

УДК 615.849:575.22

Н. О. Мазник✉, Т. С. Сипко✉, В. П. Старенький, Н. Д. Богатиренко, Н. В. Білозор

*Державна установа «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва Національної академії наук України», вул. Пушкінська, 82, м. Харків, 61024, Україна*

## ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ПОШКОДЖЕННЯ У ХВОРИХ НА РАК ЛЕГЕНІ ПРИ ДИСТАНЦІЙНІЙ ПРОМЕНЕВІЙ ТЕРАПІЇ

**Мета:** оцінка рівня аберацій хромосомного типу у хворих на рак легені під час променевого лікування залежно від енергій опромінення.

**Матеріали і методи.** Хромосомні аберації було досліджено у 16 хворих на рак легені до початку променевого лікування, в середині курсу і в кінці дистанційної гамма-терапії  $^{60}\text{Co}$  на апараті РОКУС-АМ та мегавольтної терапії на лінійному прискорювачі Clinac 600С.

**Результати.** Вивчено характер динаміки радіаційно-індукованих аберацій хромосом у хворих на рак легені впродовж дистанційної променевої терапії від різних джерел опромінення. Показано перевищення допроменевого рівня аберацій хромосомного типу у онкологічних хворих над спонтанним. Було виявлено подібні та відмінні особливості накопичення цитогенетичних пошкоджень залежно від використаних джерел опромінення. Частота цитогенетичних ушкоджень у досліджуваних групах зростала протягом всього курсу терапевтичного опромінення, причому швидкість зростання залежала від схеми лікування і була вищою у пацієнтів, до яких була застосована гамма-терапії  $^{60}\text{Co}$ . Розширення спектру клітин з нестабільними хромосомними абераціями від початку до закінчення курсу променевого лікування також відбувалось з різною інтенсивністю. В середині курсу відмічали подібну кількість аберацій на аберантну клітину – 1–5 пошкоджень для гамма-терапії, 1–4 пошкодження для мегавольтної терапії. Після закінчення лікування на апараті РОКУС-АМ максимум становив 10 аберацій на аберантну клітину, на лінійному прискорювачі – 5 аберацій. Під час променевої терапії в обох групах розподіли частот радіаційно-індукованих аберацій хромосом були наддисперсними відносно статистики Пуассона.

**Висновки.** Дослідження цитогенетичних пошкоджень хромосомного типу виявило особливості динаміки цих показників впродовж променевої терапії залежно від джерела опромінення. Результати дослідження вказують на більший генотоксичний ефект у лімфоцитах крові хворих на рак легені за дії гамма-опромінення на апараті РОКУС-АМ, попри вищу енергію опромінення на лінійному прискорювачі. Тому при оцінці ефектів променевої терапії необхідно враховувати не тільки якість та енергію випромінювання, але й джерело, режим та передпроменеві процедури. Отримані дані є необхідними для розширення уявлень про наслідки локального фракціонованого опромінення та водночас сприятимуть розробленню референтної системи біодозиметрії у променевій терапії.

**Ключові слова:** аберації хромосомного типу, хворі на рак легені, дистанційна променева терапія, біологічна дозиметрія.

*Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2019. Вип. 24. С. 411–425. doi: 10.33145/2304-8336-2019-24-411-425*

✉ Мазник Наталія Олександрівна, e-mail: natalie.maznyk@gmail.com

✉ Сипко Тетяна Сергіївна, e-mail: tatyana.sypko@yandex.ru

N. Maznyk✉, T. Sypko✉, V. Starenkiy, N. Bohatyrenko, N. Bilozor

State Institution «Grigoriev Institute for Medical Radiology of National Academy of Medical Science of Ukraine», 82 Pushkinska St., Kharkiv, 61024, Ukraine

## CYTOGENETIC DAMAGES IN LUNG CANCER PATIENTS TREATED BY EXTERNAL RADIATION THERAPY

**Objective:** to estimate the chromosome type aberrations outcome in lung cancer patients during radiation therapy course depending on radiation energy.

**Materials and methods.** Chromosome aberrations were studied in 16 lung cancer patients examined before treatment in the middle and at the end of external gamma-radiotherapy <sup>60</sup>Co on ROCUS-AM and megavolt therapy on linear accelerator Clinac 600C.

**Results.** The radiation-induced chromosome aberrations outcome in lung cancer patients during radiotherapy with different irradiation sources was studied. The over-spontaneous excess of chromosome type aberrations in cancer patients before treatment was shown. The similar and different features of cytogenetic damage accumulation during radiation therapy regarding to radiation type was displayed. The cytogenetic damage frequency raised during the course of therapeutic exposure in both studied groups. At the same time, the growth rate depended on the irradiation regimen and was higher for patients undergoing <sup>60</sup>Co gamma-therapy. The different range of cells with unstable chromosome aberrations from the beginning to the end of the radiation therapy course was displayed. In the middle of the course the number of aberrations per aberrant cell was similar – 1–5 damages for gamma therapy, 1–4 damages for megavoltage therapy. At the end of treatment the maximum of 10 aberrations per aberrant cell for ROCUS-AM and in 5 aberrations per aberrant cell for linear accelerator was observed. During radiotherapy the distributions of radiation-induced chromosome aberrations was found to be over-dispersed according to Poisson statistic in both patients' groups.

**Conclusions.** The study of chromosome type aberration revealed the particularities of cytogenetic damages outcome during radiotherapy course depending on the irradiation source used. The more pronounced genotoxic effect in blood lymphocytes of lung cancer patients due to gamma-irradiation with ROCUS-AM was demonstrated despite the higher radiation energy used on a linear accelerator. Therefore, in radiation treatment effects estimation it is necessary to take into account not only the radiation quality and energy, but also the source, regimen and pre-radiotherapy procedures. The data obtained can contribute to the assessment of the consequences of local fractionated irradiation and to the development of a reference biodosimetry system in radiation therapy.

**Key words:** chromosome type aberrations, lung cancer patients, external radiation therapy, biological dosimetry.

*Problems of Radiation Medicine and Radiobiology. 2019;24:411-425. doi: 10.33145/2304-8336-2019-24-411-425*

### ВСТУП

Сучасна медицина володіє багатьма методами лікування онкопатологій, серед яких променева терапія сьогодні є дуже затребуваною [1]. Одним з головних напрямків вдосконалення променевого лікування є зменшення впливу опромінення на непухлинні тканини, залучені до поля дії радіації [2, 3]. Заходи, що застосовуються, спрямовані на зниження вірогідності виникнення та зменшення інтенсивності променевих ускладнень у пацієнтів, для мінімізації або запобігання перервам у променевій терапії, що дасть можливість проводити променеву терапію в

### INTRODUCTION

There are general methods in modern medicine for oncology treatments, and among them radiation therapy is very in demand today [1]. One of the main ways to improve radiation treatment is to reduce the effect of radiation on non-tumor tissues involved in the radiation field [2, 3]. The measures used are aimed to reduce the probability of occurrence and the intensity of radiation complications in patients, in order to minimize or prevent interruptions in radiation therapy. They will allow to carry out the full radiation

✉ Natalia O. Maznyk, e-mail: natalie.maznyk@gmail.com

✉ Tetiana S. Sypko, e-mail: tatyana.sypko@yandex.ru

повному обсязі і покращить загальні результати променевого лікування [4]. Розвиток променевої терапії приводить до пошуку та використання нових джерел опромінення. Так, разом з традиційною гамма-терапією, досить активно впроваджується застосування терапії за допомогою лінійного прискорювача. Ці види променевого лікування проводяться з використанням опромінення з низькою лінійною передачею енергії. Однак інші властивості, такі як потужність дози і проникна здатність випромінювання, можуть обумовлювати різницю в радіобіологічних ефектах. Тому, окрім вивчення загальних відмінностей між випромінюванням з низькою та високою лінійною передачею енергії, вкрай важливим є визначення особливостей дії різних джерел опромінення з низькою лінійною передачею енергії. Незважаючи на необхідність подібних досліджень, робіт з вивчення динаміки цитогенетичних ефектів за дії різних джерел опромінення зустрічається небагато. Деякі автори обирають дослідження показників до та після лікування, але у групах пацієнтів з різними локалізаціями пухлин [5]. Все це не дає можливості в повному обсязі оцінити перебіг частоти і спектру цитогенетичних порушень. Вибір методів дослідження також впливає на отримані результати. У роботі [6] при зіставленні цитогенетичних ефектів у онкогінекологічних хворих спостерігали зменшення рівня мікроядер в кінці курсу променевої терапії, однак за рівнем хромосомних аберацій інші автори спостерігали зворотню картину [7]. Ще менша кількість робіт присвячена визначенню особливостей реалізації цитогенетичних пошкоджень безпосередньо під час терапевтичного опромінення. Так, автори [8] з метою дослідження дозової залежності радіаційно-індукованих хромосомних аберацій проводили аналіз серед хворих на рак легені до початку лікування, після першої доби і по завершенню курсу променевої гамма-терапії. Ряд досліджень присвячено порівнянню цитогенетичних ефектів променевої терапії за дії опромінення з високою та низькою лінійною передачею енергії [9, 10]. Доволі часто аналіз результатів ускладнюється певною неоднорідністю досліджуваних груп, пов'язаною з локалізацією пухлин, умовами променевої терапії, попереднім або супутнім лікуванням, та іншими параметрами [11]. Таким чином, сьогодні існує брак відомостей про характер змін рівнів цитогенетичних ушкоджень під час променевого лікування в онкологічних хворих з певними локалізаціями та з урахуванням джерела опромінення.

