

Е.А. Дьоміна,
Ю.В. Думанський,
Л.І. Маковецька,
О.А. Главін,
В.М. Михайленко,
І.В. Прокопенко

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ, Україна

Ключові слова: рак шийки матки (РШМ), променева терапія, предиктори променевих ускладнень.

DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2024.02.085>

Пам'яті відомого українського радіобіолога
М.О. Дружини

ПРОМЕНЕВА ТЕРАПІЯ ХВОРИХ НА РАК ШИЙКИ МАТКИ: ПОГЛЯД РАДІОБІОЛОГІВ

Незважаючи на досягнуті, за останні роки, позитивні результати у лікуванні раку шийки матки (РШМ), загальне та безрецидивне виживання пацієнтів з цією патологією залишає бажати кращого. Пов'язано це із низкою проблем. Основними з них є пізня діагностика, що призводить до занедбаності пухлинного процесу, недостатня ефективність консервативних методів лікування, яка залежить від відносно низької чутливості до лікарських препаратів, що застовуються, і малої специфічності використовуваної променевої терапії (ПТ). На основі аналізу даних літератури та власних досліджень окреслено шлях визначення серед основних радіобіологічних показників, що враховують механізми та етапи формування променевих уражень, предикторів виникнення ускладнень внаслідок ПТ у хворих на РШМ. Це дозволить виокремити групу підвищеного ризику розвитку негативних ефектів ПТ, розробити ефективні засоби патогенетичної терапії пошкоджень тканин із оточення пухлини і, тим самим, знизити частоту, характер і ступінь виразності віддалених побічних ускладнень ПТ у цієї категорії хворих, що сприятиме покращенню якості життя пацієнток.

Рак шийки матки (РШМ) залишається одним із найпоширеніших злоякісних захворювань серед жіночого населення України. Щороку в країні виявляється близько 4 тис. нових випадків цієї патології [1]. Значного прогресу у підвищенні ефективності лікування у цій категорії хворих досягти поки що не вдається [2].

Одним із переважних етіологічних факторів РШМ є хронічне запалення внаслідок травми шийки матки, бактерій і вірусів, особливо вірусу папіломи людини. Багаточисельні дані літератури доводять тісний зв'язок між хронічним запаленням, окисним стресом (ОС) і канцерогенезом [3, 4]. Хронічне запалення призводить до активації системи моноцитів/макрофагів та підвищення рівнів активних форм кисню (АФК), що розглядається як потенційний промотор канцерогенезу [5]. Участь ОС у патогенезі РШМ підтверджується підвищеним рівнем пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), продукту окисних модифікацій ДНК — 8-гідрокси-2'-дезоксигуанозину (8-ОНдГ) і змінами системи антиоксидантного захисту [6]. Проте, даних літератури, що обґрунтовують важливу участь ОС у прогнозі даного захворювання при використанні променевої терапії (ПТ), яка є основним методом лікування цих хворих, недостатньо.

На сьогодні однією з провідних методик лікування РШМ, особливо місцевопоширених форм

захворювання, є дистанційна ПТ та брахітерапія [7–9]. Дистанційне опромінення впливає на тазові лімфатичні вузли, параметрії і первинну пухлину. Однак, підведення максимально адекватної дози до первинного вогнища за рахунок дистанційної ПТ обмежене толерантністю розташованих у малому тазу органів високого ризику (тонка кишка, сечовий міхур, ректо-сігмоїдний відділ товстої кишки). Внаслідок цього можуть виникати побічні променеві ускладнення лікування (цистити, ентероколіти, ректити). Тому основним методом підведення високої сумарної дози, необхідної для ефективного контролю над пухлиною, є брахітерапія [7, 9, 10].

Раніше при лікуванні РШМ використовували переважно низькопотужну брахітерапію із застосуванням радіоіотопів ¹³⁷Cs або ⁶⁰Co як джерел іонізуючого випромінювання (ІВ). Але така брахітерапія вимагає тривалої іммобілізації пацієнтів, що пов'язано з невисокою (у середньому 0,4 Гр/год) потужністю радіоактивного джерела. Зменшити тривалість сеансу опромінення і госпіталізації стало можливим завдяки проведенню брахітерапії із застосуванням джерела високої потужності (найчастіше ¹⁹²Ir, потужність 12 Гр/год). Високотужна брахітерапія забезпечує зниження променевого впливу як на пацієнтів, так і на медичний персонал [9–12]. При цьому відмінностей у клінічних результатах і токсичності між низько- і високо-

потужною брахітерапією не відзначено [13]. На даний час близько 85% радіотерапевтичних клінік США проводять саме високопотужну брахітерапію при цій патології. Додаткове застосування хіміотерапії, яка виконує функцію радіосенсибілізатора, дозволяє підвищувати ефективність ПТ та збільшити загальну виживаність пацієнтів у середньому на 5% [14]. Поєднання дистанційного опромінення з брахітерапією дає змогу значно збільшити дозу на пухлину та зменшити променеве навантаження на критичні тканини із її оточення. Отже використання таких схем лікування хворих на РШМ, перш за все місцевопоширених форм, покращує загальну виживаність [15]. Незважаючи на вдосконалення технічних засобів, використання нових джерел опромінення та сучасних способів дозиметрії, внаслідок великого променевого навантаження у відносно невеликому обсязі тканин тазу, а також сприйнятливості зазначених органів при безпосередньому їх опроміненні, ПТ в силу своєї малої специфічності виявляє шкідливу дію не тільки на пухлину, але і на здорові тканини. Це у ряді випадків призводить до розвитку променевих реакцій та ускладнень (у т.ч. вторинних пухлин радіогенної етіології), лікування яких тривалий, часом малоефективний, процес [2, 16]. Таким чином, не дивлячись на сучасну конформну стратегію ПТ, опромінення зазнає не тільки пухлина, а і немалігнізовані клітини із її оточення, які попадають в зону опромінення. Це обумовлює розвиток променевих ускладнень, які можуть виникати як в ранні, так і пізні терміни після лікування [10, 17, 18]. Пізні ускладнення характеризуються тривалим, залежним від дози терапевтичного опромінення, латентним періодом їх розвитку [10].

Відомо, що клітинні системи репарації ДНК у значній мірі забезпечують резистентність пухлин до опромінення і тим самим сприяють зниженню ефективності ПТ. Також показано, що відновлення пошкоджень ДНК у пухлинних клітинах відбувається більш інтенсивно, ніж у клітинах здорової тканини через підвищення експресії ферментів репарації [19, 20]. Ці відмінності у радіочутливості пухлини і нормальних тканин з оточення пухлини також сприяють виникненню променевих ускладнень внаслідок проведеного курсу терапевтичного опромінення.

Додавання хіміотерапевтичного компонента в радикальну програму лікування хворих на місцевопоширені форми РШМ посилює негативний вплив на нормальні клітини і тканини із оточення пухлини чи її ложа. Також слід приймати до уваги те, що частина немалігнізованих клітин первинних онкологічних хворих вважається лише умовно нормальними, оскільки до початку ПТ в них уже рееструються зміни функціонального стану та генетичні аномалії [21–23]. Саме останні корелюють зі ступенем прояву пізніх ефектів опромінення.

