

лікованих за ад'ювантною програмою ПТ, і даний ефект був виразнішим у хворих після радикальної мастектомії, ніж після секторальної резекції. Ці дані цілком відповідають нашій картині у пацієнток, лікованих за схемами ад'ювантної ПТ.

Таким чином, у результаті дослідження цитогенетичних ефектів у хворих на РГЗ під час ПТ було встановлено, що загальна динаміка частоти радіаційно-індукованих нестабільних аберацій хромосомного типу при різних схемах дрібного фракціонування дози на зони грудної залози і регіонарних лімфовузлів (радикальна чи ад'ювантна ПТ) проявила чітку накопичувальну залежність «кількість сеансів – ефект». Швидкість зростання частоти АХс_{unst} могла змінюватися у однієї тієї ж особи у процесі ПТ і мала істотну міжіндивідуальну варіабельність при однаковій схемі ПТ. Варіабельність цього параметра зменшувалася в динаміці лікування у осіб з радикальною схемою ПТ і зростала серед пацієнток із ад'ювантною ПТ.

Зважаючи на особливості індивідуальної динаміки частоти АХс_{unst} у процесі ПТ, найбільш адекватними моделями залежності «кількість сеансів – ефект» для виходу хромосомних пошкоджень під час променевого лікування у хворих на РГЗ уявляються експоненційна функція в осіб, які отримали опромінення на зону хребта, монотонна лінійна функція в осіб, лікованих за радикальною програмою ПТ, та модель із поступовим насиченням і плато у другій половині лікування у хворих, які отримали ад'ювантну ПТ.

Література

1. Venkatachalam P., Solomon F.D.P., Prabhu B.K. et al. // *Mutat. Res.* – 1999. – Vol. 429. – P. 1–12.
2. Cao J., Liu Y., Sun H. et al. // *Ibid.* – 2002. – Vol. 504, № 1-2. – P. 85–90.
3. Stephan G., Kampen W.U., Nobke D., Roos H. // *Radiat. Environ. Biophys.* – 2005. – Vol. 44. – P. 23–28.
4. Legal J.D., De Crevoisier R., Lartigau E. et al. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2002. – Vol. 52, № 5. – P. 1186–1195.
5. d'Alesio V., Pacelli R., Durante M. et al. // *Ibid.* – 2003. – Vol. 57, № 3. – P. 732–738.
6. Ekstrand K.E., Dixon R.L., Plunkett S. et al. // *Radiat. Res.* – 1981. – Vol. 85. – P. 399–407.
7. Ekstrand K.E., Dixon R.L. // *Phys. Med. Biol.* – 1982. – Vol. 27, № 3. – P. 407–411.
8. Brandan M.E., Perez-Pastenes M.A., Ostrosky-Wegman P. et al. // *Health Phys. Society.* – 1994. – Vol. 67, № 4. – P. 326–329.
9. Urbanik W., Kukulowicz P., Kuszewski T. et al. // *Nukleonika.* – 2003. – Vol. 48, № 1. – P. 3–8.
10. Yamada S., Durante M., Ando K. et al. // *Cancer Letters.* – 2000. – Vol. 150. – P. 215–221.
11. *Cytogenetic analysis for radiation dose assessment. A manual. IAEA Techn. Report Series № 405.* – Vienna: IAEA, 2001. – 127 p.
12. Antoine J.L., Gerber G.B., Leonard A. et al. // *Radiat. Res.* – 1981. – Vol. 86. – P. 171–177.
13. Leonard A., Fabry L., Lemaire M. et al. // *Acta Radiol. Oncol.* – 1983. – Vol. 22. – P. 429–431.
14. Rigaud O., Guedeney G., Durantion I. et al. // *Mutat. Res.* – 1990. – Vol. 242. – P. 17–23.
15. Gamulin M., Garaj-Vrhovac V., Kopjar N. et al. // *J. Environ. Sci. Health.* – 2010. – Vol. 45, № 3. – P. 292–304.

