DOI: 10.21870/0131-3878-2019-28-2-87-101

УДК 616.24-006.6-085.849.1]-07:616.155.32:575.224.23

Оценка последствий дистанционной лучевой терапии у больных раком лёгкого путём анализа хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови

Хвостунов И.К.¹, Курсова Л.В.¹, Севаньяев А.В.¹, Рагулин Ю.А.¹,
Шепель Н.Н.¹, Коровчук О.Н.¹, Пятенко В.С.^{1,2}, Хвостунова Т.И.¹

¹ МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск;

² ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

В настоящей работе проведено исследование последствий лучевой терапии больных раком лёгкого. Оценка последствий выполнялась путём подсчёта aberrаций хромосом в лимфоцитах крови пациентов. Всего было обследовано 25 больных раком лёгкого при различных стадиях развития заболевания. В указанной группе радикальная терапия осуществлялась путём облучения области опухоли пациентов на γ -терапевтических установках марки «Луч» или «Рокус» в суммарной очаговой дозе (СОД) от 47,5 до 70 Гр. Забор крови для анализа производился по следующей схеме: до начала облучения (контроль), после первого дня облучения, после завершения полного курса радикальной терапии и регулярно в течение последующего периода времени до двух лет. Хромосомные aberrации анализировались стандартным методом в клетках первого митоза. В результате проведённого обследования было показано, что индивидуальная реакция пациентов существенно варьирует при схемах облучения, сопоставимых по суммарной дозе и фракционированию. По статистическим критериям были выделены три подгруппы: высокого, среднего и пониженного уровня индукции хромосомных aberrаций. В работе была оценена доза общего облучения и СОД для каждой из подгрупп в сопоставлении с назначенными физическими дозами. Выявленные закономерности индукции хромосомных повреждений в лимфоцитах крови больных раком лёгкого доказывают необходимость внедрения персонализированного подхода к планированию и реализации схемы радикального курса терапии для повышения её эффективности и предотвращения побочных последствий.

Ключевые слова: радиационное воздействие, хромосомные aberrации, лимфоциты крови, дистанционная лучевая терапия, доза общего облучения, рак лёгкого, радиотерапия, дицентр, центрическое кольцо, ацентр.

Введение

Проблема совершенствования методов лечения онкологических заболеваний, особенно рака лёгкого, является актуальной и требует дополнительного клинико-дозиметрического анализа и обоснования [1]. Результаты фундаментальных исследований лучевого воздействия на тканевом и клеточном уровнях имеют существенное значение как для повышения эффективности существующих схем дистанционной лучевой терапии (ДЛТ), так и для разработки новых методов лучевой терапии онкологических пациентов [2]. В случае возникновения противоречий между данными о назначенной физической дозе и клинической картиной отдалённых последствий облучения часто требуется дополнительное подтверждение или опровержение ожидаемой степени тяжести радиационного воздействия. В таком случае метод анализа aberrаций хромосом в лимфоцитах крови является одним из наиболее адекватных способов обоснования предполагаемого заключения [3]. Вместе с тем, область применения и оценка погрешности биологической дозы в случае локального фракционированного облучения *in vivo* всё ещё требуют до-

Хвостунов И.К.* – зав. лаб., д.б.н.; Курсова Л.В. – вед. научн. сотр., к.м.н.; Севаньяев А.В. – зав. лаб., д.б.н.; Рагулин Ю.А. – зав. отд., к.м.н.; Шепель Н.Н. – ст. научн. сотр., к.б.н.; Коровчук О.Н. – научн. сотр.; Хвостунова Т.И. – научн. сотр. МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. Пятенко В.С. – вед. научн. сотр., к.б.н. МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН.

*Контакты: 249036, Калужская обл., Обнинск, ул. Королева, 4. Тел.: (484) 399-73-92; e-mail: 726727@mrrc.obninsk.ru.

полнительных исследований и совершенствования [4, 5]. В качестве подхода к решению указанной проблемы предлагается анализ aberrаций хромосом в клетках крови онкологических пациентов после ДЛТ с достоверным дозиметрическим обеспечением [6-8].

Цитогенетическое обследование онкологических пациентов после ДЛТ даёт возможность количественно оценить последствия радиационного воздействия и распределение числа aberrаций по клеткам крови. Локальное облучение, фракционирование дозы, а также индивидуальные вариации осложняют анализ закономерностей индукции aberrаций. В последнее время данная проблема исследовалась при помощи различных цитогенетических методов, а именно: стандартный метод [6, 7], метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH-метод) [5-7], метод преждевременной конденсации хромосом [9, 10], микроядерный тест [8] и подсчёт двойных разрывов ДНК по технологии γ -фокусов (γ -H2AX foci) [11].

В перечисленные исследования включались пациенты с различными локализациями опухоли: область головы и шеи, лёгкие, абдоминальная область, шейка матки, молочная железа и ряд других локализаций. Для лучевой терапии обследованных пациентов использовались, главным образом, γ -терапевтические или рентгеновские установки. Как правило, число обследованных составляло от 6 до 9 пациентов, но изредка это число достигало 32-35 человек [10, 12].

Для оценки поглощённой дозы методом биологической дозиметрии ключевой задачей является обоснованное использование параметров зависимости частоты aberrаций от дозы [3]. Согласно принятым международным рекомендациям, следует использовать оригинальную лабораторную дозовую зависимость при облучении лимфоцитов *in vitro*. Особенностью ДЛТ является локальное фракционированное облучение. В таком случае в крови перемешиваются как облучённые, так и необлучённые клетки. Кроме того, значимую роль может играть восстановление клеток, а также модификация радиационной чувствительности клеток вследствие онкологического заболевания и/или применения химиопрепаратов. По данным литературы для учёта локального характера облучения были разработаны два следующих метода: Qdr (quotient of dicentrics and rings) [13] и метод Dolphin [14]. Следует отметить, что оба метода были верифицированы с использованием лишь модельных лабораторных экспериментов с облучением клеток *in vitro* [15]. Для оценки пригодности данных методов в случае облучения *in vivo* наиболее адекватным подходом является цитогенетическое обследование онкологических пациентов при проведении радикальной ДЛТ [5].

В выполненных нами ранее исследованиях были проанализированы образцы крови больных раком лёгкого, взятые непосредственно после завершения курса ДЛТ. Это позволило оценить поглощённые дозы при помощи эмпирической модели со свободным параметром [16, 17]. Дальнейшее развитие данного направления в рамках настоящей работы заключалось в анализе aberrаций хромосом в лимфоцитах крови пациентов в зависимости от времени после окончания ДЛТ и проведении биологической дозиметрии с помощью современной радиобиологической модели неполной репарации [18, 19].

Цель настоящей работы состояла в количественной оценке последствий воздействия радикального курса ДЛТ на организм больных раком лёгкого при использовании аппаратов для лучевой терапии предыдущего поколения. Полученные результаты являются базовым ориентиром для совершенствования методики радикального курса ДЛТ на современных лучевых установках.

