

УДК 612.014.482:575.19

Н. М. Рябченко✉*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького
НАН України, вул. Васильківська, 45, Київ, 03022, Україна*

РАДІАЦІЙНО-ІНДУКОВАНА ХРОМОСОМНА НЕСТАБІЛЬНІСТЬ ЛІМФОЦИТІВ ЛЮДИНИ ЯК ПОКАЗНИК РИЗИКУ РАКУ ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ

Мета роботи: оцінити варіабельність частоти аберацій хромосом, індукованих *in vitro* опроміненням в лімфоцитах периферичної крові (ЛПК) хворих на рак грудної залози (РГЗ) в різних фазах клітинного циклу у порівнянні з умовно здоровими особами.

Матеріали і методи. Зразки периферичної крові для постановки культур ЛПК отримано у 44 умовно здорових жінок та у 37 жінок, первинних хворих на РГЗ I–II стадії (T1–2N1M0). Опромінення клітин здійснювали в G0 та G2 фазі клітинного циклу (G0 та G2-тест) рентгенівськими променями в дозі 1,5 Гр перед стимуляцією лімфоцитів ФГА (G0 тест) та в дозі 0,5 Гр на 47 год культивування (G2 тест). Приготування препаратів метафазних хромосом здійснювали за стандартною методикою.

Результати і висновки. Міжіндивідуальна варіабельність рівнів аберацій хромосом, індукованих опроміненням в G2 фазі, була значно вищою у порівнянні з G0 опроміненням як у групі здорових донорів, так і хворих на РГЗ. За даними G2 тесту частка осіб з підвищеною радіаційною чутливістю ЛПК склала 11,4 % серед здорових донорів та 38 % серед хворих на РГЗ. Одержані результати свідчать на користь гіпотези про зв'язок РГЗ, хромосомної нестабільності, що виявляється при опроміненні ЛПК в G2-фазі, та ефективністю процесів репарації радіаційно-індукованих пошкоджень ДНК в цій фазі клітинного циклу. Особи з групи здорового контролю з підвищеною радіаційною чутливістю ЛПК, визначеною за G2 тестом, вимагають подальших обстежень з метою встановлення схильності до РГЗ та первинної профілактики радіаційно-індукованих злоякісних патологій.

Ключові слова: радіаційна чутливість людини; рак грудної залози; аберації хромосом; G2 тест.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2014. Вип. 19. С. 450–457.

N. Ryabchenko✉*R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of NAS of Ukraine, 45
Vasylykivska str., Kyiv, 03022, Ukraine*

Radiation-induced chromosomal instability of human lymphocytes as a marker of breast cancer risk

Objective: to assess the variability of the levels of chromosome aberrations induced by the *in vitro* irradiation of lymphocytes of breast cancer (BC) patients in comparison with healthy individuals.

Materials and methods. Samples of peripheral blood for lymphocyte cultures were obtained from 44 healthy women and 37 primary patients with BC (T1–2N1M0). Lymphocyte X-ray irradiation was carried out at G0 and G2 phase of lymphocyte cell cycle (G0 and G2 assay) with the dose of 1,5 Gy before PHA stimulation in G0 assay and 0,5 Gy – at 47 h of cultivation in G2 assay. Preparations of metaphase chromosomes were made according standard protocols.

✉ Рябченко Наталя Миколаївна, e-mail: nryabchenko@ukr.net

Results and conclusions. Inter-individual variation of G2 chromosome aberration yields was significantly higher in comparison with G0 chromosomal radiosensitivity in both examined groups. According to G2 assay the fraction of individuals with elevated chromosomal radiosensitivity among healthy women and BC patients was 11.4 and 38 %, respectively. The results obtained support the concept of association between predisposition to BC, radiation-induced G2 chromosomal instability and efficiency of DNA repair activated by cell irradiation in G2 phase. It is assumed that individuals with elevated G2 aberration scores from the control group need further examinations on the BC risk and primary prevention of radiation induced cancer.

Key words: human radiation sensitivity, breast cancer, chromosome aberrations, G2 chromosomal radiosensitivity assay.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014;19:450-457.

ВСТУП

Оцінка величини і прогноз ступеня індивідуальної радіаційної чутливості (ІРЧ) людини залишаються актуальною фундаментальною та практичною проблемою радіаційної біології і медицини, оскільки за даними літератури від 10 до 20 % популяції складають особи з підвищеною чутливістю до іонізуючого випромінювання (ІВ) [1, 2]. Вирішення цієї проблеми в практичній площині пов'язане з необхідністю удосконалення оцінки радіаційних ризиків з урахуванням осіб з підвищеними показниками радіочутливості, розробки норм радіаційного захисту, заходів профілактики ранніх та віддалених ускладнень професійного, діагностичного та терапевтичного опромінення тощо.