therapy course and to improve the overall results of radiation treatment [4]. The radiation therapy development leads to the search and medical use of new sources of radiation. So, along with conventional gamma-therapy, the use of a linear accelerator has been actively implemented. Both treatments used ionizing radiation with low linear energy transfer. However, other factors, such as the dose rate and penetrating energy of radiation, can cause the difference in the radiobiological effects. Therefore, in addition to studies of the differences between radiation with low and high linear energy transfer, it is extremely important to determine the specific features of various radiation sources with low linear energy transfer. Nevertheless, despite the need for such investigations, there are not many studies of the cytogenetic effects outcome under the various radiation sources action. Some authors have chosen the researches before and after treatment, but for the groups comprised the patients with different tumor localizations [5]. All this does not allow to fully assess the yield and range of cytogenetic lesions outcome. The choice of research methods also affected the results obtained. In a comparison of cytogenetic effects in oncogynecological cancer patients a decrease in the micronucleus level at the end of a radiation therapy course was observed [6], but for the chromosome aberration level quite opposite picture was reported [7]. There are even fewer works, which focused on cytogenetic damage realization features directly during therapeutic irradiation. For example, the authors [8], in order to study the dose dependence for radiation-induced chromosome aberrations, carried out an analysis in lung cancer patients before the treatment start, after the first day and after finishing of the radiation gamma-therapy course. Some studies are devoted to comparing the cytogenetic effects of radiotherapy using irradiation with high and low linear energy transfer [9, 10]. Quite often the analysis of the results is complicated by a certain heterogeneity of the studied groups, associated with the tumor localization, radiotherapy conditions, previous or concomitant treatment, and other parameters [11]. Thus, there is a deficiency of information about the character of changes in the cytogenetic damage levels during radiation treatment in cancer patients with certain tumor localizations in regard to the radiation source used.

**МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ**

Метою даної роботи була оцінка рівня аберацій хромосомного типу у хворих на рак легені під час променевого лікування залежно від енергій опромінення.

Для реалізації мети було визначено особливості виходу і спектру цитогенетичних пошкоджень з урахуванням джерела опромінення та подальшим порівнянням результатів аналізу аберацій хромосомного типу і їх окремих видів у онкологічних хворих в ході дистанційної гамма-терапії  $^{60}\text{Co}$  на апараті РОКУС-АМ та мегавольтної терапії на лінійному прискорювачі Clinac 600C.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ**

Цитогенетичне обстеження було проведено на декількох етапах променевої терапії (ПТ) для 16 хворих на недрібноклітинний рак легені віком від 53 до 79 років (середній вік складав 69,9 року). Променеве лікування проводили із застосуванням класичного фракціонування на ділянку середостіння фракціями з разовою осередковою дозою (РОД) 1,8–2 Гр по 5 фракцій на тиждень до сумарної осередкової дози (СОД) близько 60–66 Гр за два етапи лікування із запланованою перервою при досягненні СОД 40 Гр.

Група пацієнтів, яким було надано дистанційну гамма-терапію  $^{60}\text{Co}$  (ГТ) на апараті РОКУС-АМ (середня енергія 1,25 МеВ), складалась з 8 хворих віком 53–76 років (в середньому 69,1 року).

До групи хворих, які після передпроменевої підготовки з використанням 3D-плануючої системи Eclipse і симулятора Acuity отримували мегавольтну терапію (МТ) на лінійному прискорювачі електронів Clinac 600C з енергією фотонного випромінювання 6 МеВ, входили 8 пацієнтів. Вік хворих варіював від меж 60–79 років, середнє значення дорівнювало 70,9 року. Відбір проводився таким чином, щоб групи були максимально подібні і розрізнялись тільки за джерелом променевого лікування.

Всі пацієнти надавали інформовану згоду на участь у дослідженні. Забір крові для цитогенетичного аналізу у пацієнтів проводили до отримання першого сеансу променевої терапії, в середині та в кінці першого етапу опромінення (СОД 20 Гр та СОД 40 Гр, відповідно).

Культивування лімфоцитів периферичної крові здійснювали за стандартною методикою [12] впродовж 50–52 год при температурі 37,5 °С. Культуральну суміш готували на основі середовища Ігла та RPMI 1640 у співвідношенні 1 : 1 з додаванням 20 % сироватки великої рогатої худоби, 2 % бромдезоксидуридину та 2 % фітогемаглютиніну. Зупинку клітинного поділу проводили за

**OBJECTIVE**

The objective of this work was to estimate the chromosome type aberrations outcome in lung cancer patients during radiation therapy course depending on radiation energy.

For that end the features of cytogenetic damages yield and range were determined regarding to the radiation source used. Subsequent comparison of whole chromosome aberrations frequencies and their particular kinds in cancer patients during external  $\gamma$ -therapy  $^{60}\text{Co}$  on ROCUS-AM and megavolt therapy on linear accelerator Clinac 600C was carried out.

**MATERIALS AND METHODS**

A cytogenetic examination was provided at several stages of radiation therapy (RT) for 16 patients with non-small cell lung cancer ages between 53 and 79 years (mean age was 69.9 years). Radiation treatment was performed using classical fractionation for the mediastinum area with 1.8–2 Gy per fraction daily 5 times a week to a cumulative dose (CD) about 60–66 Gy in two stages with scheduled break when reaching a CD of approximately 40 Gy.

The group of patients treated with external gamma-therapy  $^{60}\text{Co}$  (GT) on the ROCUS-AM (average energy 1.25 MeV) consisted of 8 patients aged 53–76 years, an average of 69.1 years.

Pre-radiation preparation with the 3D-planning system Eclipse and the Acuity simulator followed by the megavolt therapy (MT) on a linear electron accelerator Clinac 600C (average photon energy 6.0 MeV) was performed for the group of 8 patients. The age of the patients ranged from 60 to 79 years, the average was 70.9 years. The selection of patients was provided to make the groups as similar as possible and the difference was only the source of radiation therapy.

All patients gave informed consent to participate in the study. The blood samples for cytogenetic analysis were taken just before the RT starts, in the middle and at the end of the first stage radiotherapy course (CD 20 Gy and CD 40 Gy, respectively).

Peripheral blood lymphocytes cultivation was performed according to the standard protocol [12] for 50–52 hours at the temperature 37.5 °С. Cultural mixture contained Eagle's and RPMI 1640 medium in the ratio of 1 : 1 with adding 20 % foetal calf serum, 2 % bromodeoxyuridine and 2 % phytohemagglutinin. The cell division was

допомогою колхіцину або колцеміду за 4 години до фіксації. Після гіпотонічної обробки за допомогою розчину KCl здійснювали фіксацію клітин сумішшю метанолу і крижаної оцтової кислоти (3 : 1). Суспензію метафазних клітин, нанесених на предметне скло, фарбували за технікою Гімза або флуоресцентного-плюс-Гімза (FPG) забарвлення. Кодовані препарати аналізували, використовуючи світлові мікроскопи дослідницького класу з масляною імерсією та систему пошуку зображень. Розпізнавання цитогенетичних порушень і контроль клітинного циклу проводили із застосуванням загальноприйнятих критеріїв [12, 13].

У результатах дослідження даної роботи наведено показники для аберацій хромосомного типу (A Cs), серед яких реєстрували дицентричні хромосоми з супутніми фрагментами (Диц), центричні кільця з супутніми фрагментами (ЦК), вільні ацентричні хромосомні фрагменти (Ац Фр) і стабільні аберації хромосом, тобто атипові моноцентрики, що розпізнаються без каріотипування (Стаб Аб).

Рівень цитогенетичних пошкоджень на 100 клітин аналізували в клітинах першого мітозу та у поєднаних групах клітин незалежно від номеру мітозу (так званий Гімза-еквівалент). Спираючись на попередні дослідження, в яких показано однакову інформативність FPG- та Гімза-методів забарвлення для груп онкологічних хворих [14, 15], для підвищення виходу проаналізованих метафаз в роботі представлено результати Гімза-еквіваленту.