В.А. Вінніков, Н.О. Мазник, Т.С. Сипко, Н.Д. Пшенічна

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

Цитогенетичні ефекти в лімфоцитах периферичної крові хворих на рак грудної залози під час променевого лікування. II. Вплив хемотерапії

Cytogenetic damage in peripheral blood lymphocytes of patients with mammary cancer during radiotherapy. II. The effect of chemotherapy

Summary. The presence of the first-line chemotherapy in the breast cancer treatment scheme was associated with the moderate increase of the cytogenetic damage yield in patients' blood lymphocytes and also with reduced intensity of chromosome aberration accumulation during the radical radiotherapy programme.

Key words: mammary cancer, radiotherapy, chemotherapy, chromosome aberrations, lymphocytes.

Резюме. Присутствие долучевой химиотерапии в схеме лечения рака грудной железы было ассоциированным с умеренным повышением уровня цитогенетических повреждений в лимфоцитах крови больных до лучевого лечения и с менее интенсивным накоплением абераций хромосом в ходе радикальной программы лучевой терапии.

Ключевые слова: рак грудной железы, лучевая терапия, химиотерапия, аберации хромосом, лимфоциты.

Ключові слова: рак грудної залози, променева терапія, хемотерапія, аберації хромосом, лімфоцити.

Аналіз аберацій хромосом у лімфоцитах крові людини є провідним методом біологічної дозиметрії радіаційного опромінення та кількісної оцінки кластогенності будь-яких фізичних і хімічних агентів. Проте в радіобіології існує значний дефіцит емпіричних даних та аналітичних висновків стосовно ролі окремих фізичних, біологічних і клінічних факторів, які можуть впливати на формування цитогенетичних ефектів в умовах локального фракціонованого радіаційного впливу. В практичному аспекті цю проблему особливо гостро висвітлили інциденти з помилковим перепроміненням пацієнтів під час радіотерапевтичних і радіодіагностичних процедур, коли цитогенетична експертиза давала значні розбіжності із фізичною реконструкцією променевого навантаження [1, 2]. Тому існує необхідність вивчення цитогенетичних показників у пацієнтів у процесі променевої терапії (ПТ) для встановлення спектра абераційних клітин при різних локалізаціях пухлин та різних схемах лікування. Одним із найбільш очевидних генотоксичних факторів, супутніх до ПТ і потенційно здатних модифікувати кластогенні ефекти, є дія цитостатичних препаратів.

У нашому повідомленні в цьому ж випуску «Українського радіологічного журналу» представлено граничні зміни рівня аберацій хромосом у лімфоцитах крові хворих на рак грудної залози (РГЗ) під час ПТ і надано порівняльну оцінку індивідуальній варіабельності рівнів цитогенетичних показників за радикальною та ад'ювантною програмою променевого лікування [3]. Мета даної роботи полягає у визначенні особливостей цитогенетичної картини у хворих

на РГЗ під час ПТ залежно від присутності хемотерапії у схемі протиопухлинного лікування.

Вибірка хворих була сформована ретроспективним способом за банком препаратів лабораторії радіаційної цитогенетики ДУ Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва НАМН України; банк було створено в минулі роки шляхом рандомізованого обстеження онкохворих, які отримували променеве лікування у клініці інституту. Робота виконувалася під контролем локального Комітету зетики біологічних і медичних досліджень.

Характеристику вибірки (вік, розподіл за стадіями захворювання, деталі променевого лікування) наведено в нашому повідомленні [3]. Досліджували 24 хворих на РГЗ, серед яких оперативне лікування було проведено в обсязі радикальної мастектомії за Пейті у 6 осіб і секторальної резекції — у 4; решта 14 осіб були проліковані без оперативного втручання. До початку ПТ у 3 випадках проводили системну ад'ювантну поліхемотерапію за схемами CMF, CAF або CAMF, і ще 7 пацієнток до ПТ отримали індукційні курси поліхемотерапії за тими ж схемами.

Променеве лікування проводили у 10 осіб за ад'ювантною програмою та в 14 — за радикальною методом дистанційної гамма-терапії на апараті РОКУС-АМ із джерелом ⁶⁰Со за відповідними стандартними схемами дрібного фракціонування дози — 2 Гр за сеанс, 5 сеансів на тиждень — на зони грудної залози і регіонарного лімфовідтоку; в передопераційному курсі ад'ювантної ПТ дози за сеанс становили 5 Гр на грудну залозу (ГЗ) і 4 Гр на пахові лімфовузли.

