

УДК (038)575-161.1-11

Е. А. Дьоміна✉

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького
Національної академії наук України; вул. Васильківська, 45, Київ, 03022, Україна*

ЗАЛЕЖНІСТЬ ДОЗА-ЕФЕКТ В РАДІАЦІЙНІЙ ЦИТОГЕНЕТИЦІ ЛЮДИНИ

Мета: вивчити частоту і спектр аберацій хромосом в лімфоцитах периферичної крові людини залежно від дози опромінення, стадії мітотичного циклу і термінів фіксації культури клітин.

Матеріали і методи. Тест-система лімфоцитів крові донорів, метафазний аналіз аберацій хромосом (рівномірне фарбування препаратів). Гамма-опромінення виконано на установці з джерелом ^{60}Co за потужності дози 0,5 Гр/хв, діапазон доз складав 0,25–4,0 Гр. Культуру лімфоцитів опромінювали через 0, 24, 40 і 48 год від початку інкубації, що відповідає G_0 -, G_1 -, S-, G_2 -стадіям мітотичного циклу. Фіксацію клітин проводили через 52 год і 62 год від початку інкубації.

Результати. Викладено експериментальні дані автора щодо закономірностей утворення аберацій хромосом при опроміненні в різні періоди мітотичного циклу культури лімфоцитів людини. Проаналізовано характер дозових залежностей структурних пошкоджень хромосом протягом мітотичного циклу із застосуванням лінійної, лінійно-квадратичної і параболічної моделей. Найбільший вихід аберацій обмінного типу реєструється при опроміненні в G_0 - і G_1 -стадії мітотичного циклу, який підпорядковується лінійно-квадратичній залежності від дози опромінення. При опроміненні клітин в S- і G_2 -стадії основний внесок у спектр радіаційно-індукованих аберацій хромосом вносять делеції, рівень яких зростає лінійно з дозою. Про це свідчать негативні значення квадратичного члена в регресійних рівняннях для цих стадій. Аналіз кривих з використанням параболічної моделі $Y = k \cdot D^n$ показав, що при опроміненні лімфоцитів в G_0 - і G_1 -стадії дозові залежності наближаються до квадратичних, що підтверджує правомочність інтерпретації отриманих цитогенетичних даних з позиції «класичної» теорії утворення радіаційно-індукованих аберацій хромосом. Однак точніша апроксимація залежностей цитогенетичних ефектів в області малих доз опромінення досягається з використанням моделі сплайнової регресії.

Висновки. Результати, отримані при опроміненні культури лімфоцитів людини в різні стадії мітотичного циклу, свідчать про те, що одна й та ж доза радіації індукує різний якісний і кількісний цитогенетичний ефект залежно від фізіологічного стану клітини в момент опромінення. Поєднання таких факторів, як величина дози радіації, стадія мітотичного циклу, постпроменеві умови, індивідуальна радіочутливість, відображається на кількісній і якісній варіаціях радіочутливості клітин.

Ключові слова: лімфоцити, аберації хромосом, опромінення, мітотичний цикл, дозові залежності, математичні моделі.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2019. Вип. 24. С. 235–249. doi: 10.33145/2304-8336-2019-24-235-249

✉ Дьоміна Емілія Анатоліївна, e-mail: edjomina@ukr.net

E. A. Djomina✉

R. E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of National Academy of Sciences of Ukraine, 45 Vasylykivska St., 03022, Kyiv, Ukraine

THE DEPENDENCE OF DOSE-EFFECTS IN HUMAN RADIATION CYTOGENETICS

Objective. To study the frequency and spectrum of chromosome aberrations in human peripheral blood lymphocytes depending on the radiation dose, the stage of the mitotic cycle and the periods of fixation of the cell culture.

Materials and methods. The test system of blood lymphocytes of donors, the metaphase analysis of chromosome aberrations (a uniform staining of the drugs). The gamma-irradiation was performed on the device with the source ^{60}Co at the dose rate of 0.5 Gy/min, the dose range was 0.25–4.0 Gy. The lymphocyte culture was irradiated after 0, 24, 40 and 48 hours from the beginning of the incubation, which corresponds to G_0 -, G_1 -, S-, G_2 -stages of the mitotic cycle. The cells were fixed after 52 hours and 62 hours from the beginning of the incubation.

Results. The author's experimental data on the regularities of chromosome aberrations formation during irradiation at the different periods of the mitotic cycle of human lymphocyte culture are presented. The character of the dose dependences of structural damages of chromosomes during the mitotic cycle with an application of the linear, linear-square and parabolic models is analyzed. The greatest yield of exchange-type aberrations is registered at the irradiation in G_0 - and G_1 -stages of the mitotic cycle, which submits to the linear-square dependence on an irradiation dose. When irradiating cells in the S- and G_2 -stages, the main contribution to the spectrum of radiation-induced chromosome aberrations is made by deletions, the level of which increases linearly with the dose. This is evidenced by the negative values of the quadratic term in the regression equations for these stages. The analysis of the curves using the parabolic model $Y = k \cdot Dn$ has shown that, at the irradiation of lymphocytes in G_0 - and G_1 -stages, the dose dependences approach the quadratic ones, which confirms the reasonableness of the interpretation of the obtained cytogenetic data from the point of view of the «classical» theory of the radiation-induced chromosome aberrations formation. However, the model of the spline regression is more accurate at the approximation of the dependences of the cytogenetic effects in the region of low doses of irradiation.

Conclusions. The results obtained by the irradiation of human lymphocyte culture at different stages of the mitotic cycle indicate that the same radiation dose induces different qualitative and quantitative cytogenetic effects depending on the physiological state of the cell at the time of irradiation. The combination of such factors as a radiation dose rate, a mitotic cycle stage, the post-irradiation conditions, and an individual radiosensitivity are reflected in quantitative and qualitative variations of the cellular radiosensitivity.