Один з напрямків досліджень проблеми радіаційної чутливості людини – пошук інформативних та прогностичних маркерів підвищеної ІРЧ. Серед них цитогенетичні маркери займають особливо місце, оскільки дозволяють не лише здійснювати кількісний аналіз ступеня радіаційно-індукованого ураження хромосомного апарату клітин, а й відображають ступінь хромосомної нестабільності, пов'язаної з ризиком канцерогенезу. Вивчення багатьох спадкових синдромів хромосомної нестабільності (атаксія-телеангіектазія, анемія Фанконі, синдром Блюма, Коккейна, Ніймегенський синдром ламкості хромосом, прогерії тощо) виявило високу чутливість клітин цих хворих до додаткової, “провокаційної” дії радіації, що оцінювалась за цитогенетичними показниками. Нещодавні дослідження продемонстрували високу варіабельність цитогенетичних маркерів в лімфоцитах периферичної крові (ЛПК) онкологічних хворих з різною локалізацією зляклого процесу за умови *in vitro* дії ІВ у відносно невисоких дозах (до 0,5 Гр), тоді як з підвищенням доз опромінення міжіндивідуальна різниця нівелюється. Серед осіб, у яких найчастіше виявляють підвищений рівень радіаційно-індукованої хромосомної нестабільності, – пацієнти як із встановленими спадковими генетичними дефектами (наприклад, носії *ATM*, *BRCA1/2* мутацій/поліморфних варіантів),

INTRODUCTION

Estimation and prognosis of human individual radiation sensitivity (IRS) remains relevant fundamental and practical problem of radiation biology and medicine as according to the literature data from 10 to 20 % of human population are individuals with elevated sensitivity to ionizing radiation (IR) [1, 2]. This problem in practical terms is related to the need to improve assessment of radiation risks, taking into account persons with high IRS; development of new standards of radiation protection; prevention of early and remote complications after professional, diagnostic and therapeutic radiation, etc.

Searching informative prognostic markers of increased IRS is among the main efforts to solve the problem of human radiosensitivity at large. From this point of view the cytogenetic markers are of especial importance as allow not only the quantitative analysis of the level of chromosomal lesions, but also reflect the degree of chromosomal instability associated with genome instability and cancer risk. Investigations of cells from patients with syndromes of chromosomal instability (ataxia-teleangiectasia, Fanconi's anemia, Down, Bloom, Li-Fraumeni, Nijmegen breakage syndromes, etc.) clearly showed high sensitivity of their cells to additional “provocative” irradiation (assays by cytogenetic events and indices). Recent studies have demonstrated the high variability of cytogenetic markers in peripheral blood lymphocytes (PBL) of cancer patients with different tumor localization provided by the *in vitro* irradiation with relatively low doses (up to 0.5 Gy), while increasing the dose leveled inter-individual differences. Among individuals with elevated radiation-induced chromosomal instability are patients with established hereditary genetic defects (e.g., carriers of *ATM*, *BRCA1/2* mutations/polymorphic variations) and sporadic cancers [4–6]. In some

так і спорадичними формами раку [4–6]. У частини пацієнтів зі спорадичними формами раку грудної залози (РГЗ) істотну роль у розвитку онкопатології можуть відігравати гени низької пенетрантності, що відповідають за ефективність роботи так званої системи відповіді на пошкодження ДНК (DNA damage response, DDR), розвитку нестабільності геному та формування радіочутливого фенотипу клітин [7]. Вважають, що мутації/поліморфізм кандидатних генів низької та помірної пенетрантності, відповідальних за розпізнавання, репарацію та елімінацію радіаційно-індукованих пошкоджень ДНК (скажімо, *ATM*, *NBS1*, *XRCC1*, *XRCC3*, *XRCC6*, *hRAD51*, *CYP17*, *BRIP1*, *BARD1* тощо), можуть бути фактором ризику формування РГЗ [8]. В той же час ці гени розглядаються як кандидатні гени радіаційної чутливості та радіаційно-індукованої хромосомної нестабільності. Таким чином, підвищені рівні радіаційно-індукованих аберацій хромосом можуть виступати як опосередковані маркери мутацій/поліморфізму відповідних генів.

Аналіз радіаційно-індукованих цитогенетичних показників в ЛПК людини дозволяє оцінити їх міжіндивідуальну варіабельність, яка відмічається в різних фазах клітинного циклу, проте є найбільш вираженою в радіочутливій G2 фазі. Дослідження G2-радіаційної чутливості ЛПК хворих на спадкові синдроми, що супроводжуються хромосомною нестабільністю та високою схильністю до раку, лягли в основу розробки G2-тесту, що дозволяє кількісно оцінити і порівняти величину радіаційної чутливості людини на хромосомному рівні соматичних клітин [9]. З використанням G2-тесту нами було показано, що 11 % вибірки умовно здорових жителів м. Києва (більш ніж 140 обстежених осіб на сьогодні) мають підвищену частоту аберацій хромосом в ЛПК за дії тестуючого опромінення в G2 фазі [10].

