

Н.О. Мазник,
В.А. Вінніков,
О.Е. Ірха,
О.М. Сухіна,
О.А. Міхановський,
І.М. Кругова

Динаміка значень загальних цитогенетичних показників у хворих на рак тіла матки до термінів 12–24 місяці після променевої терапії

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

The changes of general cytogenetic findings
in patients with uterine body cancer
within 12–24 months following radiotherapy

Цель работы: Сравнение значений цитогенетических показателей в 50-часовых культурах лимфоцитов крови больных раком тела матки (РТМ) в сроки 12–24 месяца после лучевой терапии (ЛТ) с картиной цитогенетических эффектов в той же группе пациенток, обследованных до начала лечения и в ранние сроки после облучения.

Материалы и методы: Обследовано 25 пациенток, получавших ЛТ по поводу РТМ (дистанционная или сочетание внутриволостной и дистанционной гамма-терапии). Классический цитогенетический анализ с выявлением аберраций хромосом и геномных нарушений в метафазах 50-часовой культуры лимфоцитов был проведен до начала, через 1–2 суток, 2, 6 и 12–24 месяца после окончания курса ЛТ.

Результаты: Общая картина цитогенетических эффектов у пациенток к концу ЛТ характеризовалась значительным повышением уровня аберраций хромосомного типа и умеренным увеличением частоты хроматидных аберраций, неабберантных и абберантных полиплоидов относительно значений до начала курса облучения. При исследовании динамики величин показателей до срока 12–24 месяца установлено, что несмотря на значительную элиминацию аберраций хромосомного типа, их суммарная частота (12 %) и уровень отдельных аберраций, в частности нестабильных хромосомных обменов (5,5 %), значительно превышают контроль. Частота аберраций хроматидного типа к концу срока наблюдения снижалась до спонтанного уровня. На фоне стабильно невысокой частоты неабберантных полиплоидов уровень абберантных полиплоидов, несмотря на снижение, значительно превышал контрольный.

Выводы: Повышенный уровень абберантных лимфоцитов и частоты аберраций хромосомного и хроматидного типов, геномных нарушений, наблюдавшийся у пациенток к концу лучевого лечения, с течением времени снижался, хотя уровень радиационно-индуцированных аберраций и абберантных полиплоидов в срок 12–24 месяца значительно превышал спонтанный. Темпы и характер элиминации были неодинаковыми для различных видов хромосомных повреждений, что указывает на необходимость продолжения цитогенетического мониторинга с параллельным изучением механизмов реализации отдаленных и опосредованных генетических эффектов терапевтического облучения.

Ключевые слова: аберрации хромосом, геномные нарушения, культура лимфоцитов, лучевая терапия, рак тела матки.

Ключові слова: аберації хромосом, геномні порушення, культура лімфоцитів, променева терапія, рак тіла матки.

Objective: To compare cytogenetic findings in 50-hour lymphocyte cultures in patients with uterine body cancer (UBC) within 12–24 months following radiation therapy (RT) with the cytogenetic effects in the same group of patients investigated before the treatment and at early terms after the irradiation.

Material and Methods: The study involved 25 patients who were administered RT for UBC (distance or combination of intracavitary and distance gamma-therapy).

The traditional cytogenetic analysis with detection of chromosomal aberrations and genome disturbances in metaphases of 50-hour lymphocyte cultures was performed before and 1–2 days, 2, 6, 12–24 months after RT.

Results: The general picture of cytogenetic effects in the patients by the end of RT was characterized by considerable increase of chromosomal aberration level and moderate increase of chromatid aberration level, non-aberrant and aberrant polyploids when compared with the findings before the treatment. Investigation of the findings before the term of 12–24 months revealed that in spite of considerable elimination of chromosomal type aberrations their total frequency (12 %) and level of separate aberrations in particular unstable chromosomal exchanges (5.5 %) considerably exceeded the control findings. The frequency of chromatid type aberrations by the end of the term reduced to the spontaneous level. Against a background of stable moderate frequency of non-aberrant polyploids, the level of aberrant polyploids, in spite of the reduction, considerably exceeded the control findings.

Conclusion: The increased level of aberrant lymphocytes and chromosomal and chromatid aberrations, genome disturbances observed in the patients by the end of radiation therapy decreased with the time, though the level of radiation-induced aberrations and aberrant polyploids within 12–24 months considerably exceeded the spontaneous level. The rate and character of elimination were different for various types of chromosome damage, which suggests the necessity to continue cytogenetic monitoring with simultaneous investigation of the mechanisms of long-term and mediated genetic effects of radiation therapy.

