

УДК 576.312.32/38; 612.014.482

М. А. Пілінська✉, С. С. Дибський, О. Б. Дибська, Л. І. Швайко, В. О. Сушко

Державна установа “Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України”, вул. Мельникова, 53, м. Київ, 04050, Україна

ОСОБЛИВОСТІ ІНДУКЦІЇ ТА ПЕРСИСТЕНЦІЇ ПРИХОВАНОЇ ХРОМОСОМНОЇ НЕСТАБІЛЬНОСТІ В ЛІМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ОСІБ, ЯКІ ПРОФЕСІЙНО КОНТАКТУВАЛИ З ІОНІЗУЮЧОЮ РАДІАЦІЄЮ

Мета дослідження. Дослідити індукцію прихованої хромосомної нестабільності у осіб, які професійно контактували з іонізуючою радіацією, та її персистенцію *in vitro* в послідовних мітозах.

Матеріали і методи. З використанням тестів “G2-bleomycin sensitivity assay” та двотермінового культивування лімфоцитів периферичної крові проведено добровільне цитогенетичне обстеження 15 осіб, які брали участь у роботах з перетворення об’єкту “Укриття” ДСП “Чорнобильська АЕС” на екологічно безпечну систему. Всього проаналізовано 24 034 метафази, з яких 12 243 – без мутагенного навантаження; 11 791 – при дії блеоміцину *in vitro* в концентрації 0,05 мкг/мл.

Результати. За величиною та динамікою фонового та індукованого блеоміцином цитогенетичних ефектів при різних строках культивування лімфоцитів професійна група вірогідно відрізнялась від групи порівняння в бік зростання показників хромосомної нестабільності з суттєвими міжіндивідуальними коливаннями.

Висновок. Встановлено міжіндивідуальні відмінності персистенції радіаційно-індукованої прихованої хромосомної нестабільності в послідовних генераціях соматичних клітин людини.

Ключові слова. Іонізуюча радіація, блеоміцин, тестуюча мутагенна дія, прихована хромосомна нестабільність, персистенція цитогенетичного ефекту в послідовних мітозах.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2014. Вип. 19. С. 321–333.

М. А. Pilinska✉, S. S. Dybsky, O. B. Dybska, L. I. Shvayko, V. O. Sushko

State Institution “National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Melnykov str., 53, Kyiv, 04050, Ukraine

Peculiarities of induction and persistence of hidden chromosome instability in peripheral blood lymphocytes of persons occupationally exposed to ionizing radiation

Objective – to investigate the induction of hidden chromosome instability in persons occupationally exposed to ionizing radiation and its persistence *in vitro* in successive mitoses.

Materials and methods. Using two tests (“G2-bleomycin sensitivity assay” and two-term cultivation of human peripheral blood lymphocytes) voluntary cytogenetic examination of 15 individuals participated in the conversion of the “Shelter” (“Chornobyl NPP”) into ecologically safe system had been carried out. Total 24 034 metaphase had been analyzed, of which 12 243 – without additional mutagenic exposure, 11 791 – exposed to bleomycin *in vitro* at concentration of 0.05 µg/ml.

✉ Пілінська Марія Андріївна, e-mail: pww@ukr.net

Results. The magnitude and dynamics of background as well as bleomycin-induced cytogenetic effects in both terms of lymphocytes' cultivation in occupational group differed significantly from the group of comparison towards increasing of chromosome instability indices with significant interindividual fluctuations.

Conclusion. Interindividual differences in persistence of radiation-induced hidden chromosome instability in successive generations of human somatic cells had been found.

Key words: ionizing radiation, bleomycin, testing mutagenic exposure, hidden chromosome instability, persisting of cytogenetic effect in successive mitosis.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014;19:321-333.

ВСТУП

Як вважається в останнє десятиріччя, соматична патологія (стохастична та мультифакторна) при дії іонізуючого випромінювання на людину може бути спричинена не лише прямим радіаційним ушкодженням клітин-мішеней, але й радіаційно-індукованими немішеневими (untargeted) ефектами, серед яких провідну роль відіграють різні форми геномної нестабільності [1–3].

Одним із проявів радіаційно-індукованої нестабільності геному людини на цитогенетичному рівні є так звана “прихована” (hidden) хромосомна нестабільність (ПХН), котра визначається як генетично зумовлена чи, ймовірно, спричинена деякими ендо- або екзогенними генотоксичними чинниками гіперчутливість хромосом соматичних клітин людини до дії інших мутагенів (*in vivo* та *in vitro*), і розцінюється як схильність до індукції та промоції канцерогенезу [4–6]. Саме на основі цього феномену для виявлення ПХН було розроблено один з найбільш поширених тестів так званого “провокаційного мутагенезу” – “G₂-bleomycin sensitivity assay”, який використовується, переважно, для визначення ризику виникнення у людини онкопатології [7].

Враховуючи актуальність оцінки можливого внеску ПХН в реалізацію віддалених медичних наслідків Чорнобильської аварії, нами було адаптовано та використано цей тест для виявлення осіб, гіперчутливих до дії найпотужнішого з мутагенних факторів – іонізуючого випромінювання [8, 9]. В результаті проведених досліджень показано можливість визначення та оцінки ПХН за індивідуальною чутливістю хромосом лімфоцитів периферичної крові людини до тестуючої мутагенної дії радіоміметика блеомицину (*in vitro*) та вперше встановлено не тільки реальність модифікації генетично детермінованої хромосомної стабільності в соматичних клітинах людини внаслідок дії іонізуючого випромінювання (*in vivo*), але й існування асоціації між цим феноменом і реалізацією онкологічної патології (раку легень) у опромінених осіб [10–13]. Разом з тим, досі залишається відкритим питання стосовно тривалості збереження радіаційно-модифікованої ПХН

INTRODUCTION

As considered in the last decade, somatic pathology (stochastic and multifactorial) by the action of ionizing radiation on humans may be caused not only by direct radiation damage of the target cells, but by radiation-induced untargeted effects, including the various forms of genomic instability [1–3].

One of the manifestations of radiation-induced human genomic instability on the cytogenetic level is so called hidden chromosome instability (HCI), which is defined as a genetically caused or probably caused by some endogenous or exogenous genotoxic factors hypersensitivity of human somatic cells' chromosomes to the other mutagenic exposure (*in vivo* and *in vitro*) and is regarded as the predisposition to induction and promotion of carcinogenesis [4–6]. On the basis of this phenomenon to identify HCI has been developed one of the most common tests so-called “provocative mutagenesis” – “G₂-bleomycin sensitivity assay”, which is used mainly to determine the risk of cancer pathology in humans [7].

Given the urgency of assessment the possible contribution of HCI to the realization of long-term medical consequences of the Chornobyl accident, we have adapted and used this test to identify persons hypersensitive to exposure of the most powerful mutagenic factor – ionizing radiation [8, 9]. As a result of our research it was established the possibility of HCI identification and evaluation on the individual sensitivity of human peripheral blood lymphocytes' chromosomes to testing mutagenic bleomycin exposure (*in vitro*). It was first shown not only reality of modification genetically determined chromosome stability in human somatic cells due to exposure to ionizing radiation (*in vivo*), but the existence of the association between this phenomenon and the development of oncological pathology (lung cancer) in exposed individuals [10–13]. However, it still remains an open question concerning radiation-modified persistence of HCI

(як *in vivo*, так і *in vitro*) та її здатності передаватись наступним поколінням клітин, що необхідно враховувати при прогнозуванні віддалених медичних наслідків аварійного опромінення людини.