У межах даної роботи хворі були розподілені на групи: тих, хто не отримував та отримував хемотерапію (відповідно, «ХТ⁻» і «ХТ⁺»). Цитогенетичне обстеження хворих «ХТ⁺» було проведено вже після курсів хемотерапії, до початку і наприкінці курсу ПТ, зокрема у 8 випадках — із додатковим аналізом в середині ПТ. Серед хворих «ХТ⁻» 9 осіб було обстежено до початку і наприкінці курсу ПТ, в тому числі у 5 випадках — також в середині курсу ПТ; 1 особу — до початку і в середині ПТ, і ще 4 осіб — тільки наприкінці променевого лікування.

Проводили класичний цитогенетичний аналіз із визначенням усіх видів нестабільних аберацій хромосом і геномних порушень з рутинним забарвленням метафазних препаратів 50-годинної культури лімфоцитів периферичної

крові за стандартною методикою [4]. Реєстрували дицентрики і центричні кільця із супутніми фрагментами (Диц+ЦКфр), вільні ацентричні хромосомні фрагменти (Ац Фр), Диц і ЦК із втраченими фрагментами, транслокації і делетовані хромосоми, аберації хроматидного типу (А Хт) — хроматидні обміни і фрагменти, а також неабераційні і абераційні поліплоїди та ендореплікації, які складали клас геномних порушень (ГП_{б/а} і ГП_{аб}).

При аналізі даних використовували методи варіаційної статистики. Побудову регресії проводили методом найменших квадратів. Вірогідність різниці між середніми значеннями цитогенетичних показників і статистичну значущість коефіцієнтів кореляції визначали за t-критерієм Стьюдента.

Інтервали індивідуальних значень і середні рівні цитогенетичних показників у хворих «ХТ⁻» і «ХТ⁺» до і наприкінці курсу опромінення, з об'єднанням даних у групах, лікованих за ад'ювантною та радикальною програмою ПТ, представлено в таблиці 1. В картині цитогенетичних ефектів до ПТ хворі зі статусом «ХТ⁺» мали підвищені у 1,5 разу рівні Аб Кл, А Хс та А Хт, а також дещо вищу середню частоту Диц+ЦКфр і ГП_{б/а}, порівняно із пацієнтками «ХТ⁻» (відмінності між групами невірогідні, $p > 0,05$). Впливу хемотерапії на величини цитогенетичних показників у хворих в кінці ПТ не визначалося.

На рисунку 1 представлено результати регресивного аналізу змін частоти А Хт за кількістю сеансів ПТ у хворих «ХТ⁻» і «ХТ⁺». За відсутності хемотерапії рівень хроматидних аберацій фактично не змінювався під час променевого лікування. У групі хворих «ХТ⁺» спостерігали слабку тенденцію до зниження величини показника від початку до кінця ПТ, що й приводило до зближення значень частоти А Хт наприкінці курсу ПТ у хворих, які отримували та не отримували хемотерапію.

Для показника, що специфічно відбиває радіаційне ураження геному — частоти нестабільних індукованих аберацій хромосомного типу (А Хс_{unst}), було проведено аналіз його регресії за кількістю сеансів ПТ залежно від ХТ-статусу хворих (рисунком 2). Рівняння мали схожі коефіцієнти регресії:

- без хемотерапії
- Частота А Хс_{unst} = 1,57 + 0,77 · КС ($r = 0,81$; $p < 0,01$),
- після хемотерапії

Таблиця 1

Цитогенетичні пошкодження у лімфоцитах крові хворих на рак грудної залози до і наприкінці променевої терапії залежно від присутності допроменевої хемотерапії у схемі лікування

