DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2021.34-51>
УДК: 618.1-006.04-085.849.1-06-037

Терапевтичне опромінення хворих онкогінекологічного профілю та можливість прогнозу променевих ускладнень

Іванкова В. С.¹, ORCID: 0000-0001-5750-6852, e-mail: valentina_ivankova@ukr.net

Михайленко В. М.², ORCID: 0000-0003-4922-6214, e-mail: mvmik@yahoo.com

Дьоміна Е. А.², ORCID: 0000-0002-1058-0489, e-mail: edjomina@ukr.net

Хруленко Т. В.¹, ORCID: 0000-0002-2468-3390, e-mail: khrulenko@ukr.net

Барановська Л. М.¹, ORCID: 0000-000-1018-6377, e-mail: lidabaranovska@ukr.net

Грінченко О. О.², ORCID: 0000-0002-9865-4453, e-mail: griniolia@gmail.com

¹Національний інститут раку Міністерства охорони здоров'я України, Київ, Україна;

²Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького Національної академії наук України, Київ, Україна

Therapeutic irradiation in the management of gynecological cancer and predictability of radiation-induced complications

Ivankova V. S.¹, ORCID: 0000-0001-5750-6852, e-mail: valentina_ivankova@ukr.net

Mikhailenko V. M.², ORCID: 0000-0003-4922-6214, e-mail: mvmik@yahoo.com

Domina E. A.², ORCID: 0000-0002-1058-0489, e-mail: edjomina@ukr.net

Khrulenko T. V.¹, ORCID: 0000-0002-2468-3390, e-mail: khrulenko@ukr.net

Baranovska L. M.¹, ORCID: 0000-0002-1018-6377, e-mail: lidabaranovska@ukr.net

Hrinchenko O. O.², ORCID: 0000-0002-9865-4453, e-mail: griniolia@gmail.com

¹National Cancer Institute, Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Ключові слова:

вторинний рак вагіни, високо-енергетична HDR брахітерапія, джерела високої потужності дози ¹⁹²Ir та ⁶⁰Co, біомаркери радіочутливості, лімфоцити периферичної крові, апоптичні клітини

Для цитування:

Іванкова В. С., Михайленко В. М., Дьоміна Е. А., Хруленко Т. В., Барановська Л. М., Грінченко О. О. Терапевтичне опромінення хворих онкогінекологічного профілю та можливість прогнозу променевих ускладнень. *Український радіологічний та онкологічний журнал*. 2021. Т. XXIX. № 2. С. 34–51. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2021.34-51>

Для кореспонденцій:

Іванкова Валентина Степанівна
Національний інститут раку Міністерства охорони здоров'я України;
вул. Ломоносова, буд. 33/43,
м. Київ, Україна, 03022;
e-mail: valentina_ivankova@ukr.net

РЕЗЮМЕ

Актуальність. На сьогодні використання променевої терапії (ПТ) в лікуванні як первинного, так і вторинного раку вагіни (ВРВ) займає пріоритетне місце в арсеналі спеціалізованих методів лікування онкологічних хворих. Вторинні пухлини вагіни частіше виникають при раку шийки матки (РШМ) у 6 – 33% хворих та у 8–10% хворих на рак тіла матки (РТМ), які лікувались хірургічним, комбінованим чи променевим методами. Тому у 80% випадків лікування первинного, і тим більше, ВРВ, є ПТ. При використанні навіть найсучаснішої радіотерапевтичної апаратури найновіших технологій існує загроза розвитку променевих ускладнень з боку здорових органів і тканин, що потрапляють у зону опромінення. Знання основних радіобіологічних парадигм надають можливість не тільки прогнозувати ймовірність резорбції пухлини після дії іонізуючого випромінювання, але й оцінити біологічну ефективність поглиненої дози його, а також – ризик виникнення пізніх променевих ускладнень.

Мета роботи – підвищити ефективність і оцінити токсичність променевого лікування хворих на ВРВ шляхом визначення оптимальних методик брахітерапії (БТ) в залежності від виду джерела іонізуючого випромінювання і вивчення можливості прогнозування променевих ускладнень на основі молекулярно-біологічних властивостей пухлини.

Матеріали та методи. У клініці Національного інституту раку у відділенні радіаційної онкології проводилось клінічне дослідження за допомогою апарата для високоенергетичної БТ з джерелом гамма-випромінювання високої активності (HDR) іридій-192 (¹⁹²Ir). За розробленими методиками БТ проведено лікування 106 хворих на ВРВ, які до цього лікувались з приводу захворювання на рак шийки матки, гістологічно у більшості діагностовано плоскоклітинний рак – 65 хворих, у хворих на рак тіла матки гістологічно переважала аденокарцинома різного ступеня диференціювання – 41 пацієнтка. Хворі

© Іванкова В. С., Михайленко В. М.,
Дьоміна Е. А., Хруленко Т. В.,
Барановська Л. М., Грінченко О. О.,
2021

були з місцевопоширеним пухлинним процесом у малому тазі II-III стадій поширеності, T2-3N0-1M0. Водночас з клінічними виконувалися радіобіологічні дослідження, спрямовані на визначення кількості апоптичних клітин в інтактних та опромінених лімфоцитах периферичної крові (ЛПК), а також рівня SH-груп білків і пептидів плазми крові в онкогінекологічних хворих та здорових донорів для прогнозування ризику виникнення променевих ускладнень.

Результати та їх обговорення. Враховуючи відстрочену дію ПТ ефективність лікування хворих аналізували безпосередньо після курсу ПТ і також через 3 місяці після завершення консервативної терапії. Так, після тримісячного спостереження у динаміці – позитивна відповідь пухлини зареєстрована у $67,9 \pm 5,2$ % пацієток, що входили до I досліджуваної групи та у $72,5 \pm 6,9$ % з II досліджуваної групи і в групі порівняння – $51,3 \pm 6,8$ %, що на 16,6 % і 21,2 % було більше порівняно з групою порівняння. Всі пацієнтки задовільно переносили БТ. У жодної пацієнтки, незалежно від групи, упродовж лікування і в найближчі 3 місяці після його завершення, не відмічено тяжких (вище II ступеня) загальних проявів токсичності, а також з боку сечового міхура та прямої кишки. Результати проведення радіобіологічних досліджень корелювали з клінічними та літературними даними.

Висновки. В результаті проведеного дослідження відзначено зменшення проявів токсичності ПТ, а саме ранніх променевих реакцій з боку суміжних з пухлиною критичних органів у хворих I і II основних груп, порівняно з пацієнтками групи порівняння, особливо в I основній групі, де використовували високоенергетичне джерело ^{192}Ir у режимі опромінення РОД = 3 Гр x 2 рази на тиждень. Одержані результати експериментального дослідження свідчать, що вміст SH-груп у плазмі крові та рівень апоптозу ЛПК можна вважати додатковими прогностичними показниками радіочутливості немалігнізованих клітин із оточення опромінюваної пухлини.

Key words:

secondary vaginal cancer, high-dose rate (HDR) brachytherapy, ^{192}Ir and ^{60}Co high dose-rate sources, radiosensitivity biomarkers, peripheral blood lymphocytes, apoptotic cells.

For citation:

Ivankova VS, Mikhailenko VM, Domina EA, Khrulenko TV, Baranovska LM, Hrinchenko OO. Therapeutic irradiation in the management of gynecological cancer and predictability of radiation-induced complications. *Ukrainian journal of radiology and oncology*. 2021;29(2):34–51. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2021.34-51>

For correspondence:

Ivankova Valentina Stepanivna, National Cancer Institute Ministry of Health of Ukraine; 33/43, Lomonosova Str., Kyiv, 03022, Ukraine
e-mail: valentina_ivankova@ukr.net

ABSTRACT

Background. Today, applying radiotherapy (RT) in management of both primary and secondary vaginal cancer (SVC) take pride of place in the spectrum of specialized treatments for cancer patients. Secondary vaginal tumors are more common (6% to 33%) in cervical cancer (CC) patients, while in uterine cancer (UC) occur in 8–10% of cases treated either surgically, or by means of radiotherapy, otherwise via a combination approach. Therefore, RT is administered in about 80% of primary vaginal cancer and particularly SVC patients. When using even the most advanced radiotherapy equipment implying the cutting-edge technologies, there is a risk of radiation-induced complications in healthy organs and tissues that fall under the irradiation area. Keeping in mind the key radiobiological paradigms makes it possible not only to predict the probability of tumor resorption upon radiation exposure, but also to assess the biological effectiveness of absorbed dose, as well as the risk of late radiation complications.

Purpose – to enhance the effectiveness and assess the toxicity of SVC RT via ascertaining BT (brachytherapy) most suitable techniques depending on the type of ionizing radiation and exploring predictability of radiation-induced complications in terms of biomolecular cell properties.

Materials and methods. Clinical study was performed at the National Cancer Institute Clinic (Radiation Oncology Department), using a high-energy BT unit with a HDR ^{192}Ir source. The SVC patients ($n = 106$) were treated according to the developed BT methods. They had been pretreated for the CC ($n = 65$) with squamous cell carcinoma histologically diagnosed in the most cases or UC ($n = 41$) with histologically prevalent adenocarcinoma of a variable grade. Patients had a locally advanced pelvic tumor process with tumor staging II–III, T2-3N0-1M0. Along with clinical study the radiobiological research was conducted to count the apoptotic cells in both intact and irradiated peripheral blood lymphocytes (PBL), as well as the level of SH-groups of plasma proteins

© Ivankova V. S., Mikhailenko V. M.,
Domina E. A., Khrulenko T. V.,
Baranovska L. M., Hrinchenko O. O.,
2021

and peptides in gynecological cancer patients and healthy donors to predict the risk of radiation-induced complications.

Results and discussion. Given the delayed effect of RT, the treatment effectiveness was analyzed immediately after RT session and also 3 months upon completion of the conservative therapy. Thus, positive tumor response upon three months of observation over time was registered in $67.9 \pm 5.2\%$ of patients in study group I, in $72.5 \pm 6.9\%$ in study group II, and in $51.3 \pm 6.8\%$ in comparison group. Hence the values in study groups were higher than in comparison group by 16.6% and 21.2% respectively. All patients tolerated BT satisfactorily. Neither general nor local rectum or bladder severe (above grade II) toxicities were noted both during treatment and over the next 3 months upon its completion in all the patients regardless of study group. Results obtained in radiobiological studies correlated with clinical and literature data.

Conclusions. Decrease in manifestations of RT toxicity, namely of the early radiation reactions from interfacing critical organs was established in groups I and II vs comparison group I, especially in group I where a high-energy ^{192}Ir source was used in the SBD irradiation mode of 3 Gy twice a week. The obtained results of the experimental study suggest that the content of SH-groups in blood plasma and the level of PBL apoptosis can be considered as additional predictive measures of radiosensitivity of non-malignant cells from the irradiated tumor environment.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
02.03.2021

Отримано після рецензування
Received after review
19.04.2021

Прийнято до друку
Accepted for printing
09.06.2021

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами

Робота виконана в рамках планової науково-дослідної роботи науково-дослідного відділення радіаційної онкології Національного інституту раку Міністерства охорони здоров'я України «Визначити оптимальні методики високоенергетичної брахітерапії з джерелом іонізуючого випромінювання іридій-192 при лікуванні хворих на вторинний рак вагіни з урахуванням молекулярно-біологічних особливостей пухлини». Номер державної реєстрації 0117U000406.