Зважаючи на вищезазначене, **метою** представленої роботи було дослідження не тільки індукції ПХН в соматичних клітинах людини після дії іонізуючого випромінювання *in vivo*, але й тривалості її персистенції з плином часу.

На першому етапі досліджень нами було проведено цитогенетичне обстеження осіб з інтактною групи порівняння (практично здорові волонтери, які заперечували свідомий контакт зі знаними чи потенційними мутагенними чинниками) з та без тестуючого навантаження *in vitro* мутагеном-провокатором блеоміцином при короткотривалому (48-годинному) та довгостроковому (100-годинному) культивуванні лімфоцитів периферичної крові [14]. Було встановлено, що фонові частоти аберацій хромосом в лімфоцитах периферичної крові осіб з групи порівняння відповідала рівню спонтанного соматичного хромосомного мутагенезу та власному історичному контролю і достовірно не розрізнялась при обох строках культивування клітин. При дії блеоміцину в короткотривалих культурах лімфоцитів достовірно підвищились індивідуальні частоти хромосомних аберацій зі значними міжіндивідуальними коливаннями, величини яких не залежали від фонових цитогенетичних показників. При довгостроковому культивуванні лімфоцитів з блеоміцином в усіх обстежених осіб вірогідно зменшилась частота хромосомних аберацій порівняно з показниками першого мітозу, завдяки чому знизився не тільки цитогенетичний ефект по групі в середньому, але й середньогруповий додаток до фонового рівня аберацій хромосом, що свідчить про поступову елімінацію абераційних клітин в послідовних мітозах. Швидкість елімінації хромосомних порушень з плином часу значно варіювала у різних осіб і також не залежала як від показників фонового цитогенетичного ефекту в інтактних культурах, так і від індивідуальних рівнів хромосомних аберацій, індукованих блеоміцином в короткотермінових культурах.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Для добровільного цитогенетичного обстеження сформували так звану професійну групу з осіб, які брали участь у роботах з перетворення об'єкту "Укриття" ДСП "Чорнобильська АЕС" на екологічно безпечну систему (проект "Стабілізація") та працювали в умовах суворого радіологічного контролю. До неї включи-

(both *in vivo* and *in vitro*) and its ability to be transmitted to future cells generations that must be considered for prediction of remote medical consequences of accidental human exposure.

Considering this background, the **aim** of the presented work was to study not only the induction of HCI in human somatic cells following exposure to ionizing radiation *in vivo*, but also its persistence over time.

At first, cytogenetic examination of persons from intact group of comparison (practically healthy volunteers who denied conscious contact with well-known or potential mutagens) with and without testing mutagenic exposure of bleomycin *in vitro* under short-term (during 48 hours) and long-term (during 100 hours) cultivation of peripheral blood lymphocytes was investigated [14]. The background frequency of chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes of individuals from group of comparison corresponded to the level of spontaneous somatic chromosome mutagenesis as well as to our historical control and was not significantly different under the both terms of cells' cultivation. Under bleomycin exposure in short-term cultures increased individual frequencies of chromosome aberrations with significant inter-individual fluctuations, the value of which did not depend on the background level of cytogenetic indices was detected. Under the long-term cultivation of lymphocytes with bleomycin in all persons reduced frequency of chromosomal aberrations compared with those in first mitosis was found whereby not only the mean-group cytogenetic effect but also mean-group addition to the background level of chromosome aberrations decreased, indicating the gradual elimination of aberrant cells in successive mitosis. The rate of elimination of chromosome injuries over time varied considerably in different individuals and also did not depend both on the parameters of the background cytogenetic effect in intact cultures and on the individual levels of chromosome aberrations induced by bleomycin in short-term cultures.

MATERIALS AND METHODS

For voluntary cytogenetic examination the occupational group was selected from individuals who participated in the transformation of the "Shelter" "Chornobyl NPP" to the ecologically safe system (project "Stabilization") and worked in conditions of strict radiological control. It included 15 males

ли 15 чоловіків віком від 19 до 59 років (середній вік $(39,1 \pm 0,4)$, медіана 40 років), яких обстежували в стаціонарних умовах за процедурою спеціального медико-біофізичного контролю, критерієм відбору до якого було виявлення вмісту $^{239+240}\text{Pu}$ у пробах калу за поточного біофізичного контролю на рівні, який перевищував 1,5 мБк/пробу. У осіб з професійної групи, відібраних для цитогенетичного обстеження, індивідуальні дози опромінення коливались в межах 0,05–1,73 мЗв. Всі особи були залучені до цитогенетичного обстеження за умов поінформованої згоди.

При цитогенетичному обстеженні осіб з професійної групи об'єднали два тести: “ G_2 -bleomycin sensitivity assay” – для дослідження індукції ПХН в лімфоцитах периферичної крові [9]; двотермінове – короткотривале (48 год) та довгострокове (100 год) – культивування лімфоцитів периферичної крові – для дослідження можливості персистентності ПХН в послідовних мітозах [15, 16].

Для цитогенетичного аналізу цільну кров (~8 мл від кожної особи) культивували за напівмікрометодом у нашій модифікації. Культуру лімфоцитів інкубували в живильному середовищі RPMI 1640 з L-глутаміном (Sigma, USA) без ембріональної телячої сироватки та антибіотиків, з фітогемаглютиніном (PHA, Difco-P, USA) впродовж 48 та 100 годин (останні 2 години – з колцемідом; Colcemid, Sigma, USA), що дозволяло аналізувати клітини переважно першого та третього мітозів, відповідно. Після гіпотонічної обробки (0,075 М розчином KCl) і фіксації (абсолютним етанолом та льодяною оцтовою кислотою у співвідношенні 3 : 1) одержували фіксовані клітинні осадки, які зберігали у морозильній камері при температурі $-20(\pm 5)^\circ\text{C}$ до моменту приготування препаратів метафазних хромосом. Препарати метафазних хромосом фарбували барвником Гімза (Giemsa stain, Merk, Germany) для проведення традиційного цитогенетичного аналізу рівномірно забарвлених хромосом із груповим каріотипуванням. Для оцінки індивідуальної чутливості до мутагенної дії та визначення ПХН провели тестуючу обробку частини культур лімфоцитів, одержаних від обстежених осіб, радіоміметиком блеоміцином в оптимальній концентрації (0,05 мкг/мл), яка індукує вірогідний цитогенетичний ефект (без множинної фрагментації чи пульверизації хромосом) та незначно пригнічує мітотичну активність, на пізній постсинтетичній (G_2) стадії першого мітотичного циклу.

При постановці експериментів використовували гідрохлорид блеоміцину для ін'єкцій (Bleocin, BLM), виготовлений в Японії (Nippon Kayaku Co. LTD). Базовий розчин та необхідне розведення готували за

aged 19 to 59 years (mean age $39,1 \pm 0,4$, median 40 years) who had been examined in hospital for special medical and biophysical control, criterion of which was detection of $^{239+240}\text{Pu}$ in samples of feces for the current biophysical control at the level higher than 1.5 mBq per sample. In persons from occupational group selected for cytogenetic examination, individual radiation doses ranged 0.05–1.73 mSv. All persons were involved into the cytogenetic examination under the conditions of informed consent.

For cytogenetic examination of persons from occupational group two joined tests had been adapted and used: “ G_2 -bleomycin sensitivity assay” – to study the induction of HCl in peripheral blood lymphocytes [9]; two-termed – short-term (48 hrs.) and long-term (100 hrs.) – culturing of peripheral blood lymphocytes – to study the possibility of persistent HCl in successive mitosis [15, 16].