Материалы и методы

Для цитогенетического анализа использовали образцы периферической крови, взятые у обследованных пациентов из локтевой вены. Образцы крови у всех обследованных лиц брались в соответствии с действующим законодательством Российской Федерации и нормами медицинской этики после получения информированного согласия. Хромосомные aberrации изучали метафазным методом в клетках первого митоза. Методика состояла в приготовлении препаратов метафазных хромосом, их окрашивании и микроскопическом анализе. Культивирование клеток проводилось с использованием фитогемагглютинаина (PHA M-form, Gibco, USA). Приготовление препаратов и фиксацию выполняли по стандартной методике в соответствии с международными рекомендациями МАГАТЭ [3]. Культивировали цельную кровь (0,8 мл) во флаконах Карреля в питательной среде следующего состава: 6,16 мл среды RPMI-1640; 1,6 мл инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки; 0,08 мл L-глутамина; 0,08 мл раствора антибиотиков (пенициллин-стрептомицин); 0,15 мл PHA. Инкубацию культур клеток производили в термостате при 37 °C в течение 48 ч. За 2 ч до окончания инкубации во флаконы добавляли раствор деменколлина в финальной концентрации 0,2 мкг/мл среды. Гипотонизацию, фиксацию клеток и приготовление препаратов хромосом выполняли согласно протоколу [3]. Окраску препаратов осуществляли красителем Гимза.

В ходе анализа учитывали aberrации хромосомного типа: ацентрики (парные фрагменты и точки), центрические кольца и дицентрики. К дицентрику и центрическому кольцу относили по одному парному фрагменту или парной точке при отсутствии парных фрагментов. Все эти виды aberrаций относятся к классу нестабильных хромосомных aberrаций. Всего было проанализировано 22782 клетки стандартным метафазным методом – в пределах от 78 до 762 метафаз на одного человека.

Использованная для лечения обследованных пациентов схема ДЛТ представляла собой сумму дробно-фракционированных локальных облучений с высокой мощностью дозы. Для выполнения биологической дозиметрии по частоте aberrаций была использована линейно-квадратичная модель, когда при облучении в течение периода T частота aberrаций Y как функция дозы D описывается следующим выражением [18]:

$$Y = c + \alpha D + G(T) \beta D^2, \quad (1)$$

где c , α , β – коэффициенты дозовой зависимости при остром облучении; $G(T)$ – обобщенный временной фактор эффекта мощности дозы (Lea-Catcheside), который, с учётом эффекта мощности дозы и репарации разрывов хромосом, вычисляется по формуле [18]:

$$G(T) = \frac{2}{D^2} \int_0^T R(t) dt \int_0^t \varphi(t-t') R(t') dt', \quad (2)$$

где $R(t)$ – мощность дозы в зависимости от времени за период облучения T ; $\varphi(t)$ – вероятность того, что двунитевые разрывы ДНК остаются нерепарированными до времени t ; D – суммарная доза облучения.

Для построения калибровочной дозовой зависимости при остром облучении использовались результаты анализа aberrаций в лимфоцитах крови четырёх здоровых доноров (двое мужчин и две женщины) в возрасте от 30 до 40 лет. Облучение *in vitro* образцов донорской крови производилось γ -квантами ^{60}Co на медицинской установке «Луч» (НИИТФА, Росатом, Рос-

сия) в диапазоне доз от 0,035 до 4,27 Гр при мощности дозы 0,5 Гр/мин. Дозиметрическое обеспечение осуществлялось путём измерения мощности экспозиционной дозы ионизационной камерой VAK-253 с γ -дозиметром 27012 (Kip-guide, Germany), а также при помощи термoluminescentных дозиметров-«свидетелей» ТЛД-100 (Harshaw, USA).

При статистической обработке полученных данных стандартные ошибки частоты aberrаций вычисляли в предположении распределения Пуассона для aberrаций по клеткам. В качестве критерия значимости для проверки гипотезы о равенстве средних использовалась Z-статистика без дополнительных предположений о дисперсиях исследуемых распределений. Наблюдаемые распределения aberrаций по клеткам сравнивали с теоретически ожидаемым распределением Пуассона с помощью параметрического критерия [20]. Для статистической оценки дозы был использован метод 95%-доверительных интервалов, традиционно применяемый при биодозиметрическом анализе [3].

Результаты исследования и обсуждение

В табл. 1 приведены клинико-диагностические характеристики обследованных пациентов и физические СОД в соответствии с проведёнными курсами ДЛТ. Типичная схема состояла в ежедневном облучении в СОД, равной 2,5 Гр, разделённой на две фракции в 1 и 1,5 Гр с интервалом 5,5 часов. В течение недели осуществлялось 5 сеансов по рабочим дням, за исключением выходных и праздничных дней. По этой причине число сеансов у каждого пациента было меньше общего числа дней облучения (табл. 1).

Для выполнения биологической дозиметрии была получена калибровочная дозовая зависимость частоты aberrаций при остром облучении лимфоцитов крови четырёх доноров *in vitro*. В табл. 2 приведены результаты статистической оценки параметров регрессионной зависимости частоты различных видов хромосомных aberrаций от дозы.

В табл. 3 приведены результаты анализа хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови обследованных пациентов до и после радикального курса ДЛТ. Для каждого из обследованных пациентов была рассчитана частота радиационных маркеров (дицентрики + центрические кольца) и выполнена статистическая оценка соответствия наблюдаемого распределения aberrаций по клеткам распределению Пуассона. Такая оценка позволяет сделать обоснованное заключение об особенностях облучения, а именно: было ли радиационное воздействие равномерным по всему телу или оно было локальным и направлено на ограниченную область порядка размера опухоли. В последних двух колонках табл. 3 приведена относительная дисперсия (σ^2/Y) и параметр U [20].

При $|U| < 1,96$ наблюдаемое распределение соответствует распределению Пуассона, что свидетельствует о равномерном облучении всего тела (всех лимфоцитов крови). В последней колонке табл. 3 жирным курсивом отмечены распределения маркеров по клеткам с повышенной дисперсией, отличающиеся от распределения Пуассона. Превышение величины U по абсолютному значению 1,96 свидетельствует об отличии наблюдаемого распределения от Пуассоновского с превышением дисперсии при положительном значении U и снижением дисперсии при отрицательном U . Из табл. 3 следует, что у всех пациентов распределение суммы дицентриков и центрических колец по клеткам как после первых суток, так и после всего курса ДЛТ, как правило, имеет повышенную дисперсию и не соответствует распределению Пуассона. Аналогичная картина наблюдается и в отдалённом периоде (табл. 3).

Таблица 1

**Клинико-диагностические характеристики обследованных пациентов
и дозы радикальной ДЛТ***

Код	Возраст (лет)	Диагноз по TNM	Фракционирование дозы, Гр	Длительность ДЛТ, сут	СОД, Гр
1	54	T ₂ N ₂ M ₀	24×2,5	38	60
2	61	T ₄ N ₂ M ₁	19×2,5	32	47,5
3	61	T ₄ N ₂ M ₀	20×2,5	31	50
4	52	T ₄ N ₂ M ₀	28×2,5	43	70
5	72	T ₄ N ₁ M ₀	7×2,0; 10×3,0	26	44
6	61	T ₄ N ₃ M ₀	25×2,0	33	50
7	70	T ₂ N ₀ M ₀	30×2,0	43	60
8	61	T ₄ N ₂ M ₀	25×2,5	39	62,5
9	67	T ₂ N ₁ M ₀	24×2,5	32	60
10	55	T ₃ N ₂ M ₀	28×2,5	38	70
11	58	T ₃ N ₂ M ₀	24×2,5	37	60
12	53	T ₃ N ₁ M ₀	24×2,5	35	60
13	68	T ₃ N ₂ M ₀	24×2,5	34	60
14	63	T ₃ N ₁ M ₀	23×2,5	31	57,5
15	61	T ₃ N ₂ M ₁	20×2,5	31	50
16	47	T ₂ N ₂ M ₀	3,0; 23×2,5	38	60,5
17	72	T ₄ N ₂ M ₀	26×2,5	44	65
18	45	T ₃ N ₂ M ₀	20×2,5	20	50
19	58	T ₃ N ₂ M ₀	28×2,5	38	70
20	57	T ₄ N _x M ₁	20×2,5	25	50
21	50	T ₂ N ₂ M ₀	26×2,5	37	65
22	71	T ₂ N ₁ M ₀	24×2,5	31	60
23	66	T ₃ N ₂ M _x	25×2,5	33	62,5
24	69	T ₂ N ₂ M ₀	24×2,5	32	60
25	48	T ₂ N ₂ M ₀	25×2,5 + 1,4	40	63,9

Примечание: ДЛТ – дистанционная лучевая терапия; TNM – международная классификация диагнозов (TNM Classification of Malignant Tumors, 7-th edition); СОД – суммарная очаговая доза.