ВСТУП

На сьогодні використання терапевтичного опромінення в лікуванні як первинного, так і вторинного раку вагіни (BPV) займає пріоритетне місце в арсеналі спеціалізованих методів лікування онкологічних хворих. Показання до хірургічного лікування виникають рідко. Так, у жінок молодого і середнього віку при локалізації пухлини у верхній третині вагіни ефективна розширена гістеректомія з видаленням частини вагіни. Хірургічна екстирпація часто неможлива, оскільки близькість розташування сечового міхура і прямої кишки потребує екзентерації для здійснення радикальної хірургічної операції. Тому у 80% випадків методом лікування первинного, і тим більше BPV, є променева терапія (ПТ) [1–6].

Вторинні пухлини вагіни частіше виникають при раку шийки матки (РШМ) у 6 – 33% хворих, та 8–10% хворих на рак тіла матки (РТМ), які лікувались хірургічним, комбінованим чи променевим методами [7–11]. Оперативне втручання, як правило, таким хворим не проводиться, у зв'язку з наявністю

Relationship with academic programs, plans and themes

The study was performed in the framework of the planned research project at Research Department of Radiation Oncology of National Cancer Institute of the Ministry of Health of Ukraine “To determine the optimal methods of high-energy brachytherapy with a source of ionizing radiation of iridium-192 in the treatment of patients with secondary vaginal cancer tumors considering the molecular biology of tumor” (State Registration No 0117U000406).

INTRODUCTION

Today, applying radiotherapy (RT) in the management of both primary and secondary vaginal cancer (SVC) take pride of place in the spectrum of specialized treatments for cancer patients. Indications for the surgical treatment in such cases emerge seldom. Specifically, an extended hysterectomy with removal of a part of vagina is effective in the young and middle-aged women with localization of tumor in the upper third of vagina. Surgical extirpation is often not possible, since to perform a radical surgery the exenteration is required because of proximity of bladder and rectum. Therefore, RT is a choice in about 80% of cases of primary vaginal cancer and even more when dealing with SVC [1–6].

Secondary vaginal tumors are more common (6% to 33%) in cervical cancer (CC) patients, while in uterine cancer (UC) occur in 8–10% of cases treated either surgically, or by means of radiotherapy, otherwise via a combination approach [7–11]. Surgery, as a rule, is not performed in such patients due to the high risk of postoperative or radiation adhesive process. And since tumors

післяопераційного або променевого спайкового процесу. А оскільки пухлини частіше локалізуються на передній стінці вагіни і в нижній її третині, то ще і через ризик пошкодження сечового міхура або прямої кишки. Тому пацієнткам, у яких виникли метастази раку шийки чи тіла матки у вагіну, проводиться радіотерапія [7, 12–15].

На теперішній час вітчизняні клініки устатковуються сучасною апаратурою для контактної променевої терапії методом *remote afterloading* джерелами високої активності (*high-dose rate*, HDR-терапія). У відділенні радіаційної онкології Національного інституту раку проводиться використання джерела гамма-випромінювання високої активності іридія-192 (^{192}Ir) на апараті HDR «Gamma Med plus IX» (Німеччина). Ця установка є апаратом нового покоління для контактної ПТ, що дозволяє проводити внутрішньопорожнинну променеву терапію (ВППТ) методом *remote afterloading* у поєднаному променевому лікуванні хворих на БРВ та хворих з іншими локалізаціями онкозахворювання. Така технологія дистанційного автоматичного завантаження джерела іонізуючого випромінювання (ДІВ) після установки аплікатора дає можливість скорегувати дозиметричний розрахунок до моменту установки джерела і початку опромінення. У апараті є одне джерело ^{192}Ir , яке рухається по ендостату з кроком 2,5 або 5 мм. Максимальна кількість активних позицій в ендостаті складає 48, що дозволяє широко змінювати розміри опромінюваної мішені (до 12 см завдовжки) з проведенням подальшого дозиметричного планування і оптимізацією дозового розподілу в умовах фракціонованого опромінення. Важливою перевагою ВППТ (брахітерапії – БТ) є можливість підведення максимальних доз опромінення безпосередньо на пухлинний осередок з мінімальною дією на критичні і суміжні органи. До протоколу лікування БРВ, окрім БТ, входить дистанційна променева терапія (ДПТ), а поєднання цих двох методів у світі є «золотим стандартом» лікування пухлин репродуктивної системи у жінок. За останнє десятиліття – це високотехнологічний, ефективний, органозберігальний, найсучасніший компонент радикального променевого лікування гінекологічного раку, завдяки якому можна значно зменшити променеві навантаження на критичні і суміжні органи [14, 16–19]. Хіміотерапія використовується лише як компонент комплексного лікування та як паліативний антинеопластичний засіб при неможливості проведення ПТ.

Внаслідок проведення ПТ у 14–80% пацієнток онкогінекологічного профілю можуть виникати місцеві променеві реакції різного ступеня інтенсивності, які погіршують якість життя хворих, призводять до вимушених перерв у лікуванні і впливають на його результати [20].

Проблема уражень нормальних клітин, що потрапляють у зону терапевтичного опромінення онкологічних хворих, привертає увагу не тільки радіаційних онкологів, але й клінічних радіобіологів. Незважаючи на конформну стратегію променевого лікування, частина нормальних клітин із оточення пухлини неодмінно

are more often localized on the anterior wall of vagina and in its lower third, it is also relevant due to the risk of bladder or rectum injury. Therefore, patients who have got metastatic cervical or uterine cancer are subject to receive RT [7, 12–15].

At present, the national clinics are built up with advanced equipment for the contact RT by means of a remote afterloading method by the high-dose rate sources (HDR-therapy). The ^{192}Ir sources of high dose-rate gamma radiation on the HDR device “Gamma Med plus IX” (Germany) are continuously used at Radiation Oncology Department of the National Cancer Institute. This installation is a new generation device for contact RT, which enables intracavitary radiation therapy (IRT) by means of the remote afterloading method in a combined radiation treatment of SVC patients and patients with other localization of cancer. This technology of a remote automatic loading of the ionizing radiation source (IRS) after the applicator placement makes it possible to adjust the dosimetric calculation before the source placement and start of irradiation. There is one ^{192}Ir source in the device, and the former moves along the centering catheter in steps of 2.5 or 5 mm. The maximum number of active positions in the centering catheter is 48, which allows to widely change the size of irradiated target (up to 12 cm long) with further dosimetric planning and optimization of dose distribution under fractional irradiation. Ability to deliver the maximum doses of radiation directly to the tumor with minimal exposure to critical and related organs is an important advantage of IRT (brachytherapy – BT). The SVC treatment protocol in addition to BT includes the external-beam radiotherapy (EBRT) (syn. teleradiotherapy). Combination of these two methods is a “gold standard” for the treatment of tumors of the female reproductive system worldwide. Over the last decade it has emerged as a high-tech, effective, organ-preserving, and state-of-the-art component of radical radiation treatment of gynecological cancer, enabling a significant reduction of radiation exposure to the critical and interfacing organs [14, 16–19]. Chemotherapy is used only as a component of comprehensive treatment and as a palliative antineoplastic tool if RT is unavailable.

From 14% to 80% of gynecological cancer patients receiving RT can as a result experience a significant number of local radiation reactions of varying intensity, which worsen the quality of life, lead to forced breaks in treatment, and affect its results [20].

The issue dealing with affecting normal cells that fall under the area of therapeutic irradiation of cancer patients draws attention not only of radiation oncologists, but also clinical radiobiologists. Despite the conformal strategy of radiation therapy, some normal cells from the tumor environment are inevitably exposed to radiation, which can lead to the development of distant radiation-induced complications, including secondary cancer [7, 12, 21–25]. Molecular, chromosomal and other abnormalities in healthy cells of primary cancer patients change the functional status of these cells, including radiosensitivity, and consequently afford ground to consider them to be only conditionally normal [26–30]. Additional radiation-induced

зазнає опромінення, що може обумовити розвиток віддалених променевих ускладнень, у тому числі, вторинного раку [7, 12, 21–25]. Молекулярні, хромосомні та інші аномалії у здорових клітинах первинних онкологічних хворих змінюють функціональний стан цих клітин, зокрема, радіочутливість, і тому надають підстави вважати їх лише умовно нормальними [26–30]. Додаткові радіаційно-індуковані пошкодження в цих клітинах внаслідок терапевтичного опромінення можуть сприяти високому ризику виникнення віддалених променевих ускладнень з боку здорових органів та тканин, з оточення пухлини, в тому числі клітин циркулюючого пулу крові. Тому подальше визначення біомаркерів є доцільним, для прогнозу ступеня важкості радіаційного ушкодження здорових тканин із оточення пухлини, враховуючи біохімічні, біофізичні та інші аспекти процесу патогенезу радіаційного ушкодження [31–36].

До таких біомаркерів правомірно віднести сульфгідрильні (SH) групи білків і низькомолекулярних сполук, що відіграють важливу роль у численних біологічних процесах, зокрема в процесах апоптозу, проліферації, метаболізму та регуляції транскрипції. Було встановлено, що обмін тіолдисульфідів відіграє важливу роль у згортанні білка (фолдингу) його стабільності [37, 38], а також впливає на окисно-відновний стан клітин і білків [39]. Особливе значення у цих процесах мають активні форми кисню та азоту (АФКА), що утворюються як у нормальних фізіологічних процесах функціонування клітин, так і у відповідь на дію шкідливих, зокрема, радіаційних факторів та передують утворенню генетичної нестабільності клітин. Поряд з цим обґрунтовано кореляцію між апоптоз-асоційованими змінами в клітинах та їх радіочутливістю [40–42]. Підвищена індукція хромосомних аберацій і утворення мікроядер у лімфоцитах онкологічних хворих після опромінення в умовах *in vitro* в порівнянні зі здоровими, які спостерігалися у деяких дослідженнях [43, 44], може пояснюватись, в багатьох випадках, порушенням апоптозу як механізму елімінації клітин з пошкодженою ДНК та підтримки генетичної стабільності.

Мета роботи – підвищити ефективність і оцінити токсичність променевого лікування хворих на РРВ шляхом визначення оптимальних методик БТ в залежності від виду ДІВ і вивчення можливості прогнозування променевих ускладнень на основі молекулярно-біологічних властивостей пухлини.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для РРВ існують відповідні рекомендації, які в основному враховують розміри пухлини і методику первинного променевого лікування. Між дистанційним опроміненням і БТ немає принципових відмінностей у механізмі променевої дії, яка призводить до загибелі клітин, пошкодження нормальних тканин і знищення пухлини. Радіобіологічні основи обох варіантів радіотерапії мають багато спільного, разом з тим істотно відрізняються їх фізичні особливості просторового і почасового розподілу дози. Основні положення, які

damage in these cells due to therapeutic irradiation may contribute to a high risk of distant radiation complications from the healthy tissues, organs surrounding the tumor, including circulating blood pool cells. Therefore, further determination of biomarkers is appropriate to predict the severity of radiation damage to healthy tissues from the tumor environment, taking into account biochemical, biophysical and other aspects of radiation damage pathogenesis process [31–36].

The sulfhydryl (SH-) groups of proteins and low molecular weight compounds can be appropriately attributed to such biomarkers. They are of a key role in the numerous biological processes, particularly in apoptosis, proliferation, metabolism and regulation of transcription. The exchange of thiol- disulfide has been found to play an important role in protein folding of its stability [37, 38] as well to affect the redox potential of cells and proteins [39]. The active forms of oxygen and nitrogen (AFON) being essential in these processes are produced both in normal physiological pathways of cellular function and in response to harmful factors, including radiation, and precede the formation of cellular genetic instability. Herewith a correlation between the apoptosis-associated changes in cells and their radiosensitivity was substantiated [40–42]. The increased induction of chromosomal aberrations and formation of micronuclei in lymphocytes of cancer patients after irradiation *in vitro* by contrast with healthy donors, which was observed in a number of studies [43, 44], may be explained in many cases by apoptosis as a mechanism of elimination of cells with damaged DNA and maintaining the genetic stability.

