

· **Національна академія наук України**
Міністерство охорони здоров'я України

**ВИКОРИСТАННЯ ПРОГНОСТИЧНИХ ПРЕДИКТОРІВ КРОВІ ДЛЯ
ВИЯВЛЕННЯ ОНКОГІНЕКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ З ПІДВИЩЕНИМ
РИЗИКОМ УСКЛАДНЕНЬ ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ**

(методичні рекомендації)

Київ – 2025

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**

«УЗГОДЖЕНО»

Голова ГО «Національна асоціація
онкологів України»



В.О.Зуб

2025р.

**ВИКОРИСТАННЯ ПРОГНОСТИЧНИХ ПРЕДИКТОРІВ КРОВІ ДЛЯ
ВИЯВЛЕННЯ ОНКОГІНЕКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ З ПІДВИЩЕНИМ
РИЗИКОМ УСКЛАДНЕНЬ ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ**

(методичні рекомендації)

Київ – 2025

Установа-розробник:

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького Національної Академії Наук України

Укладачі:

Дьоміна Емілія Анатоліївна, д.біол.н., професор	(044) 259-05-93
Думанський Юрій Васильович, д.мед.н., професор, член-кор. НАМН України	(099) 223-40-15
Михайленко Віктор Михайлович, к.біол.н., ст.н.с.	(044) 259-05-93
Маковецька Людмила Ігорівна, к.біол.н.	(044) 257-90-54
Главін Олексій Анатолійович, к.біол.н., ст.н.с.	(044) 259-05-93

Рецензент:**Талько Вікторія Василівна**

д.мед.н., професор, заслужений діяч науки і техніки України
директор Інституту експериментальної радіології,
ДУ "Національний науковий центр радіаційної медицини,
гематології та онкології НАМН України.

Рекомендовано:

Вченою радою Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є.Кавецького НАН України (протокол № 8 від 4 червня 2025 р.)

ЗМІСТ

	стор.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	5
ВСТУП.....	6
Дизайн досліджень для розробки методичних рекомендацій	9
Матеріали та методи для визначення прогностичних предикторів підвищеного ризику променевих ускладнень.....	11
Визначення прогностичних предикторів крові для виявлення онкогінекологічних хворих з підвищеним ризиком ускладнень променевої терапії:.....	
біохімічні предиктори підвищеного ризику променевих ускладнень;	14
цитогенетичні предиктори підвищеного ризику променевих ускладнень;	
цитологічні предиктори підвищеного ризику променевих ускладнень.	
ВИСНОВКИ.....	19
ПЕРЕЛІК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	20