Key words: chromosomal aberration, genome disturbances, lymphocyte culture, radiation therapy, uterine body cancer.

Серед усіх людських контингентів, які зазнають впливу радіації, онкологічні хворі, ліковані методами променевої терапії (ПТ), становлять одну з найбільш масових когорт локально опромінених осіб. Терапевтична дія іонізуювальних випромінень (ІВ) базується на

ушкоджувальному впливі радіації на пухлинні клітини, які підпадають під процеси радіаційної загибелі за мітотичним чи інтерфазно-мітотичним механізмом. Але разом з клітинами пухлини променевого ураження зазнають також нормальні тканини в опроміненій зоні тіла.

Це перешкоджає проведенню ПТ у повному обсязі, викликає необхідність непередбачених перерв курсу опромінювання та в цілому обмежує ефективність протипухлинного лікування [1].

Критичним об'єктом при дії ІВ на клітинному рівні виступає хромосомний апарат клітинного ядра. Радіаційний вплив при локальному терапевтичному опроміненні викликає появу в нормальних тканинах клітин з широким спектром рівня пошкодження хромосомного апарату, як це було показано в дослідженнях цитогенетичних показників у пацієнтів з онкопатологією під час променевого лікування [2–4]. Визначення динаміки рівня специфічних маркерів радіаційного ураження хромосомного апарату в клітинах нормальних тканин пацієнтів з плином часу після ПТ є актуальним завданням фундаментальної та прикладної радіобіології людини. Водночас, з'ясування динаміки значень загальних цитогенетичних показників може служити підґрунтям для подальшого аналізу прямих та непрямих ефектів радіаційного впливу.

Метою даного дослідження було порівняння цитогенетичних ефектів в 50-годинних культурах лімфоцитів крові хворих на рак тіла матки (РТМ) у терміни 12–24 місяці після ПТ із картиною цитогенетичних ефектів у тих самих осіб, обстежених до початку променевого лікування та в більш ранні терміни після опромінення.

Методика дослідження

Було обстежено 25 пацієток — хворих на РТМ I–II стадій. На момент початку лікування вік хворих становив від 47 до 77 р., середній вік — 58,4 років. В усіх хворих діагноз РТМ був верифікований морфологічно.

За програмою комбінованого лікування онкопатології всім хворим було проведено ПТ, яку у 16 хворих здійснювали методом дистанційної гамма-терапії та у 9 осіб — методом поєднаної ПТ. Дистанційну гамма-терапію проводили з використанням апарата РОКУС-АМ шляхом класичного дрібного фракціонування при поглинутій дозі за один сеанс 2 Гр з досягненням сумарної поглинутої дози 40–46 Гр в кінці лікування. При поєднаному променевому лікуванні дистанційне опромінювання здійснювали за вищезазначеною стандартною методикою з досягненням сумарної поглинутої дози від даного методу 40–46 Гр. Підключення внутріпорожнинної компоненти відбувалося після досягнення сумарної поглинутої дози 14–30 Гр від дистанційного опромінення. Внутріпорожнинну ПТ виконували на шланговому гамма-терапевтичному апараті АГАТ-В; поглинута доза за один сеанс на слизову піхви складала 3,5 Гр. Сумарна поглинута доза на слизову піхви від даного методу на момент закінчення курсу становила 21 Гр.

Цитогенетично хворих обстежували за 1–2 доби до початку ПТ, через 1–2 доби, та 2, 6 і 12–24 місяці після закінчення курсу опромінювання.

Культивування лімфоцитів периферичної крові пацієток виконували за стандартною методикою [5] у власній модифікації. Цільну гепаринізовану кров (0,5 мл) переносили до стерильних флаконів із культуральною сумішшю (4 мл середовища Ігла чи RPMI 1640, бромдезоксигуанідину у масовій концентрації 0,5 мкг/мл, 1 мл сироватки великої рогатої худоби та фітогемаглютиніну (Gibco, Serva, Murex) в концентрації, визначеній фірмою-виробником). Клітини культивували протягом 50 год при 37,5 °С. За 4 год до закінчення культивування додавали розчин колхіцину у масовій концентрації 0,1 мкг/мл. Після обробки гіпотонічним розчином КСІ клітини фіксували у суміші метанолу або абсолютного етанолу і крижаної оцтової кислоти у співвідношенні 3:1. Суспензію клітин наносили на предметне скло, висушували при кімнатній температурі у темряві та забарвлювали методом флуоресцентного-плюс-Гімза (FPG) забарвлення.

