні у дозі 2 Гр із використанням лінійного прискорювача у групі хворих РТМ середньогрупова частота А Кл зростала майже у 8 разів, а сумарний рівень А Хр – більш ніж у 10 разів. У групі хворих РЛ середній рівень А Кл та сумарний рівень А Хр підвищувався у 7 та 9 разів,

відповідно. У групі РГШ середній рівень А Кл зростав більш ніж у 12 разів, а сумарний рівень А Хр – більш ніж у 13,5 раза. Як і за дії гамма-опромінення, при опроміненні на лінійному прискорювачі порівняно менше зростання частоти загальних цитогенетичних показників у хворих на рак легені було спричинено високим рівнем пошкоджень на нульовій точці, переважно за рахунок А Хт. Розбіжностей за рівнями структурних перебудов хромосомного типу поміж обстеженими групами пацієнтів на точці 2 Гр не було виявлено (для груп РТМ і РЛ $t = 0,90$, для груп РТМ і РГШ $t = 0,84$, для груп РЛ і РГШ $t = 1,64$; $p > 0,05$, відповідно).

Зростання сумарної частоти А Хс від нульової точки до точки 2 Гр відбувалось внаслідок підвищення рівня обмінних та фрагментних пошкоджень. У хворих групи РТМ середньогруповий рівень Диц зростав із статистичною значущістю більш ніж у 70,5 раза, у групі РЛ – більш ніж у 66,5 раза та у групі РГШ – рівно у 112 разів ($t = 27,58$, $t = 23,57$ та $t = 22,57$; $p < 0,001$, відповідно), а частота Ац Фр підвищувалась приблизно у 9, 10,5 та 8,5 разів, відповідно, у порівнянні із значеннями до опромінення ($t = 16,36$, $t = 15,19$ та $t = 12,94$; $p < 0,001$, відповідно). Швидкість підвищення частоти Диц за опромінення в дозі 2 Гр була вищою за темпи зростання рівня Ац Фр. Співвідношення частоти Диц до Ац Фр у групі РТМ дорівнювало 1 : 0,67, у групі РЛ – 1 : 0,62 та у групі РГШ – 1 : 0,71.

Як і у випадку гамма-опромінення, при мегавольтному опроміненні зростання рівня А Хс, Диц та Ац Фр не призводило до статистично значущої різниці на точці 2 Гр між залученими до експерименту групами хворих виявлено не було (для груп РТМ і РЛ $t = 0,81$, $t = 0,74$, $t = 0,07$; для груп РТМ і РГШ $t = 0,97$, $t = 1,03$, $t = 0,45$; для груп РЛ і РГШ $t = 1,69$, $t = 1,68$, $t = 0,52$, відповідно; $p > 0,05$).

Таким чином, відсутність при гамма- або мегавольтному опроміненні у дозі 2 Гр статистично значущих розбіжностей між рівнями аберацій хромосомного типу у групах обстежених хворих дозволяє об'єднати вибірки клітин від груп пацієнтів з різними локалізаціями пухлин в межах даної експериментальної точки

для оцінки впливу джерела опромінення на вихід цитогенетичних пошкоджень в експерименті *ex vivo* (табл. 9.4).

Таблиця 9.4

Загальні цитогенетичні пошкодження хромосом та аберації хромосомного типу у лімфоцитах онкологічних хворих після гамма- та мегавольтного опромінення *ex vivo* в дозі 2 Гр

Група	$\bar{Y} \pm SE$ на 100 клітин				
	А Кл	А Хр	А Хс	Диц	Ац Фр
РОКУС-АМ	$32,70 \pm 1,58$	$42,36 \pm 1,80$	$39,09 \pm 1,72$	$19,39 \pm 1,21$	$15,67 \pm 1,09$
Clinac 600C	$35,12 \pm 1,43$	$47,26 \pm 1,66$	$43,99 \pm 1,60$	$23,45 \pm 1,17$	$15,34 \pm 0,95$

Рівні цитогенетичних показників у об'єднаних вибірках клітин, отриманих від онкогінекологічних пацієнток, хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та шиї, мали схожу за направленістю динамку їх змін від нульової точки до точки 2 Гр при опроміненні на апараті РОКУС-АМ та лінійному прискорювачі Clinac 600C. Однак слід зазначити, що темпи приросту частоти аберацій хромосомного типу були вище під час застосування мегавольтного опромінення, що і забезпечило статистично значущу різницю у реалізації цитогенетичних ефектів за дії різних джерел опромінення. Сумарний рівень А Хр при мегавольтному опроміненні на лінійному прискорювачі перевищував аналогічний показник при гамма-опроміненні ($t = 1,99$; $p < 0,05$), хоча статистично значуща різниця для А Кл для досліджуваних джерел опромінення була відсутня ($t = 1,13$; $p > 0,05$). По відношенню до опромінення на гамма-апараті перевищення загального рівня А Хс за дії мегавольтного опроміненні ($t = 2,07$; $p < 0,05$) відбувалось за рахунок Диц ($t = 2,38$; $p < 0,05$). Водночас, частота Ац Фр не мала

статистично значущої різниці при порівнянні значень цих цитогенетичних показників від досліджуваних джерел опромінення ($t = 0,22$; $p > 0,05$).

9.2 Цитогенетичні ефекти у лімфоцитах онкологічних хворих в експерименті з симуляції локального опромінення в умовах *ex vivo* за дії ^{60}Co гамма- та мегавольтного випромінювання

Відсутність залежності виходу аберацій хромосомного типу від локалізації пухлин на точці 2 Гр надає змогу аналізувати рівень цитогенетичних пошкоджень у об'єднаних вибірках клітин від хворих з різними локалізаціями пухлин на точці 2 Гр з розведенням 1 : 9 для вирішення питання з оцінки інформативності експериментальної моделі для детекції факту опромінення, а також, що не менш важливо, локальності цього опромінення (табл. 9.5).

Таблиця 9.5

Загальні цитогенетичні пошкодження хромосом та аберації хромосомного типу у лімфоцитах онкологічних хворих після гамма- та мегавольтного опромінення *ex vivo* в дозі 2 Гр з розведенням 1 : 9

Група	$\bar{Y} \pm SE$ на 100 клітин				
	А Кл	А Хр	А Хс	Диц+ЦК	Ац Фр
РОКУС-АМ	$5,57 \pm 0,72$	$5,94 \pm 0,74$	$3,25 \pm 0,55$	$0,74 \pm 0,26$	$2,13 \pm 0,45$
Clinac 600C	$6,64 \pm 0,46$	$7,76 \pm 0,50$	$5,03 \pm 0,40$	$1,54 \pm 0,22$	$3,30 \pm 0,33$
Контроль на нульовій точці	$4,12 \pm 0,22$	$4,38 \pm 0,22$	$2,02 \pm 0,15$	$0,30 \pm 0,06$	$1,66 \pm 0,14$

Направленість процесу змін цитогенетичних показників у об'єднаних вибірках клітин, отриманих від онкогінекологічних пацієнток, хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та шиї, була подібною від нульової точки до точки 2 Гр 1 : 9 при опроміненні на апараті РОКУС-АМ та лінійному прискорювачі Clinac 600С. На початку роботи було показано відсутність розбіжностей між значеннями структурних перебудов на нульовій точці між групами хворих з різними локалізаціями пухлин, тому в експерименті із симуляції локальності опромінення в якості нульової точки використовували вибірку клітин від онкологічних хворих до початку променевого лікування, об'єднаних незалежно від локалізації онкопатології та застосованого у подальшому джерела опромінення.

На точці 2 Гр з розведенням 1 : 9 після гамма-опроміненні частота А Кл та А Хр зростала приблизно у 1,4 раза. За впливу мегавольтного опромінення відповідні показники підвищувались у 1,6 та 1,8 раза, відповідно.

При використанні обох джерел опромінення було показано статистично значуще зростання рівня А Хс відносно нульової точки. Це підвищення було забезпечено зростанням сумарної частоти дицентричних та кільцевих хромосом у 2,5 раза у випадку опромінення на апараті РОКУС-АМ ($t = 2,34$; $p < 0,05$) та у 5 разів за дії опромінення від лінійного прискорювача ($t = 7,54$; $p < 0,001$). Слід відзначити, що на точці 2 Гр 1 : 9 співвідношення рівня Диц+ЦК до Ац Фр було подібним для гамма- та мегавольтного опромінення і становило 1 : 2,9 та 1 : 2,1, відповідно.

Розподіли індивідуальних частот суми дицентриків і центричних кілець по клітинах характеризувались наддисперсністю відносно статистики Пуассона (для РОКУС-АМ: $\sigma^2/Y = 1,24$, $u = 6,05$; для Clinac 600С: $\sigma^2/Y = 1,19$, $u = 7,71$), що вказує на локальність опромінення [77].

Результати проведеного дослідження свідчать про більш генотоксичний вплив в умовах *ex vivo* на лімфоцити онкологічних хворих за дії мегавольтного опромінення на лінійному прискорювачі. При цьому не спостерігалось залежності від того, до якої групи за локалізацією пухлин відносились донори клітин. Крім

того, у частині експерименту з опроміненням та подальшим розведенням 1 : 9 показана можливість виявлення факту опромінення та успішної детекції його локального характеру. Дані, отримані при виконанні експерименту, підтверджують можливість використання запропонованої тестової моделі для дослідження впливу різних джерел опромінення на вихід та спектр цитогенетичних пошкоджень.

Висновки до розділу 9

– В експерименті *ex vivo* з опромінення у дозі 2 Гр крові у досліджуваних групах пацієнтів показано, що зростання загального рівня аберацій хромосом та частоти аберацій хромосомного типу не залежало від локалізації пухлин. Водночас встановлено невелике, але статистично значуще, перевищення рівня аберацій хромосомного типу, зокрема дицентриків, у групі Clinac 600C при співставленні з групою РОКУС-АМ.

– Частота радіаційно-індукованих аберацій в дозі 2 Гр з розведенням 1 : 9 зростала з різною швидкістю за залежала від джерела опромінення. Так, рівень аберацій хромосомного типу підвищувався у 2,5 рази при опроміненні на апараті РОКУС-АМ та у 5 разів – на лінійному прискорювачі.

– Можливість виявити наддисперсний характер розподілу аберацій хромосомного типу відносно статистики Пуассона підтверджує придатність представленої тестової моделі як для детекції факту опромінення, так і для виявлення його локальності.

Результати досліджень розділу 9 наведено в публікаціях автора [84].

РОЗДІЛ 10

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Однією з провідних задач радіобіології та генетики є дослідження пошкодження геному соматичних клітин, що завдані дією іонізуючого опромінення за різними сценаріями радіаційного впливу під час проведення променевої терапії. Проте разом з беззаперечною користю терапевтичного опромінення у боротьбі з онкопатологією, іонізувальне опромінення може бути причиною розвитку вторинного канцерогенезу [85]. В умовах подовження тривалості життя онкологічних хворих гостро стоїть проблема мінімізації негативних наслідків опромінення непухлинних клітин при радіотерапії [4, 8]. Тож осучаснення протипухлинної терапії, що полягає у вдосконаленні існуючого та розробці нового обладнання, застосуванні нових джерел опромінення, зміні режимів опромінення, потребує вивчення наслідків радіаційного впливу не тільки на пухлину, а і на нормальні тканини.

Одним з потужних інструментів для вирішення цієї задачі є цитогенетичні дослідження [86]. Аберації хромосом в лімфоцитах периферичної крові людини широко використовуються в біологічній дозиметрії, оскільки вони являють собою чутливий маркер для іонізувального випромінювання. Це знайшло своє відображення у цілій низці робіт [46, 87, 88].

Вищезазначене стосується також і дослідження цитогенетичних ефектів нерівномірного опромінення *in vitro*. Роботи з вивчення мікроядер, гамма-H2AX-локусів, хромосомних аберацій у лімфоцитах онкологічних пацієнтів при опроміненні *in vitro* спрямовані зазвичай на пошук ознак нестабільності геному, підвищеної радіочутливості хромосомного апарату або спроб пов'язати цитогенетичні зміни із променевими реакціями у нормальних тканинах [39, 89 – 96]. Результати цих досліджень є досить суперечливими, тому для з'ясування ефектів гострого тотального та локального опромінення у діапазоні терапевтичних доз необхідні подальші клінічні та експериментальні роботи. Крім

того, для коректної інтерпретації даних щодо нетаргетних ефектів у більшості випадків необхідно мати уяву про прямі радіаційні ефекти за тим же сценарієм опромінення.

Для адекватної оцінки радіаційного впливу на генетичний апарат людини від опромінення різних енергій необхідно додержуватись однакових чи дуже близьких протоколів досліджень, що, як правило, може бути виконано в рамках однієї роботи чи циклу робіт. Вивчення цитогенетичних ефектів у онкологічних хворих супроводжуються низкою методологічних аспектів. Одною із головних умов методологічно правильної побудови дослідження є максимально можлива однорідність груп обстежуваних пацієнтів, тобто вони мають бути подібними за віком, масою тіла (це зробити дуже складно), локалізацією пухлин та тактикою лікування. При цьому велике значення відіграють потужність опромінення, розмір поля опромінення, фракційна доза, сумарна осередкова доза, наявність хіміотерапії, строки забору зразків біологічного матеріалу для проведення дослідження ефектів опромінення, наявність відповідної групи порівняння.

Але часом зазначені методологічні аспекти проблематично дотримати. Так, у роботі [21] не всім пацієнтам проводили аналіз до ПТ, а дослідження після променевого лікування для різних хворих відбувалося на різних строках – від 1 місяця до 21 року. Тому в такому випадку порівняння даних, отриманих після одержання пацієнтами лікування, є досить проблематичним. У той же час автори приділили увагу підбору схожої за віком групи порівняння.

У дослідженні [10] група обстежених також була в певній мірі неоднорідною. Хоча всі хворі не отримували хіміотерапію під час проведення променевого лікування, в групі був пацієнт, що мав хіміотерапевтичне лікування до початку опромінення. Інший хворий, на відміну від всієї групи, що отримувала лікування від ^{60}Co гамма-опромінення, проходив ПТ на лінійному прискорювачі. При цьому потужність коливалась від 0,5 Гр / хв до 1 Гр / хв.

Автори [56] в одній, із досліджуваних ними груп, об'єднали хворих з різними локалізаціями (рак грудної залози, пухлини голови та шиї, рак прямої кишки, рак легені, рак простати, рак сечового міхура та навіть лімфома

Ходжкіна). Зрозуміло, що внаслідок розрізненості групи СОД у цих пацієнтів була від 40 до 100 Гр.

У роботі [27] з порівняння цитогенетичних ефектів у онкологічних пацієнтів впродовж ПТ використовувався тільки мікроядерний тест, який у порівнянні з вивченням рівня аберацій хромосом має обмежену інформативність. Одним з аспектів розбіжностей є використання різних джерел іонізуючої радіації при проведенні променевого лікування в подібних за діагнозом групах пацієнтів. Необхідним, але не завжди можливим, є врахування міждонорської варіабельності як при первинному обстеженні, так і при вивченні цитогенетичної картини при променевому лікуванні в динаміці [97 – 100]. Досі не існує єдиної точки зору на те, чи відрізняються від спонтанного рівня цитогенетичні показники у хворих до початку лікування. Поряд з цим необхідно визначити критерії для співставлення досліджень різних авторів, наприклад, при фракціонованому опроміненні автори [98] не враховували пошкодження в мультиаберантних клітини, використовуючи для аналізу власне їх кількість. І взагалі, існує багато розбіжностей з приводу того, які клітини слід вважати мультиаберантними. Як вже відзначалося, суттєво відрізняються і реакції тканин на радіаційний вплив в залежності від коефіцієнту відносної біологічної ефективності опромінення (тобто від типу іонізуючого опромінення), що в першу чергу відбивається в кількості цитогенетичних маркерів опромінення – обмінних аберацій хромосом. Результати попередніх досліджень, проведених нашою лабораторією, виявили розвиток прямого ураження хромосомного апарату клітин нормальних тканин у пацієнтів під час дистанційної променевої гамма-терапії пухлин деяких локалізацій [28, 29, 101, 102]. Виникає необхідність вивчення впливу різних схем на перебіг цитогенетичних ефектів при променевій терапії. Окрім того, нез'ясованим залишається питання межі рівня ураженості геному в залежності від обсягів опромінення в ході накопичення дози в процесі променевого лікування. Для вирішення цього питання існує потреба у проведенні подальших наукових досліджень із комбінацією досліджень *in vivo* та *ex vivo*.

Отримані при вивченні цитогенетичних ефектів при ПТ пухлин різних

локалізацій, можливо бути використати для розвитку фундаментальної радіобіології та генетики, та як підґрунтя для біологічної дозиметрії аварійного опромінення як у радіотерапії, так і при інших сценаріях локального опромінення у високих дозах [16]. Це є вкрай важливим для вдосконалення системи медичного менеджменту та медико-біологічних заходів при широкомасштабних радіаційних аваріях [103, 104].