Таким чином, одним із найважливіх критеріїв оцінки ефективності та адекватності ПТ хворих на РШМ є наявність та визначення ступеня тяжкості променевих реакцій зі сторони органів малого тазу, викликаних терапевтичним опроміненням, що погіршують якість життя пролікованих пацієнтів. Тому актуальним напрямком удосконалення ПТ хворих на РШМ є розробка та застосування її радіобіологічного супроводу. Аналіз даних літератури за цією проблемою та наш власний досвід у галузі клінічної радіобіології доводять, що найбільш адекватним об'єктом для досліджень у цьому напрямку має бути периферична кров хворих. Це стосується перш за все Т-лімфоцитів, які визнані найбільш радіочутливими клітинами організму людини і є інтегральним показником її стану. Співробітники ІЕПОР ім. Р.Е. Кавецького НАН України протягом багатьох років займаються вивченням променевих уражень з використанням різних тестів на біохімічному, біофізичному, молекулярному, хромосомному та клітинному рівнях соматичних клітин хворих з різними локалізаціями злоякісних новоутворень. Одним із результатів проведених фундаментальних досліджень є розробка та обґрунтування схеми послідовних етапів формування променевих ефектів (рис. 1) [24]. На її основі нами було визначено предиктори виникнення променевих ускладнень у хворих раком ендометрію [25]. До основних із них віднесено загальну частоту аберацій хромосом і рівень двониткових розривів ДНК у лімфоцитах периферичної крові (ЛПК) та вміст маломолекулярного діальдегіду у плазмі крові. Це надає змогу розробити радіобіологічний супровід ПТ онкогінекологічних хворих, у т.ч. хворих на РШМ, для обґрунтованих профілактичних заходів розвитку променевих ускладнень та дозволить зменшити кількість пацієнтів з ускладненнями, які виникають у суміжних з пухлиною тканинах.

Відповідно до вищезазначеної схеми до основних радіобіологічних показників, що враховують механізми та етапи формування променевих уражень відносять наступні.

Визначення інтенсивності генерування супероксидного аніон-радикалу ($O_2^{\cdot-}$) у ЛПК, що є початковим ініціатором порушень за дії стресових чинників, зокрема такого потужного як іонізуюча радіація. Відомо, що ІВ здатне проявляти пошкоджуючу дію на макромолекули прямо і опосередковано продуктами радіолізу води. При цьому показано, що дві треті радіаційно-індукованих пошкоджень ДНК відбувається саме опосередковано, а наслідки при цьому більш значущі [26]. Внаслідок радіолізу води за дії ІВ відбувається утворення АФК. До первинних радикалів відноситься $O_2^{\cdot-}$, який трансформується у H_2O_2 , що при дисфункції антиоксидантної системи внаслідок каскаду перетворень призводить до появи дуже активного

окисника — ОН-радикала. В свою чергу, він атакує біомолекули різної природи — білки, ліпіди, вуглеводи, нуклеїнові кислоти, утворюючи їх радикали і, тим самим, запускає ланцюг вільнорадикального окиснення, що призводить до формування ОС [27]. Також за участі супероксиду в реакції з NO утворюється такий активний окисний радикал, як пероксинітрит-аніон (ONOO^-) [28]. Таким чином, генерація $\text{O}_2^{\bullet-}$, що відбувається у різних хімічних реакціях, головним чином внаслідок утворення АТФ у мітохондріях за рахунок одноелектронного відновлення молекулярного кисню, є пусковим моментом поширення і перетворення радикалів і інших АФК. Тому окисні зміни внаслідок дії радіації через таке безперервне утворення АФК та активних форм азоту (АФА) тривають не лише після безпосереднього її впливу, але й у віддалений період, підвищуючи тим самим канцерогенний ризик [29]. Отже, АФК та АФА, що утворюються в клітині під дією опромінення, пов'язані не тільки з лікуванням, а й з індукцією [30] та розвитком раку різного гістогенезу [31].

Одним із методів визначення інтенсивності генерування $\text{O}_2^{\bullet-}$ лімфоцитами є хемілюмінісцентний (ХЛ) метод. Він базується на використанні індикатора люцигеніну, який при взаємодії з $\text{O}_2^{\bullet-}$ утворює нестабільну сполуку — діоксиетан, що розпадається на дві молекули метилакридину з випромінюванням квантів світла, що фіксує прилад [32]. Рівень $\text{O}_2^{\bullet-}$ в біологічній системі є інтегральним показником, як мінімум, трьох чинників: 1) швидкості генерації супероксиду в мітохондріях лімфоцитів; 2) інтенсифікації вільнорадикальних процесів внаслідок радіолізу води та інших молекул; 3) резерву і використання антиоксидантного потенціалу лімфоцитів. Нами було показано, що дослідження швидкості генерації $\text{O}_2^{\bullet-}$ ЛПК донорів до опромінення (вихідні дані) виявляє індивідуальну схильність до розвитку ОС. За цими даними можна робити попередній прогноз щодо реакції ЛПК на опромінення [33].

Оцінка трансмембранного потенціалу мітохондрій (ТМПМ) у ЛПК. Зміни ТМПМ можуть слугувати маркером негативного впливу ПТ на нормальні клітини з оточення пухлини. При опроміненні у нормальних клітинах спостерігається значне падіння ТМПМ, порушення їх функціонування та загибель шляхом апоптозу [34, 35]. Вважається актуальним подальше більш детальне визначення впливу мітохондріального метаболізму на ефективність ПТ онкологічних хворих [36, 37].

Для визначення ТМПМ використовується флуоресцентний барвник 5,5,6,6'-тетрахлор-1,1',3,3' тетраетилбензімі-дазоїлкарбоціанін йо-

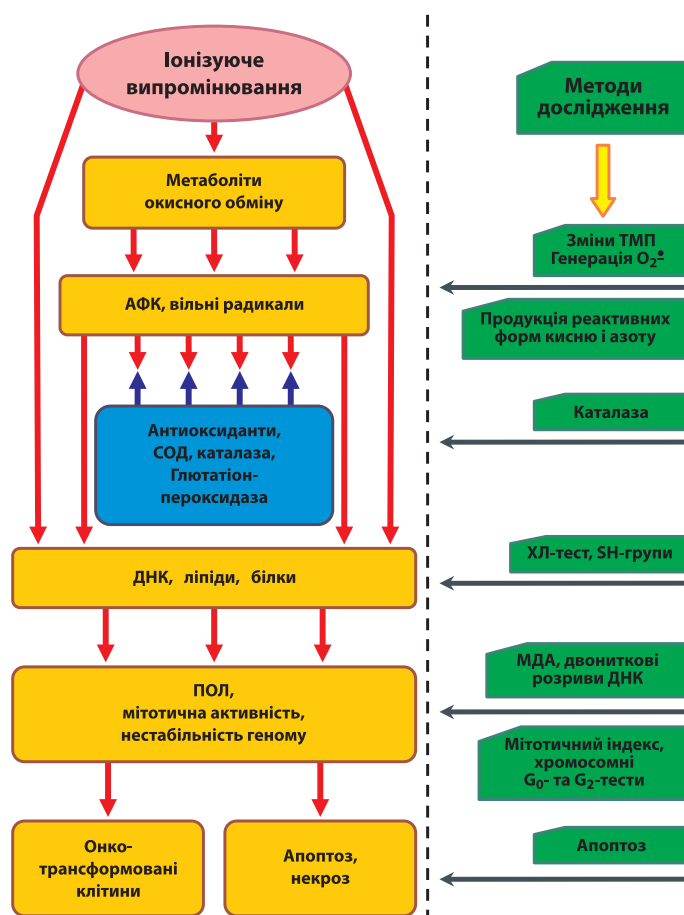


Рис. 1. Формування радіаційно-індукованих змін немалігнізованих клітин онкологічних хворих шляхом розвитку окисного стресу та генетичної нестабільності [24]

диду (JC-1). Це дає змогу оцінити ТМПМ як в ізольованих мітохондріях, так і в тканинах. JC-1 є ліпофільним катіонним барвником з зеленою флуоресценцією (~530 нм). У здорових клітинах з нормальним ТМПМ барвник потрапляє і накопичується в негативно заряджених мітохондріях і утворює J-агрегати, які мають червону флуоресценцію (~590 нм). В атипичних або апоптичних клітинах JC-1 проникає в мітохондрії меншою мірою, оскільки внутрішня частина мітохондрій є менш негативно зарядженою через підвищену проникність мембрани та втрату електрохімічного потенціалу. За цієї умови JC-1 не досягає достатньої концентрації, щоб ініціювати утворення J-агрегатів. Співвідношення червоної (J-агрегати) до зеленої (JC-1) флуоресценції можна розглядати як пряму оцінку стану поляризації мембран мітохондрій [38]. Накопичення JC-1 і J-агрегатів можна виявляти за допомогою проточної цитометрії, флуоресцентної мікроскопії, конфокальної мікроскопії та зчитувачів флуоресценції для планшетів [39].