Етап ПТ	ХТ-статус (кількість осіб)	Проаналізовано клітин		Середня частота на 100 клітин ± SE (інтервал індивідуальних значень)					
		всього	нормоплоїди	Аб Кл	А Хс	Диц+ЦКфр	А Хт	ГП б/а	ГП аб
До ПТ	ХТ ⁻ (10)	3459	3456	2,49 ± 0,52 (0–4,42)	1,62 ± 0,42 (0–2,72)	0,15 ± 0,13 (0–0,34)	0,98 ± 0,33 (0–1,70)	0,09 ± 0,10 (0–0,56)	0,00(0)
	ХТ ⁺ (10)	3622	3609	3,69 ± 0,64 (1,19–8,87)	2,24 ± 0,50 (0,31–5,42)	0,44 ± 0,22 (0–1,48)	2,02 ± 0,47 (0–8,00)	0,36 ± 0,20 (0–1,07)	0,00(0)
Наприкінці ПТ	ХТ ⁻ (13)	3102	3083	15,89 ± 1,15 (4,62–30,28)	19,14 ± 1,26 (4,15–40,61)	10,15 ± 0,92 (1,66–24,18)	1,23 ± 0,32 (0–5,50)	0,52 ± 0,21 (0–5,15)	0,10 ± 0,09 (0–1,03)
	ХТ ⁺ (10)	2352	2329	16,53 ± 1,36 (9,84–25,00)	19,45 ± 1,47 (9,29–34,09)	10,48 ± 1,08 (6,01–23,86)	1,93 ± 0,46 (0–3,28)	0,68 ± 0,28 (0–2,03)	0,30 ± 0,18 (0–1,41)

Примітки: SE — стандартна похибка середнього; ХТ⁻ — без хемотерапії; ХТ⁺ — після хемотерапії; Аб Кл — абераційні клітини; А Хс — аберації хромосомного типу; Диц+ЦК фр — дицентрики і центричні кільця із супутніми фрагментами; А Хт — аберації хроматидного типу; ГП_{б/а} — геномні порушення (поліплоїди та ендореплікації) без аберацій; ГП_{аб} — абераційні геномні порушення.

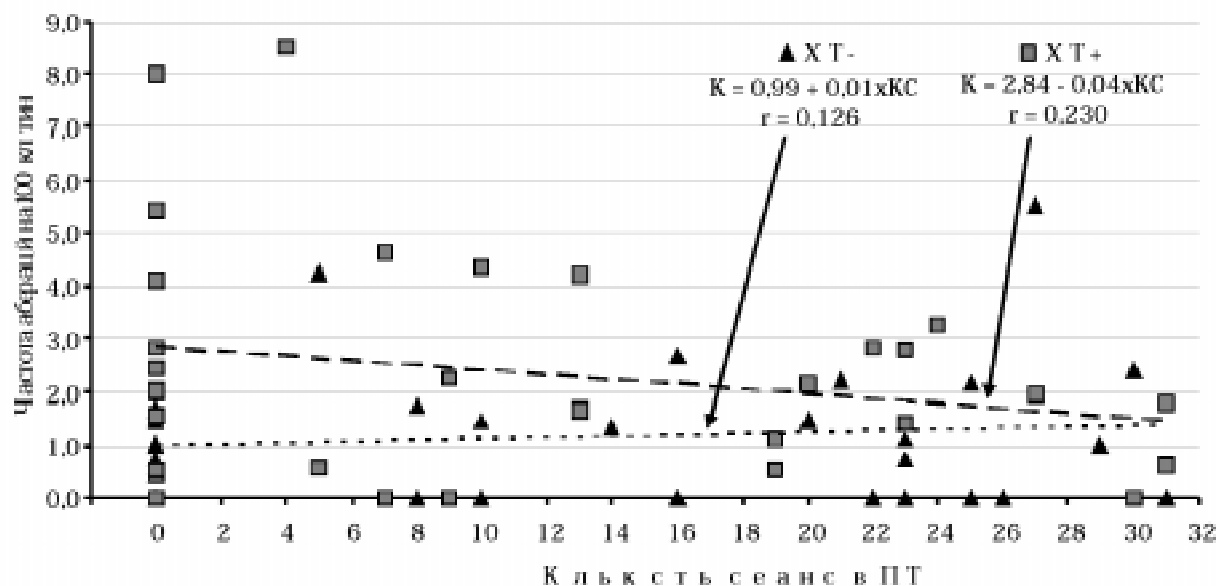


Рисунок 1. Динаміка частоти аберацій хроматидного типу під час променевої терапії у хворих на рак грудної залози залежно від присутності хемотерапії у програмі протипухлинного лікування