МЕТА

Метою роботи було оцінити варіабельність частоти аберацій хромосом, індукованих *in vitro* опроміненням в ЛПК хворих на рак грудної залози (РГЗ) в різних фазах клітинного циклу у порівнянні з умовно здоровими особами.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Цитогенетичні обстеження здорових осіб та онкологічних пацієнтів проводились відповідно до протоколу, затвердженому комісією з біологічної етики Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України. Зразки периферичної крові для постановки культур ЛПК отримано у 44 умовно здорових жінок віком

patients with sporadic breast cancer (BC) the low penetrance genes can play a significant role in the development of cancer pathology being responsible for the effectiveness of the so-called system response to DNA damage (DNA damage response, DDR), development of genomic instability and formation of cells with a radiosensitive phenotype [7]. It is believed that mutations/polymorphisms of candidate genes of a low and moderate penetrance that are responsible for recognition and repair of radiation-induced DNA damage (e.g., *ATM*, *NBS1*, *XRCC1*, *XRCC3*, *XRCC6*, *hRAD51*, *CYP17*, *BRIP1*, *BARD1*, etc.) may be a risk factor of BC genesis [8]. Since these genes are considered as candidate genes of radiation sensitivity and radiation-induced chromosomal instability thus the elevated levels of radiation-induced chromosome aberrations may serve as indirect marker of mutations/polymorphisms of relevant genes.

Metaphase analysis of radiation-induced cytogenetic markers in PBL allows assessing their variability that is observed in different phases of cell cycle, but is most pronounced in the radiosensitive G2 phase. Examinations of G2-radiation sensitivity in patients with hereditary syndromes of chromosomal instability formed the basis for G2-assay, which allows quantifying and comparing the values of radiation sensitivity in human somatic cells on chromosomal level [9]. Using G2-assay, we showed that 11 % among healthy Kyiv inhabitants (more than 140 persons examined to date) have an increased frequency of chromosomal aberrations in PBL after *in vitro* test irradiation in G2 phase [10].

OBJECTIVE

The objective of the presented study was to assess the variability of the frequency of chromosome aberrations induced by *in vitro* exposure of BC patients' lymphocytes in different phases of cell cycle in comparison with healthy individuals.

MATERIALS AND METHODS

Cytogenetic examination of healthy donors and cancer patients was carried out according to the protocol approved by the Bioethics Committee of R.E. Kavetsky IEPOR of NAS of Ukraine. Blood samples were obtained from 44 healthy women, aged between 28 – 55 years (mean age – 43 years) without cancer in family history and primary 37

28–55 років (середній вік – 43 роки) та у первинних хворих на РГЗ I–II стадії (T1–2N1M0), які не мали випадків раку в сімейному анамнезі, – 37 жінок віком від 31 до 81 років перед курсом радіо-/хіміотерапії.

Опромінення зразків крові кожного донора здійснювали в G0 фазі та G2 фазі клітинного циклу (G0-тест та G2-тест) рентгенівськими променями (апарат РУМ-17, напруга на трубці 200 кВ, струм 10 мА, фільтр 0,5 мм Cu + 1 мм Al) в дозі 1,5 Гр перед стимуляцією лімфоцитів ФГА (G0-тест) та в дозі 0,5 Гр на 47-й годині культивування (G2-тест). На 48-й годині культивування в пробірці додавали 100 мкл розчину колцеміду, після чого клітини фіксували та фарбували відповідно до стандартного протоколу [11]. Це дозволило аналізувати клітини в першому пострадіаційному мітозі. При аналізі результатів G0-тесту та спонтанного рівня рахували кількість аберацій хромосомного та хроматидного типу на 100 метафаз. Результати G2-тесту розраховували за частотою аберацій хроматидного типу (хроматидні та ізохроматидні розриви) на 100 метафаз.

Коефіцієнт варіації одержаних показників (CV) визначали за формулою:

$$CV = (SD/M) \times 100,$$

де SD – стандартне відхилення, M – середньогрупове число аберацій хромосом. Відсоток осіб з показниками підвищеної ІРЧ визначали використовуючи значення 90-го перцентилля, як описано в [8]. За допомогою U-тесту Мана-Уїтні порівнювали пропорції чутливих донорів з різних груп. Рівень достовірності складав $p < 0,05$. Кореляцію показників оцінювали за допомогою коефіцієнта Пірсона. Розподіли одержаних цитогенетичних параметрів в G0- та G2-тестах моделювали як біноміальні, що складаються з двох нормальних розподілів з різними середньогруповими значеннями за допомогою програмного пакету Origin 7.0.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

На рис. 1 показано середньогрупові цитогенетичні показники, одержані при опроміненні ЛПК в G0 та G2 фазах клітинного циклу умовно здорових жінок та первинних хворих на РГЗ, що не мали онкологічної захворюваності в сімейному анамнезі. На рис. 2 представлено гістограми одержаних цитогенетичних даних G0 (А) і G2 (В) тестів в групі контролю та хворих на РГЗ.