Визначення загального рівня утворення активних форм кисню та азоту (АФКА) ЛПК. Хворі на рак,

яким призначають променевою або хіміопроменевою терапією наражаються на ризик виникнення низки побічних ефектів через інтенсивну генерацію АФКА внаслідок дії ІВ та деяких хіміотерапевтичних препаратів. За впливу ІВ генерація АФКА відбувається як за рахунок, що зазначалось вище, миттєвого утворення продуктів радіолізу води, так і внаслідок змін функціонального стану клітин [40–42]. Значну роль у цих процесах відіграють мітохондрії, які одночасно є й основною мішенню прямої дії ІВ, а також основним джерелом утворення радіаційно-індукованих АФКА, надмірна продукція яких обумовлює мітохондріально-залежний шлях апоптозу опромінених клітин [43, 44].

Для визначення внутрішньоклітинних АФКА використовують різноманітні флуоресцентні зонди. Поширеним є метод з використанням флуоресцентного барвника 2',7'-дихлоро-флуоресцеїн-діацетату (DCFH DA). Барвник дифундує через плазматичні мембрани та гідролізується ферментами до нефлуоресцентного 2',7'-дихлордигідрофлуоресцеїну та окислюється до флуоресцентного флуоресцеїну (збудження при 498 нм і емісії при 522 нм). В окисненні 2',7'-дихлордигідрофлуоресцеїну можуть приймати участь різні АФКА. Тому цей тест є загальним маркером розвитку ОС у клітинах [45, 46].

Оцінка ПОЛ за вмістом малонового діальдегіду (МДА) у плазмі крові. Процес ПОЛ, який відбувається в результаті взаємодії АФК з ліпідами в мембранах з утворенням МДА, призводить до розладу структурно-функціональної організації біомембран, змін їх в'язкості, поверхневого заряду, хімічного складу, утворення пор, порушення зв'язку ДНК із біомембраною; ушкодження енергетичного апарату клітини; порушення спряженості окисного фосфорилування з диханням; дестабілізації системи клітинної регуляції метаболізму; змін активності мембранозв'язаних ферментів, білок-ліпідних взаємодій; ушкодження системи детоксикації, розвитку токсичного ефекту; збільшення проникності та інактивації мембран, що може бути однією з можливих причин прогресування РШМ і діє як стимулятор росту пухлини та індуктор канцерогенезу [47–50]. МДА вважається біомаркером ОС, який часто використовується у діагностиці завдяки своїй молекулярній стабільності. Це сполука з високою біологічною активністю, яка має цитотоксичні, мутагенні та канцерогенні властивості [51]. Крім того, цей трикарбонний альдегід проявляє свою дію не тільки в місці свого походження, але здатний мігрувати через клітинні мембрани, завдаючи шкоди як всередині, так і ззовні клітин. На відміну від вільних радикалів і як продукт їх розпаду, МДА характеризується довшим періодом напіврозпаду. Він здатний модифікувати амінокислотні залишки, створюючи стабільні аддукти, які руйнують білки.

Він також може утворювати ковалентні зв'язки з ДНК і мембранними ліпідами [32]. МДА розглядають як сигнал про наявність процесів, пов'язаних з виникненням окислативних стресових ситуацій. Визначення концентрації цього альдегіду є важливою складовою у проведенні діагностики захворювань різної етіології. Багато досліджень підтвердили, що концентрація МДА у сироватці крові підвищена у пацієнтів зі злоякісними новоутвореннями, включаючи, наприклад, гепатоцелюлярний рак, рак нирок, сечового міхура, шийки матки та простати [52–54].

При прогресуванні захворювання збільшується утворення кисневих радикалів, що, у свою чергу, посилює ПОЛ. Цей процес призводить до пошкодження або дегенерації клітинної мембрани та ДНК [55]. Дослідниками було відмічено підвищення процесів ПОЛ у крові хворих на РШМ, порівняно зі здоровими особами, які посилюються при прогресуванні росту пухлини та її метастазуванні [6, 56–58]. В роботі [59] висловлено припущення, що збільшення ПОЛ, викликаючи дегенерацію тканин, через кровообіг буде поширюватись в інші тканини і органи, тим самим викликаючи у них окисні пошкодження. Автори зазначили, що “прооксидантно-антиоксидантний профіль крові заслуговує на дослідження як маркерів відповіді на лікування, виживання та розвиток рецидивів захворювання у більших проспективних дослідженнях, які можуть “пролити світло” на їх можливе використання як предикторів хіміорадіочутливості пухлин шийки матки”. Останні дані [60] підкреслюють, що ПОЛ можна використовувати в якості маркера відповіді на хіміотерапію у пацієнтів з раком молочної залози.

В основі методу з визначення вмісту МДА лежить здатність утворення з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК) стійкого забарвленого триметинового комплексу з максимумом поглинання в червоній області видимого спектру при довжині хвилі 532 нм [61].

Визначення вмісту сульфгідрильних груп (СГ) у плазмі крові. Плазма крові відіграє центральну роль у транспорті і розподіленні антиоксидантів по всьому організму. Загальна сума антиоксидантних процесів складає інтегровану антиоксидантну систему, а співвідношення анти- і прооксидантних систем визначає “антиоксидантний статус” організму і слугує одним із показників гомеостазу. Сульфгідрильні (СГ) групи білків і низькомолекулярних сполук, таких як відновлений глутатіон і цистеїн відіграють важливу роль у численних біологічних процесах, зокрема в процесах апоптозу, проліферації, метаболізму та регуляції транскрипції. Інтерес до окисно-відновного стану СГ-груп в білках зріс, оскільки було встановлено, що обмін тіол-дисульфідів приймає участь у згортанні білка (фолдингу) та впливає на його стабільність [62, 63].

СГ у складі низько- та високомолекулярних тіолів володіють високою і різноманітною реакційною здатністю, взаємодіючи зокрема із АФКА.

Останнім часом роль СГ в окисно-відновних модифікаціях стала головним акцентом багатьох досліджень, зокрема використання різних стратегій окисно-відновної протеоміки дозволило провести глобальне вивчення окиснення білків у межах всього протеому. Хоча кореляція між окисно-відновним станом СГ білків та хворобами людини є загально відомою, однак її основні механізми все ще залишаються нез'ясованими. Тому окисно-відновна модифікація залишків цистеїну та опосередкована через неї регуляція функціонування білків все ще потребує додаткових досліджень, що може бути ключовим при лікуванні багатьох захворювань, включаючи рак [64]. Науковий інтерес щодо дослідження СГ (–SH) і дисульфідів (–S–S–) в онкології, перш за все, пов'язаний з їх значенням у структурно-функціональній організації білків, низькомолекулярних тіолів, а також у регуляції окисно-відновної рівноваги і метаболічних процесів [65, 66]. Тому, оцінка вмісту СГ білків і пептидів в плазмі крові є суттєвим моментом для вдосконалення діагностики при онкологічних захворюваннях.

