

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Володимир Анатолійович
Вінніков,
Наталія Олександрівна Мазник,
Тетяна Сергіївна Сипко,
Наталія Дмитрівна Пшенічна

ДУ Інститут медичної
радіології ім. С.П. Григор'єва
НАМН України, Харків

Цитогенетичні пошкодження у хворих на раки жіночих статевих органів під час променевої терапії.

II. Порівняння генотоксичності різних схем опромінення

The cytogenetic damage in gynecological
cancer patients during radiotherapy.

II. The comparison of the genotoxicity
of different irradiation schemes

Цель работы: Сравнить относительную генотоксичность разных схем лучевой терапии (ЛТ) раков женских половых органов (РЖПО) по динамике цитогенетических показателей в лимфоцитах крови больных.

Материалы и методы: Обследованы 53 больных раком тела матки (РТМ), 5 больных раком шейки матки (РШМ) и 12 больных раком яичников (РЯ), которые получали стандартные курсы дистанционной гамма-терапии (ДГТ, 38 больных), внутрисполостной гамма-терапии (ВПГТ, 10 человек) или их сочетание (СЛТ, 22 больные). Классический цитогенетический анализ метафаз 50-ч культуры лимфоцитов крови с выявлением aberrаций хромосом и геномных нарушений проводили до начала курса облучения и на разных этапах ЛТ (всего 186 индивидуальных исследований). Строили групповые регрессии «количество сеансов ЛТ — эффект» для возрастания частоты нестабильных aberrаций хромосомного типа (ACs_{unst}) и изменений скорости накопления ACs_{unst} на протяжении курса ЛТ, предварительно рассчитанной у каждой пациентки.

Результаты: При любой схеме лучевого лечения у больных РЖПО присутствовала накопительная динамика частоты цитогенетических повреждений в процессе ЛТ. Индивидуальные уровни aberrаций образовывали кластеры на ранних этапах ДГТ, в середине и конце курса ДГТ и СЛТ. Регрессии групповой динамики частоты ACs_{unst} при ДГТ и СЛТ в значительной мере перекрывались и проходили значительно выше, чем в случае ВПГТ. Коэффициент накопления ACs_{unst} на 100 клеток за 1 сеанс ЛТ в групповой линейной регрессии составлял 0,85 при ВПГТ РТМ, 1,68 при ДГТ РЯ, 2,65 при ППТ РТМ и РШМ и 3,24 при ДГТ РТМ и РШМ. Оперативное лечение не влияло на цитогенетические показатели у пациенток, а присутствие химиотерапии в схеме лечения не оказывало кластогенного эффекта до ЛТ, однако замедляло кинетику накопления радиационно-индуцированных ACs_{unst} в ходе лучевого лечения.

Замедление кинетики накопления aberrаций в процессе ЛТ показало, что наиболее адекватной моделью для описания динамики частоты ACs_{unst} у больных РЖПО является многокомпонентная функция, обеспечивающая плато во второй половине курса лечения.

Выводы: Впервые на репрезентативной выборке больных РЖПО дана сравнительная оценка генотоксичности внутрисполостной, дистанционной и сочетанной гамма-терапии по критерию *in vivo* индукции aberrаций хромосом в лимфоцитах крови. Впервые установлены особенности групповой динамики уровня хромосомных повреждений в зависимости от схемы терапевтического облучения. Полученные данные составляют основу для разработки прогностически значимой модели динамики цитогенетических эффектов в условиях ЛТ.

Ключевые слова: aberrации хромосом, лучевая терапия, рак тела матки, рак яичников.

Objective: To compare the relative genotoxicity of different schemes of radiotherapy (RT) of gynecological cancers by the dynamics of cytogenetic damage yields in patients' blood lymphocytes.

Material and Methods: Cytogenetic study was carried out in 53 female patients with uterine cancer (UCa), 5 cervical cancer patients (CCa) and 12 ovarian cancer patients (OCa), who underwent standard courses of telebrachytherapy (TGT, 38 persons), intracavitary brachytherapy (ICBT, 10 persons) or a combination of both (CRT, 22 persons). Conventional cytogenetic analysis, aimed at recording chromosomal aberrations and genomic abnormalities, was performed in 50-h lymphocyte cultures, set up from samples collected before irradiation and throughout the radiotherapy (RT) course; in total 186 individual examinations was done. The individual yields of ACs_{unst} in each group were plotted against the number of RT fractions and fitted to a linear regression. The same was done for the ACs_{unst} yield kinetics, which was preliminarily assessed in each patient.

Results: Any studied RT scheme produced a significant elevation of cytogenetic damage yield in patients' lymphocytes. Individual aberration yields formed clusters at the starting stages of TGT, in the middle and at the end of the TGT and CRT course. The group regressions of ACs_{unst} accumulation were essentially overlapped in TGT and CRT groups, and in both cases markedly exceeded the level of damage in ICBT group.

The averaged linear coefficients, describing the increase of the ACs_{unst} yield (per 100 cells) per 1 RT fraction, were: 0.85 for UCa ICBT, 1.68 for OCa TGT, 2.65 for CCa and UCa CRT and 3.24 for CCa and UCa TGT. Pre-radiation surgery did not affect the cytogenetic indices. Chemotherapy had no clastogenic impact on the pre-radiation cytogenetic damage level, but noticeably reduced the accumulation rate of radiation-induced ACs_{unst} during radiation treatment.

The gradual decrease in the kinetics of aberration accumulation during the RT showed that the most adequate model for describing the time-course of the aberration yield in gynecological cancer patients seems to be a multicomponent function, which provides a plateau in the second half of the treatment course.

Conclusion: For the first time the genotoxicity of the telebrachytherapy, intracavitary brachytherapy and their combination was compared by the *in vivo* patterns of aberration yields measured in the representational groups of gynecological cancer patients. For the first time the specific characteristics of the kinetics of cytogenetic damage yield were assessed depending on the scheme of therapeutic irradiation. These quantitative data can be used for developing of a prognostic model of cytogenetic damage dynamics during RT.

Key words: chromosome aberrations, radiotherapy, uterine cancer, ovarian cancer.

Мета роботи: Порівняти відносну генотоксичність різних схем променевої терапії (ПТ) раків жіночих статевих органів (РЖСО) за динамікою цитогенетичних показників у лімфоцитах крові хворих.

Матеріали і методи: Обстежено 53 хворих на рак тіла матки (РТМ), 5 хворих на рак шийки матки (РШМ) і 12 хворих на рак яєчників (РЯ), які отримували стандартні курси дистанційної гамма-терапії (ДГТ, 38 осіб), внутріпорожнинної гамма-терапії (ВПГТ, 10 осіб) та їх поєднання (ППТ, 22 хворі). Класичний цитогенетичний аналіз метафаз 50-год культури лімфоцитів крові з виявленням аберацій хромосом і геномних порушень проводили до початку курсу опромінення і на різних етапах ПТ (всього 186 індивідуальних досліджень). Будували групові регресії «кількість сеансів ПТ — ефект» для зростання частоти нестабільних аберацій хромосомного типу (AXc_{unst}) і змін швидкості накопичення AXc_{unst} протягом курсу ПТ, попередньо визначеної в кожній пацієнтки.

Результати: За будь-якої схеми променевого лікування у хворих визначалася накопичувальна динаміка частоти цитогенетичних пошкоджень у процесі ПТ. Індивідуальні рівні аберацій утворювали кластери на ранніх етапах ДГТ, в середній і наприкінці курсу ДГТ і ППТ. Регресії групової динаміки частоти AXc_{unst} при ДГТ і ППТ значною мірою перекривалися і мали істотно вищі значення, аніж при ВПГТ. Коефіцієнт накопичення AXc_{unst} на 100 клітин за 1 сеанс ПТ у груповій лінійній регресії становив 0,85 при ВПГТ РТМ, 1,68 при ДГТ РЯ, 2,65 при ППТ РТМ і РШМ та 3,24 при ДГТ РТМ і РШМ. Оперативне лікування не впливало на цитогенетичні показники у хворих, а присутність хемотерапії у схемі лікування не давала кластогенного ефекту до ПТ, але уповільнювала кінетику накопичення радіаційно-індукованих AXc_{unst} під час променевого лікування.

Уповільнення кінетики накопичення аберацій протягом ПТ показало, що найадекватнішою моделлю для опису динаміки частоти AXc_{unst} у хворих на РЖСО є багатокомпонентна функція, яка забезпечує плато у другій половині курсу лікування.