Одержані дані щодо спонтанного рівня аберацій хромосом у групах обстежених жінок свідчать про відсутність достовірної різниці в середньогрупових

BC patients aged between 31–81 years (mean age – 56 years) with no family history of cancer and no prior radio- or chemotherapy courses. The tumors were T1 or T2 stage, N0 or N1, M0 (UICC TNM stage), grade form I–III.

The blood samples from each donor were irradiated in G0 and G2 phases in 1.5 Gy dose of X-rays (300 kV, 10 mA, HVT 0,5 mm Cu + 1 mm Al) before lymphocyte stimulation with PHA (G0-test) and in 0.5 Gy dose at the 47th hour of incubation (G2-test). At the 48th hour of incubation 100 μ l of colcemid solution was added. Cells were fixed upon that and stained according to the standard protocol [11]. This procedure had provided possibility to analyze the cells in the first post-radiation mitosis. In analyzing the results G0-test and spontaneous level of chromosomal aberrations counted the number and type hromatydnoho 100 metaphases. G2-test results calculated by the frequency of aberrations hromatydnoho type (hromatydni and izohromatydni breaks) per 100 metaphases.

The coefficient of variation of received values (CV) was determined as follow:

$$CV = (SD/M) \times 100,$$

where SD is the standard deviation, M – mean of aberration yield. The proportions of G0 and G2 radiosensitive individuals were calculated using 90th percentile as described in [8]. Using the U-Mann-Whitney test the proportions of sensitive donors from different groups were compared. Confidence level was set as $p < 0.05$. Correlation parameters were assessed by Pearson's coefficient. Distributions of received cytogenetic parameters in G0- and G2-tests were simulated as binomial, consisting of two normal distributions with different mean group values using the Origin 7.0 software package .

RESULTS AND DISCUSSION

Fig. 1 shows average cytogenetic data obtained after PBL irradiation in G0 and G2 phases of cell cycle at the groups of healthy women and patients with primary BC that had no cancer incidence in family history. Fig. 2 shows the distribution of G2 (A) and G0 (B) assay scores for these groups.

Analysis of spontaneous chromosome aberrations levels in the examined groups indicate no significant difference in the average values (1.1 ± 0.32

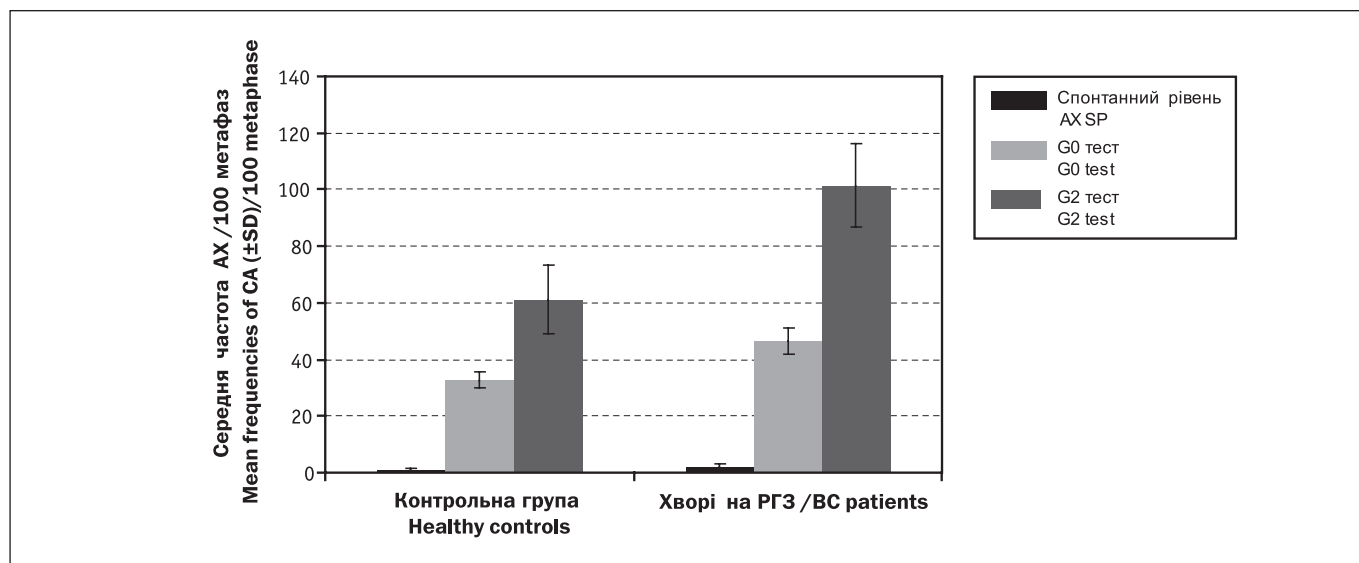


Рисунок 1. Середньогрупові значення спонтанного рівня аберацій хромосом, частоти аберацій хромосом, індукованих опроміненням лімфоцитів в G0 та G2 фазах клітинного циклу в групах умовно здорових жінок та хворих на РГЗ