For cytogenetic analysis whole blood (~8 ml from each person) was cultured according to micromethod in our modifications. Lymphocytes' culture was incubated in culture medium RPMI 1640 with L-glutamine (Sigma, USA) without fetal calf serum and antibiotics, with phytohemagglutinin (PHA, Difco-P, USA) for 48 and 100 hours (the last 2 hours – with colcemid (Colcemid, Sigma, USA), which allows to analyze cells mostly in first and third mitosis, respectively. After hypotonic treatment (0.075 M KCl solution) and fixation (absolute ethanol and glacial acetic acid in ratio of 3: 1) receiving the fixed cell pellet, which was stored in freezer at $-20(\pm 5)^\circ\text{C}$ until the preparation of metaphase chromosomes slides. These slides were stained with Giemsa stain (Merk, Germany) for traditional cytogenetic analysis of uniformly painted chromosomes with group karyotyping. To assess individual sensitivity to mutagenic exposure and detect the HCl part of lymphocyte cultures was exposed to bleomycin in late G_2 phase of the first mitotic cycle in optimal concentration (0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$), which induced reliable cytogenetic effect without multiple fragmentation or pulverization of chromosomes and marginally inhibited the mitotic activity

In all experimental set up the Bleomycin hydrochloride for injection (Bleocin, BLM, Nippon Kayaku Co. LTD, Japan) was used. The basic solution and the necessary dilution were prepared

допомогою стерильного фізіологічного розчину (0,9 % розчину натрію хлориду).

Класичний цитогенетичний аналіз проводили “всліпу”, на зашифрованих препаратах, під мікроскопами зі збільшенням $\times 1000$. Дешифровку результатів виконали після закінчення хромосомного аналізу всіх культур. Згідно зі стандартними вимогами [17, 18], від кожної особи аналізували від 200 до 500 метафаз. Всього проаналізували 24 034 метафази, з яких 12 243 – без мутагенного навантаження; 11 791 – при дії блеоміцину в концентрації 0,05 мкг/мл.

При цитогенетичному аналізі враховували всі аберації хроматидного та хромосомного типів, які вірогідно можна розпізнати при груповому каріотипуванні на рівномірно пофарбованих препаратах метафазних хромосом. Цитогенетичними маркерами радіаційної дії вважали обмінні аберації хромосомного типу – нестабільні (дицентричні та кільцеві хромосоми) та стабільні (аномальні моноцентрики, які формуються за рахунок повних та неповних транслокацій, інверсій, інсерцій); індикаторами прихованої хромосомної нестабільності – одиночні та парні ацентричні фрагменти.

Визначення осіб, гіперчутливих до дії блеоміцину, проводили аналогічно виявленню індивідів з підвищеною чутливістю до дії іонізуючої радіації [19] обчисленням коефіцієнту прихованої хромосомної нестабільності ($K_{ПХН}$) за спрощеною нами формулою [9]:

$$K_{ПХН} = M_{ПХН} / M \quad (1)$$

де $M_{ПХН}$ – індивідуальні, а M – середньогрупові значення частоти аберацій хромосом при тестуючій дії блеоміцину в концентрації 0,05 мкг/мл. Прийняли, що для гіперчутливих осіб цитогенетичний ефект, індукований блеоміцином, перевищує середньогруповий рівень хромосомних аберацій і завжди буде > 1 .

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням t -критерію Ст'юдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Результати досліджень наведені в табл. 1–4 та на рис. 1.

Як видно з даних, наведених в табл. 1 та 2, при обох строках культивування лімфоцитів фонові частоти цитогенетичних показників в професійній групі майже не відрізнялись від результатів цитогенетичного обстеження неекспонованої групи порівняння ($p > 0,01$) [14] і вкладались в межі коливань середньопопуляційних значень, характерних для спонтанного хромосомного мутагенезу в соматичних клітинах людини [17, 18]. Серед пошкоджень хромосом домінували прості аберації хроматидного типу - оди-

using a sterile saline (0.9% solution of sodium chloride).

Classical cytogenetic analysis of the coded slides was performed by blind manner by the microscope with magnification 1000x. Decoding of the results at the end of chromosome analysis of all cultures was performed. According to the standard requirements, from each individual from 200 to 500 metaphases were scored [17, 18]. Total 24 034 metaphases were analyzed, of which 12 243 – without mutagenic exposure, 11 791 – with bleomycin exposure.

All aberrations of chromatid and chromosome types, which significantly can be identified with group karyotyping on uniformly stained preparations of metaphase chromosomes were taken into account. Chromosome exchanges – unstable (dicentric and ring chromosomes) and stable (abnormal monocentrics, formed from complete and incomplete translocations, inversions, insertions) were considered as cytogenetic markers of radiation exposure, single and double acentric fragments were the indices of HCl.

Identification of persons hypersensitive to bleomycin exposure similarly to revealing individuals with hypersensitivity to ionizing radiation was conducted [19] by computation coefficient of HCl (K_{HCl}) according to formula [9]:

$$K_{HCl} = M_{HCl} / M \quad (1)$$

where M_{HCl} – individual and M – mean-group values of the frequency of chromosome aberrations under bleomycin exposure. Took that for hypersensitive persons cytogenetic effects induced by bleomycin exceeds mean-group level of chromosome aberrations was taken to be always > 1 .

Statistical analysis of the data was performed using Student's t -test.

RESULTS AND DISCUSSION

The results of research are presented in table 1–4 and Fig. 1.

Under both terms of lymphocytes culturing background frequency of cytogenetic parameters in occupational group hardly differed from the results of cytogenetic examination in unexposed group of comparison (tables 1 and 2, $p > 0.01$) [14] and corresponded to their population values typical for spontaneous chromosome mutagenesis in somatic human cells [17, 18]. Among the damaged chromosomes simple aberrations of chromatid type dominated – single fragments; aberrations of

Таблиця 1

Фоновий цитогенетичний ефект у осіб із професійної групи при двотерміновому культивуванні лімфоцитів периферичної крові (середньогрупові дані, $M \pm m$)

Table 1

Background cytogenetic effect in persons from occupational group under two-termed cultivation of peripheral blood lymphocytes (mean-group data, $M \pm m$)

Показник Indicators	Аберантні клітини, % Aberrant cells, %	Хромосомні аберації, на 100 клітин Chromosome aberrations per 100 cells	Частота аберацій хромосом, на 100 клітин Frequency of chromosome aberrations, per 100 cells									
			хроматидного типу chromatid type			хромосомного типу chromosome type						
			одиначні фрагменти single fragments	обміни exchanges	сума total	парні фрагменти double fragments	дигентрики dicentric	центричні кільця centric rings	аномальні моноцентрики abnormal monoscentrics	ацентричні кільця acentric rings	сума total	
Строк культивування 48 годин / short-term cultivation (48 hours)												
M	1,19	1,37	0,94	0,00	0,94	0,36	0,02	0,00	0,00	0,05	0,43	
m	0,15	0,16	0,12	0,00	0,12	0,08	0,02	0,00	0,00	0,03	0,09	
Строк культивування 100 годин / long-term cultivation (100 hours)												
M	2,00	2,16	1,37	0,00	1,37	0,62	0,01	0,00	0,09	0,08	0,79	
m	0,17	0,18	0,14	0,00	0,14	0,09	0,01	0,00	0,04	0,03	0,11	
Вірогідність / significance												
p	< 0,001	< 0,001	< 0,05		< 0,05	< 0,05	< 0,05		< 0,05	< 0,05	< 0,01	

Таблиця 2

Порівняння середніх значень фонових цитогенетичних показників в неекспонованій та професійній групах при двотерміновому культивуванні лімфоцитів периферичної крові