Тож і надалі слід розширювати уявлення про дію променевого лікування з урахуванням багатьох змінних, таких як джерело опромінення, проникаюча здатність випромінювання, об'єм опроміненої ділянки тіла, строки дослідження, що безпосередньо впливають на картину біологічних наслідків опромінення. Однак, незважаючи, на необхідність подібних досліджень, існує досить небагато комплексних робіт, де б аналіз проводили впродовж всього курсу променевого лікування з урахуванням локалізації пухлин та джерела опромінення.

При виконанні дисертаційної роботи було визначено закономірності формування цитогенетичних ефектів у онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин в залежності від режимів дистанційного опромінення з низькою ЛПЕ для вдосконалення біологічного супроводу променевої терапії.

Для реалізації зазначеної мети в ході виконання дослідження було вирішено наступні задачі: визначено цитогенетичні ефекти на етапах променевої γ -терапії ^{60}Co на апараті РОКУС-АМ у онкогінекологічних хворих та хворих на рак легені; визначено цитогенетичні ефекти на етапах променевої мегавольтної терапії на лінійному прискорювачі Сіпас 600С у онкогінекологічних хворих, хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та ший; проаналізовано перебіг цитогенетичних показників у лімфоцитах онкологічних хворих при променевій терапії в залежності від локалізації пухлин; оцінено вклад різних типів аберацій хромосом у формування цитогенетичних ефектів в залежності від джерела опромінення та локалізації пухлин; визначено особливості формування цитогенетичних ефектів у лімфоцитах онкологічних хворих на початковому етапі променевої терапії у порівнянні з тестовим γ -опроміненням ^{60}Co на апараті

РОКУС-АМ та мегавольтним опроміненням на лінійному прискорювачі Clinac 600C в умовах *ex vivo*.

До дослідження було залучено 65 онкологічних пацієнтів, що в анамнезі не мали попереднього променевого лікування (так звані первинні хворі). Забір цитогенетичного матеріалу відбувався в декілька етапів – до початку променевого лікування, після першого сеансу терапевтичного опромінення, в середині та в кінці променевої терапії. Всі пацієнти були розподілені на групи за двома характеристиками – локалізація пухлин та джерело опромінення. Відповідно, серед 35 онкогінекологічних хворих 17 пацієнок отримували дистанційну ^{60}Co гамма-терапію на апараті РОКУС-АМ та 18 пацієнок проходили мегавольтне лікування на лінійному прискорювачі електронів Clinac 600C. Групи хворих на рак легені, до яких застосовували гамма- та мегавольтну терапію, налічувала по 8 пацієнтів. Група хворих з пухлинами голови та шиї, що були обстежені для з'ясування впливу розміру опроміненої ділянки тіла на вихід цитогенетичних пошкоджень, складалась з 14 хворих, з яких 2 пацієнтів лікували за допомогою гамма-опромінення ^{60}Co , а до 12 хворих застосовували мегавольтну терапію.

При виконанні цитогенетичного дослідження метафазні препарати фарбували за допомогою Гімза- та флуоресцентного-плюс-Гімза забарвлення [16]. Спираючись на попередні дослідження, у яких показано схожу інформативність FPG- та Гімза-методи забарвлення для груп онкологічних хворих [105, 106], для підвищення виходу проаналізованих метафаз в роботі представлено результати Гімза-еквівалент.

На початку дослідження було встановлено підвищений рівень цитогенетичних показників у онкологічних хворих ще до початку променевої терапії. Слід також зазначити, що аналізуючи такі пошкодження хромосомного типу як дицентрики та центричні кільця з супутніми ацентричним фрагментами, у розрахунки на точці до променевої терапії брали їх сумарне значення, що пов'язано з низькою зустріваністю цих показників за відсутності радіаційного впливу [16]. Рівень А Кл та загальний рівень А Хр перевищував значення у групі

порівняння у 2 – 3 рази, а сумарна частота Диц+ЦК – у 2,5 – 5,5 раза в залежності від досліджуваної групи. При цьому найбільш виражене підвищення спостерігали у групі РЛ. Підвищений, порівняно з іншими досліджуваними групами, загальний рівень хромосомних пошкоджень у хворих на рак легені може бути також пов'язаний із достатньо високим рівнем радіаційно-неспецифічних аберацій хромосом.

Результати аналізу, проведеного ще до початку променевого лікування, демонструють необхідність перевіряти вибірку пацієнтів, що залучені до дослідження. Це співпадає з висновками інших авторів. Так, в одному з досліджень спонтанного рівня хромосомних аберацій у переважної більшості онкологічних хворих з солідними пухлинами показано статистично значуще перевищення проаналізованих показників у порівнянні з контрольною групою осіб відповідного віку та без онкопатологій [107]. У подальшому ці ж пацієнти проявляли підвищену радіочутливість при опроміненні *in vivo*. На відміну від здорового контролю під час обстеження хворих на рак грудної залози також реєстрували дворазове перевищення частоти аберантних метафаз та аберацій хромосом відносно значень у групі здорового контролю [108]. Проте існують протилежні висновки, хоча і не досить однозначні. Так, у одному з досліджень хворих з пухлинами привушних слинних залоз середня частота аберантних клітин до початку променевого лікування не перевищувала загально популяційного рівня, водночас середня частота мікроядер була вище за рівень цього показника у контрольній групі [109].

Причинами цього перевищення можуть бути різні фактори, в тому числі і допроменеве обстеження онкохворих, що невід'ємно пов'язане з рентген-діагностичними процедурами, комп'ютерними та магнітно-резонансними томограмами, тощо. Тож питання про наявність або відсутність підвищеного рівня аберацій хромосом до початку променевої терапії, є у літературі неоднозначним [107, 109]. Можливо це безпосередньо пов'язано з різними підходами до вибору і аналізу цитогенетичних показників, інтерпретації отриманих даних, або в деяких випадках проблема розбіжностей полягає

в загальній побудові дизайну досліджень. Дане дослідження включає етап обстеження пацієнтів до початку променевого лікування, що є вкрай важливим та методологічно виправданим для проведення комплексного вивчення динаміки цитогенетичних пошкоджень впродовж курсу променевої терапії. Відповідно, з метою усунення можливого впливу допроменевого рівня цитогенетичних показників на інтерпретацію отриманих даних у залучених до дослідження онкологічних пацієнтів, результати хромосомного аналізу порівнювали після першого сеансу, в середині та наприкінці променевого лікування з даними у тих самих хворих до початку променевої терапії.

Зважаючи на локальний характер опромінення, важливу роль в інтерпретації цитогенетичних даних відіграють не тільки зміни рівня аберацій хромосом, а і закономірності їх розподілу по клітинах. Під час терапевтичного опромінення наддисперсний характер розподілу по клітинах аберацій хромосомного типу загалом і дицентриків зокрема спостерігали у всіх досліджуваних групах хворих як в середині, так і наприкінці курсу променевого лікування. Індукція хромосомних пошкоджень, яка у досить широкому діапазоні доз носить стохастичний характер, може бути використана в якості маркеру рівномірності або локальності опромінення за критерієм відповідності розподілу структурних аберацій хромосом по клітинах статистиці Пуассона [77, 110]. Це є дуже корисним та важливим в умовах променевої терапії, яка є класичним прикладом нерівномірного фракціонованого опромінення. Із початком променевої терапії відбувається підвищення частоти хромосомних пошкоджень, в тому числі і за рахунок утворення та зростання долі клітин з більш ніж однією аберацією, що призводить до значної наддисперсності відносно статистики Пуассона. Подібне явище знайшло відображення також у роботах інших дослідників під час дослідження цитогенетичних ефектів у онкологічних пацієнтів при променевій терапії [10, 111]. Ці та інші дослідження підтверджують, що наддисперсний розподіл аберації по клітинах є наслідком нерівномірного опромінення і, відповідно, нерівномірного розподілу дози у організмі, та є свідомством саме локальної дії радіації. Але у випадку променевої терапії характер розподілу

аберацій, який ми спостерігали, обумовлено не тільки одночасною наявністю опроміненої та неопроміненої фракцій лімфоцитів, він є відображенням більш складної картини наявності у організмі поряд з неопроміненою декількох опромінених у різних дозах фракцій лімфоцитів. Тому можливість виявлення за рівнем дицентриків не тільки факту дії радіації, а і локальності (або нерівномірності) радіаційного впливу, вказує на високу інформативність цитогенетичного аналізу для цілей біодозиметрії, у тому числі при складних сценаріях опромінення.

Аналізуючи динаміку середніх частот цитогенетичних показників в групах пацієнтів з різними локалізаціями пухлин в ході променевого гамма-опромінення ^{60}Co виявлено схожі ознаки та розбіжності у характері змін рівнів цитогенетичних пошкоджень під час отримання онкохворими променевої терапії. Особливості динаміки загальної частоти аберантних клітин, сумарної частоти аберацій хромосомного типу, сумарної частоти дицентричних та кільцевих хромосом із супутніми фрагментами у онкогінекологічних хворих та пацієнтів, хворих на рак легені в залежності від етапу ГТ представлено на рис. 10.1 – 10.3.

Рівень сумарної частоти А Кл в обох групах стабільно зростав з початком терапевтичного опромінення і до кінця курсу променевого лікування. При цьому частота даного цитогенетичного показника у онкогінекологічних хворих в середині та в кінці ГТ статистично значуще перевищували аналогічні показники у хворих на рак легені у 1,2 – 1,3 раза ($t = 2,85$ та $t = 2,80$; $p < 0,01$, відповідно). Зміни загального рівня аберацій хромосомного типу та сумарної частоти Диц+ЦК, як головних маркерів радіаційного впливу, мали схожий характер впродовж курсу променевої терапії в групах РТМ та РЛ. Підвищення рівня даних показників було доволі монотонним від початку до кінця гамма-терапії, при цьому мала місце статистично значуща різниця середнього рівня А Хс поміж серединою та кінцем курсу лікування (для групи РТМ: $t = 10,95$; $p < 0,001$; для групи РЛ: $t = 6,02$; $p < 0,001$). Для рівня Диц+ЦК було зафіксовано подібну динаміку зросту, що був

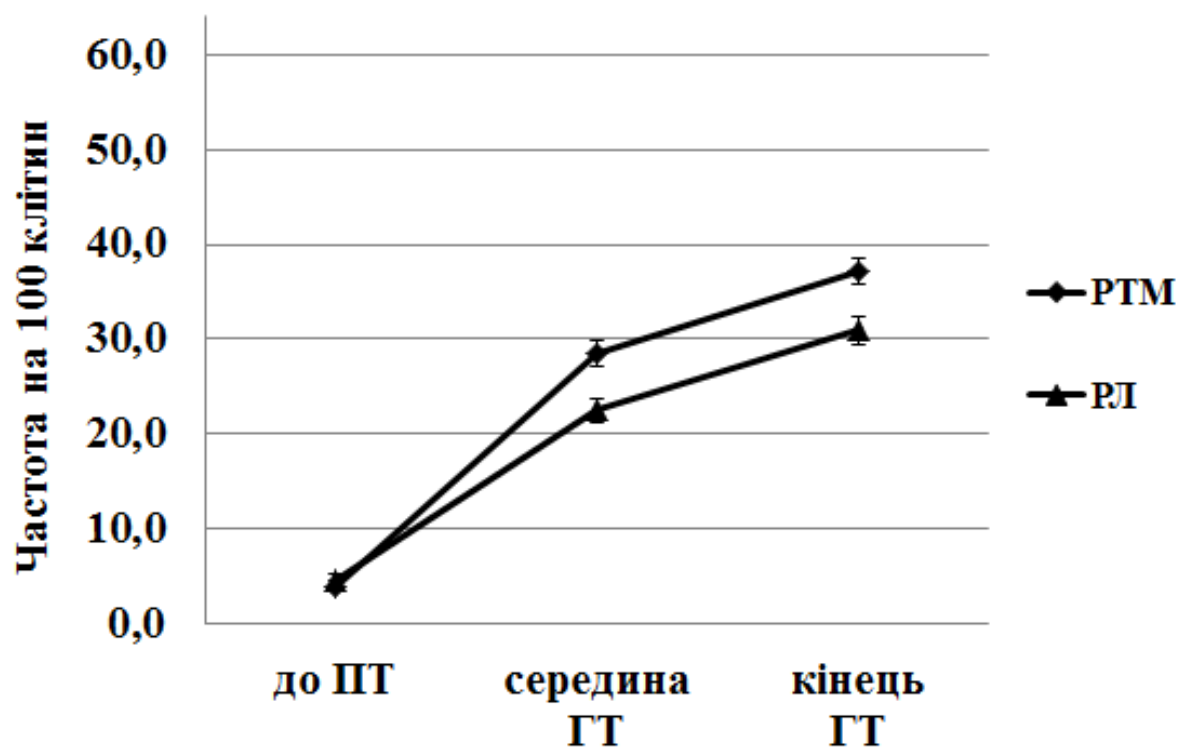


Рис. 10.1 Динаміка сумарної частоти аберантних клітин у онкологічних хворих в залежності від етапу гамма-терапії на апараті РОКУС-АМ

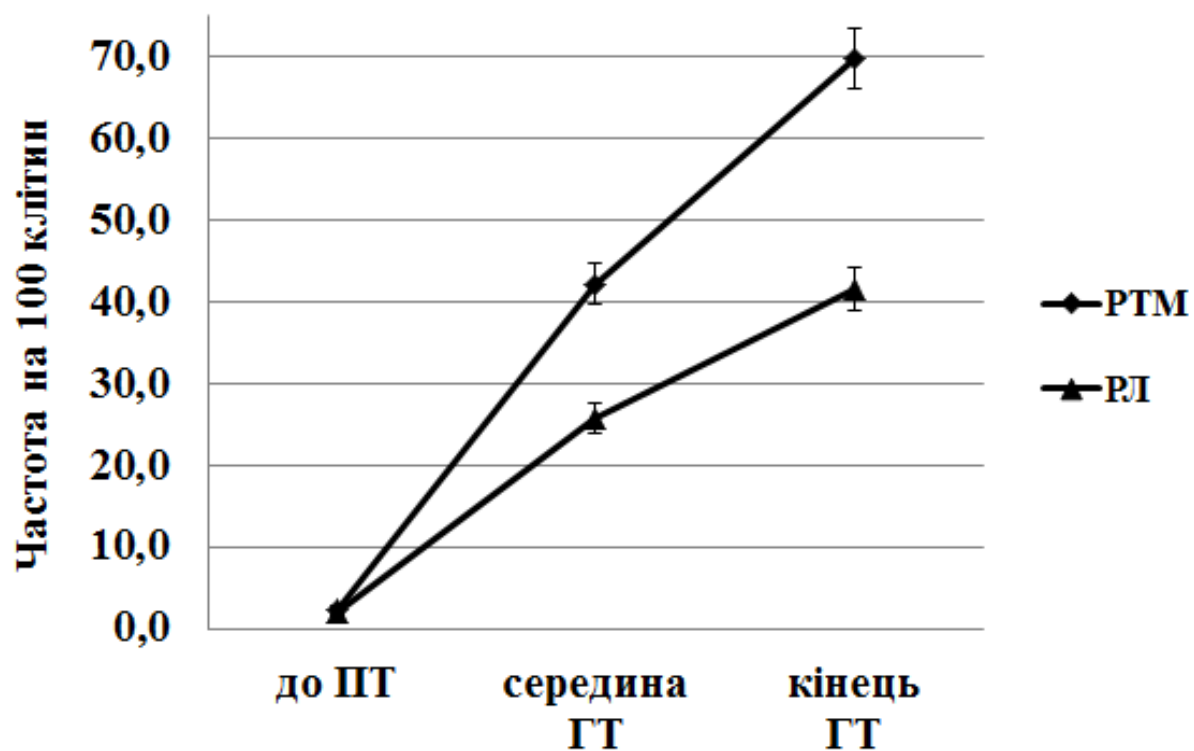


Рис. 10.2 Динаміка сумарної частоти аберацій хромосомного типу у онкологічних хворих в залежності від етапу гамма-терапії на апараті РОКУС-АМ

