DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.4.2021.48-64>
УДК: 615.849:575.22

Особливості цитогенетичних ефектів у онкологічних пацієнтів при променевій терапії на фоні попереднього радіаційного впливу

Мазник Н.О., ORCID: 0000-0002-3216-1330, e-mail: natalie.maznyk@gmail.com
Сипко Т.С., ORCID: 0000-0002-1788-9235, e-mail: tatyana.sypko@yandex.ua
Старенький В.П., ORCID: 0000-0002-6600-3381, e-mail: starenkiy.victor@gmail.com
Гукова І.М., ORCID: 0000-0002-9702-9269, e-mail: tatyana.sypko@yandex.ua
Артюх С.В., ORCID: 0000-0002-7189-3614, e-mail: artiukshegii@ukr.net
Черкаско Л.В., ORCID: 0000-0003-0016-0277, e-mail: ludacherkasko@gmail.com

Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва
Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

Features of cytogenetic effects in oncological patients during radiotherapy with prior radiation exposure

Maznyk N.O., ORCID: 0000-0002-3216-1330, e-mail: natalie.maznyk@gmail.com
Sypko T.S., ORCID: 0000-0002-1788-9235, e-mail: tatyana.sypko@yandex.ua
Starenkiy V.P., ORCID: 0000-0002-6600-3381, e-mail: starenkiy.victor@gmail.com
Hukova I.M., ORCID: 0000-0002-9702-9269, e-mail: tatyana.sypko@yandex.ua
Artiukh S.V., ORCID: 0000-0002-7189-3614, e-mail: artiukshegii@ukr.net
Cherkasko L.V., ORCID: 0000-0003-0016-0277, e-mail: ludacherkasko@gmail.com

State of Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

аберації хромосом, геномні порушення, лімфоцити, онкологічні хворі, дистанційна променева терапія, повторне опромінення.

Для кореспонденції:

Мазник Наталія Олександрівна
Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва
Національної академії медичних наук України», лабораторія радіаційної цитогенетики;
вул. Пушкінська, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: natalie.maznyk@gmail.com

© Мазник Н.О., Сипко Т.С.,
Старенький В.П., Гукова І.М.,
Артюх С.В., Черкаско Л.В., 2021

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Променева терапія, як один з найбільш ефективних засобів боротьби з онкопатологією, може застосовуватися неодноразово для лікування онкологічних хворих. Проте даних щодо дослідження впливу попереднього радіаційного опромінення на подальший перебіг цитогенетичних пошкоджень за дії радіаційного чинника існує досить небагато. Крім того, радіотерапевтичне лікування як первинне, так і повторне, є прикладом складного сценарію фракціонованого опромінення, дослідження якого має фундаментальне та практичне значення для розуміння складних процесів утворення та елімінації цитогенетичних маркерів радіаційного впливу для подальшого вдосконалення системи біодозиметрії та розробки підходів індивідуалізації променевої терапії.

Мета роботи – визначення характеру змін радіаційно-індукованих цитогенетичних пошкоджень та геномних порушень у пацієнтів з пухлинами голови та шиї та раком легень під час променевої терапії на фоні попереднього променевого лікування.

Матеріали та методи дослідження. Обстежено 29 хворих на рак легень та з пухлинами голови та шиї, з яких 16 отримували променеву терапію вперше, а 13 – повторно. За допомогою цитогенетичного тесту досліджено зміни частот аберацій хромосомного типу та геномних порушень впродовж дистанційної променевої терапії.

Результати та їх обговорення. У обстежених хворих допроменевий рівень цитогенетичних пошкоджень перевищував спонтанний. При цьому частота аберацій хромосом у хворих, які зазнали попереднього радіаційного впливу була достовірно вище, ніж у пацієнтів, які не отримували раніше променевого лікування, та залежала від проміжку часу між курсами променевої терапії. Показано зростання рівня радіаційно-індукованих цитогенетичних пошкоджень впродовж всього курсу променевого лікування онкологічних хворих незалежно від попереднього терапевтичного опромінення. За рахунок досить високого рівня хромосомних пошкоджень у групі вторинних хворих на початку лікування, темпи приросту аберацій хромосомного типу були вище у групі первинних хворих. Розподіли маркерів радіаційного впливу по клітинах при променевому лікуванні були наддисперсними за статистикою Пуассона у обох досліджуваних групах. Зміни частоти геномних порушень мали переважно флуктуаційний характер.

Висновки. У вторинних пацієнтів рівень цитогенетичних показників до променевого лікування перевищував показники у первинних хворих. Рівень хромосомних пошкоджень зростав впродовж курсу променевої терапії як у первинних, так і вторинних

пацієнтів, але із різною швидкістю. Додатковий генотоксичний вплив повторного опромінення проявлявся тільки у вигляді більшої максимальної кількості аберацій на абераційну клітину у вторинних хворих. За темпами зростання цитогенетичних пошкоджень не виявлено більшого генотоксичного ефекту від повторної променевої терапії на фоні попереднього променевого лікування.

Для цитування:

Мазник Н.О., Сипко Т.С., Старенький В.П., Гукова І.М., Артук С.В., Черкаска Л.В. Особливості цитогенетичних ефектів у онкологічних пацієнтів при променевої терапії на фоні попереднього радіаційного впливу. *Український радіологічний та онкологічний журнал*. 2021. Т. 29. № 4. С. 48–64. DOI <https://doi.org/10.46879/ukroj.4.2021.48-64>

Key words:

chromosome aberrations, genomic disorders, lymphocytes, oncological patients, external beam radiation therapy, reirradiation.

For correspondence:

Maznyk Nataliia Oleksandrivna
State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Radiation Cytogenetics Laboratory;
82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;
e-mail: natalie.maznyk@gmail.com

© Maznyk N.O., Sypko T.S.,
Starenkyi V.P., Hukova I.M.,
Artiukh S.V., Cherkasko L.V., 2021

ABSTRACT

Background. Radiotherapy can be used numerous times for treating oncological patients as one of the most effective ways of fighting against cancer. However, there is limited data on the effect of prior radiation exposure on the further development of cytogenetic alterations under the influence of radiological factors. Primary radiation treatment, as well as the second one, is an example of a complex scenario of fractionated irradiation, examination of which is of fundamental and practical importance for understanding complex processes of formation and elimination of cytogenetic markers of radiation exposure for further improvement of biodosimetry system and development of personalised radiotherapy.

Purpose. To determine the nature of changes of radiation-induced cytogenetic alterations and genomic disorders in patients with lung, head and neck cancer during radiotherapy on the background of prior radiation exposure. during radiotherapy with prior radiation exposure.

Materials and methods. 29 oncological patients with lung, head and neck cancer were examined. 16 of them received radiotherapy for the first time, and 13 – for the second. We studied chromosome aberration frequency and genomic disorders during external beam radiation therapy by cytogenetic test.

Results. In the patients pre-irradiation level of cytogenetic injuries exceeded spontaneous level. In addition, chromosome aberration frequency in the patients, who had received prior radiation exposure, was significantly higher than those who had not been treated with radiotherapy. It depended on the period between radiotherapy treatment courses. The increase in level of radiation-induced cytogenetic injuries during the whole radiotherapy treatment course of patients was observed, regardless of prior therapeutic exposure. Under quite a high level of chromosome damage in the group of secondary patients at the beginning of the treatment, chromosome aberration increase rates were higher than in the group of the primary patients. The distribution of markers of radiation exposure over cells during radiotherapy was overdispersed according to Poisson statistics in both of the groups. The changes in the frequency of genomic disorders were mostly of fluctuating nature.

Conclusions. In the secondary patients, the level of cytogenetic indexes before radiotherapy exceeded the indexes of the primary patients. The level of chromosome damage increased during the radiotherapy treatment course in both primary and secondary patients, but at different rates. The additional genotoxic effect of reirradiation manifested itself only in a greater maximum quantity of aberrations per aberrant cell in the secondary patients. In terms of increased rates of cytogenetic injuries, a more significant genotoxic effect from the second radiotherapy on the background of prior radiation exposure was not detected.

For citation:

Maznyk NO, Sypko TS, Starenkyi VP, Hukova IM, Artiukh SV, Cherkasko LV. Features of cytogenetic effects in oncological patients when using radiotherapy on the background of prior radiation exposure. *Ukrainian journal of radiology and oncology*. 2021;29(4):48–64. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.4.2021.48-64>

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами

Стаття є фрагментом планових науково-дослідних робіт Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України» «Визначення особливостей реалізації цитогенетичних ефектів променевої терапії у пацієнтів з різними обсягами та режимами опромінення», номер державної реєстрації 0116U001003, шифр НАМН.01.16, фундаментальна, термін виконання 2016–2018 рр., «Встановити закономірності генотоксичного впливу хімічного та радіаційного чинників на

Relationship with academic programs, plans and themes

The paper is a fragment of the planned research projects of State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» which are «Determination of cytogenetic effects features of radiotherapy in patients at different volumes and regimen of irradiation» (state registration number: 0116U001003, code: HAMH.01.16, fundamental, period for performance: 2016 – 2018), «Establishing the patterns of genotoxic influence of chemical and radiological factors on cytogenetical

цитогенетичні ефекти променевої терапії у онкологічних хворих *in vivo* та *ex vivo*» номер державної реєстрації 0118U001714, шифр НАМН.01.19, фундаментальна, термін виконання 2019–2021 рр., керівник – завідувачка лабораторії радіаційної цитогенетики, доктор біологічних наук Н.О. Мазник.

effects of radiotherapy in oncological patients *in vivo* and *ex vivo*» (state registration number 0118U001714, code НАМН.01.19, fundamental, period for performance: 2019 – 2021). Led by Head of Radiation Cytogenetics Laboratory, Doctor of Biological Sciences N.O. Maznyk.

ВСТУП

Променева терапія, як один з найбільш ефективних засобів боротьби з онкопатологією, може застосовуватися неодноразово для лікування онкологічних хворих. Із розвитком методів протипухлинного лікування зростає тривалість життя онкологічних хворих і дуже актуальним постає питання оцінки прямих та опосередкованих генотоксичних ефектів, які виникають у непухлинних клітинах пацієнтів [1]. У науковому світі йде пошук предиктивних маркерів радіочутливості як для пухлинних, так і для непухлинних тканин [2, 3]. Ми вважаємо, що поряд з пошуком нових маркерів, необхідно і надалі вивчати визнані маркери дії радіації, оскільки це дасть можливість аналізувати складні сценарії радіаційного впливу на людину, а променева терапія за своїми протоколами як раз і є прикладом складних сценаріїв опромінення.

Цитогенетичні тести є потужним інформативним засобом для здійснення цієї оцінки. Проводиться вивчення цитогенетичних ефектів у пацієнтів під час та після променевої терапії, здебільшого на окремих етапах із застосуванням класичного хромосомного аналізу, мікроядер, FISH-транслокацій [4–6]. Є роботи, присвячені спробам проведення біологічної дозиметрії за цитогенетичним аналізом у променевій терапії, але це потребує відбору пацієнтів без попереднього променевого впливу [7]. Існують дані, що зміни цитогенетичних показників при променевій терапії (ПТ) залежать від локалізації пухлини, схеми променевого лікування, джерела опромінення [8, 9]. Найбільш доказано є різниця ефектів зовнішнього опромінення з різною лінійною передачею енергії [10]. На процес накопичення хромосомних пошкоджень у лімфоцитах може впливати також модифікація схем променевої терапії. Існує невелика кількість робіт з вивчення ефектів хіміопроменевого лікування [11, 12]. Але майже невивченим є питання щодо попереднього радіаційного впливу на динаміку змін цитогенетичних порушень в онкологічних пацієнтів з різними локалізаціями пухлин при дистанційній променевій терапії. Отримання цієї інформації не тільки розширить наукову базу променевої терапії, а і зробить внесок до системи цитогенетичної біодозиметрії складних випадків опромінення.

Мета роботи – визначення характеру змін радіаційно-індукованих цитогенетичних пошкоджень та геномних порушень у пацієнтів з пухлинами голови та шиї та раком легень під час променевої терапії на фоні попереднього променевого лікування.

INTRODUCTION

Radiotherapy can be used numerous times for treating oncological patients as one of the most effective ways of fighting against cancer. With the development of methods of antitumor treatment, the life span of oncological patients has been increasing, thus the problem of estimating direct and indirect genotoxic effects, which occur in non-tumor cells of patients [1]. The predictive markers of radiosensitivity for both tumor and non-tumor cells are actively searched for in the scientific community [2, 3]. It appears necessary to us to study already discovered radiation markers apart from searching for new ones because it will allow analyzing complex scenarios of radiation effect on people, and radiotherapy according to its protocols is an example of different scenarios of irradiation.