Перелік умовних скорочень

ІВ – іонізуюче випромінювання

ПК – периферична кров

МДА – малоновий діальдегід

ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів

ПТ – променева терапія

РТМ – рак тіла матки

РШМ – рак шийки матки

ТО – тестуюче опромінення

УЗО – умовно-здорові особи

ЗН – злоякісні новоутворення

ХА – хромосомні аберації

ВСТУП

Важливою проблемою охорони здоров'я ХХІ в. є онкогінекологічні захворювання, що займають четверте рангове місце серед жіночого населення світу. Провідним методом лікування цих захворювань визнана променева терапія (ПТ) з урахуванням її конформної стратегії та застосуванням сучасних радіаційних технологій. Використання новітніх технологій у радіаційній онкології дозволяє більш жорстко формувати дозові поля з мінімальним захопленням нормальних тканин в умовах оптимального променевого навантаження на пухлину. Але не дивлячись на прогрес радіаційної онкології у хворих з даною локалізацією злоякісних новоутворень (ЗН) виникає проблема ураження нормальних клітин із оточення опромінюваної пухлини. Саме терапевтичне опромінення здорових тканин, оточуючих пухлину за певних радіаційних навантажень створює у 14-80% випадків розвиток ранніх та віддалених ускладнень з боку критичних органів малого тазу, а саме підвищення частоти циститів, ентероколітів, ректитів та інш. Симптоми гострого променевого циститу є оборотними, проте зміни фенотипу клітин, що виникли, впливають на формування віддалених ускладнень опромінення. Виникнення променевих ускладнень обумовлено по-перше тим, що ЗН утворюють в здорових тканинах мікроскопічні інфільтрати, які необхідно включати в опромінюваний обсяг. По-друге, клітини цих тканин на вході та виході пучка іонізуючого випромінювання (ІВ) також зазнають радіаційних змін, які відображаються на їх радіочутливості. Ряд дослідників пов'язують причини розвитку променевих ускладнень з боку здорових тканин з помилками при плануванні ПТ. Тобто в деяких випадках призначають високі разові та сумарні дози (ділянка «подвійного занепокоєння»), що перевищують толерантність цих тканин до дії ІВ. При цьому не завжди враховують особливості розподілу поглиненої дози у тканинах із оточення пухлини. Якщо ранні побічні ефекти піддаються корекції за допомогою інтенсивної підтримуючої терапії на протязі декількох тижнів після завершення курсу ПТ, то віддалені ефекти відрізняються від ранніх незворотним та прогресуючим патогенезом. Сьогодні у променевій практиці враховують варіабельність ефективності та швидкість процесу відновлення. Як наслідок, "стандартна доза" може бути недостатньою для пацієток з радіорезистентною пухлиною і одночасно може

зумовити високий ризик розвитку післяпроменевих ускладнень у нормальних тканинах. Внаслідок головних зазначених причин проведеної ПТ, опромінені клітини із оточення ЗН вже суттєво відрізняються від вихідної нормальної тканини і тому надають підстави вважати їх лише умовно нормальними. Ризик віддалених променевих реакцій з їх сторони може бути достатньо високим, враховуючи стохастичний, у тому числі канцерогенний характер їх формування. При цьому завжди страждають більш радіочутливі і добре регенеруючі тканини. Дослідження, присвячені проблемі лікування пізніх променевих ушкоджень критичних органів та тканин малого тазу, які можуть зазнавати опромінення при лікуванні хворих онкогінекологічного профілю, носять переважно описовий характер. Отже результати сучасних методів консервативної терапії променевих ушкоджень цих тканин до теперішнього часу залишаються невтішними, так як супроводжуються частими рецидивами патологічного процесу. Слід зауважити, що прояв побічних ефектів у опроміненних онкогінекологічних хворих в значній мірі залежить від ступеня радіочутливості клітин із оточення ЗН. Це стосується також післяопераційних хворих, коли опромінюється ділянка ложа пухлини, для забезпечення локального контролю. Тому увага радіаційних онкологів зосереджена на проблемі радіочутливості нормальних (немалігнізованих) клітин, що неодмінно попадають у зону терапевтичного опромінення, та мінімізації променевих ускладнень, які змушують переривати лікування та впливають на його результати, погіршують якість життя пролікованих хворих. Ключовою проблемою сучасної радіаційної онкології залишається виявлення онкологічних хворих з високим ризиком розвитку променевих ускладнень ще до початку ПТ, що забезпечить персоналізований підхід до її планування, і таким чином, підвищення ефективності лікування. Також треба враховувати соціально-економічний фактор – вартість додаткових підтримуючих терапевтичних процедур. З цих позицій визначення та обґрунтування прогностичних біомаркерів (предикторів) високого ризику ускладнень ПТ до її початку має враховувати біохімічні, генетичні та клітинні аспекти процесів радіаційного генезу, які передують формуванню післяпроменевих ускладнень терапії. Застосування запропонованого комплексного підходу для визначення прогностичних предикторів крові з метою

виокремлення групи пацієнок з високим ризиком виникнення ускладнень ПТ сприятиме поліпшенню якості їх життя.

Методичні рекомендації розроблено за результатами наукових досліджень, виконаних у межах відомчої тематики НАН України «Дослідження впливу поєднаної променевої і хіміотерапії на генетичні та метаболічні зміни у лімфоцитах периферичної крові хворих на рак шийки матки» (№ держреєстрації 0121U113837 від 14.11.21, 2022-2025 рр.).