Препарати аналізували під світловими мікроскопами Біолам-І з масляною імерсією. Цитогенетичні порушення розпізнавали з використанням загальноприйнятих критеріїв [5, 6]. Враховували весь спектр аберацій, які розпізнавалися без каріотипування. До геномних порушень відносили неаберантні та аберантні поліплоїди.

При статистичному опрацюванні даних результати індивідуальних обстежень пацієток об'єднували в залежності від етапу обстеження: до лікування, відразу після ПТ, через 2, 6 та 12–24 місяці після опромінювання. На кожній точці визначали зважені середні рівні аберантних клітин і структурних перебутов хромосом (Y) на 100 нормоплоїдних клітин та частоту геномних порушень у розрахунку на 100 всіх проаналізованих клітин. Чинником зваження виступало відношення кількості проаналізованих клітин від даного індивіда до середньої кількості клітин на особу в групі. Стандартні похибки середніх (SE) обчислювали за розподілом індивідуальних частот цитогенетичних пошкоджень у групі. Вірогідність різниці середніх значень цитогенетичних показників між групами оцінювали за t-критерієм Стьюдента для незв'язаних явищ [7]. Відповідність розподілу структурних аберацій хромосом по клітинах статистики Пуассона оцінювали за відношенням дисперсії до середнього (σ^2/Y) та за u-тестом Папворта [8].

Результати та їх обговорення

На всіх точках часу після променевої терапії спектр цитогенетичних пошкоджень у пацієток складався з аберацій хромосомного типу: дицентриків та центричних кілець із супутніми фрагментами, ацентричних фрагментів, транслокацій (атипові моноцентрики, які розпізнавалися при груповому каріотипуванні), та аберацій хроматидного типу: міжхромосомних та внутріхромосомних хроматидних обмінів, хроматидних фрагментів. Середні рівні аберантних клітин, аберацій хромосомного і хроматидного типів, одержані за узагальненням результатів індивідуальних досліджень на кожному етапі обстеження, наведено в табл. 1, а зміни середньої частоти різних видів цитогенетичних пошкоджень та геномних порушень — на рис. 1.

Частота цитогенетичних пошкоджень у лімфоцитах крові хворих на РТМ до і після ПТ
Frequency of cytogenetic damage in the lymphocytes of the patients with UBC before and after RT

Етап обстеження	Проаналізовано клітин		Частота аберацій ($Y \pm SE$) на 100 клітин						
	всього	нормоплоїди	A Xc	Кл _{A Xc}	Диц+ЦК фр	Кл _{Диц+ЦК фр}	Ат Мон	A Xt	Кл _{A Xt}
До ПТ	5222	5208	1,80 ± 0,26	1,61 ± 0,22	0,31 ± 0,11	0,29 ± 0,11	0,12 ± 0,04	1,38 ± 0,18	1,38 ± 0,18
Наприкінці ПТ	1596	1570	66,37 ± 7,01	34,65 ± 1,74	40,00 ± 5,18	23,31 ± 2,12	4,01 ± 0,57	2,61 ± 0,33	2,61 ± 0,33
2 міс. після ПТ	2587	2563	60,40 ± 8,62	26,96 ± 3,43	34,72 ± 5,49	18,18 ± 2,54	3,71 ± 0,43	2,42 ± 0,42	2,34 ± 0,38
6 міс. після ПТ	2715	2687	32,19 ± 4,76	16,49 ± 1,73	17,01 ± 2,46	9,90 ± 1,19	2,64 ± 0,25	2,35 ± 0,31	2,31 ± 0,30
12-24 міс. після ПТ	4004	3984	11,97 ± 1,95	6,68 ± 0,87	5,52 ± 1,23	2,84 ± 0,56	1,05 ± 0,16	1,56 ± 0,38	1,51 ± 0,35

Примітка: Y — середня частота; SE — стандартна похибка середнього; ПТ — променева терапія, A Xc — аберації хромосомного типу, Кл_{A Xc} — клітини з абераціями хромосомного типу, Диц + ЦК фр — дицентрики і центричні кільця з супутніми фрагментами, Кл_{Диц+ЦК фр} — клітини з дицентриками і центричними кільцями, Ат Мон — атипові моноцентрики (транслокації та делетовані хромосоми), A Xt — аберації хромосомного типу, Кл_{A Xt} — клітини з абераціями хроматидного типу.

Від початку до кінця курсу ПТ у хворих спостерігали значне зростання частоти клітин з абераціями хромосом та загальної частоти аберацій. Підвищення рівня абераційних клітин відбувалося за рахунок аберацій як хромосомного, так і хроматидного типів, але частота клітин з абераціями хромосомного типу зростала майже в 21 раз, а клітин з абераціями хроматидного типу — в 1,9 разу (див. табл.1).