При статистичній обробці визначали середні рівні (Y) абераційних клітин, кожного виду аберацій хромосом чи їх комбінацій у розрахунку на 100 проаналізованих нормоплоїдних клітин. Стандартні похибки середніх рівнів цитогенетичних пошкоджень (SE) обчислювали, виходячи з дисперсії поклітинних розподілів аберацій ( $\sigma^2$ ) в об'єднаних вибірках метафаз. Відповідність розподілу структурних аберацій хромосом по клітинах статистиці Пуассона і рандомізованість розподілу частот цитогенетичних пошкоджень у групі з декількох експериментів оцінювали за відношенням дисперсії до середнього ( $\sigma^2/Y$ ) та за *u*-тестом Папворта (*u*) [16]. Вірогідність різниці між середніми значеннями цитогенетичних показників визначали за *t*-критерієм Стьюдента [17].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

До початку променевої терапії рівень хромосомних пошкоджень співставляли з відповідними показниками у групі порівняння (30 донорів без онкозахворювань).

Рівень цитогенетичних перебудов хромосомного типу в узагальнених вибірках клітин наведено у

stopped using colchicine or colcemid 4 hours before the fixation. After hypotonical treatment with KCl solution cells were fixed in methanol and glacial acetic acid mixture (3:1). Metaphase cell suspension were dropped onto slides and stained with Giemsa or fluorescence-plus-Giemsa (FPG) technique. The coded preparations were analyzed with oil-immersion light microscopes and the image capturing system. Registration of cytogenetic damages and cell cycle control were performed using common criteria [12, 13].

The results of this study included chromosome type aberrations (A Cs), namely dicentric chromosomes with accompanying fragment (Dic), centric rings with accompanying fragment (CR), excess acentric chromosome fragments (Ac Fr) and stable chromosome aberrations, so called atypical monocentrics recognized without karyotyping (Stab Ab).

The cytogenetic damage level per 100 cells was analyzed in cells of the first mitosis and in the combined cell groups not considering the number of mitosis (Giemsa-equivalent). Based on previous studies where the similar informative cue was displayed for FPG and Giemsa-staining in cancer patients [14, 15] the results of Giemsa-equivalent are presented in order to increase the number of cells analyzed.

For the data treatment the average yields (Y) of aberrant cells, each type of chromosomal aberrations or their combinations were calculated per 100 analyzed normoploid cells. The standard errors of the mean levels of cytogenetic damage (SE) were calculated based on the variance of the aberration cell distributions ( $\sigma^2$ ) in the combined metaphase samples. The aberration-per-cell distributions were tested for consistency with the Poisson statistics and incidence distribution of cytogenetic damage in several experimental groups was tested for randomness using the dispersion to mean ratio ( $\sigma^2/Y$ ) and Papworth's *u*-test (*u*) [16]. The significance of differences was determined by a Student's *t*-test [17].

## RESULTS AND DISCUSSION

The chromosome damage level before the radiotherapy start was compared with control group (30 donors with no cancer).

The chromosome type cytogenetic rearrangement level in the combined cell samples were

**Таблиця 1**

**Аберації хромосомного типу у хворих на рак легені до променевого лікування**

**Table 1**

**Chromosome type aberrations in lung cancer patients before radiation therapy**

Група Group	n n	Проаналізовано клітин Scored cells	Y ± SE на 100 клітин / Y ± SE per 100 cells		
			A X <sub>cunst</sub> / A C <sub>sunst</sub>	Диц / Dic	Ац Фр / Ac Fr
ГТ+МТ / GT+MT	16	3212	1,90 ± 0,24	0,44 ± 0,12	1,46 ± 0,21
Контроль / Control	30	8000	0,88 ± 0,15	0,08 ± 0,02	0,80 ± 0,15

Примітки. n – кількість обстежених; A X<sub>cunst</sub> – нестабільні аберації хромосомного типу.  
Notes. n – the number of surveyed; A C<sub>sunst</sub> – unstable chromosome type aberrations.

табл. 1. Було встановлено, що рівень окремих видів аберацій хромосомного типу до променевої терапії не мав вірогідної різниці між групами спостереження ГТ та МТ ( $p > 0,05$ ), що дозволило об'єднати індивідуальні дані, отримані від усіх обстежених хворих. Надалі у досліджуваних групах цитогенетичні показники в ході променевої терапії порівнювали зі значеннями в об'єднаній вибірці пацієнтів до початку променевого лікування.

Показано, що рівень Диц в групі пацієнтів був вищим за спонтанні значення ( $t = 3,99; p < 0,001$ ). Це відмічали і для рівня вільних ацентричних фрагментів – середній рівень Ац Фр у хворих майже вдвічі перевищував контрольні показники ( $t = 3,19; p < 0,01$ ). У вибірці клітин від пацієнтів до променевої терапії зустрічали також поодинокі стабільні хромосомні перебудови, які включали до сумарної частоти аберацій. Таким чином, до початку променевого лікування в об'єднаній вибірці хворих на рак легені середній рівень як окремих видів аберацій хромосомного типу, так і їх сумарне значення, перевищували спонтанний рівень.

Дані аналізу до променевої терапії свідчать про доцільність перевірки цитогенетичних показників у залучених в дослідження пацієнтів на допроменевого етапі. Проте серед дослідників досі залишається невирішеним питання стосовно наявності або відсутності підвищеного рівня цитогенетичних пошкоджень до початку променевого лікування [18, 19]. Причина подібних розбіжностей може полягати у різних підходах до дизайну самого дослідження і вибору показників для аналізу. На нашу думку, включення цього етапу обстеження сприяє коректнішій інтерпретації при вивченні змін рівня аберацій хромосом під час променевого лікування.

Встановлено, що у хворих на рак легені з групи ГТ до середини курсу середній рівень клітин з нестабільними аберациями хромосомного типу зростав у 10 разів, а сумарний рівень нестабільних аберацій хромосомного типу – у 13 разів. До кінця курсу промене-

shown in Table 1. As chromosome type aberrations before radiotherapy did not have a significant difference between the GT and MT groups ( $p > 0.05$ ), it was possible to combine the individual data obtained from all the examined patients. Subsequently cytogenetic indices in the patient groups during radiotherapy course were compared with the values for the combined group before the radiotherapy course.

The Dic level in the patients group was higher than spontaneous ( $t = 3.99; p < 0.001$ ). It was also noted for the excess acentric fragments where the average level of Ac Fr in patients group almost doubled the control yield ( $t = 3.19; p < 0.01$ ). In the patients' samples before radiotherapy a few stable chromosome rearrangements were notified and included in total aberration frequency. Thus, before the radiotherapy start in the group of lung cancer patient the average yield of chromosome type aberrations exceeded the spontaneous level.

The data analysis before radiation course indicates the necessity of checking the cytogenetic parameters in studied patients at the pre-radiotherapy stage. However, the question about presence or absence of elevated cytogenetic damage levels before radiation therapy still remains unclear [18, 19]. The reasons can lay in different approaches to the investigation design and the choice of cytogenetic indices analyzed. In our opinion, the including of this time point to the survey contributes to a more correct interpretation of chromosome aberrations level changes during radiation treatment.

It was found that in lung cancer patients undergoing GT in the middle of the course the average level of cells with unstable chromosome type aberrations increased 10-fold, and the total level of unstable chromosome type aberrations – 13-fold

вої терапії відбувалось подальше відчутне зростання рівня аберантних клітин і аберацій хромосом. Так, рівень клітин з нестабільними абераціями хромосомного типу у лімфоцитах пацієнтів зростав у 14 разів, а рівень нестабільних аберацій хромосомного типу – у 21 раз відповідно до рівня цитогенетичних пошкоджень в об'єднаній вибірці до початку лікування.

У хворих на рак легені з групи МТ до середини курсу променевого лікування середній рівень клітин з нестабільними абераціями хромосомного типу зростав більш ніж у 6,5 раза, а сумарний рівень нестабільних аберацій хромосомного типу – у 8 разів. В кінці курсу терапії спостерігали подальше зростання рівня аберантних клітин і аберацій хромосом. Рівень клітин з нестабільними абераціями хромосомного типу у лімфоцитах пацієнтів зростав у 10 разів, а рівень нестабільних аберацій хромосомного типу – майже у 15 разів порівняно з рівнем цитогенетичних пошкоджень в об'єднаній вибірці до початку лікування.

Для визначення вкладу певних структурних перебудов хромосомного типу у загальне збільшення рівня аберацій хромосом було проаналізовано рівень окремих видів аберацій хромосомного типу в процесі ГТ (табл. 2) та МТ (табл. 3).