Key words: lymphocytes, chromosome aberrations, irradiation, mitotic cycle, dose dependences, mathematical models.

Problems of Radiation Medicine and Radiobiology. 2019;24:235-249. doi: 10.33145/2304-8336-2019-24-235-249

ВСТУП

Фундаментальні дослідження в галузі радіобіології служать концептуальною основою для подальшого прогресу променевої терапії онкологічних хворих. Вони дозволяють з'ясувати закономірності і механізми, що лежать в основі променевих реакцій з боку як пухлинних, так і здорових тканин, які потрапляють в зону терапевтичного опромінення. Однією з ключових залежностей в радіобіології, зокрема в радіаційній цитогенетиці, є зв'язок величини індукованого ефекту з дозою іонізуючого випромінювання (ІВ). Ця робота підсумовує результати наших багаторічних досліджень, спрямованих на з'ясування закономірностей форму-

INTRODUCTION

A fundamental research in the field of radiobiology serves as a conceptual basis for further progress in radiotherapy of cancer patients. It makes it possible to find out the regularities and mechanisms underlying the radiation reactions of both tumor and healthy tissues, which fall into the zone of therapeutic irradiation. One of the key dependencies in radiobiology, including radiation cytogenetics, is the relationship between the value of the induced effect and the dose of ionizing radiation (IR). The present work briefly summarizes the results of our long-term research aimed at evaluat-

✉ Emilia A. Djomina, e-mail: edjomina@ukr.net

вання цитогенетичних ефектів у соматичних клітинах людини залежно від дози опромінення, а також від стадії мітотичного циклу, тобто від ступеня їхньої радіочутливості. Найкращою радіобіологічною основою для проведення таких досліджень є тест-система лімфоцитів периферичної крові (ЛПК) людини з подальшим метафазним аналізом аберацій хромосом. Існує ряд критеріїв, що обумовлюють використання ЛПК як моделі малих дозиметрів з випадковим розподілом по всьому тілу опроміненого індивідуума. Коротко, ці критерії зводяться до такого: висока радіочутливість ЛПК, низький рівень спонтанних аберацій хромосом; природна синхронізація популяції лімфоцитів; їх циркуляція по всьому організму; уніфікація цитогенетичних протоколів; специфічність радіаційного ефекту; дозозалежне пошкодження хромосом і, нарешті, близька кількісна відповідність хромосомних аберацій при ідентичному опроміненні клітин *in vitro* та *in vivo* [1]. По суті, дві останні переваги культури ЛПК стали підставою для використання цієї тест-системи в біодозиметричних дослідженнях при неконтрольованих опромінюваннях людини. Крім того, цитогенетичні дослідження на ЛПК показали, що ступінь ураження цих клітин корелює з виразністю пізніх ефектів опромінення на рівні організму [2].

МЕТА

Вивчити частоту і спектр аберацій хромосом у ЛПК людини залежно від дози опромінення, стадії мітотичного циклу і термінів фіксації культури клітин.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Досліджено якісні та кількісні закономірності формування аберацій хромосом при гамма-опроміненні культури ЛПК донорів у різні періоди мітотичного циклу. В роботі керувалися положенням Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації (2008), яка передбачає інформовану згоду донорів на участь у дослідженні. Гамма-опромінення виконано на установці з джерелом ^{60}Co при потужності дози 0,5 Гр/хв. Досліджуваний діапазон доз становив 0,25–4,0 Гр. Культуру лімфоцитів опромінювали через 0, 24, 40 і 48 годин від початку інкубації, що відповідає G_0 -, G_1 -, S-, G_2 -стадіям мітотичного циклу. Культивування клітин здійснювали відповідно до стандартного протоколу [3] з деякими модифікаціями. Фіксацію клітин, опромінених протягом мітотичного циклу, проводили через 52 години від початку інкубації. При оп-

ing the regularities of formation of cytogenetic effects in human somatic cells depending on the dose of radiation and the stage of mitotic cycle. The best radiobiological basis for such studies is the test system of human peripheral blood lymphocytes (PBL) with subsequent metaphase analysis of chromosome aberrations. There is a number of criteria governing the use of PBL as a model of small dosimeters randomly distributed throughout the body of an irradiated individual. These criteria are summarized as follows: a high radiosensitivity of PBL, a low level of spontaneous chromosome aberrations, a natural synchronization of lymphocyte population, their circulation throughout the body, a unification of cytogenetic protocols, a specificity of radiation effect, a dose-dependent chromosome damage, and, finally, a close quantitative correspondence of chromosome aberrations at identical cell irradiation *in vitro* and *in vivo* [1]. In fact, the last two advantages of PBL culture became the basis for using this test-system in biodosimetric studies in uncontrolled human exposure. In addition, the cytogenetic studies on PBL showed that the degree of the damage to these cells correlates with the intensity of the late radiation effects at the level of the body [2].

OBJECTIVE

To study the frequency and the spectrum of chromosome aberrations in human PBL, depending on the dose of radiation, the stage of mitotic cycle and the timing of fixation of the cell culture.

MATERIALS AND METHODS

Qualitative and quantitative regularities of chromosome aberrations formation at gamma-irradiation of PBL culture of donors during different periods of mitotic cycle were investigated. The work was guided by the provision of the Helsinki Declaration of the World Medical Association (2008), which provides for the informed consent of donors to participate in the study. Gamma-irradiation was performed at the equipment with the source of ^{60}Co at the dose rate of 0.5 Gy/min. The investigated dose range was 0.25–4.0 Gy. The lymphocyte culture was irradiated after 0, 24, 40 and 48 hours from the beginning of incubation, which corresponds to G_0 -, G_1 -, S-, G_2 -stages of the mitotic cycle. The cultivation of the cells was performed according to the standard protocol [3] with some modifications. The cells irradiated during the mitotic cycle were fixated 52 hours after the start of incuba-

роміненні клітин у другій половині мітотичного циклу додатково проводили фіксацію клітин через 62 год. Метафазний аналіз аберацій хромосом проводили на рівномірно пофарбованих цитогенетичних препаратах.