Зростання частоти всіх окремих видів хромосомних ушкоджень відносно вихідного рівня було статистично значущим: $t = 7,66$ для нестабільних хромосомних обмінів, $t = 7,55$ для ацентричних фрагментів, $t = 5,80$ для транслокацій ($p < 0,001$ для всіх показників); для хроматидних обмінів та хроматидних фрагментів відповідно, $t = 2,32$ і $2,70$; $p < 0,05$, неабераційних поліплоїдів $t = 2,14$; $p < 0,05$, абераційних поліплоїдів $2,82$; $p < 0,01$.

Істотне перевищення частоти аберацій хромосомного типу над частотою абераційних клітин наприкінці ПТ і в подальший час було наслідком наявності численних метафаз із кількома абераціями. При цьому розподіли перебудов хромосомного типу по клітинах на всіх точках часу після ПТ характеризувалися істотною наддисперсією відносно статистики Пуассона за u -тестом Папворта ($\sigma^2/Y > 1$; $u > 1,96$). Детальний аналіз змін параметрів поклітинного розподілу аберацій у даній вибірці пацієнток становитиме предмет окремої публікації.

Фактом, який об'єднує більшість повідомлень про цитогенетичні ефекти терапевтичного опромінення, включаючи наше дослідження, є констатація значного зростання частоти аберацій хромосомного типу у пацієнтів відносно вихідних чи загальнопопуляційних рівнів. Кількісна значущість цієї тенденції, встановлена в наших попередніх роботах та в роботах інших дослідників [4, 9–11], привела до висновку, що саме накопичення аберацій хромосомного типу є головним цитогенетичним ефектом терапевтичного локального опромінення, і ступінь підвищення частоти аберацій хромосомного типу виступає найбільш об'єктивним критерієм оцінки ступеня безпосереднього радіаційного ураження хромосомного апарату клітин нормальних тканин під час ПТ.

Постпроменева динаміка кількісних цитогенетичних показників мала такий вигляд.

За 2 місяці після ПТ частота абераційних клітин, сумарних рівнів аберацій хромосомного і хроматидного типу та окремих видів аберацій не продемонстрували вірогідних змін ($p > 0,05$). Частота абераційних поліплоїдів змінювалася несуттєво, натомість частота поліплоїдів без аберацій знижувалася втричі відносно значення наприкінці ПТ ($t = 2,51$; $p < 0,05$) і досягала спонтанного рівня, на якому перебувала до кінця періоду спостереження.

Через 6 місяців після ПТ частота клітин з абераціями хромосомного типу і рівень аберацій хромосомного типу знижувалися вдвічі віднос-