Cytogenetic tests are an efficient and informative method for its estimation. Cytogenetic effects are analyzed in patients mostly during different stages of radiotherapy or after it using classical chromosomal analysis, micronuclei, FISH-translocations [4–6]. There are works dedicated to performing biological dosimetry based on cytogenetic analysis in radiotherapy, but it requires the selection of patients without prior radiation exposure [7]. There are data on the fact that changes in cytogenetic indexes under radiotherapy depend on tumor localization, radiation therapy pattern, irradiation source [8, 9]. The difference of effects of external irradiation with different linear energy is the most proven [10]. The accumulation of chromosome injuries can also be affected by modifying radiotherapy patterns. There is a small number of works concerning the effects of chemoradiation treatment [11, 12]. However, the problem of prior radiation exposure influence on dynamics of changes of cytogenetic disorders in oncological patients with different tumor localization under external beam radiation therapy is almost unresearched. Obtaining this information will expand the scientific base of radiotherapy and contribute to the system of cytogenetic biodosimetry for complex irradiation cases.

Purpose. The objective of the work is to determine the nature of changes of radiation-induced cytogenetic injuries and genomic disorders in patients with lung, head and neck cancer during radiotherapy on the background with prior radiation exposure.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для цитогенетичного дослідження було залучено 29 онкологічних пацієнтів віком від 42 до 85 років, середній вік становив 65,8 року. Серед обстежених було 9 хворих на рак легень (РЛ) та 20 пацієнтів з пухлинами голови та шиї (РГШ), які отримували дистанційну променеву терапію у відділі радіології Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології імені С.П. Гри-

MATERIALS AND METHODS

29 oncological patients aged from 42 to 85 (average age – 65,8) were engaged in cytogenetic assay. Among the patients, 9 had lung cancer and 20 had head and neck tumors. They received external beam radiation therapy as a cancer treatment in Radiology Department of State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of

гор'єва Національної академії медичних наук України». Згідно з цитологічним або патогістологічним висновком у частини хворих верифіковано недрібноклітинний рак легені, у інших пацієнтів діагностовано плоскоклітинну карциному голови та шиї. Всіх хворих було розподілено на дві групи. Групи було підбрано з максимальною відповідністю до типу захворювання та віку пацієнтів, щоб критерієм розподілу була тільки наявність попереднього радіотерапевтичного лікування.

Перша група (група 1) складалася з 16 пацієнтів (5 хворих на РЛ та 11 хворих на РГШ), що раніше не отримували лікування з приводу онкопатології (так звані первинні пацієнти). Вік хворих коливався у діапазоні 44–84 роки, а середній вік дорівнював 65,5 р.

Серед хворих на рак легені були всі чоловіки з II–III стадією онкозахворювання. Пацієнтів з пухлинами голови та шиї було 9 чоловіків та 2 жінки з I–IV стадією розповсюдження онкологічного процесу. Після передпроменевої підготовки з використанням 3D-планувальної системи Eclipse всім онкохворим курс мегавольтової променевої терапії було проведено на лінійному прискорювачі електронів Clinac 600C з разовою осередковою дозою (РОД) 2 Гр до сумарної осередкової дози (СОД) 40–44 Гр.

Група 2 налічувала 13 хворих віком 42–85 років (середній вік 66,1 р.): з раком легені – 4 пацієнти та з пухлинами голови та шиї – 9 осіб, які до цитогенетичного обстеження та початку променевої терапії з приводу рецидиву онкологічного захворювання вже отримували попереднє променеве лікування (так звані вторинні пацієнти). Повторне опромінення хворим проводилось після діагностики рецидиву захворювання в строки від 6 до 96 місяців, в середньому – 39,7 міс.

Всі хворі на рак легені II стадії були чоловічої статі, з яких три отримували лікування на лінійному прискорювачі Clinac 600C (енергія фотонного випромінювання 6 MeV) та один – на гамма-терапевтичному апараті РОКУС-АМ (енергія фотонного випромінювання 1,25 MeV). Всі пацієнти на попередньому етапі отримали променеву терапію з РОД 2,0 Гр до СОД 40–66 Гр за два етапи лікування. При повторному курсі СОД складала від 40 до 50 Гр. У зону опромінення входили ділянки рецидиву пухлини та уражені лімфатичні вузли середостіння. При променевої терапії не відмічено виражених променевих ускладнень, які могли б вплинути на тривалість лікування.

Серед хворих з пухлинами голови та шиї було 7 пацієнтів чоловічої статі та 2 пацієнтки жіночої статі. СОД при первинному опроміненні складала від 45 до 70 Гр за 2 етапи. Зона первинного опромінення включала безпосередньо пухлину та лімфовузли шиї. Усім хворим після діагностування локального рецидиву захворювання за рішенням консилиуму була проведена променева терапія. Планування опромінення всіх хворих проводилось у тривимірній планувальній системі Eclipse на основі даних комп'ютерної томографії. Всі пацієнти, для яких було проведено вивчення динаміки змін цитогенетичних показників у процесі радіотерапії, отримали курс дистанційної променевої терапії при РОД 2 Гр до СОД 34–60 Гр на лінійному прискорювачі Clinac 600C, за винятком одного пацієнта, який отримав променеву терапію на апараті РОКУС-АМ. При повторному опроміненні в обсяг лікування включалась лише зона рецидиву, профілактичне опромінення лімфовузлів шиї не прово-

Medical Sciences of Ukraine». According to cytologic or histopathological conclusions, non-small-cell lung cancer was verified in some patients, the others were diagnosed with squamous cell carcinoma of the head and neck. All the patients were distributed among the two groups. The groups were assorted with maximum matching to a type of disease and age of the patients, for the only division criterion to be occurrence of prior radiotherapy.

The first group (group 1) consisted of 16 patients (5 with lung cancer and 11 with head and neck cancer), who hadn't received cancer treatment (the so-called primary patients). The age of patients ranged from 44 to 84 years, and the average age was 65,5 years.

All the patients with lung cancer were males with stage II–III oncological disease. In the patients with head and neck tumors, 9 males and 2 females, I–IV stage of oncological process development was observed. After preirradiation preparation with the use of 3D-planning system Eclipse, all the oncological patients received megavoltage therapy by the means of linear electron accelerator Clinac 600C with a single mediated dose of 2 Gy to the total mediated dose of 40–44 Gy.

Group 2 numbered 13 patients aged from 42 to 85 years (average age – 66,1): 4 of them had lung cancer and 9 – head and neck tumors. Before the cytogenetic assay and radiotherapy for cancer recurrence they had received radiation exposure, thus they were called the secondary patients. Reirradiation of patients was performed after the diagnosis of disease recurrence within timeframes from 6 to 96 months, 39,7 months on average.

All the patients with stage II lung cancer were males, three of whom were treated with the use of linear accelerator Clinac 600C (photon radiation energy amounted to 6 MeV) and one – with the use of gamma-therapeutic apparatus ROCUS-AM (photon radiation energy amounted to 1,25 MeV). All the patients received radiotherapy with a single mediated dose of 2,0 Gy at the previous stage, and the total mediated dose of 40–66 Gy after two stages of treatment. The total mediated dose during retreatment ranged between 40 and 50 Gy. The regions of tumor recurrence and affected mediastinal lymph nodes were included in the radiation area. No marked radiation complications, which could have impacted on treatment duration, were detected during radiotherapy.

Among the patients with head and neck tumors, there were 7 males and 2 females. Total mediated dose ranged between 45 and 70 Gy after 2 stages of first-time irradiation. The radiation area included the tumor and neck lymph nodes. All the patients received radiotherapy after having been diagnosed with local disease recurrence according to the decision of board of doctors. Irradiation planning of all the patients was conducted in a three-dimensional planning system Eclipse on the basis of computer tomography data. All the patients, for whom the analysis of dynamic patterns of cytologic indexes in the process of radiotherapy was conducted, received external beam radiation therapy at the single mediated dose of 2 Gy and total mediated dose of 34 to 60 Gy on linear accelerator Clinac 600C, except for one patient, who received radiotherapy on the apparatus ROCUS-AM. During reirradiation, only the area of recurrence was treated, and prophylactic irradiation of neck lymph nodes wasn't performed. During the radiation treatment course the patients had radioreactions of 1–3 toxicity stage in the form of dermatitis and mucositis, but they didn't lead to the radiotherapy treatment course breaks.

дилось. При проведенні променевого лікування у хворих виникали променеві реакції 1–3 ступеня токсичності у вигляді дерматитів та мукозитів, але це не призводило до перерв у курсі променевої терапії.

Методика проведення цитогенетичного дослідження

Дослідження цитогенетичних показників проводилися в атестованій лабораторії радіаційної цитогенетики Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України».

У пацієнтів обох груп, сформованих в залежності від наявного попереднього променевого лікування, проводили забір крові на декількох етапах променевої терапії: до початку терапевтичного опромінення, в середині та наприкінці циклу опромінення, де сумарна осередкова доза (СОД) складала, відповідно, 20–22 Гр та 40–50 Гр. Межі точок обстеження було визначено за кількістю сеансів дистанційної променевої терапії.

Культивування лімфоцитів периферичної крові проводили згідно зі стандартною методикою [13]. Цільну гепаринізовану кров від онкопацієнтів в об'ємі 0,5 мл додавали до культуральної суміші, яка містила 4 мл середовища Ігла та RPMI 1640 (1 : 1), бромдезоксириндин у масовій концентрації 0,5 мкг/мл, 1 мл сироватки великої рогатої худоби та фітогемаглютинін у концентрації, визначеній фірмою-виробником. Культивування культур лімфоцитів здійснювали при температурі 37,5°C впродовж 50–54 год. За 4 год до закінчення культивування вносили розчин колхіцину або колцеміду у масовій концентрації 0,1 мкг/мл. Після гіпотонічної обробки розчином KCl фіксацію клітин проводили у суміші метанолу та крижаної оцтової кислоти (3 : 1). Суспензію клітин наносили на предметне скло, висушували за кімнатної температури та забарвлювали за допомогою Гімза- або флуоресцентного-плюс-Гімза (FPG) забарвлення [13].

Метафазні препарати аналізували за однаковими критеріями із застосуванням світлових мікроскопів або системи пошуку зображень. При аналізі реєстрували весь спектр аберацій хромосом (А Хр), які можливо було розпізнати в аберантних клітинах (А Кл). Для розпізнавання цитогенетичних пошкоджень використовували міжнародні стандарти [13]. На точках дослідження спектр цитогенетичних аномалій складався із дицентриків (Диц) і кільцевих хромосом (ЦК) із супутніми фрагментами (фр), вільних хромосомних фрагментів (Ац Фр), транслокацій, хроматидних обмінів, хроматидних фрагментів, гіперплоїдних клітин (Гіп) та поліплоїдів (Ппл). Гіплоїдні клітини до геномних порушень не відносили оскільки значна частка таких клітин може виникати внаслідок методологічних особливостей приготування хромосомних препаратів. Всього було проаналізовано 18715 клітин.

Статистичний аналіз отриманих результатів

При проведенні статистичного аналізу отриманих даних визначали середні рівні ($\bar{Y}$) аберантних клітин кожного виду аберацій хромосом чи їх комбінацій у розрахунку на 100 проаналізованих нормоплоїдних клітин незалежно від номеру мітозу (так званий Гімза-еквівалент). Стандартні похибки середніх рівнів цитогенетичних пошкоджень (SE) обчислювали з урахуванням дисперсії поклітинних розподілів аберацій (σ^2) в об'єднаних вибірках метафаз. Відповідність розподілу

Procedure of conducting cytologic analysis

The studying of cytogenetic indexes was conducted at certified radiation cytogenetics laboratory of State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine».

The patients of both groups, formed according to occurrence of prior radiotherapy, had their blood drawn at several stages of radiotherapy: prior to therapeutic exposure, in the middle and in the end of exposure cycle, when total mediated dose ranged between 20 to 22 Gy and 40 to 50 Gy respectively. The limits of examination areas were defined by the number of external beam radiation therapy sessions.