Для статистичного опрацювання отриманих даних використовували лінійну, лінійно-квадратичну, параболічну та сплайнову моделі.

РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ

Кількісні варіації радіочутливості хромосом. Криві стадія–ефект. При опроміненні культури ЛПК в дозі 1,0 Гр фіксується два піки радіочутливості хромосом: на пізній G₁- і G₂-стадіях; S-стадія є найбільш радіорезистентною. Однак при дозі 2,0 Гр радіочутливість хромосом в G₁-стадії різко зростає, тоді як відмінності в радіочутливості між S- і G₂-стадіями згладжуються. При пізнішому терміні фіксації культури вихід аберацій в G₂-стадії зростає вдвічі, що вказує на радіаційно-індуковану затримку мітозу. Зі збільшенням дози гамма-випромінювання радіочутливість хромосом у культурі ЛПК за стадіями циклу стає більш диференційованою (рис. 1).

Таким чином, при проходженні клітин по циклу їх радіочутливість змінюється. Клітини в S-стадії – найбільш радіорезистентні, а в пізній G₂-стадії – максимально радіочутливі. Радіорезистентність S-клітин пояснюється ефективнішою гомологічною рекомбінацією, більшою доступністю непошкоджених матриць, а також конформаційними змінами ДНК в цьому періоді, які забезпечують доступ репаративних комплексів до пошкоджень [4].

When irradiating the cells in the second half of the mitotic cycle, an additional fixation of cells was performed – after 62 hours. The metaphase analysis of chromosome aberrations was performed on uniformly colored cytogenetic preparations.

The linear, linear-square, parabolic, and spline models were used for the statistical processing of the obtained data.

RESULTS AND DISCUSSION

Quantitative variations in chromosome radiation sensitivity. Curved stage effect. When irradiating a culture of PBL at a dose of 1.0 Gy, two peaks of chromosome sensitivity are recorded: at the late G₁- and G₂-stage; S-stage is the most radioresistant. However, at a dose of 2.0 Gy the radiosensitivity of chromosomes in G₁-stage increases sharply, while the differences in radiosensitivity between S- and G₂-stage are smoothed. At a later fixation period of the culture, the aberration yield of G₂-stage aberrations doubled, which indicates a radiation-induced mitosis retention. As the dose of the gamma radiation increases, a chromosome radiosensitivity in PBL culture becomes more differentiated by cycle stages (Fig. 1).

Thus, when the cells pass through the cycle, their radiosensitivity changes. The cells in the S-stage are the most radioresistant, and in the late G₂-stage – the most radiosensitive. The radioresistance of S-cells is explained by more effective homologous recombination, a greater availability of intact matrices, as well as the conformational changes in the DNA during this period, which ensures an access of repair complexes to damages [4].

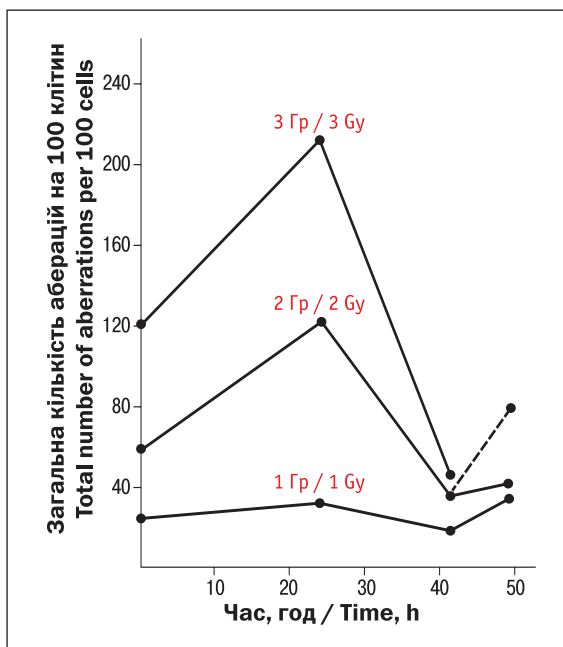


Рисунок 1. Кінетика загальної частоти аберацій хромосом у культурі лімфоцитів людини протягом мітотичного циклу при гамма-опроміненні.

Суцільні лінії – фіксація через 52 год; пунктирна – через 62 год.

Figure 1. Kinetics of total chromosome aberration frequency in human lymphocyte culture during the mitotic cycle under gamma-irradiation.

Solid lines – fixation after 52 h; dotted lines – after 62 h.

Затримка клітин при проходженні через G_1 -, S- і G_2 -стадії відбувається внаслідок активації контрольних точок, котрі розпізнають пошкодження ДНК [5, 6]. Контрольні точки – це певні тимчасові позиції в клітинному циклі, активуючи які можна блокувати/сповільнювати входження клітин у наступну стадію. Спочатку ми вважали, що такі точки затримки забезпечують клітинам більше часу для репарації ушкоджень ДНК. Однак на сьогодні таке судження справедливе лише частково. Відповідно до сучасних уявлень, просування клітин по циклу відбувається за рахунок дії циклінзалежних кіназ [7]. Вони фосфорилують різні білки і запускають механізм, необхідний для логічного завершення процесу мітозу. Вважають, що додатковий час для репарації – це фактор, який більш важливий для її якості, а не для обсягу процесу [7].