Purpose – to enhance the effectiveness and assess the toxicity of SVC RT via ascertaining BT (brachytherapy) most suitable techniques depending on the type of ionizing radiation and exploring predictability of radiation-induced complications in terms of biomolecular cell properties.

MATERIALS AND METHODS

There are appropriate guidelines for SVC, which mainly take into account the tumor size and method of primary RT. There are no fundamental differences between EBRT and BT in the mechanism of radiation effect, which leads to cell death, damage to normal tissues and tumor destruction. Radiobiological basis of both RT variants have a lot in common, however, their physical features of spatial and temporal dose distribution differ significantly. The main provisions defining BT effectiveness are the dose-rate value of contact radia-

визначають ефективність БТ – це величина потужності дози контактного опромінення з низькою потужністю дози (low-dose rate – LDR) і модель фракціонованого опромінення при використанні джерел високої потужності дози – HDR. Опромінення джерелом середньої потужності дози позначається, як MDR. При застосуванні опромінення LDR значно збільшується час курсу ПТ. Використання фракціонованої БТ з високою потужністю дози приводить до більшого пошкодження клітин нормальних тканин в порівнянні з пухлинними клітинами. Подовження часу курсу радіотерапії зменшує частоту ранніх променевих реакцій, проте погіршує результати місцевого лікування, при цьому не впливає на кількість пізніх променевих ускладнень [13, 16]. Для БТ вибір ДІВ, сумарні осередкові дози (СОД), режим її фракціонування зумовлюється поширеністю процесу, апаратним забезпеченням установи та попереднім дистанційним опроміненням. Методики радіотерапії пухлин вагіни відрізняються великою варіабельністю, що у значній мірі ускладнює вибір найбільш оптимального для кожної конкретної хворої варіанту [14, 16–19].

Для вивчення ефективності нового джерела випромінювання – ^{192}Ir при контактній ПТ у клініці Національного інституту раку у відділенні радіаційної онкології проводилось дослідження за допомогою апарата для високоенергетичної БТ з джерелом гамма-випромінювання високої активності. У дослідження були включені 106 хворих з вторинними пухлинами вагіни, які до цього лікувались з приводу захворювання на РШМ – 65 хворих, захворювання на РТМ – 41 пацієнтка. Переважну кількість пацієнтів досліджуваної групи склали хворі з місцевопоширеним пухлинним процесом у малому тазі II–III стадій поширеності, T2-3N0-1M0.

Клінічний діагноз у всіх хворих підтверджений результатами гістологічного дослідження. У більшості пацієток, вторинний рак у яких виник після РШМ, був виявлений плоскоклітинний рак, а у хворих після РТМ – аденокарцинома.

З метою визначення меж пухлинного процесу, його особливостей, стану критичних органів, наявності/відсутності супутньої патології усім хворим було проведено комплексне обстеження, яке включало: клінічний огляд для визначення візуальних та пальпаторних параметрів первинного пухлинного вогнища; комплексне ультрасонографічне обстеження, комп'ютерну томографію (КТ) органів грудної, черевної порожнини і малого таза, магнітно-резонансну томографію (МРТ) органів малого таза; цистоскопію та фіброректосигмоскопію (визначення поширеності і наявності/відсутності патологічних процесів, які можуть ускладнити проведення хіміопроменевої терапії (ХПТ) та/або призвести до небажаних токсичних ускладнень і зумовлюють необхідність редуції доз); лабораторні дослідження.

Під час проведення поєднаної променевої терапії (ППТ) з використанням радіоактивного ^{192}Ir враховувались показання та протипоказання до внутрішньопорожнинної гамма-терапії. В ході лікування

tion with low dose rate (LDR) and the model of fractional exposure when using the HDR sources. Irradiation with a medium dose-rate source is referred to as MDR. When applying LDR irradiation the time of RT session is significantly extended. Administration of the fractionated BT with a high dose-rate leads to greater damage to normal tissue cells compared to the tumor ones. Prolonging the RT session reduces the incidence of early radiation reactions, but worsens the results of local treatment, with no effect on the number of late radiation-induced complications [13, 16]. Choice of IRS, total focal doses (TFD), and fractionation mode are determined by the spread of process, equipment of the healthcare institution and preceding EBRT. Methods of vaginal tumor RT are highly variable, which greatly complicates the choice of the most optimal option for each patient [14, 16–19].

Effectiveness of the new ^{192}Ir radiation source application in contact PT was studied at the National Cancer Institute Clinic (Radiation Oncology Department) using a device for high-energy BT with a HDR gamma radiation source. Patients with SVC (n = 106) previously treated for CC (n = 65) or UC (n = 41) were enrolled. Patients with locally advanced pelvic tumor stage II–III, T2-3N0-1M0 were prevalent in the study group.

Clinical diagnosis in all patients was confirmed by the histological study. In most cases of secondary cancer upon primary CC the squamous cell carcinoma was found, while the adenocarcinoma was mostly diagnosed after primary UC.

In order to determine the boundaries of tumor process, its features, state of critical organs, and presence or absence of concomitant diseases all the patients had undergone a comprehensive examination. The latter included clinical check-up to determine visual and palpatory parameters of primary tumor, comprehensive ultrasonographic examination, computed tomography (CT) of the chest, abdomen and pelvis, magnetic resonance imaging (MRI) of the pelvis, cystoscopy and fibrorectosigmoidoscopy (assay of spread and presence or absence of lesions that may complicate the chemoradiotherapy (CRT) and/or lead to undesirable toxic complications and thus necessitate the dose reduction), and laboratory tests.

Indications and contraindications for the intracavitary gamma therapy were taken into account when performing combined radiation therapy (CRT) using a ^{192}Ir source. EBRT was administered during the treatment of studied patients. The radiation dose was planned taking into account the previously performed radiotherapy.

Upon comprehensive examination all the patients had received CRT, namely conformal EBRT on the linear electron accelerator device and contact RT.

Conformal EBRT was delivered on the “Clinac 2100 CD” linear electron accelerator device with mandatory preirradiation 3D-topometric preparation on the CT. Treatment was performed via single focal dose (SFD) of 2 Gy 5 times a week up to the TFD of 42–46 Gy, taking into account the radiation dose obtained during previous treatment. BT was performed at the second stage

досліджуваних хворих застосовувалась ДПТ. Доза опромінення планувалась з урахуванням раніше проведеного променевого лікування.

Після комплексного обстеження усім хворим проводили ППТ: конформна ДПТ на апараті лінійний прискорювач електронів і контактна ПТ.

Конформну ДПТ здійснювали на апараті лінійний прискорювач електронів Clinac 2100 CD з обов'язковою передпроменевою 3D топометричною підготовкою на КТ. Лікування проводили за режимом разовою осередковою дозою (РОД) 2 Гр 5 разів на тиждень до СОД 42–46 Гр з урахуванням дози опромінення, отриманої під час попереднього лікування. На другому етапі радіотерапії проводили БТ за допомогою високоенергетичного HDR апарата GammaMed з джерелами випромінювання ^{192}Ir . Першій основній групі (37 хворих) БТ здійснювали за режимом опромінення: РОД 3 Гр х 2 рази на тиждень, до СОД 30 Гр за 10 фракцій. Другій основній групі (34 хворих) застосовували режим опромінення РОД 6 Гр х 1 раз на тиждень, до СОД 30 Гр за 5 фракцій. Групі порівняння (35 хворих) після ДПТ проводили MDR БТ джерелами ^{60}Co . Відповідно до розробленого протоколу БТ здійснювали за режимом опромінення: РОД 6 Гр х 2 рази на тиждень до СОД 40–42 Гр. При ураженні зон регіонарного метастазування проводили відповідно дистанційну гамма-терапію. При цьому обов'язково враховували дози від проведеної раніше ПТ.

Хворим усіх груп ППТ проводили на тлі використання хіміорадіомодифікуючих засобів: тегафур перорально 235 мг/м² х 2 рази на добу протягом всього курсу ППТ та цисплатин 30 мг/м² 1 раз на тиждень внутрішньовенно крапельно № 4–6, до сумарної курсової дози (СД) 200–300 мг.

Статистична обробка отриманих клінічних результатів включала: розрахунок первинних статистичних показників; виявлення відмінностей між групами за статистичними ознаками; встановлення взаємозв'язку між змінними за допомогою параметричного та непараметричного кореляційного аналізу за методом Вальда–Вольфовиця [45].

Водночас з клінічними проводили радіобіологічні дослідження, що спрямовані на визначення кількості апоптичних клітин в інтактних та опромінених лімфоцитах периферичної крові (ЛПК), а також рівня SH-груп білків і пептидів плазми крові в онкогінекологічних хворих та умовно здорових осіб (УЗО).

Дослідження передбачало з'ясування і, в подальшому, прогнозування характеру променевих порушень, що розвивалися в клітинах тканин із оточення пухлини, зокрема, ЛПК, які також зазнають опромінення [15, 46].

Було вирішено дослідження проводити із застосуванням радіомодифікатора метформіну (МФ) *ex vivo*, який за даними літератури підвищує чутливість клітин пухлини до опромінення [47]. Автори припускають, що його протипухлинний ефект пов'язаний з інгібуванням 1-го дихального комплексу окиснювального фосфорилювання мітохондрій. В дослідженні [48] встановлено, що МФ безпосередньо підвищує протипухлинну цитотоксичність лімфоцитів крові.

of RT using a HDR device “GammaMed” with ^{192}Ir radiation sources. BT was conducted in the main group I (n = 37) according to the irradiation regime of SFD 3 Gy twice a week up to the TFD of 30 Gy in 10 fractions. The main group II (n = 34) had received the irradiation regimen of 6 Gy SFD 1 time per week up to 30 Gy TFD in 5 fractions. The MDR RT from ^{60}Co was administered to the comparison group (n = 35) upon EBRT. BT was delivered according to the developed protocol via irradiation regime of 6 Gy SOD twice a week up to 40–42 Gy TFD. The gamma-ray teletherapy was accordingly administered to the injury zone of regional metastases. At the same time, the doses of previous RT were necessarily taken into consideration.

CRT was provided to all study subjects along with administering chemoradiomodifying agents, namely tegafur orally 235 mg/m² BID throughout the course of CRT and cisplatin 30 mg/m² intravenously once a week for 4–6 weeks up to the 200–300 mg total course dose (TCD).

Statistical processing of the obtained clinical findings included calculation of primary statistical parameters, identification of intergroup differences by the statistical criteria, establishing the relationship between variables using parametric and non-parametric correlation analysis by means of the Wald–Wolfowitz test [45].

Along with clinical study, the radiobiological research was conducted to count the apoptotic cells in both intact and irradiated peripheral blood lymphocytes (PBL), as well as the level of SH-groups of plasma proteins and peptides in gynecological cancer patients and nominally healthy individuals.

The study was aimed to ascertain and further predict the nature of radiation disorders developing in tissue cells from the tumor environment, including PBL, which are also exposed to radiation [15, 46].

Decision was taken to carry out the study applying metformin (MET) radiomodifier *ex vivo*, which, according to the literature, increases the sensitivity of tumor cells to radiation [47]. The authors suggest that its antitumor effect is associated with inhibition of the 1st respiratory complex of oxidative mitochondrial phosphorylation. The study [48] has made clear that MET directly increases antitumor cytotoxicity of blood lymphocytes.