Figure 1. Average values of spontaneous chromosome aberrations; frequency of chromosome aberrations induced by irradiation of lymphocytes in G0 and G2 phases of the cell cycle in groups of healthy women and BC patients

значеннях ($1,1 \pm 0,32$ та $1,9 \pm 0,64$ на 100 метафаз, відповідно; $p > 0,05$). Не спостерігалось достовірної різниці між середніми значеннями частоти аберацій хромосом при опроміненні в G0 фазі між групою контролю та хворих на РГЗ. Коефіцієнт варіації загальної частоти аберацій хромосом в контрольній групі складав 9 %, в групі хворих – 12 %. Використовуючи значення 90-го персентилі було визначено, що 7 % з групи контролю та 13 % групи онкологічних пацієнтів мали підвищений рівень загальної частоти аберацій хромосом за результатами G0-тесту.

Середньогрупові значення частоти аберацій хромосом, індукованих тест-опроміненням в G2 фазі клітинного циклу у хворих на РГЗ, було істотно вище, ніж в групі умовно здорових донорів: $100,3 \pm 12,3$ і $61,2 \pm 8,0$, відповідно ($p < 0,001$). Коефіцієнт варіації частоти аберацій хромосом, індукованих тест-опроміненням в G2 фазі як в групі умовно здорових жінок, так і онкологічних пацієнток був вищий, ніж при опроміненні в G0: 15 і 26 %. 5 з 44 осіб з групи контролю (11,4 %) та 14 з 37 пацієнток з РГЗ (38 %) мали підвищені показники радіаційної чутливості на хромосомному рівні ЛПК за результатами G2 тесту.

Не встановлено прямих кореляційних зв'язків між результатами G0 і G2 тестів для досліджуваних груп, подібні результати одержано в дослідженні [11]. Значення коефіцієнту кореляції Пірсона склало 0,11 в

and 1.9 ± 0.64 per 100 metaphases, respectively). There was no significant difference between the means of the frequency of chromosomal aberrations in G0 assay in control group and BC patients. The CV value of the total frequency of chromosomal aberrations in the control group was 9 %, in patients – 12 %. Using the value of the 90th percentile to discriminate between a normal and radiosensitive subset of patients it was determined that 7 % of the control group and 13 % of BC cancer patients had elevated levels of chromosome aberrations according to G0-assay results.

Average value of the frequency of chromosomal aberrations induced in G2 assay in BC patient group was significantly higher than in the group of healthy women: 100.3 ± 12.3 and 61.2 ± 8.0 chromatid breaks per 100 metaphases, respectively ($p < 0.001$). The values of CV of chromosome aberration frequencies induced in G2 assay both in group of healthy women and cancer patients were higher than in G0 assay: 15 and 26 %, respectively. 5 of 44 women from the control group (11,4 %) and 14 of 37 BC patients (38 %) had elevated chromosomal radiation sensitivity according to G2 assay results.

There were no direct correlation between G0 and G2 scores in the examined groups: Pearson correlation coefficient was 0.11 in the control group and 0.15 – in the group of BC patients; sim-