Підготовлено та представлено методичні рекомендації стосовно прогнозу виникнення пізніх променевих ускладнень в тканинах критичних органів малого тазу пролікованих онкогінекологічних хворих з використанням радіобіологічних тестів, які видаються в Україні вперше. Представлені рекомендації розраховані на променевих терапевтів, онкогінекологів, фахівців в галузі радіаційної медицини. Передбачається їх впровадження в лікувально-профілактичних установах охорони здоров'я і науково-дослідних установах радіологічного та онкологічного профілю, в лекційний курс медичних університетів.

Дизайн досліджень для розробки методичних рекомендацій

Співробітники Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України протягом багатьох років займаються біоіндикацією променевих уражень із використанням тест-системи культури лімфоцитів периферичної крові (ЛПК) людини та є першопочатківцями визначення механізмів та особливостей формування індивідуальної радіочутливості онкологічних хворих. Визначені закономірності мають вирішальне значення для прогнозу виникнення побічних променевих реакцій у онкологічних хворих внаслідок терапевтичного опромінення. Відомо, що ПТ поряд із зниженням ризику рецидиву захворювання підвищує ризик розвитку ускладнень. Тому звести до мінімуму частоту та тяжкість ускладнень після проведення ПТ є важливою та загальною міждисциплінарною метою для онкологів та променевих терапевтів.

Формуванню радіаційно-індукованих ускладнень в соматичних клітинах людини передують послідовність вільнорадикальних процесів, що викликають окисні пошкодження генетичних структур під впливом ІВ. Одним із таких біохімічних показників є вміст малонового діальдегіду (МДА), що відображає інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і розвиток оксидативного стресу. Більш того, визначено наявність взаємозв'язку між інтенсивністю ПОЛ в плазмі крові та структурною цілісністю ЛПК при опроміненні в діапазоні малих доз. Застосований біомаркер опромінення - *вміст МДА в плазмі крові* - надає змогу коректно моделювати радіочутливість клітин із оточення та ложа пухлини, яка докорінно впливає на виникнення негативних наслідків ПТ хворих.

Остаточо доведено, що найважливішими мішенями при радіаційному впливі є генетичні структури клітин. Тому згідно з сучасними уявленнями, визначальну роль у розвитку променевих ускладнень відіграє нестабільність геному, яку відображають *хромосомні аберації* (ХА), тобто структурні перебудови хромосом. Таким чином, генетична нестабільність клітин асоційована з утворенням побічних променевих реакцій.

Підвищену індукцію ХА в лімфоцитах крові онкологічних хворих дослідники пояснюють *порушенням апоптозу* як механізму елімінації клітин з

пошкодженою ДНК та підтримкою генетичної стабільності. Потенціал цього біологічного тесту полягає в можливості прогнозування віддалених змін нормальних тканин і органів після проведення ПТ, виникнення віддалених постпроменевих ускладнень та запобігати їх розвитку.

Новизна запропонованих методичних рекомендацій та їх практичне значення полягає в тому, що вперше представлено комплекс предикторів радіочутливості немалігнізованих клітин із оточення пухлини онкогінекологічних хворих до початку ПТ.

Нами доведено, що перелічені біомаркери, значення яких перевищує референтні, вважати предикторами високої радіочутливості з підвищеним ризиком ранніх та пізніх ускладнень. До групи співставлення включені умовно здорові особи (УЗО), які заперечували в анамнезі наявність захворювань онкологічного профілю. Відповідно до положень доказової медицини, це сприятиме не тільки удосконаленню персоналізованої ПТ онкологічних хворих, але й суттєвому підвищенню якості їх життя.

Матеріали та методи для визначення прогностичних предикторів підвищеного ризику променевих ускладнень.

Матеріал досліджень. В роботі використано зразки периферичної крові, отримані із ліктьової вени онкогінекологічних хворих (рак тіла та шийки матки), в тому числі модифіковану культуру високорадіочутливих Т-лімфоцитів в якості моделі для визначення прогностичних предикторів підвищеного ризику побічних променевих реакцій. Висока мобільність лімфоцитів у кров'яному руслі, розподіл лімфатичних вузлів по всьому організму, здатність цих клітин акумулювати перебудови хромосом дозволяють оцінювати радіочутливість організму людини в цілому. Тест-система на основі ЛПК та метафазного аналізу ХА визнана міжнародними організаціями МАГАТЕ, МКРЗ, ВООЗ, НКДАР ООН "золотим стандартом" виконання біодозиметрії/біоіндикації опромінення людини.