Lymphocytes of peripheral blood were cultivated according to standardized procedure [13]. Heparinized whole blood of the patients in the volume of 0,5 ml was added to cultural fluid which contained 4 ml of Eagle's medium and RPMI 1640 (1 : 1), bromodeoxyuridine at mass concentration of 0,5 $\mu\text{g/ml}$, 1 ml of whey of cattle and phytohemagglutinin at concentration determined by producer company. The cultivation of lymphocyte culture was being performed at the temperature of 37,5°C for 50–54 hours. 4 hours before the end of cultivation, colchicine or colcemid solution at mass concentration of 0,1 $\mu\text{g/ml}$ was added. After hypotonic processing with KCl solution, cell fixation was conducted in the mixture of methanol and glacial acetic acid (3 : 1). Cell suspension was applied on a glass slide, dehydrated at indoor temperature and dyed with Giemsa- or fluorescent plus Giemsa stain [13].

Metaphase preparations were analyzed on the same criteria with the use of light microscopes or image search system. During the analysis the whole spectrum of chromosome aberrations, which were possible to detect in aberrant cells, was noted. Cytogenetic injuries were detected according to worldwide standards [13]. On the points of the analysis the spectrum of cytogenetic abnormalities consisted of dicentrics and ring chromosomes with concomitant fragments, free chromosomal fragments, translocations, chromatid interchanges, chromatid fragments, hyperploid cells, and polyploids. Hyperploid cells weren't regarded as genomic disorders due to the fact that considerable part of cells like those may form as a result of methodological peculiarities of producing chromosome preparations. 18715 cells were analyzed in total.

Statistical analysis of obtained results

When conducting statistical analysis of obtained data, the average numbers of aberrant cells, every type of chromosome aberrations or their combinations per 100 analyzed normoploid cells were estimated, irrespective of mitosis number (the so-called Giemsa equivalent). Standard errors of average numbers of cytogenetic injuries were calculated with consideration of dispersion of cell-to-cell aberration distributions (σ^2) in combined samples of metaphases. The distribution of

аберацій хромосом по клітинах статистичі Пуассона оцінювали за відношенням дисперсії до середнього (σ^2/Y) та за u-тестом Папворта [14]. Вірогідність різниці між середніми значеннями цитогенетичних показників визначали за t-критерієм Стюдента [15].

chromosome aberration over cells was estimated according to Poisson statistics by the ratio of dispersion to average (σ^2/Y) and by Papworth u-test [14]. Probability of difference between average values of cytogenetic indexes was determined by Student's t-test [15].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

RESULTS AND DISCUSSION

Дослідження цитогенетичних пошкоджень у культурах лімфоцитів периферичної крові пацієнтів групи 1 та групи 2 було розпочато з обстеження до початку променевої терапії

До групи 1 увійшли 16 хворих (5 – на рак легені та 11 – з пухлинами голови та шиї), що не отримували раніше протипухлинної терапії. Група 2 налічувала 13 пацієнтів, серед яких було 4 хворих на рак легені та 9 – з пухлинами голови та шиї, які ще до початку цитогенетичного дослідження зазнали попереднього лише променевого лікування або поєднаного з хіміотерапією. У одного з пацієнтів групи 2 (пацієнт А) рівень абераційних клітин та аберацій хромосом значно перевищував середньогрупові та індивідуальні показники. Так зокрема, частота радіаційно-специфічних аберацій хромосомного типу (А Хс) була в 1,5 рази вище за максимальне значення по групі та більш, ніж у 2,5 рази – у порівнянні із середньогруповим рівнем. Тому дані, отримані під час обстеження цього пацієнта, до загальної вибірки не було включено.

Рівень цитогенетичних пошкоджень аналізували у зіставленні з лабораторною групою порівняння, до якої було залучено 30 донорів без онкозахворювань.

Сумарний рівень структурних перебудов і геномних порушень в узагальнених вибірках клітин онкологічних хворих наведено у таблиці 1.

The study of cytogenetic injuries in the cultures of lymphocytes of peripheral blood of the group 1 and group 2 patients was started with examination before radiation therapy.

The group 1 included 16 patients (5 – with lung cancer and 11 – with head and neck tumors), which had not received antitumor therapy. In group 2 there were 13 patients, among whom were 4 patients with lung cancer and 9 – with head and neck tumors. Before the cytogenetic examination they had received prior radiotherapy on its own or combined with chemotherapy. In one of the patients of group 2 (Patient A) the level of aberrant cells and chromosome aberrations significantly exceeded average group and individual indexes. Moreover, radiologically-specific chromosome aberration frequency was 1,5 times higher than maximum value in the group and more than 2,5 times higher in comparison with average value of the group. So the data, that had been obtained during the examination of this patient, were not included in general sample.

The level of cytogenetic injuries was analyzed against laboratory comparison group, which consisted of 30 donors without cancer.

Total level of structural changes and genomic disorders in general samples of cells of oncological patients is given in Table 1.

Таблиця 1. Загальні структурні пошкодження хромосом та геномні порушення в онкологічних хворих до променевого лікування
Table 1. General structural chromosome injuries and genomic disorders in oncological patients before radiotherapy

Група Group	Проаналізовано нормопloidних клітин Normoploid cells analyzed	Y ± SE на 100 клітин / Y ± SE per 100 cells			
		А Кл/Aberrant cells	А Хр Chromosome aberrations	Геномні порушення / Genomic disorders	
				Гін / Hyperploid cells	Ппл / Polyploid cells
Група 1 Group 1	4096	3,17 ± 0,28	3,42 ± 0,29	0,05 ± 0,03	0,17 ± 0,06
Група 2 Group 2	3444	8,77 ± 0,50	13,30 ± 0,62	0,12 ± 0,06	0,12 ± 0,06
Контроль Control value	8000	1,64 ± 0,14	1,65 ± 0,14	0	0,06 ± 0,03

Загальний рівень аберацій перевищував рівень клітин з абераціями як у групі 1, так і у групі 2, що вказує на присутність у досліджуваних вибірках клітин з понад однією аберацією. Але у групі 2 це перевищення було приблизно у 1,5 рази у порівнянні з 1,1 рази у групі 1.

При порівнянні груп онкологічних хворих з групою лабораторного контролю для абераційних клітин та аберацій хромосом спостерігали достовірну різницю ($t = 5,43$ і $t = 6,14$; $p < 0,001$, $t = 17,98$ і $t = 25,17$; $p < 0,001$ для груп 1 та 2, відповідно), що вказує на вищий за контрольні значення загальний рівень структурних хромосомних перебудов до променевої терапії в обох групах пацієнтів незалежно від попереднього лікування. Разом з тим, для зазначених показників різниці була також достовірною при зіставленні груп хворих між собою ($t = 10,11$ і $t = 15,18$; $p < 0,001$, відповідно).

The total level of aberrations exceeded level of aberrant cells in both group 1 and group 2, therefore it indicated the presence of the cells with more than one aberration in the examined samples. But in group 2 there was approximate 1,5 times-excess in comparison with 1,1 in group 1.

When comparing groups of oncological patients with laboratory control group, relevant difference was observed for aberrant cells and chromosome aberrations ($t = 5,43$ and $t = 6,14$; $p < 0,001$, $t = 17,98$ and $t = 25,17$; $p < 0,001$ for groups 1 and 2, respectively), which indicated general level of structural chromosome changes before radiation therapy, that is higher than control values, in both groups of patients, regardless of prior treatment. At the same time, the difference was also relevant for the mentioned values when comparing groups of patients ($t = 10,11$ and $t = 15,18$; $p < 0,001$, respectively).

Дослідження геномних порушень для поліплоїдних клітин не виявило статистично значущої різниці ні з лабораторним контролем, ні між групами онкологічних пацієнтів. У контрольній вибірці клітин гіперплоїдів не було виявлено, що і обумовило за відсутньої різниці між досліджуваними групами хворих достовірну різницю з контрольними даними, хоча для пацієнтів, яким протипухлинне лікування планувалося вперше, ця різниця була на межі достовірності ($t = 1,98$; $p < 0,05$ і $t = 3,05$; $p < 0,01$ для груп 1 та 2, відповідно).

Рівень геномних порушень не є маркером радіаційного впливу, але не варто недооцінювати значення цих показників при лікуванні. Так, наприклад, описані випадки, коли генетична нестабільність проявлялася в істотній гіпоплоїдії, яка привела до розвитку лейкемії [16].

Слід зазначити, що, незважаючи на значне перевищення рівня зазначених показників у пацієнта А, залучення його індивідуальних даних до загальної вибірки суттєво не змінило б цитогенетичної картини до початку променевої терапії. Так, рівень аберацій хромосом становив би 9,33 % та 14,55 %, а рівень геномних порушень взагалі не змінювався.

У таблиці 2 представлено цитогенетичні порушення хромосомного типу, за рахунок яких відбувалося перевищення контрольних значень.

The study of genomic disorders for polyploid cells statistically detected statistically significant difference neither with laboratory control, nor between the groups of oncological patients. Hyperploid cells were not detected in the control sample of cells, and it resulted in relevant difference with control data with no difference between the examined groups of patients, although in the patients, who were to receive antitumor treatment for the first time, this difference was on the limit of relevance ($t = 1,98$; $p < 0,05$ and $t = 3,05$; $p < 0,01$ for groups 1 and 2, respectively).

The level of genomic disorders isn't a marker of radiation effect, but the importance of these values should not be underestimated for treatment. For instance, there were some cases when genetic instability manifested itself as significant hypoploidy which led to the development of leukemia [16].

It should be mentioned that in spite of considerable excess of the level of mentioned indexes in patient A, involvement of his individual data into general sample wouldn't have essentially changed cytologic picture before the beginning of radiotherapy. Indeed, the level of aberrant cells and chromosome aberrations would have been 9,33 % and 14,55 % and level of genomic disorders would not have changed at all.

In Table 2 cytogenetic chromosome disorders are shown, which caused the excess of control values.

Таблиця 2. Аберації хромосомного типу в онкологічних хворих до променевого лікування
Table 2. Chromosome aberrations in oncological patients before radiotherapy

Група Group	Проаналізовано нормоплоїдних клітин Normoploid cells analyzed	Y ± SE на 100 клітин / Y ± SE per 100 cells		
		A Xc Chromosome aberrations	Диц + ЦК Dicentric + ring chromosomes	Ац Фр Free chromosomal fragments
Група 1 Group 1	4096	1,73 ± 0,21	0,27 ± 0,08	1,39 ± 0,18
Група 2 Group 2	3444	11,79 ± 0,59	6,91 ± 0,45	4,12 ± 0,35
Контроль Control value	8000	0,88 ± 0,15	0,08 ± 0,02	0,80 ± 0,15

У зв'язку з тим, що частота формування центричних кілець є значно меншою, ніж дицентричних хромосом, до розрахунків включали їх сумарний рівень з супутніми фрагментами (Диц+ЦК), що відповідає загальноприйнятим міжнародним критеріям [13]. Показано, що рівень Диц+ЦК перевищував спонтанні значення в обох групах хворих ($t = 2,59$; $p < 0,01$ і $t = 22,94$; $p < 0,001$ для груп 1 та 2, відповідно). При цьому також спостерігали статистично значущу різницю між досліджуваними групами пацієнтів ($t = 15,81$; $p < 0,001$).

Схожу картину було виявлено і для рівня вільних ацентричних фрагментів. Середній рівень Ац Фр у пацієнтів груп 1 та 2 більше, ніж у 1,5 та 5 разів, відповідно, перевищував значення у контролі ($t = 3,08$; $p < 0,01$ і $t = 12,15$; $p < 0,001$ для груп 1 та 2, відповідно) за наявної різниці показників між собою ($t = 7,27$; $p < 0,001$). У пацієнтів до початку променевої терапії були присутні і стабільні хромосомні перебудови, так звані атипичні моноцентрики, які окремо не аналізували, але включали до сумарної частоти аберацій хромосом для встановлення загального цитогенетичного статусу обстежуваних пацієнтів.

У збільшенні рівня аберацій хромосом у пацієнтів групи 2 до початку повторного курсу променевої терапії головну роль відіграв сам факт попереднього

Due to frequency rate of centric ring formation being significantly lower than that of dicentric chromosomes, their total level along with related fragments was included in calculations, which was according to generally accepted worldwide criteria [13]. The level of dicentric and ring chromosomes exceeded spontaneous indexes in both of the groups of patients ($t = 2,59$; $p < 0,01$ and $t = 22,94$; $p < 0,001$ for groups 1 and 2, respectively). Furthermore, statistically significant difference between the examined group of patients was observed ($t = 15,81$; $p < 0,001$).