Вміст СГ груп у високомолекулярній фракції білків і низькомолекулярній фракції пептидів плазми крові (SH-тест) визначають спектрофотометричним методом за реакцією із 5,5'-дітіобіс (2-нітробензойною кислотою) [67].

Визначення прооксидантно-антиоксидантного співвідношення (ПАС) у гемолізаті. ПАС є інтегральним показником, що відображає загальний рівень інтенсивності вільнорадикальних процесів окиснення у тканинах організму та ефективність його гальмування ферментативними та неферментативними антиоксидантними системами. Порушення балансу про- та антиоксидантів внаслідок утворення вільних радикалів є одним із провідних механізмів формування структурно-функціональних ушкоджень і розвитку ОС, який супроводжується накопиченням в тканинах і біологічних рідинах АФК і вторинних продуктів окиснювальної модифікації біомолекул. Цей дисбаланс відіграє важливу роль у патогенезі та прогресуванні раку, зокрема РШМ [68].

ПАС у гемолізаті визначають методом індукованої пероксидом водню ХЛ. Цей мікрометод, розроблений у відділі радіобіології ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України відомими українськими радіобіологами Серкізом Я.І. та Дружиною М.О., дає можливість реєструвати і проводити аналіз параметрів кінетики світіння в динаміці паталогічного процесу, оскільки не потребує значних кількостей клінічного матеріалу для дослідження і дороговартісних реактивів [69]. Основним інтегральним параметром є світлосума світіння, яка

відображає прооксидантно-антиоксидантне співвідношення хімічних продуктів у досліджуваній пробі. Слід зазначити, що перевагою методів ХЛ є те, що вони не пов'язані зі зміною ходу процесів в розчинах, клітинах чи, навіть цілих тканинах, де реєструється світіння, а також досить чутливі при виявленні саме високореакційних радикалів.

Оцінка ступеня пошкодження ДНК. Пошкодження геному соматичних клітин людини за дії ІВ під час ПТ останніми роками є актуальною проблемою радіобіології та радіаційної генетики [70]. Відомо, що дія ІВ викликає три основних типи ушкодження ДНК клітин: одно- та двониткові розриви (ДР) ДНК і ушкодження азотистих основ [71, 72]. Значна частина енергії клітини витрачається на репарацію, тобто відновлення та підтримку сталості у послідовності основ ДНК та її цілісності. Однотиткові розриви швидко відновлюються, а двониткові — репарують повільно, з помилками або зовсім не репарують, що призводить у кінцевому результаті до загибелі клітин або до утворення аберацій хромосомного типу. Будь-які пошкодження чи модифікації ДНК змінюють генетичну інформацію, унеможливають її зчитування (транскрипцію) або передачу дочірнім клітинам (реплікацію). Переважна більшість випадків захворювання на рак пов'язані із порушеннями репарації ДНК. Нерепаровані або помилково репаровані пошкодження ДНК — одна із головних причин формування нестабільності геному. Вони можуть реалізуватись на рівні кількісних і структурних перебудов хромосомного апарату клітин — аберацій хромосом або мікроядер внаслідок активації різних механізмів, у т.ч. генетично детермінованих відхилень у системі відповіді на пошкодження ДНК. У низці досліджень показано, що генетична нестабільність, властива ЛПК хворих онкологічного профілю, проявляється у появі одно- та двониткових розривів ДНК [73–75]. ДР ДНК вважають одними з найбільш небезпечних типів пошкоджень. Навіть одна помилка у репарації цих пошкоджень може призвести до загибелі клітини і тому дослідники багато уваги приділяють репаративним процесам ДР ДНК при канцерогенезі, зокрема РШМ [76–79]. ДР ДНК призводять до утворення хромосомних аберацій, які в свою чергу можуть запускати процеси апоптозу чи неопластичної трансформації клітин.

На сьогодні одним із найбільш перспективних методів оцінки пошкоджень ДНК є метод електрофорезу окремих клітин (Comet assay) [80, 81]. Цей метод дозволяє реєструвати пошкодження структури ДНК у вигляді одно- та двониткових розривів молекул, апуринові та апіримідинові сайти, а також зшивки ДНК-ДНК та ДНК-білок в кожній окремо взятій клітині [82] та дозволяє провести оцінку ефективності репарації в окремих клітинах при навантаженні мутагенними факто-

рами *in vitro* [83]. Comet assay використовується в медичній практиці [82, 84], зокрема при діагностиці раку [85], в клінічних дослідженнях з метою пренатальної діагностики, в дослідженнях генотоксичності хімічних речовин, активності систем репарації ДНК. Для оцінки рівня ДР ДНК застосовують метод електрофорезу окремих клітин у нейтральних умовах [86, 87]. Ізольовані клітини заплавляють в агарозу на поверхні предметного скла, потім лізують з метою видалення мембран та зв'язаних з ДНК білків (при збереженні зв'язку ДНК з ядерним матриксом), після чого здійснюють електрофорез в нейтральних умовах. Під дією електричного струму пошкоджена ДНК виходить із клітини та формує зону, що нагадує хвіст комети. За параметрами “комети” отримують кількісну оцінку ступеня пошкодження ДНК [88]

Рівень спонтанного та індукованого апоптозу в ЛПК хворих на РШМ. Порушення апоптозу, як механізму елімінації клітин з пошкодженнями структури ДНК, призводить до розвитку генетичної нестабільності за рахунок накопичення хромосомних аберацій і утворення мікроядер, зокрема в лімфоцитах онкологічних хворих [89, 90]. Тому визначення рівня спонтанного апоптозу лімфоцитів, а також індукованого опроміненням в умовах *in vitro* дозволяє виявляти осіб із порушеним механізмом елімінації клітин з пошкодженою ДНК, що є важливим фактором виникнення злоякісних новоутворень.

Оцінюючи за допомогою проточної цитометрії апоптоз в опроміненіх *in vitro* Т-лімфоцитах онкологічних хворих, дослідники показали, що рівень радіаційно-індукованої загибелі клітин може використовуватися в якості предиктивного маркера розвитку постпроменевих ускладнень [91–93]. Оцінка радіаційно-індукованого апоптозу CD8⁺ Т-лімфоцитів в умовах *in vitro* може бути використана для прогнозу загальної виживаності онкологічних хворих, які отримували променеву терапію [93] та підвищення ризику пошкодження нормальних тканин внаслідок терапевтичного опромінення [94–96].

Визначення кількості апоптотичних клітин проводять на основі реєстрації змін в клітинних мембранах, пов'язаних із ранніми стадіями апоптозу, зокрема переміщення фосфатидилсерину (ФС) із внутрішньої на зовнішню частину ліпідного бішару клітинної мембрани [97]. Відсоток клітин на стадіях раннього та пізнього апоптозу в зразках ЛПК визначають методом проточної цитометрії за допомогою набору для діагностики апоптозу — Annexin V FITC Apoptosis Detection Kit згідно інструкції виробника (Dojndo, Японія). Флуоресценцію клітин оцінюють на проточному цитофлуориметрі. Для кожної клітини одночасно реєструють інтенсивність прямого розсіювання світла (FSC), яка пропорційна діаметру клітин та

служить для оцінки розміру і показника заломлення клітин; інтенсивність бокового розсіювання світла (SSC), що надає інформацію про внутрішню комплексність клітин (гранули, ядра); інтенсивність флуоресценції (FL1, 525 нм) для визначення Annexin V FITC-зв'язування та флуоресценції (FL3, 575 нм) для кількісного визначення включення PI. Точкові графіки із чотириквadrантним ґейтуванням Log FL1 (аннексин-FITC) проти Log FL3 (PI) використовують для розрізнення живих, апоптичних і некротичних клітин на основі одночасного визначення транслокації ФС і змін цілісності плазматичної мембрани, які супроводжують апоптоз [98].