Висновки: Вперше на репрезентативній вибірці хворих на РЖСО надано порівняльну оцінку генотоксичності внутріпорожнинної, дистанційної та поєднаної гамма-терапії за критерієм *in vivo* індукції аберацій хромосом у лімфоцитах крові. Вперше встановлено особливості групової динаміки рівня хромосомних пошкоджень залежно від схеми терапевтичного опромінення. Отримані дані становлять фактологічне підґрунтя для розробки прогностично значущої моделі динаміки цитогенетичних ефектів в умовах ПТ.

Ключові слова: аберації хромосом, променева терапія, рак тіла матки, рак яєчників.

Цитогенетичний аналіз є потужним радіобіологічним методом, який уможливорює кількісне вимірювання радіаційного ефекту в клітинах людини із високою точністю і специфічністю при опроміненні, будь-то *in vitro* чи *in vivo* [1, 2]. Проте до теперішнього часу радіаційна цитогенетика мала обмежене застосування в сценарії, що поєднує в собі два фактори, що ускладнюють ситуацію — фракціонованість за часом і локальність радіаційного впливу за типових умов променевої терапії (ПТ). Як правило, інтерпретація результатів цитогенетичного дослідження в когортах пацієнтів під час ПТ не виходить за межі визначення умовного ступеня кластогенності тієї чи іншої схеми ПТ [2–14]. Навіть при значному перепроміненні пацієнтів унаслідок помилок в радіологічних процедурах детекція інциденту цитогенетичним методом зазнає істотних труднощів [15, 16].

Для того, щоб підвищити прогностичну цінність хромосомного аналізу в онкохворих під час променевого лікування, слід ліквідувати дефіцит розуміння механізмів і фундаментальних закономірностей, за якими розвивається цитогенетична реакція *in vivo*. Це, в свою чергу, потребує накопичення нових даних у спеціалізованих дослідженнях, причому із додержанням технічних умов, що відповідають стандартам цитогенетичної дозиметрії за вимогами МАГАТЕ [1].

Саме за цим принципом було організовано цитогенетичний моніторинг хворих на рак грудної

залози (РГЗ) і раки жіночих статевих органів (РЖСО) під час ПТ, результати якого висвітлено в циклі публікацій [17–20]. У наших дослідженнях та працях інших авторів [2–14] спостерігалось вірогідне зростання частоти аберацій хромосомного типу в лімфоцитах пацієнтів, починаючи з перших сеансів опромінення, і кількісна значущість цього ефекту дозволила розглядати його як об'єктивний критерій оцінки прямого радіаційного ураження геному нормальних клітин людини в умовах ПТ. У нашому попередньому повідомленні було визначено граничні зміни цитогенетичних показників у хворих на РЖСО і представлено оцінку індивідуальної варіабельності темпів накопичення аберацій хромосом в умовах ПТ [20]. Метою нинішньої роботи є порівняння генотоксичності дистанційної, внутріпорожнинної і поєднаної гамма-терапії РЖСО, а також аналіз особливостей цитогенетичного статусу пацієнтів за наявності чи відсутності оперативного втручання і хемотерапії в схемі лікування онкогінекологічних захворювань.

Методика дослідження

Клінічна характеристика обстежених хворих на РЖСО

Вибірку обстежених осіб було сформовано ретроспективним способом, із використанням банку метафазних препаратів лабораторії радіаційної цитогенетики ДУ «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва НАМН України». Банк було створено шляхом рандомізованого обстеження хворих, які отримували променеве лікування у клініці інституту в період з 1998 по 2011 рік

Робота виконувалася під контролем локального Комітету з біомедичної етики клінічних та експериментальних досліджень.

Детальну клінічну характеристику хворих на РЖСО, включених у дослідження, наведено в попередньому повідомленні [20]. До вибірки увійшли жінки віком 27–80 років, хворі на рак тіла матки (РТМ, 53 особи), рак шийки матки (РШМ, 5 осіб) і рак яєчників (РЯ, 12 осіб).

Екстирпацію матки з придатками (ЕМП) було проведено 31 хворій на РТМ і 2 хворим на РШМ. Серед 12 хворих на РЯ оперативне лікування (гістеректомію) було проведено 9 особам — до ПТ, 3 — після ПТ.

Одна хвора на РШМ і 12 хворих на РЯ напередодні ПТ отримали індукційні курси поліхемотерапії, що включали: цисплатин 80 мг/м² в перший день, циклофосфан 600 мг/м² у другий день. Ад'ювантну поліхемотерапію за схемами CMF, CAF або CAMF проводили 4 хворим на РТМ під час ПТ.

Стандартні курси дистанційної гамма-терапії (ДГТ) отримали 24 хворих на РТМ, 2 на РШМ і 12 хворих на РЯ. Дистанційне опромінення зони пухлини (малий таз) проводили на апараті РОКУС-АМ із джерелом ⁶⁰Со в режимі класичного фракціонування, 5 разів на тиждень, із разовою осередковою дозою (РОД) 2,0–2,1 Гр, у статичному режимі з двох протилежних передньо-задніх проєкцій при розмірі ділянок 14 × 16 см або 16 × 18 см у хворих на РТМ і РШМ і 14 × 18 см чи 16 × 20 см — у хворих на РЯ.

Десятьох хворих на РТМ із великою масою тіла лікували тільки методом контактної внутріпорожнинної гамма-терапії (ВПГТ); опромінювання проводили на шланговому гамма-терапевтичному апараті «АГАТ-В» 3 рази на тиждень, із РОД на точки А і В, відповідно, 5,00 і 1,25 Гр.

Поєднану променево терапію (ППТ), що включала ДГТ і ВПГТ, було проведено 19 хворим на РТМ і 3 хворим на РШМ. Ці пацієнтки отримували дистанційне опромінювання за вищезазначеною стандартною методикою, але після 7–15 сеансів ДГТ розпочинали ВПГТ в режимі 2–3 рази на тиждень, із заповненням добових інтервалів сеансами дистанційного опромінення. У пацієнок, які мали оперативне втручання, контактну терапію проводили на піхвовий рубець із РОД 3,50 Гр на слизову піхви.

Цитогенетичне дослідження

Всіх хворих, включених у дослідження, було обстежено цитогенетичним методом до початку ПТ і щонайменше один раз у процесі або в кінці курсу опромінення. Всього було здійснено 186 індивідуальних цитогенетичних обстежень. Цитогенетичний аналіз виконували в лабораторії радіаційної цитогенетики ДУ «ІМР ім. С.П. Григор'єва НАМН України», яка має сертифікат державної атестації на проведення відповідних вимірювань.

Деталі методики цитогенетичного дослідження викладено в попередньому повідомленні [20]. Лімфоцити крові хворих культивували протягом 50 год за стандартною методикою [1] у власній модифікації. Метафазні препарати забарвлювали методом флуоресценції-плюс-Гімза (FPG) забарвлення [1]. При мікроскопічному аналізі реєстрували всі види аберацій хромосом, які розпізнавалися у аберантних клітинах (А Кл) при груповому каріотипуванні. Реєстрували аберації хромосомного типу (А Хс), а саме дицентричні і поліцентричні хромосоми, конвертуючи кількість поліцентриків у відповідну кількість дицентриків (Диц), центричні кільця (ЦК), вільні ацентричні хромосомні фрагменти (Ац Фр), атипові моноцентрики — транслокації та делетовані хромосоми (Тн). Хромосомні обміни реєстрували залежно від наявності/відсутності супутніх фрагментів (Фр). Серед аберацій хроматидного типу (А Хт) визначали хроматидні обміни, хроматидні фрагменти та ізохроматидні делеції. До геномних порушень відносили неаберантні та аберантні поліплоїди (Ппл) та ендореєплікації (Ерп).

Статистичні методи обробки результатів

Для аналізу цитогенетичних показників вибірку обстежених хворих було розподілено на 4 групи згідно з нозологією пухлини і схемою променевого лікування: РТМ-ВПГТ, РТМ-ППТ, РТМ-ДГТ і РЯ-ДГТ. Хворих на РШМ було введено до відповідних груп РТМ-ППТ (3 особи) і РТМ-ДГТ (2 особи), зважаючи на ідентичність полів опромінення та відповідних схем променевого лікування РТМ і РШМ. Групу РТМ-ППТ було розділено на підгрупи ППТс (11 осіб), в яких внутріпорожнинне опромінення розпочинали в середині курсу ПТ та загалом проводили 9–14 сеансів ВПГТ, і ППТк (8 осіб), в яких 4–6 сеансів ВПГТ було проведено в кінці променевого лікування. Результати обстеження хворих РТМ-ППТ, отримані до початку внутріпорожнинного опромінення, було віднесено до групи РТМ-ДГТ. Контролем для оцінки змін цитогенетичних показників під час ПТ були результати аналізу в тих самих хворих до початку лікування.