A similar pattern was detected for the level of free acentric fragments. The average level of acentric fragments in the patients of groups 1 and 2 exceeded by 1,5 and 5 times, respectively, control values ($t = 3,08$; $p < 0,01$ and $t = 12,15$; $p < 0,001$ for groups 1 and 2, respectively) with the presence of difference between the values ($t = 7,27$; $p < 0,001$). Before radiotherapy, in the patients there were stable chromosomal transformations, the-so called atypical monocentrics, which were not analyzed individually, but were included into total chromosome aberration frequency to determine general cytogenetic condition of the examined patients.

Increase in level of chromosome aberrations in the patients of group 2 before the start of retreatment was mainly caused by prior irradiation. But the time period

опромінення. Але також мав значення і період часу між двома курсами. Так, у хворих, у яких до початку повторного курсу пройшло до 24 місяців, середній рівень аберацій хромосомного типу складав 13,75 %, сумарний рівень дицентричних хромосом та центричних кілець – 7,99 %, а у термін від 24 до 96 місяців – 8,40 % та 4,60 %, відповідно.

Таким чином, в групах онкологічних хворих незалежно від наявного попереднього протипухлинного лікування до початку променевої терапії середні рівні аберацій хромосомного типу, а також геномних порушень, перевищували спонтанний рівень, а в групі пацієнтів, які зазнали попереднього радіаційного впливу, рівень усіх видів пошкоджень хромосомного типу перевищував значення у групі первинних пацієнтів.

Слід зазначити, що цитогенетичне обстеження пацієнтів ще до початку променевого лікування, є методологічною необхідністю при виконанні дослідження за даним дизайном. Існують різні повідомлення з приводу наявності або відсутності підвищеного рівня цитогенетичних показників ще до початку променевого лікування. Так, деякі автори не знаходили перевищення рівня дицентриків у первинних пацієнтів до променевої терапії [7]. У той час, як у дослідженні [17] спостерігали підвищений рівень аберацій хромосомного типу у первинно діагнованих хворих на рак легені та рак грудної залози до початку лікування.

Що стосується підвищеного рівня радіаційно-індукованих хромосомних пошкоджень у пацієнтів на початку другого курсу променевої терапії, наші дані перекликаються з даними дослідників [18], які навіть коли пройшло більше 7 років після опромінення пацієнтів з раком простати, спостерігали все ще підвищений рівень дицентриків та центричних кілець, тобто маркерів дії радіації, хоча загальний рівень хромосомних аберацій вже знаходився в межах контрольних значень. Це також відповідає даним досліджень [5], де рівень дицентричних хромосом, які були детектовані FISH-методом, через 2,5 роки після променевої терапії зменшувався тільки приблизно на 40 % у порівнянні з завершенням курсу променевої терапії.

Характер змін цитогенетичних показників в онкологічних хворих залежно від наявного попереднього променевого лікування було досліджено під час проведення дистанційної променевої терапії. При цьому відповідні показники в середині та кінці курсу променевого лікування зіставляли безпосередньо з даними від тих самих пацієнтів, отриманими до початку променевої терапії.

Дані цитогенетичного дослідження на різних етапах променевої терапії загального рівня структурних перебудов та геномних порушень в об'єднаних вибірках клітин онкологічних хворих групи 1 та групи 2 на різних етапах променевої терапії наведено у таблицях 3 та 4.

В онкологічних хворих, які не зазнали лікування з приводу онкопатології, до середини курсу променевої терапії середній рівень аберацій клітин зростав майже у 4 рази, а сумарний рівень аберацій хромосом – майже у 5 разів. Наприкінці курсу променевого лікування відмічали подальше зростання рівня аберацій клітин та аберацій хромосом, що було статистично значущим у порівнянні не лише з показниками до початку променевої терапії, а із серединою курсу (для А Кл $t = 20,71$ і $t = 6,25$; $p < 0,001$ та для А Хр $t = 28,81$ і $t = 10,45$; $p < 0,001$ до ПТ та в середині курсу, відповідно). Наприкінці променевого лікування

between two treatment courses also mattered. Indeed, in the patients, who had received their first treatment course up to 24 months prior to the date of the second treatment course, the average chromosome aberration level was 13,75 %, total level of dicentric chromosomes and centric rings – 7,99 %, and in those, who had received first therapy 24 to 96 months before the second treatment course – 8,40 % and 4,60 %, respectively.

Thus, in the groups of oncological patients irrespective of the occurrence of prior antitumor treatment before radiotherapy the average levels of chromosome aberrations, as well as of genomic disorders, exceeded spontaneous level, and in the group of patients, who had received prior irradiation, the level of all types of chromosome injuries exceeded that of the patients of the first group.

It should be mentioned that cytogenetic examination of patients before the beginning of radiotherapy is a methodological necessity when carrying out the research according to this design. There are various reports of presence or absence of excessive level of cytogenetic indexes even before the beginning of radiation treatment course. Thus, some authors didn't find excessive level of dicentrics in primary patients before radiotherapy [7]. Meanwhile during the examination [17] increased level of chromosome aberration in the patients primarily diagnosed with lung and breast cancer was observed before the beginning of treatment.

As for increased level of radiation-induced chromosome injuries in patients at the beginning of a second radiotherapy treatment course, our data resonate with the data of researchers [18], who observed still increased level of dicentrics and centric rings, namely markers of radiation effect, even after 7 years from irradiation of patients with prostate cancer, although the general level of chromosome aberrations was within the range of control values. It also matches the data of studies [5], where the level of dicentric chromosomes, which were detected by FISH-method, decreased only by about 40 % 2,5 years after radiotherapy in comparison with the end of radiotherapy.

The nature of changes of cytogenetic indexes in oncological patients depending on the occurrence of prior radiation treatment was studied during external beam radiation therapy. In the process, respective indexes in the middle and the end of the radiation treatment course were compared directly with the data received before the beginning of radiotherapy of the same patients.

The data of cytogenetic examination at the different stages of radiotherapy on total level of structural transformations and genomic disorders in combined cell samples of oncological patients of group 1 and group 2 at the different stages of radiotherapy are given below in Tables 3 and 4.

In the oncological patients, who had not received cancer treatment, the average level of aberrant cells was increasing by 4 times until the middle of radiotherapy treatment course, and the total level of chromosome aberrations – almost by 5 times. At the end of the radiotherapy treatment course further increase in level of aberrant cells and chromosome aberrations was noted, which was statistically significant in comparison not only with values before the beginning of radiotherapy, but also with the middle of therapy (for aberrant cells $t = 20,71$ and $t = 6,25$; $p < 0,001$ and for chromosome aberrations $t = 28,81$ and $t = 10,45$; $p < 0,001$ before radiation therapy and in the middle of it, respectively).

рівень А Кл у лімфоцитах пацієнтів групи 1 зростав у 6 разів, а рівень А Хр – майже у 9 разів у порівнянні з рівнем цитогенетичних пошкоджень до початку променевої терапії.

At the end of radiation treatment, the level of aberrant cells in lymphocytes of the patients of group 1 was increasing by 6 times, and the level of chromosome aberrations – almost by 9 times in comparison with the level of cytogenetic injuries before the beginning of radiotherapy.

Таблиця 3. Загальні структурні пошкодження хромосом та геномні порушення впродовж променевої терапії в онкологічних хворих, які вперше отримували протипухлинне лікування

Table 3. Total structural injuries of chromosomes and genomic disorders during radiotherapy in the oncological patients, who received antitumor treatment for the first time

Етап обстеження Stage of examination	Проаналізовано нормоплоїдних клітин Normoploid cells analyzed	Y ± SE на 100 клітин / Y ± SE per 100 cells				
		А Кл Aberrant cells	А Хр Chromosome aberrations	Геномні порушення / Genomic disorders		
				Гіп Hyperploid cells	Ппл Polyploid cells	Ерп Endoreplication
До ПТ Before radiotherapy	4096	3,17 ± 0,28	3,42 ± 0,29	0,05 ± 0,03	0,17 ± 0,06	0
Середина ПТ Middle of radiotherapy	2742	12,29 ± 0,67	16,52 ± 0,78	0,11 ± 0,06	0,29 ± 0,10	0,04 ± 0,04
Наприкінці ПТ End of radiotherapy	2600	19,04 ± 0,86	30,31 ± 1,08	0,58 ± 0,15	0,50 ± 0,14	0,04 ± 0,04

Таблиця 4. Загальні структурні пошкодження хромосом та геномні порушення впродовж променевої терапії в онкологічних хворих, які зазнали попереднього протипухлинного лікування

Table 4. Total structural injuries of chromosomes and genomic disorders during radiotherapy in the oncological patients, who had received prior antitumor treatment

Етап обстеження Stage of examination	Проаналізовано нормоплоїдних клітин Normoploid cells analyzed	Y ± SE на 100 клітин / Y ± SE per 100 cells				
		А Кл Aberrant cells	А Хр Chromosome aberrations	Геномні порушення / Genomic disorders		
				Гіп Hyperploid cells	Ппл Polyploid cells	Ерп Endoreplication
До ПТ Before radiotherapy	3444	8,77 ± 0,50	13,30 ± 0,62	0,12 ± 0,06	0,12 ± 0,06	0
Середина ПТ Middle of radiotherapy	3677	11,01 ± 0,55	15,83 ± 0,66	0,03 ± 0,03	0,27 ± 0,09	0,03 ± 0,03
Наприкінці ПТ End of radiotherapy	1813	13,95 ± 0,88	22,56 ± 1,12	0,11 ± 0,08	0,50 ± 0,17	0

В онкологічних пацієнтів групи 2 за рахунок досить високого початкового рівня хромосомних пошкоджень до середини курсу променевої терапії середній рівень аберантних клітин зростав приблизно в 1,3 рази, а сумарний рівень аберацій хромосом в 1,2 рази. Наприкінці курсу променевої терапії спостерігали подальше зростання рівня аберантних клітин та аберацій хромосом, при чому, як і для групи 1, збільшення було достовірним у порівнянні не тільки з показниками до початку променевої терапії, а із серединою курсу (для А Кл $t = 5,50$; $p < 0,001$ і $t = 2,96$; $p < 0,01$ та для А Хр $t = 7,86$ і $t = 5,52$; $p < 0,001$ до ПТ та в середині курсу, відповідно). Наприкінці променевої терапії рівень А Кл у лімфоцитах хворих групи 2 зростав у 1,6 рази, а рівень А Хр – у 1,7 рази при зіставленні з рівнем цитогенетичних порушень до початку лікування. Тож приріст аберацій хромосом у пацієнтів групи 2 відбувався у декілька разів менш інтенсивно порівняно з хворими групи 1.

Геномні порушення у вигляді гіперплоїдних та поліплоїдних клітин у хворих групи 1 спостерігали при усіх термінах обстеження. Винятком були ендореплікації, які не було виявлено перед початком променевого лікування. Хоча для всіх типів геномних порушень спостерігали зростання їх рівня, для ендореплікацій це підвищення не було достовірним впродовж всього курсу променевої терапії. Підвищення поліплоїдів

In the oncological patients of group 2 due to relatively high initial level of chromosome injuries, the average level of aberrant cells was increasing by about 1,3 times until the middle of radiotherapy, and the total level of chromosome aberrations – by 1,2 times. At the end of the treatment course, further increase in level of aberrant cells and chromosome aberrations was observed, moreover, similar to group 1, the increase in level was relevant in comparison not only with values before the beginning of radiotherapy, but also with the middle of therapy (for aberrant cells $t = 5,50$; $p < 0,001$ and $t = 2,96$; $p < 0,01$ and for chromosome aberrations $t = 7,86$ and $t = 5,52$; $p < 0,001$ before radiation therapy and in the middle of it, respectively). At the end of radiation treatment, the level of aberrant cells in lymphocytes of the patients of group 2 was increasing by 1,6 times, and the level of chromosome aberrations – by 1,7 times in comparison with the level of cytogenetic injuries before the beginning of radiotherapy. So chromosome aberrations in the patients of group 2 were increasing several times less rapidly compared with the patients of group 1.

Genomic disorders in the form of hyperploid and poly-ploid cells in the patients of group 1 were observed at all the stages of examination, except for endoreplications, which were not detected before the beginning of radiotherapy. Although an increased level of all the types of genomic disorders was observed, this increase

досягало статистичної значущості лише наприкінці лікування у порівнянні з допроменевим значенням ($t = 2,40$; $p < 0,05$), а для гіперплоїдів спостерігали достовірне підвищення від середини до завершення курсу ($t = 2,94$; $p < 0,01$), що і забезпечило статистично значущу різницю наприкінці лікування порівняно зі значеннями до початку протипухлинної терапії ($t = 4,18$; $p < 0,001$).