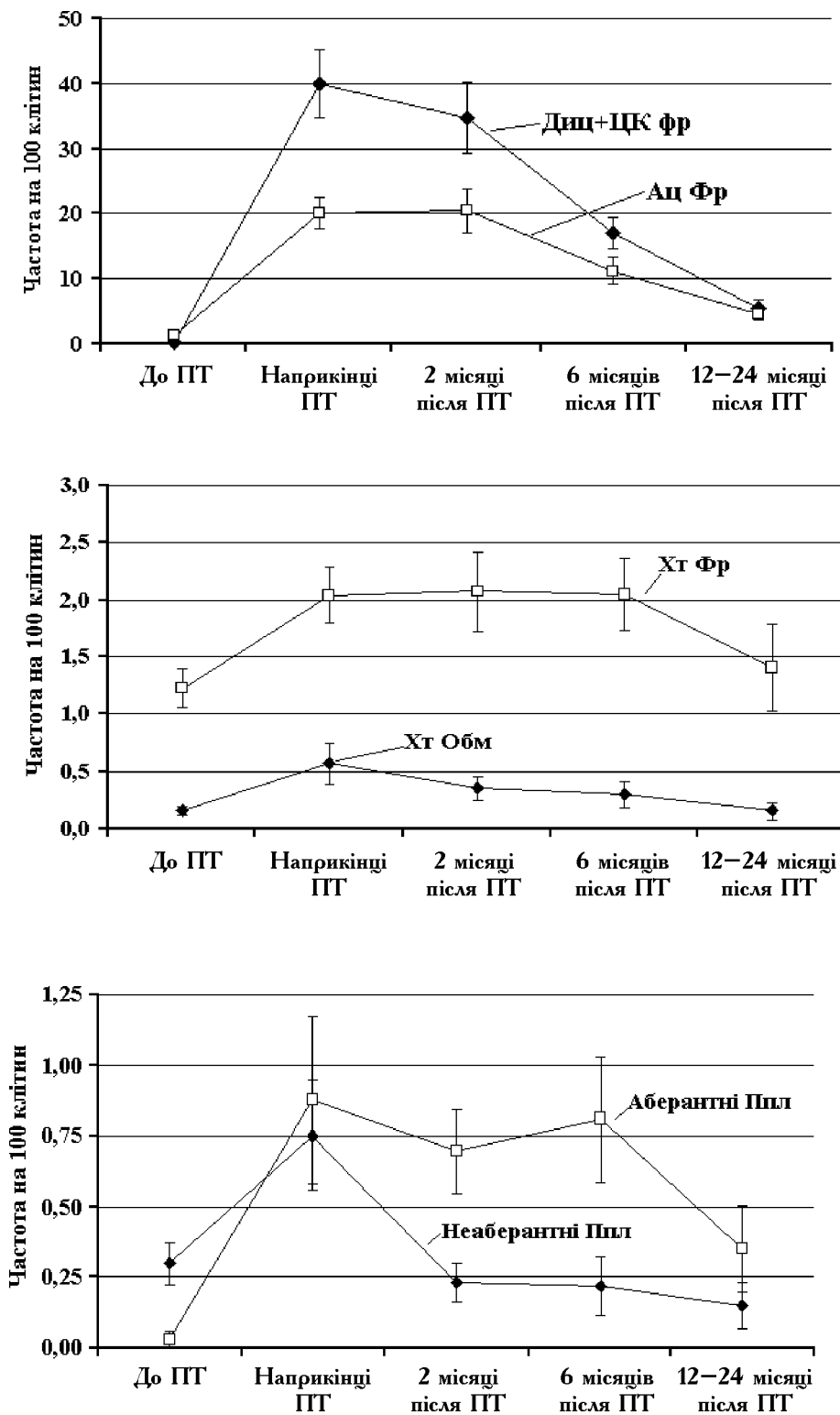


Рис. 1. Динаміка частоти різних видів цитогенетичних ушкоджень у хворих на РТМ з плином часу після ПТ: Диц + ЦК фр — дицентрики і центричні кільця з фрагментами, Ац Фр — вільні ацентричні фрагменти, Хт Фр — хроматидні фрагменти, Хт Обм — хроматидні обміни, Ппл — поліплоїди

Fig. 1. The changes in frequency of different types of cytogenetic damage in patients with UBC after RT: Диц + ЦК фр — dicentrics and centric rings with fragments, Ац Фр — free acentric fragments, Хт Фр — chromatid fragments, Хт Обм — chromatid exchange, Ппл — polyploids

но значень наприкінці ПТ (відповідно, $t = 4,03$ і $7,40$; $p < 0,001$). На даній точці часу спостерігали вірогідне зменшення частоти всіх видів аберацій хромосомного типу відносно первинно індукованого рівня: для дицентриків і центричних кілець — на 58 % ($t = 4,01$, $p < 0,001$), ацентричних фрагментів — на 44 % ($t = 2,69$; $p < 0,05$), транслокацій (ати-

пових моноцентриків) — на 34 % ($t = 2,20$; $p < 0,05$). Частота аберацій хроматидного типу не відрізнялася від значень наприкінці ПТ і через 2 місяці після ПТ внаслідок стабільності рівня хроматидних фрагментів у даному інтервалі та незначущості змін частоти хроматидних обмінів, яка не мала вірогідних відмінностей від значення наприкінці ПТ

($t = 1,32$; $p > 0,05$). Серед геномних порушень спостерігали вірогідне перевищення контролю за частотою аберантних поліплоїдів ($t = 3,51$; $p < 0,01$), а рівень неаберантних поліплоїдів не мав відмінності від спонтанного (див. рис. 1).

Через 12–24 місяці після ПТ частота аберацій хромосомного типу і клітин з абераціями хромосомного типу знижувалася більш ніж у 5 разів відносно значень наприкінці курсу (відповідно, $t = 7,48$ і $14,38$; $p < 0,001$). Це забезпечувалося елімінаційною динамікою рівня окремих видів аберацій: зниженням частоти дицентриків і кільць на 86 % ($t = 6,48$; $p < 0,001$), ацентричних фрагментів — на 77 % ($t = 5,98$; $p < 0,001$), атипових моноцентриків — на 74 % ($t = 4,98$; $p < 0,001$). Проте, незважаючи на достатню вираженість елімінації, частота означених аберацій у цей термін перевищувала вихідний спонтанний рівень у 3,6 разу за ацентричними фрагментами ($t = 4,26$; $p < 0,001$), у 9,2 разу за атиповими моноцентриками ($t = 5,68$; $p < 0,001$) та у 18 разів за дицентриками і центричними кільцями ($t = 4,22$; $p < 0,001$).