При об'єднанні даних індивідуальних обстежень визначали середні зважені рівні (Y) аберантних клітин, кожного виду аберацій хромосом чи їх комбінацій у розрахунку на 100 проаналізованих нормоплоїдних клітин, а частоту поліплоїдів та ендореєплікацій — на 100 всіх проаналізованих клітин. Чинником зваження було відношення кількості проаналізованих клітин від даного індивіда до середньої кількості клітин на 1 особу в групі.

Для кожної пацієнтки було визначено нормований вихід нестабільних індукованих аберацій хромосомного типу ($AХс_{уст}$) за 1 сеанс ПТ. Цей параметр, що втілював умовну лінійну швидкість накопичення аберацій, було обчислено як різницю між частотою $AХс_{уст}$ на певному етапі ПТ та індивідуальним спонтанним рівнем, поділену на кількість сеансів ПТ (в групі ППТ — на кількість сеансів ДГТ) на момент обстеження.

Побудову регресій проводили методом найменших квадратів [21]. Показником якості фітінгу регресійної моделі була статистична значущість ($p < 0,05$) лінійного коефіцієнта кореляції (r) для кількості ступенів свободи ($n-2$), де n — кількість досліджень у вибірці. Статистичну значущість коефіцієнтів кореляції визначали за t -критерієм Стьюдента [21].

Результати та їх обговорення

Аналіз даних для порівняльної оцінки генотоксичності різних схем променевого лікування РЖСО проводили із врахуванням кількості сеансів ПТ на момент обстеження кожної хворої. Основним параметром було обрано сумарну частоту Диц+ЦК-Фр та Ац Фр, тобто $AХс_{уст}$. Загальна динаміка цього показника під час ПТ в групах РТМ-ППТ, РТМ-ДГТ і РЯ-ДГТ вкладалися у спільну закономірність «кількість сеансів ДГТ — ефект» із поступовим розширенням діапазону значень у процесі лікування (рисунк 1). Індивідуальні рівні $AХс_{уст}$ утворювали кілька кластерів: на початкових етапах — в інтервалі від 4 до 14 на 100 клітин, в середині курсу лікування — від 20 до 50 на 100 клітин, наприкінці курсу — від 20 до 70 на 100 клітин і від 75 до 125 на 100 клітин. Характерно, що як у самі кластери, так і за їх межі потрапили представники всіх чотирьох груп — РТМ-ППТс, РТМ-ППТк, РТМ-ДГТ і

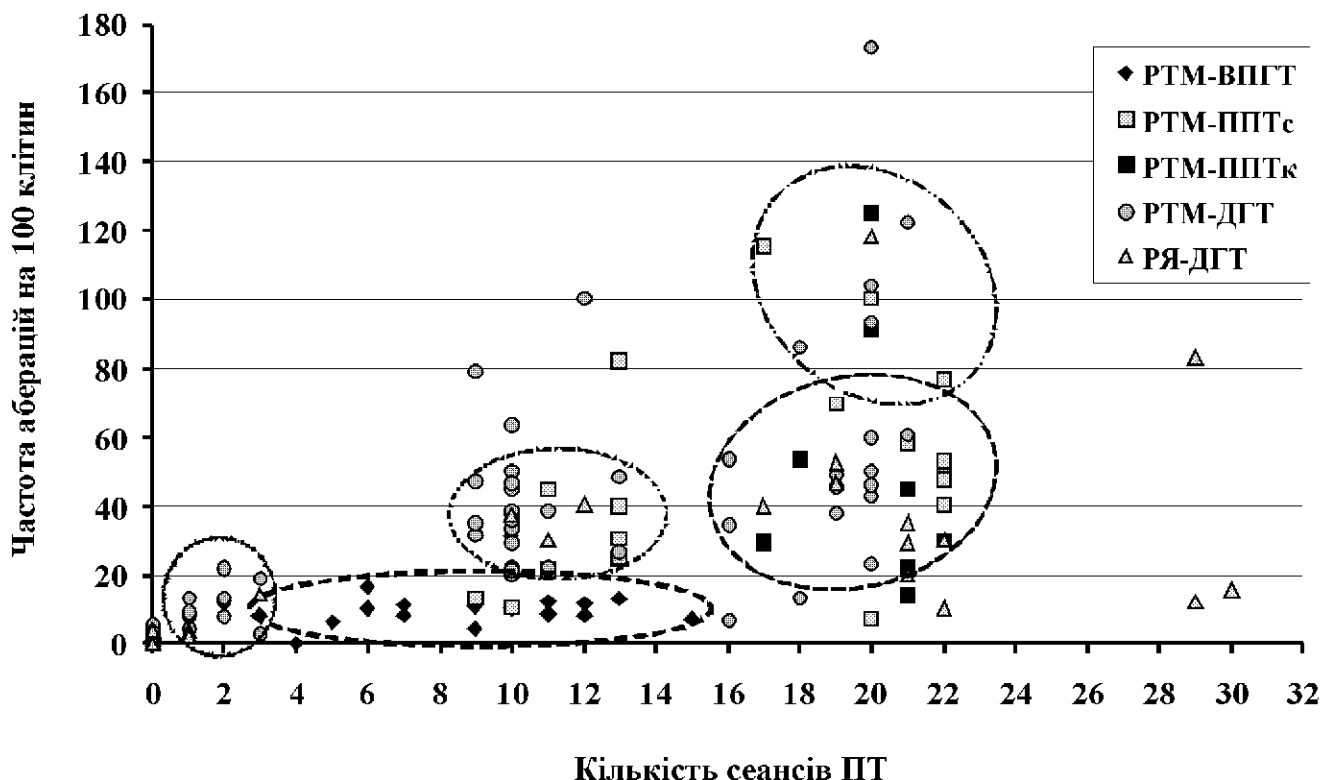


Рисунок 1. Частота нестабільних індукованих аберацій хромосомного типу у хворих на РЖСО на різних етапах променевого лікування.

РТМ — рак тіла матки, РЯ — рак яєчників, ВІПГТ — внутріпорожнинна гамма-терапія, ППТ — поєднана гамма-терапія, ДГТ — дистанційна гамма-терапія. Кількість сеансів ПТ представляє кількість сеансів ВІПГТ у групі РТМ-ВІПГТ і кількість сеансів ДГТ для решти груп. Підключення внутріпорожнинної компоненти у схемі опромінення в групі ППТс відбулося в середині курсу ДГТ, в групі ППТк — наприкінці курсу ДГТ. Пунктиром окреслено кластери модальних значень частоти АХс_{unst} під час ПТ у групах із дистанційним опроміненням на ранніх етапах, в середині і в кінці курсу ПТ, а також під час променевого лікування у пацієток групи РТМ-ВІПГТ

Fig. 1. The yield of radiation-induced unstable chromosome type aberrations in gynecological cancer patients during radiotherapy.

РТМ – uterine cancer (UCa), РЯ – ovarian cancer (OCa), ВІПГТ – intracavitary brachytherapy (ICBT), ППТ – combination of intracavitary brachytherapy and telegammatherapy (TGT), ДГТ – telegammatherapy (TGT). The number of radiotherapy fractions on the x axis denotes intracavitary brachytherapy for the group UCa-ICBT and telegammatherapy fractions for the rest. The intracavitary irradiation started in the middle of the TGT course in the group ППТс (CRTm) and at the end of TGT in the group ППТк (CRTe). Dashed line encircles the clusters of the modal values of the АХс_{unst} at the beginning, in the middle and at the end of the radiotherapy course in groups treated with TGT, and also during radiotherapy in UCa-ICRT group

РЯ-ДГТ. На відміну від цих груп, індивідуальні рівні АХс_{unst} у групі РТМ-ВІПГТ утворювали кластер із переважною більшістю випадків у діапазоні 4–17 на 100 клітин без вираженої залежності від кількості сеансів ПТ.