Accompanying radiobiological studies were performed on blood samples obtained from patients with newly diagnosed UC (ND UC) and nominally healthy individuals (NHI), who provided an informed consent in accordance with the principles of biomedical research set out in the Helsinki Declaration of the World Medical Association. Peripheral blood was sampled in the standard sterile 6 ml Vacutainer tubes with Li-heparin anticoagulant. Blood samples were stored and transported at 3–5°C. Each blood sample was divided into 15 parts (groups): 1 – with no exposure to radiation; 2 – irradiation at a dose of 0.5 Gy; 3 – at 1.0 Gy; 4 – at 2.0 Gy; 5 – at 3.0 Gy. The blood samples of groups 6–10 were incubated for 1 hour with 2 mM of metformin (MF), and in groups 11–15 – 20 mM of MF at a room temperature followed by being irradiated the same way as groups 1–5. MF was

Супроводжуючі радіобіологічні дослідження виконували на зразках крові отриманих від пацієнтів, у яких був первинно діагностований РТМ (ПД РТМ) та УЗО, від яких отримано інформовану згоду відповідно до принципів проведення біомедичних досліджень, що викладені в Гельсінській Декларації Всесвітньої медичної асоціації. Периферичну кров збирали в стандартні стерильні пробірки Vacutainer об'ємом 6 мл із антикоагулянтном Li-гепарин. Зразки крові зберігали і транспортували при 3–5°C. Кожен зразок крові розділяли на 15 частин (груп): 1 – без опромінення; 2 – опромінення в дозі 0,5 Гр; 3 – опромінення в дозі 1,0 Гр; 4 – опромінення в дозі 2,0 Гр; 5 – опромінення в дозі 3,0 Гр. Зразки крові в групах із 6 по 10 протягом 1 год інкубували із 2 мМ метформіну (МФ), а в групах 11 – 15 із 20 мМ МФ при кімнатній температурі, після чого опромінювали аналогічно зразкам 1–5 групи. МФ вносили в кров у вигляді розчину у PBS (1:20) для досягнення в зразках крові кінцевої концентрації МФ – 2 мМ та 20 мМ. Зразки опроміненої крові обережно (без активного перемішування) транспортували протягом 10–12 хв. при 4°C в світлонепроникному термостатованому контейнері для біологічних зразків, після чого з них негайно виділяли плазму та лімфоцити для подальших досліджень. Плазму крові отримували центрифугуванням (15 хв при 1200 g; 20°C) і зберігали при 20°C до 3 діб. Виділення ЛПК виконували з використанням ГІСТОПАК-1077 HYBRI-MAX згідно з інструкцією виробника (BioReagent) [49]. Вміст гіподиплоїдних клітин в зразках ЛПК визначали методом протокової цитометрії (DxFlex, Beckman Coulter Biotechnology Co. Ltd з програмним забезпеченням для клінічного аналізу Kaluza C) після попередньої обробки клітин РНКазою та забарвлення пропідіййодидом за методикою, описаною в [50]. Оцінка вмісту SH груп білків і пептидів в плазмі крові (SH-тест) проводили спектрофотометричним методом у модифікації [51]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням загальноживаних методів варіаційної статистики, кореляційного та регресійного аналізу. Різницю між одержаними показниками вважали достовірною при $p \leq 0,05$ [52].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ефективність застосування ППТ у хворих на BPВ з використанням радіоактивного ^{192}Ir аналізували з урахуванням темпів регресії пухлини, наявності у хворих променевих реакцій і ускладнень, які виникали у процесі лікування і після його завершення.

Згідно з рекомендаціями Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), регресію пухлини визначали за даними динамічного моніторингу клінічних показників пухлинного процесу у зіставленні з даними, отриманими за допомогою сучасних засобів візуалізації (комплексне сонографічне обстеження, КТ, МРТ).

Динаміка регресії екзофітного компонента та інфільтративних змін первинних пухлин в умовах HDR наступала, як правило, до кінця курсу ВППТ на рівні доз 30 Гр.

Відгук на проведену ППТ безпосередньо після завершення повного курсу лікування (сумарний пози-

added to the blood as a solution in PBS (1:20) to achieve a final concentration of 2 mM and 20 mM in the blood samples. Irradiated blood samples were carefully (without active stirring) transported for 10–12 minutes at 4°C in an opaque thermostated container for biological samples; after that plasma and lymphocytes were immediately isolated from them for further studies. Blood plasma was obtained by centrifugation (15 min at 1200 g; 20°C) and stored at 20°C up to 3 days. PBL isolation was achieved using the HISTOPACK-1077 HYBRI-MAX according to the manufacturer's manual (BioReagent) [49]. The content of hypodiploid cells in PBL samples was assessed by flow cytometry (DxFlex, Beckman Coulter Biotechnology Co. Ltd with Kaluza C software for clinical analysis) after preliminary processing the cells by ribonuclease and propidium iodide staining according to the technique described in [50]. Evaluation of the content of SH-groups of proteins and peptides in blood plasma (SH-test) was performed by means of spectrophotometric method in modification [51]. Statistical processing of the results was performed via common methods of variation statistics, correlation and regression analysis. The difference between the obtained values was considered to be significant at $p \leq 0.05$ [52].

RESULTS AND DISCUSSION

Effectiveness of the CRT using ^{192}Ir in SVC patients was analyzed taking into account the rate of tumor regression, presence of radiation-induced reactions and complications that occurred both during treatment and upon its completion.

According to the World Health Organization (WHO) GUIDELINES, the tumor regression was determined based on a follow-up of clinical parameters of the tumor process in comparison with data obtained using modern imaging tools (comprehensive sonographic examination, CT, MRI).

Regression of exophytic component and infiltrative changes of primary tumors under the HDR RT occurred, as a rule, by the end of IRT session at the 30 Gy dose level.

The response to CRT immediately upon completion of the full course of treatment (the total positive effect)

тивний ефект) більш виражений у хворих досліджуваних груп. Так, аналіз результатів ефективності використання джерел ^{192}Ir при HDR БТ і даних динамічного спостереження протягом курсу ППТ показав, що позитивна відповідь пухлини (повна + часткова регресія) у хворих після повного курсу збільшилась на 12,7 % в I досліджуваній групі та на 15,9% в II групі порівняно із застосуванням ^{60}Co MDR при БТ.

Враховуючи відстрочену дію ПТ ефективність лікування хворих аналізували також через 3 місяці після завершення консервативної терапії. Так, після тримісячного спостереження у динаміці – позитивна відповідь пухлини зареєстрована у $67,9 \pm 5,2\%$ пацієнток, що входили до I групи та у $72,5 \pm 6,9\%$ з II групи і в групі порівняння – $51,3 \pm 6,8\%$, що на 16,6% і 21,2% було більше, ніж у групі порівняння. При динамічному спостереженні упродовж 6 місяців ознак прогресування пухлинного процесу у жодної хворої не виявлено.

Таким чином, згідно з отриманими результатами ППТ хворих на ВРВ встановлено, що застосування HDR БТ з використанням високоенергетичного джерела ^{192}Ir за розробленими методиками у хворих I і II основних груп порівняно з пацієнтками групи порівняння, яким проводили MDR БТ з використання джерел ^{60}Co за класичним режимом фракціонування дози опромінення, збільшувало частоту і ступінь регресії пухлин.

Токсичність проведеного променевого лікування оцінювали за класифікацією RTOG/EORTC, 1995 [11]. Прояви токсичності лікування за кількістю і ступенем їх проявів у досліджуваних групах онкогінекологічних хворих мало відрізнялися від групи порівняння і не перевищували II ступеня. Що до загальної токсичності, то у переважної більшості хворих на ВРВ всіх груп протягом лікування спостерігали незначну нудоту, яка не потребувала медикаментозної корекції. Виражених нейтропеній та тромбоцитопеній не відмічено. Після завершення лікування протягом місяця стан хворих нормалізувався. Проявів пізньої загальної токсичності при обстеженні до 6 місяців після лікування не спостерігали у жодної хворої.

Променеві реакції слизової вагіни, що належать до місцевих реакцій, у переважної більшості хворих усіх досліджуваних груп мали слабкий або помірний ступінь вираженості і проявлялись у вигляді гіперемії слизової або обмеженого плівчастого епітелію (II ступінь токсичності). Плівчасті епітеліїти вагіни частіше відмічали у хворих з обтяженим анамнезом, у пацієнток з екзофітним компонентом пухлини у стадії розпаду, що супроводжувалось наявністю патогенної флори. Було зазначено, що у хворих основних груп променеві реакції II ступеня практично були відсутні. Під час лікування пацієнткам проводили санацію вагіни за допомогою антибактеріальних препаратів, що дозволило продовжити курс променевого лікування до його завершення.

Всі пацієнтки задовільно переносили ВППТ. У жодної з них, незалежно від групи, упродовж лікування і в найближчі 3 місяці після його завершення, не відмічено тяжких (вище II ступеня) загальних проявів токсичності з боку сечового міхура та прямої кишки.

was more pronounced in patients of the study groups. In particular, the analysis of effectiveness of ^{192}Ir sources in HDR BT and of follow-up data during the CRT course showed that the positive tumor response (complete + partial regression) upon the full course had increased by 12.7% in group I and by 15.9 % in group II compared with the use of ^{60}Co MDR in BT.

Given the delayed effect of RT, the effectiveness of treatment was also analyzed 3 months upon completion of conservative therapy. Specifically, after a three-month follow-up a positive tumor response was registered in $67.9 \pm 5.2\%$ of patients in group I, in $72.5 \pm 6.9\%$ of subjects in group II, and in $51.3 \pm 6.8\%$ of cases in the comparison group. Hence the values in study groups were higher than in the comparison group for 16.6% and 21.2% respectively. No signs of tumor progression were detected within 6 months of the follow-up in any patient.

Thus, according to the obtained findings of CRT administration in SVC patients, it was found that providing HDR BT via a high-energy ^{192}Ir source according to the developed techniques, increased the frequency and degree of tumor regression in the main groups I and II vs comparison group receiving the MDR BT using a ^{60}Co radiation sources.

The toxicity of the performed RT was evaluated according to the RTOG/EORTC (1995) classification [11]. The treatment toxicity in the number and degree of its manifestations in the groups of oncogynecological patients differed a little from the comparison group and did not exceed grade II. As for the general toxicity, there was a slight nausea requiring no medical correction within treatment period in the vast majority of SVC patients in all study groups. Neither severe neutropenia nor thrombocytopenia were observed. The patient's condition returned to normal in about a month after treatment. No manifestations of the late general toxicity were observed in any patient at examination up to 6 months upon treatment.

Radiation reactions of vaginal mucosa attributed to the local reactions were mild or moderate and manifested as hyperemia of mucosa or limited membranous epitheliitis (grade II of toxicity) in the vast majority of patients in all study groups. Membrane epitheliitis of vagina was more often observed in patients with a compromised history, patients with an exophytic component of the tumor in destruction stage, which was accompanied by the contamination with pathogenic flora. It was noted that radiation reactions of grade II were almost absent in the main groups. Sanitation of vagina with antibacterial preparations was administered to the patients during treatment, which allowed continuing the RT course until its completion.

All patients tolerated the IRT satisfactorily. There were no severe (above grade II) general manifestations of toxicity from bladder or rectum during treatment and in the next 3 months upon its completion in any patient, regardless of group.

Due to the experimental studies it was found that the level of spontaneous or X-ray-induced (0.5–3 Gy dose) apoptotic cell death, as assessed by the percentage of

В експериментальних дослідженнях було встановлено, що рівень спонтанної або індукованої рентгеновським опроміненням в дозах 0,5 – 3 Гр апоптичної загибелі клітин, оцінюваної за відсотком гіподиплоїдних клітин, визначали у ЛПК УЗО та хворих з ПД РТМ. Типові гістограми розподілу інтенсивності флуоресценції ЛПК подані на рисунку 1.

hypodiploid cells, was determined in lymphocytes of the NHI and ND UC patients. Typical histograms of the fluorescence intensity of PBL are presented in Fig. 1.