Таблица 2

**Параметры зависимости частоты различных видов aberrаций хромосом (Y/100 клеток)
от дозы (D, Гр) при облучении образцов крови *in vitro***
 $Y=c+\alpha D+\beta D^2$

Вид aberrаций	Коэффициенты регрессионной зависимости (aberrаций/100 клеток)		
	c ±SE*	α, Гр ⁻¹ ±SE*	β, Гр ⁻² ±SE*
Дицентрики	0,011±0,012	1,40±0,38	7,28±0,24
Ацентрические фрагменты	0,256±0,047	1,99±0,47	2,89±0,21
Дицентрики + центрические кольца	0,012±0,013	1,42±0,42	9,59±0,27
Дицентрики + центрические кольца + ацентрические фрагменты	0,255±0,050	4,05±0,68	12,3±0,40

Примечание: *SE – стандартная ошибка среднего.

Представленные в табл. 3 результаты показывают, что индивидуальная реакция пациентов на ДЛТ, сопоставимую по дозе и фракционированию, существенно варьирует. Путём последовательного статистического анализа индивидуальных временных зависимостей частоты радиационных маркеров после начала ДЛТ были выделены три подгруппы пациентов: подгруппа I – №№ 3, 6, 15, 17; подгруппа II – №№ 1, 4, 5, 7, 13, 14, 16, 18, 25 и подгруппа III – №№ 2, 8, 9, 10, 11, 12, 21, 23, 24.

Таблица 3

Хромосомные aberrации в лимфоцитах крови обследованных пациентов до и после радикального курса ДЛТ

Код пациента	Время, дней	Число клеток	Число aberr-рант. клеток	Фрагменты	Центрич. кольца (ЦК)	Дисцентрики (Диц)	Частота (Диц+ЦК)/100 клеток	Распределение (Диц+ЦК) по клеткам	σ^2/γ	U*
1	0	695	13	10	0	3	0,43±0,25	692/3	1,00	-0,07
	1	213	20	12	0	13	6,10±1,69	201/11/1	1,10	1,05
	38 (ДЛТ)	284	152	94	37	257	103,5±6,0	152/52/32/27/13/5/2/0/1	2,01	12,0
2	0	499	14	13	0	2	0,40±0,28	497/2	1,00	-0,04
	1	500	42	24	4	24	5,60±1,06	477/18/5	1,30	4,89
	32 (ДЛТ)	259	62	37	15	56	27,41±3,25	214/29/12/2/0/1/0/1	2,11	12,8
3	0	298	7	5	1	1	0,67±0,47	296/2	1,00	-0,06
	1	300	28	16	3	11	4,67±1,25	286/14	0,96	-0,55
	31 (ДЛТ)	119	87	62	28	233	219,3±13,6	35/23/18/14/12/5/6/3/1/0/1/0/1	2,46	11,2
	83	400	135	105	23	151	43,50±3,30	296/63/25/9/3/3/0/1	1,96	13,6
4	0	200	3	1	0	2	1,00±0,71	198/2	0,99	-0,07
	1	260	14	9	2	8	3,85±1,22	252/6/2	1,37	4,40
	43 (ДЛТ)	249	109	37	33	142	70,28±5,31	156/56/17/9/3/4/2/2	2,29	14,5
5	0	200	5	4	0	3	1,50±0,87	198/1/1	1,66	8,06
	1	400	29	21	2	10	3,0±0,87	388/12	0,97	-0,41
	26 (ДЛТ)	125	38	22	14	45	47,20±6,14	91/17/9/8	1,66	5,24
6	0	188	9	9	0	1	0,53±0,53	187/1	1,00	0,0
	1	332	20	10	0	10	3,01±0,95	322/10	0,97	0,37
	33 (ДЛТ)	166	121	44	53	191	147,0±9,41	57/48/23/21/8/3/3/2/1	1,83	7,54
7	0	200	5	3	0	2	1,00±0,71	198/2	0,99	0,07
	1	500	29	11	6	16	4,40±0,94	480/18/2	1,14	2,27
	43 (ДЛТ)	199	74	25	26	108	67,34±5,82	134/29/15/14/5/0/1/1	2,17	11,7
8	0	697	8	7	0	1	0,14±0,14	696/1	1,00	0,0
	39(ДЛТ)	157	31	9	3	33	22,93±3,82	132/17/5/3	1,56	5,00
	142	200	48	13	5	45	25,0±3,54	160/32/6/2	1,24	2,38
	246	200	48	29	25	54	39,50±4,44	158/23/9/7/1/0/1/1	2,44	14,5
	337	500	87	42	22	93	23,0±2,14	433/38/18/6/2/3	2,13	17,9
9	0	500	24	21	3	1	0,80±0,40	496/4	0,99	-0,11
	32 (ДЛТ)	200	46	17	8	49	28,5±3,77	161/26/8/5	1,53	5,33
	124	175	32	11	4	31	20,0±3,38	147/21/7	1,21	1,96
	215	200	43	20	3	47	25,0±3,54	166/25/6/1/0/2	1,92	9,27
10	0	200	2	2	0	0	0	200/0	0,0	0,0
	38 (ДЛТ)	119	19	6	3	21	20,2±4,12	103/9/6/1	1,56	4,41
	185	200	59	21	5	49	27,0±3,67	153/41/5/1	1,03	0,32
11	0	400	3	3	0	0	0	400/0	0,0	0,0
	37 (ДЛТ)	200	24	15	5	16	10,5±2,3	187/9/2/1/0/1	2,34	13,7
	68	200	41	24	6	47	26,5±3,6	170/21/4/3/1/0/0/0/0/0/1	3,55	25,6
	90	200	40	40	13	54	33,5±4,1	170/13/6/6/3/1/0/1	2,86	18,7
	337	600	89	53	12	86	16,3±1,7	533/49/8/8/1/1	1,82	14,3
12	0	200	5	5	0	0	0	200/0	0,0	0,0
	35(ДЛТ)	200	35	10	4	40	22,0±3,32	170/19/8/3	1,56	5,66
	251	200	43	33	21	84	52,5±5,12	161/14/11/4/4/2/1/2/0/0/0/1	3,90	29,1
	349	200	46	31	26	65	45,5±4,77	161/16/8/8/3/1/3	2,87	18,7
	460	500	126	64	29	121	30,0±2,5	391/73/33/1/2	1,34	5,43
13	0	500	10	9	1	0	0,20±0,20	499/1	1,00	0,0
	34 (ДЛТ)	154	70	30	26	75	65,58±6,53	96/35/14/3/2/3/1	1,94	8,27
	119	100	53	25	15	95	110,0±10,5	54/19/13/5/4/3/0/1/0/0/0/0/1	3,00	14,2
	294	697	62	32	15	60	10,76±1,24	650/29/11/5/1/1	2,02	19,1
14	0	497	13	12	0	3	0,60±0,35	494/3	1,00	-0,08
	31 (ДЛТ)	166	49	22	12	53	39,16±4,86	124/27/10/3/1/1	1,70	6,37
	118	200	86	35	29	116	72,5±6,02	123/39/19/12/4/2/1	1,86	8,58
15	0	399	7	9	0	0	0	399/0	0,0	0,0
	31 (ДЛТ)	194	130	84	53	210	135,6±8,36	77/49/30/15/12/7/3/0/1	1,86	8,46
16	0	762	20	14	1	5	0,79±0,32	756/6	0,99	-0,14
	38 (ДЛТ)	200	84	50	12	187	99,5±7,05	124/29/13/16/10/3/1/1/1/0/1	3,10	21,0
	148	199	68	70	14	141	77,9±6,26	139/21/15/8/6/5/4/1	2,89	18,9
	223	513	85	55	19	83	19,9±1,97	452/39/9/11/0/1/0/1	2,24	19,9
17	0	200	5	4	0	1	0,50±0,50	199/1	1,00	0,0
	44 (ДЛТ)	78	64	61	39	175	274,4±18,8	18/9/16/15/2/6/5/1/3/1/2	2,39	8,64
18	0	298	4	4	0	0	0	298/0	0,0	0,0
	74	166	69	51	9	85	56,63±5,84	112/30/14/6/2/2	1,81	7,36
	139	200	54	29	7	53	30,0±3,87	159/27/11/2/0/1	1,61	6,12