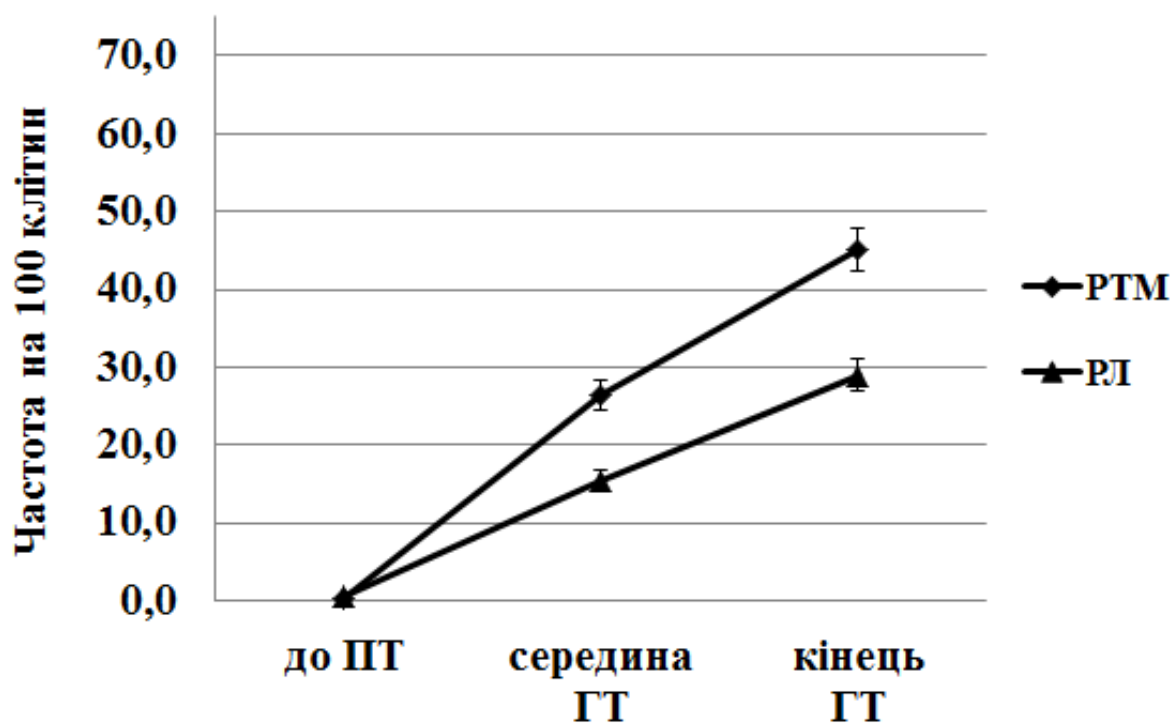


Рис. 10.3 Динаміка сумарної частоти дицентричних та кільцевих хромосом із супутніми парними фрагментами у онкологічних хворих в залежності від етапу гамма-терапії на апараті РОКУС-АМ

статистично значущим на обох етапах обстеження при променевому лікуванні у співставленні зі значеннями до початку ГТ (для групи РТМ: $t = 41,54$ та $t = 55,32$; $p < 0,001$; для групи РЛ: $t = 20,51$ та $t = 29,39$; $p < 0,001$, відповідно) та при порівнянні між серединою і кінцем курсу лікування (для групи РТМ: $t = 9,28$; $p < 0,001$; для групи РЛ: $t = 6,34$; $p < 0,001$). Як зазначалося раніше, до початку терапевтичного опромінення частоти А Хс та окремих їх видів не мали статистично значущої різниці між обома групами пацієнтів. Але на фоні схожої тенденції у змінах аберацій хромосомного типу, темпи накопичення вищезазначених показників в ході променевого лікування в групі РТМ були вище у порівнянні з групою РЛ, що і спричинило статистично значущу різницю як в середині ($t = 6,57$ та $t = 5,62$; $p < 0,001$, для А Хс та Диц+ЦК, відповідно), так і наприкінці курсу променевої терапії ($t = 9,69$ та $t = 6,84$; $p < 0,001$, для А Хс та Диц+ЦК, відповідно). Відносний приріст рівня А Хс та Диц+ЦК в ході променевого лікування в групі РЛ був меншим, ніж в групі РТМ. При цьому пропорція зазначених показників зберігалась впродовж всього курсу гамма-опромінення. Так, у групах РТМ та РЛ в середині курсу пропорція сумарного рівня А Хс дорівнювала $1 : 0,61$, в кінці курсу ГТ – $1 : 0,60$. Пропорція середньої частоти Диц+ЦК в середині курсу складала $1 : 0,58$, в кінці курсу ГТ – $1 : 0,64$.

Під час аналізу змін середнього рівня цитогенетичних показників в групах пацієнтів з різними локалізаціями пухлин впродовж променевої терапії на лінійному прискорювачі, як і за дії гамма-опромінення, виявлено схожі риси та розбіжності у динаміці частот цитогенетичних перебудов за дії мегавольтного опромінення. Динаміку змін загальної частоти аберантних клітин, сумарної частоти аберацій хромосомного типу, сумарної частоти дицентричних та кільцевих хромосом із супутніми фрагментами у онкологічних хворих, хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та шиї в залежності від етапу МТ продемонстровано на рис. 10.4 – 10.6.

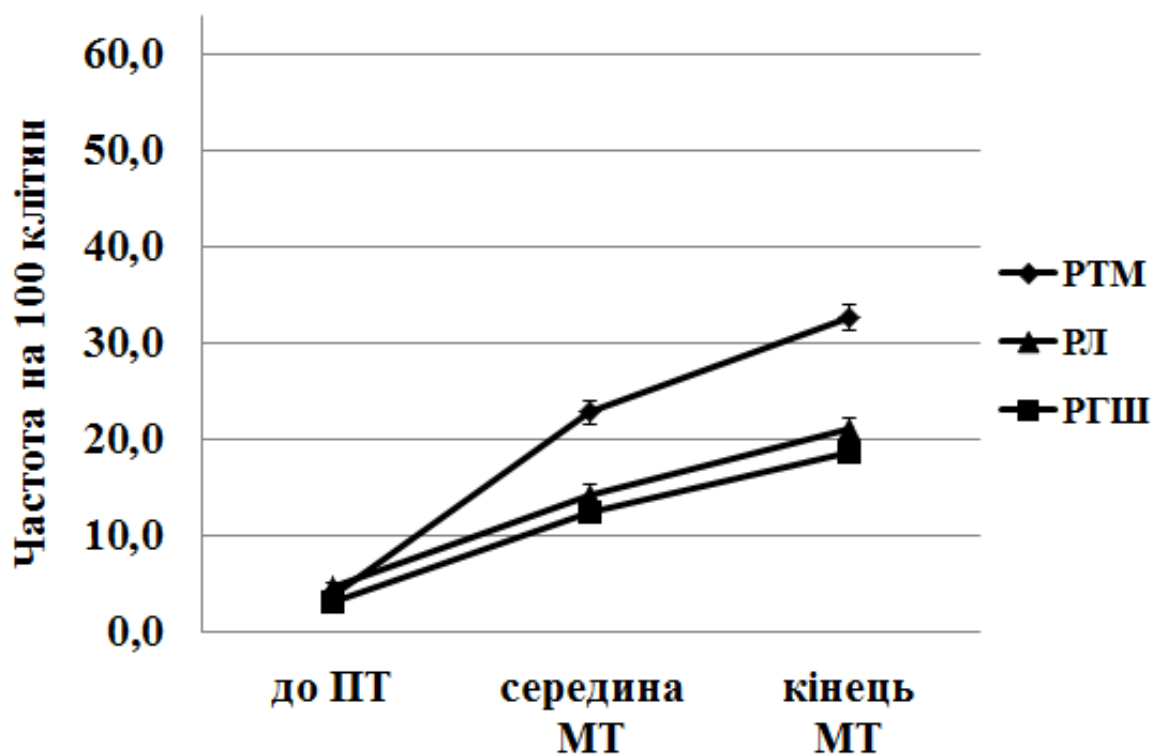


Рис. 10.4 Динаміка сумарної частоти аберантних клітин у онкологічних хворих в залежності від етапу мегавольтної терапії на лінійному прискорювачі Clinac 600C

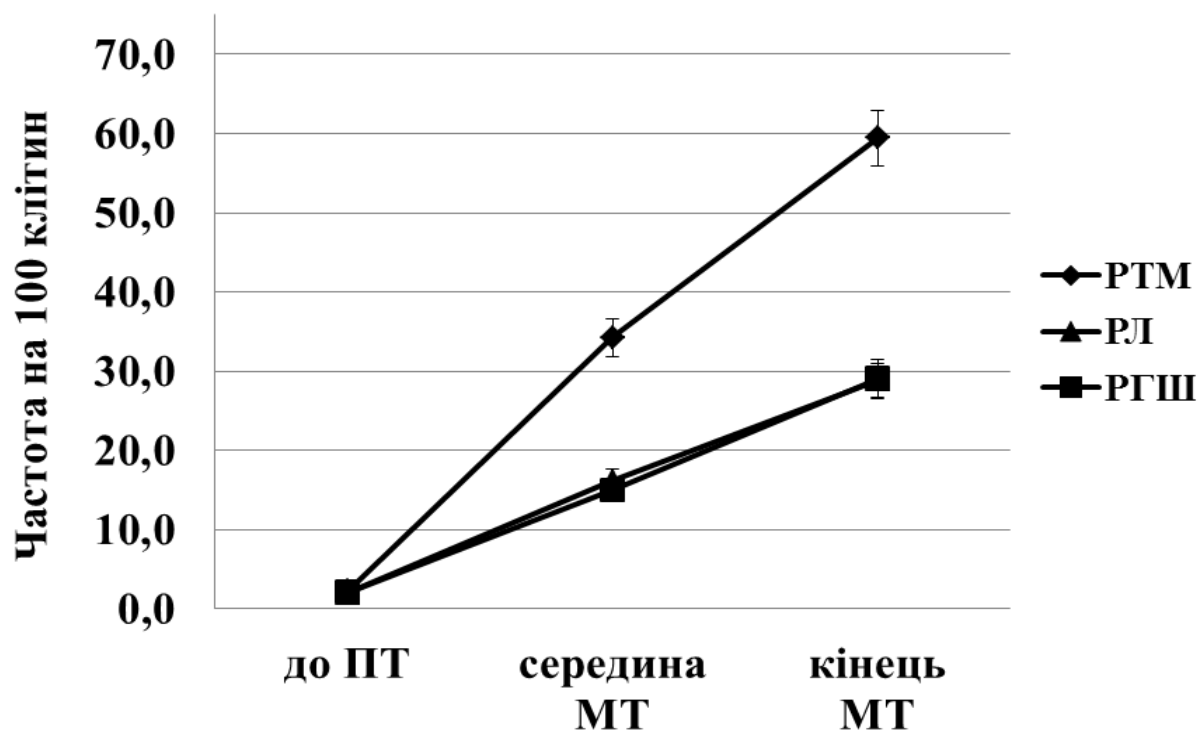


Рис. 10.5 Динаміка сумарної частоти аберацій хромосомного типу у онкологічних хворих в залежності від етапу мегавольтної терапії на лінійному прискорювачі Clinac 600C

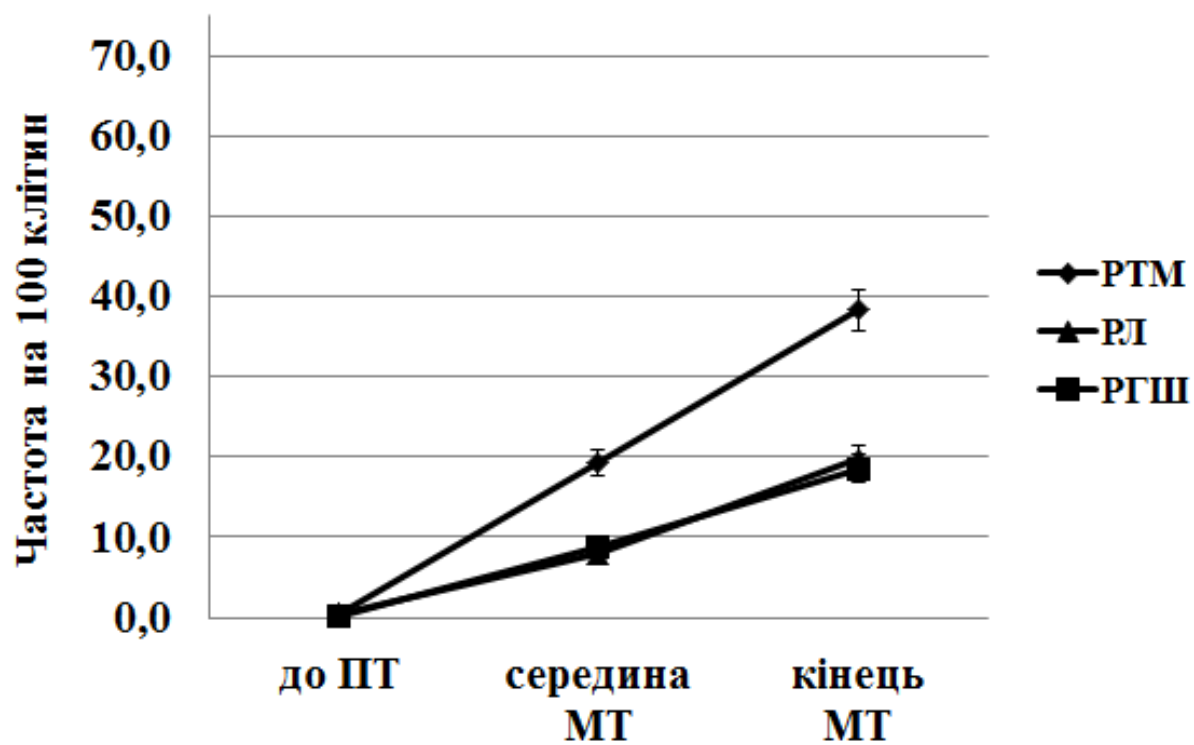


Рис. 10.6 Динаміка сумарної частоти дицентричних та кільцевих хромосом із супутніми парними фрагментами у онкологічних хворих в залежності від етапу мегавольтної терапії на лінійному прискорювачі Clinac 600C

Сумарна частота А Кл у всіх групах монотонно зростала від початку і до закінчення мегавольтного лікування. При цьому рівень А Кл у онкогінекологічних хворих в середині та в кінці МТ статистично значуще перевищував у 1,5 – 1,8 раза даний цитогенетичний показник у хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та ший (в середині МТ: $t = 5,12$ та $t = 7,62$; $p < 0,001$; в кінці МТ: $t = 5,17$ та $t = 6,94$; $p < 0,001$, відповідно), значення якого в обох цих групах були майже однаковими ($t = 1,28$ та $t = 1,18$; $p > 0,05$, в середині та в кінці МТ, відповідно). Зміни радіаційно-специфічних цитогенетичних пошкоджень, А Хс та Диц+ЦК, мали подібний характер в ході курсу мегавольтної променевої терапії в групах РТМ, РЛ та РГШ. Зростання частоти цих показників спостерігали від самого початку і до кінця МТ. Слід відзначити, що різниця середнього рівня А Хс була статистично значущою між серединою та кінцем курсу лікування (для групи РТМ: $t = 11,91$; $p < 0,001$; для групи РЛ: $t = 5,89$; $p < 0,001$; для групи РГШ: $t = 8,07$; $p < 0,001$). У випадку рівня Диц+ЦК показано аналогічну картину, де підвищення було статистично значущим на обох етапах обстеження при мегавольтному променевому лікуванні у порівнянні зі значеннями цього показника до початку МТ (для групи РТМ: $t = 35,46$ та $t = 50,71$; $p < 0,001$; для групи РЛ: $t = 13,87$ та $t = 23,71$; $p < 0,001$; для групи РГШ: $t = 16,87$ та $t = 24,85$; $p < 0,001$, відповідно), а також при співставленні між серединою і кінцем курсу лікування (для групи РТМ: $t = 11,48$; $p < 0,001$; для групи РЛ: $t = 7,08$; $p < 0,001$; для групи РГШ: $t = 7,04$ $p < 0,001$). Не зважаючи на подібну направленість змін рівнів пошкоджень хромосомного типу та відсутність до початку МТ статистично значущої різниці для частоти А Хс та окремих їх видів поміж всіма досліджуваними групами, швидкість накопичення зазначених показників під час мегавольтного лікування в групі РТМ були вище у порівнянні з групами РЛ та РГШ, що обумовило статистично значущу різницю в середині (для А Хс: $t = 9,07$ та $t = 11,87$; $p < 0,001$; для Диц+ЦК: $t = 7,73$ та $t = 8,49$; $p < 0,001$, відповідно) та в кінці курсу МТ (для А Хс: $t = 10,46$ та $t = 11,44$; $p < 0,001$; для Диц+ЦК: $t = 7,83$ та $t = 9,24$; $p < 0,001$, відповідно). Відносний приріст рівня А Хс та Диц+ЦК в ході мегавольтного променевого лікування

в групах РЛ та РГШ був меншим, ніж в групі РТМ. При цьому, як і для гамма-терапії, співвідношення зазначених показників зберігалось впродовж всього курсу мегавольтного опромінення. Так, у групах РТМ, РЛ та РГШ в середині курсу пропорція сумарного рівня А Хс дорівнювала $1 : 0,47 : 0,44$, в кінці курсу МТ – $1 : 0,49 : 0,48$. Пропорція середньої частоти Диц+ЦК в середині курсу складала $1 : 0,41 : 0,46$, в кінці курсу МТ – $1 : 0,52 : 0,49$.