Формальний аналіз лінійної регресії частоти АХс_{unst} за кількістю сеансів ПТ у хворих на РЖСО дав такі результати (Y — частота аберацій, КС — кількість сеансів ПТ, r — коефіцієнт лінійної кореляції):

- у групі РТМ-ВІПГТ – $Y = 2,51 + 0,85 \times \text{КС} (r = 0,64)$;
- у групі РТМ-ППТс – $Y = 1,52 + 2,78 \times \text{КС} (r = 0,78)$;
- у групі РТМ-ППТк – $Y = 1,54 + 2,45 \times \text{КС} (r = 0,69)$;
- у групі РТМ-ДГТ – $Y = 3,32 + 3,24 \times \text{КС} (r = 0,77)$;
- у групі РЯ-ДГТ – $Y = 5,06 + 1,68 \times \text{КС} (r = 0,63)$.

Згідно з наведеним коефіцієнтом r, групова кінетика накопичення АХс_{unst} під час ПТ у хворих на РЖСО задовільно вкладалася в лінійну модель ($p < 0,01$ для всіх груп). Коефіцієнт регресії в групах із дистанційним опроміненням був у 2–4 рази вищим, ніж у групі РТМ-ВІПГТ. Зростання частоти АХс_{unst} у хворих на РЯ відбувалося удвічі менш інтенсивно, ніж у групі РТМ-ДГТ.

Час підключення внутріпорожнинної компоненти у хворих із ППТ не справляв істотного впливу на коефіцієнт регресії частоти АХс_{unst}. Об'єднання даних у групах РТМ-ППТс і РТМ-ППТк дало лінійну регресію $Y = 1,77 + 2,65 \times \text{КС} (r = 0,74; p < 0,01)$. В цій об'єднаній групі РТМ-ППТ було проведено регресійний аналіз залежності

«кількість сеансів ПТ — частота $A Xc_{unst}$ » для аберацій, індукованих тільки дистанційним опроміненням. Для цього від кожного індивідуального значення рівня аберацій було відраховано ефект внутріпорожнинного опромінення, змодельований для відповідної кількості сеансів у відповідної особи за коефіцієнтом регресії, визначеним у групі РТМ-ВПТТ. Отримане за цими даними лінійне рівняння $Y = 1,63 + 2,31 \times KC$ ($r = 0,69$; $p < 0,01$) показало, що дистанційне опромінення у хворих групи РТМ-ППТ викликало менш інтенсивне накопичення $A Xc_{unst}$ ніж у хворих групи РТМ-ДГТ при однаковій кількості сеансів. Імовірна причина цього ефекту полягає у триваліших перервах між сеансами дистанційного опромінення у методі ППТ, внаслідок чого фракція лімфоцитів у тканинах в анатомічній проекції полів опромінення зазнає сильнішого «розведення» неопроміненими клітинами завдяки природній циркуляції лімфоцитів.

У попередньому повідомленні [20] наведено розподіл індивідуальних значень швидкості накопичення $A Xc_{unst}$ у хворих на РЖСО та середню швидкість, обчислену в інтервалах «до ПТ — середина ПТ» і «середина — кінець ПТ», а в групах із дистанційним опроміненням — також на початкових етапах лікування. В групах РТМ-ДГТ і РЯ-ДГТ, а також в об'єднаній вибірці хворих, лікованих за схемами ППТ і ДГТ, було виявлено вірогідне зниження середнього виходу $A Xc_{unst}$ за 1 сеанс ПТ між початком і серединою та між серединою і кінцем променевого лікування. Для детальнішого аналізу цього ефекту в кожній групі було оцінено зміни швидкості накопичення $A Xc_{unst}$ в процесі ПТ методом регресійного аналізу сукупності індивідуальних даних, що представлено на рисунку 2. Отримані лінійні рівняння наведено в таблиці 1.

Виявилося, що істотне зниження кінетики накопичення аберацій в групі РТМ-ДГТ, яке визначалося за від'ємним коефіцієнтом регресії B , було забезпечено наявністю даних на ранніх етапах ПТ, а в групі РЯ-ДГТ — трьома випадками в кінці ПТ, коли хворі отримали 29–30 сеансів опромінення. При вилученні цих даних регресійні коефіцієнти в групах РТМ-ДГТ і РЯ-ДГТ зменшувалися за модулем, відповідно, до значень $B = -0,060$ і $-0,078$; коефіцієнти кореляції знижувалися, відповідно, до $r = 0,14$ і $0,43$ і втрачали вірогідність ($p > 0,05$ в обох випадках).

Зважаючи на це, можна припустити, що незначущість кореляції змін Y_{kc} $A Xc_{unst}$ із кількістю сеансів ПТ у групі РТМ-ППТ могла бути артефактом, викликаним відсутністю даних обстеження на ранніх етапах променевого лікування. Об'єднані дані з групи РТМ-ДГТ після 1–3 сеансів ПТ і групи РТМ-ППТ після 9–22 сеансів ПТ дали цілком вірогідну регресію із коефіцієнтами, близькими до відповідних значень у групі РТМ-ДГТ.

Слід зазначити, що фітинг регресії для швидкості накопичення аберацій в об'єднаній групі хворих, лікованих за схемами ППТ і ДГТ, був ще успішнішим при використанні експоненційної моделі

$Y_{kc} A Xc_{unst} = 5,253 \cdot e^{-0,0473 \cdot KC}$ ($r = 0,48$; $p < 0,01$), зокрема при відрахуванні внеску цитогенетичного ефекту внутріпорожнинної компоненти в групі РТМ-ППТ

$Y_{kc} A Xc_{unst} = 5,051 \cdot e^{-0,0473 \cdot KC}$ ($r = 0,46$; $p < 0,01$).

Вплив оперативного лікування

Хворі на РТМ і РШМ, які отримували променево-лікування у вигляді ДГТ чи ППТ і обстежувалися в середині та в кінці ПТ, були розподілені на дві категорії: без оперативного лікування (ОЛ⁻, 16 осіб) та з оперативним лікуванням (ОЛ⁺, 29 осіб). До групи ОЛ⁻ потрапили 14 хворих із ППТ (всі — у варіанті ППТс) і 2 — із ДГТ, до групи ОЛ⁺ — 8 хворих із ППТ (всі — у варіанті ППТк) і 21 хвора із ДГТ.

За такими показниками, як частота $A B_{Kл}$, $A Xc$ і $Kл_{AXc}$, $Диц+ЦК-фр$, $A Xт$ і сума неабераційних Ппл та Ерп не існувало істотних відмінностей між групами ОЛ⁻ та ОЛ⁺ до початку, в середині та наприкінці курсу променевого лікування. На рисунку 3 показано, що регресії частоти $A Xc_{unst}$ за кількістю сеансів ПТ у хворих груп ОЛ⁻ і ОЛ⁺ не мали відмінностей за кутом нахилу до осі абсцис і взагалі були розташовані дуже близько. Тобто, за відсутності операції рівень хромосомних аберацій в цілому по групі зростав із такою ж самою швидкістю під час ПТ, що й у хворих із оперативним втручанням.

Оскільки хворі, які отримували ДГТ, були нерівноважно розподілені між групами ОЛ⁻ та ОЛ⁺, було вирішено обмежити аналіз тільки даними хворих, лікованих ППТ. Порівняння середніх рівнів цитогенетичних пошкоджень у групах ППТс і ППТк, які за складом були, відповідно, ОЛ⁻ та ОЛ⁺, зроблене в нашій попередній роботі [20]