Примітка. Лінійні регресії представлено рівняннями (K — частота аберацій, KC — кількість сеансів ПТ, r — коефіцієнт лінійної кореляції) і вказано відповідними стрілками для груп хворих без хемотерапії (X T⁻) та з хемотерапією (X T⁺).

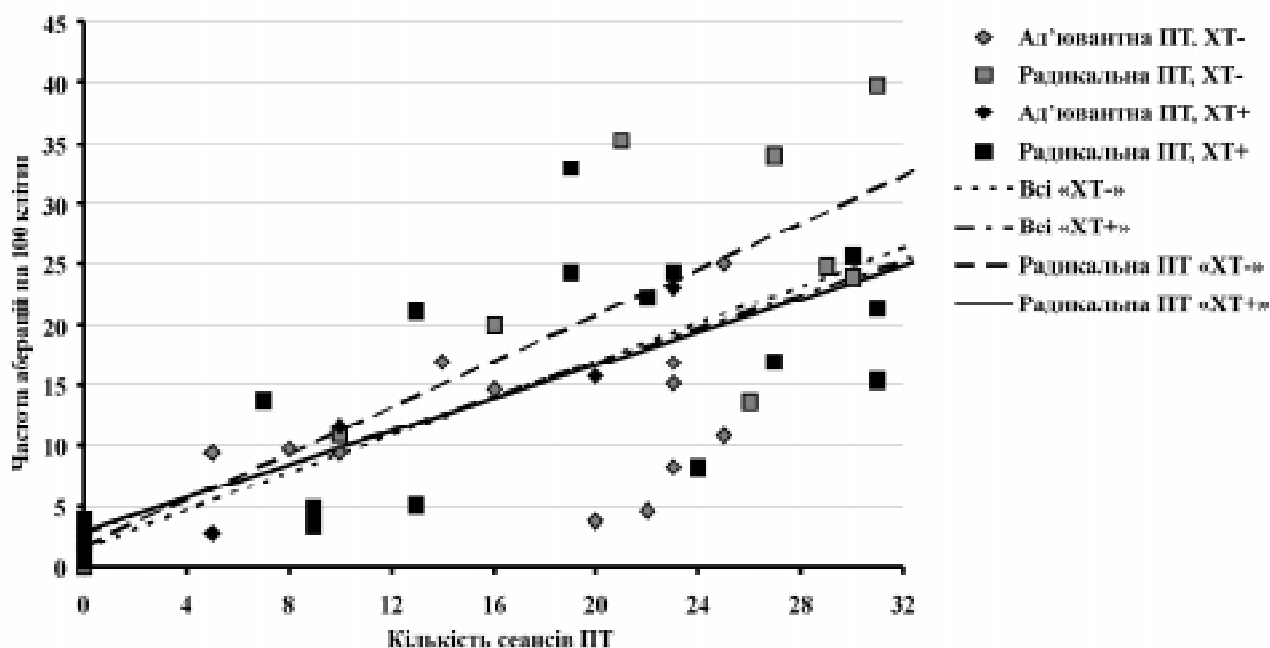


Рисунок 2. Вплив допроменевої хемотерапії на зміни частоти радіаційно-індукованих нестабільних аберацій хромосомного типу під час курсу опромінення у хворих, лікованих за ад'ювантною та радикальною програмами променевої терапії (рівняння лінійних регресій наведено в тексті)

Частота $A X_{c_{unst}} = 2,83 + 0,70 \cdot KC (r = 0,81; p < 0,01)$, де KC — кількість сеансів ПТ.