Для рівня аберацій хроматидного типу у термін 12–24 місяці, на відміну від попередніх етапів, спостерігали вірогідне зниження відносно значень в кінці ПТ ($t = 2,29$; $p < 0,05$) та зникнення різниці з контролем. Це відбувалося за рахунок зниження частоти хроматидних обмінів фактично до спонтанного рівня (відносно кінця курсу ПТ $t = 2,21$; $p < 0,05$), а також унаслідок елімінаційного тренду за частотою хроматидних фрагментів, яка на цьому інтервалі вже не відрізнялася від контролю ($t = 0,42$; $p > 0,05$). Частота аберантних поліплоїдів дещо знижувалася відносно термінів наприкінці ПТ, 2 і 6 місяців після лікування, але продовжувала вірогідно перевищувати спонтанний рівень ($t = 2,09$; $p < 0,05$).

Зміни структури спектру аберацій в динаміці після ПТ проявлялися у вигляді зменшення внеску дицентриків та центричних кільць серед аберацій хромосомного типу з 60 % наприкінці лікування до 46 % через 12–24 місяці на фоні відповідного зростання пропорції вільних ацентричних фрагментів з 30

до 38 %. Так само серед аберацій хроматидного типу спостерігали зниження внеску хроматидних обмінів з 22 % відразу після ПТ до 10 % через 12–24 місяці. Серед геномних порушень пропорція аберантних поліплоїдів у дослідженому інтервалі часу зростала від 54 до 70 %.

Чіткі відмінності у характері постпроменевої динаміки аберантних і неаберантних поліплоїдів, найімовірніше, пов'язані з різними механізмами утворення цих типів геномних порушень. На наш погляд, немеханічна ендогенна поліплоїдизація може бути викликана стресовою реакцією клітин на неспецифічні сигнали, опосередковані, наприклад, дією кластогенних факторів плазми крові. Із закінченням стресового впливу зменшується або припиняється індукція цих факторів і відповідно вимикається сигнал запуску процесу поліплоїдизації *de novo*. При відсутності додаткового генотоксичного впливу поліплоїдні клітини не можуть проявити селективної переваги в аспекті виживаності та поступово елімуються з периферичного лімфоцитарного пулу. У випадку аберантних поліплоїдів джерелом виникнення таких клітин є блокування мітозів аберантних лімфоцитпрекурсорів або зрілих лімфоцитів. Отже, персистенцію рівня аберантних поліплоїдів можна логічно пов'язати зі збереженням вірогідно підвищеної частоти нормоплоїдних клітин з дицентриками у термін 12–24 місяці.

Загальна елімінаційна спрямованість динаміки частоти аберантних лімфоцитів у пацієнтів з плином часу після опромінення в нашому дослідженні була досить очікуваною. Відомо, що зрілі периферичні лімфоцити з абераціями підпадають під процеси природного старіння і загибелі, і популяція зрілих лімфоцитів поступово оновлюється з виходом на периферію нових клітин, утворених за рахунок проліферації лімфоцитпрекурсорів. Як було показано у нашій роботі [6] та в інших експериментальних дослідженнях долі аберацій в клітинних генераціях *in vitro*, в активно проліферуючій клітинній популяції відбувається інтенсивна елімінація радіаційно-індукованих хромосомних перебудов унаслідок блокування мітозів незбалансованими міжхромосомними обміна-

ми чи втрати безцентромірних структур (фрагментів) під час клітинного поділу. Отже, природне старіння і загибель зрілих клітин у поєднанні з негативною селекцією аберантних лімфоцитпрекурсорів приводить до зниження частоти нестабільних аберацій в лімфоцитах крові людини.

Що стосується аберацій хроматидного типу, які не є радіаційно-індукованими, то за нашим припущенням, яке ґрунтується на експериментальних даних робіт [12, 13], помірне зростання частоти аберацій хроматидного типу в лімфоцитах людини за терапевтичного радіаційного впливу зумовлюється пригніченням функціональної активності системи репарації ДНК у певній частині клітин у поєднанні з дією кластогенних факторів плазми крові. Початкове піврічне плато частоти хроматидних фрагментів, найімовірніше, могло бути результатом експресії нестабільності геному у нащадках опромінених клітин. Подальша елімінація хроматидних фрагментів була наслідком негативної селекції клітин-попередників з нестабільним геномом.