Код пациента	Время, дней	Число клеток	Число аберрант. клеток	Фрагменты	Центрич. кольца (ЦК)	Дицентрики (Диц)	Частота (Диц+ЦК)/100 клеток	Распределение (Диц+ЦК) по клеткам	σ^2/γ	U*
19	0	200	16	11	0	6	$3,0 \pm 1,22$	194/6	0,97	-0,27
20	0	200	4	4	0	0	0	200/0	0,0	0,0
21	0	500	10	5	0	5	$1,0 \pm 0,45$	495/5	0,99	-0,14
	141	372	64	26	16	65	$21,8 \pm 2,4$	319/35/11/4/3	1,80	11,0
	231	400	67	34	11	90	$25,3 \pm 2,5$	348/30/9/6/3/1/3	2,73	24,6
22	0	398	8	4	1	3	$1,01 \pm 0,50$	394/4	0,99	-0,12
23	1	257	11	4	1	4	$1,94 \pm 0,87$	250/7	0,98	-0,29
	92	698	83	46	9	96	$15,0 \pm 1,5$	630/46/14/3/3/2	2,01	19,0
	653	200	44	13	12	19	$15,5 \pm 2,8$	177/16/6/1	1,43	4,39
24	0	200	10	11	0	1	$0,50 \pm 0,50$	199/1	1,00	0,0
	234	400	81	36	25	104	$32,3 \pm 2,8$	329/38/18/10/2/2/0/1	2,25	17,7
25	0	200	1	0	0	1	$0,50 \pm 0,50$	199/1	1,00	0,0
	1	200	17	4	3	12	$7,50 \pm 1,94$	186/13/1	1,06	0,66
	40 (ДЛТ)	200	77	23	24	103	$63,5 \pm 5,6$	131/38/16/8/3/3/1	2,00	9,98

Примечание: жирным курсивом в последней колонке отмечены распределения маркеров по клеткам с повышенной дисперсией, статистически отличающиеся от распределения Пуассона.

На рис. 1 представлены сгруппированные результаты и соответствующие регрессионные зависимости. Так, для подгруппы III (наименее радиочувствительные пациенты) частота маркеров описывается следующей зависимостью $Y = (0,347 \pm 0,020) \cdot t \cdot \exp[-(0,0045 \pm 0,0002) \cdot t]$, где Y – частота суммы дицентриков и центрических колец на 100 клеток, t – время от начала ДЛТ (сутки). Для подгруппы II (промежуточная радиочувствительность) зависимость имеет следующий вид: $Y = (3,26 \pm 0,12) \cdot t \cdot \exp[-(0,0158 \pm 0,0004) \cdot t]$. Для подгруппы I с наиболее радиочувствительными пациентами по тесту хромосомных аберраций аналогичную статистическую оценку выполнить не удалось вследствие недостаточной статистической мощности исходных данных.

Рис. 1. Зависимость частоты радиационных маркеров от времени после радикального курса ДЛТ в подгруппах по индивидуальной радиационной чувствительности. Сплошными линиями показаны регрессионные зависимости. Пунктирная линия – исходные данные без оценки регрессии.

В табл. 4 приведены результаты анализа хромосомных аберрации в лимфоцитах крови обследованных пациентов до и после радикального курса ДЛТ в трёх выделенных подгруппах. Для каждой из подгрупп была рассчитана средняя частота радиационных маркеров (дицентрики + центрические кольца) и выполнена статистическая оценка соответствия распределению Пуассона – наблюдаемого средне-группового распределения маркеров по клеткам. В последней

колонке табл. 4 жирным курсивом отмечены распределения маркеров по клеткам с повышенной дисперсией, которые отличаются от распределения Пуассона.

В табл. 5 приведены результаты биологической дозиметрии с использованием современной радиобиологической модели неполной репарации [19, 21] в форме оценки биологической дозы, которая была выполнена для модели облучения всего тела и СОД. По причине существенной индивидуальной вариации результатов цитогенетического анализа биологическая дозиметрия была выполнена для средних значений частоты aberrаций в трёх подгруппах.

При оценке дозы в контроле были использованы регрессионные параметры калибровочной дозовой зависимости для суммы дицентриков и центрических колец в формуле (1) и фактор $G(T)=1$.

Таблица 4

Хромосомные aberrации в лимфоцитах крови обследованных пациентов и их средние величины в трёх подгруппах по степени индивидуальной реакции на облучение до и после курса радикального курса ДЛТ