Table 2

Comparison of the mean values of background cytogenetic indicators in unexposed and occupational groups under two-termed cultivation of peripheral blood lymphocytes

Цитогенетичні показники Cytogenetic indicators	Неекспонована група порівняння Unexposed group of comparison (n=15)	Професійна група Occupational group (n=15)
Середня частота аберантних метафаз, % Mean frequency of aberrant metaphases, %	1,61 ± 0,15 (48 год / h.) 1,48 ± 0,14 (100 год / h.)	1,19 ± 0,15 (48 год / h.) 2,00 ± 0,17 (100 год / h.)
Розкид індивідуальних частот аберантних метафаз, % Range of individual levels of aberrant metaphases, %	0,00-2,80 (48 год / h.) 0,20-2,80 (100 год / h.)	0,40-2,80 (48 год / h.) 0,20-3,80 (100 год / h.)
Середня частота аберацій хромосом (на 100 метафаз) Mean frequency of chromosome aberrations (per 100 metaphases)	1,71 ± 0,15 (48 год / h.) 1,50 ± 0,14 (100 год / h.)	1,37 ± 0,16 (48 год / h.) 2,16 ± 0,18 (100 год / h.)
Розкид індивідуальних частот аберацій хромосом (на 100 метафаз) Range of individual levels of chromosome aberrations (per 100 metaphases)	0,40-2,60 (48 год / h.) 0,00-3,00 (100 год / h.)	0,50-2,80 (48 год / h.) 0,20-3,80 (100 год / h.)
Частота аберацій хроматидного типу (на 100 метафаз) Mean frequency of chromatid type aberrations (per 100 metaphases)	1,25 ± 0,13 (48 год / h.) 1,03 ± 0,12 (100 год / h.)	0,94 ± 0,12 (48 год / h.) 1,37 ± 0,14 (100 год / h.)
Частота аберацій хромосомного типу (на 100 метафаз) Mean frequency of chromosome type aberrations (per 100 metaphases)	0,44 ± 0,14 (48 год / h.) 0,48 ± 0,08 (100 год / h.)	0,43 ± 0,09 (48 год / h.) 0,79 ± 0,10 (100 год / h.)
Частота аберацій на одну аберантну клітину Frequency of chromosome aberrations per one aberrant cell	1,06 (48 год / h.) 1,01 (100 год / h.)	1,15 (48 год / h.) 1,08 (100 год / h.)

ночні фрагменти; аберації хромосомного типу були представлені, в основному, вільними парними фрагментами. Середньогрупова частота обмінних аберацій хромосомного типу, які вважаються цитогенетичними маркерами опромінення людини, була на порядок нижче значень популяційного контролю, що свідчило про відсутність радіаційного впливу на обстежених осіб в цитогенетично активних дозах.

Зі збільшенням тривалості культивування лімфоцитів, одержаних від осіб з професійної групи, спостерігалось вірогідне ($p < 0,001$) підвищення цитогенетичного ефекту як у окремих індивідів, так і по групі в цілому за рахунок зростання частоти простих ацентриків, які вважаються маркерами віддаленої хромосомної нестабільності. Проте як і в неекспонованій групі порівняння було виявлено зниження частоти хромосомних аберацій в послідовних мітозах через елімінацію домінуючого типу пошкоджень хромосом – одиночних ацентричних фрагментів, що характерно для динаміки спонтанного хромосомного мутагенезу [17, 18]. Таким чином, професійна та неекспонована групи відрізнялись поміж собою за

chromosome type were represented mainly by free double fragments. Mean-group frequency of exchange aberrations of chromosome type, which are considered cytogenetic markers of human radiation exposure, was an order of magnitude below the values of population control, indicating the absence of radiation exposure to persons surveyed in cytogenetically active doses.

With increasing duration of lymphocytes culturing obtained from individuals of occupational group cytogenetic effect significantly ($p < 0.001$) increased (both individual and mean-group) due to growing of the frequency of simple acentrics that are markers of delayed chromosome instability. While in unexposed group of comparison a decrease of chromosome aberrations frequency in successive mitoses was found through elimination of the dominant type of damaged chromosomes – single acentric fragments – which is typical for the dynamics of spontaneous chromosome mutagenesis [17, 18]. Thus, occupational and unexposed groups differed by the dynamics of the background

Таблиця 3

Цитогенетичний ефект у осіб з професійної групи при двотерміновому культивуванні лімфоцитів периферичної крові з блеоміцином в концентрації 0,05 мкг/мл (середньогрупові дані, $M \pm m$)

Table 3

Cytogenetic effects in persons from occupational group under two-termed cultivation of peripheral blood lymphocytes with bleomycin in concentration 0.05 microgram per mL (mean-group data, $M \pm m$)

Показник Indicators	Аберантні клітини, % Aberrant cells, %	Хромосомні аберації, на 100 клітин Chromosome aberrations per 100 cells	Частота аберацій хромосом, на 100 клітин Frequency of chromosome aberrations, per 100 cells									
			хроматидного типу chromatid type			хромосомного типу chromosome type						
			одиночні фрагменти single fragments	обміни exchanges	сума total	парні фрагменти double fragments	дицентрики dicentric	центричні кільця centric rings	аномальні моноцентрики abnormal monocentric	ацентричні кільця acentric rings	сума total	
Строк культивування 48 годин / short-term cultivation (48 hours)												
M	7,68	30,35	22,50	0,02	22,52	7,63	0,09	0,00	0,02	0,09	7,83	
m	0,36	0,62	0,57	0,02	0,57	0,36	0,04	0,00	0,02	0,04	0,27	
Строк культивування 100 годин / long-term cultivation (100 hours)												
M	5,50	21,08	17,93	0,02	17,95	2,63	0,13	0,08	0,08	0,13	3,04	
m	0,29	0,51	0,48	0,02	0,48	0,20	0,04	0,03	0,03	0,04	0,21	
Вірогідність / significance												
p	<0,001	<0,001	<0,001	>0,05	<0,001	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	

динамікою фонового цитогенетичного ефекту при різних строках культивування лімфоцитів.

Як видно з даних, представлених в таблиці 3, після дії блеоміцину в концентрації 0,05 мкг/мл середньогрупова частота аберантних метафаз в короткотривалих культурах зросла до $(7,68 \pm 0,36) \%$, а частота аберацій хромосом – до $(30,35 \pm 0,62)$ на 100 метафаз, що достовірно ($p < 0,001$) відрізнялось від такої в інтактних культурах на цьому ж терміні фіксації $(1,19 \pm 0,15) \%$ та $(1,37 \pm 0,16)$ на 100 метафаз, відповідно. Оскільки в усіх випадках майже кожна аберантна метафаза містила більше однієї хромосомні аберації та практично у всіх обстежених осіб зустрічались мультиаберантні клітини, середня частота аберацій на одну аберантну клітину досягала 3,95. Слід також відзначити, що у більшості обстежених (13 з 15 осіб) з різною частотою (від 0,2 до 2,0 на 100 проаналізованих метафаз) зустрічались клітини з пульверизацією хромосом. Міжіндивідуальний розкид частоти хромосомних аберацій був значним і становив $(4,67 \pm 0,81) - (58,77 \pm 2,24)$ на 100 метафаз, що свідчить про суттєву відмінність між різними індивідами за чутливістю хромосом лімфоцитів до кластогенної дії блеоміцину. Серед професійної групи особливо вирізнялися 4 особи з максимальним індукованим цитогенетичним ефектом (~ 59, 54, 46, 42 аберацій на 100 метафаз, відповідно) та максимальною “завантаженістю” аберантних клітин пошкодженими хромосомами (~ 7 на одну аберантну метафазу), хоча фонові частота хромосомних аберацій у них не перевищували верхню межу популяційного спонтанного рівня. У цих же осіб величини КПХН перевищували “1” і склали 1,93; 1,77; 1,50; 1,38, що є підтвердженням їхньої підвищеної чутливості до мутагенного впливу. Як у окремих осіб, так і по групі в середньому, значно домінували прості ацентрики (в основному – одиночні ацентричні фрагменти), сумарна частота яких $(30,13 \pm 0,60)$ на 100 метафаз вірогідно ($p < 0,001$) перевищувала фонові дані. Рівні обмінних аберацій хроматидного і хромосомного типів практично не змінювались і відповідали їх спонтанним значенням.