Якісні варіації радіочутливості хромосом. Криві стадія–ефект. Нами показано, що для G_0 - і G_1 -стадій характерне індукування аберацій хромосомного типу, G_2 -стадії – хроматидного типу, а для S-стадії – обидва типи аберацій. Таким чином, по мірі просування клітин по циклу спостерігається закономірна зміна аберацій хромосомного типу на хроматидний (рис. 2).

Кількісні варіації радіочутливості хромосом у різних стадіях мітотичного циклу лімфоцитів. Криві доза– ефект. При порівняльному аналізі дозових кривих для загального числа аберацій хромосом при гамма-опроміненні культури лімфоцитів у різних стадіях мітотичного циклу встановлено таке. Хід кривих, які відображають сумарне число аберацій хромосом при опроміненні в G_0 - і G_1 -

The cells are delayed when passing through G_1 -, S-, and G_2 -stages due to the activation of control points that recognize a DNA damage [5, 6]. The control points are defined time positions in the cell cycle, which can be activated to block / slow down the entry of the cells into the next stage. Initially, we thought that such delay points provided more time for the cells to repair the DNA damage. However, today this conclusion is only partially true. According to the modern notions [7], the cyclin-dependent kinases are responsible for the cell advancement in the cycle. They phosphorylate various proteins and trigger the mechanism, which are necessary to complete the mitosis process logically. According to these authors, an additional time for reparation is a factor that is more important for its quality than for the volume of the process.

Qualitative variations in chromosome radiosensitivity. Curved stage effect. We have shown that G_0 - and G_1 -stages are characterized by inducing chromosomal type aberrations, the G_2 -stage – by chromatid type, and for S-stage – by both types of aberrations. Thus, as the cells move along the cycle, there is a natural change of chromosomal type aberrations to chromatid type ones (Fig. 2).

Quantitative variations of chromosome radiosensitivity in different stages of the mitotic cycle of lymphocytes. The dose-effect curves. A comparative analysis of the curves for the total number of chromosome aberrations during the gamma-irradiation of lymphocyte culture in different stages of the mitotic cycle reveals the following. The course of the curves reflecting the total number of chromosome aberrations in G_0 - and

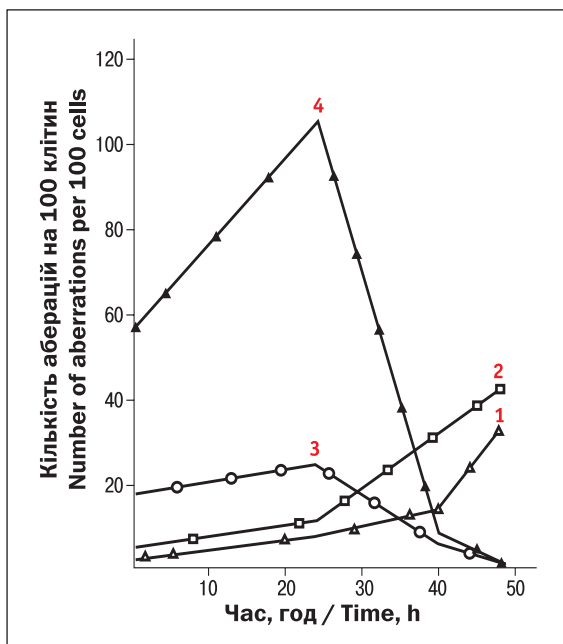


Рисунок 2. Кінетика аберацій хромосомного і хроматидного типу в культурі лімфоцитів людини протягом мітотичного циклу при гамма-опроміненні.

1, 2 – аберації хроматидного типу; 3, 4 – аберації хромосомного типу; 1, 3 – доза 1 Гр; 2, 4 – доза 2 Гр.

Figure 2. Kinetics of chromosomal and chromatid type aberrations in human lymphocyte culture during the mitotic cycle under gamma-irradiation.

1, 2 – chromatid type aberrations; 3, 4 – chromosomal type aberrations; 1, 3 – 1 Gy dose; 2, 4 – 2 Gy dose

стадії, подібний і апроксимується лінійно-квадратичною залежністю від дози (рис. 3). При опроміненні в S-стадії сумарне число аберацій зростає лінійно з дозою. У G₂-стадії на початку приблизно до дози 1 Гр спостерігається лінійна залежність ефекту від дози, після чого крива виходить на плато.

Оцінюючи радіочутливість клітин у різних періодах мітотичного циклу культури лімфоцитів, необхідно враховувати, як зазначено вище, частковий вплив спричиненої радіацією мітотичної затримки, внаслідок якої клітини в радіочутливому періоді з більшим числом пошкоджень тимчасово блокуються. Такі клітини потрапляють у метафазний аналіз тільки при пізніших термінах фіксації. По-друге, слід враховувати асинхронність популяції лімфоцитів при опроміненні в S- і G₂-стадіях циклу [8].

З огляду на викладене вище, ми провели експерименти з порівняльного вивчення виходу та спектру аберацій хромосом при опроміненні в S- і G₂-стадіях циклу і двох термінах фіксації клітин: 52 год і 62 год від початку культивування. Аналіз даних показав, що у разі опромінення клітин в S-стадії і двох термінах фіксації хід дозових кривих тотожний і відмінностей у частоті аберацій між двома термінами не відзначається (рис. 3). Однак при пізнішому терміні фіксації клітин, опроміненних в G₂-стадії, лінійна залежність числа аберацій хромосом спостерігається у всьому дослідженому діапазоні доз, на відміну від першої фіксації, при якій формується плато на дозовій кривій. Цей факт підтверджує часткову роль

G₁-stage irradiation is similar and approximated by the linear-square dose dependence (Fig. 3). At irradiation in the S-stage the total number of aberrations increases linearly with the dose. In the G₂-stage, in the beginning approximately up to the dose of 1 Gy a linear dependence of the effect on the dose is observed, after which the curve comes out on the plateau.