При аналізі результатів дослідження змін цитогенетичних перебудов впродовж променевої терапії з використанням різних джерел опромінення, було виявлено подібні та відмінні особливості у характері змін рівнів аберацій хромосом.

Як було зазначено на початку роботи, у пацієнтів з однаковою локалізацією пухлини до початку променевого лікування для рівня аберацій хромосомного типу не спостерігали статистично значущої різниці між застосованими джерелами опромінення ($p > 0,05$).

Впродовж променевого лікування динаміка аберацій хромосомного типу, а саме А Хс і Диц+ЦК, мала подібний характер у онкогінекологічних пацієнток та хворих на рак легені. Так, зростання частоти даних цитогенетичних порушень відбувалося з статистично значущою різницею як до середини курсу, так і до кінця променевої терапії ($p < 0,001$). Однак за схожої направленості процесу формування радіаційно-індукованих аберацій, швидкість їх зростання за дії гамма-опромінення ^{60}Co була вищою, ніж при мегавольтній променевій терапії, що обумовило статистично значущу різницю в середині та по закінченню променевого лікування (у групі РТМ: для А Хс: $t = 4,10$ та $t = 3,81$; $p < 0,001$, відповідно; для Диц+ЦК: $t = 4,71$; $p < 0,01$ та $t = 3,09$; $p < 0,001$, відповідно; у групі РЛ: для А Хс: $t = 4,63$ та $t = 4,72$; $p < 0,001$, відповідно; для Диц+ЦК: $t = 4,82$ та $t = 4,05$; $p < 0,001$, відповідно).

Представлені результати знаходяться у гарній відповідності до висновків інших дослідників стосовно зростання рівня радіаційно-специфічних аберацій у онкологічних хворих впродовж курсу променевої терапії. Однак автори спостерігають різні значення росту цих цитогенетичних пошкоджень при

променевому лікуванні, навіть у групах пацієнтів з однаковими локалізаціями пухлин. Такі розбіжності у першу чергу можуть бути обумовлені обранням різних методологічних підходів до проведення дослідження. Так, дослідження [63] проводили до початку лікування та впродовж гамма-терапії у 20 хворих на рак легені. Автори відмічали статистично значуще збільшення аберантних клітин та аберацій хромосом у порівнянні з допроменевими значеннями. При цьому максимальна частота аберацій хромосом спостерігалась наприкінці променевої терапії, що збігається з результатами наших досліджень. Однак цитогенетичний аналіз здійснювали у 70-годинних культурах лімфоцитів без контролю клітинного циклу, тому врахування пошкоджень переважно у метафазах другого та послідовних мітозів могло, на нашу думку, призвести до знижених значень нестабільних аберацій хромосом. Таким чином, для коректної оцінки впливу іонізуючого випромінювання на генетичний апарат людини та подальшого співставлення отриманих даних дуже важливо додержуватись максимально подібних протоколів досліджень, що у більшості випадків можливо досягти в межах одного комплексного дослідження. Наше дослідження продемонструвало, що на фоні подібної тенденції зростання рівня аберацій хромосом під впливом різних джерел опромінення, утворення цитогенетичних пошкоджень відбувалось з різною швидкістю на окремих етапах променевого лікування. Незважаючи на належність обох видів опромінення до опромінь з низькою лінійною передачею енергії, існує багато супутніх факторів, що можуть впливати на загальний цитогенетичний ефект променевого лікування. Так, опромінення при мегавольтній променевій терапії має вищу енергію, проте спричинило менше зростання рівня маркерів радіаційного впливу у порівнянні з гамма-терапією. Це може бути пов'язано з проведенням 3D-планування до початку променевої терапії на лінійному прискорювачі, що зменшує об'єм непухлинних тканин, які потрапляють у зону терапевтичного ураження іонізуючим випромінюванням. Біологічні ефекти в умовах *in vivo* не можна передбачити, враховуючи лише енергію випромінювання. Тому дуже важливо під час оцінки наслідків дії променевого лікування на непухлинні клітини

враховувати не тільки якість та енергію опромінення, а і джерело, режим та передпроменеві процедури, які застосовуються при проведенні курсу променевої терапії.

Оцінюючи вплив об'єму опроміненої фракції тіла у досліджуваних пацієнтів, дані об'єднували за локалізацією пухлин незалежно від джерела опромінення.

Характер змін радіаційно-індукованих цитогенетичних показників був майже однаковим від початку до закінчення курсу ПТ в усіх групах пацієнтів. Монотонне зростання рівня нестабільних пошкоджень хромосомного типу, включно з обмінними абераціями, відбувалось від початку і до кінця лікування, при чому статистично значуща різниця середнього рівня нестабільних аберацій хромосомного типу зберігалась як між контрольними значеннями та серединою і кінцем ПТ, так і між термінами обстеження в середині та наприкінці курсу. Таку ж картину спостерігали і для обмінних аберацій. При цьому за рахунок нерівномірного розподілу дози у біологічному об'єкті, що встановлено низкою досліджень [16, 112], розподіл аберацій хромосом по клітинах за дії іонізувального випромінювання з низькою лінійною передачею енергії мав наддисперсний характер. Однак відносний приріст в ході ПТ рівня $A X_{c_{unst}}$ та частоти Диц в групах хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та шиї був меншим, ніж в онкогінекологічних хворих. Так, співвідношення середніх рівнів сумарної частоти $A X_{c_{unst}}$ до середини курсу ПТ в групах хворих на рак тіла матки, рак легені і хворих з пухлинами голови та шиї складало 1 : 0,53 : 0,38; в кінці курсу – 1 : 0,51 : 0,37. Співвідношення середніх рівнів частоти Диц до середини курсу ПТ в групах онкогінекологічних пацієнток, хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та шиї складало 1 : 0,56 : 0,37; в кінці курсу – 1 : 0,59 : 0,37. Таким чином, дослідження перебігу рівня радіаційно-індукованих аберацій в ході променевої терапії виявило якісні та кількісні відмінності характеру змін аберацій хромосомного типу у пацієнтів при променевій терапії в залежності від локалізації пухлин і, відповідно, від обсягів опромінення. Це підтверджують і інші автори, але при обстеженні пацієнтів з однією локалізацією

пухлини. Так, у дослідженні [69] приймали участь пацієнти з раком передміхурової залози з різними полями опромінення. Хворі отримували або лікування з використанням лише РТМІ, або проходили РТМІ поєднану з карбон-терапією. Лімфоцити пацієнтів з більшим полем опромінення показали значно більшу кількість аберацій під час курсу терапії, а також через дванадцять місяців після завершення курсу, що свідчить про важливий вплив розміру поля опромінення на вихід аберацій хромосом. Проте відмінностей між якість випромінювання для цитогенетичних показників автори не спостерігали.

Для отримання повної цитогенетичної картини під час променевої терапії також було оцінено коливання частоти аберацій хроматидного типу. Аналіз даних виявив деякі розбіжності у характері змін рівнів цих цитогенетичних показників впродовж променевого лікування в групах пацієнтів з різними локалізаціями пухлин. Так, у хворих з груп РТМ та РГШ початкові допроменеві рівні радіаційно-неспецифічних пошкоджень були подібні та не мали статистично значущої різниці між собою ($t = 1,92$ та $t = 0,69$; $p > 0,05$ для Хт Фр та Хт Обм, відповідно). В середині та в кінці курсу ПТ спостерігали таку саму картину (для середини ПТ: $t = 0,05$ та $t = 0,43$; $p > 0,05$; для кінця ПТ: $t = 0,86$ та $t = 0,70$; $p > 0,05$ для Хт Фр та Хт Обм, відповідно). У пацієнтів групи РЛ рівень аберацій хроматидного типу був ще до початку ПТ статистично значуще вищим за значення відповідних показників у хворих з груп РТМ ($t = 2,04$ та $t = 2,18$; $p < 0,05$ для Хт Фр та Хт Обм, відповідно) та РГШ ($t = 3,38$; $p < 0,001$ та $t = 2,26$; $p < 0,05$ для Хт Фр та Хт Обм, відповідно). У випадку Хт Фр в середині та в кінці променевого лікування тенденція по відношенню до пацієнтів з раком тіла матки та з пухлинами голови та шиї зберігалась (для середини ПТ: $t = 3,43$; $p < 0,001$ та $t = 2,77$; $p < 0,01$; для кінця ПТ: $t = 5,93$ та $t = 5,41$; $p < 0,001$, відповідно). Частота Хт Обм в середині та в кінці курсу ПТ не мала статистично значущих розбіжностей серед всіх досліджуваних груп. Крім того, відносний приріст в ході ПТ рівня А Хт в групі РЛ був значно вищим, ніж в групах РТМ та РГШ. Співвідношення рівня сумарної частоти А Хт до початку лікування в групах РТМ, РЛ та РГШ дорівнювало $1,0 : 1,4 : 0,7$, до середини курсу ПТ складало

1,0 : 1,7 : 1,0; в кінці курсу – 1,0 : 2,2 : 0,8. Таким чином, в ході променевого лікування виражені зміни рівня радіаційно-неспецифічних аберацій було виявлено лише для групи хворих на рак легені. Що ж стосується геномних порушень, то коливання частот Гіп та Ерп були флуктуаційними, тож на всіх етапах ПТ не виявлено статистично значущих відмінностей між досліджуваними групами хворих. Для поліплоїдів спостерігали статистично значуще перевищення рівня в групі РТМ по відношенню до хворих групи РЛ в середині курсу ($t = 2,72$; $p < 0,01$), а також в кінці ПТ при порівнянні з групами РЛ та РГШ ($t = 4,20$ та $t = 4,45$; $p < 0,001$, відповідно).

Зважаючи на локалізацію пухлини, група РТМ налічувала 100 % жінок. У групі РЛ, на відміну від онкогінекологічних пацієнток, більшість хворих були чоловіки, а саме 86,7 % чоловіків та 13,3 % жінок. Група РГШ мала подібний до групи РЛ склад – 85,7 % чоловіків та 14,4 % жінок. Проте підвищення частоти радіаційно-неспецифічних пошкоджень у хворих з пухлинами голови та шиї, як у онкогінекологічних хворих, не спостерігали. Тож зростання рівня аберацій хроматидного типу в групі РЛ не є можливим пов'язати із складом самої групи пацієнтів. Не виключно, що мали місце ще невідомі фактори, які обумовлені даною локалізацією онкологічного захворювання. Причини підвищених рівнів радіаційно-неспецифічних аберацій хроматидного типу у пацієнтів групи РЛ потребують комплексного вивчення. Існує дуже мало робіт з вивчення саме хроматидних аберацій та геномних порушень у пацієнтів під час променевої терапії. У хворих з карциномою голови та шиї до та впродовж променевого лікування спостерігали досить високу варіабельність цитогенетичних показників різних видів [35]. На теперішній час існує думка, що розбіжності у індивідуальних дослідженнях скоріш за все обумовлені анатомічними особливостями ділянок тіла, що зазнали впливу опромінення, тобто наявністю та щільністю лімфатичних вузлів, ступенем кровопостачання. Водночас вважається, що структурні цитогенетичні перебудови внаслідок опромінення можуть бути основною передумовою зростання частоти геномних порушень [14]. Тобто, є багато факторів, що впливають на загальний рівень аберацій хромосом та зокрема на

частоту аберацій хроматидного типу та геномних порушень. Ця багатофакторність вказує на необхідність подальшого вивчення у цьому напрямку. Тому отримані результати сприятимуть розумінню значущості окремих факторів, таких як вид захворювання та інші, що можуть впливати на процес формування та подальших змін радіаційно-неспецифічних структурних пошкоджень та геномних порушень в процесі променевого лікування.

Ще одним важливим аспектом вивчення наслідків дії іонізуючого опромінення є дослідження початкових етапів променевої терапії. Джерело опромінення та об'єм опроміненої ділянки тіла – це ті змінні, від яких безпосередньо залежить картина біологічних ефектів опромінення. Проте важливість врахування їх впливу на вихід цитогенетичних пошкоджень може змінюватися в залежності від етапу променевого лікування. Тому, незважаючи на широке застосування в протипухлинній медицині опромінення з низькою лінійною передачею енергії, тобто гамма-терапії ^{60}Co та мегавольтної терапії на лінійному прискорювачі, багато аспектів, що стосуються впливу та наслідків даного виду променевої терапії, потребують більш поглибленого та детального дослідження. Тим не менш зустрічається не так багато досліджень, що присвячені вивченню змін цитогенетичних показників у онкологічних хворих на ранніх етапах променевого лікування. Подекуди рівень аберацій хромосом вивчали до початку променевої терапії та по завершенню курсу [25, 26]. Якщо дослідження проводились безпосередньо під час променевого лікування, то це переважно відносилось до більш пізніх етапів променевого лікування. В літературі є не дуже велика кількість робіт, де досліджували зміни цитогенетичних показників після отримання кількох перших сеансів променевої терапії, однак це в основному роботи, які носили біодозиметричний характер. Метою цих робіт було випробовування різних підходів до розрахунків отриманих доз за частотою радіаційно-індукованих аберацій [57]. Показано, що у хворих з пухлинами голови та шиї після першого сеансу променевої терапії розподіл обмінних аберацій по клітинах за u-тестом Папворта був над дисперсним [10]. У дослідженнях звертається увага на важливість такого параметру, як розмір поля опромінення,

для біодозиметричної оцінки дози [32]. У хворих на рак легені, хребта та онкогінекологічних хворих на початковому етапі променевої терапії розподіл дицентриків змінювався в залежності від ділянок впливу іонізуючого опромінення [36]. Однак вихід цитогенетичних пошкоджень та подальша інтерпретація отриманих даних залежить від багатьох факторів, а саме локальності опромінення, обсягу опроміненої ділянки тіла, джерела опромінення. Водночас дослідження з метою співставити генотоксичні ефекти у онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин та з урахуванням джерела опромінення зустрічаються рідко. Все це обумовлює необхідність подальшого вивчення, у тому числі і на початкових етапах променевої терапії, для можливості коректно оцінити ступінь впливу терапевтичного опромінення на непухлинні клітини.

Відповідно, на наступному етапі виконання дисертаційної роботи було проведено дослідження після отримання пацієнтами першого сеансу опромінення, для того, щоб з'ясувати наскільки цитогенетичні ефекти на початковому етапі променевого лікування відповідають картині, отриманій в середині і в кінці курсу, тобто на більш пізніх термінах терапевтичного опромінення.

Встановлено, що після отримання першої фракції дистанційного променевого лікування рівень $A Xc_{unst}$ у групі РТМ статистично значуще відрізнявся від значення цього показника у групах РЛ та РГШ ($t = 4,07$ та $t = 5,25$; $p < 0,001$, відповідно). Підвищення нестабільних хромосомних аберацій відбувалось як за рахунок обмінних, так і фрагментних аберацій. Для Диц та Ац Фр також спостерігали статистично значуще перевищення їх рівнів у онкогінекологічних пацієнток при співставленні з даними у хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та шиї (для групи РЛ: $t = 2,96$; $p < 0,01$ та $t = 3,40$; $p < 0,001$; для групи РГШ: $t = 3,00$; $p < 0,01$ та $t = 4,03$; $p < 0,001$, відповідно). Слід зазначити, що темпи приросту $A Xc_{unst}$ у групах РТМ, РЛ та РГШ були такими, що співвідношення нестабільних аберацій хромосом після першого сеансу дорівнювало $1 : 0,67 : 0,57$. Для рівнів Диц спостерігали аналогічну картину. Так, співвідношення у онкогінекологічних пацієнток, хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та шиї складало, відповідно, $1 : 0,62 : 0,60$.

Таким чином, аналіз аберацій хромосомного типу на початковому етапі променевого лікування показав високу інформативність цитогенетичного дослідження для детекції як самого факту іонізуючого опромінення, так і його локальності. При цьому для гамма-терапії ^{60}Co та мегавольтної терапії на лінійному прискорювачі відразу після першого сеансу не було виявлено статистично значущих розбіжностей, які спостерігаються на більш пізніх етапах променевого лікування. Водночас отримані результати *in vivo* у онкологічних хворих вказують на залежність виходу радіаційного-індукованих хромосомних перебудов від локалізації пухлин. Так, показано достатньо виражений вплив об'єму опроміненої ділянки тіла вже після першого сеансу променевого лікування, про що свідчить статистично значуща різниця значень досліджуваних цитогенетичних показників у хворих з найбільшим об'ємом опроміненої фракції, а саме у онкогінекологічних хворих, у порівнянні з іншими групами пацієнтів.