Для отримання плазми зразки крові з антикоагулянтом (гепарином – 0,01 %) зберігають при 3-5 °С. Плазму крові отримують центрифугуванням протягом 15 хв при 1500 об/хв.

Виділення ЛПК виконують на ГІСТОПАК-1077 HYBRI-MAX згідно інструкції виробника (BioReagent). Кров (2 мл) розводять з фізіологічним розчином у співвідношенні 1:1 після чого нашаровують на 3 мл ГІСТОПАК-1077 HYBRI-MAX. Після центрифугування зразка при 1500 g впродовж 40 хв відбирають кільце з лімфоцитами, клітини розводять 1 мл фізіологічного розчину, перемішують і промивають 2 рази, осаджуючи при 1500 g протягом 10 хв. Підрахунок кількості життєздатних клітин проводять за стандартною методикою, використовуючи суправітальне фарбування трипановим синім.

Модифіковані методи досліджень. *Визначення вмісту малонового діальдегіду у плазмі крові онкогінекологічних хворих.* Вміст МДА, продукту перекисного окиснення ліпідів, у плазмі крові обстежених онкогінекологічних хворих (РТМ і РШМ) та УЗО (контрольна група), визначають за допомогою методу, в основі якого лежить здатність утворювати з тіобарбітуровою кислотою стійкий забарвлений триметиновий комплекс. Дослідна проба складає 200 мкл плазми крові та 100 мкл 0,05 М трис-НСl буферу з 0,16 М хлоридом кальцію,

pH7,4. Контрольна проба містить 300 мкл трис-HCl буферу. На наступному етапі проводять осадження білка внесенням у дослідну і контрольну проби 300 мкл 10% розчину трихлороцтової кислоти (фінальна концентрація 5%). Проби перемішують на *Vortex* і залишають не менше як на 1 год у холодильнику, після чого проби центрифугують 20 хв при 3000 об./хв. Надосадову рідину відбирають в окремі пробірки, додають рівнозначний об'єм 0,8 % розчину 2-тіобарбітурової кислоти, перемішують на *Vortex* та поміщають суміш у киплячу водяну баню на 15 хв. Вимірювання екстинції зразків проводять проти контрольної проби на спектрофотометрі *Agilent 8453* (USA) при довжині хвилі 532 нм і ширині кварцевої кювети 1,0 см. Вміст МДА розраховують на підставі молярного коефіцієнта екстинції ($\epsilon=1,56 \times 10^5 \text{ см}^{-1} \times \text{моль}^{-1}$) у перерахунку на кількість білка за формулою:

$$c=(E / \epsilon / V_{\text{пл}} \times 10^6) / C_6 \text{ (мкМ/г білка),}$$

де E – екстинція зразка при 532 нм; $V_{\text{пл}}$ – об'єм плазми, л; 10^6 – коефіцієнт перерахунку у мкМ; C_6 – концентрація білка, г/л.

Концентрацію білка вимірюють за методом Greenberg паралельно з проведенням даної методики.

Тест-система культури ЛПК онкологічних хворих та умовно здорових донорів. ЛПК культивували відповідно до міжнародного стандартного протоколу [IAEA, 2011] протягом 52 год. при 37 °C в CO₂-інкубаторі. До складу культуральної суміші входять: живильне середовище RRM1 1640 (Gibco, США), 4% розчин гентаміцин-сульфату (Дарниця, Україна), мітоген Т-лімфоцитів фітогемаглютинін (Gibco, США). Для накопичення метафазних пластинок хромосом на 49 год. культивування використовували розчин колцеміду в концентрації 0,2 мкг/мл середовища (Sigma, США). Гіпотонізацію, фіксацію клітин, приготування хромосомних препаратів виконували відповідно до стандартного протоколу. Метафазний аналіз цитогенетичних препаратів хромосом виконували на стадії першого мітозу. Окраску препаратів здійснювали барвником Гімза. Відбір метафазних пластин відбувався у відповідності до міжнародних стандартів [IAEA, 2011]. На одне цитогенетичне спостереження

аналізували в середньому 200–300 метафаз. Визначали загальну частоту ХА та аберацій хромосомного і хроматидного типів, а також фрагментів та обмінів.