Период наблюдения (среднее), сут	Под-группа	Число пациентов	Число клеток	Число aberrант. клеток	Фрагменты	Центрич. кольца (ЦК)	Дицентрики (Диц)	Частота (Диц+ЦК)/100 клеток	Распределение (Диц+ЦК) по клеткам	σ^2/Y	U*
0	все	24	8631	206	170	7	41	0,56±0,08	8584/46/1	1,04	2,40
1	I	2	632	48	26	3	21	3,80±0,78	608/24	0,96	-0,66
	II	5	1573	109	57	13	59	4,58±0,54	1507/60/6	1,12	3,43
	III	1	500	42	24	4	24	5,60±1,06	477/18/5	1,30	4,87
	I+II+III	8	2705	199	107	20	104	4,58±0,41	2592/102/11	1,13	4,89
27-44 (ДЛТ) (36±1)	I	4	557	402	251	173	809	176,3±5,63	187/129/87/65/34/21/17/6/6/1/3/0/1	2,26	21,0
	II	8	1577	653	303	184	970	73,2±2,15	1008/283/126/88/37/19/8/4/2/1/0/1	2,27	35,6
	III	6	1135	217	94	38	215	22,3±1,40	967/109/41/15/0/2/0/1	1,78	18,7
68-92 (81±5)	I	1	400	135	105	23	151	43,5±3,3	296/63/25/9/3/3/0/1	1,96	13,6
	II	1	166	69	51	9	85	56,6±5,84	112/30/14/6/2/2	1,81	7,36
	III	3	1098	165	110	28	197	20,5±1,37	970/80/24/12/7/3/0/1/0/0/0/1	2,65	38,6
118-148 (133±12)	II	4	699	261	159	65	405	67,2±3,10	475/106/58/27/14/11/5/2/0/0/0/0/1	2,53	28,6
	III	3	747	144	50	25	141	22,2±1,72	626/88/24/6/3	1,50	9,74
185	III	1	200	59	21	5	49	27,0±3,67	153/41/5/1	1,03	0,32
215-294 (242±10)	II	2	713	112	70	29	110	19,5±1,65	631/49/16/14/1/1/0/1/	2,18	22,3
	III	5	1400	282	152	85	379	33,1±1,54	1162/130/53/28/10/7/5/4/0/0/0/1	2,74	46,2
337-349 (341±4)	III	3	1300	222	126	60	244	23,4±1,34	1127/103/34/22/6/5/3	2,29	32,9
460	III	1	500	126	64	29	121	30,0±2,5	391/73/33/1/2	1,34	5,43
653	III	1	200	44	13	12	19	15,5±2,8	177/16/6/1	1,43	4,39

Примечание: жирным курсивом в последней колонке отмечены распределения маркеров по клеткам с повышенной дисперсией, отличающиеся от распределения Пуассона.

Средние дозы на всё тело и СОД в подгруппах рассчитывались в рамках сделанного нами обобщения теории неполной репарации [19, 21] на случай фракционированного острого облучения в различающихся дозах. Основные постулаты использованной биодозиметрической модели состояли в следующем:

(1) дозовая зависимость частоты aberrаций следует линейно-квадратичной формуле (1) с фактором мощности дозы (2);

(2) длительность облучения каждой из дозовых фракций (1-3 мин) существенно меньше как характерного периода времени репарации повреждений хромосом (~2 ч) со скоростью $\mu \approx 0,4 \text{ ч}^{-1}$ [22], так и периода времени между фракциями дозы ($\Delta t = 5,5 \text{ ч}$);

(3) фактор мощности дозы при облучении в течение суток в неравных дозах D_1 и D_2 , разделённых временем Δt , вычисляется по следующей формуле, обобщающей теорию [19]:

$$G(T) = \frac{D_1^2 + D_2^2 + 2D_1D_2 \exp(-\mu \Delta t)}{(D_1 + D_2)^2}, \quad (3)$$

(4) фактор мощности дозы при многократном ($n \gg 1$) облучении короткими фракциями вычисляется в следующем приближении [18]:

$$G(T) = \frac{1}{n}. \quad (4)$$

Средние дозы облучения в подгруппах на всё тело после первого дня облучения и в течение последующего периода были рассчитаны с использованием дозовой зависимости (1) для суммы дицентриков и центральных колец с фактором мощности дозы, приведённым в третьей колонке табл. 5. Рассчитанные величины отражают оценку побочной биологической дозы в результате ДЛТ, усреднённую как по циркулирующим в организме пациента лимфоцитам, так и по числу пациентов в подгруппе.

Средние величины СОД в подгруппах после первого дня облучения и в течение всего последующего периода были рассчитаны методом Dolphin [14] с фактором мощности дозы, приведённым в третьей колонке табл. 5. Средние величины доз на всё тело и СОД в подгруппах в период наблюдения после окончания ДЛТ рассчитывались путём применения той же методики, что и при оценке дозы непосредственно после ДЛТ. Поскольку физическая оценка дозы после ДЛТ отсутствует, то в табл. 5 на время 81 сутки и более стоит прочерк.

Таблица 5

Средние величины биологических доз в трёх подгруппах по степени индивидуальной реакции на облучение и физические величины СОД до и после радикального курса ДЛТ

Период наблюдения (M±SE), сут	Подгруппа	G(T)	Биологическая доза на всё тело M (CI), Гр	<СОД>±SE, Гр	
				биологическая доза	физическая доза
контроль	все пациенты	1	0,18 (0 – 0,29)	0,59 ± 0,03	0
1	I	0,563	0,72 (0,47 – 0,92)	0,72 ± 0,12	2,5
	II	0,563	0,80 (0,62 – 0,96)	1,68 ± 0,07	2,5
	III	0,563	0,89 (0,62 – 1,13)	2,62 ± 0,10	2,5
	I+II+III	0,563	0,80 (0,65 – 0,94)	1,74 ± 0,06	2,5
27-44 (ДЛТ) (36±1)	I	0,02198	25,8 (24,5 – 27,2)	30,7 ± 0,7	53,8±3,8
	II	0,02051	16,0 (15,6 – 16,5)	25,4 ± 0,4	58,4±2,5
	III	0,02083	7,60 (7,30 – 7,86)	17,8 ± 0,2	60,4±2,0
68-92 (81±5)	I	0,0250	10,8 (10,0 – 11,7)	19,0 ± 0,4	-
	II	0,0250	12,7 (11,2 – 14,1)	19,9 ± 0,7	-
	III	0,02055	7,21 (6,92 – 7,48)	21,9 ± 0,2	-
118-148 (133±12)	II	0,0221	14,8 (14,1 – 15,5)	25,4 ± 0,5	-
	III	0,0200	7,68 (7,25 – 8,08)	15,3 ± 0,2	-
185	III	0,01786	9,07 (7,81 – 10,2)	9,39 ± 0,55	-
215-294 (242±10)	II	0,02105	6,92 (6,47 – 7,33)	20,8 ± 0,2	-
	III	0,02033	9,89 (9,64 – 10,2)	24,6 ± 0,3	-
337-349 (341±4)	III	0,02055	7,87 (7,63 – 8,10)	21,9 ± 0,2	-
460	III	0,02083	9,20 (8,56 – 9,82)	15,2 ± 0,2	-
653	III	0,0200	6,02 (4,77 – 7,03)	14,8 ± 0,2	-

Примечание: M – среднее значение; SE – ошибка среднего; CI – 95% доверительные интервалы.

Средняя частота радиационных маркеров (дицентрики и центрические кольца) в контроле у обследованной группы пациентов составила 0,56 аберраций/100 кл. с вариацией от 0 до 1,50. Данные величины в несколько раз выше принятого спонтанного уровня данных маркеров (~0,1 аберрация/100 кл. [3]). Эти результаты могут, в частности, свидетельствовать о наличии спонтанных мутаций в клетках у обследованных пациентов или о возможном влиянии предшествующих рентгенорадиологических исследований. Однако, в целом можно сделать вывод, что

существенного радиационного воздействия на обследованных пациентов до начала ДЛТ не было (табл. 3). В среднем, доза на всё тело при указанной частоте составляет 0,18 Гр (табл. 5). При этом распределение маркеров по клеткам показало повышенную дисперсию, что может свидетельствовать о всё же имевшемся незначительном неравномерном облучении. Основной вклад в суммарное распределение маркеров по клеткам происходит от пациента № 5 (табл. 3), у которого в контроле было обнаружено два маркера в одной клетке. Расчёт средней дозы для всех пациентов в контроле методом Dolphin [14] приводит к величине 0,59 Гр (табл. 5).