Середня частота нестабільних аберацій хромосомного типу збільшувалась від початку до закінчення курсу променевої терапії, при цьому вірогідність зберігалась і при порівнянні даного показника в се-

in compare with those of before treatment. At the end of the radiotherapy a further marked increase of aberrant cell and chromosome aberration levels was shown. So the level of cells with unstable chromosome type aberrations in patients' lymphocytes increased 14-fold, and the level of unstable chromosome type aberrations 21-fold respectively.

In lung cancer patients undergoing MT in the middle of the course the average level of cells with unstable chromosome type aberrations increased more than 6.5-fold, and the total level of unstable chromosome type aberrations – 8-fold. At the end of the radiotherapy session the level of cells with unstable chromosome type aberrations in patient lymphocytes increased 10-fold, and the level of unstable chromosome type aberrations was almost 15-fold compared with the level of cytogenetic lesions in the pooled sample before treatment initiation.

Each kind of chromosome type aberrations was analyzed separately in order to determine their contribution to the overall increase of the whole chromosome aberrations level during GT (Table 2) and MT (Table 3).

The average frequency of unstable chromosome type aberrations increased from the beginning to the end of the course of radiotherapy, and the significant difference existed between the middle

**Таблиця 2**

**Аберації хромосомного типу у хворих на рак легені на різних етапах променевої терапії на апараті РОКУС-АМ**

**Table 2**

**Chromosome type aberrations in lung cancer patients during radiation therapy on ROCUS-AM**

Етап обстеження Stage of the survey	Проаналізовано клітин Scored cells	Y ± SE на 100 клітин / Y ± SE per 100 cells			
		A Xc <sub>unst</sub> / A Cs <sub>unst</sub>	Диц / Dic	Ац Фр / Ac Fr	Стаб Аб / Stab Ab
До ГТ / Before RT	3212	1,90 ± 0,24	0,44 ± 0,12	1,46 ± 0,21	0,09 ± 0,05
Середина ГТ / Middle of GT	889	24,63 ± 1,67	13,72 ± 1,24	9,22 ± 1,02	1,12 ± 0,36
Кінець ГТ / The end of GT	1139	40,47 ± 1,89	25,72 ± 1,50	10,97 ± 0,98	1,14 ± 0,32

**Таблиця 3**

**Аберації хромосомного типу у хворих на рак легені на різних етапах мегавольтної променевої терапії на лінійному прискорювачі Clinac 600C**

**Table 3**

**Chromosome type aberrations in lung cancer patients during megavolt radiation therapy on linear accelerator Clinac 600C**

Етап обстеження Stage of the survey	Проаналізовано клітин Scored cells	Y ± SE на 100 клітин / Y ± SE per 100 cells			
		A Xc <sub>unst</sub> / A Cs <sub>unst</sub>	Диц / Dic	Ац Фр / Ac Fr	Стаб Аб / Stab Ab
До ГТ / Before RT	3212	1,90 ± 0,24	0,44 ± 0,12	1,46 ± 0,21	0,09 ± 0,05
Середина ГТ / Middle of GT	1029	15,26 ± 1,22	7,29 ± 0,84	7,19 ± 0,84	0,87 ± 0,29
Кінець ГТ / The end of GT	870	28,16 ± 1,80	18,16 ± 1,45	7,93 ± 0,96	0,69 ± 0,28

редині та в кінці курсу ( $t = 32,30$  та  $t = 6,11$ ;  $p < 0,001$ ). Розподіли частот суми нестабільних аберацій по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона (для середини ГТ:  $\sigma^2/Y = 1,53$ ,  $u = 11,22$ ; для кінця ГТ:  $\sigma^2/Y = 1,92$ ,  $u = 22,08$ ).

Від початку до середини курсу променевої терапії підвищення А Хсунст відбувалось завдяки збільшенню рівня обмінних та фрагментних аберацій. Середній рівень Диц вірогідно зростав більш ніж у 31 раз до середини та майже у 58,5 раза після закінчення курсу променевої терапії при зіставленні зі значенням до початку лікування ( $t = 19,26$  та  $t = 27,61$ ;  $p < 0,001$ , відповідно). При цьому швидкість зростання середньої частоти Диц була такою, що забезпечила вірогідну різницю даного показника в кінці променевої терапії у порівнянні з точкою спостереження в середині курсу ( $t = 5,93$ ;  $p < 0,001$ ).

Розподіли індивідуальних частот Диц по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона в середині і в кінці курсу променевого лікування ( $\sigma^2/Y = 1,39$ ,  $u = 8,23$  для середини ГТ та  $\sigma^2/Y = 1,55$ ,  $u = 13,13$  для закінчення ГТ).

Середня частота Ац Фр теж зростала до середини курсу більш ніж у 6 разів та по закінченню променевої терапії – у 7,5 раза відносно допроменевого рівня ( $t = 11,55$  та  $t = 13,87$ ;  $p < 0,001$ , відповідно). Проте на відміну від дицентриків, не було виявлено вірогідного збільшення рівня Ац Фр в кінці променевої терапії у порівнянні з серединою курсу ( $t = 1,22$ ;  $p > 0,05$ ). Швидкість зростання рівня Ац Фр була нижча, ніж для рівня Диц. Так, відношення середнього рівня Диц до Ац Фр складало до початку променевої терапії 1 : 3,32; в середині – 1 : 0,67; в кінці курсу – 1 : 0,43.

Спектр клітин з А Хсунст розширювався в процесі променевої терапії: в середині курсу спостерігалися метафази з 1–5 хромосомними пошкодженнями, в кінці лікування – з 1–10 абераціями.

Стабільні аберації хромосом, які можна було виявити за допомогою застосованого забарвлення, суттєво не впливали на загальне збільшення рівня А Хс. Водночас слід зазначити, що рівень цього показника вірогідно зростав від початку лікування впродовж всього курсу променевої терапії ( $t = 4,84$  і  $t = 5,01$ ;  $p < 0,01$ , в середині та в кінці курсу, відповідно). Однак, як і у випадку вільних ацентричних фрагментів, різниця показника між серединою і кінцем променевої терапії не була вірогідною ( $t = 0,03$ ;  $p > 0,05$ ).

Середня частота нестабільних аберацій хромосомного типу збільшувалась від початку до закінчення курсу мегавольтової променевої терапії, водночас

and the end of the course ( $t = 32.30$  and  $t = 6.11$ ;  $p < 0.001$ ). The unstable aberration per-cell-distribution of frequencies was over-dispersed consistently with Poisson statistics (for the middle of GT:  $\sigma^2/Y = 1.53$ ,  $u = 11.22$ ; and for the end of GT:  $\sigma^2/Y = 1.92$ ,  $u = 22.08$ ).

From the beginning to the middle of the radiotherapy course the A Csunst increase was caused by the raise both of the exchange and of fragment aberrations. The Dic average yield significantly increased more than 31-fold by the middle and almost 58.5-fold after the radiotherapy course comparing with the value before treatment ( $t = 19.26$  and  $t = 27.61$ ;  $p < 0.001$ , respectively). At the same time, the pace of Dic growth provided a significant difference between the middle and the end of radiotherapy course ( $t = 5.93$ ;  $p < 0.001$ ).

The Dic per cells distribution was over-dispersed consistently with Poisson statistics in the middle and at the end of the radiation treatment ( $\sigma^2/Y = 1.39$ ,  $u = 8.23$  for the middle of GT and  $\sigma^2/Y = 1.55$ ,  $u = 13.13$  for the end of GT).

The Ac Fr average frequency also rose more than 6-fold in the middle and 7.5-fold at the end of the radiotherapy course compare with pre-radiation level ( $t = 11.55$  and  $t = 13.87$ ;  $p < 0.001$ , respectively). However unlike dicentrics, there was no significant Ac Fr level increase at the end of the radiotherapy compared with the middle of the course ( $t = 1.22$ ;  $p > 0.05$ ). The Ac Fr level rise was lower than for the Dic level, and the Dic to Ac Fr ratio before the radiotherapy start was 1 : 3.32; in the middle – 1 : 0.67; at the end of the course – 1 : 0.43.

The range of cells with A Csunst expanded during radiotherapy: in the middle of the course metaphases with 1–5 chromosome lesions were observed, and at the end of treatment – with 1–10 aberrations.

Stable chromosome aberrations, which could be detected using applied staining, did not significantly affect the overall A Cs level increase. However, it should be noted that their level significantly increased from the treatment start to the end of radiotherapy ( $t = 4.84$  and  $t = 5.01$ ,  $p < 0.01$ , in the middle and at the end of the course, respectively). Nevertheless, as for excess acentric fragments, the difference between the middle and the end of the radiotherapy was not significant ( $t = 0.03$ ;  $p > 0.05$ ).