Окрім цього слід зазначити, що невід'ємною складовою прогностичних маркерів лікування онкологічних хворих є зміни гематологічних показників. Так, зниження кількості Т-лімфоцитів, зокрема, цитотоксичних Т-лімфоцитів у периферичній крові хворих на РШМ після хіміотерапії є прогностичним фактором сприятливого результату лікування [99], а за ПТ таких хворих низький відсоток лімфоцитів та високе співвідношення нейтрофілів до лімфоцитів пов'язані із більш пізньою стадією захворювання (більший розмір пухлини та метастазування у лімфатичні вузли) та низькими показниками загальної виживаності хворих або їх виживаністю без прогресування захворювання [100, 101].

ЗАКЛЮЧЕННЯ

У результаті проведеного аналізу отримана інформація, що визначає механізми розвитку променевих ускладнень після променевої терапії у хворих на РШМ, визначено їх значущість і послідовність розвитку.

Визначення серед зазначених радіобіологічних показників предикторів виникнення променевих ускладнень дозволить виокремити групу підвищеного ризику розвитку негативних ефектів внаслідок ПТ, розробити ефективні засоби патогенетичної терапії пошкоджень тканин із оточення пухлини. Одержана таким чином інформація важлива для обговорення успіхів лікування хворих з місцевопоширеними формами злоякісних новоутворень.

Впровадження радіобіологічного супроводу комбінованого лікування хворих на РШМ з використанням предикторів виникнення променевих ускладнень сприятиме зниженню/мінімізації віддалених побічних ефектів ПТ та покращенню якості життя пацієнток.

Робота виконана в рамках НДР “Дослідження впливу поєднаної променевої і хіміотерапії на генетичні та метаболічні зміни у лімфоцитах периферичної крові хворих на рак шийки матки” (№ держреєстрації 0121U113837).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Cancer in Ukraine, 2022–2023. Incidence, mortality, prevalence and other relevant statistics. Bulletin of the national cancer registry of Ukraine. Kyiv, 2024. 25. http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_25/index.htm#hcr. Accessed June 07, 2024.
2. Dumanskyi Yu.V., Domina E.A., Makovetska L.I. Radiation therapy in the treatment of cervical cancer in Ukraine. Current Issues of Radiobiology — 2023 (By the materials of 8th Congress of Ukrainian Radiobiological Society, Zhytomyr, August 21–25, 2023). Ukrainian Radiobiological Society, Zhytomyr, 2023: 21. https://icbge.org.ua/re/images/c/c1/Book_URS_2023.pdf. (in Ukrainian).
3. Cruz-Gregorio A, Manzo-Merino J, Lizano M. Cellular redox, cancer and human papillomavirus. *Virus Res* 2018; **246**: 35–45. doi: 10.1016/j.virusres.2018.01.003.
4. Georgescu SR, Mitran CI, Mitran MI, et al. New Insights in the Pathogenesis of HPV Infection and the Associated Carcinogenic Processes: The Role of Chronic Inflammation and Oxidative Stress. *J Immunol Res*. 2018; **2018**: 5315816. doi: 10.1155/2018/5315816.
5. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic Biol Med* 2010; **49** (11): 1603–16. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006.
6. Zahra K, Patel S, Dey T, et al. A study of oxidative stress in cervical cancer- an institutional study. *Biochem Biophys Rep*. 2020; **25**: 100881. doi: 10.1016/j.bbrep.2020.100881.
7. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®). Cervical Cancer. Version 3.2024 — May 6, 2024. <https://www.nccn.org/>. 07.06.2024 p.
8. Sarabhai T, Schaarschmidt BM, Wetter A, et al. Comparison of 18F-FDG PET/MRI and MRI for pre-therapeutic tumor staging of patients with primary cancer of the uterine cervix. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2018; **45** (1): 67–76. doi: 10.1007/s00259-017-3809-y.
9. Ivankova VS, Domina EA, Khrulenko TV, et al. Effects of brachytherapy on cytogenetic parameters and oxidative status in peripheral blood lymphocytes of gynecologic cancer patients. *Exp Oncol* 2021; **43** (3): 242–6. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-43-no-3.16514.
10. Domina EA, Philchenkov A, Dubrovska A. Individual Response to Ionizing Radiation and Personalized Radiotherapy. *Crit Rev Oncog*. 2018; **23** (1–2): 69–92. doi: 10.1615/Crit RevOncog.2018026308.
11. Pfandler KS, Tewari KS. Changing paradigms in the systemic treatment of advanced cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol* 2016; **214** (1): 22–30. doi: 10.1016/j.ajog.2015.07.022.
12. Ivankova VS, Domina EA, Khrulenko TV, et al. Iridium-192 radiotherapy benefits in the management of gynecological tumors. *Probl Radiac Med Radiobiol* 2020; **25**: 569–78. doi: 10.33145/2304-8336-2020-25-569-578.
13. Al Feghali KA, Elshaiikh MA. Why brachytherapy boost is the treatment of choice for most women with locally advanced cervical carcinoma? *Brachytherapy*. 2016; **15** (2): 191–9. doi: 10.1016/j.brachy.2015.12.003
14. Martinelli F, Signorelli M, Bogani G, et al. Is aortic lymphadenectomy indicated in locally advanced cervical cancer after neoadjuvant chemotherapy followed by radical surgery? A retrospective study on 261 women. *Eur J Surg Oncol* 2016; **42** (10): 1512–8. doi: 10.1016/j.ejso.2016.06.004.
15. Ivankova V, Domina E, Khrulenko T, Makovetska L, et al. Prediction of radiation complications by determining the blood oxidation processes in cervical cancer patients under chemoradiotherapy. *Ukrainian Journal of Radiology and Oncology* 2024; **32** (1), 56–69. <https://doi.org/10.46879/ukroj.1.2024.56-69>.
16. Domina EA, Dumansky YuV. Medical and radiobiological aspects of radiation complications in patients with oncogenecological profile. *Oncology* 2023; **25** (1): 9–15. <https://doi.org/10.15407/oncology.2023.01.009>. (in Ukrainian).
17. Wang JS, Wang HJ, Qian HL. Biological effects of radiation on cancer cells. *Mil Med Res* 2018; **5** (1): 20. doi: 10.1186/s40779-018-0167-4.
18. Suit H, Goldberg S, Niemierko A, et al. Secondary carcinogenesis in patients treated with radiation: a review of data on radiation-induced cancers in human, non-human primate, canine and rodent subjects. *Radiat Res* 2007; **167** (1): 12–42. doi: 10.1667/RR0527.1.
19. Ciszewski WM, Tavecchio M, Dastyh J, Curtin NJ. DNA-PK inhibition by NU7441 sensitizes breast cancer cells to ionizing radiation and doxorubicin. *Breast Cancer Res Treat* 2014; **143** (1): 47–55. doi: 10.1007/s10549-013-2785-6.
20. Chow JP, Man WY, Mao M, et al. PARP1 is overexpressed in nasopharyngeal carcinoma and its inhibition enhances radiotherapy. *Mol Cancer Ther* 2013; **12** (11): 2517–28. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-13-0010.
21. Domina EA, Stakhovskiy TV, Safronova OV, et al. Biochemical and cytogenetic indices of peripheral blood lymphocytes in patients with prostate cancer. *Dopov Nac akad nauk Ukr* 2018; (4): 102–9. DOI: doi.org/10.15407/dopovidi2018.04.102. (in Ukrainian).
22. Ke G, Liang L, Yang JM, et al. MiR-181a confers resistance of cervical cancer to radiation therapy through targeting the pro-apoptotic PRKCD gene. *Oncogene* 2013; **32** (25): 3019–27. doi: 10.1038/onc.2012.323.
23. Brzozowska K, Pinkawa M, Eble MJ, et al. *In vivo* versus *in vitro* individual radiosensitivity analysed in healthy donors and in prostate cancer patients with and without severe side effects after radiotherapy. *Int J Radiat Biol* 2012; **88** (5): 405–13. doi: 10.3109/09553002.2012.666002.
24. Druzhyna MO, Domina EA, Makovetska LI. Metabolites of oxidative stress as predictors of the radiation and carcinogenic risks. *Oncology* 2019; **21** (2): 170–5. (in Ukrainian).
25. Domina EA, Makovetska LI, Druzhyna MO. Relevant biochemical indices of blood radiosensitivity in gynecological cancer patients. *Probl Radiac Med Radiobiol* 2022; **26**: 216–33. doi: 10.33145/2304-8336-2022-27-216-233.
26. Kawamura K, Qi F, Kobayashi J. Potential relationship between the biological effects of low-dose irradiation and mitochondrial ROS production. *J Radiat Res* 2018; **59** (suppl_2): ii91–ii97. doi: 10.1093/jrr/rrx091.
27. Azzam EI, Jay-Gerin JP, Pain D. Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury. *Cancer Lett* 2012; **327** (1–2): 48–60. doi: 10.1016/j.canlet.2011.12.012.
28. Kamat JP. Peroxynitrite: a potent oxidizing and nitrating agent. *Indian J Exp Biol* 2006; **44** (6): 436–47. PMID: 16784114.
29. Yahyapour R, Motevaseli E, Rezaeyan A, et al. Reduction-oxidation (redox) system in radiation-induced normal tissue injury: molecular mechanisms and implications in radiation therapeutics. *Clin Transl Oncol* 2018; **20** (8): 975–88. doi: 10.1007/s12094-017-1828-6.
30. Kim W, Lee S, Seo D, et al. Cellular Stress Responses in Radiotherapy. *Cells* 2019; **8** (9): 1105. doi: 10.3390/cells8091105.
31. Al-Oubaidy SA, Mekkey AM. Free radicals have an important role in cancer initiation and development. *Med J Babylon* 2021; **18**: 1–5. DOI: 10.4103/MJBL.MJBL_74_20.
32. Druzhyna NA, Moiseev AIu. Application of chemiluminescent methods in biochemical investigations. *Ukr Biokhim Zh*. 2005; **77** (2): 58–65. PMID: 16335234. (in Ukrainian).
33. Druzhyna MO, Makovetska LI, Domina EA. The intensity of superoxide anion-radical generation by blood lymphocytes