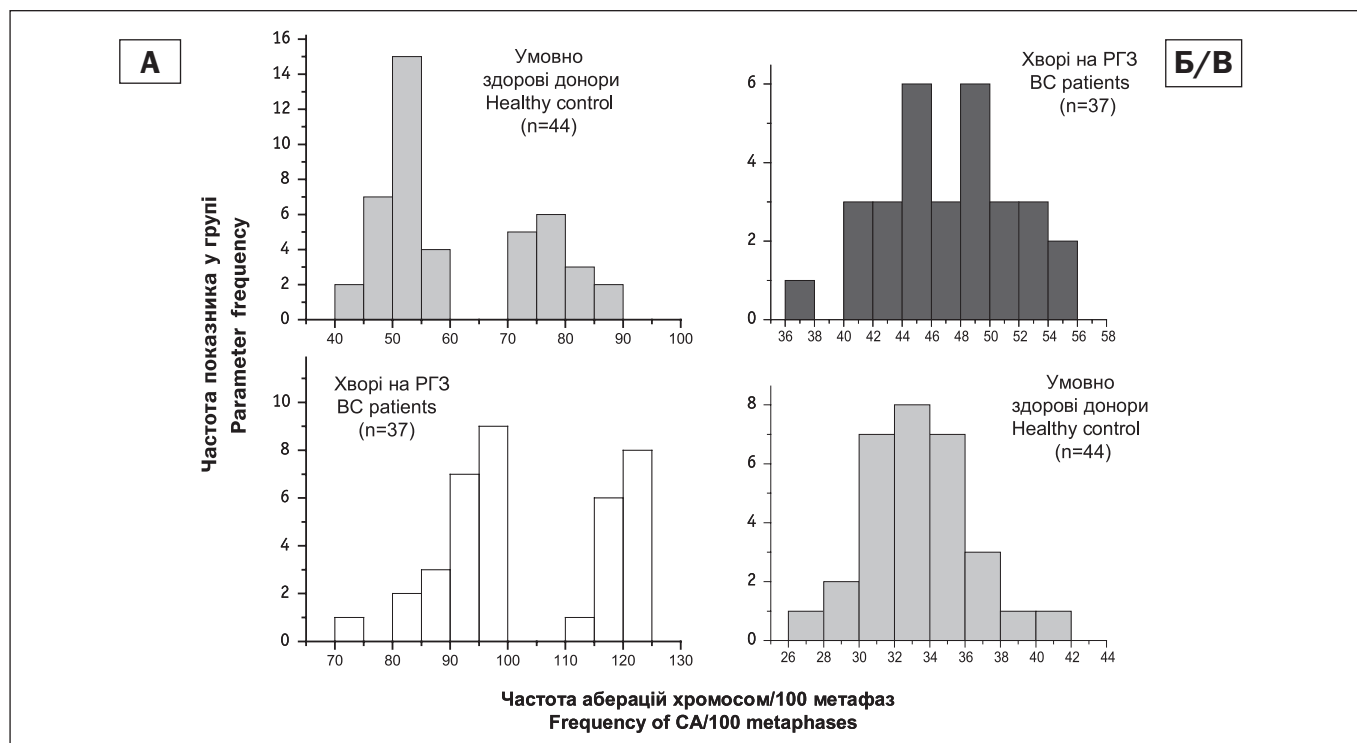


Рисунок 2. Розподіл частоти аберацій хромосом, індукованих тест-опроміненням лімфоцитів в групі умовно здорових жінок та хворих на РГЗ в G2 (А) та G0 (Б) фазах клітинного циклу

Figure 2. Distribution of chromosome aberrations induced by test irradiation of lymphocytes in group of healthy women and BC patients in G2 (A) and G0 (B) phases of the cell cycle

контрольній групі і 0,15 – в групі пацієнтів ($p < 0,05$). В групі контролю не виявлено осіб з підвищеними показниками радіаційної чутливості за результатами G0 і G2 тестів одночасно. В групі хворих на РГЗ ($n = 37$) – один донор. Розподіл онкологічних пацієнтів за віком показав, що середній вік “чутливих” осіб склав 47 років, тоді як для осіб з показниками G2 тесту в межах норми – 66 років. Вивчення кореляції результатів G2 тесту з віком донорів потребує подальших досліджень, проте можна припустити, що підвищені рівні ІРЧ на хромосомному рівні у відносно молодих хворих пов’язані з генетично детермінованою нестабільністю геному та схильністю до злоякісної трансформації.

Таким чином, “провокативне” *in vitro* опромінення ЛПК, на відміну від оцінки спонтанного рівня аберацій хромосом в популяції, дозволяє виявити “приховану” хромосомну нестабільність, виявити міжіндивідуальну варіабельність одержаних цитогенетичних параметрів та здійснити їх аналіз. В проведеному дослідженні не отримано достовірних доказів щодо підвищеної чутливості ЛПК хворих на РГЗ при *in vitro* опроміненні в дозі 2,0 Гр. При опроміненні лімфоцитів в найчутливішій стадії клітинного циклу G2/M міжіндивідуальна варіабельність аберацій хромосом (хроматидних розривів – основного типу радіаційно-індуко-

ilar results were obtained by the study [11]. There were no individuals with high scores of both G0 and G2 assays among examined healthy donors and only one woman – from group of BC patients. Analysis of patient distributions by age in BC group showed that the average age of “sensitive” individuals was 47 years and 66 for patients with “normal” G2 scores. Correlations of G2 chromosomal sensitivity with donor age require further research, however it can be suggested that elevated levels of radiation-induced chromosomal instability in younger cancer patients associated with genetically determined predisposition to malignant transformation.