Аналогічний аналіз було проведено окремо для пацієнтів, лікованих за радикальною програмою ПТ. Вданому випадку:

• без хемотерапії

Частота $A X_{c_{unst}} = 1,71 + 0,98 \cdot KC (r = 0,90; p < 0,01)$,

• після хемотерапії

Частота $A X_{c_{unst}} = 3,08 + 0,68 \cdot KC (r = 0,78; p < 0,01)$.

У літературі є повідомлення про те, що введення цитостатичних хемопрепаратів при лікуванні онкозахворювань,

зокрема РГЗ, викликає пошкодження ДНК, значно підвищує рівень сестринських хроматидних обмінів та помірно — частоту аберацій хромосом у лімфоцитах крові хворих [5–10]. Водночас у цих роботах відмічалося зниження мітогічної активності лімфоцитів у культурі та висока міжіндивідуальна варіабельність виходу пошкоджень геному за дії антинеопластичних ліків *in vivo*. В цілому це збігається із результатами наших спостережень у пацієнток до ПТ.

Існують нечисленні дослідження впливу хемотерапії на цитогенетичні показники в умовах променевого лікування.

За результатами обстеження хворих на РГЗ під час ад'ювантної ПТ автори [10] дійшли висновку, що допроменева хемотерапія не змінювала радіаційно-індукований вихід стабільних аберацій хромосом *in vivo*, і для рівнів цитогенетичних пошкоджень, викликаних дією хемопрепаратів і наступним опроміненням, визначався суто адитивний ефект. У продовженні цього дослідження взагалі не було знайдено різниці в частоті аберацій хромосом в середині і в кінці курсу ад'ювантної ПТ між групами хворих на РГЗ, які отримували і не отримували хемотерапію [11].

Проте, в умовах лікування хворих на РГЗ за радикальною програмою ПТ із допроменевою хемотерапією спостерігали нижчу частоту радіаційно-індукованих аберацій після курсу опромінення, порівняно із групою без хемотерапії [12]. Така картина загалом збігається із нашим висновком щодо відмінностей динаміки цитогенетичних ефектів під час курсу ПТ між групами хворих «ХТ⁺» і «ХТ⁻», які отримували променево-лікування за радикальною програмою.

При визначенні можливих механізмів впливу хемотерапії на динаміку рівнів цитогенетичних показників під час ПТ слід урахувати дані [10, 13] про те, що дія цитостатиків *in vivo* не змінює ефективності репарації ДНК і вихід АХс_{unst} у лімфоцитах хворих на РГЗ при опроміненні їхньої крові *in vitro*. На фоні такої нездатності змінювати радіочутливість геному, відомо, що протипухлинні цитостатичні препарати, зокрема при введенні *in vivo*, викликають значну активацію апоптозу в зрілих лімфоцитах крові людини [14]. Звідси можна припустити наявність адитивного ефекту щодо індукції апоптотичної загибелі лімфоцитів унаслідок хемотерапевтичного впливу за умов дії радіації, оскільки в такому разі клітини із радіаційно-індукованими цитогенетичними пошкодженнями будуть підлягати негативній селекції порівняно з умовами без допроменевої хемотерапії. Це видається найбільш імовірним механізмом, який спричинив у нашій роботі парадоксальну картину — дещо уповільнене накопичення радіаційно-індукованих АХс_{unst} під час ПТ у хворих групи «ХТ⁺» (тобто, в осіб із більшим мутагенним навантаженням). Даний феномен слід обов'язково враховувати при інтерпретації результатів цитогенетичного моніторингу онкохворих за умов комбінованого лікування.

Отже, можна зробити висновки, що проведення хемотерапії до початку променевого лікування у хворих на РГЗ було асоційованим із незначним підвищенням частоти аберацій хромосомного і хроматидного типів та геномних порушень у лімфоцитах крові пацієнток у допроменевому контролі.

Групова динаміка рівнів радіаційно-неспецифічних показників — рівня аберацій хроматидного типу і геномних порушень — під час променевої терапії не мала істотних відмінностей у хворих з хемотерапією та без неї.

Накопичення частоти радіаційно-індукованих нестабільних аберацій хромосомного типу під час курсу опромінення, зокрема при радикальній програмі променевої терапії, було менш інтенсивним у хворих, які отримували хемотерапію, ніж у осіб без хемотерапевтичного впливу.