The average frequency of unstable chromosome type aberrations increased from the beginning to the end of the course of megavolt radiotherapy, and the



вірогідність зберігалась і при порівнянні даного показника в середині та в кінці курсу ( $t = 25,10$  та  $t = 6,09$ ;  $p < 0,001$ ). Розподіли частот суми нестабільних аберацій по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона (для середини МТ:  $\sigma^2/Y = 1,42$ ,  $u = 9,60$ ; для кінця МТ:  $\sigma^2/Y = 1,79$ ,  $u = 16,50$ ).

Підвищення  $A X_{c_{unst}}$  від початку до середини курсу мегавольтної променевої терапії відбувалось за рахунок збільшення рівня обмінних і фрагментних аберацій. Середній рівень Диц вірогідно зростав більш ніж у 16,5 раза до середини та майже більш ніж у 41 раз по закінченню курсу мегавольтної променевої терапії у порівнянні зі значеннями до початку лікування ( $t = 13,21$  та  $t = 22,60$ ;  $p < 0,001$ , відповідно). При цьому темп зростання середньої частоти Диц був достатньо стабільним, що призвело до вірогідного збільшення рівня Диц в кінці мегавольтної променевої терапії відносно точки спостереження в середині курсу ( $t = 6,74$ ;  $p < 0,001$ ).

Розподіли індивідуальних частот Диц по клітинах були наддисперсними відносно статистики Пуассона в середині і в кінці курсу мегавольтної променевої терапії ( $\sigma^2/Y = 1,36$ ,  $u = 8,10$  для середини МТ та  $\sigma^2/Y = 1,64$ ,  $u = 13,45$  – для кінця МТ).

Середня частота вільних ацентричних фрагментів зростала до середини курсу майже у 5 разів та по закінченню мегавольтної променевої терапії – майже у 5,5 раза порівняно з рівнем до початку лікування ( $t = 9,47$  та  $t = 10,04$ ;  $p < 0,001$ , відповідно). В середині та в кінці курсу не спостерігали вірогідної різниці рівня Ац Фр за рахунок виходу частоти даного показника на плато від середини до закінчення мегавольтної променевої терапії ( $t = 0,59$ ;  $p > 0,05$ ). Як наслідок, і темпи зростання рівня Ац Фр були нижчими, ніж для рівня Диц. Відношення середнього рівня Диц до Ац Фр складало до початку мегавольтної променевої терапії 1 : 3,32; в середині – 1 : 0,99; в кінці курсу – 1 : 0,44.

Спектр клітин з  $A X_{c_{unst}}$  дещо розширювався в процесі мегавольтної променевої терапії, хоча і в меншому обсязі, ніж при ГТ: в середині курсу спостерігалися метафази з 1–4 хромосомними пошкодженнями, а в кінці лікування – з 1–5 абераціями.

Стабільні аберації хромосом вагомо не впливали на загальне збільшення рівня  $A X_c$ , хоча їх рівень вірогідно зростав на протязі всього курсу мегавольтної променевої терапії у порівнянні з цим показником до початку лікування ( $t = 4,10$ ;  $p < 0,001$  і  $t = 3,32$ ;  $p < 0,01$  для середини та кінця МТ, відповідно) і значення показника в середині та в кінці мегавольтної променевої терапії не мали вірогідної різниці ( $t = 0,45$ ;  $p > 0,05$ ).

significant difference existed between the middle and the end of the course ( $t = 25.10$  and  $t = 6.09$ ;  $p < 0.001$ ). The unstable aberration per-cell-distribution was over-dispersed consistently with Poisson statistics (for the middle of MT:  $\sigma^2/Y = 1.42$ ,  $u = 9.60$ ; and for the end of MT:  $\sigma^2/Y = 1.79$ ,  $u = 16.50$ ).

The  $A X_{c_{unst}}$  raise to the middle of the megavolt radiotherapy was caused by the increase both of the exchange and of fragment aberrations. The Dic average yield significantly increased more than 16.5-fold by the middle and more than 41-fold after the end of megavolt radiotherapy course comparing with the value before treatment ( $t = 13.21$  and  $t = 22.60$ ;  $p < 0.001$ , respectively). At the same time, the pace of Dic growth was constant and provided a significant difference between the middle and the end of radiotherapy course ( $t = 6.74$ ;  $p < 0.001$ ).

The Dic per cells distribution was over-dispersed consistently with Poisson statistics in the middle and at the end of the megavolt radiation treatment ( $\sigma^2/Y = 1.36$ ,  $u = 8.10$  for the middle of MT and  $\sigma^2/Y = 1.64$ ,  $u = 13.45$  for the end of MT).

The excess fragment average frequency rose almost 5-fold in the middle and almost 5.5-fold at the end of the megavolt radiotherapy course compare with pre-radiation level ( $t = 9.47$  and  $t = 10.04$ ;  $p < 0.001$ , respectively). There was no difference between Ac Fr level in the middle and at the end of the course observed so that this frequency looked as the plateau from the middle to the end of the megavolt radiation therapy ( $t = 0.59$ ;  $p > 0.05$ ). Consequently Ac Fr level growth was lower than that of for Dic yield. The Dic to Ac Fr ratio before megavolt radiation therapy start was 1 : 3.32; in the middle – 1 : 0.99; at the end of the course – 1 : 0.44.

The range of cells with  $A X_{c_{unst}}$  expanded though not so much during megavolt radiotherapy: in the middle of the course metaphases with 1–4 chromosome lesions were observed, and at the end of treatment – with 1–5 aberrations.

As in GT group stable chromosome aberrations did not significantly affect the overall  $A X_c$  level increase. However, their level significantly increased during the whole course of megavolt radiotherapy compared with this parameter before treatment ( $t = 4.10$ ;  $p < 0.001$  and  $t = 3.32$ ;  $p < 0.01$ , in the middle and at the end of MT, respectively). The difference between the middle and the end of the radiotherapy was not significant ( $t = 0.45$ ;  $p > 0.05$ ).

Таким чином, на відміну від рандомізованого розподілу аберацій хромосомного типу у вибірці пацієнтів до променевої терапії, в обох досліджуваних групах хворих в середині та в кінці променевого лікування мав місце наддисперсний розподіл радіаційно-індукованих аберацій хромосом відносно статистики Пуассона. Це характерно для нерівномірного опромінення і зумовлено появою та подальшим зростанням частки клітин з двома і більше порушеннями хромосом. Подібне явище знайшло відображення також у роботах інших дослідників [20, 21]. Можливість виявлення за рівнем дицентриків не тільки факту радіаційного впливу, а й локальності опромінення, вказує на високу інформативність цитогенетичного аналізу для цілей біодозиметрії.

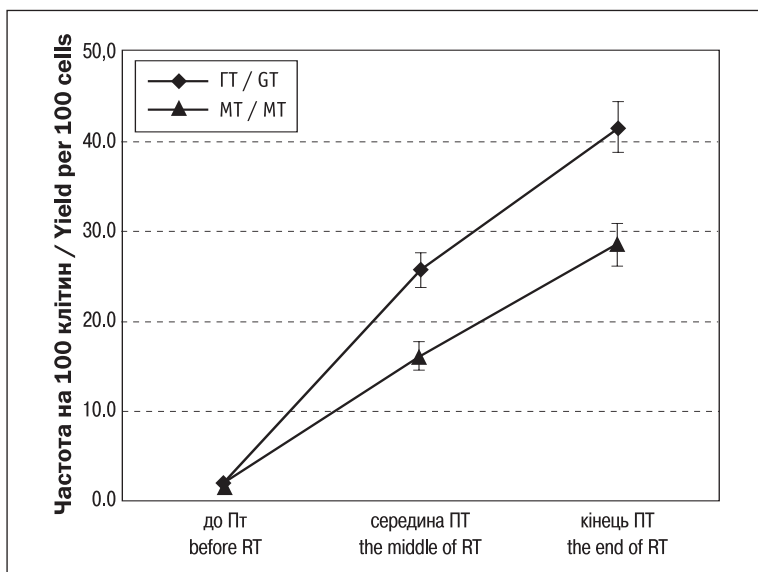
При аналізі результатів дослідження змін рівнів цитогенетичних перебудов впродовж променевої терапії з використанням різних джерел опромінення, було виявлено подібні та відмінні особливості динаміки цих пошкоджень. Характер змін загальної частоти аберацій хромосомного типу та середньої сумарної частоти дицентричних і кільцевих хромосом з супутніми фрагментами у групах ГТ та МТ залежно від етапу променевого лікування приведено на рис. 1 та 2.