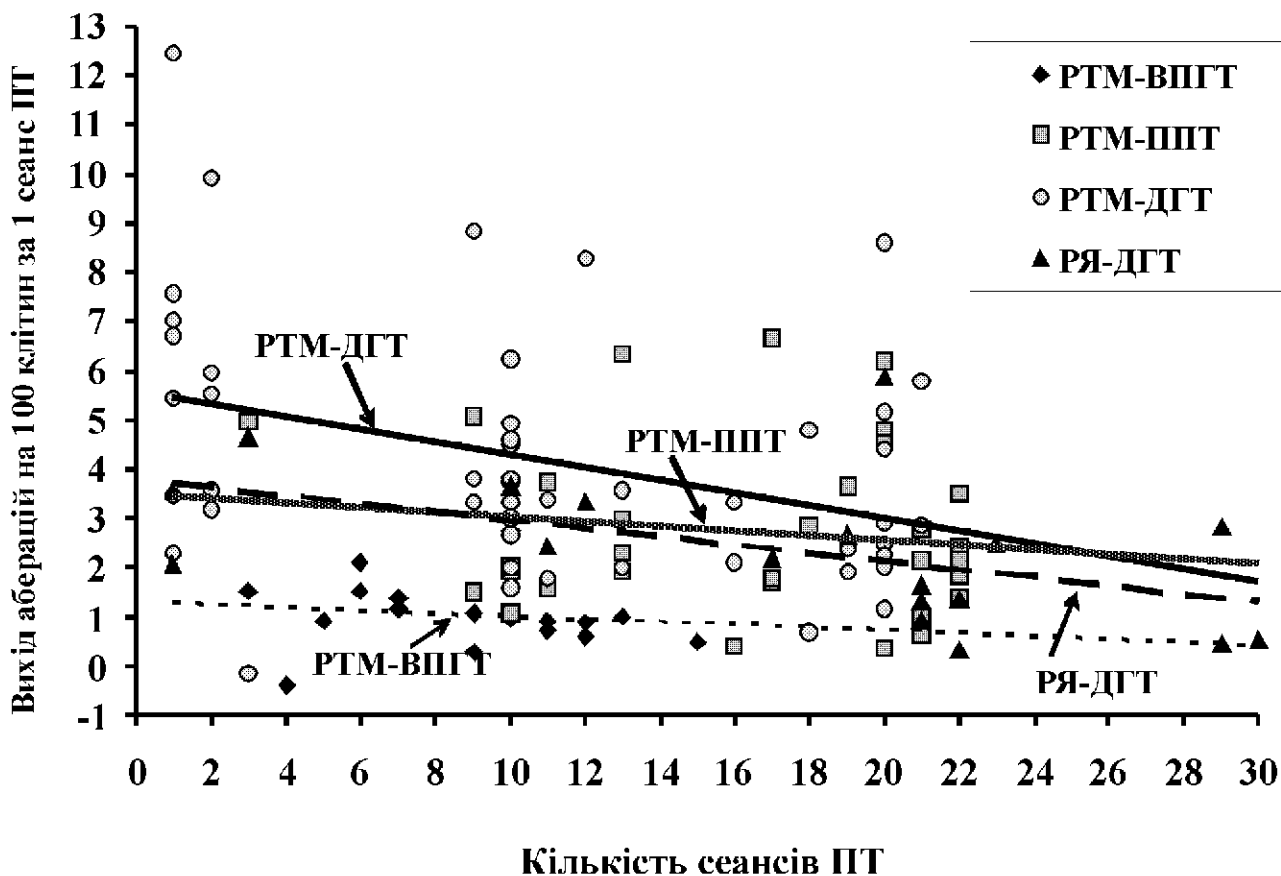


Рисунок 2. Зміни нормованого виходу нестабільних індукованих аберацій хромосомного типу за 1 сеанс ПТ у групах хворих на РЖСО.

Нормований вихід AXc_{unst} за 1 сеанс ПТ, що втілює швидкість накопичення аберацій, обчислено за лінійною моделлю як надспонтанну частоту аберацій на певному етапі ПТ, поділену на кількість сеансів ПТ на момент обстеження (для групи РТМ-ППТ — на кількість сеансів ДГТ). Лінії регресії показника за кількістю сеансів ПТ у групах вказані підписами і стрілками: чорна лінія — РТМ-ДГТ, сіра лінія — РТМ-ППТ, товстий пунктир — РЯ-ДГТ, точковий пунктир — РТМ-ВПГТ

Fig. 2. The changes of the normalized outcome of radiation-induced unstable chromosome type aberrations per one radiotherapy fraction in groups of gynecological cancer patients.

The normalized outcome of ACs_{unst} per 1 radiotherapy fraction represents the aberration accumulation rate. It has been calculated as overspontaneous aberration yield measured at certain stage of the radiotherapy, divided by the number of radiotherapy fractions at the time of sampling (for the group UCa-CRT that was the number of TGT fractions). The regressions of this index throughout the radiotherapy course are indicated as follows: black line — UCa-TGT, grey line — UCa-CRT, thick dashed line — OCa-TGT, dotted line — UCa-ICBT

так само показало відсутність істотної різниці між групами за всіма радіаційно-специфічними і неспецифічними показниками в кінці ПТ, а незначні відмінності можна вичерпно пояснити різним часом включення ВПГТ у схему лікування.

Вплив хемотерапії

В усіх пацієток, які отримували хемотерапію (ХТ⁺), променеве лікування проводили методом ДГТ. Для визначення цитогенетичного ефекту від хемотерапії дані індивідуальних обстежень у цих осіб були об'єднані без включення результатів після 29–30 сеансів ПТ у хворих на РЯ, лікованих за радикальною програмою ПТ. Для порівняння була сформована група з 25 хворих РТМ-ДГТ без хемотерапії (ХТ⁻). При зівставленні середніх рівнів

цитогенетичних пошкоджень до ПТ, в середині та в кінці курсу опромінення було встановлено, що хемотерапія не сплавляла прямого кластогенного впливу (таблиця 2). На початкових етапах ПТ виникала розбіжність між групами у вигляді нижчого рівня радіаційно-специфічних аберацій у хворих ХТ⁺. Ця тенденція зберігалася в середині та кінці курсу ПТ. При цьому флуктуації частоти радіаційно-неспецифічних А Хт та Ппл_{6/a} + Ерп_{6/a} не були асоційовані із ХТ-статусом хворих.

На рисунку 4 представлено результати регресійного аналізу змін частоти AXc_{unst} за кількістю сеансів ПТ у групах ХТ⁻ і ХТ⁺. В осіб ХТ⁻ вільний коефіцієнт, що визначав спонтанний рівень AXc_{unst} , виявився удвічі нижчим, а коефіцієнт

Результати аналізу регресії швидкості накопичення нестабільних аберацій хромосомного типу за кількістю сеансів ПТ у хворих на РЖСО
 The results of the regression analysis of the accumulation rate of the unstable chromosome type aberrations during the radiotherapy course in gynecological cancer patients

| Група | Рівняння регресії $Y_{KC} AX_{cunst} = A - B \cdot KC$ | r | p |
|---|---|------|--------|
| РТМ-ВПГТ | $Y_{KC} AX_{cunst} = 1,293 - 0,028 \cdot KC$ | 0,13 | > 0,05 |
| РТМ-ДГТ | $Y_{KC} AX_{cunst} = 5,487 - 0,133 \cdot KC$ | 0,37 | < 0,01 |
| РЯ-ДГТ | $Y_{KC} AX_{cunst} = 3,763 - 0,083 \cdot KC$ | 0,51 | < 0,05 |
| РТМ-ППТс | $Y_{KC} AX_{cunst} = 2,578 + 0,014 \cdot KC$ | 0,04 | > 0,05 |
| РТМ-ППТ із відрахуванням внеску ВПГТ | $Y_{KC} AX_{cunst} = 3,328 - 0,054 \cdot KC$ | 0,16 | > 0,05 |
| РТМ-ППТ із додатком ранніх сеансів ДГТ* | $Y_{KC} AX_{cunst} = 5,406 - 0,170 \cdot KC$ | 0,51 | < 0,01 |
| РТМ-ДГТ + РЯ-ДГТ + РТМ-ППТ | $Y_{KC} AX_{cunst} = 5,116 - 0,126 \cdot KC$ | 0,42 | < 0,01 |
| РТМ-ДГТ + РЯ-ДГТ + РТМ-ППТ із відрахуванням внеску ВПГТ | $Y_{KC} AX_{cunst} = 5,095 - 0,131 \cdot KC$ | 0,43 | < 0,01 |

Примітки. $Y_{KC} AX_{cunst}$ – середній нормований вихід нестабільних аберацій хромосомного типу за 1 сеанс ПТ; KC – кількість сеансів ПТ (для групи РТМ-ППТ є кількістю сеансів ДГТ); A – вихідна швидкість накопичення аберацій за 1 сеанс ПТ; B – коефіцієнт регресії; r – коефіцієнт лінійної кореляції; p – статистична вірогідність коефіцієнту r.

* – до групи РТМ-ППТ (9–22 сеансів ПТ) додано дані з групи РТМ-ДГТ після 1–3 сеансів ПТ.

Notes. $Y_{KC} AX_{cunst}$ – mean normalized outcome of unstable chromosome type aberrations per one radiotherapy (RT) fraction; KC – number of RT fractions (for the group UCa-CRT that is a number of telegammatherapy fractions); A – the initial unstable chromosome type aberration rate per 1 RT fraction; B – regression coefficient; r – linear correlation coefficient; p – probability of statistical significance for the r.