When assessing the radiosensitivity of the cells at different periods of the mitotic cycle of lymphocyte culture, it is necessary to take into account, as indicated above, the partial effect of radiation mitotic delay, due to which the cells are temporarily blocked during the radiosensitive period with a greater number of lesions. These cells come to the metaphase analysis only at later fixation periods. In addition, it is necessary to take into account the asynchronous nature of the lymphocyte population when irradiating in the S- and G₂-stages of the cycle [8].

In view of the above, we carried out experiments on the comparative study of the yield and spectrum of chromosome aberrations during the irradiation in the S- and G₂-stages of the cycle and two fixation periods: 52 hours and 62 hours from the beginning of the culturing. The analysis of the data showed that the course of the dose curves is identical at the cell irradiation in the S-stage and the two terms of fixation, as well as that there is no difference in the frequency of aberrations between the two terms (Fig. 3). However, at a later date of fixation of the cells that were irradiated in the G₂-stage, the linear dependence of the number of chromosome aberrations is observed in the entire range of the doses studied, in contrast to the first fixation, at which the plateau is formed on the dose curve. This

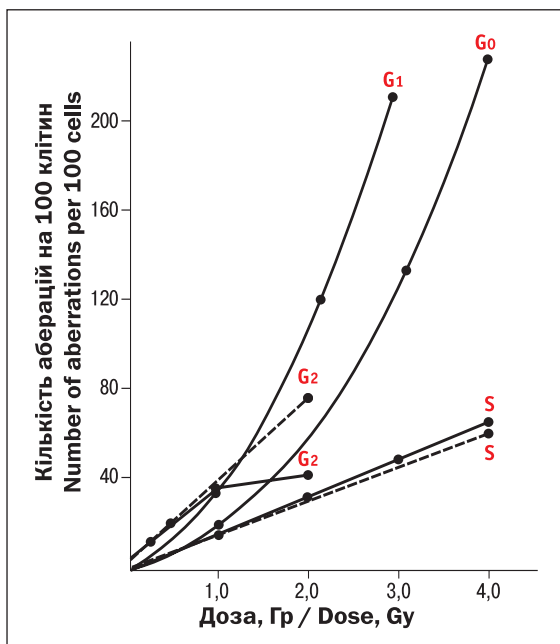


Рисунок 3. Дозова залежність сумарного числа аберацій хромосом у культурі лімфоцитів при гамма-опроміненні в різні стадії мітотичного циклу.

Суцільні лінії – фіксація культури клітин через 52 год; пунктирні – через 62 год.

Figure 3. The dose dependence of the total number of chromosome aberrations in the lymphocyte culture during gamma-irradiation at different stages of the mitotic cycle.

Full lines – a fixation after 52 hours; dotted lines – a fixation after 62 hours.

радіаційної затримки мітозу при оцінці характеру дозових кривих.

З метою об'єктивнішої оцінки характеру дозових кривих було виконано регресійний аналіз експериментальних даних з використанням рівняння:

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

де Y – кількість аберацій на 100 клітин, c – контрольний рівень, α і β – лінійний і квадратичний коефіцієнти регресійного рівняння, D і D^2 – доза гамма-опромінення.

Значення коефіцієнтів α і β , отриманих у нашому дослідженні, показують, що хоча при опроміненні в G_0 - і G_1 -стадіях вони позитивні, що відповідає лінійно-квадратичній моделі, однак лінійні члени не відрізняються достовірно від нуля і дозова залежність може бути описана також квадратичною кривою (табл. 1). При опроміненні в S - і G_2 -стадіях і фіксації через 52 год квадратичні члени негативні і достовірно відрізняються від нуля, що суперечить класичним моделям. Разом з тим, при фіксації клітин через 62 год дозові залежності задовільно узгоджуються з лінійною моделлю (табл. 1).

Криві доза-ефект для аберацій хромосомного типу. При опроміненні клітин в G_0 - і G_1 -стадіях вихід аберацій хромосомного типу відповідає лінійно-квадратичній залежності від дози. При опроміненні в S -стадії вихід хромосомних аберацій незначний і зростає лінійно з дозою (рис. 4). Однак при тривалішій інкубації клітин (62 год) спектр пошкоджень хромосом в S -стадії змінюється в бік зростання хромосомних і зниження числа хроматидних аберацій. І в цьому випадку дозова крива для хромосомних аберацій має лінійну за-

fact confirms the partial role of radiation delay of mitosis in assessing the nature of dose curves.

In order to make a more objective assessment of the nature of the dose curves, a regression analysis of the experimental data was performed using an equation:

where Y is the number of aberrations per 100 cells, c is the control level, α and β are the respective linear and quadratic coefficients of the regression equation, and D and D^2 are the gamma ray dose.

The values of the α and β coefficients obtained in our study show that although they are positive for irradiation in G_0 - and G_1 -stages, which corresponds to the linear-square model, the linear terms do not differ reliably from zero and the dose dependence can also be described by the quadratic curve (Table 1). At irradiation in S - and G_2 -stages and a fixation through 52 hours the quadratic terms are negative and reliably differ from zero that contradicts classical models. At the same time, at a fixation of the cells after 62 hours the dose dependences agree satisfactorily with the linear model (Table 1).