В останні роки відбувається пошук та аналіз методів оцінки ранніх специфічних та неспецифічних ефектів радіаційного впливу на непухлинні тканини [113]. Як відомо, рівень аберацій хромосом зростає з підвищенням дози іонізуючого випромінювання, що показано для випадків тотального опромінення та у експериментах *in vitro*. Що ж стосується характерного для променевої терапії локального, тим більше фракціонованого, опромінення, то виявлення наслідків дії радіаційного впливу та оцінка індивідуальної радіочутливості на ранніх етапах променевого лікування є більш важким методологічно. Це ускладнюється насамперед досить невисоким рівнем хромосомних аберацій, утворення яких є стохастичним, щоправда не в усьому діапазоні доз. Тож закономірності, що притаманні пізнім строках променевої терапії, не досить коректно екстраполювати на ранні етапи лікування. Тож результати дослідження доповнюють відомості про цитогенетичні ефекти у онкологічних хворих, зокрема на ранніх етапах променевого лікування.

Паралельно із отриманням картини цитогенетичних ефектів при променевій терапії ведеться пошук методів оцінки радіочутливості у онкологічних пацієнтів та проводяться спроби віднайти критерії до індивідуалізації променевого

лікування. Все це обумовлює необхідність різнопланових досліджень з визначення ефектів радіаційного впливу в умовах *in vivo* та *in vitro*.

Існують дослідження, спрямовані на вивчення зв'язку між віком, статтю, етнічною належністю та індивідуальною радіочутливістю. У одному з досліджень було показано, що при опроміненні лімфоцитів здорових донорів у дозі 0,1 – 0,5 Гр частота мікроядер закономірно зростала з підвищенням дози, при цьому підвищення зазначеного цитогенетичного показника не мало зв'язку із статтю обстежених, але суттєво залежало від віку – найбільш радіочутливими виявились донори у віці 20 – 40 років, найменшого впливу зазнавали особи віком 12 – 20 років, що, на думку авторів, може бути опосередковано пов'язано з більшим потенціалом системи репарації у молодому віці [114]. Останнім часом інтенсивно проводиться пошук біомаркерів радіаційного ураження для прогнозування ризиків променевого ураження організму та розвитку радіогенної патології [115]. Проте ці дослідження не завжди є успішними, бо не вдається відтворити результати попередніх тестів [42, 43]. Низка досліджень присвячена вивченню причин та механізмів, що обумовлюють підвищену радіочутливість [116, 117]. Існують також труднощі аналізу та співставлення отриманих у різних дослідженнях даних.

Для розуміння цитогенетичних процесів, що відбуваються за дії часткового опромінення, дуже важливими є експерименти з симуляцією локальності опромінення. Проте ці дослідження є досить нечисельними та здійснюються переважно у клітинах здорових донорів [118]. Однак більш доцільніше було б використання клітини онкологічних хворих, бо найчастіше рівень цитогенетичних пошкоджень у осіб цього контингенту ще до початку променевого лікування є підвищеним відносно загальнопопуляційних значень [107].

В експерименті *ex vivo*, що було проведено при виконанні дисертаційної роботи, при опроміненні у дозі 2 Гр крові пацієнтів у групах РТМ, РЛ та РГШ як на лінійному прискорювачі Clinac 600С, так і на апараті РОКУС-АМ, було показано, що рівень загальних та радіаційно-індукованих хромосомних аберацій зростав, але без залежності від локалізації пухлин. В об'єднаній за джерелом

опромінення вибірці клітин від онкопацієнтів з різними локалізаціями пухлин встановлено невелике, але статистично значуще перевищення за рівнем аберацій хромосомного типу, зокрема дицентриків, значень у групі Clinac 600C при співставленні з групою РОКУС-АМ, що вказує на більший генотоксичний ефект мегавольтного опромінення. Підвищення рівня радіаційно-індукованих аберацій в дозі 2 Гр з розведенням 1 : 9 відбувалось з різною швидкістю в залежності від джерела опромінення. Зростання частоти А Хс було забезпечено збільшенням кількості дицентричних та кільцевих хромосом у 2,5 раза для опромінення на апараті РОКУС-АМ та у 5 разів при опроміненні на лінійному прискорювачі. Це вказує на більший генотоксичний ефект мегавольтного опромінення в умовах *in vitro*. Сумарний рівень А Хс та середній рівень Диц+ЦК на експериментальній точці опромінення *ex vivo* в дозі 2 Гр з розведенням 1 : 9 статистично значуще перевищував відповідні значення у співставленні з нульовим контролем при обох джерелах опромінення. Розподіл Диц по клітинах був наддисперсним відносно статистики Пуассона, що підтверджує можливість використання обраної тестової моделі не тільки для детекції факту опромінення, але і для виявлення його локальності.

Отримані дані є дуже важливими для коректної інтерпретації наслідків радіаційного впливу в умовах часткового опромінення, за якого процес утворення цитогенетичних пошкоджень має більш складну динаміку порівняно з тотальним опроміненням. Слід зазначити, що робіт з вивчення саме особливостей впливу опромінення в залежності від його якості зустрічається не так багато та частіше ці дослідження віддають перевагу співставленню джерел опромінення з різною ЛПЕ. Так, в одному з досліджень показана більша ефективність опромінення протонами для формування мікроядер у лімфоцитах периферичної крові при порівнянні з рентгенівським опроміненням [68]. Схожі дані отримано при порівнянні ефектів гамма-опромінення та опромінення альфа-частками, за якого рівень аберацій хромосом був статистично вищим [70]. Результати дослідження показали високу інформативність цитогенетичного аналізу не лише для порівняння джерел з високою та низькою ЛПЕ, як це показано в роботах інших

дослідників, але використання даного методу дослідження є доцільним для виявлення різниці в біологічних ефектах між джерелами опромінення тільки з низькою або тільки з високою ЛПЕ за різних енергій випромінювання. Також для вдосконалення системи біологічного супроводу променевої терапії запропонована схема дослідження може бути застосована для виявлення випадків підвищеної радіочутливості у людини, зокрема у онкологічних хворих до початку терапевтичного опромінення.

Співставлення даних дослідження *in vivo* та результатів експерименту *ex vivo*, а саме порівняння значень цитогенетичних показників після отримання онкологічними хворими першого сеансу променевої терапії та рівнів аберацій хромосом на точці з симуляцією локальності опромінення, показало вищий рівень А Кл та А Хр у онкогінекологічних пацієнток в умовах *in vivo*. Після першої фракції ПТ рівень А Хс у групі РТМ перевищував значення на точці 2 Гр з розведенням 1 : 9 в 1,6 раза, а частота Диц+ЦК – у 2,5 раза. Це підтверджує, що, навіть за більш низької частоти хромосомних пошкоджень в експерименті *ex vivo*, обраний дизайн дослідження може бути застосовано для верифікації як факту опромінення, так і для визначення характеру цього опромінення, а саме можливої його локальності. На противагу цьому у хворих на рак легені і пацієнтів з пухлинами голови та шиї подібна статистично значуща різниця між значеннями досліджуваних показників після першого сеансу та на точці 2 Гр з розведенням 1 : 9 була відсутня. Це демонструє, що вже після першого сеансу ПТ отримані дані дозволяють говорити про вплив обсягу опроміненої фракції тіла на вихід цитогенетичних пошкоджень.

За результатами проведеного дослідження у експерименті *ex vivo* з опромінення у дозі 2 Гр донорських лімфоцитів периферичної крові онкологічних пацієнтів, зокрема онкогінекологічних пацієнтів, встановлено, що мегавольтне опромінення завдає очікувано більшого генотоксичного впливу у співставленні з гамма-опроміненням. Проте під час обстеження онкохворих впродовж променевого лікування, попри вищу щільність енергії опромінення на лінійному прискорювачі, генотоксичний ефект гамма-терапії на апараті

РОКУС-АМ був більш виражений. Тож експериментальні дані можуть бути використані для вдосконалення біологічного супроводу променевої терапії онкологічних пацієнтів за рахунок впровадження заходів по індивідуалізації терапевтичного лікування. Однак для вивчення всіх тонкощів цитогенетичних процесів, що відбуваються за дії радіотерапевтичного лікування онкологічних хворих важливі саме *in vivo* дослідження з урахуванням як локалізації пухлин, відповідно, об'єму опроміненої фракції тіла, так і джерела опромінення.

Таким чином, в рамках одного системного дослідження отримано комплексні уявлення про вплив гамма і мегавольтної променевої терапії у пацієнтів з різними локалізаціями пухлин, тобто показані особливості виходу цитогенетичних пошкоджень в залежності від режиму опромінення і обсягу опроміненої фракції тіла. Встановлено особливості цитогенетичних ефектів на початкових етапах променевого лікування з урахуванням локалізації пухлини. Також у модельних експериментах з симуляцією локальності опромінення оцінена інформативність обраної моделі. Показано можливість підтвердження факту радіаційного впливу та його локальності як в експериментах *ex vivo*, так і на початкових етапах променевої терапії, навіть самих ранніх. Отримані результати можуть використовуватися в розробці підходів з індивідуалізації променевого лікування, а також ці дані є важливими для коректної оцінки терапевтичного опромінення і удосконалення системи біологічного контролю і супроводу променевої терапії.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено закономірності формування цитогенетичних ефектів у онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин в залежності від режимів дистанційного опромінення з низькою ЛПЕ для вдосконалення біологічного супроводу променевої терапії, що дозволить швидко і вчасно встановлювати інциденти переопромінення при променевому лікуванні та радіаційних аваріях, а також сприятиме розвитку принципів індивідуалізації радіотерапії. Під час дослідження показані кількісні та якісні особливості реалізації цитогенетичних ефектів на різних, зокрема початкових, етапах променевої терапії у онкологічних хворих з урахуванням джерела опромінення та локалізації пухлин. Встановлено інформативність обраної моделі експерименту *ex vivo* з симуляцією локальності опромінення та досліджено ранні етапи променевого лікування для підтвердження факту радіаційного впливу.

1. Генотоксичний ефект за дії гамма-опромінення *in vivo* був більш виражений ніж при терапії на лінійному прискорювачі. В експерименті *ex vivo* було встановлено більший генотоксичний вплив мегавольтного опромінення. Поєднання *ex vivo* та *in vivo* досліджень дозволяє оцінити наслідки локального радіаційного впливу в залежності від джерела та обсягу опромінення, що сприятиме індивідуалізації променевої терапії онкологічних хворих.

2. За дії обох джерел опромінення у хворих всіх груп спостерігалось зростання частоти радіаційно-індукованих аберацій хромосом у порівнянні з показниками до початку променевого лікування, які в свою чергу перевищували значення лабораторного контролю. Швидкість приросту рівня Диц була вищою за зростання частоти Ац Фр незалежно від локалізації пухлини та режиму опромінення. До початку лікування рівень ацентриків перевищував рівень дицентриків у 3 – 5 разів, а наприкінці був у 2 рази нижче. До променевої терапії співвідношення середньогрупового рівня Диц до Ац Фр у групі РТМ та РЛ дорівнювало 1 : 4,97 (0,35 % до 1,74 %) та 1 : 3,32 (0,44 % до 1,46 %), в середині

курсу – 1 : 0,59 (23,32 % до 13,87 %) та 1 : 0,67 (13,72 % до 9,22 %), в кінці курсу – 1 : 0,51 (41,15 % до 21,11 %) та 1 : 0,43 (25,72 % до 10,97 %), відповідно. При мегавольтному опроміненні співвідношення дицентриків до ацентричних фрагментів були схожі за нижчих темпів приросту цих показників впродовж лікування.

3. Вперше виявлено розбіжності у динаміці цитогенетичних показників впродовж ПТ на гамма-апараті та лінійному прискорювачі. При співставленні гамма- та мегавольтної терапії співвідношення середніх рівнів сумарної частоти Диц+ЦК у групі РТМ складало до середини курсу 1 : 0,74 (26,31 % до 19,34 %), в кінці курсу – 1 : 0,85 (45,06 % до 38,27 %), а у групі РЛ дорівнювало до середини курсу 1 : 0,51 (15,30 % до 7,87 %), в кінці курсу – 1 : 0,68 (28,88 % до 19,77 %), відповідно, що свідчить про більший вплив гамма-терапії на індукцію аберацій хромосомного типу.

4. Спектр клітин з $A X_{c_{unst}}$ розширювався в процесі променевого лікування з різною інтенсивністю. Під впливом гамма-терапії в групі РТМ в середині курсу були присутні аберантні клітини з 1 – 7 структурними перебудовами, в групі РЛ – з 1 – 5 пошкодженнями хромосом; в кінці курсу спостерігали майже однакову кількість аберацій на аберантну клітину – з 1 – 11 та 1 – 10 абераціями на клітину, відповідно. Під впливом мегавольтної терапії в групі РТМ в середині курсу мали місце аберантні клітини з 1 – 7 пошкодженнями, в групі РЛ – з 1 – 4 структурними перебудовами; в кінці курсу спостерігали метафази з 1 – 9 та 1 – 5 абераціями.

5. Виявлено виражену залежність характеру змін цитогенетичних показників від локалізації пухлин. Співвідношення $A X_c$ в групах РТМ, РЛ та РГШ дорівнювало до середини курсу 1 : 0,55 : 0,39 та складало 37,53 % до 20,59 % до 14,69 %, к кінцю курсу – 1 : 0,56 : 0,37 (64,76 % до 36,09 % до 23,81 %). Найбільш виражений приріст відзначали для онкогінекологічної групи.

6. Рівень нерадіаційно-індукованих цитогенетичних показників хроматидного типу в групах РТМ та РГШ фактично не змінювався впродовж ПТ. У групі РЛ спостерігали зростання частоти $A X_t$ від початку і до кінця курсу променевого лікування, де вона становила 5,62 % при 2,50 % та 2,04 % в групах

РТМ та РГШ. Рівень геномних порушень змінювався флуктуаційно та не залежав від джерела опромінення та локалізації пухлини. Виключенням був рівень поліплоїдних клітин в групі РТМ, який монотонно зростав в ході всього променевого лікування.

7. Після першого сеансу променевого лікування встановлено зростання рівня обмінних та фрагментних аберацій у порівнянні з допроменевими значеннями не залежно від джерела опромінення, а інтенсивність зростання залежала від локалізації пухлини. Співвідношення $A X_{c_{unst}}$ для груп РТМ, РЛ та РГШ дорівнювало $1 : 0,67 : 0,57$, що вказує на більший рівень аберацій хромосомного типу у онкогінекологічних хворих, тобто у хворих з найбільшим об'ємом опроміненої ділянки тіла.

8. Доведено, що в експерименті *ex vivo* з опромінення у дозі 2 Гр крові пацієнтів рівень радіаційно-індукованих хромосомних пошкоджень очікувано зростав, проте не залежав від локалізації пухлин. Встановлено більший цитогенетичний ефект мегавольтного опромінення. Рівень Диц в групі при гамма-опроміненні дорівнював 19,39 % та перевищував значення на нульовій точці приблизно у 64,5 раза, а в групі мегавольтного опромінення – складав 23,45 %, обумовлюючи перевищення у 78 разів.

9. Сумарний рівень $A X_c$ та середній рівень Диц+ЦК на експериментальні точці опромінення *ex vivo* в дозі 2 Гр з розведенням $1 : 9$ перевищував контрольні значення для обох джерел опромінення, а розподіл Диц по клітинах був наддисперсний відносно статистики Пуассона. Це підтверджує можливість використання обраної тестової моделі не тільки для детекції факту опромінення, але і для виявлення його локального характеру.

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Гудков І. М. Радіобіологія: Підручник для вищ. навчальних закладів. Київ, 2016. 485 с.
2. Іванкова В. С. Сучасна променева терапія та етапи її розвитку. *Український Радіологічний Журнал*. 2015. Т. 23, Вип. 2. С. 84–87.
3. Thariat J., Hannoun-Levi J. M., Sun Myint A., Vuong T., Gerard J. P. Past, present, and future of radiotherapy for the benefit of patients. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2013. Vol. 10, № 1. P. 52–60.
4. Chen H. H. W., Kuo M. T. Improving radiotherapy in cancer treatment: Promises and challenges. *Oncotarget*. 2017. Vol. 8, № 37. P. 62742–62758.
5. Каприн А. Д., Мардынський Ю. С., Смирнов В. П., Иванов С. А., Костин А. А., Полихов С. А., Решетов І. В., Фат'янова А. С., Денисенко М. В., Эпатова Т. В., Коренев С. В., Терещенко А. В., Филоненко Е. В., Гафаров М. М., Романко Ю. С. К истории развития лучевой терапии (часть I). *Biomedical Photonics*. 2019. Т. 8, № 1. С. 52–62.
6. The timely delivery of radical radiotherapy: guidelines for the management of unscheduled treatment interruptions. Fourth edition. Great Britain: The Royal College of Radiologists. 2019. 37 p.
7. Ferreira J. A. G., Olasolo J. J., Azinovic I., Jeremic B. Effect of radiotherapy delay in overall treatment time on local control and survival in head and neck cancer: Review of the literature. *Reports of Practical Oncology and Radiotherapy*. 2015. Vol. 20, № 5. P. 328–339.
8. Іванкова В. С., Столярова О. Ю., Барановська Л. М., Хруленко Т. В., Скоморохова Т. В., Пильнов В. А. Променева терапія ХХІ століття. *Клиническая онкология*. 2018. Т. 8, № 2 (30). Р. 111–115.
9. Виноградов В. М. Перспективные методики лучевой терапии. *Практическая онкология*. 2007. Т. 8, № 1. С. 194–204.