Средняя частота радиационных маркеров после первых суток ДЛТ в обследованной группе составила 4,58 аббераций/100 кл. с индивидуальной вариацией от 3,0 до 6,1 (табл. 3, 4). Данная величина многократно выше принятого спонтанного уровня, что свидетельствует о существенном радиационном воздействии на обследованных пациентов после первого дня ДЛТ. В среднем доза на всё тело при указанной частоте маркеров составляет 0,80 Гр (табл. 5). Суммарное распределение маркеров по клеткам показывает повышенную дисперсию, что свидетельствует о неравномерном облучении пациентов (за исключением подгруппы I). Расчёт СОД для всех пациентов после первого дня ДЛТ методом Dolphin [14] с учётом фактора мощности дозы приводит к величине 1,74 Гр (табл. 5).

Средняя частота радиационных маркеров после окончания ДЛТ в подгруппах существенно варьирует от 22,3 до 176,3 аббераций/100 кл. (табл. 4). Указанные величины многократно выше принятого спонтанного уровня маркеров, что свидетельствует о значительном радиационном воздействии. В среднем доза на всё тело в подгруппах при указанной частоте маркеров также существенно варьирует от 7,6 до 25,8 Гр (табл. 5). Суммарное распределение маркеров по клеткам показывает повышенную дисперсию во всех подгруппах, что указывает на неравномерное облучение пациентов. Расчёт средней дозы после курса ДЛТ методом Dolphin [14] с учётом фактора мощности дозы приводит к СОД, которая варьирует в пределах от 17,8 до 30,7 Гр (табл. 5). Тот факт, что оценка СОД по хромосомным маркерам оказывается ниже, чем физические дозы в соответствующих подгруппах, может свидетельствовать о наличии противоречий между назначенными дозами и фактической реакцией на облучение пациентов при использовании γ -терапевтических установок предыдущего поколения.

Средние частоты радиационных маркеров в период после окончания ДЛТ варьируют в подгруппах от 15,5 до 67,2 аббераций/100 кл. (табл. 4). Указанные величины также многократно выше принятого спонтанного уровня маркеров, что свидетельствует о значительном радиационном воздействии. Результаты анализа распределения маркеров по клеткам указывают на неравномерное облучение обследованных пациентов. В среднем доза на всё тело в подгруппах при выявленной частоте маркеров варьирует от 6,02 до 14,8 Гр, в период до 653 суток после начала ДЛТ (табл. 5). Расчёт средней дозы в период после начала ДЛТ методом Dolphin [14] с учётом фактора мощности дозы приводит к СОД, которая варьирует в пределах от 14,8 до 25,4 Гр (табл. 5). Необходимо отметить, что повышенная частота радиационных маркеров в лимфоцитах крови пациентов сохраняется довольно длительное время. Так, даже по истечении почти двух лет, последствия ДЛТ могут быть достоверно выявлены при помощи использованного цитогенетического метода.

Анализ соотношения биодозиметрической и физической дозы, представленный в табл. 5, показывает следующее. Реакция лимфоцитов крови пациентов в форме частоты радиационных маркеров после первого дня ДЛТ отличается в 1,5 раза в подгруппах I-III (табл. 4), при этом биодозиметрические оценки дозы на всё тело различаются в 1,3 раза, а оценки СОД отличаются в 3,6 раза (табл. 5). В среднем биологическая оценка СОД составляет 70% от суточной фи-

зической дозы в 2,5 Гр. Аналогичная, но более выраженная, тенденция сохраняется и для СОД, оцененной после всего курса ДЛТ. Так, в подгруппах биологическая оценка СОД составляет 57; 43,54; 29,5% (табл. 5).

Разумно предположить, что помимо сложного дробно-фракционированного метода реализации ДЛТ на частоту aberrаций оказывает существенное влияние индивидуальные особенности пациента, в частности, способность к восстановлению первичных радиационных повреждений в лимфоцитах крови. Таким образом, наиболее вероятная причина расхождений биологической и физической оценок СОД может заключаться в существенной индивидуальной вариабельности радиационной чувствительности пациентов, которая не формализована в использованной модели расчёта биологической СОД. Дальнейшие исследования и привлечение надёжных дозиметрических данных должны помочь решить указанную проблему.

Кроме того, имеется явная специфика онкологических пациентов по сравнению с индукцией aberrаций у здоровых людей. Речь идёт об аномально длительном периоде после окончания радиационного воздействия – до двух лет (табл. 4), когда сохраняется высокая частота радиационных маркеров и, соответственно, высокая биодозиметрическая оценка, как общей дозы, так и СОД (табл. 5).

Заключение

На основе цитогенетических показателей в виде aberrаций хромосом, присутствующих в лимфоцитах крови, можно оценить характерные индивидуальные особенности воздействия локального облучения с учётом его фракционирования, а именно: общую и локальную дозу, а также подтверждение локального характера облучения.

В выполненной работе создана модель оценки локального облучения *in vivo*, позволяющая определить СОД по частоте aberrаций хромосом на момент окончания курса радикальной лучевой терапии. Выявленные закономерности формирования aberrаций хромосом представляют интерес, как для биологической дозиметрии, так и для оценки реакции на облучение различных соматических клеток пациента, а также для анализа индуцированной нестабильности всего генома.

По результатам цитогенетического обследования группы больных раком лёгкого после ДЛТ методом биологической дозиметрии были рассчитаны дозы общего облучения и СОД в сопоставлении с назначенными физическими дозами. Выявленные закономерности индукции хромосомных повреждений в лимфоцитах крови больных раком лёгкого доказывают необходимость использования персонализированного подхода к планированию и реализации схемы радикального курса ДЛТ. Полученные с использованием цитогенетического метода дозовые зависимости aberrаций в лимфоцитах крови могут быть востребованы для подтверждения факта проведения адекватной ДЛТ и контроля полученной пациентом дозы. Указанный результат особенно важен для прогноза развития поздних лучевых повреждений и выработки схем лечебных мероприятий по устранению негативных последствий лучевой терапии в онкологии.

Данная работа проводилась в рамках выполнения тем государственного задания МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, итоги выполнения которых нашли отражение в промежуточной публикации [23].