Факт елімінації радіаційно-індукованих хромосомних пошкоджень з плином часу відзначався у публікаціях про динаміку цитогенетичних ефектів у онкохворих після ПТ [14–19]. Кількісні характеристики темпів зниження частоти аберантних клітин, встановлені в нашій роботі, а також факт відсутності нормалізації цитогенетичних параметрів у хворих у термін 12–24 місяці після опромінення в цілому відповідають даним інших дослідників, які вивчали перебіг радіогенних цитогенетичних ефектів, зокрема у пацієнток з онкогінекологічними захворюваннями після променевої терапії [16, 20]. Так, у роботі [16] при обстеженні хворих на рак шийки матки в динаміці до 1 року після ПТ було показано зниження рівня клітин з абераціями хромосом з 40 % одразу після закінчення лікувального курсу до 12,5 % наприкінці періоду спостереження. У роботі [19] відмічено велику варіабельність змін рівня клітин з абераціями хромосом між термінами обстеження до 6 міс. після закінчення курсу та 2 роки: від 54 % до 9 % при лімфомі Годжкіна, від 34,5 % до 16 % при раку яєчок, та від 8,8 % до 7% при раку гортані.

За даними роботи [15], при цитогенетичному дослідженні 9 пацієнтів з раком яєчок (із семіномою) у терміні 11–22 місяці після ПТ середній рівень клітин з нестабільними абераціями хромосомного типу становив 11,6 %, дицентриків — 9,3 %. Індивідуальні рівні коливались від 4 до 18,6 % для клітин з нестабільними абераціями хромосомного типу та від 3 до 14 % для дицентриків. Ці та інші дані, а також результати, наведені у нашому дослідженні, свідчать про складний характер постпроменевиx змін частоти аберантних клітин у онкохворих з пухлинами різної локалізації.

Таким чином, картина цитогенетичних ефектів у лімфоцитах крові хворих на рак тіла матки в кінці ПТ характеризувалася значним зростанням рівня аберацій хромосомного типу і помірним підвищенням частоти аберацій хроматидного типу, неаберантних та аберантних поліплоїдів відносно значень до лікування. У динамічному спостереженні до 12–24 місяців після ПТ було встановлено, що інтенсивна елімінація аберантних клітин приводила до зниження частоти всіх видів аберацій хромосомного типу відносно значень у кінці ПТ. У зазначений термін частота дицентриків та центричних кілець становила 14 % від первинно-індукованого рівня, частота ацентричних фрагментів — 23 %, частота атипових моноцентриків — 26 %. Проте, незважаючи на елімінацію, частота всіх окремих видів аберацій хромосомного типу та їхня сумарна частота у цей час вірогідно перевищували спонтанні значення, найістотніше — у випадку рівня дицентриків і центричних кілець. Частота аберацій хроматидного типу знижувалася до рівня, що не мав статистичної різниці з контролем. Крім того, на фоні персистенції частоти неаберантних поліплоїдів на спонтанному рівні у хворих визначалася елімінація аберантних поліплоїдів відносно попереднього плато значень цього показника, хоча й при збереженні вірогідного перевищення контролю.

Представлена картина у сукупності є відображенням складної кінетики оновлення популяції зрілих периферичних лімфоцитів нащадками неаберантних клітин-попередників. У динаміці цитогенетичних ефектів *in vivo* у хворих визначається поступове зниження

неспецифічного мутагенезу, можливо, опосередкованого дією кластогенних факторів плазми крові та експресією нестабільності геному. Відсутність повної нормалізації рівня показників свідчить про необхідність продовження цитогенетичного моніторингу пацієнток з плином часу після променевого лікування.

Висновки

1. Сумарний рівень ураженості хромосомно-апарату лімфоцитів крові у хворих на рак тіла матки у терміни 12–24 місяці після променевого лікування вірогідно зменшувався відносно величин, що визначалися на більш ранніх строках обстеження (в кінці ПТ та через 2 і 6 місяців після опромінювання), але перевищував спонтанну частоту цитогенетичних пошкоджень, що існувала у тих самих осіб до лікування.

2. Інтенсивна елімінація аберантних лімфоцитів *in vivo* з плином часу після опромінювання приводила до зниження частоти аберацій хромосомного типу відносно рівня в кінці ПТ на 64–86 %, в залежності від виду перебудов. Проте, частота всіх окремих видів аберацій хромосомного типу та їхня сумарна частота у пацієнток через 12–24 місяці після ПТ вірогідно перевищували спонтанні значення, найістотніше — за рівнем дицентриків і кілець із супутніми фрагментами.