Протягом променевого лікування динаміка аберацій хромосомного типу, а саме АХс і Диц+ЦК, мала подібний характер у пацієнтів з обох досліджуваних груп. Так, зростання частоти вказаних цитогенетичних порушень відбувалося з вірогідною різницею як до середини курсу, так і до кінця променевої терапії ( $p < 0,001$ ). Однак за схожої спрямованості процесу формування радіаційно-індукованих аберацій, швидкість їх накопичення за дії гамма-опромінення  $^{60}\text{Co}$  була вищою, ніж при мегавольтній променевої терапії, що обумовило вірогідну різницю в середині

Thus, in contrast to the randomized distribution of chromosome type aberrations in a group of patients before radiotherapy, in both studied patient groups in the middle and at the end of radiotherapy course there was over-dispersed distribution of radiation-induced chromosome aberrations according to Poisson statistics. This is quite typical for local irradiation due to the appearance and subsequent growth of the cell proportion with two or more chromosome abnormalities. A similar effect was also marked in some other publications [20, 21]. The ability to detect with dicentric level not only the fact of radiation exposure, but also its partial body character, indicates the high usefulness of the cytogenetic assay for the biodosimetry purposes.

Our study data analysis of cytogenetic changes due to radiation therapy with different sources of irradiation displayed similar and different features of those changes. The character of changes of the total frequency of chromosome type aberrations and the average frequency of dicentric and ring chromosomes with accompanying fragments in the GT and MT groups depending on the stage of radiation treatment was shown in Fig. 1 and 2.

During the radiotherapy the dynamics of chromosome type aberrations, namely A Cs and Dic+CR, had a similar character in both groups. So, the increase of these cytogenetic lesions frequency with the significant difference between the middle and the end of radiotherapy course ( $p < 0.001$ ) was shown. However, along with the similar trend in the formation of radiation-induced aberrations, under the  $^{60}\text{Co}$  gamma-irradiation their accumulation rate was higher than under megavolt radiation therapy. It caused a significant difference in the middle and at



**Рисунок 1.** Характер змін загальної частоти аберацій хромосомного типу в групах ГТ та МТ залежно від етапу променевого лікування)

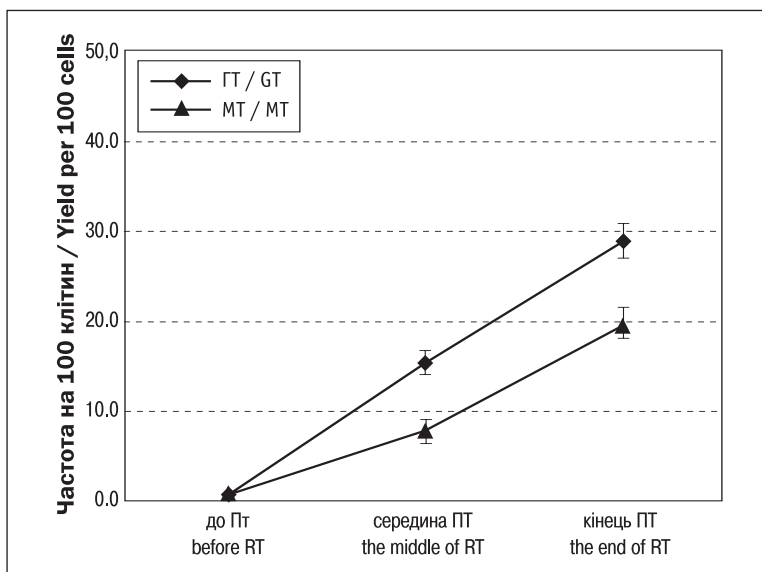
**Figure 1.** The frequency of chromosome type aberrations in GT and MT groups depending on the stage of radiotherapy

та по закінченню променевого лікування (для А Хс:  $t = 4,63$  та  $t = 4,72$ ;  $p < 0,001$ , відповідно; для Диц+ЦК:  $t = 4,82$  та  $t = 4,05$ ;  $p < 0,001$ , відповідно).

Представлені результати добре узгоджуються з висновками інших дослідників стосовно зростання рівня радіаційно-специфічних аберацій у онкологічних хворих від початку до кінця променевої терапії. Однак автори спостерігають різні значення зростання частоти цих цитогенетичних пошкоджень впродовж лікування, навіть коли мова йде про пацієнтів з однаковими локалізаціями пухлин. Такі розбіжності передусім можуть бути обумовлені обранням різних методологічних підходів до проведення дослідження. Так, дослідження [22] проводили до початку лікування і впродовж гамма-терапії у 20 хворих на рак легені. Автори відмічали вірогідне збільшення аберантних клітин та аберацій хромосом у порівнянні з допроменевими значеннями. При цьому максимальна частота аберацій хромосом спостерігалась наприкінці променевої терапії, що збігається з результатами наших досліджень. Однак цитогенетичний аналіз здійснювали у 70-годинних культурах лімфоцитів без контролю клітинного циклу, тому врахування пошкоджень переважно у метафазах другого і наступних мітозів могло, на нашу думку, призвести до знижених значень частоти нестабільних аберацій хромосом. Наше дослідження продемонструвало, що на тлі подібної тенденції зростання рівня аберацій хромосом під впливом різних джерел опромінення, утворення цитогенетичних пошкоджень відбувалось з різною швидкістю на окремих етапах променевого лікування. Незважаючи на належність обох видів опромінення до опромінь з низькою лінійною передачею енергії, існує багато супутніх факторів, що можуть впливати на загальний цитогенетичний ефект

the end of the radiotherapy (for A Cs:  $t = 4.63$  and  $t = 4.72$ ;  $p < 0.001$ , respectively, for Dic+CR:  $t = 4.82$  and  $t = 4.05$ ;  $p < 0.001$ , respectively).

The presented results are in good agreement with the conclusions of other researchers regarding the increase of the radiation-specific aberration level in cancer patients from the beginning to the end of radiotherapy. However, authors observed the different growth value of these cytogenetic lesions due to the treatment, even when it comes to patients with the same tumor localization. Such discrepancies may appear first of all due to the choice of different methodological approaches. So, the study [22] was performed before treatment and during gamma-therapy in 20 lung cancer patients. The authors noted a significant increase of aberrant cells and chromosome aberrations when compared to value before radiation treatment. At the same time, the maximum chromosome aberrations frequency was observed at the end of radiation therapy. However, cytogenetic analysis was carried out in 70-hour cultures of lymphocytes without cell cycle control, so taking into account damage in metaphases mostly of the second and subsequent mitoses could, in our opinion, lead to a decrease in the yield of unstable chromosome type aberrations. Our research demonstrated that in spite of a similar trend for the chromosome aberration increase under the influence of different irradiation sources the pace of this raise differed at several stages of radiation treatment. Though both irradiation types belonged to low linear energy transfer radiation, but there were some accompanying factors that can affect the overall cytogenetic radiotherapy effect. So



**Рисунок 2.** Характер змін середньої сумарної частоти дицентричних та кільцевих хромосом у групах ГТ та МТ залежно від етапу променевого лікування

**Figure 2.** The frequency of dicentric and centric rings in GT and MT groups depending on the stage of radiotherapy

променевого лікування. Так, опромінення при мегавольтній променевої терапії має вищу енергію, проте спричинило менше зростання рівня маркерів радіаційного впливу у порівнянні з гамма-терапією. Це може бути пов'язано з проведенням 3D-планування до початку променевої терапії на лінійному прискорювачі, що зменшує об'єм непухлинних тканин, які потрапляють у зону терапевтичного ураження іонізуючим випромінюванням. Радіобіологічні ефекти неможливо передбачити, враховуючи лише енергію випромінювання. Тому дуже важливо під час оцінки наслідків дії променевого лікування на непухлинні клітини враховувати не тільки якість та енергію опромінення, а й джерело, режим і передпроменеві процедури, які застосовуються при проведенні курсу променевої терапії, а також інші фактори, які ще потребують подальшого вивчення.