Dose-effect curves for chromosomal aberrations. When irradiating cells in G_0 - and G_1 -stage, the yield of chromosomal type aberrations corresponds to the linear-square dependence on the dose. During the irradiation in the S -stage the yield of chromosomal aberrations is insignificant and increases linearly with the dose (Fig. 4). However, the spectrum of chromosomal damage in the S -stage changes towards the increase of chromosomal and the decrease in the number of chromosomal aberrations at a longer cell incubation (62 hours). In this case the dose curve for chromosomal aberrations

Таблиця 1

Коефіцієнти регресійного рівняння $Y = \alpha D + \beta D^2 + c$ для сумарної частоти аберацій хромосом у культурі лімфоцитів при гамма-опроміненні в різні стадії мітотичного циклу

Table 1

The coefficients of the regression equation $Y = \alpha D + \beta D^2 + c$ for the total frequency of chromosome aberrations in the lymphocyte culture during the gamma-irradiation at different stages of the mitotic cycle

Стадії циклу The stage of the cycle	Тривалість опромінення, год The radiation time, h	$Y = \alpha D + \beta D^2 + c$
G_0	0	$Y = 2,28(\pm 2,39)D + 13,75(\pm 0,97)D^2 + 2,2$
G_1	24	$Y = 12,75(\pm 13,47)D + 20,15(\pm 6,24)D^2 + 2,2$
S	40	$Y = 16,35(\pm 0,22)D - 0,25(\pm 0,08)D^2 + 2,2$
S^*	40	$Y = 14,09(\pm 1,39)D + 0,28(\pm 0,45)D^2 + 2,2$
G_2	48	$Y = 38,82(\pm 4,83)D - 8,44(\pm 4,19)D^2 + 2,2$
G_2^*	48	$Y = 33,79(\pm 3,19)D + 2,14(\pm 2,77)D^2 + 2,2$

Примітка. * – фіксація клітин через 62 год.
Note. * – the cell fixation in 62 hours.

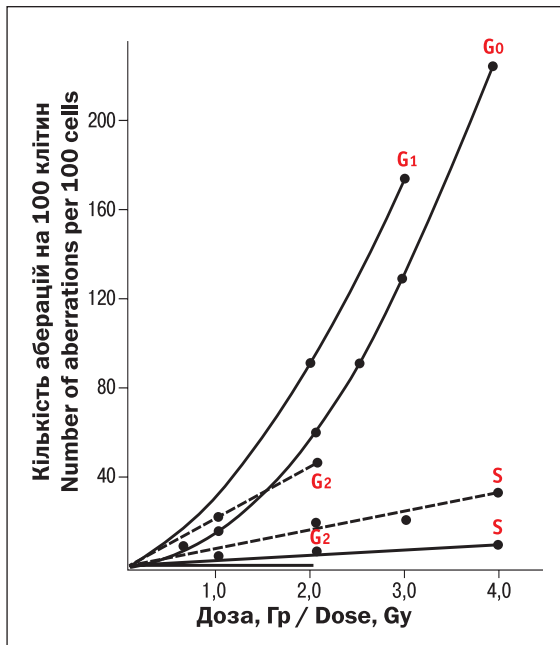


Рисунок 4. Дозова залежність виходу аберацій хромосомного типу в культурі лімфоцитів при гамма-опроміненні в різні стадії мітотичного циклу.

Позначки див. рис. 3.

Figure 4. The dose dependence of the yield of chromosomal type aberrations in the lymphocyte culture at the gamma-irradiation in different stages of the mitotic cycle.

See Fig. 3 for designations.

лежність. Рівень хромосомних аберацій, індукованих в G₂-стадії, незначний. Однак при більш тривалій інкубації клітин (62 год) він зростає, причому лінійно з дозою. Порівняння коефіцієнтів α і β регресійних рівнянь, обчислених для аберацій хромосомного типу, підтверджує ці закономірності (табл. 2).

У G₀- і G₁-стадіях, де хромосомний тип аберацій є основним у спектрі пошкоджень хромосом, вихід таких аберацій підпорядковується лінійно-квадратичному закону, про що свідчать більші значення β порівняно з α . У S- і G₂-стадіях, де основний тип аберацій – аберації хроматидного типу, вихід хромосомних аберацій підпорядковується лінійній залежності від дози, про що свідчать близькі до нуля значення квадратичного члена рівняння.

also has a linear dependence. The level of chromosomal aberrations induced in the G₂-stage is insignificant. However, when cells are incubated for longer periods of time (62 hours), it increases linearly with the dose. A comparison of the α and β coefficients of the regression equations calculated for chromosomal aberrations confirms these regularities (Table 2).

In the G₀- and G₁-stages, where the chromosomal type of aberrations is the main type of chromosomal aberrations in the spectrum of chromosomal damage, the yield of such aberrations is subject to the linear-square rule, as evidenced by the higher values of β compared to α . In the S- and G₂-stages, where the main type of aberration is a chromatid type aberration, the yield of chromosomal aberrations is subordinated to the linear dose dependence, as evidenced by the close to zero values of the square term of the equation.

Таблиця 2

Коефіцієнти регресійного рівняння $Y = \alpha D + \beta D^2 + c$ для аберацій хромосомного типу при гамма-опроміненні лімфоцитів у різні стадії мітотичного циклу

Table 2

The coefficients of the regression equation $Y = \alpha D + \beta D^2 + c$ for the chromosomal type aberrations at gamma-irradiation of lymphocytes in the different stages of the mitotic cycle

Стадії циклу The stage of the cycle	Тривалість опромінення, год The radiation time, h	$Y = \alpha D + \beta D^2 + c$
G ₀	0	$Y = 3,34D + 13,17D^2 + 0,8$
G ₁	24	$Y = 8,77D + 18,02D^2 + 0,8$
S	40	$Y = 8,55D - 1,32D^2 + 0,8$
S*	40	$Y = 14,74D - 1,77D^2 + 0,8$
G ₂	48	$Y = 2,69D - 0,11D^2 + 0,8$
G ₂ *	48	$Y = 20,90D - 4,78D^2 + 0,8$

Примітка. * – фіксація клітин через 62 год.
Note. * – the cell fixation in 62 hours.