- of donors as a predictor of their radiosensitivity. Ukrainian Journal of Radiology and Oncology: materials of scientific practice conf. Ukr. society rad. of Oncologists (UTRO) with the participation of international experts "Current issues of radiation oncology in Ukraine", September 16–17, 2020. Odessa 2020; (Pt. 2): 29–31. (in Ukrainian).
34. **Khan MS, Liu C, Meng F, et al.** X-rays Stimulate Granular Secretions and Activate Protein Kinase C Signaling in Human Platelets. *Curr Issues Mol Biol* 2023; **45** (7): 6024–39. doi: 10.3390/cimb45070380.
 35. **Liu X, Gong B, de Souza LB, et al.** Radiation inhibits salivary gland function by promoting STIM1 cleavage by caspase-3 and loss of SOCE through a TRPM2-dependent pathway. *Sci Signal* 2017; **10** (482): eaal4064. doi: 10.1126/scisignal.aal4064.
 36. **Wei Y, Xiao G, Xu H, Sun X, et al.** Radiation resistance of cancer cells caused by mitochondrial dysfunction depends on SIRT3-mediated mitophagy. *FEBS J* 2023; **290** (14): 3629–45. doi: 10.1111/febs.16769.
 37. **Taghizadeh-Hesary F, Houshyari M, Farhadi M.** Mitochondrial metabolism: a predictive biomarker of radiotherapy efficacy and toxicity. *J Cancer Res Clin Oncol* 2023; **149** (9): 6719–41. doi: 10.1007/s00432-023-04592-7.
 38. **Sivandzade F, Bhalerao A, Cucullo L.** Analysis of the Mitochondrial Membrane Potential Using the Cationic JC-1 Dye as a Sensitive Fluorescent Probe. *Bio Protoc* 2019; **9** (1): e3128. doi: 10.21769/BioProtoc.3128.
 39. **Perry SW, Norman JP, Barbieri J, et al.** Mitochondrial membrane potential probes and the proton gradient: a practical usage guide. *Biotechniques* 2011; **50** (2): 98–115. doi: 10.2144/000113610..
 40. **Fu X, Tang J, Wen P, Huang Z, Najafi M.** Redox interactions-induced cardiac toxicity in cancer therapy. *Arch Biochem Biophys* 2021; **708**: 108952. doi: 10.1016/j.abb.2021.108952.
 41. **Azzam EI, Jay-Gerin JP, Pain D.** Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury. *Cancer Lett* 2012; **327** (1–2): 48–60. doi: 10.1016/j.canlet.2011.12.012..
 42. **Lai X, Najafi M.** Redox Interactions in Chemo/Radiation Therapy-induced Lung Toxicity; Mechanisms and Therapy Perspectives. *Curr Drug Targets* 2022; **23** (13): 1261–76. doi: 10.2174/1389450123666220705123315.
 43. **Xu Q, Zhang H, Qin H, et al.** Norcantharidin Sensitizes Colorectal Cancer Cells to Radiotherapy via Reactive Oxygen Species-DRP1-Mediated Mitochondrial Damage. *Antioxidants (Basel)* 2024; **13** (3): 347. doi: 10.3390/antiox13030347.
 44. **McCann E, O'Sullivan J, Marcone S.** Targeting cancer-cell mitochondria and metabolism to improve radiotherapy response. *Transl Oncol* 2021; **14** (1): 100905. doi: 10.1016/j.tranon.2020.100905.
 45. **Tarpey MM, Wink DA, Grisham MB.** Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; **286** (3): R431–44. doi: 10.1152/ajpregu.00361.2003.
 46. **Engelbrecht I, Horn S, Giesy JP, Pieters R.** A method to determine reactive oxygen species production in intestinal and liver cell cultures using the 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate assay. *MethodsX* 2024; **12**: 102615. doi: 10.1016/j.mex.2024.102615.
 47. **Kaplan M, Ates I, Yüksel M, et al.** The Role of Oxidative Stress in the Etiopathogenesis of Gluten-sensitive Enteropathy Disease. *J Med Biochem* 2017; **36** (3): 243–50. doi: 10.1515/jomb-2017-0017.
 48. **Kolanjiappan K, Manoharan S, Kayalvizhi M.** Measurement of erythrocyte lipids, lipid peroxidation, antioxidants and osmotic fragility in cervical cancer patients. *Clin Chim Acta* 2002; **326** (1–2): 143–9. doi: 10.1016/s0009-8981-(02)00300-5.
 49. **Takahashi A, Matsumoto H, Nagayama K, et al.** Evidence for the involvement of double-strand breaks in heat-induced cell killing. *Cancer Res* 2004; **64** (24): 8839–45. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-1876.
 50. **Cristea IM, Degli Esposti M.** Membrane lipids and cell death: an overview. *Chem Phys Lipids* 2004; **129** (2): 133–60. doi: 10.1016/j.chemphyslip.2004.02.002.
 51. **Rašić I, Rašić A, Akšamija G, Radović S.** The relationship between serum level of malondialdehyde and progression of colorectal cancer. *Acta Clin Croat* 2018; **57** (3): 411–6. doi: 10.20471/acc.2018.57.03.02.
 52. **Jelic MD, Mandić AD, Marčić SM, Srdjenovic BU.** Oxidative stress and its role in cancer. *J Cancer Res Ther* 2021; **17** (1): 22–8. doi: 10.4103/jcrt.JCRT_862_16.
 53. **Lepara Z, Lepara O, Fajkić A, et al.** Serum malondialdehyde (MDA) level as a potential biomarker of cancer progression for patients with bladder cancer. *Rom J Intern Med* 2020; **58** (3): 146–52. doi: 10.2478/rjim-2020-0008.
 54. **Janion K, Strzelczyk JK, Walkiewicz KW, et al.** Evaluation of Malondialdehyde Level, Total Oxidant/Antioxidant Status and Oxidative Stress Index in Colorectal Cancer Patients. *Metabolites* 2022; **12** (11): 1118. doi: 10.3390/metabo12111118.
 55. **Barrera G.** Oxidative stress and lipid peroxidation products in cancer progression and therapy. *ISRN oncology* 2012; 137289. <https://doi.org/10.5402/2012/137289>.
 56. **Shah S, Kalal BS.** Oxidative stress in cervical cancer and its response to chemoradiation. *Turk J Obstet Gynecol* 2019; **16** (2): 124–8. doi: 10.4274/tjod.galenos.2019.19577.
 57. **Chernikova NV, Goroshinskaya I, Frantsiyants EM, et al.** Intensity of free-radical reactions in metastasizing cervical cancer. *Journal of Clinical Oncology. Meeting Abstract, 2021 ASCO Annual Meeting* 2021; **39** (15_suppl): e17508. DOI:10.1200/JCO.2021.39.15_suppl.e17508.
 58. **Jelić M, Mandić A, Kladar N, et al.** Lipid Peroxidation, Antioxidative Defense and Level of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in Cervical Cancer Patients. *J Med Biochem* 2018; **37** (3): 336–45. doi: 10.1515/jomb-2017-0053.
 59. **Sharma A, Rajappa M, Satyam A, Sharma M.** Oxidant/antioxidant dynamics in patients with advanced cervical cancer: correlation with treatment response. *Mol Cell Biochem* 2010; **341** (1–2): 65–72. doi: 10.1007/s11010-010-0437-2.
 60. **Alves FM, Jaques HDS, Orrutea JFG, et al.** Changes in systemic oxidative stress correlate to chemoresistance and poor prognosis features in women with breast cancer. *Revista de Senología y Patología Mamaria* 2024; **37** (3): 100598. ISSN 0214–1582. <https://doi.org/10.1016/j.senol.2024.100598>.
 61. **L'vovskaia EI, Volchegorskii IA, Shemiakov SE, Lifshits RI.** Spectrophotometric determination of lipid peroxidation end products. *Vopr Med Khim.* 1991; **37** (4): 92–3. (in Russian).
 62. **Kim PS, Baldwin RL.** Intermediates in the folding reactions of small proteins. *Annu Rev Biochem* 1990; **59**: 631–60. doi: 10.1146/annurev.bi.59.070190.003215.
 63. **Freedman RB.** The formation of protein disulphide bonds. *Curr Opin Struct Biol* 1995; **5** (1): 85–91. doi: 10.1016/0959-440x(95)80013-q.
 64. **Yuan K, Liu Y, Chen HN, et al.** Thiol-based redox proteomics in cancer research. *Proteomics* 2015; **15** (2–3): 287–99. doi: 10.1002/pmic.201400164.
 65. **Kulynskiy VY, Kolesnychenko LS.** Systema hlutatyona I. Syntez, transport, hlutatyontransferazy, hliutatyonperoksydazy. *Byomeditsynskaia khymia* 2009; **55** (3): 255–77.
 66. **Jones DP, Go YM, Anderson CL, et al.** Cysteine/cystine couple is a newly recognized node in the circuitry for bio-