Рис. 1. Гістограми розподілу інтенсивності флуоресценції ЛПК, помічених пропідій йодидом: А – УЗО; Б – хворих на ПД РТМ. Зазначено відсоток гіподиплоїдних клітин за кількістю ДНК на клітину в діапазоні M1
Fig. 1. Histograms of the fluorescence intensity distribution of PBL labeled with propidium iodide: A – NHI; B – ND UC patients. Percentage of hypodiploid cells is demonstrated by the number of DNA per cell in the M1 range

Рівень апоптозу в ЛПК здорових донорів становив $1,91 \pm 0,38$ %. За умов терапевтичного опромінення (ТО) середньо-груповий рівень апоптозу ЛПК збільшувався лінійно та пропорційно дозі опромінення, перевищуючи значення інтактного контролю від 24% до 52% ($p \leq 0,05$) (рис. 2, А).

Рівень апоптозу в ЛПК у хворих онкогінекологічного профілю становив $3,50 \pm 0,29$ %, що в 1,8 рази ($p \leq 0,05$) перевищував значення в УЗО. Однак, за дії ТО середньо-груповий рівень апоптозу ЛПК хворих, на відміну від УЗО, майже не змінювався при збільшенні дози опромінення (рис. 2, Б).

The PBL apoptosis level in healthy donors was $1.91 \pm 0.38\%$. The mean group level of PBL apoptosis under TI (therapeutic irradiation) increased linearly and in proportion to radiation dose, exceeding the value of intact control from 24% to 52% ($p \leq 0.05$) (Fig. 2, A).

The level of PBL apoptosis in the oncogynecological patients was $3.50 \pm 0.29\%$, being 1.8 ($p \leq 0.05$) times higher than in the NHI. However, under the influence of TI the average group level of apoptosis of PBL in patients, in contrast to NHI, almost did not change with dose increase (Fig. 2, B).

А/А

Рис. 2. Сумісний вплив ТО та МФ на відсоток гіподиплоїдних клітин (в стані апоптозу) за даними проточної цитометрії в ЛПК УЗО (А) та хворих на ПД РТМ (Б)

Fig. 2. Combined effect of TI and MF on the percentage of hypodiploid cells (in a state of apoptosis) according to flow cytometry data in PBL of NHI (A) and ND UC patients (B)

Б/Б

Вивчення впливу протекторів на механізми формування радіочутливості проводили із використанням

Studying the effects of protectors on mechanisms of radiosensitivity formation was performed under

різних доз МФ, менша з яких є наближеною до терапевтичної, а більша знаходиться в діапазоні доз, використовуваних в експериментах на культурах клітин. Інкубація зразків крові УЗО із МФ в концентрації 2 мМ значно підвищувала (в 2,0 рази, $p \leq 0,05$), а за концентрації 20 мМ в 1,7 рази ($p \leq 0,05$) відсоток гіподиплоїдних клітин (рис. 2, А).

Інша закономірність змін рівня апоптозу спостерігалась у ЛПК хворих за впливу різних доз МФ. Тенденція підвищення рівня апоптозу на 12% ($p \leq 0,05$) спостерігалась при інкубації ЛПК із 2 мМ МФ, однак при використанні більшої дози препарату відсоток гіподиплоїдних клітин, навпаки, зменшувався на 30% ($p \leq 0,05$) порівняно з інтактними ЛПК хворих (рис. 2, Б).

Підрахунок кількості життєздатних клітин, за використання суправітального забарвлення трипановим синім, не показав достовірної різниці між інтактними ЛПК та інкубованими із МФ. Порівняння даних із загальної виживаності ЛПК та рівня апоптозу в них опосередковано свідчить про вплив МФ на пригнічення процесів дихання в мітохондріях та глюконеогенезу в клітинах, а саме на інгібування комплексу I дихального ланцюга мітохондрій [53]. В результаті чого зменшується окисне фосфорилування та знижується вміст АТФ, що в свою чергу є одним із проапоптотичних сигналів.

За сумісної дії різних доз МФ та ТО кількість апоптотичних клітин в ЛПК УЗО збільшувалась аналогічно змінам, зареєстрованим у групі порівняння (рис. 2, А). Так, відсоток гіподиплоїдних клітин збільшувався лінійно та пропорційно дозі опромінення, перевищуючи значення неопроміненого контролю від 12% до 48% ($p \leq 0,05$). Інкубація крові хворих із різними дозами МФ та наступне ТО не супроводжувались зростанням рівня апоптозу в ЛПК, як і в клітинах, які опромінювали без додавання МФ (рис. 2, Б). Навпаки, спостерігалась тенденція до зниження відсотка гіподиплоїдних клітин в інкубованих із МФ групах при різних дозах опромінення.

Таким чином, за сумісного впливу МФ та ТО *in vitro* на зразки крові УЗО, зареєстровано лінійний характер збільшення відсотка ЛПК у стані апоптозу, що свідчить про суттєву сенсibiлізацію клітин до опромінення за дії МФ. Отримані результати корелюють із даними літератури, де МФ проявляв радіопротекторні та радіосенсибілізуючі властивості у нормальних та пухлинних клітинах [54]. Однак, у досліджуваних хворих описані ефекти не спостерігались, що можливо свідчить про зміни у функціонуванні процесів дихання в мітохондріях та глюконеогенезу в клітинах організму, пов'язаних із злоякісним процесом.

Дослідження вмісту сумарних SH-груп у плазмі крові проводили із огляду на їх важливу роль у регуляції окисно-відновної рівноваги як в нормі, так і за умов посиленого напруження АФКА, що спостерігається за дії іонізуючого випромінювання та/або наявності патологічного процесу.

Кількість SH-білків і пептидів визначали спектрофотометрично в інтактній плазмі крові як УЗО, так

application of MF in different doses, the lower of which was close to therapeutic dose, and the larger one was in a range used in experiments on cell cultures. Incubation of the NHI blood samples with MF at a concentration of 2 mM and 20 mM significantly increased (2-fold and 1.7-fold respectively, $p \leq 0,05$) the percentage of hypodiploid cells (Fig. 2, A).

Another pattern of changes in the apoptosis level was observed in PBL of patients under applying different MF doses. The tendency of apoptosis level to increase by 12% ($p \leq 0,05$) was observed when incubating LPC with 2 mM MF, however, when using a higher dose of the drug, the percentage of hypodiploid cells decreased by 30% ($p \leq 0,05$) compared with intact LPC patients (Fig. 2, B).

Quantification of viable cells using the trypan blue supravital staining showed no significant difference between the intact PBL and ones incubated with MF. The comparison of data on the overall PBL survival and the level of apoptosis in them indirectly indicates the MF effect on inhibition of mitochondrial respiratory processes and cellular gluconeogenesis, namely the inhibition of complex I of mitochondrial respiratory chain [53]. Consequently, the oxidative phosphorylation was suppressed and ATP content was reduced, being, in its turn, one of the proapoptotic signals.

Under a joint effect of MF and TI in different doses, the number of apoptotic cells in PBL of NHI increased similarly to the changes registered in comparison group (Fig. 2, A). Thus, the percentage of hypodiploid cells increased linearly and in proportion to the radiation dose, exceeding the value of non-irradiated control for 12% to 48% ($p \leq 0,05$). Incubation of blood with added MF in different doses and subsequent TI was not accompanied by an increase in PBL apoptosis level, as well as in the cells that were irradiated with no MF addition (Fig. 2, B). In contrast, there was a tendency to decrease the percentage of hypodiploid cells in groups incubated with MF in different doses.

Thus, a linear increase in the PBL percentage in the state of apoptosis was registered upon joint effect of MF and TI *in vitro* on blood samples from NHI, which indicates a significant sensitization of cells to IR under the action of MF. The obtained results correlate with literature data, where MF exhibited the radioprotective and radiosensitizing properties in normal and tumor cells [54]. However, no described effects have been observed in the studied patients, which may indicate changes in mitochondrial respiratory processes and cellular gluconeogenesis associated with malignant process.

Studying the content of total SH-groups in blood plasma were performed considering their key role in regulation of redox balance both in normal conditions and under the enhanced AFON production, which is observed under the impact of IR and/or presence of a pathological process.

The amount of SH-proteins and peptides was determined spectrophotometrically in the intact plasma of both NHI and patients by the content of colored 2-nitro-5-thiobenzoate anion with a maximum absorption at 412 nm.

і хворих за вмістом забарвленого аніона 2-нітро-5-тіобензоату із максимумом поглинання при 412 нм.

Вміст сульфгидрильних груп білків і пептидів у плазмі крові онкогінекологічних хворих був зниженим у порівнянні із УЗО (рис. 3). Виявлено, що в плазмі крові хворих середнє значення вмісту сульфгидрильних груп становило $0,42 \pm 0,024$ mM, що на 18% менше, ніж в групі УЗО ($0,51 \pm 0,014$ mM). При опроміненні зразків крові хворих спостерігалось незначне збільшення (до 4%) кількості SH-груп порівняно із їх значенням у зразках без ТО, що корелювало із даними в УЗО, де збільшення вмісту SH-груп становило 6% (рис. 3).

The content of sulfhydryl groups of proteins and peptides in the blood plasma of oncogynecological patients was reduced in comparison with NHI (Fig. 3). It was found that the average value of content of sulfhydryl groups in the blood plasma of patients was 0.42 ± 0.024 mM, which was by 18% less than in the NHI group (0.51 ± 0.014 mM). When irradiating blood samples from patients, there was a slight increase (up to 4%) in the number of SH-groups compared to their value in samples without TI, correlating with data in NHI, where the increase in SH-groups was 6% (Fig. 3).

Рис. 3. Вплив ТО на вміст SH-груп у плазмі крові УЗО (●) та онкогінекологічних хворих (■)
Fig. 3. Effect of TI on the SH-group content in blood plasma from NHI and gynecological cancer patients

Концентрація SH-груп у плазмі як хворих, так і здорових осіб, не змінювалась за *ex vivo* інкубації з різними дозами МФ, а також за *in vitro* опромінення (0.5; 1; 2; 3 Гр) зразків крові із МФ.

Таким чином, незначні зміни вмісту SH-груп в плазмі крові УЗО при ТО в діапазоні доз 0.5–3.0 Гр пояснюються проявом компенсаторних можливостей антиоксидантної системи організму, завдяки якій нейтралізується надлишок АФКА, що утворився за дії рентгенівського опромінення. Плазма крові досліджуваних хворих містила меншу кількість SH-груп порівняно з УЗО, що свідчить про зміни окисно-відновної рівноваги у бік окисдантних процесів. Інкубація крові *ex vivo* із препаратом МФ у плазмі крові не впливала на рівень SH-груп.

Plasma concentration of the SH-groups both in patients and healthy individuals did not change during the *ex vivo* incubation with MF in different doses, as well as under *in vitro* irradiation (0.5, 1, 2, and 3 Gy) of blood samples with added MF.

Thuswise, insignificant changes in content of SH-groups in plasma of the NHI under TI in a dose range of 0.5–3.0 Gy are explained by manifestation of compensatory capabilities of the antioxidant system, which neutralizes the AFON excess formed by X-ray exposure. The blood plasma of patients contained a lower number of SH-groups in comparison with NHI, indicating the redox balance change towards oxidative processes. Incubation of blood *ex vivo* with added MF preparation to the plasma did not affect the level of SH-groups.