10. Roch-Lefevre S., Pouzoulet F., Giraudet A. L., Voisin P., Vaurijoux A., Gruel G., Gregoire E., Buard V., Delbos M., Voisin P., Bourhis J., Roy L. Cytogenetic assessment of heterogeneous radiation doses in cancer patients treated with fractionated radiotherapy. *The British Journal of Radiology*. 2010. Vol. 83, № 993. P. 759–766.
11. Martin C. J., Sutton D. G., West C. M., Wright E. G. The radiobiology / radiation protection interface in healthcare. *Journal of Radiological Protection*. 2009. Vol. 29, № 2A. P. A1–A20.
12. Steel G. G. The significance of radiobiology for radiotherapy. *Basic Clinical Radiobiology*. Eds.: G. G. Steel. London, 1997. P. 1–7.
13. Senthamizhchelvan S., Pant G. S., Rath G. K., Julka P. K., Nair O., Prabhakar R., Malhotra A. Biological estimation of dose in hemi-body irradiation of cancer patients by cytogenetic analysis. *Health Physics*. 2008. Vol. 94, № 2. P. 112–117.
14. Гродзинський Д. М. Радіобіологія: Підручник для студ. біолог. спец. вищ. навч. закл. 2-ге вид. Київ, 2001. 448 с.
15. Chambers D. B., Phillips H. A. The current status of biological dosimeters. *Medical management of radiation accidents*. Eds.: I. A. Gusev, A. K. Guskova, F. A. Mettler. New York, Washington (USA), 2001. P. 507–518.
16. Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation Emergencies. Vienna, 2011. 229 p.
17. Демина Э. А. Радиочувствительность хромосом лимфоцитов периферической крови человека и митотический цикл. *Проблеми безпеки атомних електростанцій і Чорнобиля*. 2005. Вип. 3. Ч. 2. С. 80–87.
18. Baverstock K. Radiation-induced genomic instability: a paradigm-breaking phenomenon and its relevance to environmentally induced cancer. *Mutation Research*. 2000. Vol. 454. P. 89–109.
19. Lomax M. E., Folkes L. K., O'Neill P. Biological Consequences of Radiation-induced DNA Damage: Relevance to Radiotherapy. *Clinical Oncology*. 2013. Vol. 25, № 10. P. 578–585.

20. Puerto S., Marcos R., Ramirez M. J., Galofre P., Creus A., Surralles J. Equal induction and persistence of chromosome aberrations involving chromosomes 1, 4 and 10 in thyroid cancer patients treated with radioactive iodine. *Mutation Research*. 2000. Vol. 469. P. 147–158.
21. Schmidberger H., Virsik-Koepp P., Rave-Frank M., Reinosch K. R., Pradier O., Munzel U., Hess C. F. Reciprocal translocations in patients with testicular seminoma before and after radiotherapy. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*. 2001. Vol. 50, № 4. P. 857–864.
22. Legal J.-D., De Crevoisier R., Lartigau E., Morsli K., Dossou J., Chavaudra N., Sanfilippo N., Bourhis J., Eschwege F., Parmentier C. Chromosomal aberrations induced by chemotherapy and radiotherapy in lymphocytes from patients with breast carcinoma. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*. 2002. Vol. 52, № 5. P. 1186–1195.
23. Kuechler A., Dreidax M., Pigorsch S. U., Liehr T., Claussen U., Wendt T. G., Dunst J. Residual chromosomal damage after radiochemotherapy with and without amifostine detected by 24-color FISH. *Strahlentherapie und Onkologie*. 2003. Vol. 179, № 7. P. 493–498.
24. Barrios L., Caballin M. R., Miro R., Fuster C., Guedea F., Subias A., Egozcue J. Cytogenetic effects of radiotherapy: frequency and types of chromosome aberrations. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*. 1990. Vol. 19. P. 371–375.
25. Tawn E. J., Whitehouse C. A. Persistence of translocation frequencies in blood lymphocytes following radiotherapy: implications for retrospective radiation biodosimetry. *Journal of Radiological Protection*. – 2003. Vol. 23, № 4. P. 423–430.
26. Muller I., Geinitz H., Braselmann H., Baumgartner A., Fasan A., Thamm R., Molls M., Meineke V., Zitzelsberger H. Time-course of radiation-induced chromosomal aberrations in tumor patients after radiotherapy. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*. 2005. Vol. 63, № 4. P. 1214–1220.

27. Padjas A., Lesisz D., Lankoff A., Banasik A., Lisowska H., Bakalars R., Gozdz S., Wojcik A. Cytogenetic damage in lymphocytes of patients undergoing therapy for small cell lung cancer and ovarian carcinoma. *Toxicology and Applied Pharmacology*. – 2005. Vol. 209. P. 183–191.
28. Мазник Н. О., Вінніков В. А., Міхановський О. А., Сухіна О. М., Тепла В. О. Цитогенетичні ефекти в осіб з онкогінекологічними захворюваннями в процесі променевого лікування. *Український Радіологічний Журнал*. 2002. Т. 10, вип. 1. С. 32–36.
29. Мазник Н. О., Вінніков В. А., Міхановський О. А., Сухіна О. М., Щегольков А. В., Тепла В. О., Ірха О. Е., Мазник В. С., Павленко В. О., Скрипник Л. Д. Динаміка *in vitro* цитогенетичних ушкоджень у лімфоцитах крові хворих на рак тіла матки після радіотерапії. *Український Радіологічний Журнал*. 2004. Т. 12, вип. 3. С. 266–276.
30. Мазник Н. О., Вінніков В. А., Ірха О. Е., Сухіна О. М., Міхановський О. А., Кругова І. М. Динаміка загальних цитогенетичних показників у хворих на рак тіла матки до термінів 12-24 місяці після променевої терапії. *Український Радіологічний Журнал*. 2008. Т. 16, вип. 1. С. 20–26.
31. Minaei S. E., Mozdarani H., Motazakker M., Mansouri M., Aghamiri S. M. R. Evaluation of Cytogenetic Alterations in Peripheral Blood Lymphocytes of Esophageal Cancer Patients Treated with Radiotherapy or Chemoradiotherapy using Cytokinesis-Blocked Micronucleus Assay. *Acta Medica Iranica*. – 2016. Vol. 54, № 1. P. 9–14.
32. Fong L., Chen J.-Y., Ting L.-L., Lui L.-T., Wang P.-M., Chen W.-L. Chromosome Aberrations Induced in Human Lymphocytes after Partial-Body Irradiation. *Radiation Research*. 1995. Vol. 144, № 1. P. 97–101.
33. Lemos-Pinto M. M. P., Cadena M., Santos N., Fernandes T. S., Borges E., Amaral A. A dose-response curve for biodosimetry from a 6 MV electron linear accelerator. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. – 2015. Vol. 48, № 10. P. 908–914.

34. Мазник Н. О., Сипко Т. С., Вінніков В. А. Цитогенетичні ефекти в лімфоцитах людини при гамма-опроміненні *in vitro* в діапазоні високих доз. *Український Радіологічний Журнал*. 2011. Т. 19, вип. 1. С. 59–68.
35. Kadam S. B., Shyama S. K., Kumar M. K. P., D'costa A., Almeida V. G. Cytogenetic Analysis on the Yields of Chromosomal Aberrations Induced by the Scattered Doses of γ -Radiation. *Journal of Nuclear Medicine and Radiation Therapy*. – 2016. Vol. 7, № 1. P. 1–8 (1000270).
36. Sreedevi B., Rao B. S., Nagaraj H., Pal N. K. Chromosome aberration analysis in radiotherapy patients and simulated partial body exposures: biological dosimetry for non-uniform exposures. *Radiation Protection Dosimetry*. – 2001. Vol. 94, № 4. P. 317–322.
37. Leonard A., Baltus I., Leonard E. D., Gerber G. B., Richard F., Wambersie A. Dose-effect relationship for *in vivo* and *in vitro* induction of dicentric aberrations in blood lymphocytes of children. *Radiation Research*. 1995. Vol. 141. P. 95–98.
38. Dossou J., Lartigau E., M'Kacher R., Legal J. D., Bridier A., Guichard M., Eschwege F., Parmentier C. Biological dosimetry after total body irradiation (TBI) for hematologic malignancy patients. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*. – 2000. Vol. 46, № 1. P. 123–129.
39. Hille A., Hofman-Huther H., Kuhnle E., Wilken B., Rave-Frank M., Schmidberger H., Virsik P. Spontaneous and radiation-induced chromosomal instability and persistence of chromosome aberrations after radiotherapy in lymphocytes from prostate cancer patients. *Radiation and Environmental Biophysics*. – 2010. Vol. 49, № 1. P. 27–37.
40. Tawn E. J., Whitehouse C. A., Martin F. A. Sequential chromosome aberration analysis following radiotherapy – no evidence for enhanced genomic instability. *Mutation Research*. – 2000. Vol. 465. P. 45–51.
41. Tawn E. J., Whitehouse C. A., Winther J. F., Curwen G. B., Rees G. S., Stovall M., Olsen J. H., Guldberg P., Rechnitzer C., Schroder H., Boice Jr. J. D. Chromosome analysis in childhood cancer survivors and their offspring – no

- evidence for radiotherapy-induced persistent genomic instability. *Mutation Research*. – 2005. Vol. 583. – P. 198–206.
42. Andreassen C. N. Can risk of radiotherapy-induced normal tissue complications be predicted from genetic profiles? *Acta Oncologica*. – 2005. Vol. 44, № 8. P. 801–815.
 43. Andreassen C. N., Alsner J. Genetic variants and normal tissue toxicity after radiotherapy: A systematic review. *Radiotherapy and Oncology*. – 2009. Vol. 92, № 3. P. 299–309.
 44. Fenech M., Kirsch-Volders M., Rossnerova A., Sram R., Romm H., Bolognesi C., Ramakumar A., Soussaline F., Schunck C., Elhajouji A., Anwar W., Bonassi S. HUMN project initiative and review of validation, quality control and prospects for further development of automated micronucleus assays using image cytometry systems. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. – 2013. Vol. 216, № 5. P. 541–552.
 45. Moroni M., Maeda D., Whitnall M. H., Bonner W. M., Redon C. E. Evaluation of the gamma-H2AX assay for radiation biodosimetry in a swine model. *International Journal of Molecular Sciences*. – 2013. Vol. 14, № 7. P. 14119–14135.
 46. Zahnreich S., Ebersberger A., Kaina B., Schmidberger H. Biodosimetry Based on γ -H2AX Quantification and Cytogenetics after Partial- and Total-Body Irradiation during Fractionated Radiotherapy. *Radiation Research*. – 2015. Vol. 183, № 4. P. 432–446.
 47. Djuzenova C. S., Zimmermann M., Katzer A., Fiedler V., Distel L. V., Gasser M., Waaga-Gasser A.-M., Flentje M., Polat B. A prospective study on histone γ -H2AX and 53BP1 foci expression in rectal carcinoma patients: correlation with radiation therapy-induced outcome. *BMC Cancer*. 2015. Vol. 15. P. 1–10 (856).
 48. Nikitaki Z., Nikolov V., Mavragani I. V., Mladenov E., Mangelis A., Laskaratou D. A., Fragkoulis G. I., Hellweg C. E., Martin O. A., Emfietzoglou D., Hatzi V. I., Terzoudi G. I., Iliakis G., Georgakilas A. G.

- Measurement of complex DNA damage induction and repair in human cellular systems after exposure to ionizing radiations of varying linear energy transfer (LET). *Free Radical Research*. 2016. Vol. 50, № 1S. P. S64–S78.
49. Jacob N. K., Cooley J. V., Yee T. N., Jacob J., Alder H., Wickramasinghe P., Maclean K. H., Chakravarti A. Identification of Sensitive Serum microRNA Biomarkers for Radiation Biodosimetry. *Public Library of Sciences ONE*. 2013. Vol. 8, № 2. P. 1–12 (e57603).
 50. M'kacher R., El Maalouf E., Ricoul M., Heidingsfelder L., Cuceu C., Hempel W. M., Colicchio B., Dieterlen A., Sabatier L. New tool for biological dosimetry: reevaluation and automation of the gold standard method following telomere and centromere staining. Proceedings of 41th Annual Meeting of the European Radiation Research Society, 14–19 September 2014. Rhodes, Greece. P. 47.
 51. Unverricht-Yeboah M., Giesen U., Pomplun E., Kriehuber R. Gene expression analysis after exposure to I-123-iododeoxyuridine, gamma-rays and alpha-particles. Proceedings of 41th Annual Meeting of the European Radiation Research Society, 14–19 September 2014. Rhodes, Greece. P. 52.
 52. Manning G., Taylor K., Finnon P., Lemon J. A., Boreham D. R., Badie C. Quantifying murine bone marrow and blood radiation dose response following ^{18}F -FDG PET with DNA damage biomarkers. *Mutation Research*. 2014. Vol. 770. P. 29–36.
 53. Friedland W., Kundrat P. Track structure based modelling of chromosome aberrations after photon and alpha-particle irradiation. *Mutation Research*. 2013. Vol. 756, № 1–2. P. 213–223.
 54. Sasaki M. S. Chromosomal biodosimetry by unfolding a mixed Poisson distribution: a generalized model. *International Journal of Radiation Biology*. 2003. Vol. 79, № 2. P. 83–97.
 55. Senthamizhchelvan S., Pant G. S., Rath G. K., Julka P. K., Nair O., Joshi R. C., Malhotra A., Pandey R. M. Biodosimetry using chromosome aberrations in

- human lymphocytes. *Radiation Protection Dosimetry*. 2007. Vol. 123, № 2. P. 241–245.
56. Arutyunyan R., Martus P., Neubauer S., Birkenhake S., Dunst J., Sauer R., Gebhart E. Intercellular distribution of cytogenetic changes detected by chromosome painting in irradiated blood lymphocytes of cancer patients. *Experimental Oncology*. 1998. Vol. 20, № 3. P. 223–228.
 57. Хвостунов И. К., Курсова Л. В., Шепель Н. Н., Рагулин Ю. А., Севаньяев А. В., Гулидов И. А., Глазырин Д. А., Иванова И. Н. Оценка целесообразности применения биологической дозиметрии на основе анализа хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови больных раком легкого при терапевтическом фракционированном γ -облучении. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2012. Т. 52, № 5. С. 467–480.
 58. Vinnikov V. A., Maznyk N. A., Lloyd D. Delayed chromosomal instability in lymphocytes of cancer patients after radiotherapy. *International Journal of Radiation Biology*. 2010. Vol. 86, № 4. P. 271–282.
 59. Leonard A., Fabry L., Lemaire M., Gerber G. B. Lymphocyte chromosome aberrations in patients undergoing radiation therapy for mammary carcinoma. *Acta Radiologica Oncology*. 1983. Vol. 22. P. 429–431.
 60. Antoine J. L., Gerber G. B., Leonard A., Richard F., Wambersie A. Chromosome aberrations induced in patients treated with telecobalt therapy for mammary carcinoma. *Radiation Research*. 1981. Vol. 86. P. 171–177.
 61. Magnata S. P., Serafim I., Netto J., Gomes P., Netto A. M., Amaral A. Unstable chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes from patients with cervical uterine cancer following radiotherapy. *Cellular and Molecular Biology*. 2002. Vol. 48, № 7. P. 809–811.
 62. Brandan M. E., Perez-Pastenes M. A., Ostrosky-Wegman P., Gonsebatt M. E., Diaz-Perches R. Mean dose to lymphocytes during radiotherapy treatments. *Health Physics*. 1994. Vol. 67, № 4. P. 326–329.