Таким чином, за всіма цитогенетичними показниками і, особливо, за загальною частотою хромосомних аберацій, зумовленою, переважно, фрагментацією хромосом, спостерігали суттєву міжіндивідуальну варіабельність, яка не залежала від величин фонових даних, одержаних в інтактних культурах.

При 100-годинному культивуванні лімфоцитів достовірно ($p < 0,001$) знизився як індукований блеоміцином середньогруповий цитогенетичний ефект

cytogenetic effect in different terms of culturing lymphocytes.

Under exposure to bleomycin (Table 3) mean-group frequency of aberrant metaphases in short-term cultures increased to $(7.68 \pm 0.36) \%$, and the level of chromosome aberrations – up to (30.35 ± 0.62) per 100 metaphases differing significantly ($p < 0.001$) from that in the intact cultures of the same fixation period $(1.19 \pm 0.15) \%$ and (1.37 ± 0.16) per 100 metaphases, respectively. As in all cases almost every aberrant metaphase contained more than one chromosome aberration and in almost all examined persons met multiaberrant cells, the average frequency of aberrations per aberrant cell reached 3.95. It should also be noted that in majority of individuals (13 out of 15 people) with varying frequency (from 0.2 to 2.0 per 100 metaphases) met cells with chromosome pulverization. Interindividual range in the frequency of chromosome aberrations was considerable – $(4.67 \pm 0.81) - (58.77 \pm 2.24)$ per 100 metaphases, indicating a significant difference between individuals on the sensitivity of lymphocytes' chromosomes to the clastogenic action of bleomycin. Among occupational group four persons had the maximal induced cytogenetic effects (~ 59, 54, 46, 42 aberrations per 100 metaphases, respectively) and the maximal “load” of aberrant cells by damaged chromosomes (~7 per aberrant metaphase), although their background frequency of chromosome aberrations do not exceed the upper limit of spontaneous population level. In the same individuals value of KHCI exceeded 1 and were 1.93; 1.77; 1.50; 1.38 confirming their increased sensitivity to mutagenic exposure. Both in separate individuals and in occupational group on average dominated simple acentrics (mostly – single acentric fragments), the total frequency of which (30.13 ± 0.60) per 100 metaphases was significantly ($p < 0.001$) higher than the background data. Levels of chromosome and chromatid types exchange aberrations did not change and corresponded to their spontaneous value.

Thus, for all cytogenetic parameters and especially the total frequency of chromosome aberrations, mainly caused by fragmentation of chromosomes, significant interindividual variability that did not depend on the values of the background data obtained in intact cultures was observed.

Bleomycin-induced cytogenetic effect significantly ($p < 0.001$) decreased under 100-hour cultivation of lymphocytes both as mean-group

($30,35 \pm 0,62$ та $21,08 \pm 0,51$ аберацій хромосом на 100 клітин в першому та третьому мітозах, відповідно), так і середньогруповий додаток до фонового рівня аберацій хромосом (28,98 та 18,81 на 100 метафаз в 48- та 100-годинних культурах, відповідно). Зниження середньогрупового цитогенетичного ефекту в послідовних мітозах було зумовлено зменшенням (на 28,4–81,0 %) індивідуальних частот аберацій хромосом (простих ацентриків з домінуванням одиночних фрагментів) у переважній більшості осіб із суттєвими міжіндивідуальними відмінностями, які не залежали від індивідуальних рівнів хромосомних аберацій, індукованих блеоміцином в короткотермінових культурах (рис. 1). Разом з тим, у двох осіб (№ 5, 7) рівень аберацій хромосом (а саме, одиночних фрагментів) в третьому клітинному поділі практично не змінився, а у трьох індивідів (№ 3, 6, 9), які виявляли гіперчутливість до дії блеоміцину при короткостроковому культивуванні лімфоцитів, в різній мірі (на 40,7; 8,1; 7,6 %, відповідно) збільшився порівняно з таким у першому мітозі. У цих гіперчутливих осіб величини КПХН перевищували “1” і позитивно корелювали з аналогічними показниками короткотермінових культур, що вказує на можливість збереження та, навіть, зростання ПХН з плином часу. Це може обумовлюватися зниженням інтенсивності репаративних процесів в абераційних клітинах або гальмуванням їх елімінації при послідовних клітинних поділах. Подібний феномен, але

chromosome aberrations (30.35 ± 0.62 and 21.08 ± 0.51 per 100 cells in first and third mitoses, respectively) and mean-group addition to the background level of chromosome aberrations (28.98 and 18.81 per 100 metaphases in the 48- and 100-hour cultures, respectively). Reducing of mean-group cytogenetic effect in successive mitoses was due to a decrease [by (28.4–81.0) %] of individual frequencies of chromosome aberrations (simple acentrics with the dominance of single fragments) in the vast majority of persons with significant interindividual differences which did not dependent on individual levels of chromosome aberrations induced by bleomycin in short-term cultures (Fig. 1). However, in two individuals (№ 5, 7) level of chromosome aberrations (namely, single fragments) in the third cell division remained almost unchanged, and in three individuals (№ 3, 6, 9), who showed different degree of hypersensitivity to bleomycin exposure in short-term cultures increased (40.7; 8.1; 7.6 %, respectively) compared with that in the first mitosis. In these hypersensitive people KHCI exceeded “1” and positively correlated with these in short-term cultures, indicating the ability to save and even to increase HCI with time. This may be due to decrease in the intensity of reparative processes in aberrant cells or inhibition of elimination during successive cell divisions. A similar phenomenon,