ВИСНОВКИ

1. В результаті проведеного дослідження встановлено зменшення проявів токсичності ПТ, а саме ранніх променевих реакцій з боку суміжних з пухлиною критичних органів у хворих I і II основних груп, порівняно з пацієнтками групи порівняння, особливо в I основній групі, де використовували високоенергетичне джерело ^{192}Ir у режимі опромінення РОД = 3 Гр х 2 рази на тиждень. Застосування менших разових доз опромінення знижує частоту ранніх променевих реакцій, при цьому мало впливає на кількість пізніх променевих ускладнень, що має значення при прогнозуванні їх під час лікування. Зменшення відсотка й ступеня ранніх місцевих променевих реакцій

CONCLUSIONS

1. The study has made it possible to ascertain decreased RT toxicity manifestations, i.e. early radiation reactions from tumor-adjacent critical organs in groups I and II compared with comparison group, especially in group I, where a high-energy ^{192}Ir radiation source was used at SFD = 3 Gy twice a week. Applying lower single doses of radiation has led to a decreased incidence of early radiation reactions with a little effect on the number of late radiation complications, which is important in predicting them during treatment. Decrease in percentage and grade of early local radiation reactions on vaginal mucosa, as well as their number and grade in critical organs when providing ^{192}Ir HDR BT is most likely due to a sharp

на слизовій вагіни, а також їх кількості і ступеня з боку критичних органів при використанні ^{192}Ir HDR БТ найвірогідніше зумовлено крутим спадом дози іонізуючого випромінювання, що притаманне джерелу ^{192}Ir , на відміну від джерела ^{60}Co .

2. Показано, що онкогінекологічні хворі, на відміну від УЗО, характеризуються значним збільшенням (в 1,8 рази) рівня спонтанного апоптозу у лімфоцитах та зниженням (на 18%) вмісту SH-груп у плазмі периферичної крові. Тестуюче *in vitro* рентгенівське опромінення крові в діапазоні доз 0,5–3,0 Гр викликало пропорційне дозі збільшення на 24–56% апоптичної загибелі ЛПК умовно здорових донорів, однак не впливало на рівень апоптозу ЛПК хворих. Паралельно зареєстровано незначне дозозалежне збільшення кількості SH-груп у плазмі крові як хворих, так і УЗО (4 та 6%). Визначено особливості дії антидіабетичного препарату метформіну на рівень гіподиплоїдних клітин в популяції лімфоцитів та вміст SH-груп у плазмі крові хворих онкологічного профілю у порівнянні із УЗО. Захисна дія МФ при ТО крові хворих проявлялась у збереженні нормальної концентрації SH-груп у плазмі та рівня апоптозу в ЛПК на відміну від УЗО, в яких рівень апоптозу збільшувався пропорційно дозі опромінення.

3. Одержані результати свідчать, що вміст SH-груп у плазмі крові та рівень апоптозу ЛПК можна вважати додатковими прогностичними показниками радіочутливості немалігнізованих клітин із оточення опромінюваної пухлини, що можна враховувати при прогнозуванні променевих ускладнень здорових тканин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Воробьева Л. И., Неспрядько С. В., Гончарук И. В., Гаврилюк О. Н., Бакай О. А., Ганич А. В. Рак влагалища: современное состояние проблемы. *Клиническая онкология*. 2014. № 1(13). С. 46–50.
2. Курмышкина О. В., Белова Л. Л., Ковчур П. И., Волкова Т. О. Ремоделирование ангиогенеза и лимфангиогенеза при развитии рака шейки матки. *Биомедицинская химия*. 2015. № 5. С. 579–597.
3. Eifel P. J. Chemoradiotherapy in the treatment of cervical cancer. *Seminars in radiation oncology*. 2006. Т. 16, № 3. С. 177–185. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semradonc.2006.02.007>
4. Osman M. The role of neoadjuvant chemotherapy in the management of locally advanced cervix cancer: a systematic review. *Oncology reviews*. 2014. Vol. 8, № 2. 250 p. DOI: <https://doi.org/10.4081/oncol.2014.250>
5. Туркевич В. Г. Лучевое лечение первичного и метастатического рака влагалища. *Практическая онкология*. 2006. Т. 7, № 4. С. 236–245.
6. Филатова Е. И. Первичный рак влагалища. Диагностика и лечебная тактика. *Практическая онкология*. 2006. Т. 7, № 4. С. 228–234.
7. Абисатов Х. А. Цикл лекций по онкологии. Алматы. 2012. 180 с.
8. Коржевская Е. В., Кузнецов В. В., Грицай А. Н. Злокачественные опухоли влагалища. *Клиническая*

drop of ionizing radiation dose, typical for the ^{192}Ir source, in contrast to the ^{60}Co source.

2. The study shows that oncogynecological patients, in contrast to NHI, are characterized by a significant (1.8-fold) increase in the level of spontaneous apoptosis in lymphocytes and a decreased (by 18%) content of SH-groups in peripheral blood plasma. The testing X-ray irradiation of blood *in vitro* in the dose range of 0.5–3.0 Gy caused a dose-proportional increase by 24%–56% of apoptotic death of PBL of relatively healthy donors, but did not affect the level of apoptosis of PBL from patients. Simultaneously, a slight dose-dependent increase in the number of SH-groups in the blood plasma of patients as well as NHI (4% and 6%, respectively) was registered. Peculiarities of the antidiabetic drug MF effect on the level of hypodiploid cells in lymphocyte population and the content of SH-groups in the blood plasma of cancer patients in comparison with NHI were determined. The protective effect of MF, when having the patients' blood exposed to TI, manifested in the form of maintaining the normal concentration of SH-groups in plasma and the level of apoptosis in PBL in contrast to NHI, where the level of apoptosis increased in proportion to the radiation dose.

3. The obtained results suggest that the content of SH-groups in blood plasma and the level of apoptosis of PBL can be considered as additional predictive measures of radiosensitivity of non-malignant cells from the irradiated tumor, which can be taken into account when predicting radiation-induced complications of healthy tissues.

REFERENCES

1. Vorob'eva LI, Nespryadko SV, Goncharuk IV, Gavriluk ON, Bakai OA, Ganich AV. Vaginal cancer: current state of the problem. *Clinical oncology*. 2014;1(13):46–50. (In Russian).
2. Kurmyshkina OV, Belova LL, Kovchur PI, Volkova TO. Remodeling of angiogenesis and lymphangiogenesis in the development of cervical cancer. *Biomedical chemistry*. 2015;5:579–97. (In Russian).
3. Eifel PJ. Chemoradiotherapy in the treatment of cervical cancer. *Seminars in radiation oncology*. 2006;16(3):177–85. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semradonc.2006.02.007>
4. Osman M. The role of neoadjuvant chemotherapy in the management of locally advanced cervix cancer: a systematic review. *Oncology reviews*. 2014;8(2):250. (In English). DOI: <https://doi.org/10.4081/oncol.2014.250>
5. Turkevich VG. Radiation treatment of primary and metastatic vaginal cancer. *Practical oncology*. 2006;7(4):236–45. (In Russian).
6. Filatova EI. Primary vaginal cancer. Diagnostics and treatment tactics. *Practical oncology*. 2006;7(4):228–34. (In Russian).
7. Abisatov KhA. Cycle of lectures on oncology. Almaty. 2012;180. (In Russian).
8. Korzhevskaya EV, Kuznetsov VV, Gritsay AN. Malignant tumors of the vagina. *Clinical gynecological*

- онкогинекология: Руководство для врачей / под ред. В. П. Козаченко. М.: Издательство Бином. 2016. С. 97–108.
9. Розенко Л. Я., Варзер Е. А., Юдина Л. В. Способ внутрисполостной терапии при лечении больных с метастазами рака во влагалище. *Вестник ОНЦ*. 2014. № 3. 30 с.
 10. Федоренко З. П. та ін. Рак в Україні 2018–2019. *Бюлетень Національного канцер-реєстру України* / за ред. О.О. Колесник. К.: Національний інститут раку. 2020. № 21. 116 с.
 11. Eifel P. J., Berek J. S., Markman M. A. Cancer of the cervix, vagina, and vulva. *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 9th ed. Lippincott Williams & Wilkins. 2011. P. 1311–1344.
 12. Каприн А. Д., Галкин В. Н. Брахитерапия в лечении рака влагалища. *Biomedical Photonics*. 2016. № 1. P. 22–26.
 13. Кравец О. А., Морхов К. Ю., Новикова О. В., Хохлова С. В. Клинические рекомендации по диагностике и лечению больных раком влагалища. *Вестник ОНЦ*. 2014. № 4. 60 с.
 14. Туркевич В. Г. Современные методы лучевого лечения первичного рака влагалища. *Вестник ОНЦ*. 2012. № 3. 55 с.
 15. Domina E., Philchenkov A., Dubrovskaya A. Individual Response to Ionizing Radiation and Personalized Radiotherapy. *Critical Review in Oncogenesis*. 2018. Vol. 23(1–2). P. 69–92. DOI: <https://doi.org/10.1615/CritRevOncog.2018026308>
 16. Грицай А. А., Коржевская Е. В., Кравец О. А., Кузнецов В. В., Хохлова С. В. Клинические рекомендации по диагностике и лечению больных раком влагалища. 2014. 11 с.
 17. Levine D. A., De Los Santos J. et al. Handbook for Principles and Practice of Gynecologic oncology. Wolters Kluwer health. 2010. 288 p.
 18. Тюева Н. В., Лукьянчук О. В. Персоналізований підхід до планування поєднаної променевої терапії у хворих на місцевопоширений рак шийки матки. *Український радіологічний журнал*. 2014. Т. XXII, Вип. 4. С. 63–65.
 19. Creasman W., De Geest K., Di Saia P., Zaino R. J. Significance of true surgical pathologic staging: a Gynecologic Oncology Group Study. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2016. № 5. P. 31–34. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0002-9378\(99\)70431-x](https://doi.org/10.1016/s0002-9378(99)70431-x)
 20. Domina E., Philchenkov A., Dubrovskaya A. Individual response to ionizing radiation and personalized radiotherapy. *Critical reviews in oncogenesis*. 2018. Vol. 23, № 1 2. P. 69 92. DOI: <https://doi.org/10.1615/Crit Rev Oncog. 2018026308>
 21. Suit H., Goldberg S., Niemierko A. et al. Secondary carcinogenesis in patients treated with radiation: a review of data on radiation-induced cancers in human, non-human primate, canine and rodent subjects. *Radiation research*. 2007. Vol. 167, № 1. P. 12–42. DOI: <https://doi.org/10.1667/RR0527.1>
 22. Kucera H., Mock U., Knoke T. H. et al. Radiotherapy alone for invasive vaginal cancer: outcome with oncology: A guide for physicians / ed. VP. Kozachenko. Binom Publishing House. 2016;97–108. (In Russian).
 9. Rosenko LYa, Varzer EA, Yudina LV. Method of intracavitary therapy in the treatment of patients with cancer metastases in the vagina. *ONC Bulletin*. 2014;3:30. (In Russian).
 10. Fedorenko ZP. et al. Cancer in Ukraine 2018–2019. *Bulletin of the National Cancer Agency of Ukraine*. K.: National Institute of Cancer. 2020;21:116. (In Ukrainian).
 11. Eifel PJ, Berek JS, Markman MA. Cancer of the cervix, vagina, and vulva. *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 9th ed. Lippincott Williams & Wilkins. 2011;1311–44. (In English).
 12. Kaprin AD., Galkin VN. Brachytherapy in the treatment of vaginal cancer. *Biomedical Photonics*. 2016;1:22–6. (In Russian).
 13. Kravets OA, Morkhov KYu, Novikova OV, Khokhlova SV. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of patients with vaginal cancer. *ONC Bulletin*. 2014;4:60. (In Russian).
 14. Turkevich VG. Modern methods of radiation treatment of primary vaginal cancer. *ONC Bulletin*. 2012;3:55. (In Russian).
 15. Domina E., Philchenkov A., Dubrovskaya A. Individual Response to Ionizing Radiation and Personalized Radiotherapy. *Critical Review in Oncogenesis*. 2018;23(1–2):69–92. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1615/CritRevOncog.2018026308>
 16. Gritsay AA, Korzhevskaya EV, Kravets OA, Kuznetsov VV, Khokhlova SV. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of patients with vaginal cancer. 2014;11. (In Russian).
 17. Levine DA, De Los Santos J et al. Handbook for Principles and Practice of Gynecologic oncology. Wolters Kluwer health. 2010;288. (In English).
 18. Tyuva NV, Lukyanchuk OV. Personalization of children before the plan of one exchange therapy in ailments for musculoskeletal cancer of the uterine cervix. *Ukrainian Radiological Journal*. 2014;XXII(4):63–5. (In Ukrainian).
 19. Creasman W, De Geest K, Di Saia P, Zaino RJ. Significance of true surgical pathologic staging: a Gynecologic Oncology Group Study. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2016;5:31–4. (In English). DOI: [https://doi.org/10.1016/s0002-9378\(99\)70431-x](https://doi.org/10.1016/s0002-9378(99)70431-x)
 20. Domina E, Philchenkov A, Dubrovskaya A. Individual response to ionizing radiation and personalized radiotherapy. *Critical reviews in oncogenesis*. 2018;23(1 2):69 92. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1615/Crit Rev Oncog. 2018026308>
 21. Suit H, Goldberg S, Niemierko A et al. Secondary carcinogenesis in patients treated with radiation: a review of data on radiation-induced cancers in human, non-human primate, canine and rodent subjects. *Radiation research*. 2007;167(1):12–42. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1667/RR0527.1>
 22. Kucera H, Mock U, Knoke TH et al. Radiotherapy alone for invasive vaginal cancer: outcome with intracavitary high dose rate brachytherapy versus