Дослідження апоптозу. Апоптичні клітини ідентифікували на основі реєстрації змін в клітинних мембранах, пов'язаних із ранніми стадіями апоптозу, зокрема переміщення фосфатидилсерину із внутрішньої на зовнішню частину ліпідного бішару клітинної мембрани. Відсоток клітин на стадіях раннього та пізнього апоптозу в зразках ЛПК визначали методом проточної цитометрії за допомогою набору для діагностики апоптозу – Annexin V FITC Apoptosis Detection Kit згідно інструкції виробника (Dojndo, Японія). Експрес метод ідентифікації ЛПК на ранній стадії апоптозу потребує лише 50 мкл крові та дозволяє отримати результат протягом 1 год. Флуоресценцію клітин оцінювали на проточному цитофлуориметрі DxFlex, Beckman Coulter Biotechnology Co. Ltd (США). В кожній з проб підраховували не менш ніж 10 тис. клітин. Чисельний аналіз проводили в автономному режимі за допомогою програмного забезпечення для клінічного аналізу Kaluza C виробництва Beckman Coulter GmbH (Німеччина). Результати представляли у вигляді відсотка апоптичних клітин в суспензії ЛПК.

Статистична обробка результатів комплексного обстеження хворих.

Статистичну обробку даних виконано з використанням загальноновживаних методів варіаційної статистики, кореляційного і регресійного аналізів. Достовірність розбіжностей оцінювали за t-критерієм Student. Відмінності між одержаними показниками вважали достовірними за $p \leq 0,05$. Статистичну обробку цитогенетичних результатів, в тому числі біодозиметрію виконували із залученням лінійно-квадратичної моделі:

$$Y = c + \alpha D + \beta D^2,$$

де D – доза опромінення; c, α , β – коефіцієнти дозової залежності для загальної частоти ХА.

Визначення прогностичних предикторів крові для виявлення онкогінекологічних хворих з підвищеним ризиком ускладнень променевої терапії

Біохімічні предиктори підвищеного ризику виникнення променевиx ускладнень у онкогінекологічних хворих

Встановлено підвищений вміст МДА, як вторинного продукту ПОЛ, у плазмі крові обстежених онкогінекологічних хворих ще до початку ПТ порівняно із середньогруповим значенням контрольної групи ($23,43 \pm 2,05$ мкМ/г білка). У хворих на РШМ цей показник перевищував контрольне значення в 2,5 раз ($58,81 \pm 5,26$ мкМ/г білка), а у пацієток з РТМ – у 2,6 раз ($60,87 \pm 4,93$ мкМ/г білка). Одержані лабораторні дані вказують на інтенсифікацію процесів ПОЛ у системі крові та порушення окисно-відновного балансу до початку планування курсу протипухлинної терапії. Водночас такі зміни є підґрунтям для розвитку окисного стресу, наслідками якого може бути формування мутацій, дестабілізація геному та загибель клітин. Зауважимо, що суттєвої різниці за визначеними показниками між групами хворих на РШМ та РТМ не спостерігалось.

Відповідно до положень клінічної радіобіології основними вимогами до предикторних маркерів підвищеного ризику променевиx ускладнень є наявність чіткої залежності між дозою терапевтичного опромінення та ефектом, який спостерігається в досить стислі терміни дослідження, в тому числі реакція на малі дози ІВ. В роботі використано тестуюче опромінення (ТО) лімфоцитів *in vitro* в якості методичного прийому оцінки стабільності генетичних структур та інших радіобіологічних показників.