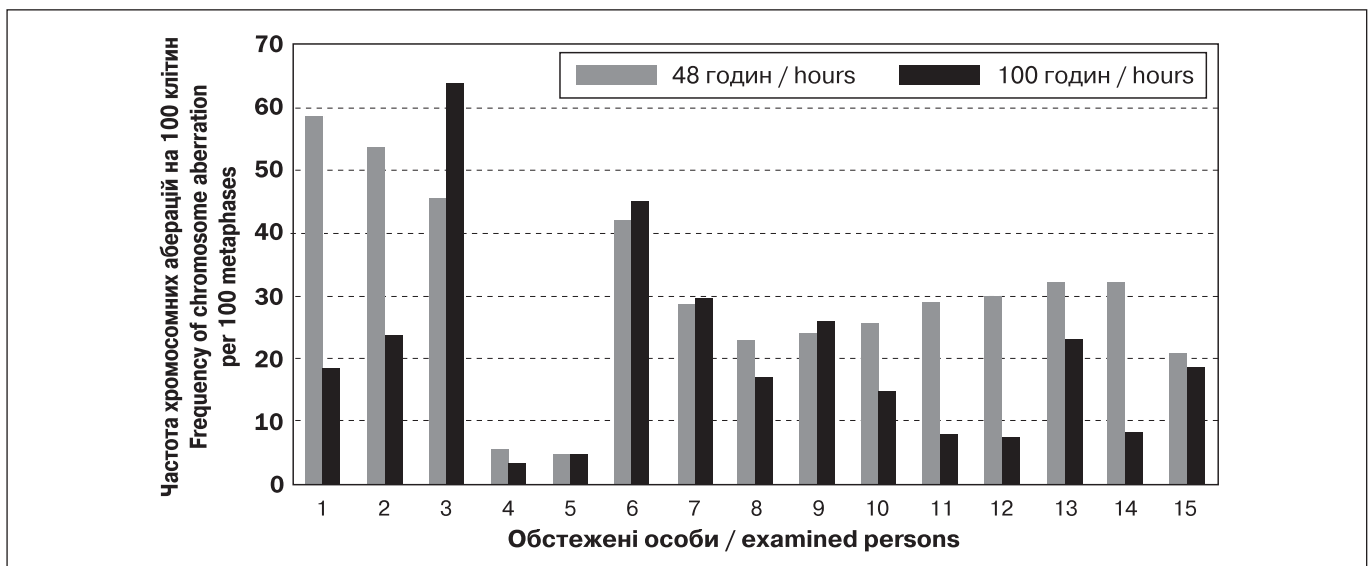


Рисунок 1. Міжіндивідуальна динаміка цитогенетичного ефекту у обстежених осіб з професійної групи при двотерміновому культивуванні лімфоцитів периферичної крові з додаванням блеоміцину в концентрації 0,05 мкг/мл

Figure 1. Interindividual dynamics of cytogenetic effect in examined individuals from occupational group under two-termed cultivation of peripheral blood lymphocytes with bleomycin in concentration 0.05 microgram per mL

без тестуючої дії блеоміцину, був встановлений при цитогенетичному обстеженні нащадків опромінених батьків [15, 20] та при вивченні радіаційно-індукованого ефекту свідка [21]. В результаті проведених досліджень також було виявлено персистенцію віддаленої хромосомної нестабільності в довгострокових культурах лімфоцитів крові людини, що вказує на здатність соматичних клітин передавати її своїм наступним поколінням.

Як видно з даних, наведених в табл. 4, незважаючи на односпрямованість динаміки індукованого блеоміцином цитогенетичного ефекту з часом по обох групах в середньому (поступова елімінація в послідовних мітозах), базові середньогрупові цитогенетичні показники в професійній групі виявились достовірно ($p < 0,01 - p < 0,001$) вище, ніж в інтактній групі порівняння при обох строках культивування лімфоцитів. Така різниця, яка спостерігалася за середньою частотою хромосомних аберацій в першому мітозі ($26,50 \pm 0,60$ та $30,35 \pm 0,62$ на 100 метафаз в неекспонованій та професійній групах, відповідно), ще раз підтверджує встановлений нами раніше модифікуючий вплив іонізуючого випромінювання на

but without testing bleomycin exposure had been established under cytogenetic examination of offspring of exposed parents [15, 20] and in the study of radiation-induced bystander effect [21]. As a result, the research also revealed persistence of delayed chromosome instability in long-term cultures of human blood lymphocytes, indicating the ability of somatic cells to transmit it to their next generations.

Despite of the unidirectional dynamics of bleomycin-induced mean-group cytogenetic effects with time in both groups (gradual elimination in successive mitosis), basic cytogenetic indices in the occupational group were significantly ($p < 0.01 - p < 0.001$) higher than in the intact group of comparison under both terms of lymphocytes' culturing (Table 4). Such difference which was observed on average frequency of chromosome aberrations in the first mitosis (26.50 ± 0.60 and 30.35 ± 0.62 per 100 metaphases in unexposed and occupational groups, respectively) once again confirms the previously established by us modifying effect of ionizing radiation on the chromo-

Таблиця 4

Порівняння середніх значень цитогенетичних показників в неекспонованій та професійній групах при двотерміновому культивуванні лімфоцитів периферичної крові після тестуючої дії блеоміцину в концентрації 0,05 мкг/мл

Table 4

Comparison of the mean values of cytogenetic indicators in unexposed and occupational groups under two-termed cultivation of peripheral blood lymphocytes following testing bleomycin exposure in concentration 0.05 microgram per mL

Цитогенетичні показники Cytogenetic indicators	Група порівняння Group of comparison	(n=15)	Професійна група Occupational group	(n=15)	P
Середня частота абераційних метафаз, % Mean frequency of aberrant metaphases, %	$6,02 \pm 0,32$ (48 год / h.) $4,14 \pm 0,23$ (100 год / h.)		$7,68 \pm 0,36$ (48 год / h.) $5,50 \pm 0,29$ (100 год / h.)		$< 0,01$ $< 0,001$
Розкид індивідуальних частот абераційних метафаз, % Range of individual levels of aberrant metaphases, %	2,80-8,20 (48 год / h.) 1,60-6,40 (100 год / h.)		5,68-12,17 (48 год / h.) 2,60-9,00 (100 год / h.)		
Середня частота аберацій хромосом (на 100 метафаз) Mean frequency of chromosome aberrations (per 100 metaphases)	$26,50 \pm 0,60$ (48 год / h.) $13,12 \pm 0,39$ (100 год / h.)		$30,35 \pm 0,62$ (48 год / h.) $21,08 \pm 0,51$ (100 год / h.)		$< 0,001$ $< 0,001$
Розкид індивідуальних частот аберацій хромосом (на 100 метафаз) Range of individual levels of chromosome aberrations (per 100 metaphases)	3,40-49,00 (48 год / h.) 1,80-30,86 (100 год / h.)		4,67-58,77 (48 год / h.) 4,12-64,00 (100 год / h.)		
Частота аберацій на одну абераційну клітину Frequency of chromosome aberrations per one aberrant cell	4,40 (48 год / h.) 3,17 (100 год / h.)		3,95 (48 год / h.) 3,83 (100 год / h.)		
Частота аберацій хроматидного типу (на 100 метафаз) Mean frequency of chromatid type aberrations (per 100 metaphases)	$22,20 \pm 0,56$ (48 год / h.) $10,88 \pm 0,36$ (100 год / h.)		$22,52 \pm 0,57$ (48 год / h.) $17,95 \pm 0,48$ (100 год / h.)		$> 0,05$ $< 0,001$
Частота аберацій хромосомного типу (на 100 метафаз) Mean frequency of chromosome type aberrations (per 100 metaphases)	$4,30 \pm 0,57$ (48 год / h.) $2,25 \pm 0,17$ (100 год / h.)		$7,83 \pm 0,36$ (48 год / h.) $3,04 \pm 0,21$ (100 год / h.)		$< 0,001$ $< 0,001$
Додаток до фонові частоти аберацій хромосом (на 100 метафаз) – надспонтанний рівень Addition to background frequency of chromosome aberrations (per 100 metaphases) – above-spontaneous level	24,79 (48 год / h.) 11,60 (100 год / h.)		28,98 (48 год / h.) 18,81 (100 год / h.)		$< 0,01$ $< 0,001$

стабільність хромосом та їх чутливість до мутагенної дії [10]. Перевищення середнього рівня хромосомних аберацій в третьому мітозі у осіб із професійної групи над таким в групі порівняння ($13,12 \pm 0,39$ та $21,08 \pm 0,51$ на 100 метафаз в неекспонованій та професійній групах, відповідно) свідчить про вплив іонізуючого випромінювання на персистенцію прихованої хромосомної нестабільності в послідовних клітинних генераціях.