У групі 2 коливання рівня геномних порушень були здебільшого флюктуційними. Лише для поліплоїдних клітин наприкінці курсу лікування, як і для групи 1, було виявлено статистично значуще зростання рівня у порівнянні з допроменевим значенням ($t = 2,64$; $p < 0,01$).

Вплив різних структурних перебудов на зростання загального рівня аберацій хромосомного типу впродовж променевої терапії представлено у таблицях 5 та 6.

was not relevant for endoreplications during the whole treatment course. The increase in polyploids reached statistical significance only at the end of the treatment course in comparison with pre-irradiation value ($t = 2,40$; $p < 0,05$), and a relevant increase in hyperploids was observed from the middle to the end of the treatment course ($t = 2,94$; $p < 0,01$), which caused statistically significant difference at the end of treatment in comparison with the values before the beginning of antitumor treatment ($t = 4,18$; $p < 0,001$).

In group 2, the changes in level of genomic disorders were most of fluctuating nature. Only for polyploid cells statistically significant increase in level was detected at the end of the treatment course in comparison with pre-irradiation value ($t = 2,64$; $p < 0,01$), as for group 1.

The influence of various structural transformations on increase in total level of chromosome aberrations during radiotherapy is given in Tables 5 and 6.

Таблиця 5. Аберації хромосомного типу впродовж променевої терапії у онкологічних хворих, які вперше отримували протипухлинне лікування

Table 5. Chromosome aberrations during radiotherapy in the oncological patients, who received antitumor treatment for the first time

Етап обстеження Stage of examination	Проаналізовано нормоплоїдних клітин Normoploid cells analyzed	Y ± SE на 100 клітин / Y ± SE per 100 cells			
		A Xcunst Unstable chromosome aberrations	Диц / Dicentrics	Ац Фр Free chromosomal fragments	Тн / Tn
До ПТ Before radiotherapy	4096	1,68 ± 0,20	0,27 ± 0,08	1,39 ± 0,18	0,05 ± 0,03
Середина ПТ Middle of radiotherapy	2742	13,42 ± 0,70	6,71 ± 0,49	5,54 ± 0,45	0,62 ± 0,15
Наприкінці ПТ End of radiotherapy	2600	27,35 ± 1,03	16,81 ± 0,80	8,77 ± 0,58	0,73 ± 0,17

Таблиця 6. Аберації хромосомного типу впродовж променевої терапії у онкологічних хворих, які зазнали попереднього протипухлинного лікування

Table 6. Chromosome aberrations during radiotherapy in the oncological patients, who had received prior antitumor treatment

Етап обстеження Stage of examination	Проаналізовано нормоплоїдних клітин Normoploid cells analyzed	Y ± SE на 100 клітин / Y ± SE per 100 cells			
		A Xcunst Unstable chromosome aberrations	Диц / Dicentrics	Ац Фр Free chromosomal fragments	Тн / Tn
До ПТ Before radiotherapy	3444	11,30 ± 0,57	6,04 ± 0,42	4,12 ± 0,35	0,49 ± 0,12
Середина ПТ Middle of radiotherapy	3677	13,92 ± 0,62	7,89 ± 0,46	4,73 ± 0,36	0,76 ± 0,14
Наприкінці ПТ End of radiotherapy	1813	20,41 ± 1,06	12,36 ± 0,83	6,29 ± 0,59	0,94 ± 0,23

Середня частота нестабільних аберацій хромосомного типу у пацієнтів групи 1 підвищувалася від початку до закінчення курсу променевої терапії, достовірність зберігалася також при порівнянні цього показника в середині та наприкінці курсу ($t = 29,99$ і $t = 11,32$; $p < 0,001$). Розподіли суми нестабільних аберацій по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона ($\sigma^2/Y = 1,49$, $u = 18,01$ та $\sigma^2/Y = 2,11$, $u = 39,89$ в середині та кінці курсу, відповідно).

Як і у групі 1, середня частота нестабільних аберацій хромосомного типу у хворих групи 2 збільшувалася від початку до закінчення курсу променевої терапії, а достовірність мала місце при зіставленні даного показника в середині та наприкінці курсу ($t = 8,27$ і $t = 5,64$; $p < 0,001$). Розподіли суми нестабіль-

The average frequency of unstable chromosome aberration in the patients of group 1 was increasing from the beginning till the end of the radiotherapy treatment course, relevance was observed when comparing this value in the middle and at the end of the course ($t = 29,99$ і $t = 11,32$; $p < 0,001$). The distribution of sum of unstable aberrations over cells was overdispersive according to Poisson statistics ($\sigma^2/Y = 1,49$, $u = 18,01$ and $\sigma^2/Y = 2,11$, $u = 39,89$ at the middle and at the end of the treatment course, respectively).

As in group 1, the average frequency of unstable chromosome aberration in the patients of group 2 was increasing from the beginning till the end of the radiotherapy treatment course, and there was relevance when the comparison of this index in the middle and at the end of the

них аберацій по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона ($\sigma^2/Y = 2,15$, $u = 49,54$ та $\sigma^2/Y = 2,20$, $u = 36,08$ в середині та кінці курсу, відповідно).

У групі 1 підвищення А Хсунст від початку до середини курсу променевої терапії відбувалося за рахунок збільшення рівня як обмінних, так і фрагментних аберацій. Середній рівень Диц достовірно зростав майже у 25 разів до середини, та більш ніж у 62 рази – по закінченню курсу променевої терапії у порівнянні із значенням показника до початку лікування ($t = 15,46$ і $t = 25,50$; $p < 0,001$, відповідно). При цьому темп зростання середньої частоти Диц був монотонним, за рахунок чого збільшення рівня даного типу пошкодження в кінці променевої терапії у порівнянні з точкою спостереження у середині курсу було статистично значущим ($t = 10,82$; $p < 0,001$).

На відміну від групи 1, у хворих групи 2 зростання А Хсунст від початку до середини курсу променевого лікування відбувалося лише за рахунок збільшення рівня обмінних аберацій. Середній рівень Диц вірогідно зростав у 1,3 раза до середини та у 2 рази – по закінченню курсу лікування у порівнянні з показником до початку променевої терапії ($t = 2,95$; $p < 0,01$ і $t = 7,59$; $p < 0,001$, відповідно). При цьому, як і у групі 1, темп зростання середньої частоти Диц був досить монотонним, що обумовило достовірне підвищення рівня Диц в кінці променевого лікування відносно значення зазначеного показника у середині курсу ($t = 5,09$; $p < 0,001$).

Розподіли Диц по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона як в середині, так і наприкінці курсу променевої терапії (для групи 1: $\sigma^2/Y = 1,40$, $u = 14,88$ та $\sigma^2/Y = 1,83$, $u = 29,80$; для групи 2: $\sigma^2/Y = 1,94$, $u = 40,17$ та $\sigma^2/Y = 1,88$, $u = 26,47$, відповідно). При цьому до початку лікування у хворих групи 1 розподіл Диц по клітинах відповідав статистиці Пуассона. Саме за наддисперсним характером розподілу аберацій можливо виявити локальність радіаційного впливу, тому аналіз рівня дицентриків є дуже інформативним для детекції локального характеру опромінення. До початку лікування, на відміну від пацієнтів групи 1, у хворих групи 2 розподіл Диц по клітинах також був наддисперсним ($\sigma^2/Y = 2,27$, $u = 52,70$).

Середня частота вільних ацентричних фрагментів у хворих групи 1 також збільшувалась до середини у 4 рази та по закінченню променевої терапії – у більш, ніж 6 разів у зіставленні з рівнем до початку лікування ($t = 9,62$ і $t = 14,26$; $p < 0,001$, відповідно). Як і для дицентриків, спостерігали достовірне зростання рівня Ац Фр у кінці променевої терапії у порівнянні з серединою курсу ($t = 4,42$; $p < 0,001$).

На противагу до групи 1, середня частота вільних ацентричних фрагментів у групі 2 від початку до середини курсу залишалась незмінною, а зростання у 1,3 рази відбувалося лише від середини до кінця курсу променевого лікування, за рахунок чого різниця була також достовірною наприкінці променевої терапії у зіставленні з допроменевим рівнем ($t = 2,37$; $p < 0,05$ і $t = 3,38$; $p < 0,001$, відповідно).

Аналіз середньогрупових рівнів цитогенетичних пошкоджень в онкологічних пацієнтів виявив особливості їх перебігу в залежності від наявного попереднього протипухлинного лікування впродовж променевої терапії.

Зміни середньої сумарної частоти аберацій хромосом у хворих обох груп харак-

treatment course was performed ($t = 8,27$ and $t = 5,64$; $p < 0,001$). The distribution of sum of unstable aberration over cells was overdispersive according to Poisson statistics ($\sigma^2/Y = 2,15$, $u = 49,54$ and $\sigma^2/Y = 2,20$, $u = 36,08$ in the middle and at the end of the course, respectively).

In group 1, the increase in unstable chromosome aberrations from the beginning to the middle of the radiation therapy was due to the increase in level of exchange aberrations, as well as of the fragment ones. The average level of dicentrics was relevantly increasing almost by 25 times until the middle, and by more than 62 times after the end of radiation treatment course in comparison with the value of this index prior to the beginning of the treatment ($t = 15,46$ і $t = 25,50$; $p < 0,001$, respectively). In addition, the rate of increase in average frequency of dicentrics was monotonous, due to which the increase in this type of injury was statistically significant ($t = 10,82$; $p < 0,001$) at the end of the treatment course in comparison with the value in the middle of it.

In contrast to group 1, in the patients of group 2 the increase of unstable chromosome aberrations from the beginning to the middle of radiotherapy treatment course occurred only due to increase in level of exchange aberrations. The average level of dicentrics was relevantly increasing by 1,3 times until the middle, and by 2 times after then end of the treatment course in comparison with the value before the beginning of radiotherapy ($t = 2,95$; $p < 0,01$ and $t = 7,59$; $p < 0,001$, respectively). Moreover, as in group 1, the rate of increase in average frequency of dicentrics was relatively monotonous, which caused relevant increase in level of dicentrics at the end of radiation treatment in regard to the value of mentioned index in the middle of the treatment course ($t = 5,09$; $p < 0,001$).

The distribution of dicentrics over cells was overdispersive according to Poisson statistics in the middle, as well as at the end of the radiotherapy treatment course (for group 1: $\sigma^2/Y = 1,40$, $u = 14,88$ and $\sigma^2/Y = 1,83$, $u = 29,80$; for group 2: $\sigma^2/Y = 1,94$, $u = 40,17$ and $\sigma^2/Y = 1,88$, $u = 26,47$, respectively). Moreover, before the beginning of the treatment, in the patients of group 1 distribution of dicentrics complied with Poisson statistics. Specifically by overdispersive character of distribution of aberrations, it was possible to detect locality of radiation effect, therefore the analysis of level of dicentrics was very informative for detection of local irradiation. In contrast to group 1, in the patients of group 2 the distribution of dicentrics over cells before the beginning of the treatment was overdispersive ($\sigma^2/Y = 2,27$, $u = 52,70$).

The average frequency of free acentric fragments in the patients of group 1 was also increasing by 4 times until the middle and by more than 6 times after the end of radiotherapy in comparison with the level before the beginning of the treatment ($t = 9,62$ and $t = 14,26$; $p < 0,001$, respectively). As for dicentrics, a relevant increase in the level of acentric fragments was observed at the end of radiotherapy in comparison with the middle of the treatment course ($t = 4,42$; $p < 0,001$).

In contrary to group 1, the average frequency of free acentric fragments in group 2 from the beginning to the middle of the treatment course remained unchanged, and the increase by 1,3 times was occurring only from the middle to the end of the radiation treatment course, due to which the difference was also relevant at the end of radiotherapy in comparison with pre-irradiation level ($t = 2,37$; $p < 0,05$ and $t = 3,38$; $p < 0,001$, respectively).