- logic redox signaling and control. *FASEB J* 2004; **18** (11): 1246–8. doi: 10.1096/fj.03-0971fje.
67. **Hu ML.** Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. *Methods Enzymol* 1994; **233**: 380–5. doi: 10.1016/s0076-6879(94)33044-1.
 68. **Offor JO, Okunade KS, Iwalokun BA, et al.** Evaluation of oxidative markers in women with invasive cervical cancer in Lagos, Nigeria. *Ecancer* 2021; **15**: 1266; www.ecancer.org; doi: https://doi.org/10.3332/ecancer.2021.1266.
 69. **Serkyz YaY, Druzhyna NA, Khryenko AP, et al.** Khemilyumnystsentsyia krovny pry radyatsyonnom vozdeistvyy. Kyev, Naukova dumka, 1989. 176p.
 70. **Lomax ME, Folkes LK, O'Neill P.** Biological consequences of radiation-induced DNA damage: relevance to radiotherapy. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2013; **25** (10): 578–85. doi: 10.1016/j.clon.2013.06.007.
 71. **Jeggo PA, Löbrich M.** DNA double-strand breaks: their cellular and clinical impact? *Oncogene* 2007; **26** (56): 7717–9. doi: 10.1038/sj.onc.1210868.
 72. **Willers H, Dahm-Daphi J, Powell SN.** Repair of radiation damage to DNA. *Br J Cancer* 2004; **90** (7): 1297–301. doi: 10.1038/sj.bjc.6601729.
 73. **Najafzadeh M, Baumgartner A, Gopalan R, et al.** *In vitro* sensitivities to UVA of lymphocytes from patients with colon and melanoma cancers and precancerous states in the micronucleus and the Comet assays. *Mutagenesis* 2012; **27** (3): 351–7. doi: 10.1093/mutage/ger087.
 74. **Santos RA, Teixeira AC, Mayorano MB, et al.** Basal levels of DNA damage detected by micronuclei and comet assays in untreated breast cancer patients and healthy women. *Clin Exp Med* 2010; **10** (2): 87–92. doi: 10.1007/s10238-009-0079-4.
 75. **Walczak A, Rusin P, Dziki L, et al.** Evaluation of DNA double strand breaks repair efficiency in head and neck cancer. *DNA Cell Biol* 2012; **31** (3): 298–305. doi: 10.1089/dna.2011.1325.
 76. **Gillyard T, Davis J.** DNA double-strand break repair in cancer: A path to achieving precision medicine. *Int Rev Cell Mol Biol* 2021; **364**: 111–37. doi: 10.1016/bs.ircmb.2021.06.003.
 77. **Kang YH, Lee KA, Kim JH, et al.** Mitomycin C modulates DNA-double strand break repair genes in cervical carcinoma cells. *Amino Acids* 2010; **9** (5): 1291–8. doi: 10.1007/s00726-010-0568-5.
 78. **Saha S, Rundle S, Kotsopoulos IC, et al.** Determining the Potential of DNA Damage Response (DDR) Inhibitors in Cervical Cancer Therapy. *Cancers (Basel)* 2022; **14** (17): 4288. doi: 10.3390/cancers14174288.
 79. **Qin S, Kitty I, Hao Y, et al.** Maintaining Genome Integrity: Protein Kinases and Phosphatases Orchestrate the Balancing Act of DNA Double-Strand Breaks Repair in Cancer. *Int J Mol Sci* 2023; **24** (12): 10212. doi: 10.3390/ijms241210212.
 80. **Fukunaga H, Yokoya A, Taki Y, et al.** Precision Radiotherapy and Radiation Risk Assessment: How Do We Overcome Radiogenomic Diversity? *Tohoku J Exp Med* 2019; **247** (4): 223–35. doi: 10.1620/tjem.247.223.
 81. **Reddig A, Rube CE, Rödiger S, et al.** DNA damage assessment and potential applications in laboratory diagnostics and precision medicine. *Journal of Laboratory and Precision Medicine* 2018; **3** (4): 1–15. doi: 10.21037/jlpm.2018.03.06.
 82. **Burlinson B.** The *in vitro* and *in vivo* comet assays. *Methods Mol Biol* 2012; **817**: 143–63. doi: 10.1007/978-1-61779-421-6_8.
 83. **Azqueta A, Slysokva J, Langie SA, et al.** Comet assay to measure DNA repair: approach and applications. *Front Genet* 2014; **5**: 288. doi: 10.3389/fgene.2014.00288.
 84. **Gunasekara V, Raj GV, Chand P.** A comprehensive review on clinical applications of comet assay. *J Clin Diagn Res* 2015; **9** (3): GE01–5. doi: 10.7860/JCDR/2015/12062.5622.
 85. **Anderson D, Najafzadeh M, Gopalan R, et al.** Sensitivity and specificity of the empirical lymphocyte genome sensitivity (LGS) assay: implications for improving cancer diagnostics. *FASEB J* 2014; **28** (10): 4563–70. doi: 10.1096/fj.14-254748.
 86. **Olive PL, Banáth JP.** The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. *Nat Protoc* 2006; **1** (1): 23–9. doi: 10.1038/nprot.2006.5.
 87. **Afanasieva KS, Zazhytska MO, Sivolob AV.** Mechanisms of DNA exit during neutral and alkaline comet assay. *Cytology and genetics* 2009; **6**: 3–7.
 88. **Collins AR.** Investigating oxidative DNA damage and its repair using the comet assay. *Mutat Res* 2009; **681** (1): 24–32. doi: 10.1016/j.mrrev.2007.10.002.
 89. **Rached E, Schindler R, Beer KT, et al.** No predictive value of the micronucleus assay for patients with severe acute reaction of normal tissue after radiotherapy. *Eur J Cancer* 1998; **34** (3): 378–83. doi: 10.1016/s0959-8049(97)00373-0.
 90. **Scott D.** Chromosomal radiosensitivity, cancer predisposition and response to radiotherapy. *Strahlenther Onkol* 2000; **176** (5): 229–34. doi: 10.1007/s000660050005.
 91. **Ozshahin M, Crompton NE, Gourgou S, et al.** CD4 and CD8 T-lymphocyte apoptosis can predict radiation-induced late toxicity: a prospective study in 399 patients. *Clin Cancer Res* 2005; **11** (20): 7426–33. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-2634.
 92. **Schnarr K, Boreham D, Sathya J, et al.** Radiation-induced lymphocyte apoptosis to predict radiation therapy late toxicity in prostate cancer patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; **74** (5): 1424–30. doi: 10.1016/j.ijrobp.2008.10.039.
 93. **Foro P, Algara M, Lozano J, et al.** Relationship between radiation-induced apoptosis of T lymphocytes and chronic toxicity in patients with prostate cancer treated by radiation therapy: a prospective study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2014; **88** (5): 1057–63. doi: 10.1016/j.ijrobp.2014.01.002.
 94. **Marková E, Somsedíková A, Vasilyev S, et al.** DNA repair foci and late apoptosis/necrosis in peripheral blood lymphocytes of breast cancer patients undergoing radiotherapy. *Int J Radiat Biol* 2015; **91** (12): 934–45. doi: 10.3109/09553002.2015.1101498.
 95. **Vandevoorde C, Depuydt J, Veldeman L, et al.** *In vitro* cellular radiosensitivity in relationship to late normal tissue reactions in breast cancer patients: a multi-endpoint case-control study. *Int J Radiat Biol* 2016; **92** (12): 823–36. doi: 10.1080/09553002.2016.1230238.
 96. **Lee TK, Allison RR, O'Brien KF, et al.** Lymphocyte radiosensitivity correlated with pelvic radiotherapy morbidity. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; **57** (1): 222–9. doi: 10.1016/s0360-3016(03)00411-5.
 97. **van Engeland M, Nieland LJ, Ramaekers FC, et al.** Annexin V-affinity assay: a review on an apoptosis detection system based on phosphatidylserine exposure. *Cytometry* 1998; **31** (1): 1–9. doi: 10.1002/(sici)1097-0320(19980101)31:1<1::aid-cyto1>3.0.co;2-r.
 98. **Riccardi C, Nicoletti I.** Analysis of apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. *Nat Protoc* 2006; **1** (3): 1458–61. doi: 10.1038/nprot.2006.238.
 99. **Han X, Yang Q, Zhang J, Cao J.** Correlation between changes in the number of peripheral blood lymphocytes and survival rate in patients with cervical cancer after radio-chemotherapy. *Cancer Radiother* 2021; **25** (1): 72–6. doi: 10.1016/j.canrad.2020.08.045.
 100. **Gavrilescu MM, Hutanu I, Ioanid N, et al.** Clinical Value of Hematological Biomarkers in Uterine Cervical Cancer.