Thus, application of additional “provocative” *in vitro* irradiation of PBL, reveals “hidden” chromosomal instability, inter-individual variability of cytogenetic parameters, allowing their quantity analysis. The presented study did not reveal significant evidence of chromosomal hypersensitivity of G0 PBL of cancer patients after *in vitro* irradiation at a dose of 2.0 Gy if compared with normal control. After PBL irradiation in the most sensitive G2/M phase of cell cycle variability of chromosome aberrations (chromatid and isochromatid breaks – the main type

ваних структурних перебудов хромосом, характерних для цієї фази) була істотно вища, ніж при опроміненні ЛПК в стані спокою (G₀ фази). Вважають, що хроматидні розриви формуються внаслідок індукції двониткових розривів ДНК; частота хроматидних розривів на думку авторів [12] напряму залежить від ефективності процесів їх розпізнавання і репарації, що відбуваються при опроміненні клітин в G₂/M стадії, тому їх можна розглядати як цитогенетичні маркери ефективності системи репарації радіаційно-індукованих двониткових розривів ДНК. Відомо, що негомологічне з'єднання кінців розривів ДНК (NHEJ) основний механізм репарації двониткових розривів, індукованих в G₀/G₁ стадії, тоді як впродовж пізньої S та G₂ стадій превалює репарація шляхом гомологічної рекомбінації (HR), ефективність якої може лежати в основі формування підвищеної хромосомної нестабільності у онкологічних хворих. Висока міжіндивідуальна варіабельність хроматидних розривів, що реєструється при опроміненні лімфоцитів хворих на РГЗ у G₂ фазі та високий відсоток осіб з підвищеною радіаційною чутливістю за результатами G₂ тесту у порівнянні з групою умовно здорових осіб дозволяє також припустити наявність асоціації між підвищеною радіаційною чутливістю, визначеною за G₂ тестом, та схильністю до РГЗ.

ВИСНОВКИ

Одержані результати свідчать, що серед хворих на РГЗ частка осіб з хромосомною нестабільністю ЛПК, індукованою їх *in vitro* опроміненням достовірно вища, ніж серед умовно здорових донорів за даними G₂ тесту: 11,4 і 38 %, відповідно (7 та 13 % за показниками G₀ тесту). Можна припустити, що прихована хромосомна нестабільність, виявлена в G₂ тесті у 38 % обстежених хворих на РГЗ, може бути асоційована з мутаціями/поліморфізмом генів системи розпізнавання та репарації двониткових розривів ДНК, що експресуються в G₂/M фазі клітинного циклу. Особи з групи здорового контролю з підвищеною радіаційною чутливістю ЛПК, визначеною за G₂ тестом, потребують подальших обстежень з метою встановлення схильності до РГЗ та первинної профілактики радіаційно-індукованих злякисних патологій.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Twardella D. Studies on radiosensitivity from an epidemiological point of view – overview of methods and results / D. Twardella, J. Chang-Claude // *Radiother. Oncol.* – 2002. – Vol. 62. – P. 249–260.
2. Normal tissue effects: reporting and analysis / S. M. Bentzen, W. Dorr, M. S. Anscher [et al.] // *Radiat. Oncol. Semin.* – 2003. – Vol. 13. – P. 189–202.

of radiation-induced chromosome structural rearrangements of this phase of cell cycle) was significantly higher than for G₀ phase irradiation. It is believed that chromatid breaks are formed due to the induction of DNA double stranded breaks (DSB); their frequency according to the authors [12] depends on the efficiency of DSB recognition and DNA repair in G₂/M phase and can be considered as cytogenetic markers of radiation-induced DNA double-strand break efficiency repair. It is known that NHEJ is a pathway of the DSB repair induced in G₀/G₁ phase, whereas during late S and G₂ phases homologous recombination (HR) repair mechanism prevails. Its defects may underlie the development of increased chromosomal instability in cancer patients. High inter-individual variability of chromosomal breaks in PBL of BC patients and higher proportion of individuals with increased chromosomal G₂ sensitivity after *in vitro* irradiation, when compared to healthy individuals, can also assume the existence of associations between defect HR mechanisms, increased G₂ chromosomal radiation sensitivity and high risk of BC development.

CONCLUSIONS

The obtained results indicate that among BC patients proportion of individuals with PBL G₂ chromosomal instability induced by *in vitro* radiation exposure was significantly higher than in healthy donors: 38 and 11,4 %, respectively (13 and 7 % according to G₀-assay). We can assume that hidden chromosomal instability found in the G₂ assay in 38 % of BC patients may be associated with mutations/polymorphisms of DNA repair genes expressed in the G₂/M phase of cell cycle. Individuals from the group of healthy control with increased chromosomal radiation sensitivity specified by the G₂ assay require further examinations to determine susceptibility to BC, from the one hand and application of measures for primary prevention of radiation-induced cancer, from the other.

REFERENCES

1. Twardella D, Chang-Claude J. Studies on radiosensitivity from an epidemiological point of view – overview of methods and results. *Radiother Oncol.* 2002 Mar;62(3):249-60.
2. Bentzen SM, Dorr W, Anscher MS, Denham JW, Hauer-Jensen M, Marks LB, et al. Normal tissue effects: reporting and analysis. *Semin Radiat Oncol.* 2003 Jul;13(3):189-202.