теризувались монотонним підвищенням рівня від початку до кінця курсу променевого лікування. Проте, незважаючи на вищі рівні абераційних клітин та цитогенетичних пошкоджень у пацієнтів групи 2 до початку терапевтичного опромінення, приріст зазначених показників відбувався з меншою швидкістю порівняно з хворими групи 1. Це обумовило відсутність достовірної різниці між досліджуваними групами в середині курсу ($t = 1,49$ і $t = 0,68$; $p > 0,05$, відповідно). Подальше більш стрімке зростання рівнів абераційних клітин та аберацій хромосом у групі 1 призвело наприкінці лікування до перевищення у 1,4 та 1,3 раза, відповідно, при зіставленні з групою 2 ($t = 4,04$ і $t = 4,86$; $p < 0,001$, відповідно).

Зміни радіаційно-індукованих маркерів, а саме аберацій хромосомного типу і сумарної частоти дицентричних та кільцевих хромосом із супутніми фрагментами, також носили монотонний характер впродовж всього курсу променевої терапії (рис. 1 та 2).

With the help of analysis of group average levels of cytogenetic injuries in oncological patients the features of their course during radiotherapy in dependence on occurrence of prior antitumor treatment were determined.

The changes in total average frequency of aberrant cells and chromosome aberrations in the patients of both groups were characterized with monotonous increase in their level from the beginning to the end of the radiotherapy course. However, in spite of the higher levels of aberrant cells and cytogenetic injuries in the patients of group 2 before the beginning of therapeutic exposure, the increase in mentioned indexes was occurring at lower rates in comparison with the patients of group 1. This fact caused absence of relevant difference between the examined groups in the middle of the treatment course ($t = 1,49$ and $t = 0,68$; $p > 0,05$, respectively). Further more rapid increase in the levels of aberrant cells and chromosome aberrations in group 1 resulted in excess by 1,4 and 1,3 times at the end of the treatment course in comparison with group 2 ($t = 4,04$ and $t = 4,86$; $p < 0,001$, respectively).

The changes in radiation-induced markers, in particular chromosome aberrations and total frequency of dicentric and ring chromosomes with concomitant fragments were also of monotonous nature during the whole radiotherapy treatment course (Fig. 1 and 2).

Рис. 1. Характер динаміки змін середньої сумарної частоти аберацій хромосомного типу у групах 1 та 2 в залежності від етапу променевого лікування

Fig. 1. Dynamics of changes in average total chromosome aberrations in group 1 and 2 according to the stage of radiotherapy treatment course

Рис. 2. Характер динаміки змін середньої сумарної частоти дицентричних та кільцевих хромосом із супутніми фрагментами у групах 1 та 2 в залежності від етапу лікування

Fig. 2. Dynamics of changes in average total frequency of dicentric and ring chromosomes with concomitant fragments in groups 1 and 2 according to the stage of radiotherapy treatment course

При цьому відносний приріст під час променевого лікування рівня А Хс та Диц+ЦК у групі 2 був меншим, ніж у групі 1. Якщо до початку променевого лікування в групах 1 та 2 співвідношення середніх рівнів сумарної частоти аберацій хромосомного типу становило 1 : 0,15, то в середині курсу складало 1 : 0,96, а в кінці курсу – 1 : 1,32. Співвідношення середніх рівнів сумарної частоти дицентричних та кільцевих хромосом до початку променевої терапії дорівнювало 1 : 0,04, в середині курсу – 1 : 0,88, в кінці курсу – 1 : 1,35.

Наші дані стосовно дозозалежного збільшення рівня цитогенетичних показників у первинних пацієнтів впродовж променевого лікування перекликаються із даними інших дослідників. Так, підвищений рівень хромосомних пошкоджень у пацієнтів з пухлинами голови та шиї впродовж променевої терапії узгоджується з даними авторів за рівнем аберацій хромосом [19], а також по іншим біомаркерам радіаційного впливу, зокрема мікроядрам [20].

Стабільні аберації хромосом у пацієнтів групи 1 не давали вагомого внеску у загальне зростання частоти аберацій хромосомного типу, хоча рівень транслокацій достовірно підвищувався від початку до середини курсу променевої терапії ($t = 4,39$; $p < 0,001$), а різниця показника між серединою та кінцем курсу лікування не була статистично значущою ($t = 0,49$; $p > 0,05$). У хворих групи 2 частота стабільних аберацій хромосом також мала тенденції до зростання, але це підвищення не було статистично значущим та вагомо не впливало на загальний рівень аберацій хромосомного типу.

У загальній картині цитогенетичних ефектів терапевтичного опромінення важливу роль відіграють не тільки кількісні зміни рівня аберацій, а і спектр абераційних клітин, які спостерігають на різних етапах променевої терапії. Зростання частоти аберацій у пацієнтів зазвичай супроводжується появою клітин із декількома хромосомними пошкодженнями, і при цьому поклітинні розподіли аберацій хромосомного типу із самого початку лікування характеризуються суттєвою наддисперсністю відносно статистики Пуассона [21, 22]. Наддисперсний характер розподілу аберацій по клітинах при дії випромінювання з низьким лінійним передаванням енергії на зрілі лімфоцити периферичної крові, тобто на первинно-синхронізовану клітинну популяцію може утворюватися внаслідок нерівномірного розподілу дози у біологічному об'єкті [13, 23, 24]. Феномен наддисперсного розподілу аберацій по клітинах в онкологічних хворих є результатом виникнення суперпозиції двох клітинних фракцій – опроміненої та неопроміненої – в межах всієї популяції лімфоцитів. Наддисперсний розподіл по клітинах аберацій хромосомного типу загалом, та дицентриків зокрема, ми спостерігали в групах обстежених як в середині, так і наприкінці курсу променевої терапії.

У групі 1 спектр клітин з нестабільними абераціями хромосомного типу вдвічі розширювався у процесі променевої терапії: в середині курсу спостерігалися метафази з 1–4 хромосомними пошкодженнями, наприкінці лікування – з 1–8 абераціями. У групі 2 спектр клітин з нестабільними абераціями хромосомного типу становив 1–9 хромосомних пошкоджень на метафазу в середині курсу та 1–7 аберацій наприкінці лікування. Тобто від середини до кінця курсу він не розширювався, але вже в середині курсу спостерігались клітини з такою кількістю аберацій, які у групі пацієнтів без попереднього радіаційного впливу спостерігали тільки

In addition, relative increase in chromosome aberrations and dicentrics and ring chromosomes during radiotherapy was lower in group 2 than in group 1. While the ratio between the average levels of total frequency of chromosome aberrations in groups 1 and 2 before the beginning of radiotherapy treatment course was 1 : 0,15, in the middle of the treatment course it was 1 : 0,96, and at the end of the treatment course – 1 : 1,32. The ratio between average levels of total frequency of dicentric and ring chromosomes before the beginning of radiotherapy equaled 1 : 0,04, in the middle of radiotherapy – 1 : 0,88, at the end of radiotherapy – 1 : 1,35.

Our data on a dose-dependent increase in the level of cytogenetic indexes in primary patients during radiotherapy resonate with other researchers' data. Indeed, increased level of chromosome alterations in patients with head and neck tumors corresponds to the authors' data on the level of chromosome aberrations [19] and other biomarkers of radiation effect, including micronuclei [20].

Stable chromosome aberrations in the patients of group 1 did not contribute much to the total increase in the frequency of chromosome aberrations, although the level of translocations increased relevantly from the beginning to the middle of the radiotherapy treatment course ($t = 4,39$; $p < 0,001$), and difference of index between the middle and the end of the treatment course was not statistically significant ($t = 0,49$; $p > 0,05$). In the patients of group 2, the frequency of stable chromosome aberrations also tended to increase. However, this increase was not statistically significant and did not influence on the total level of chromosome aberrations.

In the overall picture of cytogenetic effects of therapeutic exposure, quantitative change plays a significant role and the spectrum of aberrant cells, which are observed at different stages of radiotherapy. The increase in the frequency of aberration in patients is usually accompanied by cells with several chromosome injuries. Moreover, cell-to-cell distribution of chromosome aberrations is characterized by considerable overdispersity, according to Poisson statistics from the very beginning of the treatment [21, 22]. Overdispersive character of distribution of aberrations over cells during irradiation with low linear energy transfer on mature lymphocytes of peripheral blood, namely on primarily synchronized cell population, may form due to unbalanced dose distribution in biological objects [13, 23, 24]. The phenomenon of overdispersive distribution of aberrations over cells in oncological patients is a result of the emergence of superposition of two cell fractions – irradiated and non-irradiated – in the range of the whole population of lymphocytes. We observed overdispersive distribution of chromosome aberrations over cells in general, and dicentrics in particular, in the groups of patients in the middle of the radiotherapy treatment course, as well as at the end of it.

In group 1, the spectrum of cells with unstable chromosome aberrations broadened twice during radiotherapy: in the middle of the treatment course, metaphases with 1 to 4 chromosome injuries were observed, at the end of the treatment course – with 1 to 8 aberrations. In group 2, the spectrum of cells with unstable chromosome aberrations amounted to 1 to 9 chromosome injuries per metaphase in the middle of the treatment course and to 1 to 7 aberrations in the end of the treatment course. That means that it did not broaden from the middle to the end of the treatment course. However, already in the middle of therapy, cells with several such aberra-

наприкінці опромінення. Це свідчить про складний характер змін у накопиченні аберацій хромосом із зростанням дози опромінення у вторинних пацієнтів. Причиною цього може бути початковий ненульовий рівень хромосомних пошкоджень, що призвело до суперпозиції не тільки опроміненої та неопроміненої фракцій, а також «старих» та «нових» абераційних клітин, і це в свою чергу проявилось у нелінійному характері накопичення хромосомних аберацій. Можливо, у цих пацієнтів впродовж курсу променевої терапії зростає мітотична та інтерфазна загибель абераційних клітин, особливо із великою кількістю цитогенетичних пошкоджень. На користь цього припущення свідчить те, що наприкінці променевого лікування у вторинних пацієнтів не спостерігалися клітини з більшою кількістю аберацій, ніж в середині курсу.

Радіотерапевтичне лікування як первинне, так і повторне, є прикладом складного сценарію фракціонованого опромінення, дослідження якого має фундаментальне та практичне значення для розуміння складних процесів утворення та елімінації цитогенетичних маркерів радіаційного впливу для подальшого вдосконалення системи біодозиметрії та розробки підходів індивідуалізації променевої терапії. Тож отримані дані можуть бути використані і для біодозиметрії різних сценаріїв радіаційних аварій та ліквідації їх наслідків. Так, було встановлено, що у випадках повторного фракціонованого часткового опромінення не спостерігається адитивного характеру накопичення нестабільних хромосомних перебудов відносно первинного опромінення, а осіб, що зазнали попереднього опромінення, можливо виявити тільки перед початком повторного опромінення, а не в середині та наприкінці курсу променевої терапії. Можливо, аналіз FISH-транслокацій надасть додаткову інформацію для таких складних сценаріїв опромінення. На важливості подальшого вивчення цитогенетичних маркерів опромінення також наголошують фахівці з питань радіаційної безпеки, попередження радіаційних аварій та вивчення їх наслідків [25–27], підкреслюючи релевантність досліджень терапевтичного опромінення до інших сценаріїв радіаційного впливу. Тож наші дослідження у даному напрямку буде продовжено.

tions were observed, which were observed in the patients without prior irradiation only at the end of therapy. This fact indicated the complicated nature of changes in the accumulation of chromosome aberrations with an increase in irradiation dose in secondary patients. It can be caused by the initial nonzero level of chromosome injuries, which led to the superposition of not only irradiated and non-irradiated fractions, but also of «old» and «new» aberrant cells, and this, in turn, manifested itself in non-linear nature of accumulation of chromosome aberrations. In these patients, mitotic and interphase death of aberrant cells, especially with a significant number of cytogenetic injuries, may have happened during the radiation therapy treatment course. An argument for this hypothesis is that at the end of the radiotherapy treatment course, cells with a more prominent number of aberrations than those in the middle were not observed in secondary patients.

Primary radiotherapeutic treatment, as well as secondary, is an example of a problematic scenario of fractionated irradiation, the studying of which is of fundamental and practical importance for understanding complex processes of formation and elimination of cytogenetic markers of radiation exposure for further improvement of biodosimetry system and development of individualization method of radiotherapy. So the obtained data can also be used for biodosimetry of different scenarios of radiation accidents and elimination of their consequences. Indeed, it was determined that in the cases of secondary fractionated partial irradiation, the additive nature of accumulation of unstable chromosome transformations related to primary irradiation was not observed. In patients who had received prior irradiation, it was possible to detect only before the beginning of second therapy and not in the middle or at the end of radiotherapy treatment course. It is possible that analysis of FISH-translocation will give additional information for challenging scenarios like this. Radiation safety specialists stress the importance of further studying cytogenetic markers because radiation accidents can be prevented, and their consequences can be studied [25–27]. This fact emphasizes the relevancy of the studies of therapeutic irradiation and other scenarios of radiation effect. So our studies in this area will be continued.