Chirurgia (Bucur) 2016; **111** (6): 493–9. doi: 10.21614/chirurgia.111.6.493.

101. Jeong MH, Kim H, Kim TH, *et al.* Prognostic significance of pretreatment lymphocyte percentage and age at diagnosis

in patients with locally advanced cervical cancer treated with definite radiotherapy. *Obstet Gynecol Sci* 2019; **62** (1): 35–45. doi: 10.5468/ogs.2019.62.1.35.

RADIATION THERAPY OF CERVICAL CANCER PATIENTS: VIEW OF RADIOBIOLOGISTS

*E.A. Domina, Yu.V. Dumanskyi, L.I. Makovetska,
O.A. Glavin, V.M. Mikhailenko, I.V. Prokopenko*

*R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine,
Kyiv, Ukraine*

Summary. *Despite the positive results achieved in recent years in the treatment of cervical cancer (CC), the overall and recurrence-free survival of patients with this pathology leaves much to be desired. This is connected with a number of problems. The main ones are late diagnosis, which leads to the neglect of the tumor process, insufficient effectiveness of conservative treatment methods, which depends on relatively low sensitivity to the drugs used, and low specificity of the radiation therapy (RT) used. Based on the analysis of data from the literature and our own research, the way to determine among the main radiobiological indicators, which take into account*

the mechanisms and stages of the formation of radiation lesions, predictors of complications due to RT in CC patients. This will make it possible to single out a group at increased risk of developing negative effects of RT, to develop effective means of pathogenetic therapy for tissue damage from around the tumor, and thus to reduce the frequency, nature and degree of severity of remote side complications of RT in this category of patients, which will contribute to improving the quality of life of patients.

Keywords: cervical cancer (CC), radiation therapy, predictors of radiation complications.

Адреса для листування:

Дьоміна Е.А.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України
E-mail: edjomina@ukr.net

Одержано: 10.06.2024