* – data from group UCa-TGT after 1 – 3 RT fractions have been added to group UCa-CRT at 9 – 22 RT fractions.

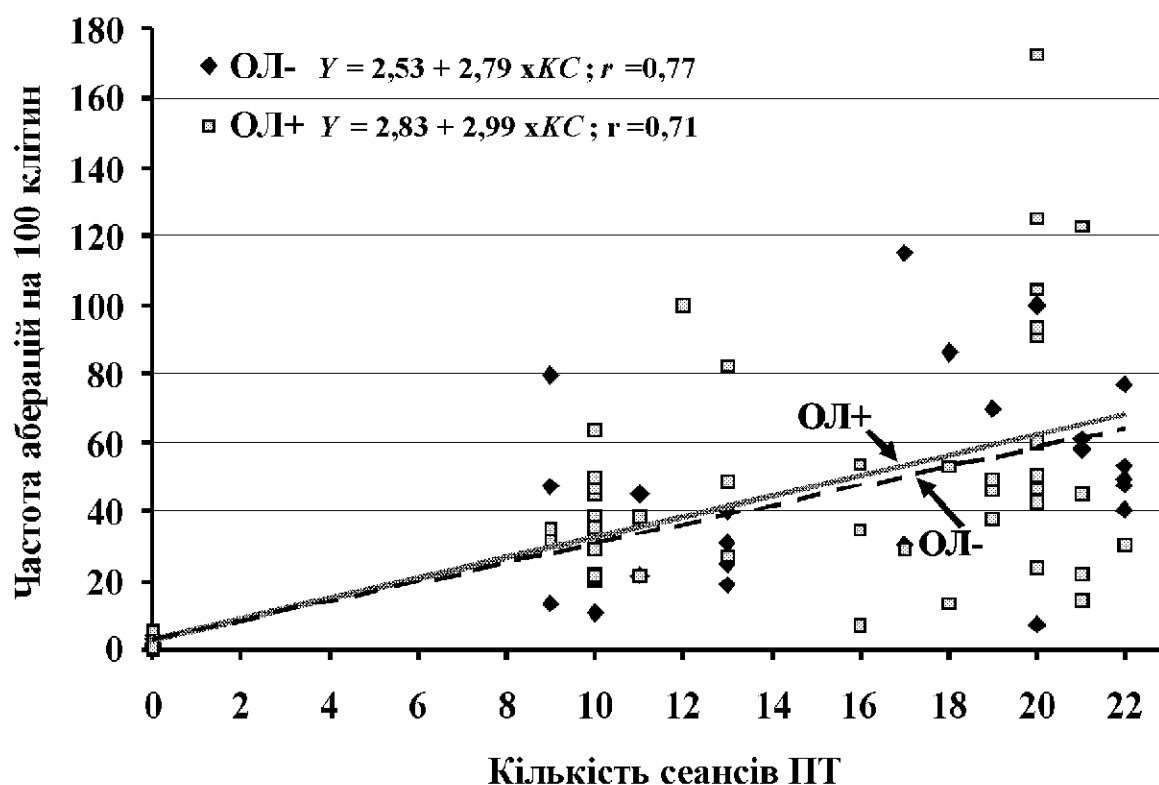


Рисунок 3. Результати регресійного аналізу залежно від частоти нестабільних аберацій хромосомного типу від кількості сеансів ПТ у групах хворих на РЖСО залежно від присутності до-променевого оперативного втручання у програмі проти-пухлинного лікування.

Лінійні регресії представлено рівняннями (Y – частота аберацій, KC – кількість сеансів ПТ, r – коефіцієнт лінійної кореляції) і вказано відповідними стрілками для груп хворих без оперативного лікування (ОЛ-) та з до-променевою екстирпацією матки і придатків (ОЛ+)

Fig. 3. The regressions of the unstable chromosome type aberration yield during radiotherapy course in groups of gynecological cancer patients depending on the presence of the pre-irradiation surgery in the treatment scheme.

Linear regressions are denoted as equations (Y – aberration yield, KC – number of RT fractions, r – linear correlation coefficient) and indicated by the arrows for the groups without surgery (OL-) and with pre-irradiation extirpation of the uterus and appendages (OL+)

Цитогенетичні пошкодження у лімфоцитах крові хворих на РЖСО до і під час ПТ в залежності від присутності хемотерапії у схемі лікування
Cytogenetic damage before and after radiotherapy (RT) in blood lymphocytes of in gynecological cancer patients depending on the presence of chemotherapy in the treatment scheme

| Етап ПТ (кількість сеансів ДГТ) | ХТ статус (осіб) | Проаналізовано клітин | | Кількість виявлених пошкоджень (середня частота на 100 клітин) | | | | | | |
|---------------------------------|----------------------|-----------------------|-------------|--|------------|------------|------------|--------------|----------|--------------------------|
| | | всього | нормоплоїди | Аб Кл | А Хс | Кл А Хс | Диц+ЦК фр | Кл Диц+ЦК фр | А Хт | Ппл _{б/а} + ЕРП |
| До ПТ (0) | ХТ ⁻ (15) | 5718 | 5700 | 151(2,65) | 97 (1,70) | 89(1,56) | 21(0,37) | 18(0,32) | 66(1,16) | 16(0,28) |
| | ХТ ⁺ (25) | 2245 | 2243 | 71(3,17) | 34 (1,52) | 33(1,47) | 6(0,27) | 5(0,22) | 45(2,01) | 2(0,09) |
| Початок ПТ (1-3) | ХТ ⁻ (13) | 3660 | 3654 | 385(10,54) | 397(10,86) | 324(8,87) | 214(5,86) | 181(4,95) | 77(2,11) | 5(0,14) |
| | ХТ ⁺ (4) | 1045 | 1042 | 65(6,24) | 66(6,33) | 47(4,51) | 41(3,93) | 28(2,69) | 21(2,02) | 2(0,19) |
| Середина ПТ (9-13) | ХТ ⁻ (17) | 1757 | 1743 | 485(27,83) | 767(44,00) | 469(26,91) | 504(28,92) | 338(19,39) | 28(1,60) | 11(0,63) |
| | ХТ ⁺ (9) | 1496 | 1483 | 353(23,80) | 548(36,95) | 324(21,85) | 329(22,19) | 215(14,50) | 44(2,97) | 12(0,80) |
| Кінець ПТ (16-22) | ХТ ⁻ (15) | 1349 | 1342 | 421(31,37) | 817(60,88) | 407(30,33) | 548(40,83) | 304(22,65) | 30(2,24) | 4(0,30) |
| | ХТ ⁺ (12) | 1363 | 1355 | 347(25,61) | 613(45,24) | 334(24,65) | 395(29,15) | 239(17,64) | 23(1,70) | 7(0,51) |

Примітка. ХТ⁻ – без хемотерапії, ХТ⁺ – після хемотерапії.

Notes. ХТ⁻ – no chemotherapy; ХТ⁺ – after chemotherapy.