Література

1. Wojcik A., Stephan G., Sommer S. et al. // *Radiat. Res.* – 2003. – Vol. 160. – P. 677–683.
2. Ainsbury E.A., Livingston G.K., Abbott M.G. et al. // *Ibid.* – 2009. – Vol. 172. – P. 746–752.
3. Вінніков В.А., Мазник Н.О., Сипко Т.С., Пшенічна Н.Д. // *УРЖ.* – 2012. – Т. XX, вун. 2. – С. 136–140.
4. *Cytogenetic analysis for radiation dose assessment. A manual. IAEA Techn. Report Series № 405.* – Vienna: IAEA, 2001. – 127 p.
5. Kopjar N., Garaj-Vrhovac V., Milas I. // *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.* – 2002. – Vol. 22. – P. 13–30.

6. Kopjar N., Milas I., Garaj-Vrhovac V., Gamulin M. // *Clin. Exp. Med.* – 2006. – Vol. 6. – P. 177–190.
7. Kopjar N., Milas I., Garaj-Vrhovac V., Gamulin M. // *Hum. Exp. Toxicol.* – 2007. – Vol. 26. – P. 391–399.
8. Sánchez-Subrez P., Ostrosky-Wegman P., Gallegos-Hernández F. et al. // *Mutat. Res.* – 2008. – Vol. 640. – P. 8–15.
9. Resende P.A., Fidalgo C., Alves P.M. et al. // *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* – 2010. – Vol. 31. – P. 75–79.
10. Legal J.D., De Crevoisier R., Lartigau E. et al. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2002. – Vol. 52, № 5. – P. 1186–1195.
11. d'Alesio V., Pacelli R., Durante M. et al. // *Ibid.* – 2003. – Vol. 57, № 3. – P. 732–738.
12. Rigaud O., Guedeney G., Duranton I. et al. // *Mutat. Res.* – 1990. – Vol. 242. – P. 17–23.
13. Rigaud O., Guedeney G., Duranton I. et al. // *Ibid.* – 1990. – Vol. 242. – P. 25–35.
14. Stahnke K., Fulda S., Friesen C. et al. // *Blood.* – 2001. – Vol. 98. – P. 3066–3073.

Л.О. Гайсенюк, Н.О. Мазник, Г.В. Кулініч,
Л.Л. Стадник

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

Цитогенетичні ушкодження при радіаційно-індукованих професійних раках легень у гірників уранових шахт

Cytogenetic lesions at radiation induced occupational lung cancer in uranium miners

Summary. The examination of the group of uranium miners with occupational lung cancer and miners without cancer showed an increased level of radiation induced disorders of the chromosomal apparatus of the cells when compared with the cytogenetic indices of the controls. Reduction in the level of cytogenetic disorders was not observed when the work at the mine was discontinued.

Key words: radiation induced occupational cancer, cytogenetic disorders, chromosome aberrations of chromosomal and chromatide types, genome disorders.

Резюме. Обследование групп горняков урановых шахт, больных профессиональным раком органов дыхания, и горняков без онкопатологии показало повышенный уровень радиационно-индуцированных нарушений хромосомного аппарата клеток по сравнению с цитогенетическими показателями контрольной группы. С прекращением работы на шахтах снижение уровня цитогенетических повреждений не наблюдалось.

Ключевые слова: радиационно-индуцированный профессиональный рак, цитогенетические повреждения, аберации хромосом хромосомного и хроматидного типов, геномные нарушения.

Ключові слова: радіаційно-індукований професійний рак, цитогенетичні ушкодження, аберації хромосом хромосомного та хроматидного типів, геномні порушення.

Сучасні уявлення про етіологію онкологічних захворювань ґрунтуються на теорії екзогенних впливів на людину канцерогенних агентів унаслідок техногенного забруднення довкілля та експозиції ними працюючих на виробництвах. Спостерігається високий ризик виникнення онкологічних захворювань серед працівників канцеронебезпечних підприємств. Так, за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я та Міжнародної організації праці, онкологічна