## ВИСНОВКИ

1. Середній рівень окремих видів аберацій хромосомного типу в групі хворих ГТ та МТ до променевої терапії перевищував значення спонтанного рівня.
2. В обох групах під впливом гамма- та мегавольтного опромінення підвищення рівня аберацій хромосомного типу відбувалось переважно за рахунок обмінних перебудов, а саме дицентриків і центричних кілець. Зростання зазначених показників спостерігали як від початку до середини, так і від середини до кінця курсу променевого лікування. Більш виражений приріст впродовж променевої терапії рівня А Хс та Диц+ЦК спостерігали у групі ГТ. Співвідношення сумарної частоти аберацій хромосомного типу в групах ГТ та МТ в середині курсу та в кінці курсу залишалось майже незмінним і складало, відповідно, 1 : 0,63 та 1 : 0,69. Співвідношення рівнів Диц+ЦК в групах ГТ та МТ в середині складало 1 : 0,51; в кінці курсу – 1:0,68.
3. Швидкість накопичення фрагментних аберацій була нижчою за темпи зростання рівня дицентриків і відрізнялась у обстежених групах. Так, на відміну від групи ГТ, де частота ацентричних фрагментів збільшувалась впродовж всього курсу променевої терапії, у групі МТ рівень даного показника після середини лікування не змінювався.
4. Спектр клітин з нестабільними абераціями хромосомного типу розширювався в процесі променевої терапії в обох обстежених групах, проте з різною інтенсивністю. В середині курсу спостерігали майже однакову кількість аберацій на аберантну клітину, а саме у групі ГТ з 1–5 структурних перебудов, у групі

megavolt exposure with higher energy caused less increase of radiation exposure markers compared with gamma-therapy. It could be explained by the availability of the 3D planning procedure before the radiotherapy start on linear accelerator. This can consequently significantly reduce the volume of non-tumor tissues that fall into the zone of therapeutic damage by ionizing radiation. Radiobiological effects cannot be predicted considering only radiation energy. Therefore, it is very important when estimating how the radiation treatment effects non-tumor cells to take into account not only the radiation quality and energy, but also the source, regimen and pre-radiotherapy procedures used in the radiation therapy course and some other confounding factors those have to be further studied.

## CONCLUSION

1. The average level of several types of chromosome type aberrations in the patient group with GT and MT before radiation therapy exceeded the spontaneous level.
2. In both groups undergoing gamma and megavolt irradiation the increase of chromosome type aberrations was occurred mainly due to exchange rearrangements, i.e. dicentrics and centric rings. The rise of indices both from the start to the middle and from the middle to the end of radiation treatment was found. A more pronounced increase of A Cs and Dic+CR during the radiotherapy course in the GT group was observed. The ratio of the total chromosome aberration frequency in the GT and MT groups in the middle of the course and at the end of the course was almost remained, respectively, 1 : 0.63 and 1 : 0.69. The ratio of the Dic+CR levels in the GT and MT groups in the middle was 1 : 0.51; at the end of the course – 1 : 0.68.
3. The accumulation rate of excess acentric fragments was lower than the dicentrics growth and differed in the examined groups. The excess acentric fragments yield in GT group rose from the start to the end of radiotherapy. Unlike to GT group no change of excess acentric level after the middle of radiation treatment in MT group was observed.
4. The range of cells with unstable chromosome aberrations during radiation therapy expanded in both study groups, but at a different rate. In the middle of the course the number of aberrations per aberrant cell was almost the same – 1–5 structural rearrangements in GT group and 1–4 such struc-

MT – з 1–4 структурних перебудов. В кінці курсу максимум нестабільних аберацій становив для групи GT 10 пошкоджень, а для групи MT – 5 пошкоджень на аберантну клітину. Розподіли частот нестабільних хромосомних обмінів і нестабільних аберацій хромосомного типу в досліджуваних групах були наддисперсними відносно статистики Пуассона в середині та в кінці курсу променевої терапії.

5. На тлі схожої загальної направленості процесу формування цитогенетичних пошкоджень за дії опромінення виявлено розбіжності в динаміці змін цитогенетичних показників залежно від джерела опромінення. Так гамма-терапія раку легені мала більш генотоксичний вплив на геном лімфоцитів периферичної крові онкохворих, ніж мегавольтне променеве лікування.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Іванкова В. С. Сучасна променева терапія та етапи її розвитку. *Український радіологічний журнал*. 2015. Т. 23, № 2. С. 84–87.
2. Івчук В. П., Винцевич Л. В. Особенности лучевого лечения на линейном ускорителе больных раком молочной железы I-II стадий после органосохраняющих операций. *Радіологічний вісник*. 2011. № 4. С. 25–27.
3. Baskar R., Lee K. A., Yeo R., Yeoh K.-W. Cancer and radiation therapy: current advances and future directions. *Int. J. Med. Sci.* 2012. Vol. 9, no. 3. P. 193–199.
4. Gonzalez Ferreira J. A., Olasolo J. J., Azinovic I., Jeremic B. Effect of radiotherapy delay in overall treatment time on local control and survival in head and neck cancer: Review of the literature. *Rep. Pract. Oncol. Radiother.* 2015. Vol. 20, no. 5. P. 328–339.
5. Time-course of radiation-induced chromosomal aberrations in tumor patients after radiotherapy / I. Muller, H. Geinitz, H. Braselmann et al. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2005. Vol. 63, no. 4. P. 1214–1220. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2005.03.056>.
6. Cytogenetic damage in lymphocytes of patients undergoing therapy for small cell lung cancer and ovarian carcinoma / A. Padjas, D. Lesisz, A. Lankoff et al. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2005. Vol. 209, no. 2. P. 183–191. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2005.04.005>.
7. Динаміка загальних цитогенетичних показників у хворих на рак тіла матки до термінів 12-24 місяці після променевої терапії / Н. О. Мазник, В. А. Вінніков, О. Е. Ірха та ін. *Укр. радіол. журн.* 2008. Т. 16, вип. 1. С. 20–26.
8. Оценка целесообразности применения биологической дозиметрии на основе анализа хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови больных раком легкого при терапевтическом фракционированном гамма-облучении / И. К. Хвостунов, Л. В. Курсова, Н. Н. Шепель и др. *Радиаци. биология. Радиозология*. 2012. Т. 52, № 5. С. 467–480.
9. X-rays vs. Carbon-ion tumor therapy: cytogenetic damage in lymphocytes / M. Durante, S. Yamada, K. Ando et al. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2000. Vol. 47, no. 3. P. 793–798.

tural rearrangements in MT group. At the end of treatment the maximum of 10 unstable aberrations per aberrant cell for GT group and of 5 damages per aberrant cell for MT group was observed. The distributions of radiation-specific chromosome aberrations were over-dispersed according to Poisson statistic in both patients groups during radiotherapy.

5. On the similar background of cytogenetic lesions formation induced by radiation the difference in aberrations outcome depending on the radiation type was found. Thus, gamma-therapy revealed a higher genotoxic effect on peripheral blood lymphocytes genome of lung cancer patients than megavolt radiation therapy.

## REFERENCES

1. Ivankova VS. [Modern radiation therapy and stage of its development]. *Ukrainian Journal of Radiology*. 2015;23(2):84-7. Ukrainian.
2. Ivchuk VP, Vintsevich LV. [Radiation treatment at the linear accelerator for I-II stages breast cancer patients after organ-preserving operations]. *Radiolohichnyi visnyk*. 2011;(4):25-7. Russian.
3. Baskar R, Lee KA, Yeo R, Yeoh K-W. Cancer and Radiation Therapy: Current Advances and Future Directions. *Int J Med Sci*. 2012;9(3):193-9. doi:10.7150/ijms.3635.
4. Gonzalez Ferreira JA, Olasolo JJ, Azinovic I, Jeremic B. Effect of radiotherapy delay in overall treatment time on local control and survival in head and neck cancer: Review of the literature. *Rep Pract Oncol Radiother*. 2015;20(5):328-39. doi: 10.1016/j.rpor.2015.05.010.
5. Muller I, Geinitz H, Braselmann H, Baumgartner A, Fasan A, Thamm R, et al. Time-course of radiation-induced chromosomal aberrations in tumor patients after radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2005;63(4):1214-20. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2005.03.056>.
6. Padjas A, Lesisz D, Lankoff A, Banasik A, Lisowska H, Bakalars R, et al. Cytogenetic damage in lymphocytes of patients undergoing therapy for small cell lung cancer and ovarian carcinoma. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2005;209(2):183-91. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2005.04.005>.
7. Maznyk NO, Vinnikov VA, Irkha OE, Sukhina OM, Mikhanovskyi OA, Kruhova IM. [The changes of general cytogenetic findings in patients with uterine body cancer within 12-24 months following radiotherapy]. *Ukrainian Journal of Radiology*. 2008;16(1):20-6. Ukrainian.
8. Khvostunov IK, Kursova LV, Shepel NN, Ragulin YuA, Sevan'kaev AV, Gulidov IA, et al. [The estimation of appropriateness of chromosomal aberration assay as a biological dosimetry based on cytogenetic investigation of lung cancer patients given non-uniform fractional exposures to high doses of therapeutic gamma-rays]. *Radiation biology. Radioecology*. 2012;52(5):467-80. Russian.

10. Chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes of prostate cancer patients treated with IMRT and carbon ions / C. Hartel, A. Nikoghosyan, M. Durante et al. *Radiother. Oncol.* 2010. Vol. 95, no. 1. P. 73–78. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2009.08.031>.
11. Chromosomal aberrations induced by chemotherapy and radiotherapy in lymphocytes from patients with breast carcinoma / J.-D. Legal, R. De Crevoisier, E. Lartigau et al. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2002. Vol. 52, no. 5. P. 1186–1195.
12. Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation Emergencies. Vienna : International Atomic Energy Agency, 2011. 229 p.
13. Захаров А. Ф., Бенюш В. А., Кулешов Н. П., Барановская Л. И. Хромосомы человека. Атлас. М. : Медицина, 1982. 263 с.
14. Сипко Т. С., Пшенічна Н. Д., Мазник Н. О. Мітотична активність культур лімфоцитів крові онкологічних хворих на різних етапах променевої терапії на лінійному прискорювачі. *Матеріали VI з'їзду радіобіологічного товариства України*. Київ, 2015. С. 118–119.
15. Сипко Т. С., Пшенічна Н. Д., Мазник Н. О. Мітотична активність в культурах лімфоцитів крові онкологічних хворих під час гамма-терапії <sup>60</sup>Co на апараті Рокус-АМ. *Матеріали наук.-практ. конф. з участю міжнар. спеціалістів*. Харків, 2015. С. 81–82.
16. Higuera M., Gonzalez J. E., Di Giorgio M., Barquinero J. F. A note on Poisson goodness-of-fit tests for ionizing radiation induced chromosomal aberration samples. *Int. J. Radiat. Biol.* 2018. Vol. 94, no. 7. P. 656–663. DOI: <https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1478012>.
17. Атраментова Л. А., Утевская О. М. Статистические методы в биологии: учебник. Горловка : Лихтар, 2008. 248 с.
18. Семенов А. В., Воробцова И. Е. Частота хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови больных с солидными опухолями. *Вопросы онкологии*. 2016. Т. 62, № 3. С. 485–489.
19. Динамика хромосомных aberrаций и микроядер в лимфоцитах больных злокачественными новообразованиями при нейтронной терапии / А. А. Мельников, С. А. Васильев, Е. В. Смольникова и др. *Сибирский онкологический журнал*. 2012. Т. 52, № 4. С. 52–56.
20. Cytogenetic assessment of heterogeneous radiation doses in cancer patients treated with fractionated radiotherapy / S. Roch-Lefevre, F. Pouzoulet, A. L. Giraudet et al. *Brit. J. Radiol.* 2010. Vol. 83, no. 993. P. 759–766. Doi: 10.1259/bjr/21022597.
21. Cytogenetic damage induced by radiotherapy. Evaluation of protection by amifostine and analysis of chromosome aberrations persistence / M. Xuncla, J. F. Barquinero, M. R. Caballin et al. *Int. J. Rad. Biol.* 2008. Vol. 84, no. 3. P. 243–251. DOI: <https://doi.org/10.1080/09553000801902141>.
22. Cavusoglu K., Arica S. C., Bokesoy I., Kurtman C. Chromosomal aberrations induced by radiotherapy in lymphocytes from patients with lung cancer. *J. Environ. Biol.* 2009. Vol. 30, no. 1. P. 7–10.
9. Durante M, Yamada S, Ando K, Furusawa Y, Kawata T, Majima H, et al. X-rays vs. Carbon-ion tumor therapy: cytogenetic damage in lymphocytes. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000;47(3):793-8. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0360-3016\(00\)00455-7](https://doi.org/10.1016/S0360-3016(00)00455-7).
10. Hartel C, Nikoghosyan A, Durante M, Sommer S, Nasonova E, Fournier C, Lee R, Debus J, Schulz-Ertner D, Ritter S. Chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes of prostate cancer patients treated with IMRT and carbon ions. *Radiother Oncol.* 2010; 95(1):73-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2009.08.031>.
11. Legal J-D, De Crevoisier R, Lartigau E, Morsli K, Dossou J, Chavaudra N, et al. Chromosomal aberrations induced by chemotherapy and radiotherapy in lymphocytes from patients with breast carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2002;52(5):1186-95.
12. Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna: International Atomic Energy Agency; 2011. 229 p.
13. Zakharov AF, Benyush VA, Kuleshov NP, Baranovskaya LI. [Human chromosomes: atlas]. Moscow: Medicina; 1982. 263 p. Russian.
14. Sypko TS, Pshenichna ND, Maznyk NO. [The mitotic activity in blood lymphocyte cultures of oncological patients at different stages of radiation therapy on linear accelerator]. In: *Proc. 6<sup>th</sup> Congr. Ukr. Radiobiol. Soc.* Kyiv; 2015. p. 118-9. Ukrainian.
15. Sypko TS, Pshenichna ND, Maznyk NO. [The mitotic activity in blood lymphocyte cultures of oncological patients due to <sup>60</sup>Co gamma-therapy on Rokus-AM]. In: *Proceeding of conf. with the participation of intern. specialists*. Kharkiv; 2015. p. 81-2. Ukrainian.
16. Higuera M, Gonzalez JE, Di Giorgio M, Barquinero JF. A note on Poisson goodness-of-fit tests for ionizing radiation induced chromosomal aberration samples. *Int J Radiat Biol.* 2018;94(7):656-63. DOI: <https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1478012>.
17. Atramentova LA, Utevskaia OM. [Statistical methods in biology]. Gorlovka: Likhitar; 2008. 248 p. Russian.
18. Semenov AV, Vorobtsova IE. [Frequency of chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes in patients with solid tumors]. *Problems in oncology.* 2016;62(3):485-9. Russian.
19. Melnikov AA, Vasilyev SA, Smolnikova EV, Urazova LN, Musabaeva LI, Velikaya WV, et al. [Dynamics chromosomal aberrations and micronuclei in lymphocytes of cancer patients in neutron therapy]. *Siberian Journal of Oncology.* 2012;52(4):52-6. Russian.
20. Roch-Lefevre S, Pouzoulet F, Giraudet AL, Voisin P, Vaurijoux A, Gruel G, et al. Cytogenetic assessment of heterogeneous radiation doses in cancer patients treated with fractionated radiotherapy. *Brit J Radiol.* 2010;83(993):759-66. Doi: 10.1259/bjr/21022597.
21. Xuncla M, Barquinero JF, Caballin MR, Craven-Bartle J, Ribas M, De Vega JM, Barrios L. Cytogenetic damage induced by radiotherapy. Evaluation of protection by amifostine and analysis of chromosome aberrations persistence. *Int J Rad Biol.* 2008;84(3):243-51. DOI: <https://doi.org/10.1080/09553000801902141>.
22. Cavusoglu K, Arica SC, Bokesoy I, Kurtman C. Chromosomal aberrations induced by radiotherapy in lymphocytes from patients with lung cancer. *J Environ Biol.* 2009;30(1):7-10.

**ІНФОРМАЦІЯ ПРО АВТОРІВ**

**Мазник Наталія Олександрівна** – доктор біологічних наук, завідувачка лабораторії радіаційної цитогенетики, ДУ «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»

**Сипко Тетяна Сергіївна** – науковий співробітник лабораторії радіаційної цитогенетики, ДУ «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»

**Старенький Віктор Петрович** – доктор медичних наук, старший науковий співробітник, завідувач відділення променевої терапії, ДУ «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»

**Богатиренко Наталія Дмитрівна** – молодший науковий співробітник лабораторії радіаційної цитогенетики, ДУ «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»

**Білозор Наталія Володимирівна** – кандидат медичних наук, лікар-променевої терапевт відділення променевої терапії, ДУ «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»

**INFORMATION ABOUT AUTHORS**

**Nataliya O. Maznyk** – D.Sc, Ph.D, Head of Radiation Cytogenetics Laboratory, Grigoriev Institute for Medical Radiology of National Academy of Medical Science of Ukraine

**Tetiana S. Sytko** – Research Officer of Radiation Cytogenetics Laboratory, Grigoriev Institute for Medical Radiology of National Academy of Medical Science of Ukraine

**Viktor P. Starenkiy** – D.Sc, Ph.D, Head of Radiotherapy Department, Grigoriev Institute for Medical Radiology of National Academy of Medical Science of Ukraine

**Nataliya D. Bohatyrenko** – Junior Scientific Officer of Radiation Cytogenetics Laboratory, Grigoriev Institute for Medical Radiology of National Academy of Medical Science of Ukraine

**Nataliya V. Bilozor** – Ph.D, Radiotherapy physicist of Radiotherapy Department, Grigoriev Institute for Medical Radiology of National Academy of Medical Science of Ukraine

*Стаття надійшла до редакції 27.03.2019*

*Received: 27.03.2019*