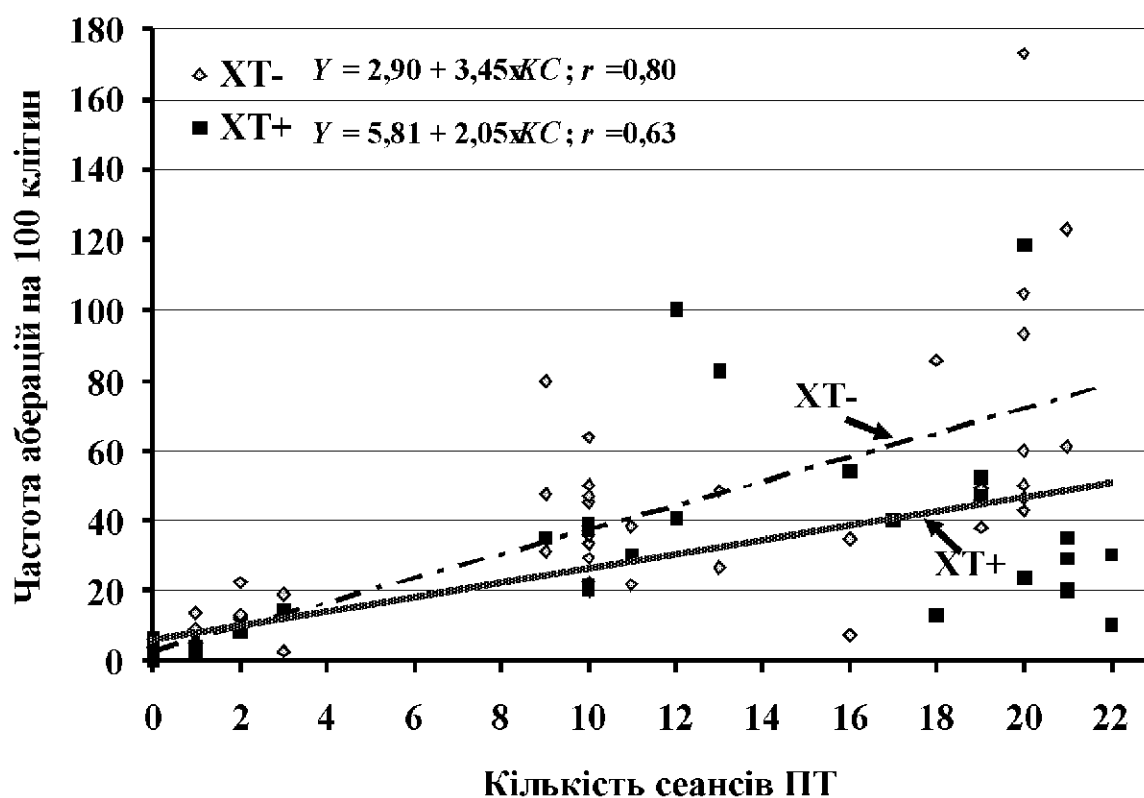


Рисунок 4. Результати регресійного аналізу залежності частоти нестабільних аберацій хромосомного типу від кількості сеансів ПТ у групах хворих РЖСО, лікованих методом ДГТ, залежно від присутності хемотерапії у програмі протирадіаційного лікування.

Лінійні регресії представлено рівняннями (Y – частота аберацій, KC – кількість сеансів ПТ, r – коефіцієнт лінійної кореляції) і вказано відповідними стрілками для груп хворих без хемотерапії (ХТ⁻) та з хемотерапією (ХТ⁺)

Fig. 4. The regressions of the unstable chromosome type aberration yield during radiotherapy course in groups of gynecological cancer patients treated with telegammatherapy depending on the presence of the pre-irradiation chemotherapy in the treatment scheme.

Linear regressions are denoted as equations (Y – aberration yield, KC – number of RT fractions, r – linear correlation coefficient) and indicated by the arrows for the groups without chemotherapy (ХТ⁻) and with chemotherapy (ХТ⁺)

регресії, що втілював середню швидкість зростання частоти аберацій — в 1,7 разу вищим, ніж відповідні значення у хворих категорії ХТ⁺, при схожому рівні статистичної вірогідності коефіцієнтів лінійної кореляції ($p < 0,01$ в обох групах). Слушно припустити, що саме хемотерапевтичний вплив був головною причиною відмінностей динаміки цитогенетичних ефектів під час ПТ у групах РЯ-ДГТ і РТМ-ДГТ, всупереч схожості схем фракціонування дози та анатомічних полів опромінення.

Обговорення результатів

У нашому попередньому повідомленні [20] було представлено детальне порівняння результатів вимірювання частоти аберацій у хворих на РЖСО із нечисленними даними інших авторів, отриманими в аналогічних групах при схожих умовах опромінення [5–10]. Зокрема, було показано кількісний збіг даних, наведених у працях [5, 6, 10] із нашими результатами та якісну відповідність решти оцінок, що є певною верифікацією нинішніх висновків.

У літературі існують приклади використання цитогенетичного аналізу для визначення генотоксичності *in vivo* тих чи інших методик променевого лікування. Так, відомі порівняння цитогенетичних ефектів за різних режимів фракціонування дози при ДПТ раку грудної залози [3], при застосуванні радіомодифікаторів [11] і використанні випромінень різної енергії при ПТ раку шийки матки [12], раків голови та шиї [13] і раку простати [14]. При цьому, за винятком першої з цитованих робіт, у жодній публікації не було застосовано регресійного аналізу, а висновки ґрунтувалися на прямому порівнянні частоти аберацій хромосом.

У нашій роботі найменш генотоксичним методом променевого лікування РЖСО виявилася брахітерапія у вигляді ВПГТ. Про істотно нижчу індукцію А Хр брахітерапією, порівняно із дистанційним опроміненням, повідомляли науковці [4], які обстежували хворих на раки ротової порожнини. В даній групі спостерігали швидке підвищення рівня Диц+ЦК-фр на перших етапах лікування з подальшим виходом частоти аберацій на плато в процесі ПТ, що на якісному рівні відповідає нашим результатам.

Відмінності у цитогенетичній реакції на опромінення між групами РТМ-ППТ і РТМ-ДГТ поля-

гали виключно в меншому ступені уповільнення кінетики частоти АХс_{unst} у другій половині курсу лікування при наявності внутріпорожнинної компоненти опромінення. Можна бачити, що тривалість перерв між сеансами дистанційного опромінення — 24 год при ДГТ чи 48 год при ППТ — дещо парадоксальним чином корелювала зі змінами швидкості накопичення аберацій. Ця парадоксальність повністю зникала, коли в аналіз вводили дані з початкових етапів ДГТ: в такому разі падіння швидкості накопичення АХс_{unst} оцінюване за регресією, було інтенсивнішим у хворих групи ППТ, ніж у групі РТМ-ДГТ.

Отже, на наш погляд, порівняльна оцінка генотоксичності різних схем променевого лікування має відповідати щонайменше трьом вимогам:

ґрунтуватися не на одноразовому вимірюванні, а на груповій динаміці частоти радіаційно-індукованих аберацій;

використовувати єдиний вид регресії для закономірності «доза — ефект» в усіх порівнюваних групах;

враховувати зміни швидкості накопичення аберацій під час ПТ.

Дійсно, використана нами на початку дослідження лінійна модель зростання частоти АХс_{unst} у хворих на РЖСО в розгорнутому вигляді перетворюється на лінійно-квадратичну залежність із від'ємним квадратичним членом, оскільки її регресійний коефіцієнт, що втілює швидкість накопичення аберацій за 1 сеанс ПТ, сам по собі є лінійною функцією від кількості сеансів ПТ:

$$Y = c + Y_{kc} \times KC = c + (A - B \times KC) \times KC = c + A \times KC - B \times KC^2.$$

Аналогічного висновку дійшли дослідники [6], які при регресійному аналізі частоти Диц-фр за дозою опромінення у хворих на РТМ під час ДГТ так само використали лінійно-квадратичну модель, в якій отримали від'ємний квадратичний коефіцієнт, що вочевидь відображує уповільнення кінетики накопичення А Хр у процесі ПТ і тенденцію виходу рівня аберацій на плато у другій половині курсу лікування, що повністю збігається із нашими результатами. Схожий характер динаміки частоти абераційних лімфоцитів спостерігався при ПТ раку шийки матки і пухлин голови та шиї [12, 13]. На наш погляд, від'ємний квадратичний член рівняння не відповідає жодному з відомих радіобіологічних механізмів і не має біо-

логічного сенсу, тому таку модель слід визнати суто механістичною і непридатною для екстраполяції на інші режими і локалізації терапевтичного опромінення. Більш вдалою (а крім того — більш статистично значущою, за нашими оцінками) уявляється модель «кількість сеансів ПТ — частота $AХc_{unst}$ » з інкорпорованою експоненційною залежністю швидкості накопичення аберацій від променевого навантаження, хоча в ній також бракує чіткого біологічного підґрунтя, а прогностична цінність потребує повномірної валідації в інших когортах хворих.

Слід визнати, що на сьогоднішній день жодна із запропонованих в світовій літературі математичних моделей кінетики рівня аберацій у лімфоцитах онкохворих під час ПТ [10, 22–24] не має задовільної прогностичної значущості. Ймовірною причиною цього, на наш погляд, є надзвичайно висока варіабельність тих процесів, що становлять біофізичну основу зазначених моделей, а саме циркуляції лімфоцитів між опроміненою та інтактною частинами екстравакулярного лімфоцитарного пулу, часткової компенсації інтерфазно-загиблих лімфоцитів на периферії з резервних компартментів і поступового оновлення екстравакулярного пулу новими клітинами — нащадками неушкоджених клітин-попередників. Крім того, ці процеси можуть додатково залежати від якихось факторів, що досі не враховувалися. Такими насамперед можуть бути анатомічна локалізація полів опромінення, а за нашими даними — також режим накопичення дози (перерви між сеансами ДГТ) і присутність хемотерапії в схемі лікування.