3. На відміну від більш ранніх строків дослідження, у терміни 12–24 місяці після ПТ у пацієнток було виявлено зниження загальної частоти аберацій хроматидного типу до рівня, що не мав статистичної різниці з контролем, причому для частоти хроматидних обмінів спостерігали повну нормалізацію.

4. Частота неаберантних поліплоїдів, які накопичувалися у пацієнток в кінці ПТ, знижувалася до контрольного рівня за перші 2 міс. після опромінювання і перебувала нормалізованою до строків 12–24 міс. Частота аберантних поліплоїдів перебувала стабільно підвищеною над контролем протягом перших 6 місяців після лікування, але знижувалася у подальший час, хоча й при збереженні вірогідної відмінності від контролю у терміни 12–24 місяці.

5. Складний перебіг змін рівня хромосомних аберацій та геномних пошкоджень вказує на необхідність подовження цитогенетичного моніторингу хворих на РТМ в динаміці після променевого лікування з одночасним дослідженням механізмів реалізації віддалених та опосередкованих генетичних ефектів терапевтичного опромінення.

Література

1. Skladowski K., Law M., Maciejewski B., Steel G. // *Radiother. Oncol.* – 1994. – Vol. 30, № 2. – P. 109–120.
2. Arutyunyan R., Martus P., Neubauer S. et al. // *Exp. Oncology.* – 1998. – Vol. 20. – P. 223–228.
3. Venkatachalam P., Solomon F. D. P., Prabhu B. K. et al. // *Mutat. Res.* – 1999. – Vol. 429. – P. 1–12.
4. Мазник Н.О., Вінніков В.А., Міхановський О.А. та ін. // *УРЖ.* – 2002. – Т. X, вип. 1. – С. 32–36.
5. *Cytogenetic analysis for radiation dose assessment. A manual. IAEA Techn. Report Series № 405.* – Vienna: IAEA, 2001. – 127 p.
6. Вінніков В.А., Мазник В.С., Щегольков А.В., Ірха О.Е. // *УРЖ.* – 2004. – Т. XII, вип. 4. – С. 404–414.
7. Лакін Г.Ф. *Биометрия.* – М.: Высш. шк., 1973. – 344 с.
8. Edwards A. A., Lloyd D. C., Purrott R. J. // *Radiat. Environ. Biophys.* – 1979. – Vol. 16. – P. 89–100.
9. Vinnikov V.A., Mikhanovskiy A.A., Maznik N.A. // *Experim. Oncol.* – 2003. – Vol. 25, № 4. – P. 279–284.
10. Barrios L., Caballin M. R., Miro R. et al. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 1990. – Vol. 19. – P. 371–375.
11. Sreedevi B., Rao B.S., Nagaraj H., Pal N.K. // *Radiat. Prot. Dosim.* – 2001. – Vol. 94, № 4. – P. 317–322.
12. Жлоба А. А., Севанькаев А. В. // Докл. АН СССР. – 1991. – Т. 316, № 5. – С. 1239–1244.
13. Lloyd D.C., Moquet J.E. // *Int. J. Radiat. Biol.* – 1985. – Vol. 47, № 4. – P. 433–444.
14. Buckton K.E. // *Radiation-induced chromosome damage in man* / Eds.: Ishihara T., Sasaki M. – NY, USA: A.R. Liss, 1983. – P. 491–511.
15. Bauchinger M., Schmid E., Braselmann H. et al. // *Mutat. Res.* – 1989. – Vol. 211. – P. 265–272.
16. Vuckovic-Dekic L., Spremo B., Stanojevic-Bakic N. et al. // *Arch. Immunol. Ther. Exp.* – 1994. – Vol. 42. – P. 63–66.
17. Martin R.H., Rademaker A., Hildesbrand K. et al. // *Mutat. Res.* – 1989. – Vol. 226. – P. 21–30.
18. Gundy S., Baki M., Bodrogi I., Czeizel A. // *Oncol.* – 1992. – Vol. 49. – P. 376–380.
19. Tawn E. J., Whitehouse C. A., Martin F. A. // *Mutat. Res.* – 2000. – Vol. 465. – P. 45–51.
20. Sasaki M. S., Norman A. // *Nature.* – 1967. – Vol. 214. – P. 502–503.

Надходження до редакції 04.03.2008.

Прийнято 05.03.2008.

Адреса для листування:

Мазник Наталія Олександрівна,
ДУ Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва АМНУ,
вул. Пушкінська, 82, Харків, 61024, Україна