Криві доза-ефект для аберацій хроматидного типу. Найменший вихід хроматидних аберацій відзначається при опроміненні в G_0 -стадії (рис. 5). При опроміненні в G_1 -стадії число хроматидних аберацій значно вище і зростає з дозою нелінійно, тоді як при опроміненні клітин в S -стадії число хроматидних аберацій зростає лінійно з дозою. Однак при більш тривалому культивуванні клітин спостерігається дозова залежність, подібна до отриманої при опроміненні в G_1 -стадії. В G_2 -стадії дозова крива виходу хроматидних аберацій повторює хід дозової кривої для загального числа аберацій: спочатку спостерігається лінійна залежність ефекту від дози, а потім крива виходить на плато (див. рис. 3). При більш тривалій інкубації клітин лінійна дозова залежність виходу хроматидних аберацій при опроміненні в G_2 -стадії зберігається у всьому дослідженому діапазоні доз.

Порівняння коефіцієнтів лінійно-квадратичного рівняння для хроматидних аберацій, індукованих в різних стадіях мітотичного циклу, дозволяє дійти висновку про таке. Вихід аберацій в G_0 -стадії настільки малий, що обидва коефіцієнти лінійно-квадратичного рівняння $Y = -1,07 (\pm 0,79)D + 0,57 (\pm 0,32)D^2 + 1,4$ суттєво не відрізняються від нуля (табл. 3). При опроміненні в S -стадії і фіксації через 52 год відзначається лінійна залежність, при фіксації через 62 год – лінійно-квадратична. При опроміненні в G_2 -стадії при обох термінах фіксації число аберацій зростає повільніше, ніж за лінійним законом, хоча при пізнійшій фіксації (62 год) відхилення від лінійності є несуттєвим. Характе-

Dose-effect curves for chromatid type aberrations. The lowest yield of chromatic aberrations is observed at irradiation in the G_0 -stage (Fig. 5). At irradiation in the G_1 -stage the number of chromatic aberrations is much higher and does not increase with the dose linearly, whereas at irradiation of the cells in the S -stage the number of chromatic aberrations increases linearly with the dose. However, in case of a longer cell cultivation, a dose dependence similar to that obtained during the irradiation in the G_1 -stage is observed. In the G_2 -stage, the dose curve of the yield of chromatic aberrations repeats the course of the dose curve for the total number of aberrations: first, a linear dependence of the effect on the dose is observed, and then the curve comes out on the plateau (see Fig. 3). In case of a longer cell incubation, the linear dose dependence of the yield of chromatic aberrations at the irradiation in the G_2 -stage remains in the whole investigated dose range.

The comparison of the linear-square equation coefficients for chromatic aberrations, which are induced in the different stages of the mitotic cycle, allows us to conclude the following. The output of the aberrations in the G_0 -stage is so small that both coefficients of the linear-square equation $Y = -1,07(\pm 0.79)D + 0,57(\pm 0.32)D^2 + 1,4$ do not differ significantly from zero (Table 3). The irradiation in the S -stage and a fixation after 52 hours is marked by the linear dependence, while a fixation after 62 hours is marked by a linear-square dependence. During the irradiation in the G_2 -stage at both fixation terms, the number of aberrations increases slower than in accordance with the linear rule, although the deviation from linearity is

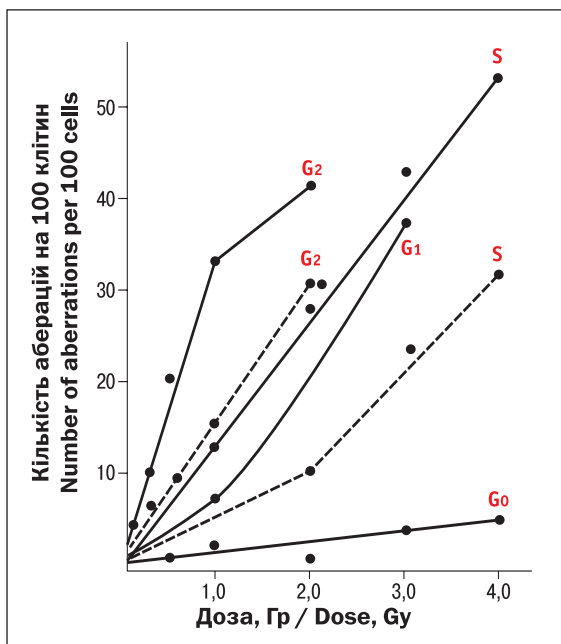


Рисунок 5. Дозова залежність виходу аберацій хроматидного типу в культурі лімфоцитів при гамма-опроміненні в різні стадії мітотичного циклу.

Позначення див. рис. 3.

Figure 5. The dose dependence of the yield of the chromatid type aberrations in the lymphocyte culture at gamma-irradiation in different stages of the mitotic cycle.

See Fig. 3 for designations.

Таблиця 3

Коефіцієнти регресійного рівняння $Y = \alpha D + \beta D^2 + c$ для аберацій хроматидного типу при гамма-опроміненні лімфоцитів у різні стадії митотичного циклу

Table 3

The coefficients of the regression equation $Y = \alpha D + \beta D^2 + c$ for chromatid type aberrations at gamma-irradiation of lymphocytes in different stages of the mitotic cycle

Стадії циклу The stage of the cycle	Тривалість опромінення, год The radiation time, h	$Y = \alpha D + \beta D^2 + c$
G ₀	0	$Y = -1,07D + 0,57D^2 + 1,4$
G ₁	24	$Y = 3,97D + 2,13D^2 + 1,4$
S	40	$Y = 7,80D + 1,06D^2 + 1,4$
S*	40	$Y = -0,07D + 2,05D^2 + 1,4$
G ₂	48	$Y = 36,12D - 8,33D^2 + 1,4$
G ₂ *	48	$Y = 12,89D - 2,64D^2 + 1,4$

Примітка. * – фіксація клітин через 62 год.
Note. * – the cell fixation in 62 hours.