Встановлені відмінності в групах $ХТ^-$ і $ХТ^+$ хворих на РЖСО повністю збігаються з ефектом хемотерапії, визначеним у нашій роботі у хворих на рак грудної залози [19]. За аналізом даних літератури, наведеним в тому повідомленні, парадоксальну уповільнену кінетику накопичення $AХc_{unst}$ під час ПТ у хворих $ХТ^+$ (тобто, в осіб із більшим мутагенним навантаженням) можна пояснити тим, що хемотерапія посилює апоптотичну загибель опромінених лімфоцитів, які несуть радіаційно-індуковані аберації, внаслідок чого ці клітини елімінуються *in vivo* і не потрапляють до цитогенетичного аналізу. На користь цього механізму у хворих на РЖСО свідчать дані [9] про те, що хемотерапія у хворих на РЯ із використанням двох

і більше цитостатичних препаратів знижувала частоту радіаційно-індукованих аберацій в кінці ПТ у 2,5 разу, порівняно із цитогенетичним ефектом від опромінення та одного хемопрепарату (мелфалану).

Практичним наслідком із вищевикладеного є обмежена інформативність простих моделей (лінійної, сигмоїдної, фракціоновано-адитивної чи безперервної, заснованої на функції Лі і Кетчсайда) для опису накопичення цитогенетичних пошкоджень у пацієнтів під час ПТ.

Таким чином, у нашому дослідженні вперше на репрезентативній вибірці хворих на раки жіночих статевих органів було надано порівняльну оцінку генотоксичності різних схем терапевтичного опромінення, зокрема за наявності оперативного втручання й хемотерапії в програмі лікування. Отримані дані показали необхідність розробки простої, але водночас — клінічно значущої моделі кінетики абераційних лімфоцитів за умов фракціонованого локального опромінення, за якою можна було б об'єктивно визначати чи прогнозувати наслідки впливу тих чи інших факторів на нормальні тканини пацієнтів під час ПТ.

Висновки

1. Групова динаміка частоти нестабільних аберацій хромосомного типу у хворих на РЖСО при різних схемах дрібного фракціонування дози на зону малого таза (дистанційна гамма-терапія чи поєднана дистанційна і внутріпорожнинна гамма-терапія в комбінації з оперативним лікуванням або за радикальною програмою) вкладалася у спільну позитивну залежність «кількість сеансів — ефект» із поступовим розширенням діапазону індивідуальних значень частоти аберацій від початку до кінця ПТ.

2. Відносна генотоксичність різних схем променевого лікування РЖСО, оцінювана за середньою швидкістю підвищення частоти радіаційно-індукованих аберацій під час ПТ, зростала в такому порядку: внутріпорожнинна гамма-терапія РТМ, дистанційна гамма-терапія РЯ, поєднана гамма-терапія РТМ і дистанційна гамма-терапія РТМ. Оперативне лікування не справляло впливу на цитогенетичні показники у хворих, а присутність хемотерапії у схемі лікування не давала класового ефекту до ПТ, проте уповільнювала

кінетику накопичення радіаційно-індукованих нестабільних аберацій хромосомного типу у процесі променевого лікування.

3. Найадекватнішою моделлю для опису динаміки частоти хромосомних пошкоджень під час променевого лікування у хворих на РЖСО уявляється багатокомпонентна функція із поступовим уповільненням кінетики накопичення аберацій протягом ПТ, що забезпечує плато у другій половині курсу лікування. Причому падіння швидкості накопичення аберацій є більш вираженим у хворих без внутріпорожнинної компоненти ПТ.

4. Отримані дані становлять фактологічне підґрунтя для розробки моделі динаміки цитогенетичних ефектів при фракціонованому локальному опроміненні, яка б дозволила підвищити прогностичну роль цитогенетичних показників як клінічно-значущих прогностичних маркерів в умовах променевої терапії.

Подяка: Автори щиро вдячні науковим співробітникам і лікарям відділення променевої терапії ДУ «ІМР ім. С.П. Григор'єва НАМН України» — В.П. Старенькому, О.М. Сухиній, А.В. Свинаренку, Т.П. Грищенку, Л.В. Забобоніній, І.Б. Шустову за багаторічну допомогу в обстеженні онкологічних хворих під час променевого лікування.

Література

1. *Cytogenetic analysis for radiation dose assessment. A manual. IAEA Techn. Report Series № 405.* – Vienna: IAEA, 2001. – 127 p.
2. Sasaki M.S. // *Int. J. Radiat. Biol.* – 2003. – Vol. 79, № 2. – P. 83–97.
3. Leonard A., Fabry L., Lemaire M. et al. // *Acta Radiol. Oncol.* – 1983. – Vol. 22. – P. 429–431.
4. Matsubara S., Horiuchi J., Okuyama T. et al. // *Mutat. Res.* – 1985. – Vol. 11. – P. 1085–1094.
5. Tamura H., Sakurai M., Sugahara T. // *Blood.* – 1970. – Vol. 36, № 1. – P. 43–51.
6. Venkatachalam P., Solomon F.D.P., Prabhu B.K. et al. // *Mutat. Res.* – 1999. – Vol. 429. – P. 1–12.
7. Vuckovic-Dekic L., Spremo B., Stanojevic-Bakic N. et al. // *Arch. Immunol. Ther. Exp.* – 1994. – Vol. 42. – P. 63–66.
8. Lüonard A., Baugnet-Mahieu L., Hung T.H. et al. // *Acta Oncologica.* – 1995. – Vol. 34, № 4. – P. 540–542.
9. Islam M.Q., Kupf I., Levan A. et al. // *Cancer Genet. Cytogenet.* – 1993. – Vol. 65, № 1. – P. 35–46.
10. Brandan M.E., Perez-Pastenes M.A., Ostrosky-Wegman P. et al. // *Health Phys.* – 1994. – Vol. 67, № 4. – P. 326–329.
11. Xuncla M., Barquinero J.F., Caballin M.R. et al. // *Int. J. Radiat. Biol.* – 2008. – Vol. 84. – P. 243–251.
12. Durante M., Yamada S., Ando K. et al. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2000. – Vol. 47. – P. 793–798.
13. Yamada S., Durante M., Ando K. et al. // *Cancer Letters.* – 2000. – Vol. 150. – P. 215–221.
14. Hartel C., Nikoghosyan A., Durante M. et al. // *Radiotherapy and Oncol.* – 2010. – Vol. 95. – P. 73–78.
15. Wojcik A., Stephan G., Sommer S. et al. // *Radiat. Res.* – 2003. – Vol. 160. – P. 677–683.
16. Ainsbury E., Livingston G., Abbott M. et al. // *Ibid.* – 2009. – Vol. 172. – P. 746–752.
17. Vinnikov V.A., Mikhanovskiy A.A., Maznik N.A. // *Exp. Oncol.* – 2003. – Vol. 25, № 4. – P. 279–284.
18. Вінніков В.А., Мазник Н.О., Сипко Т.С., Пшенічна Н.Д. // *УРЖ.* – 2012. – Т. XX, вип. 1. – С. 136–140.
19. Вінніков В.А., Мазник Н.О., Сипко Т.С., Пшенічна Н.Д. // *Там же.* – 2012. – Т. XX, вип. 1. – С. 140–143.
20. Вінніков В.А., Мазник Н.О., Сипко Т.С., Пшенічна Н.Д. // *Там же.* – 2013. – Т. XXI, вип. 2. – С. 139–150.
21. Лакін Г.Ф. *Биометрия.* – М.: Высш. шк., 1973. – 344 с.
22. Ekstrand K.E., Dixon R.L., Plunkett S. et al. // *Radiat. Res.* – 1981. – Vol. 85. – P. 399–407.
23. Ekstrand K.E., Dixon R.L. // *Phys. Med. Biol.* – 1982. – Vol. 27, № 3. – P. 407–411.
24. Urbanik W., Kukulowicz P., Kuszewski T. et al. // *Nukleon.* – 2003. – Vol. 48, № 1. – P. 3–8.

Надходження до редакції 11.04.2013.

Прийнято 23.04.2013.

Адреса для листування:

Вінніков Володимир Анатолійович,
ДУ Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва
НАМН України,
вул. Пушкінська, 82, Харків, 61024, Україна