63. Cavusoglu K., Arica S. C., Bokesoy I., Kurtman C. Chromosomal aberrations induced by radiotherapy in lymphocytes from patients with lung cancer. *Journal of Environmental Biology*. 2009. Vol. 30, № 1. P. 7–10.
64. Ammenheuser M. M., Au W. W., Whorton Jr. E. B., Belli J. A., Ward Jr. J. B. Comparison of Hprt Variant Frequencies and Chromosome Aberration Frequencies in lymphocytes From Radiotherapy and Chemotherapy Patients: A Prospective Study. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 1991. Vol. 18. P. 126–135.
65. D'alesio V., Pacelli R., Durante M., Cama G. C., Cella L., Gialanella G., Grossi G., Pugliese M., Punzo G., Sardi I., Scampoli P., Solla R., Salvatore M. Lymph nodes in the irradiated field influence the yield of radiation-induced chromosomal aberrations in lymphocytes from breast cancer patients. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*. 2003. Vol. 57, № 3. P. 732–738.
66. Diener A., Stephan G., Vogl T., Lissner J. The induction of chromosome aberrations during the course of radiation therapy for Morbus Hodgkin. *Radiation Research*. 1988. Vol. 114, № 3. P. 528–536.
67. Gershkevitsh E., Hildebrandt G., Woft U., Kamprad F., Realo E., Trott K.-R. Chromosomal Aberration in Peripheral Lymphocytes and Doses to the Active Bone Marrow in Radiotherapy of Prostate Cancer. *Strahlentherapie und Onkologie*. 2002. Vol. 178, № 1. P. 36–42.
68. Miszczyk J., Rawojc K., Panek A., Swakon J., Prasanna P. G., Rydygier M. Response of human lymphocytes to proton radiation of 60 MeV compared to 250 kV X-rays by the cytokinesis-block micronucleus assay. *Radiotherapy and Oncology*. 2015. Vol. 115, № 1. P. 128–134.
69. Hartel C., Fournier C., Hessel P., Ritter S., Nasonova E., Nikoghosyan A., Schulz-Ertner D. Chromosome Aberrations in Lymphocytes of Prostate Cancer Patients Treated with IMRT and Carbon Ions. *Radioprotection*. 2008. Vol. 43, № 5. P. 52–53.

70. Puig R., Pujol M., Barrios L., Caballin M. R., Barquinero J. F. Analysis of α -particle-induced chromosomal aberrations by chemically-induced PCC. Elaboration of dose-effect curves. *International Journal of Radiation Biology*. 2016. Vol. 92, № 9. P. 493–501.
71. Edwards A. A., Lloyd D. C., Purrott R. J. Radiation induced chromosome aberrations and the poisson distribution. *Radiation and Environmental Biophysics*. 1979. Vol. 16, № 2. P. 89–100.
72. Shim G., Normil M. D., Testard I., Hempel W. M., Ricoul M., Sabatier L. Comparison of Individual Radiosensitivity to γ -Rays and Carbon Ions. *Frontiers in Oncology*. 2016. Vol. 6. P. 1–9 (137).
73. Bauchinger M., Schmid E., G Rimpl., Kuhn H. Chromosome aberrations in human lymphocytes after irradiation with 15,0-MeV neutrons *in vitro*. I. Doserresponse relation and RBE. *Mutation Research*. 1975. Vol. 27. P. 103–109.
74. Schmid E., Dresp J., Bauchinger M., Franke H. D., Langendorff G., Hess A. Radiation-induced chromosome damage in patients after tumor therapy with 14 MeV, DT neutrons. *International Journal of Radiation Biology*. 1980. Vol. 38, № 6. P. 691–695.
75. Whitehouse C. A., Edwards A. A., Tawn E. J., Stephan G., Oestreicher U., Moquet J. E., Lloyd D. C., Roy L., Voisin P., Lindholm C., Barquinero J., Barrios L., Caballin M. R., Darroudi F., Fomina J. Translocation yields in peripheral blood lymphocytes from control populations. *International Journal of Radiation Biology*. 2005. Vol. 81, № 2. P. 139–145.
76. Атраментова Л. А., Утевская О. М. Статистические методы в биологии: учебник. Горловка, 2008. 248 с.
77. Higuera M., Gonzalez J. E., Di Giorgio M., Barquinero J. F. A note on Poisson goodness-of-fit tests for ionizing radiation induced chromosomal aberration samples. *International Journal of Radiation Biology*. 2018. Vol. 94, № 7. P. 656–663.

78. Мазник Н. О., Сипко Т. С., Пшенічна Н. Д., Старенький В. П., Кругова І. М. Радіаційно-індуковані аберації хромосом у онкогінекологічних хворих та хворих з пухлинами голови та шиї при променевій терапії на лінійному прискорювачі. *ScienceRise: Biological Science*. 2018. № 3 (12). С. 24–28.
79. Сипко Т. С., Мазник Н. О., Пшенічна Н. Д., Старенький В. П., Сухіна О. М., Кругова І. М. Вихід аберацій хромосомного типу у онкогінекологічних хворих при променевій терапії на апараті РОКУС-АМ та лінійному прискорювачі Clinac 600С. *ScienceRise: Biological Science*. 2018. № 5 (14). С. 15–21.
80. Мазник Н. О., Сипко Т. С., Старенький В. П., Богатиренко Н. Д., Білозор Н. В. Цитогенетичні пошкодження у хворих на рак легені при дистанційній променевій терапії. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2019. Вип. 24. С. 411–425.
81. Сипко Т. С. Цитогенетичні пошкодження хроматидного типу та геномні порушення у лімфоцитах онкологічних пацієнтів з різною локалізацією пухлин при променевій терапії. *Біологія та валеологія*. 2019. Вип. 21. С. 110–120.
82. Мазник Н. О., Сипко Т. С., Старенький В. П., Сухіна О. М., Кругова І. М. Аберації хромосом у онкологічних хворих на початковому етапі променевої терапії на апараті РОКУС-АМ та лінійному прискорювачі Clinac 600С. *Онкологія*. 2019. Т. 21, № 2. С. 165–169.
83. Senthamizhchelvan S., Pant G. S., Rath G. K., Julka P. K., Nair O. Biodosimetry using micronucleus assay in acute partial body therapeutic irradiation. *Physica Medica*. 2009. Vol. 25, № 2. P. 82–87.
84. Мазник Н. О., Сипко Т. С., Старенький В. П. Цитогенетичні ефекти у лімфоцитах онкологічних хворих в залежності від джерела опромінення та локальності радіаційного впливу у експерименті *ex vivo*. *ScienceRise: Biological Science*. 2019. № 3 (18). С. 25–31.
85. Yahyapour R., Salajegheh A., Safari A., Amini P., Rezaeyan A., Amraee A., Najafi M. Radiation-induced Non-targeted Effect and Carcinogenesis;

- Implications in Clinical Radiotherapy. *Journal of Biomedical Physics and Engineering*. 2018. Vol. 8, № 4. P. 435–446.
86. Сипко Т. С., Мазник Н. О. Цитогенетичні показники у онкологічних хворих при дистанційній променевої терапії від різних джерел опромінення. *Український радіологічний журнал*. 2017. Т. 25. Вип. 4. С. 297–308.
 87. Serna A., Alcaraz M., Navarro J. L., Acevedo C., Vicente V., Canteras M. Biological Dosimetry and Bayesian Analysis of Chromosomal Damage in Thyroid Cancer Patients. *Radiation Protection Dosimetry*. 2008. Vol. 129, № 4. P. 372–380.
 88. Silva-Barbosa I., Pereira-Magnata S., Amaral A., Sotero G., Melo H. C. Dose assessment by quantification of chromosome aberrations and micronuclei in peripheral blood lymphocytes from patients exposed to gamma radiation. *Genetics and Molecular Biology*. 2005. Vol. 28, № 3. P. 452–457.
 89. Barber J. B. P., Burrill W., Spreadborough A. R., Levine E., Warren C., Kiltie A., Roberts A., Scott D. Relationship between *in vitro* chromosomal radiosensitivity of peripheral blood lymphocytes and the expression of normal tissue damage following radiotherapy for breast cancer. *Radiotherapy and Oncology*. 2000. Vol. 55. P. 179–186.
 90. Borgmann K., Hoeller U., Nowack S., Bernhard M., Roper B., Brackrock S., Petersen C., Szymczak S., Ziegler A., Feyer P., Alberti W., Dikomey E. Individual Radiosensitivity Measured with Lymphocytes May Predict the Risk of Acute Reaction after Radiotherapy. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*. 2008. Vol. 71, № 1. P. 256–264.
 91. Chua M. L. K., Somaiah N., A'Hern R., Davies S., Gothard L., Yarnold J., Rothkamm K. Residual DNA and chromosomal damage in *ex vivo* irradiated blood lymphocytes correlated with late normal tissue response to breast radiotherapy. *Radiotherapy and Oncology*. 2011. Vol. 99, № 3. P. 362–366.
 92. Huber R., Braselmann H., Geinitz H., Jaehnert I., Baumgartner A., Thamm R., Figel M., Molls M., Zitzelsberger H. Chromosomal radiosensitivity and acute

- radiation side effects after radiotherapy in tumour patients – a follow-up study. *Radiotherapy and Oncology*. 2011. Vol. 6. P. 32–39.
93. Widel M., Jedrus S., Lukaszczuk B., Raczek-Zwierzycka K., Swierniak A. Radiation-induced micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes is correlated with normal tissue damage in patients with cervical carcinoma undergoing radiotherapy. *Radiation Research*. 2003. Vol. 159. P. 713–721.
 94. van Vugt M. Inhibition of the DNA damage response to sensitize cervical cancer cells for platinum-based chemoradiation. Proceedings of 42nd Conference of the European Radiation Research Society, 4–8 September 2016. Amsterdam, the Netherlands. P. 24.
 95. Verheij M., de Haan R., van Triest B., Schellens J., Pluim D., Vens C. Preclinical and early clinical experience with PARP inhibition and radiotherapy. Proceedings of 42nd Conference of the European Radiation Research Society, 4–8 September 2016. Amsterdam, the Netherlands. P. 32.
 96. McKenna W. G., Prevo R., Muschel R. J., Ashton T., Higgins G. S. High-throughput Screens for Targets to Modify Radiosensitivity. Proceedings of 42nd Conference of the European Radiation Research Society, 4–8 September 2016. Amsterdam, the Netherlands. P. 33.
 97. Дьоміна Е. А., Ворощук О. М. Закономірності утворення аберацій хромосом у соматичних клітинах людини залежно від дози опромінення. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2008. Т. 6, № 1. С. 166–175.
 98. Рябченко Н. И., Насонова В. А., Фесенко Э. В., Антощина М. М., Кондрашова Т. В., Павлов В. В., Рябикина Н. В. Анализ повреждений хромосом в лимфоцитах больных лимфогранулематозом после проведения химио- и лучевой терапии. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2008. Т. 48, № 2. С. 146–152.
 99. Федоренко Б. С., Ворожцова С. В., Герасименко В. Н., Дружинин С. В., Юдаева Л. А. Цитогенетические нарушения в клетках экспериментальных животных и человека при действии ускоренных заряженных частиц

- и космического излучения. *Физика элементарных частиц и атомного ядра*. 1999. Т. 30, № 2. С. 470–526.
100. Pouzoulet F., Roch-Lefevre S., Giraudet A. L., Vaurijoux A., Voisin P., Buard V., Delbos M., Bourhis J., Voisin Ph., Roy L. Monitoring translocations by M-FISH and three-color FISH painting techniques: a study of two radiotherapy patients. *Journal of Radiation Research*. 2007. Vol. 48. P. 425–434.
 101. Вінніков В. А., Мазник Н. О., Сипко Т. С., Пшенічна Н. Д. Цитогенетичні ефекти в лімфоцитах периферичної крові хворих на рак грудної залози під час променевого лікування. I. Варіабельність індивідуальної динаміки рівня аберацій. *Український Радіологічний Журнал*. 2012. Т. 20. Вип. 2. С. 136–140.
 102. Вінніков В. А., Мазник Н. А., Сипко Т. С., Пшенічна Н. Д. Цитогенетичні пошкодження у хворих на раки жіночих статевих органів під час променевої терапії. II. Порівняння генотоксичності різних схем опромінення. *Український Радіологічний Журнал*. 2013. Т. 21. Вип. 3. С. 267–277.
 103. Coleman C. N., Parker G. W. Radiation terrorism: what society needs from the radiobiology-radiation protection and radiation oncology communities. *Journal of Radiological Protection*. 2009. Vol. 29, № 2A. P. A159–A169.
 104. Jaworska A., Ainsbury E. A., Fattibene P., Lindholm C., Oestreicher U., Rothkamm K., Romm H., Thierens H., Trompier F., Voisin P., Vral A., Woda C., Wojcik A. Operational guidance for radiation emergency response organisations in Europe for using biodosimetric tools developed in EU multibiodose project. *Radiation Protection Dosimetry*. 2015. Vol. 164, № 1–2. P. 165–169.
 105. Сипко Т. С., Пшенічна Н. Д., Мазник Н. О. Мітотична активність культур лімфоцитів крові онкологічних хворих на різних етапах променевої терапії на лінійному прискорювачі. Матеріали VI з'їзду радіобіологічного товариства України, 5–9 жовтня 2015 р., Київ, 2015. С. 118–119.
 106. Сипко Т. С., Пшенічна Н. Д., Мазник Н. О. Мітотична активність в культурах лімфоцитів крові онкологічних хворих під час гамма-терапії ^{60}Co на апараті Рокус-АМ. *Внесок молодих вчених і спеціалістів у розвиток*

медичної науки і практики: нові перспективи: матеріали наук.-практ. конф. з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки, 15 травня 2015 р., Харків, 2015. С. 81–82.

107. Семенов А. В., Воробцова И. Е. Частота хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови больных с солидными опухолями. *Вопросы онкологии*. 2016. Т. 62, № 3. С. 485–489.
108. Демина Э. А. Хромосомные аномалии в лимфоцитах крови первичных онкологических больных в послечернобыльском периоде. *ScienceRise: Biological Science*. 2016. № 1 (1). С. 20–25.
109. Мельников А. А., Васильев С. А., Смольникова Е. В., Уразова Л. Н., Мусабаева Л. И., Великая В. В., Грибова О. В., Лебедев И. Н., Чойнзонов Е. Л., Старцева Ж. А. Динамика хромосомных aberrаций и микроядер в лимфоцитах больных злокачественными новообразованиями при нейтронной терапии. *Сибирский онкологический журнал*. 2012. Т. 52, № 4. С. 52–56.
110. Ainsbury E. A., Higuera M., Puig P., Einbeck J., Samaga D., Barquinero J. F., Barrios L., Brzozowska B., Fattibene P., Gregoire E., Jaworska A., Lloyd D., Oestreicher U., Romm H., Rothkamm K., Roy L., Sommer S., Terzoudi G., Thierens H., Trompier F., Vral A., Woda C. Uncertainty of fast biological radiation dose assessment for emergency response scenarios. *International Journal of Radiation Biology*. 2017. Vol. 93, № 1. P. 127–135.
111. Xuncla M., Barquinero J. F., Caballin M. R., Craven-Bartle J., Ribas M., De Vega J. M., Barrios L. Cytogenetic damage induced by radiotherapy. Evaluation of protection by amifostine and analysis of chromosome aberrations persistence. *International Journal of Radiation Biology*. 2008. Vol. 84, № 3. P. 243–251.
112. Lloyd D. C., Edwards A. A. Chromosome aberrations in human lymphocytes: effect of radiation quality, dose, and dose rate. Eds.: T. Ishihara, M. Sasaki. Radiation-induced chromosome damage in man. NY, USA, 1983. P. 23–49.

113. Дьоміна Е. А., Іванкова В. С. Індивідуальна радіаційна чутливість онкологічних хворих: радіобіологічні та клінічні аспекти. *Новоутворення*. 2012. № 1–2 (9–10). С. 201–205.
114. Демидов В. В., Мельнов С. Б., Рыбальченко О. А. Оценка индивидуальной радиочувствительности у разновозрастных групп населения республики Беларусь. *Сахаровские чтения 2002 года: экологические проблемы XXI века: материалы междунар. конф. ведущих специалистов, молодых ученых и студентов*. Минск, 2002. С. 83–85.
115. Шарыгин В. Л. ЭПР-спектроскопия при системном анализе радиочувствительности / радиорезистентности организма. Опыт и тенденции. *Радіаційна біологія. Радіоекологія*. 2018. Т. 58, № 5. С. 463–476.
116. Rodrigues A. S., Oliveira N. G., Gil O. M., Leonard A., Rueff J. Use of cytogenetic indicators in radiobiology. *Radiation Protection Dosimetry*. 2005. Vol. 115, № 1–4. P. 455–460.
117. Greulich-Bode K. M., Zimmermann F., Muller W.-U., Pakisch B., Molls M., Wurschmidt F. Clinical, Molecular- and Cytogenetic Analysis of a Case of Severe Radio-Sensitivity. *Current Genomics*. 2012. Vol. 13, № 6. P. 426–432.
118. Heimers A., Brede H. J., Giesen U., Hoffmann W. Chromosome aberration analysis and the influence of mitotic delay after simulated partial-body exposure with high doses of sparsely and densely ionising radiation. *Radiation and Environmental Biophysics*. 2006. Vol. 45. P. 45–54.