Отримано дані щодо реакції-відповіді досліджуваного показника на радіаційну дію в залежності від дози ІВ. При ТО зразків крові хворих РТМ відмічається зростання рівня МДА у плазмі крові, що може обумовити розвиток окисного стресу та пошкодження клітинних мембран. Зареєстровано підвищення середньогрупового значення показника в діапазоні доз 0,5-3,0 Гр в 1,32-1,78 рази, відповідно. Дозова залежність вмісту МДА у плазмі крові хворих на РТМ апроксимується моделлю лінійної регресії $Y = 66,68 + 12,87D$ ($R^2 = 0,84$).

Аналогічні результати отримано при аналізі впливу ТО на вміст МДА у плазмі крові хворих на РШМ. ТО зразків крові у дозі 2,0 Гр, що відповідає стандартній разовій дозі при дистанційній променевої терапії, призводило до достовірного підвищення вмісту МДА в 1,14 рази.

Широка міжіндивідуальна варіабельність значень МДА в крові онкогінекологічних хворих свідчить про необхідність впровадження персоналізованого підходу до їх лікування.

Визначення предиктивного маркера МДА до початку планування ПТ дозволить виокремити онкогінекологічних хворих з високим ризиком ускладнень. Враховуючи відносну швидкість виконання даного біохімічного тесту, його доцільно призначати в якості експрес-методу з метою персоналізованого планування курсів ПТ онкогінекологічних хворих до та після оперативного втручання.

Цитогенетичні предиктори підвищеного ризику виникнення променевих ускладнень у онкогінекологічних хворих

Середньогрупова частота спонтанних аберацій хромосом у ЛПК первинних хворих на РТМ складає $7,82 \pm 0,33$ на 100 метафаз, що майже у 6 разів перевищує значення даного показника в контрольній групі здорових осіб ($1,33 \pm 0,37$). У спектрі зареєстрованих ХА переважають аберації хроматидного типу, а саме делеції та обміни, які складають приблизно 66 % від загального числа аберацій хромосом. Переважання у спектрі хромосомних аномалій Т-лімфоцитів первинних хворих на РТМ аберацій хроматидного типу свідчить про те, що до початку ПТ у здорових клітинах (моделлю яких обрані ЛПК) формується генетична нестабільність. Генетична нестабільність може бути наслідком онкогенезу та низької ефективності репараційних процесів в немалігнізованих клітинах, що оточують пухлину. Згідно до сучасних уявлень, хромосомна нестабільність у соматичних клітинах, які контактують з пухлиною, може бути також пов'язана з гуморальними факторами, що вільно циркулюють у крові пацієнтів, тобто з "bystander-effect". Слід відмітити, що загальна частота променевих маркерів, а саме дицентричних хромосом, у групі нелікованих

онкологічних хворих до початку ПТ складає $0,12 \pm 0,08$, тоді як у крові умовно здорових донорів даний тип аберацій хромосом не ресструвався.

Отримані дані однозначно свідчать, що Т-лімфоцити крові хворих на **РТМ** ще до початку ПТ “скомпроментовані” за рахунок сформованої генетичної нестабільності. Дослідження фонові частоти аберацій хромосом у культурі ЛПК хворих показало наступне: середня частота клітин з абераціями хромосом у лімфоцитах крові обстежених хворих становила $6,98 \pm 0,84\%$ і перевищувала майже у 6 разів значення цього показника у групі контролю та більш ніж у два рази — верхню межу середньопопуляційного рівня.

Загальна частота аберацій хромосом групи хворих на **РШМ** становила $7,44 \pm 0,95/100$ клітин, що перевищувало значення цього показника в контрольній групі. Співвідношення частоти аберацій хроматидного та хромосомного типу становило 2,2:1. Аберації хроматидного типу головним чином (90,6%) були представлені хроматидними фрагментами, рівень яких становив $4,52 \pm 0,75/100$ клітин, що достовірно ($p \leq 0,05$) перевищувало значення цього показника у групі УЗО у середньому більше, ніж у 5 разів. На відміну від контрольної групи, особливістю спектра спонтанних аберацій була поява у 55,0% обстежених хворих дицентричних (0,16/100 клітин), кільцевих та аномальних (0,18/100 клітин та 0,26/100 клітин, відповідно) хромосом (рис.1).