- intracavitary high dose rate brachytherapy versus conventional low dose rate brachytherapy. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 2001. Vol. 80. P. 355–360.
23. Tewari K. S., Cappuccini F., Puthawala A. A. et al. Primary invasive carcinoma of the vagina: treatment with interstitial brachytherapy. *Cancer*. 2001. Vol. 91. P. 758–770. DOI: [https://doi.org/0.1002/1097-0142\(20010215\)91:4<758::aid-cnrcr1062>3.0.co;2-u](https://doi.org/0.1002/1097-0142(20010215)91:4<758::aid-cnrcr1062>3.0.co;2-u)
24. Паньшин Г. А. Основные этапы развития методов лучевой терапии и современная подготовка онкологических больных к проведению конформного облучения. *Вестник РНЦПР МЗ РФ*. 2012. № 12. С. 212–223.
25. Жариков А. А., Терехов О. В. Онкологическая заболеваемость органов малого таза, лучевые повреждения и их диагностика (обзор литературы). *Радиация и риск*. 2013. № 22(3). С. 57–64.
26. Lacombe J., Azria D., Mange A., Solassol J. Proteomic approaches to identify biomarkers predictive of radiotherapy outcomes. *Expert review of proteomics*. 2013. Vol. 10, № 1. P. 33–42. DOI: <https://doi.org/10.1586/epr.12.68>
27. Шуленина Л. В. та ін. МикроРНК в крові пацієнтів з раком передстатальної залози як можливий показатель ранніх ускладнень лучевий терапії. *Радіаційна біологія. Радіоекологія*. 2017. Т. 57, № 6. С. 598–607.
28. Brzozowska K., Pinkawa M., Eble M. J., Müller W. et al. In vivo versus in vitro individual radiosensitivity analysed in healthy donors and in prostate cancer patients with and without severe side effects after radiotherapy. *International journal of radiation biology*. 2012. Vol. 88, № 5. P. 405–413. DOI: <https://doi.org/10.3109/09553002.2012.666002>
29. Деміна Э. А. Хромосомні аномалії в лімфо-цитах крові первинних онкологічних хворих в постчернобильському періоді. *Scientific Journal «ScienceRise: Biological Science»*. 2016. № 1. С. 20–25.
30. Дьоміна Е. А. Біохімічні та цитогенетичні показники лімфоцитів периферичної крові хворих на рак передміхурової залози. *Доповіді Національної Академії наук України*. 2018. № 4. С. 102–109.
31. Иванкова В. С., Дьоміна Э. А. Проблемы резистентности опухолей в радиационной онкологии. *Здоров'я*. 2012. 192 с.
32. Мазурик В. К., Мороз Б. Б. Проблемы радиобиологии и белок P53. *Радіаційна біологія. Радіоекологія*. 2001. Т. 41, № 5. С. 548–554.
33. Главін О. А., Дьоміна Е. А., Михайленко В. М., Маковецька Л. І., Дружина М. О., Грінченко О. О. Метформін як модифікатор окисного стану периферичної крові та життєздатності лімфоцитів людини під дією іонізуючого випромінювання. *Онкологія*. 2020. Т. 22, № 1–2. С. 84–91.
34. Бурковская В. А. Радиационные (лучевые) поражения кишечника. *Гастроэнтерология Санкт-Петербурга*. 2013. № 3–4. С. 18–24.
35. Демидова Л. В., Дунаева Е. А., Бойко А. В., Новикова Е. Г., Дубовецкая О. Б. Осложнения conventional low dose rate brachytherapy. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 2001;80:355–60. (In English).
23. Tewari KS, Cappuccini F, Puthawala AA et al. Primary invasive carcinoma of the vagina: treatment with interstitial brachytherapy. *Cancer*. 2001;91:758–70. (In English). DOI: [https://doi.org/0.1002/1097-0142\(20010215\)91:4<758::aid-cnrcr1062>3.0.co;2-u](https://doi.org/0.1002/1097-0142(20010215)91:4<758::aid-cnrcr1062>3.0.co;2-u)
24. Panshin GA. Main stages in the development of radiation therapy methods and modern preparation of cancer patients for conformal irradiation. *Bulletin of the RNTSRR Ministry of Health of the Russian Federation*. 2012;12:212–23. (In Russian).
25. Zharikov AA, Terekhov OV. Oncological morbidity of the pelvic organs, radiation injuries and their diagnosis (literature review). *Radiation and risk*. 2013;22(3):57–64. (In Russian).
26. Lacombe J, Azria D, Mange A, Solassol J. Proteomic approaches to identify biomarkers predictive of radiotherapy outcomes. *Expert review of proteomics*. 2013;10(1):33–42. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1586/epr.12.68>
27. Shuleniina LV et al. MicroRNAs in the blood of patients with prostate cancer as a possible indicator of early complications of radiation therapy. *Radiation biology. Radioecology*. 2017;57(6):598–607. (In Russian).
28. Brzozowska K, Pinkawa M, Eble MJ, Müller W et al. In vivo versus in vitro individual radiosensitivity analysed in healthy donors and in prostate cancer patients with and without severe side effects after radiotherapy. *International journal of radiation biology*. 2012;88(5):405–13. (In English). DOI: <https://doi.org/10.3109/09553002.2012.666002>
29. Demina EA. Chromosomal abnormalities in blood lymphocytes of primary cancer patients in the post-Chernobyl period. *Scientific Journal «ScienceRise: Biological Science»*. 2016;1:20–5. (In Russian).
30. Dyomina EA. Biochemical and cytogenetic parameters of peripheral blood lymphocytes in patients with prostate cancer. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*. 2018;4:102–9. (In Ukrainian).
31. Ivankova VS, Demina EA. Problems of tumor resistance in radiation oncology. *Healthy*. 2012;192. (In Russian).
32. Mazurik VK, Moroz BB. Problems of radiobiology and protein P53. *Radiation biology. Radioecology*. 2001;41(5):548–54. (In Russian).
33. Glavin OA, Dyomina EA, Mikhailenko VM, Makovetskaya LI, Druzhina MO, Grinchenko OO. Metformin as a modifier of the oxidative state of peripheral blood and the viability of human lymphocytes under the action of ionizing radiation. *Oncology*. 2020;22(1–2):84–91. (In Ukrainian).
34. Burkovskaya VA. Radiation (radiation) lesions of the intestine. *Gastroenterology of St. Petersburg*. 2013;3–4:18–24. (In Russian).
35. Demidova LV, Dunaeva EA, Boyko AV, Novikova EG, Dubovetskaya OB. Complications of radiation therapy in combined treatment of patients with stage I

- лучевой терапии при комбинированном лечении больных раком тела матки I стадии. *Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН*. 2011. Т. 22, №4. С. 39–45.
36. Сычева И. В., Пасов В. В. Лучевые повреждения органов малого таза после лечения ранних стадий рака предстательной железы. *Радиация и риск*. 2014. Т. 23, № 4. С. 99–115.
37. Kim P. S., Baldwin R. L. Intermediates in the folding reactions of small proteins. *Annual review of biochemistry*. 1990. № 59. P. 631–660. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.59.070190.003215>
38. Freedman R. B. The formation of protein disulphide bonds. *Current opinion in structural biology*. 1995. № 5. P. 85–91. DOI: [https://doi.org/10.1016/0959-440x\(95\)80013-q](https://doi.org/10.1016/0959-440x(95)80013-q)
39. Everett S.A., Wardman P. Perthiols as Antioxidants: Radical-Scavenging and Pro-oxidative Mechanisms. *Methods in Enzymology: Biothiols, Part A: Monothiols and Dithiols, Protein Thiols, and Thiyl Radicals*. 1995. Vol. 251. P. 55–69. DOI: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(95\)51110-5](https://doi.org/10.1016/0076-6879(95)51110-5)
40. Hendry J.H., Potten C. S. Intestinal cell radiosensitivity: a comparison for cell death assayed by apoptosis or by a loss of clonogenicity. *International journal of radiation biology and related studies in physics, chemistry, and medicine*. 1982. Vol. 42, № 6. P. 621–628. DOI: <https://doi.org/10.1080/09553008214551601>
41. Stephens L. C., Ang K. K., Schultheiss T. E. et al. Apoptosis in irradiated murine tumors. *Radiation research*. 1991. Vol. 127, № 3. P. 308–316.
42. Macklis R. M., Beresford B. A., Palayoor S. et al. Cell cycle alterations, apoptosis, and response to low-dose-rate radioimmunotherapy in lymphoma cells. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 1993. Vol. 27, № 3. P. 643–650. DOI: [https://doi.org/10.1016/0360-3016\(93\)90391-8](https://doi.org/10.1016/0360-3016(93)90391-8)
43. Rached E., Schindler R., Beer K. T. et al. No predictive value of the micronucleus assay for patients with severe acute reaction of normal tissue after radiotherapy. *European journal of cancer*. 1998. Vol. 34, № 3. P. 378–383. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0959-8049\(97\)00373-0](https://doi.org/10.1016/s0959-8049(97)00373-0)
44. Scott D. Chromosomal radiosensitivity, cancer predisposition and response to radiotherapy. *Strahlentherapie und Onkologie*. 2000. Vol. 176, № 5. P. 229–234. DOI: <https://doi.org/10.1007/s000660050005>
45. Antomonov M. Yu. Matematicheskaya obrabotka i analiz mediko-biologicheskikh dannykh. *MITs «Med-inform»*. 2018. 579 p.
46. Джойнер М., Когель А. Основы клинической радиобиологии. Лаборатория знаний. 2013. 600 с.
47. Troncone M., Cargnelli S. M., Villani L. A. et al. Targeting metabolism and AMP-activated kinase with metformin to sensitize non-small cell lung cancer (NSCLC) to cytotoxic therapy; translational biology and rationale for current clinical trials. *Oncotarget*. 2017. Vol. 8, № 34. P. 57733–57754. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17496>
- cancer of the uterus. *Bulletin of the Russian Oncology Center N.N.Blokhina RAMS*. 2011;22(4):39–45. (In Russian).
36. Sycheva IV, Pasov VV. Radiation injuries of the pelvic organs after treatment of early stages of prostate cancer. *Radiation and risk*. 2014;23(4):99–115. (In Russian).
37. Kim PS, Baldwin RL. Intermediates in the folding reactions of small proteins. *Annual review of biochemistry*. 1990;59:631–60. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.59.070190.003215>
38. Freedman RB. The formation of protein disulphide bonds. *Current opinion in structural biology*. 1995;5:85–91. (In English). DOI: [https://doi.org/10.1016/0959-440x\(95\)80013-q](https://doi.org/10.1016/0959-440x(95)80013-q)
39. Everett S.A., Wardman P. Perthiols as Antioxidants: Radical-Scavenging and Pro-oxidative Mechanisms. *Methods in Enzymology: Biothiols, Part A: Monothiols and Dithiols, Protein Thiols, and Thiyl Radicals*. 1995. Vol. 251. P. 55–69. (In English). DOI: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(95\)51110-5](https://doi.org/10.1016/0076-6879(95)51110-5)
40. Hendry JH, Potten CS. Intestinal cell radiosensitivity: a comparison for cell death assayed by apoptosis or by a loss of clonogenicity. *International journal of radiation biology and related studies in physics, chemistry, and medicine*. 1982;42(6):621–8. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1080/09553008214551601>
41. Stephens LC, Ang KK, Schultheiss TE et al. Apoptosis in irradiated murine tumors. *Radiation research*. 1991;127(3):308–16. (In English).
42. Macklis R M, Beresford BA, Palayoor S et al. Cell cycle alterations, apoptosis, and response to low-dose-rate radioimmunotherapy in lymphoma cells. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 1993;27(3):643–50. (In English). DOI: [https://doi.org/10.1016/0360-3016\(93\)90391-8](https://doi.org/10.1016/0360-3016(93)90391-8)
43. Rached E, Schindler R, Beer KT et al. No predictive value of the micronucleus assay for patients with severe acute reaction of normal tissue after radiotherapy. *European journal of cancer*. 1998;34(3):378–83. (In English). DOI: [https://doi.org/10.1016/s0959-8049\(97\)00373-0](https://doi.org/10.1016/s0959-8049(97)00373-0)
44. Scott D. Chromosomal radiosensitivity, cancer predisposition and response to radiotherapy. *Strahlentherapie und Onkologie*. 2000;176(5):229–34. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1007/s000660050005>
45. Antomonov MYu. Matematicheskaya obrabotka i analiz mediko-biologicheskikh dannykh. *MITs «Med-inform»*. 2018;579. (In English).
46. Joyner M, Kogel A. Fundamentals of Clinical Radiobiology. Knowledge laboratory. 2013;600. (In Russian).
47. Troncone M, Cargnelli SM, Villani LA et al. Targeting metabolism and AMP-activated kinase with metformin to sensitize non-small cell lung cancer (NSCLC) to cytotoxic therapy; translational biology and rationale for current clinical trials. *Oncotarget*. 2017;8(34):57733–54. (In English). DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17496>