ДОДАТОК А

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ ТА
ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Публікації у фахових виданнях України:

1. Мазник Н. О., Сипко Т. С., Пшенічна Н. Д., Старенький В. П., Кругова І. М. Радіаційно-індуковані аберації хромосом у онкогінекологічних хворих та хворих з пухлинами голови та шиї при променевій терапії на лінійному прискорювачі. *ScienceRise: Biological Science*. 2018. № 3 (12). С. 24–28. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні статті)*
2. Сипко Т. С., Мазник Н. О., Пшенічна Н. Д., Старенький В. П., Сухіна О. М., Кругова І. М. Вихід аберацій хромосомного типу у онкогінекологічних хворих при променевій терапії на апараті РОКУС-АМ та лінійному прискорювачі Clinac 600С. *ScienceRise: Biological Science*. 2018. № 5 (14). С. 15–21. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні статті)*
3. Мазник Н. О., Сипко Т. С., Старенький В. П. Цитогенетичні ефекти у лімфоцитах онкологічних хворих в залежності від джерела опромінення та локальності радіаційного впливу у експерименті *ex vivo*. *ScienceRise: Biological Science*. 2019. № 3 (18). С. 25–31. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні статті)*

4. **Сипко Т. С.** Цитогенетичні пошкодження хроматидного типу та геномні порушення у лімфоцитах онкологічних пацієнтів з різною локалізацією пухлин при променевій терапії. *Біологія та валеологія*. 2019. Вип. 21. С. 110–120. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, опрацювання отриманих результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні статті)*

**Публікація у фаховому виданні України,
що входить до міжнародної наукометричної бази:**

5. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Старенький В. П., Богатиренко Н. Д., Білозор Н. В. Цитогенетичні пошкодження у хворих на рак легені при дистанційній променевій терапії. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2019. Вип. 24. С. 411–425. (**Scopus**). *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні статті)*

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

6. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Пшенічна Н. Д., Старенький В. П. Спосіб визначення надмірного опромінення у онкологічних хворих під час фракціонованої променевої терапії: пат. 107824 Україна: МПК G01N33/50. № u201512232; заявл. 10.12.2015; опубл. 24.06.2016, Бюл. № 12. 3 с. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні патенту)*

7. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Старенький В. П. Визначення надмірного опромінення в онкологічних хворих під час фракціонованої променевої терапії: Інформ. лист № 140-2017; ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва

НАМН України». Київ: Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2017. 3 с. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні інформаційного листа)*

8. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Старенький В. П. Спосіб оцінки цитогенетичних ефектів променевої терапії від різних джерел опромінення онкологічних хворих. *Інформаційний бюлетень: дод. до «Журнал Національної академії медичних наук України»*. 2017. Вип. 43. С. 65–66. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні нововведення)*

9. **Сипко Т. С.**, Мазник Н. О. Цитогенетичні показники у онкологічних хворих при дистанційній променевої терапії від різних джерел опромінення. *Український радіологічний журнал*. 2017. Т. 25, вип. 4. С. 297–308. *(Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, участь у написанні статті)*

10. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Старенький В. П., Сухіна О. М., Кругова І. М. Аберації хромосом у онкологічних хворих на початковому етапі променевої терапії на апараті РОКУС-АМ та лінійному прискорювачі Clinac 600С. *Онкологія*. 2019. Т. 21, № 2. С. 165–169. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні статті)*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

11. Maznyk N., Vinnikov V., Sukhina A., Mikhanovsky A., **Sypko T.**, Irkha A., Schegol'kov A., Pavlenko V. Cytogenetic Technique Applications in Radiation Protection of Radiotherapy Patients // Regional and global aspects of radiation protection : Proceedings of IRPA Regional Congress for Central and Eastern Europe, 24–28 September 2007, Brasov, Romania, 2007. P. 63 (Paper T1 O-6).

(Особистий внесок здобувача – участь у обговоренні результатів та написанні тез)

12. **Сипко Т. С.**, Пшенічна Н. Д., Мазник Н. О., Старенький В. П. Хроматидні аберації у хворих на рак легенів на різних етапах променевої терапії // Внесок молодих спеціалістів в розвиток медичної науки і практики : матеріали наук.-практ. конф. з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки, 15 травня 2014 р., Харків, 2014. С. 180. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

13. Maznyk N., **Sypko T.**, Pschenichna N., Krugova I., Zabobonina L., Starenkiy V. Chromosome aberrations in cancer patients with different tumour localizations undergone Co⁶⁰ radiotherapy // Proceedings of the 2nd International Conference on Radiation and Dosimetry in Various Fields of Research (RAD 2014), 27–30 May 2014, Nis, Serbia, 2014. P. 391. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних)*

14. Maznyk N., Fehringer F., Johannes C., **Sipko T.**, Pshenichna N., Mueller W.-U. Cytogenetic biodosimetry for radiation emergencies: Application of image analysis and its advantage for small networks // Radiation Protection Culture – A global challenge : Proceedings of the 4th European IRPA Congress, 23–27 June 2014, Geneva, Switzerland, 2014. P. 235–236 (PS3-2/11). *(Особистий внесок здобувача – аналіз метафазних препаратів та електронних зображень, участь у статистичному аналізі даних)*

15. Maznyk N., **Sypko T.**, Pshenichna N., Krugova I., Zabobonina L., Shustov I., Starenkiy V. Comparison of chromosome aberrations outcome in cancer patients with different tumor localizations undergone ⁶⁰Co radiotherapy // Proceedings of 11th International Symposium on Chromosomal Aberrations (ISCA 11), 12–14 September 2014, Rhodes, Greece, 2014. P. 25. *(Особистий внесок здобувача –*

культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних)

16. **Сипко Т. С.**, Пшенічна Н. Д., Мазник Н. О. Мітотична активність в культурах лімфоцитів крові онкологічних хворих під час гамма-терапії ^{60}Co на апараті Рокус-АМ // Внесок молодих вчених і спеціалістів у розвиток медичної науки і практики: нові перспективи : матеріали наук.-практ. конф. з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки, 15 травня 2015 р., Харків, 2015. С. 81–82. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

17. Maznyk N., **Sypko T.**, Pshenichna N., Vinnikov V., Krugova I., Zabobonina L., Shustov I., Starenkiy V. Comparison of chromosome aberrations outcome in cancer patients with different tumor localizations undergone megavolt therapy on linear accelerator // Proceedings of the 3rd International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research (RAD 2015), 8–12 June 2015, Nis, Serbia, 2015. P. 425. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних)*

18. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Пшенічна Н. Д., Ірха О. Е., Кругова І. М., Забобоніна Л. В., Шустов І. Б., Старенький В. П. Динаміка рівня аберацій хромосом у хворих з пухлинами голови та шиї, на рак легенів та на рак тіла матки в ході дистанційної променевої терапії на лінійному прискорювачі // Матеріали VI з'їзду радіобіологічного товариства України, 5–9 жовтня 2015 р., Київ, 2015. С. 86. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез, доповідь на конференції)*

19. **Сипко Т. С.**, Пшенічна Н. Д., Мазник Н. О. Мітотична активність культур лімфоцитів крові онкологічних хворих на різних етапах променевої терапії на лінійному прискорювачі // Матеріали VI з'їзду радіобіологічного товариства України, 5–9 жовтня 2015 р., Київ, 2015. С. 118–119. *(Особистий*

внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез, доповідь на конференції)

20. **Сипко Т. С.**, Мазник Н. О., Пшенічна Н. Д., Ірха О. Є. Динаміка рівня аберацій хромосомного типу у хворих на рак тіла матки під час дистанційної гамма-терапії ^{60}Co на апараті РОКУС-АМ // Медична наука та клінічна практика – 2016 : матеріали наук.-практ. конф. з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки, 20 травня 2016 р., Харків, 2016. С. 86. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

21. **Сипко Т. С.**, Мазник Н. О., Ірха О. Є., Старенький В. П. Аберації хроматидного типу у хворих на рак легенів на різних етапах мегавольтної променевої терапії на лінійному прискорювачі Clinac 600C // Матеріали XVI Конгресу Світової Федерації Товариств, 8–23 серпня 2016 р., Берлін – Київ, 2016. С. 203. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

22. Maznyk N., **Sypko T.**, Pshenichna N., Sukhina O., Krugova I., Starenkiy V. Chromosome aberrations in lymphocytes of oncogynecological patients undergone ^{60}Co radiotherapy or megavolt therapy on linear accelerator // Proceedings of the 42nd Conference of the European Radiation Research Society (ERR 2016), 4–8 September 2016, Amsterdam, the Netherlands, 2016. P. 207. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

23. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Пшенічна Н. Д., Ірха О. Є., Сухіна О. М., Кругова І. М., Забобоніна Л. В., Старенький В. П. Аберації хромосом у онкогінекологічних хворих під час дистанційної гамма-терапії на апараті РОКУС-АМ та мегавольтної терапії на лінійному прискорювачі // Ефекти радіації та

інших ксенобіотиків на репродуктивну систему і організм : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 4–7 жовтня 2016 р. : тези доп. Долина, 2016. С. 47. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

24. Maznyk N., **Sypko T.**, Pshenichna N., Sukhina O., Starenkiy V. Chromosome aberrations as biomarkers of partial body exposure in cancer patients undergone radiotherapy with different irradiation volume // Proceedings of Global Conference on Radiation Topics (ConRad 2017), 8–11 May 2017, Munich, Germany, 2017. P. 60–61. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

25. **Сыпко Т. С.** Цитогенетические эффекты у больных с опухолями головы и шеи, раком легких и раком тела матки в ходе лучевой гамма-терапии на аппарате РОКУС-АМ // Медична наука на перетині спеціальностей: сьогодні і майбутнє : матеріали наук.-практ. конф. з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки, 19 травня 2017 р., Харків, 2017. С. 104. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, опрацювання отриманих результатів, статистичний аналіз даних, написання тез, доповідь на конференції)*

26. Maznyk N., **Sypko T.**, Pshenichna N., Irkha A., Krugova I., Sukhina O., Starenkiy V. The investigation of cytogenetic effects outcome in oncogynecological cancer patients undergoing external and internal radiotherapy // Proceedings of the 5th International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research (RAD 2017), 12–16 June 2017, Nis, Serbia, 2017. P. 352. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

27. Maznyk N., **Sypko T.**, Pshenichna N., Sukhina O., Starenkiy V. Study of chromosome aberrations as biomarkers of partial body exposure in cancer patients in

early stages of radiotherapy course // Proceedings of EPR-BioDose 2018, 11–15 June 2018, Munich, Germany, 2018. P. 15 (OP-11). *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

28. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Пшенічна Н. Д., Сухіна О. М., Старенький В. П. Цитогенетичні ефекти у онкогінекологічних хворих під час дистанційної та поєднаної променевої терапії. *Радіологічний вісник*. 2018. № 1–2 (66–67). С. 74. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

29. **Сипко Т. С.**, Мазник Н. О. Цитогенетичні ефекти у хворих на рак легенів на початковому та кінцевому етапах дистанційної променевої терапії. *Журнал НАМН України*. 2018. Спеціальний випуск. С. 111. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

30. Maznyk N., **Sypko T.**, Bohatyrenko N., Sukhina O., Krugova I., Starenkiy V. Cytogenetic effects in lymphocytes of cancer patients with different tumor localizations on early and late stages of radiotherapy treatment // Proceedings of the 7th International Conference on Radiation in Various Fields of Research (RAD 2019), 10–14 June 2019. Nis, Serbia, 2019. P. 360. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

31. Мазник Н. О., **Сипко Т. С.**, Старенький В. П., Сухіна О. М., Красносельський М. В. Роль цитогенетичних досліджень у радіобіологічному супроводі мегавольтної променевої терапії. *Український радіологічний журнал*. 2019. Т. 27, вип. 1. Додаток 1. С. 47–48. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів,*

участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)

32. Мазник Н. О., Сипко Т. С., Старенький В. П., Сухіна О. М., Кругова І. М., Гайсенюк Л. О. Радіаційно-обумовлені та нерадіаційні цитогенетичні ефекти променевої терапії у лімфоцитах онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин // Матеріали VII з'їзду радіобіологічного товариства України, 1–4 жовтня 2019 р., Київ, 2019. С. 86. *(Особистий внесок здобувача – культивування лімфоцитів, виготовлення та аналіз метафазних препаратів, участь у обговоренні результатів, статистичний аналіз даних, участь у написанні тез)*

Відомості про апробацію результатів дисертації

Результати дослідження було представлено на вітчизняних та міжнародних наукових конференціях:

- IRPA Regional Congress for Central and Eastern Europe (Brasov, Romania, 2007) - публікація тез;
- 4th European IRPA Congress (Geneva, Switzerland, 2014) – публікація тез;
- 11th International Symposium on Chromosomal Aberrations (ISCA 11) (Rhodes, Greece, 2014) – усна співдоповідь;
- 2nd International Conference on Radiation and Dosimetry in Various Fields of Research (RAD 2014) (Nis, Serbia, 2014) – публікація тез;
- Науково-практична конференція з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки «Внесок молодих спеціалістів в розвиток медичної науки і практики: матеріали» (Харків, Україна, 2014) – усна доповідь;
- 3rd International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research (RAD 2015) (Budva, Montenegro, 2015) – публікація тез;
- VI з'їзд радіобіологічного товариства України (Київ, Україна, 2015) – дві усні доповіді, грамота за кращу науково-дослідну роботу для молодих вчених;

- Науково-практична конференція з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки «*Внесок молодих вчених і спеціалістів у розвиток медичної науки і практики: нові перспективи*» (Харків, Україна, 2015) – усна доповідь;
- 42nd Conference of the European Radiation Research Society (ERR 2016) (Amsterdam, the Netherlands, 2016) – усна співдоповідь;
- Науково-практична конференція з міжнародною участю «*Ефекти радіації та інших ксенобіотиків на репродуктивну систему і організм*» (Долина, Україна, 2016) – усна співдоповідь;
- XVI Конгрес Світової Федерації Товариств (Берлін, Німеччина – Київ, Україна, 2016) – публікація тез;
- Науково-практична конференція з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки «*Медична наука та клінічна практика – 2016*» (Харків, Україна, 2016) – усна доповідь;
- 5th International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research (RAD 2017) (Budva, Montenegro, 2017) – усна співдоповідь;
- Global Conference on Radiation Topics (ConRad 2017) (Munich, Germany, 2017) – постерна співдоповідь;
- Науково-практична конференція з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки «*Медична наука на перетині спеціальностей: сьогодення і майбутнє*» (Харків, Україна, 2017) – усна доповідь;
- EPR-BioDose International Conferences (Munich, Germany, 2018) – усна співдоповідь;
- 6-й Національний конгрес з міжнародною участю «*Радіологія в Україні*» (Київ, Україна, 2018) – публікація тез;
- Науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 25-річчю Національної академії медичних наук України (Київ, Україна, 2018) – публікація тез;
- 7th International Conference on Radiation in Various Fields of Research (RAD 2019) (Herceg Novi, Montenegro, 2019) – усна співдоповідь;

- Науково-практична конференція Українського товариства радіаційних онкологів (УТРО) за участі міжнародних фахівців *«Актуальні питання радіаційної онкології в Україні»* (Полтава, Україна, 2019) – усна співдоповідь;
- VII з'їзд радіобіологічного товариства України (Київ, Україна, 2019) – усна співдоповідь.

ДОДАТОК Б

**Акт впровадження кафедри радіології та радіаційної медицини
Харківського національного медичного університету**


ЗАТВЕРДЖУЮ
 Професор кафедри радіології та радіаційної медицини
 Харківського національного медичного університету,
 д-р мед. наук, професор,
 В.В. М'ясоєдов
 « 20 » лютого 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.) «Оцінка цитогенетичних ефектів у лімфоцитах онкологічних хворих за умов дистанційної променевої терапії при різних обсягах та режимах опромінення»

(назва пропозиції для впровадження)

2. Ким і коли запропонований: ДУ «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва НАМН України», вул. Пушкінська, 82, Харків, 61024, лабораторія радіаційної цитогенетики
 Автори: Мазник Н.О., Старенький В.П., Сипко Т.С.

(установа-розробник, її поштова адреса: прізвище, ініціали авторів)

3. Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): патент «Спосіб визначення надмірного опромінення у онкологічних хворих під час фракціонованої променевої терапії», інформаційний лист «Визначення надмірного опромінення в онкологічних хворих під час фракціонованої променевої терапії», нововведення «Спосіб оцінки цитогенетичних ефектів променевої терапії від різних джерел опромінення онкологічних хворих»

(назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні дані статті, № а.с. і т.д.)

4. Де і коли впроваджено: навчальний процес – матеріали лекцій і практичні заняття для студентів V курсу Харківського національного медичного університету

5. Строки впровадження: з вересня по грудень 2019 року

6. Результати застосування методу: прочитано англійською мовою цикл лекцій та проведено семінарські заняття з курсу радіаційної медицини, до матеріалів яких включено основні положення пропозиції

7. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): з даним методом ознайомлено 160 студентів V курсу Харківського національного медичного університету

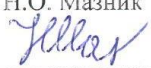
8. Зауваження, пропозиції: немає

Відповідальна за впровадження особа

Доцент кафедри радіології та
радіаційної медицини ХНМУ,
д-р. біол. наук

« 18 » лютого 2020 р.
(дата)

Н.О. Мазник



(підпис)