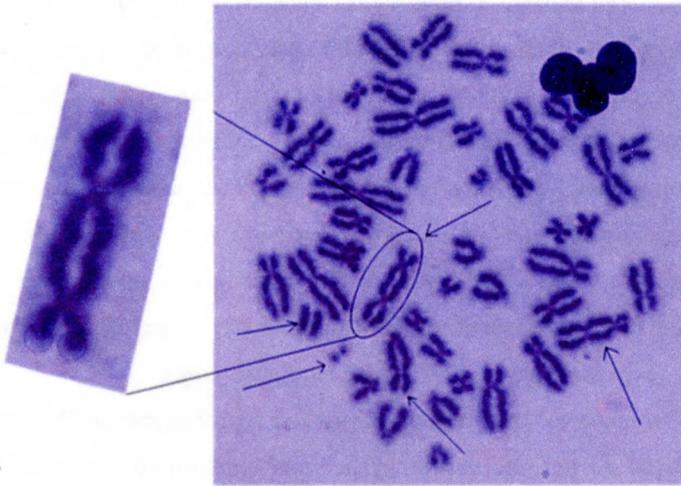


Рис1. Променеві маркери – дицентрики із супроводжуючими парними фрагментами.

Цитологічні предиктори підвищеного ризику виникнення променевих ускладнень у онкогінекологічних хворих

Вміст апоптичних клітин визначали в ЛПК УЗО та хворих на РШМ. Дослідження рівня спонтанного апоптозу в ЛПК отриманих від УЗО виявило низький відсоток клітин, що перебували на стадії раннього апоптозу. В різних зразках крові спостерігалась незначна варіація їх рівня від 0.9 до 2% із середнім значенням $\div 1.46\%$ в групі контролю. Інша ситуація із розвитком ранніх апоптотичних змін спостерігалась у ЛПК хворих на РШМ де відмічено достовірне зростання в 3,8 рази кількості апоптотичних клітин в популяції CD45+ клітин крові порівняно із їх значенням в УЗО. Також спостерігалась значна варіабельність індивідуальних значень рівнів апоптотичних змін в ЛПК від 2,8 до 7,2 %. зі значенням середнього показника – $5,5 \pm 0,16\%$.

Проведення курсу ПТ онкогінекологічним хворим пролонгувало значний рівень індукованого апоптозу ЛПК, який достовірно перевищував у 2,5 раза значення в УЗО. Виявлена пролонгація ранніх процесів апоптозу у крові хворих на РШМ внаслідок впливу ПТ може провокувати виникнення ускладнень у ранні та віддалені терміни після лікування.

Загибель радіочутливих лімфоцитів реалізується в основному протягом перших трьох діб після опромінення, коли клітини гинуть внаслідок апоптозу, а ті, що вижили – в мітозі. Це зумовлює спустошення лімфоїдних органів з розвитком лімфопенії. Слід зазначити, що за ступенем радіочутливості ці клітини стійки до дії ІВ в дозах 6 Гр і вище, які використовуються в ПТ. Звідси функціональні порушення Т-лімфоцитів, зниження загальної кількості циркулюючих лімфоцитів є тривалим ефектом після ПТ онкогінекологічних хворих.

Експрес метод ідентифікації ЛПК на ранній стадії апоптозу може бути використаний в якості предиктивного маркера виникнення змін в нормальних тканинах і органах після проведення ПТ, а також прогнозування віддалених ускладнень при ПТ онкогінекологічних хворих.

ВИСНОВКИ

Розроблені методичні рекомендації – це нова стратегія профілактики розвитку променевиx ускладнень з радіобіологічними підходами до виявлення онкогінекологічних хворих з високим ризиком розвитку променевиx ускладнень в немалігнізованих клітинах, суміжних з пухлиною.