ВИСНОВКИ

1. У пацієнтів, які вперше отримували протипухлинне лікування, та у пацієнтів, які зазнавали попереднього терапевтичного опромінення, частота аберацій хромосом була вище за спонтанний рівень. Проте мала місце чітка відмінність – рівень всіх видів аберацій хромосомного типу у групі вторинних хворих перевищував значення у групі первинних хворих. У більшості вторинних пацієнтів на рівень аберацій перед повторним опроміненням впливав період часу між курсами променевої терапії.

2. У пацієнтів, незалежно від наявного попереднього лікування, рівень радіаційно-індукованих пошкоджень зростав впродовж всього курсу променевої терапії порівняно зі спонтанним рівнем. При цьому наприкінці променевої терапії сумарна частота аберацій хромосомного типу та їх окремих видів у хворих групи 1 достовірно перевищувала відповідні значення у хворих групи 2, але за максимальним числом хромосомних пошкоджень на абераційну клітину у вторинних

CONCLUSIONS

1. In patients, who received antitumor treatment for the first time, and patients who had received prior irradiation, the frequency of aberrations exceeded the spontaneous level. However, there was a clear difference – the level of all types of chromosome aberrations in the group of secondary patients exceeded that of the group of primary patients. The time period between radiotherapy treatment courses influenced the aberrations in most secondary patients before reirradiation.

2. In patients, irrespective of prior treatment, the level of radiation-induced injuries was increasing during the whole radiotherapy treatment course compared to spontaneous level. In addition, at the end of the treatment course total frequency of chromosome aberrations and their distinct types in the patients of group 1 relevantly exceeded respective values of the patients of group 2, but by the maximum number of chromosome injuries per aberrant cell, it reached the values in the middle of the treatment course in the secondary patients higher than

пацієнтів вже в середині курсу досягала значень, що перевищували відповідні показники в кінці променевої терапії у первинних хворих.

3. Під час цитогенетичного дослідження за рівнем аберацій хромосомного типу та геномних порушень додатковий генотоксичний вплив повторного опромінення проявлявся тільки у вигляді більшої максимальної кількості аберацій на аберантну клітину у вторинних хворих. За темпами зростання цитогенетичних пошкоджень не виявлено більшого генотоксичного ефекту від повторної променевої терапії на фоні попереднього променевого лікування.

respective values at the end of the treatment course in the primary patients.

3. During cytogenetic analysis by the level of chromosome aberrations and genomic disorders, the additional genotoxic effect of reirradiation manifested itself only in a greater maximum quantity of aberrations per aberrant cell in the secondary patients. In terms of increased rates of cytogenetic injuries, a more significant genotoxic effect from the second radiotherapy on the background of prior radiation exposure was not detected.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

REFERENCES

- Pilinska MA, Shemetun OV, Talan OO, Dybska OB, Kravchenko SM, Sholoiiko VV. Дослідження впливу іонізуючої радіації на рівень хромосомної нестабільності в соматичних клітинах людини при розвитку пухлино/індукованого ефекту свідка. *Проблеми радіаційної медицини та радіобіології*. 2020. Вип. 25. С. 353–361. DOI: <https://doi.org/10.33145/2304-8336-2020-25-353-361>
- Chua ML, Rothkamm K. Biomarkers of radiation exposure: can they predict normal tissue radiosensitivity? *Clinical oncology*. 2013. Vol. 25, № 10. P. 610–616. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clon.2013.06.010>
- Деміна Э.А. Проблемные вопросы лучевой терапии онкологических больных с позиций радиобиологии. *ScienceRise: Biological Science*. 2015. Т. 4, № 1(9). С. 11–16. DOI: <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2015.40207>
- Lusiyanti Y, Surniyantoro H, Rahajeng N, Suwifan V, Purnami S, Choridah L. The Cytogenetic Effects on Peripheral Blood Lymphocytes in Cancer Patients After Radiation Therapy: Chromosome Aberrations and Micronuclei. *Biosaintifika*. 2021. Vol. 13, № 1. P. 9–15. DOI: <http://dx.doi.org/10.15294/biosaintifika.v13i1.25264>
- Hartel C, Nasonova E, Fuss MC, Nikoghosyan AV, Debus J, Ritter S. Persistence of radiation-induced aberrations in patients after radiotherapy with C-ions and IMRT. *Clinical and translational radiation oncology*. 2018. Vol. 13. P. 57–63. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ctro.2018.10.002>
- Miszczek J, Przydacz M, Zembrzuski M, Chłosta P. Investigation of Chromosome 1 Aberrations in the Lymphocytes of Prostate Cancer and Benign Prostatic Hyperplasia Patients by Fluorescence in situ Hybridization. *Cancer management and research*. 2021. Vol. 13. P. 4291–4298. DOI: <https://doi.org/10.2147/CMAR.S293249>
- Moquet J, Higuera M, Donovan E, Boyle S, Barnard S et al. Divalent Dose Estimates for Patients Undergoing Radiotherapy in the RTGene Study to Assess Blood Dosimetric Models and the New Bayesian Method for Gradient Exposure. *Radiation research*. 2018. Vol. 190, № 6. P. 596–604. DOI: <https://doi.org/10.1667/RR15116.1>
- Miszczek J, Rawojc K, Panek A, Swakon J, Prasanna P.G., Rydygier M. Response of human lymphocytes to proton radiation of 60 MeV compared to 250 kV X-rays by the cytokinesis-block micronucleus assay. *Radiotherapy and oncology*. 2015. Vol. 115, № 1. P. 128–134. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2015.03.003>
- Сипко Т.С., Мазник Н.О. Цитогенетичні показники у онкологічних хворих при дистанційній променевої терапії від різних джерел опромінення. *Український радіологічний журнал*. 2017. Т. 25(4). С. 297–308.
- Hartel C, Nikoghosyan A, Durante M, Sommer S, Nasonova E, Fournier C, Lee R, Debus J, Schulz-Ertner D, Ritter S. Chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes of prostate cancer patients treated with IMRT and carbon ions. *Radiotherapy and oncology*. 2010. Vol. 95, № 1. P. 73–78. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2009.08.031>
- Minaei S.E., Mozdarani H., Motazakker M., Mansouri M., Aghamiri S.M.R. Evaluation of Cytogenetic Alterations in Peripheral Blood Lymphocytes of Esophageal Cancer Patients Treated with Radiotherapy or Chemoradiotherapy using Cytokinesis-Blocked Micronucleus Assay. *Acta medica Iranica*. 2016. Vol. 54, № 1. P. 9–14.
- Wegierek-Ciuk A., Lankoff A., Lisowska H., Kedzierawski P., Akuwudike P., Lundholm L., Wojcik A. Cisplatin Reduces the Frequencies of Radiotherapy-Induced Micronuclei in Peripheral Blood Lymphocytes of Patients with Gynaecological Cancer: Possible Implications for the Risk of Second Malignant Neoplasms. *Cells*. 2021. Vol. 10, № 10. P. 1–17. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10102709>
- Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation Emergencies. *Vienna*, 2011. 229 p.
- Higuera M., Gonzalez J.E., DiGiorgio M., Barquinero J.F. A note on goodness-of-fit tests for ionizing radiation induced chromosomal aberration samples. *International journal of radiation biology*. 2018. Vol. 94, № 7. P. 656–663. DOI: <https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1478012>
- McDonald J.H. Handbook of biological statistics. *Baltimore, Maryland: Sparky House Publishing*. 2008. 287 p.
- Ittel A., Gervais C., Galois A.C., M'Kacher R., Mauvieux L., Fornecker L.M. Triradial and quadriradial chromosomes detected in a case of B-cell
- Pilinska MA, Shemetun OV, Talan OO, Dybska OB, Kravchenko SM, Sholoiiko VV. Investigation of the influence of ionizing radiation on the level of chromosomal instability in human somatic cells during tumor development/induced witness effect. *Problems of radiation medicine and radiobiology*. 2020;25:353–61. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.33145/2304-8336-2020-25-353-361>
- Chua ML, Rothkamm K. Biomarkers of radiation exposure: can they predict normal tissue radiosensitivity? *Clinical oncology*. 2013;25(10):610–6. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clon.2013.06.010>
- Demina EA. Problematic issues of radiation therapy for cancer patients from the standpoint of radiobiology. *ScienceRise: Biological Science*. 2015;4(9):11–6. (In Russian). DOI: <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2015.40207>
- Lusiyanti Y, Surniyantoro H, Rahajeng N, Suwifan V, Purnami S, Choridah L. The Cytogenetic Effects on Peripheral Blood Lymphocytes in Cancer Patients After Radiation Therapy: Chromosome Aberrations and Micronuclei. *Biosaintifika*. 2021;13(1):9–15. (In English). DOI: <http://dx.doi.org/10.15294/biosaintifika.v13i1.25264>
- Hartel C, Nasonova E, Fuss MC, Nikoghosyan AV, Debus J, Ritter S. Persistence of radiation-induced aberrations in patients after radiotherapy with C-ions and IMRT. *Clinical and translational radiation oncology*. 2018;13:57–63. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ctro.2018.10.002>
- Miszczek J, Przydacz M, Zembrzuski M, Chłosta P. Investigation of Chromosome 1 Aberrations in the Lymphocytes of Prostate Cancer and Benign Prostatic Hyperplasia Patients by Fluorescence in situ Hybridization. *Cancer management and research*. 2021;13:4291–8. (In English). DOI: <https://doi.org/10.2147/CMAR.S293249>
- Moquet J, Higuera M, Donovan E, Boyle S, Barnard S et al. Divalent Dose Estimates for Patients Undergoing Radiotherapy in the RTGene Study to Assess Blood Dosimetric Models and the New Bayesian Method for Gradient Exposure. *Radiation research*. 2018;190(6):596–604. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1667/RR15116.1>
- Miszczek J, Rawojc K, Panek A, Swakon J, Prasanna PG, Rydygier M. Response of human lymphocytes to proton radiation of 60 MeV compared to 250 kV X-rays by the cytokinesis-block micronucleus assay. *Radiotherapy and oncology*. 2015;115(1):128–34. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2015.03.003>
- Sypko TS, Maznyk NO. Cytogenetic parameters in cancer patients with remote radiation therapy from different radiation sources. *Ukrainian Radiological Journal*. 2017;25(4):297–308. (In Ukrainian).
- Hartel C, Nikoghosyan A, Durante M, Sommer S, Nasonova E, Fournier C, Lee R, Debus J, Schulz-Ertner D, Ritter S. Chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes of prostate cancer patients treated with IMRT and carbon ions. *Radiotherapy and oncology*. 2010;95(1):73–8. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2009.08.031>
- Minaei SE, Mozdarani H, Motazakker M, Mansouri M, Aghamiri S.M.R. Evaluation of Cytogenetic Alterations in Peripheral Blood Lymphocytes of Esophageal Cancer Patients Treated with Radiotherapy or Chemoradiotherapy using Cytokinesis-Blocked Micronucleus Assay. *Acta medica Iranica*. 2016;54(1):9–14. (In English).
- Wegierek-Ciuk A, Lankoff A, Lisowska H, Kedzierawski P, Akuwudike P, Lundholm L, Wojcik A. Cisplatin Reduces the Frequencies of Radiotherapy-Induced Micronuclei in Peripheral Blood Lymphocytes of Patients with Gynaecological Cancer: Possible Implications for the Risk of Second Malignant Neoplasms. *Cells*. 2021;10(10):1–17. (In English). DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10102709>
- Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation Emergencies. *Vienna*, 2011;229. (In English).
- Higuera M, Gonzalez JE, DiGiorgio M, Barquinero JF. A note on Poisson goodness-of-fit tests for ionizing radiation induced chromosomal aberration samples. *International journal of radiation biology*. 2018;94(7):656–63. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1478012>
- McDonald JH. Handbook of biological statistics. Baltimore, Maryland: Sparky House Publishing. 2008;287. (In English).