Одержані результати показали, що при цитогенетичному обстеженні осіб, які мають (чи будуть мати) професійний контакт з іонізуючим випромінюванням, доцільно проводити двотермінове культивування лімфоцитів периферичної крові з тестуючим мутагенним навантаженням блеоміцином, що дозволить оцінити індивідуальну чутливість до мутагенної дії з урахуванням особливостей індукції та персистенції прихованої хромосомної нестабільності.

ВИСНОВКИ

1. При короткотривалому культивуванні лімфоцитів периферичної крові осіб, які професійно контактували з іонізуючою радіацією, фонові частоти цитогенетичних показників не відрізнялись ($p > 0,01$) від результатів цитогенетичного обстеження групи порівняння і вкладались в межі коливань середньопопуляційних значень, характерних для спонтанного хромосомного мутагенезу в соматичних клітинах людини.
2. В довгострокових культурах лімфоцитів периферичної крові осіб із професійної групи фоновий цитогенетичний ефект підвищився ($p < 0,001$) порівняно з таким в першому мітозі, тоді як у осіб з групи порівняння він проявляв тенденцію до зниження в послідовних мітозах.
3. Після дії блеоміцину в короткотривалих культурах лімфоцитів периферичної крові осіб, які професійно контактували з іонізуючою радіацією, середньогруповий цитогенетичний ефект підсилювався ($p < 0,001$) зі значними міжіндивідуальними коливаннями та перевищив ($p < 0,001$) такий в групі порівняння, що підтверджує модифікуючий вплив іонізуючого випромінювання на стабільність хромосом та їх чутливість до мутагенної дії.
4. При довгостроковому культивуванні лімфоцитів периферичної крові осіб з професійної групи середньогруповий цитогенетичний ефект, індукований блеоміцином, зменшився ($p < 0,001$) завдяки зниженню індивідуальних частот аберацій хромосом у переважної більшості осіб, але, як і в короткотривалих культурах, перевищив такий в групі порівнян-

сomes' stability and their sensitivity to the mutagenic exposure [10]. Excess of the mean level of chromosome aberrations in the third mitosis in individuals from occupational group over those in group of comparison (13.12 ± 0.39 and 21.08 ± 0.51 per 100 metaphases, respectively) testifies about the impact of ionizing radiation on the persistence of hidden chromosome instability in successive cell generations.

The results obtained showed that under cytogenetic examination of persons who have (or will have) occupational contact with ionizing radiation, it is expediently to use two-termed culturing of peripheral blood lymphocytes with testing bleomycin exposure, which will allow to evaluate individual sensitivity to mutagens taking into account peculiarities of induction and persistence of hidden chromosome instability.

CONCLUSIONS

1. Under the short-term culturing of peripheral blood lymphocytes from persons occupationally contacted with ionizing radiation the background frequency of cytogenetic parameters did not differ ($p > 0.01$) from the results of cytogenetic examination of unexposed group of comparison and fit into the limits of variation values typical for spontaneous chromosome mutagenesis in human somatic cells.
2. In long-term cultures of peripheral blood lymphocytes of individuals from occupational group background cytogenetic effect increased ($p < 0.001$) compared with that in the first mitosis, whereas in persons from group of comparison it showed a tendency to decrease in successive mitosis.
3. Following bleomycin exposure in short-term cultures of peripheral blood lymphocytes of persons from occupational group mean-group cytogenetic effect intensified ($p < 0.001$) with significant interindividual fluctuations and exceeded ($p < 0.001$) that in group of comparison, confirming the modifying effect of ionizing radiation on the chromosomes' stability and their sensitivity to mutagenic action.
4. Under long-term culturing of peripheral blood lymphocytes of individuals from occupational group mean-group cytogenetic effect induced by bleomycin decreased ($p < 0.001$) reducing the individual frequencies of chromosome aberrations in the vast majority of people, but, as in short-term cultures, exceeded that in group of comparison

ня за рахунок зростання хромосомної нестабільності у деяких осіб, що свідчить про міжіндивідуальні відмінності персистенції ПХН в послідовних клітинних генераціях.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Wright E. Manifestations and mechanisms of non-targeted effects of ionizing radiation / E. Wright // *Radiat. Environ. Biophys.* – 2010. – Vol. 49, No. 2. – P. 125–131.
2. NOTE (Nontargeted effects of ionizing radiation). Integrated project 2006-2010. [Electronic resource]. – Available from : <http://www.note-ip.org>.
3. Morgan W. F. Nontargeted effects of ionizing radiation [Electronic resource] / W. F. Morgan. – Available from : <http://www.nea.fr/html/rp/helsinki08/presentations>.
4. Spitz M. Mutagen sensitivity as a marker of cancer susceptibility / M. Spitz // *Cancer Detect. Prev.* – 2005. – Vol. 19, No. 1. – P. 35.
5. Atkinson M. Individual sensitivity [Electronic resource] / M. Atkinson. – Available from : <http://www.nea.fr/html/rp/helsinki08/presentations>.
6. Xifeng Wu. Mutagen sensitivity: A genetic predisposition factor for cancer / Wu Xifeng, Gu Jian, R. Spitz Margaret // *Cancer Res.* – 2007. – Vol. 67, No. 8. – P. 3493–3495.
7. Does the bleomycin sensitivity assay express cancer phenotype? / G. Szekely, E. Remenar, M. Kasler, S. Gundy // *Mutagenesis.* – 2003. – Vol. 18, No. 1. – P. 59–63.
8. Цитогенетичний спосіб визначення прихованої хромосомної нестабільності в соматичних клітинах людини за допомогою тесту “G₂-bleomycin sensitivity assay”: методичні рекомендації / ДУ “Науковий центр радіаційної медицини АМН України”. – К. : [б. в.], 2008. – 25 с.
9. Патент на корисну модель № 64932 UA, 8 МПК А 61 В Спосіб діагностики прихованої хромосомної нестабільності в лімфоцитах крові людини / Пілінська М. А., Дибський С. С., Дибська О. Б.; заявник ДУ “Науковий центр радіаційної медицини Академії медичних наук України”. – № u201104515; заявл. 13.04.2011; опубл. 25.11.2011, Бюл. №109, 2011 р.
10. Прихована хромосомна нестабільність, виявлена при тестуючій мутагенній дії блеомицину *in vitro* в лімфоцитах периферичної крові контрольних донорів / М. А. Пілінська, С. С. Дибський, О. Б. Дибська, Л. Р. Педан // *Доповіді Національної академії наук України.* – 2008. – № 8. – С. 184–188.
11. Радіаційно-індукована модифікація чутливості хромосом соматичних клітин людини до тестуючої мутагенної дії блеомицину *in vitro* / М. А. Пілінська, С. С. Дибський, О. Б. Дибська, Л. Р. Педан // *Цитология и генетика.* – 2010. – Т. 44, № 2. – С. 58–64.
12. Радиационно-индуцированная модификация чувствительности хромосом соматических клеток больных раком легких к тестирующему мутагенному действию блеомицина *in vitro* в отдаленные сроки после Чернобыльской аварии / М. А. Пилинская, С. С. Дыбский, Е. Б. Дыбская, Л. И. Швайко // *Цитология и генетика.* – 2012. – № 6. – С. 36–43.
13. Реалізація прихованої хромосомної нестабільності в лімфоцитах периферичної крові учасників ліквідації аварії на ЧАЕС, хворих на рак легень / М. А. Пілінська, С. С. Дибський, О. Б. Дибська, Л. І. Швайко, В.

due to increase of chromosome instability in some persons, indicating on the interindividual differences HCI persistence in successive cell generations.