1. Лабораторне обстеження онкогінекологічних хворих з використанням комплексу біохімічного, цитогенетичного та цитологічного тестів забезпечить найбільш обґрунтоване заключення стосовно ризику виникнення внаслідок ПТ ускладнень до її початку та сприятиме підвищенню її ефективності та поліпшенню якості життя пролікованих пацієнток.
2. Обстеження онкогінекологічних хворих перед початком ПТ з метою оцінки підвищеного ризику виникнення променевиx ускладнень може бути обмежено лише виконанням біохімічного тесту – визначення вмісту МДА в плазмі крові, оскільки він менш витратний щодо його вартості і часу виконання.
3. Якщо ж в анамнезі хворої міститься інформація щодо професійного опромінення, мешкання в наслідок Чорнобильської катастрофи на радіаційно забруднених територіях та інш. контакти з джерелами ІВ, то рекомендовано виконувати повний комплекс обстеження з використанням цитогенетичних та цитологічних предикторів. Це забезпечить найбільш ґрунтовне заключення щодо індивідуального ризику виникнення променевиx ускладнень у хворих, які зазнали впливу радіаційного фактору.

Таким чином, запропоновані методичні рекомендації окреслюють шлях до персоналізованого підходу щодо планування курсів ПТ гінекологічним хворим, лікування яких ускладняється за рахунок променевиx уражень з боку органів і тканин малого тазу. Така стратегія планування променевого лікування хворих сприятиме підвищенню ефективності ПТ та поліпшенню якості їх життя.

Перелік рекомендованої літератури

1. Domina E., Philchenkov A., Dubrovska A. Individual response to ionizing radiation and personalized radiotherapy. *Critical reviews in oncogenesis*. 2008. № 1-2, Vol. 23. P. 69-92. doi: 10.1615/CritRevOncog.2018026308.
2. Дёмина Э.А. Хромосомные аномалии в лимфоцитах крови первичных онкологических больных в постчернобыльском периоде. *Scientific Journal "ScienceRise: Biological Science"*. 2016. № 1. С. 20-25.
3. Secondary carcinogenesis in patients treated with radiation: a review of data on radiation-induced cancers in human, non-human primate, canine and rodent subjects / H. Suit et al. *Radiat Res*. 2007. Vol. 167, № 1. P. 12-42. doi: 10.1667/RR0527.1.
4. Domina E.A. The dependence of dose/effects in human radiation cytogenetic. *Problems of radiation medicine and radiobiology*. 2019. Vol. 24. P. 235-249. doi: 10.33145/2304-8336-2019-24-235-249.
5. Дьоміна Е.А., Михайленко В.М., Главін О.А., Маковецька Л.І. Виявлення осіб із високою індивідуальною радіочутливістю для захисту їх геному від дії надфонових доз опромінення (*методичні рекомендації*). Київ: МОЗ України, 2018. 30 с.
6. Basic Clinical Radiobiology. Ed. By Joiner M.C., van der Kogel A.J. Ed.5. 2018, 360 p. Pub. Location Boca Raton, Imprint CRC3 Press. doi.org/10.1201/9780429490606. ISBN 9780429490606
7. A Xiang Shen, Yafeng Qi, Tengfei Ma & Zhenggan Zhou. A dicentric chromosome identification method based on clustering and watershed algorithm. *Scientific Reports* | (2019) 9:2285 | <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38614-7>.
8. Scott D. Chromosomal radiosensitivity, cancer predisposition and response to radiotherapy. *Strahlenther Onkol*. 2000. Vol. 176, № 5. P. 229-234. doi: 10.1007/s000660050005.
9. V.S. Ivankova, E.A. Domina, T.V. Khrulenko et al. Effects of brachytherapy on cytogenetic parameters and oxidative status in peripheral blood lymphocytes of

gynecologic cancer patients / *Exp Oncol.* 2021. Vol. 43, № 3. P. 242-246. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-43-no-3.16514.

¹⁰. Annexin V-affinity assay: a review on an apoptosis detection systems based on phosphatidylserine exposure / M. Van Engeland, L.J. Nieland, F.C. Ramaekers. *Cytometry.* 1998. Vol. 31, № 1. P. 1-9.