3. Individual differences in chromosomal aberrations after in vitro irradiation of cells from healthy individuals, cancer and cancer susceptibility syndrome patients / L. V. Distel, S. Neubauer, U. Keller [et al.] // *Radiother. Oncol.* – 2006. – Vol. 81. – P. 257–263.
4. G2 checkpoint control and G2 chromosomal radiosensitivity in cancer survivors and their families / K. K. Cadwell, G. B. Curwen, E. J. Tawn [et al.] // *Mutagenesis.* – 2011. – Vol. 26. – P. 291–294.
5. Increased chromosomal radiosensitivity in women carrying BRCA1/BRCA2 mutations assessed with the G2 assay / B. Ernestos, P. Nikolaos, G. Koulis [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2010. – Vol. 76. – P. 1199–1205.
6. Davis J. D. DNA damage and breast cancer / J. D. Davis, S. Y. Lin // *World J. Clin. Oncol.* – 2011. – Vol. 2(9). – P. 329–338.
7. Pharoah P. D. Polygenes, risk prediction, and targeted prevention of breast cancer / P. D. Pharoah, A. C. Antoniou, D. F. Easton, B. A. Ponder // *N. Engl. J. Med.* – 2008. – Vol. 358, No. 26. – P. 2796–2803.
8. Increased chromosomal radiosensitivity in breast cancer patients: a comparison of two assays / D. Scott D, J. B. Barber, A. R. Spreadborough [et al.] // *Int. J. Radiat. Biol.* – 1999. – Vol. 75. – P. 1–10.
9. Dyomina E. A. Increased individual chromosomal radiosensitivity of human lymphocytes as a parameter of cancer risk / E. A. Dyomina, N. M. Ryabchenko // *Exp. Oncol.* – 2007. – Vol. 29. – P. 217–220.
10. Cytogenetic analysis for radiation dose assessment. – Vienna : International Atomic Energy Agency, 2001. – 138 p. – (Technical reports series, ISSN 0074-1914 ; no. 405).
11. Borgmann K. The potential role of G2- but not of G0-radiosensitivity for predisposition of prostate cancer / K. Borgmann, A. Raabe, S. Reuther // *Radiother. Oncol.* – 2010. – Vol. 96. – P. 19–24.
12. The type and yield of ionising radiation induced chromosomal aberrations depend on the efficiency of different DSB repair pathways in mammalian cells / A. T. Natarajan, A. Berni, K. M. Marimuthu [et al.] // *Mutat. Res.* – 2008. – Vol. 642. – P. 80–85.
3. Distel LV, Neubauer S, Keller U, Sprung CN, Sauer R, Grabenbauer GG. Individual differences in chromosomal aberrations after in vitro irradiation of cells from healthy individuals, cancer and cancer susceptibility syndrome patients. *Radiother Oncol.* 2006 Dec;81(3):257-63.
4. Cadwell KK, Curwen GB, Tawn EJ, Winther JF, Boice JD Jr. G2 checkpoint control and G2 chromosomal radiosensitivity in cancer survivors and their families. *Mutagenesis.* 2011 Mar;26(2):291-4.
5. Ernestos B, Nikolaos P, Koulis G, Eleni R, Konstantinos B, Alexandra G, et al. Increased chromosomal radiosensitivity in women carrying BRCA1/BRCA2 mutations assessed with the G2 assay. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2010 Mar 15;76(4):1199-205.
6. Davis JD, Lin SY. DNA damage and breast cancer. *World J Clin Oncol.* 2011; 2:329-38.
7. Pharoah PD, Antoniou AC, Easton DF, Ponder BA. Polygenes, risk prediction, and targeted prevention of breast cancer. *N Engl J Med.* 2008 Jun 26;358(26):2796-803.
8. Scott D, Barber JB, Spreadborough AR, Burrill W, Roberts SA. Increased chromosomal radiosensitivity in breast cancer patients: a comparison of two assays. *Int J Radiat Biol.* 1999 Jan;75(1):1-10.
9. Dyomina EA, Ryabchenko NM. Increased individual chromosomal radiosensitivity of human lymphocytes as a parameter of cancer risk. *Exp Oncol.* 2007 Sep;29(3):217-20.
10. IAEA. Cytogenetic analysis for radiation dose assessment: a manual. Technical report series No. 405. Vienna: International Atomic Energy Agency; 2001. 138 p.
11. Borgmann K, Raabe A, Reuther S, Szymczak S, Schlomm T, Isbarn H, et al. The potential role of G2- but not of G0-radiosensitivity for predisposition of prostate cancer. *Radiother Oncol.* 2010 Jul;96(1):19-24.
12. Natarajan AT, Berni A, Marimuthu KM, Palitti F. The type and yield of ionising radiation induced chromosomal aberrations depend on the efficiency of different DSB repair pathways in mammalian cells. *Mutat Res.* 2008 Jul 3;642(1-2):80-5.

Received: 04.08.2014

Стаття надійшла до редакції 04.08.2014