Литература

1. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность) /под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. 250 с.
2. **Столбовой А.В., Залялов И.Ф.** Радиобиологические модели и клиническая радиационная онкология //Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. 2016. Т. 5, № 6. С. 88-96.
3. Cytogenetic analysis for radiation dose assessment. A Manual. Technical Reports Series IAEA No 405. Vienna: IAEA, 2001. 127 p.
4. **Simon S.L., Bailiff I., Bouvill A., Fattibene P., Kleinerman R.A., Lloyd D.C., McKeever S.W.S., Romanyukha A., Sevan'kaev A.V., Tucker J.D., Wieser A.** BiodosEPR-2006 consensus committee report on biodosimetric methods to evaluate radiation doses at long times after exposure //Radiat. Meas. 2007. V. 42, N 6-7. P. 948-971.
5. **Roch-lefévre S., Pouzoulet F., Giraudet A.L., Voisin P.A., Vaurijoux A., Gruel G., Grégoire E., Buard V., Delbos M., Voisin Ph., Bourhis J., Roy L.** Cytogenetic assessment of heterogeneous radiation doses in cancer patients treated with fractionated radiotherapy //Br. J. Radiol. 2010. V. 83, N 993. P. 759-766.
6. **Matsuoka A., Yamada K., Hayashi M., Sofuni T.** Chromosomal aberrations detected by chromosome painting in lymphocytes from cancer patients given high doses of therapeutic X-rays //J. Radiat. Res. 1996. V. 37, N 4. P. 257-265.
7. **Vorobtsova I., Darroudi F., Semyonov A., Kanayeva A., Timofeyeva N., Yakovleva T., Zharinov G., Natarajan A.T.** Analysis of chromosome aberrations by FISH and Giemsa assays in lymphocytes of cancer patients undergoing whole-body irradiation: Comparison of *in vivo* and *in vitro* irradiation //Int. J. Radiat. Biol. 2001. V. 77, N 11. P. 1123-1131.
8. **Senthamizhchelvan S., Pant G.S., Rath G.K., Julka P.K., Nair O., Joshi R.C., Malhotra A., Pandey R.M.** Biodosimetry using chromosome aberrations in human lymphocytes //Radiat. Prot. Dosim. 2007. V. 123, N 2. P. 241-245.
9. **Durante M., Yamada S., Ando K., Furusawa Y., Kawata T., Majima H., Nakano T., Tsujii H.** Measurements of the equivalent whole-body dose during radiation therapy by cytogenetic methods //Phys. Med. Biol. 1999. V. 44, N 5. P. 1289-1298.
10. **Lee R., Yamada S., Yamamoto N., Miyamoto T., Ando K., Durante M., Tsujii H.** Chromosomal aberrations in lymphocytes of lung cancer patients treated with carbon ions //J. Radiat. Res. 2004. V. 45, N 2. P. 195-199.
11. **Sak A., Grehl S., Erichsen P., Engelhard M., Grannass A., Levegrün S., Pöttgen C., Groneberg M., Stuschke M.** Gamma H2AX foci formation in peripheral blood lymphocytes of tumor patients after local radiotherapy to different sites of the body: dependence on the dose distribution, irradiated site and time from start of treatment //Int. J. Radiat. Biol. 2007. V. 83, N 10. P. 639-652.
12. **Matsubara S., Sasaki M.S., Adachi T.** Dose response relationship of lymphocyte chromosome aberrations in locally irradiated persons //J. Radiat. Res. 1974. V. 15, N 4. P. 189-196.
13. **Sasaki M.S., Miyata H.** Biological dosimetry in atomic bomb survivors //Nature. 1968. V. 220, N 5173. P. 1189-1193.
14. **Dolphin G.W.** Biological dosimetry with particular reference to chromosomal aberration analyses. A review of methods (IAEA-SM-119/4) //Handling of radiation accidents. Proceedings of a Symposium on the Handling of Radiation Accidents. Vienna: IAEA, 1969. P. 215-224.
15. **Barquintero J.F., Barrios L., Caballin M.R., Miró R., Ribas M., Egozcue J.** Biological dosimetry in simulated *in vitro* partial irradiations //Int. J. Radiat. Biol. 1997. V. 71, N 4. P. 435-440.
16. **Хвостунов И.К., Курсова Л.В., Шепель Н.Н., Рагулин Ю.А., Севаньяев А.В., Гулидов И.А., Глазырин Д.А., Иванова И.Н.** Оценка целесообразности применения биологической дозиметрии на основе анализа хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови больных раком лёгкого при терапевтиче-

- ском фракционированном γ -облучении //Радиационная биология. Радиоэкология. 2012. Т. 52, № 5. С. 467-480.
17. **Хвостунов И.К., Шепель Н.Н., Севаньяев А.В., Нугис В.Ю., Коровчук О.Н., Курсова Л.В., Рагулин Ю.А.** Совершенствование методов биологической дозиметрии путём анализа хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови человека при облучении *in vitro* и *in vivo* //Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. 2013. Т. 9, № 1. С. 135-147.
 18. **Brenner D.J., Hlatky L.R., Hahnfeldt P.J., Huang Y., Sachs R.K.** The linear-quadratic model and most other common radiobiological models result in similar predictions of time-dose relationships //Radiat. Res. 1998. V. 150, N 1. P. 83-91.
 19. **Nilsson P., Thames H.D., Joiner M.C.** A generalized formulation of the "incomplete-repair" model for cell survival and tissue response to fractionated low dose-rate irradiation //Int. J. Radiat. Biol. 1990. V. 57, N 1. P. 127-142.
 20. **Edwards A.A., Lloyd D.C., Purrott R.J.** Radiation induced chromosome aberration and the Poisson distribution //Radiat. Environ. Biophys. 1979. V. 16, N 2. P. 89-100.
 21. **Thames H.D.** An "incomplete-repair" model for survival after fractionated and continuous irradiation //Int. J. Radiat. Biol. 1985. V. 47, N 3. P. 319-339.
 22. **Bhat N.N., Rao B.S.** Dose rate effect on micronuclei induction in cytokinesis blocked human peripheral blood lymphocytes //Radiat. Prot. Dosim. 2003. V. 106, N 1. P. 45-52.
 23. **Каприн А.Д., Галкин В.Н., Жаворонков Л.П., Иванов В.К., Иванов С.А., Романко Ю.С.** Синтез фундаментальных и прикладных исследований – основа обеспечения высокого уровня научных результатов и внедрения их в медицинскую практику //Радиация и риск. 2017. Т. 26, № 2. С. 26-40.

The estimation of radiation effect to cancer patients treated with beam-therapy by means of analysis of chromosomal aberrations in blood lymphocytes

**Khvostunov I.K.¹, Kursova L.V.¹, [Sevan'kaev A.V.¹], [Ragulin Yu.A.¹],
Shepel N.N.¹, Korovchuk O.N.¹, Pyatenko V.S.^{1,2}, Khvostunova T.I.¹**

¹ A. Tsyb MRRC, Obninsk;

² N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow

The goal of the study was to investigate local and whole-body doses to lung cancer patients received fractionated beam-therapy. The biological dosimetry based on the analysis of chromosomal aberrations in blood lymphocytes was used. The group comprised 25 lung cancer patients that exhibited II to IV developmental clinical stage has been examined. All the patients received the accumulated tumor dose ranged 47.5 to 70 Gy by means of γ -ray ⁶⁰Co radiation machines «Luch» or «Rokus». The blood was sampled as following: before treatment, after the first day, after the complete course of beam-therapy and time-by-time during the post treatment period up to about two years. The chromosomal aberrations were analyzed in the first mitosis cells using conventional method. It was found that individual response of patients to beam-therapy varied greatly even after comparable irradiation conditions. The examined groups have been statistically subdivided into three subgroup of high, intermediate and low radiation sensitivity using observed frequency of chromosomal radiation markers. The tumor dose and side whole-body dose were estimated for all the subgroups by means of biodosimetry model based on incomplete-repair theory. The specialty of cytogenetic dose assessment of lung cancer patients found in this study confirms the necessity for individual practice toward planning and executing the therapeutic regimen of cancer patients. The increasing of efficiency and avoiding of side effect could be expected in this way.

Key words: radiation effect, chromosomal aberrations, blood lymphocytes, beam-therapy, whole-body dose, lung cancer, radiotherapy, dicentric, centric ring, acentric.