REFERENCES

1. Wright E. Manifestations and mechanisms of non-targeted effects of ionizing radiation. *Radiat Environ Biophys.* 2010;49(2):125-31.
2. NOTE (Nontargeted effects of ionizing radiation). Integrated project 2006-2010. [Internet]. Available from: <http://www.note-ip.org>.
3. Morgan WF. Nontargeted effects of ionizing radiation [Internet] / W. F. Morgan. – Available from: <http://www.nea.fr/html/rp/helsinki08/presentations>.
4. Spitz M. Mutagen sensitivity as a marker of cancer susceptibility. *Cancer Detect Prev.* 2005;19(1):35.
5. Atkinson M. Individual sensitivity [Internet]. Available from: <http://www.nea.fr/html/rp/helsinki08/presentations>.
6. Xifeng Wu, Gu Jian, R. Spitz Margaret. Mutagen sensitivity: A genetic predisposition factor for cancer. *Cancer Res.* 2007;67(8):3493-5.
7. Szekely G, Remenar E, Kasler M, Gundy S. Does the bleomycin sensitivity assay express cancer phenotype? *Mutagenesis.* 2003;18(1):59-63.
8. State Institution “Scientific Center for Radiation Medicine of the Academy of Medical Sciences of Ukraine”. [Cytogenetic method for determining of chromosome instability in human somatic cells with the test “G₂-bleomycin sensitivity assay”: guidelines]. Kyiv: [s. n.]; 2008. 25 p. Ukrainian.
9. Pilinska MA, Dybskiy SS, Dybska OB, inventors; State Institution “Scientific Center for Radiation Medicine of the Academy of Medical Sciences of Ukraine”, assignee. [Method for diagnosis of hidden chromosome instability in human blood lymphocytes]. Ukrainian patent for utility model No. 64 932 UA, 8 IPC A61. 2011 Nov 25. Ukrainian.
10. Pilinska MA, Dybskiy SS, Dybska OB, Pedan LR. [Hidden chromosome instability, detected under testing mutagenic exposure to bleomycin *in vitro* in peripheral blood lymphocytes of control donors]. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine.* 2008;(8):184-8. Ukrainian.
11. Pilinska MA, Dybskiy SS, Dybska OB, Pedan LR. [Radiation-induced modification of human somatic cells' sensitivity to testing mutagenic exposure of bleomycin *in vitro*]. *Cytology and Genetics.* 2010;44(2):58-64. Ukrainian.
12. Pilinska MA, Dybskiy SS, Dybska OB, Shvaiiko LI. [Radiation-induced modification of human somatic cells' chromosomes sensitivity to testing mutagenic exposure of bleomycin *in vitro* in lung cancer patients in delayed terms following Chernobyl accident]. *Cytology and Genetics.* 2012;46(6):36-43. Russian.
13. Pilinska MA, Dybskiy SS, Dybska OB, Sushko VO. [Realization of hidden chromosome instability in peripheral blood lymphocytes

- О. Сушко // Доповіді Національної академії наук України.. – 2012. – № 10. – С.156–161.
14. Результати дослідження можливості персистенції прихованої хромосомної нестабільності в лімфоцитах периферичної крові практично здорових волонтерів / М. А. Пілінська, С. С. Дибський, О. Б. Дибська, Л. І. Швайко // Доповіді Національної академії наук України. – 2014. – С. 175–179.
15. Виявлення хромосомної нестабільності у нащадків батьків, опромінених внаслідок Чорнобильської катастрофи, за допомогою дво-термінового культивування лімфоцитів периферичної крові / М. А. Пілінська, С. С. Дибський, О. Б. Дибська, Л. Р. Педан // Цитология и генетика. – 2005. – Т. 39, № 4. – С. 32–40.
16. Патент на корисну модель № 15062, UA, МПК (2006) G01N33/48/C12Q 1/68 Спосіб виявлення хромосомної нестабільності в лімфоцитах крові нащадків опромінених людей / Пілінська М. А., Дибський С. С.; заявник ДУ “Науковий центр радіаційної медицини Академії медичних наук України”. – № u 200511589; Заявл. 06.12.2005; Опубл. 15.06.2006. Бюл. № 9, 2006 р.
17. База данных для анализа количественных характеристик частоты хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов периферической крови человека / Н. П. Бочков, А. Н. Чеботарев, Л. Д. Катосова, В. И. Платонова // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2001. – N 2. – С. 21–29.
18. Чеботарев А. Н. Закономерности хромосомной изменчивости соматических клеток человека / А. Н. Чеботарев // Вестн. Рос. акад. мед. наук. – 2001. – № 10. – С. 64–69.
19. Дьоміна Е. А. Індивідуальна радіочутливість людини / Е. А. Дьоміна, М. О. Дружина, Н. М. Рябченко. – К. : Логос, 2006. – 126 с.
20. Експресія хромосомної нестабільності у дітей з патологією щитовидної залози, батьки яких потерпіли від дії факторів Чорнобильської аварії / М. А. Пілінська, С. С. Дибський, О. Б. Дибська [та ін.] // Доповіді Національної академії наук України. – 2006. – № 7. – С. 183–188.
21. Шеметун О. В. Дослідження персистенції радіаційно-індукованого цитогенетичного ефекту в лімфоцитах периферичної крові людини / О. В. Шеметун, О. О. Талан, М. А. Пілінська // Журнал НАМН України. – 2014. – Т. 20, № 1. – С. 121–126.
- of the Chernobyl liquidators with lung cancer]. Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine. 2012;(10):156-61. Ukrainian.
14. Pilinska MA, Dybskiy SS, Dybska OB, Shvaiko LI. [Results of investigation of possibility of hidden chromosome instability persistence in peripheral blood lymphocytes of practically healthy volunteers]. Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine. 2014;(7):175-9. Ukrainian.
15. Pilinska MA, Dybskiy SS, Dybska OB, Pedan LR. [Detection of chromosome instability in offspring of parents irradiated due to the Chernobyl disaster by two-termed culturing of peripheral blood lymphocytes]. Cytology and Genetics. 2005;39(4):32-40. Ukrainian.
16. Pilinska MA, Dybskiy SS, inventors; State Institution “Scientific Center for Radiation Medicine of the Academy of Medical Sciences of Ukraine”, assignee. [Method to detecting of chromosome instability in blood lymphocytes’ offspring of irradiated people]. Ukrainian patent for utility model No. 15062, UA, IPC (2006) G01N33 / 48 / 1/68 S12Q. 2006 Jun 15. Ukrainian.
17. Bochkov NP, Chebotarev AN, Katosova LD, Platonova VI. [Database for analysis of quantitative characteristics of chromosome aberrations frequency in the culture of human peripheral blood lymphocytes]. Vestn Ross Akad Med Nauk. 2001;(2):21-9. Russian.
18. Chebotarev AN. [Legitimacies of chromosome variability of human somatic cells]. Vestn Ross Akad Med Nauk. 2001;(10):64-9. Russian.
19. Domina EA, Druzhina NA, Riabchenko NM. [Individual human radiosensitivity]. Kyiv: Logos; 2006. 126 p. Ukrainian.
20. Pilinska MA, Dybskiy SS, Dybska OB, et al. [Expression of chromosome instability in children with thyroid gland pathology whose parents suffered from the factors of Chornobyl accident]. Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine. 2006;(7):183-8. Ukrainian.
21. Shemetun OV, Talan OO, Pilinska MA. [Research of the persistence of radiation-induced cytogenetic effects in human peripheral blood lymphocytes]. Zhurnal Natsionalnoi Akademii Medychnykh Nauk Ukrainy. 2014;20(1):121-6. Ukrainian.

Стаття надійшла до редакції 20.08.2014

Received: 20.08.2014