- prolymphocytic leukaemia. *British journal of haematology*. 2017. Vol. 179, № 5. 704 p. DOI: <https://doi.org/10.1111/bjh.14895>
17. Vodenkova S., Polivkova Z., Musak L., Smerhovsky Z., Zoubkova H. et al. Structural chromosomal aberrations as potential risk markers in incident cancer patients. *Mutagenesis*. 2015. Vol. 30, № 4. P. 557–563. DOI: <https://doi.org/10.1093/mutage/gev018>
 18. Fucic A., Gamulin M., Katic J., Milic M., Druzhinin V., Grgic M. Genome damage in testicular seminoma patients seven years after radiotherapy. *International journal of radiation biology*. 2013. Vol. 89, № 11. P. 928–933. DOI: <https://doi.org/10.3109/09553002.2013.825057>
 19. Kadam S.B., Shyama S.K., Kumar M.K.P., D'costa A., Almeida V.G. Cytogenetic Analysis on the Yields of Chromosomal Aberrations Induced by the Scattered Doses of γ -Radiation. *Journal of nuclear medicine & radiation therapy*. 2016. Vol. 7, № 1. P. 1–8 (1000270). DOI: <https://doi.org/10.4172/2155-9619.1000270>
 20. Zedginidze A., Namchevadze E., Ormocadze G., Kapanadze A., Nikuradze T., Lomidze D. Biodosimetry of Persons Chronically Exposed to Low and Therapeutic Doses of Ionizing Radiation. *Genome integrity*. 2016. Vol. 7, № 12. P. 1–6. DOI: <https://doi.org/10.4103/2041-9414.197169>
 21. Sreedevi B., Rao B.S., Nagaraj H., Pal N.K. Chromosome aberration analysis in radiotherapy patients and simulated partial body exposures: biological dosimetry for non-uniform exposures. *Radiation protection dosimetry*. 2001. Vol. 94, № 4. P. 317–322. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.rpd.a006505>
 22. Cao J., Liu Y., Sun H., Cheng G., Pang X., Zhou Z. Chromosomal aberrations, DNA strand breaks and gene mutations in nasopharyngeal cancer patients undergoing radiation therapy. *Mutation research*. 2002. Vol. 504, № 1–2. P. 85–90. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0027-5107\(02\)00082-9](https://doi.org/10.1016/s0027-5107(02)00082-9)
 23. Balajee A.S. Applications of Fluorescence in Situ Hybridization in Radiation Cytogenetic Biodosimetry and Population Monitoring. *OBM Genetics*. 2018. Vol. 2, № 4. P. 1–35. DOI: <https://doi.org/10.21926/obm.genet.1804042>
 24. Мазник Н.О., Сипко Т.С., Старенький В.П., Богатиренко Н.Д., Білозор Н.В. Цитогенетичні пошкодження у хворих на рак легень при дистанційній променевої терапії. *Проблеми радіаційної медицини та радіобіології*. 2019. Вип. 24. С. 411–425. DOI: <https://doi.org/10.33145/2304-8336-2019-24-411-425>
 25. Coleman C.N., Haferr N., Maidment B., Manning R., Prasanna P., Okunieff P. Radiological and Nuclear Terrorism: Relevance to the Radiation Oncology and Biology Communities. *Radiation Oncology*. 2014. P. 293–311. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-540-72314-1_20
 26. Dainiak N., Albanese J., Kaushik M., Balajee A.S., Romanyukha A., Sharp T.J., Blakely W.F. Concepts of operations for a us dosimetry and biodosimetry network. *Radiation protection dosimetry*. 2019. Vol. 186, № 1. P. 130–138. DOI: <https://doi.org/10.1093/rpd/ncy294>
 27. Raavi V., Surendran J., Karthik K., Paul S.F.D., Thayalan K., Arunakaran J., Venkatachalam P. Measurement of γ -H2AX foci, miRNA-101, and gene expression as a means to quantify radiation-absorbed dose in cancer patients who had undergone radiotherapy. *Radiation and environmental biophysics*. 2019. Vol. 58, № 1. P. 69–80. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00411-018-0767-0>
 16. Ittel A., Gervais C., Galois AC, M'Kacher R, Mauvieux L, Fornecker LM. Triradial and quadriradial chromosomes detected in a case of B-cell prolymphocytic leukaemia. *British journal of haematology*. 2017;179(5):704. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1111/bjh.14895>
 17. Vodenkova S, Polivkova Z, Musak L, Smerhovsky Z, Zoubkova H et al. Structural chromosomal aberrations as potential risk markers in incident cancer patients. *Mutagenesis*. 2015;30(4):557–63. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1093/mutage/gev018>
 18. Fucic A, Gamulin M, Katic J, Milic M, Druzhinin V, Grgic M. Genome damage in testicular seminoma patients seven years after radiotherapy. *International journal of radiation biology*. 2013;89(11):928–33. (In English). DOI: <https://doi.org/10.3109/09553002.2013.825057>
 19. Kadam SB, Shyama SK, Kumar MKP, D'costa A, Almeida VG. Cytogenetic Analysis on the Yields of Chromosomal Aberrations Induced by the Scattered Doses of γ -Radiation. *Journal of nuclear medicine & radiation therapy*. 2016;7(1):1–8(1000270). (In English). DOI: <https://doi.org/10.4172/2155-9619.1000270>
 20. Zedginidze A, Namchevadze E, Ormocadze G, Kapanadze A, Nikuradze T, Lomidze D. Biodosimetry of Persons Chronically Exposed to Low and Therapeutic Doses of Ionizing Radiation. *Genome integrity*. 2016;7(12):1–6. (In English). DOI: <https://doi.org/10.4103/2041-9414.197169>
 21. Sreedevi B, Rao BS, Nagaraj H, Pal NK. Chromosome aberration analysis in radiotherapy patients and simulated partial body exposures: biological dosimetry for non-uniform exposures. *Radiation protection dosimetry*. 2001;94(4):317–22. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.rpd.a006505>
 22. Cao J, Liu Y, Sun H, Cheng G, Pang X, Zhou Z. Chromosomal aberrations, DNA strand breaks and gene mutations in nasopharyngeal cancer patients undergoing radiation therapy. *Mutation research*. 2002;504(1–2):85–90. (In English). DOI: [https://doi.org/10.1016/s0027-5107\(02\)00082-9](https://doi.org/10.1016/s0027-5107(02)00082-9)
 23. Balajee AS. Applications of Fluorescence in Situ Hybridization in Radiation Cytogenetic Biodosimetry and Population Monitoring. *OBM Genetics*. 2018;2(4):1–35. (In English). DOI: <https://doi.org/10.21926/obm.genet.1804042>
 24. Maznyk NO, Sipko TS, Starenky VP, Bogatyrenko ND, Bilozor NV. Cytogenetic damage in patients with lung cancer during remote radiation therapy. *Problems of radiation medicine and radiobiology*. 2019;24:411–25. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.33145/2304-8336-2019-24-411-425>
 25. Coleman CN, Hafer N, Maidment B, Manning R, Prasanna P., Okunieff P. Radiological and Nuclear Terrorism: Relevance to the Radiation Oncology and Biology Communities. *Radiation Oncology*. 2014;293–311. (In English). DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-540-72314-1_20
 26. Dainiak N, Albanese J, Kaushik M, Balajee AS, Romanyukha A, Sharp TJ, Blakely WF. Concepts of operations for a us dosimetry and biodosimetry network. *Radiation protection dosimetry*. 2019;186(1):130–8. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1093/rpd/ncy294>
 27. Raavi V, Surendran J, Karthik K, Paul S.FD, Thayalan K., Arunakaran J, Venkatachalam P. Measurement of γ -H2AX foci, miRNA-101, and gene expression as a means to quantify radiation-absorbed dose in cancer patients who had undergone radiotherapy. *Radiation and environmental biophysics*. 2019;58(1):69–80. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1007/s00411-018-0767-0>

Перспективи подальших досліджень

Prospects for further research

Необхідно продовжити дослідження для даного сценарію опромінення в онкологічних пацієнтів з іншими локалізаціями пухлин, можливо, із залученням інших цитогенетичних методів.

It is essential to continue the analysis for this scenario of irradiation in oncological patients with different localization of tumors, perhaps, with involvement of other cytogenetic methods.

Конфлікт інтересів

Conflict of interest

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

The authors state no conflict of interest.

Інформація про фінансування

Funding information

Фінансування видатками Державного бюджету України.

Financed by the State Budget of Ukraine.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Мазник Наталія Олександрівна – доктор біологічних наук, старший дослідник, завідувачка лабораторії радіаційної цитогенетики Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної

Maznyk Nataliia Oleksandrivna – Doctor of Biological Sciences, Senior Researcher, Head of Radiation Cytogenetics Laboratory of State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical

академії медичних наук України»; вул. Пушкінська, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: natalie.maznyk@gmail.com
моб.: +38 (050) 400-09-73

Внесок автора: загальне керівництво проведенням цитогенетичних досліджень, розробка дизайну та концепції дослідження, підбір літературних джерел, аналіз та інтерпретація отриманих даних, написання тексту статті.

Сипко Тетяна Сергіївна – науковий співробітник лабораторії радіаційної цитогенетики Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Пушкінська, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: tatyana.sypko@yandex.ua
моб.: +38 (067) 275-69-45

Внесок автора: участь у розробці методичних підходів до виконання дослідження, координація забору матеріалу для цитогенетичних досліджень, участь у виконанні цитогенетичних досліджень, статистичний аналіз отриманих даних, написання тексту статті.

Старенький Віктор Петрович – доктор медичних наук, професор, завідувач відділу радіології Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Пушкінська, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: starenkiy.victor@gmail.com
моб.: +38 (067) 578-21-47

Внесок автора: керівництво проведенням клінічної частини досліджень, участь у розробці методичних підходів до виконання клінічної дослідження, аналіз та узагальнення отриманих даних.

Гукова Інна Миколаївна – молодший науковий співробітник лабораторії радіаційної цитогенетики Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Пушкінська, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: tatyana.sypko@yandex.ua
моб.: +38 (095) 194-49-99

Внесок автора: участь у виконанні цитогенетичних досліджень, участь у обговоренні отриманих даних.

Артиух Сергій Володимирович – кандидат медичних наук, старший науковий співробітник відділу радіології Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Пушкінська, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: artiukshegii@ukr.net
моб.: +38 (093) 662-28-33

Внесок автора: підбір пацієнтів за темою роботи, клінічний супровід хворих, надання клінічної характеристики обстежених хворих.

Черкаско Людмила Володимирівна – заступник головного лікаря з лікувальної роботи Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Пушкінська, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: ludacherkasko@gmail.com
моб.: +38 (067) 705-20-31

Внесок автора: координація відбору та клінічного супроводу пацієнтів, участь у обговоренні отриманих даних.

Sciences of Ukraine»; 82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: natalie.maznyk@gmail.com
tel.: +38 (050) 400-09-73

Author's contribution: general management of the cytologic studies, development of the study design and concept, selecting literature sources, analysis and interpretation of the data, writing the manuscript.

Sypko Tetiana Serhiivna – Researcher of Cytogenetics Laboratory of State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: tatyana.sypko@yandex.ua
tel.: +38 (067) 275-69-45

Author's contribution: participation in development of methodological approaches to carrying out the study, coordination of collection of samples for cytogenetic research, participation in carrying out cytogenetic research, statistical analysis of the data, writing the manuscript.

Starenkiy Viktor Petrovych – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Department of Radiology of State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: starenkiy.victor@gmail.com
tel.: +38 (067) 578-21-47

Author's contribution: management of clinical part of the research, participation in development of methodological approaches to carrying out the clinical study, analysis and summarizing the data.

Hukova Inna Mykolayivna – Junior Researcher of Cytogenetics Laboratory of State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: tatyana.sypko@yandex.ua
tel.: +38 (095) 194-49-99

Author's contribution: participation in carrying out cytogenetic research, participation in the discussion on the data.

Artiukshegii Serhii Volodymyrovych – Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher Department of Radiology of State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: artiukshegii@ukr.net
tel.: +38 (093) 662-28-33

Author's contribution: selecting the patients according to the subject of the study, clinical accompaniment of the patients, provision of clinical characteristic of the examined patients.

Cherkasko Ludmyla Volodymyrivna – Deputy Chief Physician of State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: ludacherkasko@gmail.com
tel.: +38 (067) 705-20-31

Author's contribution: coordination of selection and clinical accompaniment of the patients, participation in the discussion on the data.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
29.09.2021

Отримано після рецензування
Received after review
22.11.2021

Прийнято до друку
Accepted for printing
23.12.2021

Опубліковано
Published
29.12.2021