Khvostunov I.K.* – Head of Lab., D. Sc., Biol.; **Kursova L.V.** – Lead. Researcher, C. Sc., Med.; **Sevan'kaev A.V.** – Head of Lab., D. Sc., Biol.; **Ragulin Yu.A.** – Head of Dep., C. Sc., Med.; **Shepel N.N.** – Senior Researcher, C. Sc., Biol.; **Korovchuk O.N.** – Researcher; **Khvostunova T.I.** – Researcher. A. Tsyb MRRC. **Pyatenko V.S.** – Lead. Researcher, C. Sc., Biol. A. Tsyb MRRC, N.M. Emanuel IBCP RAS.

*Contacts: 4 Korolev str., Obninsk, Kaluga region, Russia, 249036. Tel.: (484) 399-73-92; e-mail: 726727@mrcc.obninsk.ru.

References

1. *Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality)*. Eds.: A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrova. Moscow, P. Hertsen MORI, 2017. 250 p. (In Russian).
2. **Stolbovoy A.V., Zalyalov I.F.** Radiobiology models and clinical radiation oncology. *Onkologiya. Zhurnal im. P.A. Gertsena – Herzen P.A. Oncology Journal*, 2016, vol. 5, no. 6, pp. 88-96. (In Russian).
3. *Cytogenetic analysis for radiation dose assessment. A Manual*. Technical Reports Series IAEA, No 405. Vienna, IAEA, 2001. 127 p.
4. **Simon S.L., Bailiff I., Bouvill A., Fattibene P., Kleinerman R.A., Lloyd D.C., McKeever S.W.S., Romanyukha A., Sevan'kaev A.V., Tucker J.D., Wieser A.** BiodosEPR-2006 consensus committee report on biodosimetric methods to evaluate radiation doses at long times after exposure. *Radiat. Meas.*, 2007, vol. 42, no. 6-7, pp. 948-971.
5. **Roch-lefévre S., Pouzoulet F., Giraudet A.L., Voisin P.A., Vaurijoux A., Gruel G., Grégoire E., Buard V., Delbos M., Voisin Ph., Bourhis J., Roy L.** Cytogenetic assessment of heterogeneous radiation doses in cancer patients treated with fractionated radiotherapy. *Br. J. Radiol.*, 2010, vol. 83, no. 993, pp. 759-766.
6. **Matsuoka A., Yamada K., Hayashi M., Sofuni T.** Chromosomal aberrations detected by chromosome painting in lymphocytes from cancer patients given high doses of therapeutic X-rays. *J. Radiat. Res.*, 1996, vol. 37, no. 4, pp. 257-265.
7. **Vorobtsova I., Darroudi F., Semyonov A., Kanayeva A., Timofeyeva N., Yakovleva T., Zharinov G., Natarajan A.T.** Analysis of chromosome aberrations by FISH and Giemsa assays in lymphocytes of cancer patients undergoing whole-body irradiation: Comparison of *in vivo* and *in vitro* irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2001, vol. 77, no. 11, pp. 1123-1131.
8. **Senthamizhchelvan S., Pant G.S., Rath G.K., Julka P.K., Nair O., Joshi R.C., Malhotra A., Pandey R.M.** Biodosimetry using chromosome aberrations in human lymphocytes. *Radiat. Prot. Dosim.*, 2007, vol. 123, no. 2, pp. 241-245.
9. **Durante M., Yamada S., Ando K., Furusawa Y., Kawata T., Majima H., Nakano T., Tsujii H.** Measurements of the equivalent whole-body dose during radiation therapy by cytogenetic methods. *Phys. Med. Biol.*, 1999, vol. 44, no. 5, pp. 1289-1298.
10. **Lee R., Yamada S., Yamamoto N., Miyamoto T., Ando K., Durante M., Tsujii H.** Chromosomal aberrations in lymphocytes of lung cancer patients treated with carbon ions. *J. Radiat. Res.*, 2004, vol. 45, no. 2, pp. 195-199.
11. **Sak A., Grehl S., Erichsen P., Engelhard M., Grannass A., Levegrün S., Pöttgen C., Groneberg M., Stuschke M.** Gamma H2AX foci formation in peripheral blood lymphocytes of tumor patients after local radiotherapy to different sites of the body: dependence on the dose distribution, irradiated site and time from start of treatment. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2007, vol. 83, no. 10, pp. 639-652.
12. **Matsubara S., Sasaki M.S., Adachi T.** Dose response relationship of lymphocyte chromosome aberrations in locally irradiated persons. *J. Radiat. Res.*, 1974, vol. 15, no. 4, pp. 189-196.
13. **Sasaki M.S., Miyata H.** Biological dosimetry in atomic bomb survivors. *Nature*, 1968, vol. 220, no. 5173, pp. 1189-1193.
14. **Dolphin G.W.** Biological dosimetry with particular reference to chromosomal aberration analyses. A review of methods (IAEA-SM-119/4). *Handling of radiation accidents*. Proceedings of a Symposium on the Handling of Radiation Accidents. Vienna, IAEA, 1969, pp. 215-224.
15. **Barquinero J.F., Barrios L., Caballin M.R., Miró R., Ribas M., Egozcue J.** Biological dosimetry in simulated *in vitro* partial irradiations. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1997, vol. 71, no. 4, pp. 435-440.
16. **Khvostunov I.K., Kursova L.V., Shepel N.N., Ragulin Yu.A., Sevan'kaev A.V., Gulidov I.A., Glazyrin D.A., Ivanova I.N.** 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 ^{60}Co γ -rays. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya. – Radiation Biology. Radioecology*, 2012, vol. 52, no. 5, pp. 467-480. (In Russian).
17. **Khvostunov I.K., Shepel N.N., Sevan'kaev A.V., Nugis V.Yu., Korovchuk O.N., Kursova L.V., Ragulin Yu.A.** The improvement of methods of biological dosimetry by analysis of chromosomal aberrations induced in human blood lymphocytes *in vitro* and *in vivo*. *Mediko-biologicheskiye problemy zhiznedeyatel'nosti – Medical and Biological Problems of Life Activity*, 2013, vol. 9, no. 1, pp. 135-147. (In Russian).
 18. **Brenner D.J., Hlatky L.R., Hahnfeldt P.J., Huang Y., Sachs R.K.** The linear-quadratic model and most other common radiobiological models result in similar predictions of time-dose relationships. *Radiat. Res.*, 1998, vol. 150, no. 1, pp. 83-91.
 19. **Nilsson P., Thames H.D., Joiner M.C.** A generalized formulation of the "Incomplete-repair" model for cell survival and tissue response to fractionated low dose-rate irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1990, vol. 57, no. 1, pp. 127-142.
 20. **Edwards A.A., Lloyd D.C., Purrott R.J.** Radiation induced chromosome aberration and the Poisson distribution. *Radiat. Environ. Biophys.*, 1979, vol. 16, no. 2, pp. 89-100.
 21. **Thames H.D.** An "incomplete-repair" model for survival after fractionated and continuous irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1985, vol. 47, no. 3, pp. 319-339.
 22. **Bhat N.N., Rao B.S.** Dose rate effect on micronuclei induction in cytokinesis blocked human peripheral blood lymphocytes. *Radiat. Prot. Dosim.*, 2003, vol. 106, no. 1, pp. 45-52.
 23. **Kaprin A.D., Galkin V.N., Zhavoronkov L.P., Ivanov V.K., Ivanov S.A., Romanko Yu.S.** Synthesis of basic and applied research is the basis of obtaining high-quality findings and translating them into clinical practice. *Radiatsiya i risk – Radiation and Risk*, 2017, vol. 26, no. 2, pp. 26-40. (In Russian).