48. Jaune E., Rocchi S. Metformin: Focus on Melanoma. *Frontiers in endocrinology*. 2018. Vol. 9. 472 p. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00472>
49. Product Information Histopaque®-1077 Hybri-Max™ (H8889). URL: https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/2/h8889pis.pdf
50. Riccardi C., Nicoletti I. Analysis of apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. *Nature protocols*. 2006. Vol. 1, № 3. P. 1458–1461. DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.238>
51. Hu M. L. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. *Methods in enzymology*. 1994. Vol. 233. P. 380–385. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(94\)33044-1](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(94)33044-1)
52. Lakin G. F. Biometry. Vyschaya Shkola. 1990. 352 p.
53. Rena G., Hardie D. G., Pearson E. R. The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia*. 2017. Vol. 60. P. 1577–1585. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4342-z>
54. Mortezaee K., Shabeeb D., Musa A. E., Najafi M., Farhood B. Metformin as a Radiation Modifier; Implications to Normal Tissue Protection and Tumor Sensitization. *Current Clinical Pharmacology*. 2019. Vol. 14. P. 41–53. DOI: <https://doi.org/10.2174/1574884713666181025141559>
48. Jaune E, Rocchi S. Metformin: Focus on Melanoma. *Frontiers in endocrinology*. 2018;9:472. (In English). DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00472>
49. Product Information Histopaque®-1077 Hybri-Max™ (H8889). (In English). URL: https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/2/h8889pis.pdf
50. Riccardi C, Nicoletti I. Analysis of apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. *Nature protocols*. 2006;1(3):1458–61. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.238>
51. Hu ML. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. *Methods in enzymology*. 1994;233:380–5. (In English). DOI: [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(94\)33044-1](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(94)33044-1)
52. Lakin GF. Biometry. Vyschaya Shkola. 1990;352. (In English).
53. Rena G, Hardie DG, Pearson ER. The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia*. 2017;60:1577–85. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4342-z>
54. Mortezaee K, Shabeeb D, Musa AE, Najafi M, Farhood B. Metformin as a Radiation Modifier; Implications to Normal Tissue Protection and Tumor Sensitization. *Current Clinical Pharmacology*. 2019;14:41–53. (In English). DOI: <https://doi.org/10.2174/1574884713666181025141559>

Перспективи подальших досліджень

Висновки, представлені в статті, не є остаточними і потребують подальшого дослідження. Необхідно продовжити подальше вивчення та аналіз віддалених результатів ефективності і токсичності розроблених методик променевого лікування хворих на вторинний рак вагіни, та після обробки отриманих даних дослідження пізніх місцевих токсичних проявів хіміо-променевої терапії з боку критичних органів, можна внести корекцію у стандарти лікування хворих на вторинні ураження вагіни на теренах України.

Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів

Інформація про фінансування

Робота фінансується видатками Державного бюджету України

Prospects for future research

The conclusions presented in the paper are not final and need further research. It is essential to continue further study and analysis of the long-term results of efficacy and toxicity of the developed radiotherapy techniques in the secondary vaginal cancer patients. Upon processing the obtained research data regarding the late local toxic manifestations in critical organs as a result of chemoradiation therapy it will become possible to make adjustments to the standards of treatment of patients with secondary vaginal lesions in Ukraine.

Conflict of interest

The authors state no conflict of interest.

Funding information

The study is financed by the State Budget of Ukraine.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Іванкова Валентина Степанівна – доктор медичних наук, професор, завідувачка науково-дослідного відділення радіаційної онкології Національного інституту раку Міністерства охорони здоров'я України; вул. Ломоносова, буд. 33/43, м. Київ, Україна, 03022; e-mail: valentina_ivankova@ukr.net моб.: +38 (050) 958-33-43.

Внесок автора: загальне керівництво проведенням клінічних досліджень, розробка концепції клінічного розділу дослідження, написання тексту статті.

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Ivankova Valentina Stepanivna – Doctor of Medical Science, Professor, Head of Radiation Oncology Research Department, National Cancer Institute of the Ministry of Health of Ukraine; 33/43, Lomonosov Str., Kyiv, Ukraine, 03022; e-mail: valentina_ivankova@ukr.net ph: +38 (050) 958-33-43

Author's contribution: general management of clinical research, development of the study clinical section concept, writing the manuscript.

Михайленко Віктор Михайлович – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу біологічних ефектів іонізуючого і неіонізуючого випромінювання Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького Національної академії наук України; вул. Васильківська, буд. 45, м. Київ, Україна, 03022;

e-mail: mvmik@yahoo.com

моб.: +38 (050) 206-48-41.

Внесок автора: виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих даних, аналіз отриманих результатів, написання тексту статті.

Дьоміна Емілія Анатоліївна – доктор біологічних наук, професор, завідувачка відділу біологічних ефектів іонізуючого і неіонізуючого випромінювання Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького Національної академії наук України; вул. Васильківська, буд. 45, м. Київ, Україна, 03022;

e-mail: edjomina@ukr.net

моб.: +38 (067) 402-55-78.

Внесок автора: корегування радіобіологічного розділу виконаної роботи, аналіз та інтерпретація отриманих результатів.

Хруленко Тетяна Валеріївна – кандидат медичних наук, лікар з променевої терапії відділення клінічної радіоонкології з блоком брахітерапії Національного інституту раку Міністерства охорони здоров'я України; вул. Ломоносова, буд. 33/43, м. Київ, Україна, 03022;

e-mail: khrulenko@ukr.net

моб.: +38 (050) 551-31-23.

Внесок автора: корегування клінічного розділу виконаної роботи, набір пацієнтів за темою роботи, аналіз та інтерпретація отриманих результатів, написання тексту статті.

Барановська Лідія Михайлівна – кандидат медичних наук, старший науковий співробітник, завідувачка клінічної радіоонкології з блоком брахітерапії Національного інституту раку Міністерства охорони здоров'я України; вул. Ломоносова, буд. 33/43, м. Київ, Україна, 03022;

e-mail: lidabaranovska@ukr.net

моб.: +38 (099) 904-01-73.

Внесок автора: статистичне опрацювання клінічного розділу виконаної роботи, написання тексту статті, підбір літературних джерел

Гринченко Ольга Олександрівна – провідний інженер відділу біологічних ефектів іонізуючого і неіонізуючого випромінювання Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького Національної академії наук України; вул. Васильківська, буд. 45, м. Київ, Україна, 03022;

e-mail: griniolia@gmail.com

моб.: +38 (093) 504-02-14.

Внесок автора: опромінення зразків крові, аналіз даних літератури стосовно препарату метформін.

Mikhailenko Victor Mikhailovich – PhD, Senior Researcher, Department of Biological Effects of Ionizing and Non-Ionizing Radiation, R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine; 45, Vasylykivska Str., Kyiv, Ukraine, 03022;

e-mail: mvmik@yahoo.com

ph: +38 (050) 206-48-41

Author's contribution: conducting experimental research, statistical processing of the obtained data, analysis of the obtained results, writing the manuscript.

Domina Emilia Anatoliivna – Doctor of Biological Science, Professor, Head of Department of Biological Effects of Ionizing and Non-Ionizing Radiation, R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine; 45, Vasylykivska str., Kyiv, Ukraine, 03022;

e-mail: edjomina@ukr.net

ph: +38 (067) 402-55-78

Author's contribution: adjustment of radiobiological section of the study, analysis and interpretation of the obtained results.

Khrulenko Tetyana Valeriivna – Candidate of Medical Science, Radiation Therapist, Clinical Radiooncology Department with Brachytherapy Ward, National Cancer Institute of the Ministry of Health of Ukraine; 33/43, Lomonosov Str., Kyiv, Ukraine, 03022;

e-mail: khrulenko@ukr.net

ph: +38 (050) 551-31-23.

Author's contribution: adjustment of clinical section of the research, recruitment of the thematic patients, analysis and interpretation of the results, writing the manuscript.

Baranovska Lidiia Myhailivna – Candidate of Medical Science, Senior Research Associate, Head of Clinical Radiooncology Department with Brachytherapy Ward, National Cancer Institute of the Ministry of Health of Ukraine; 33/43, Lomonosov Str., Kyiv, Ukraine, 03022;

e-mail: lidabaranovska@ukr.net

ph: +38 (099) 904-01-73

Author's contribution: statistical data processing within the clinical section of research, writing the manuscript, selection of literary sources.

Hrinchenko Olha Oleksandrivna – Senior Engineer, Department of Biological Effects of Ionizing and Non-Ionizing Radiation, R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine; 45, Vasylykivska Str., Kyiv, Ukraine, 03022;

e-mail: griniolia@gmail.com

ph: +38 (093) 504-02-14.

Author's contribution: irradiation of blood samples, analysis of literature data on the drug metformin, participation in biochemical studies.