ристика таких форм дозових залежностей приведена нижче.

Криві доза-ефект для аберацій обмінного типу. При опроміненні в G₀-, G₁-, S-стадії (фіксація через 52 год) вихід обмінних аберацій зростає лінійно-квадратично з дозою. У G₂-стадії (фіксація через 52 год) вихід обмінів незначний. При опроміненні в S-, G₂-стадії (фіксація через 62 год) число обмінних аберацій збільшується лінійно з дозою (рис. 6). Ці закономірності

insignificant at a later fixation (62 hours). These forms of dose dependencies are described below.

Dose-effect curves for exchange-type aberrations. At the irradiation in the G₀-, G₁-, S-stages (a fixation after 52 hours) the yield of exchange aberrations increases linearly-squarely with the dose. In the G₂-stage (a fixation after 52 hours) the exchange yield is insignificant. When irradiated in the S-, G₂-stages (a fixation after 62 hours), the number of exchange aberrations increases linearly with the dose (Fig. 6). These

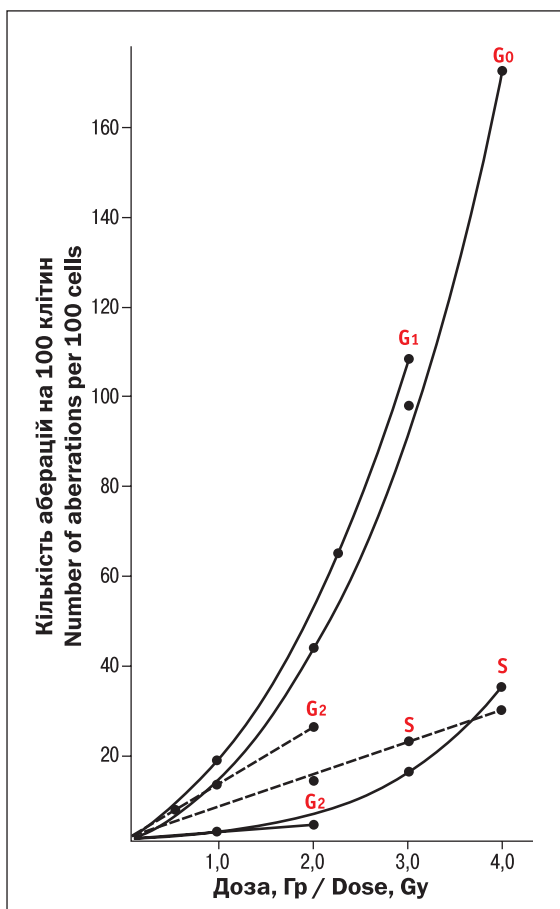


Рисунок 6. Дозова залежність виходу аберацій обмінного типу при гамма-опроміненні лімфоцитів у різні стадії митотичного циклу.

Позначення див. рис. 3.

Figure 6. The dose dependence of the yield of exchange-type aberrations at gamma-irradiation of lymphocytes in different stages of the mitotic cycle.

See Fig. 3 for designations.

підтверджуються параметрами лінійно-квадратичного рівняння, обчисленого для аберацій обмінного типу в різних стадіях циклу (табл. 4). У рівняннях для різних стадій мітотичного циклу і фіксації через 52 год (крім G₂-стадії, де вихід обмінів незначний) досить виражений квадратичний член, що обумовлює лінійно-квадратичну залежність ефекту від дози. При фіксації клітин через 62 год основний вплив має лінійний член рівняння.

regularities are confirmed by the parameters of the linear-square equation, which is calculated for the exchange-type aberrations in the different stages of the cycle (Table 4). In the equations for different stages of the mitotic cycle and a fixation after 52 hours (except for the G₂-stage, where the yield of exchanges is insignificant) a square term is significantly important, which determines the linear-square dependence of the effect on the dose. When fixing the cells after 62 hours, the main effect is on the linear term of the equation.

Таблиця 4

Коефіцієнти регресійного рівняння $Y = \alpha D + \beta D^2 + c$ для аберацій обмінного типу при гамма-опроміненні лімфоцитів у різні стадії мітотичного циклу

Table 4

The coefficients of the regression equation $Y = \alpha D + \beta D^2 + c$ for the exchange-type aberrations during gamma-irradiation of lymphocytes at different stages of the mitotic cycle

Стадії циклу The stage of the cycle	Тривалість опромінення, год The radiation time, h	$Y = \alpha D + \beta D^2 + c$
G ₀	0	$Y = 3,05D + 10,40D^2 + 0,1$
G ₁	24	$Y = 14,41D + 6,70D^2 + 0,1$
S	40	$Y = -0,09D + 2,03D^2 + 0,1$
S*	40	$Y = 5,39D + 0,58D^2 + 0,1$
G ₂	48	$Y = 4,23D - 0,86D^2 + 0,1$
G ₂ *	48	$Y = 6,58D + 2,42D^2 + 0,1$

Примітка. * – фіксація клітин через 62 год.
Note. * – the cell fixation in 62 hours.

Криві доза-ефект для делецій. Рівень фрагментів при опроміненні в G₀- та G₁-стадіях представлений лінійно-квадратичною дозовою кривою, в S- і G₂-стадіях – спочатку зростає лінійно, а потім формується плато (рис. 7). При тривалій інкубації клітин в S- і G₂-стадії лінійна залежність

Dose-effect curves for deletions. The level of fragments at irradiation in the G₀- and G₁-stages is presented by the linear-square dose curve, in the S- and G₂-stages it increases linearly first, and then the plateau is formed (Fig. 7). In case of the prolonged cell incubation in the S- and G₂-stages, the linear

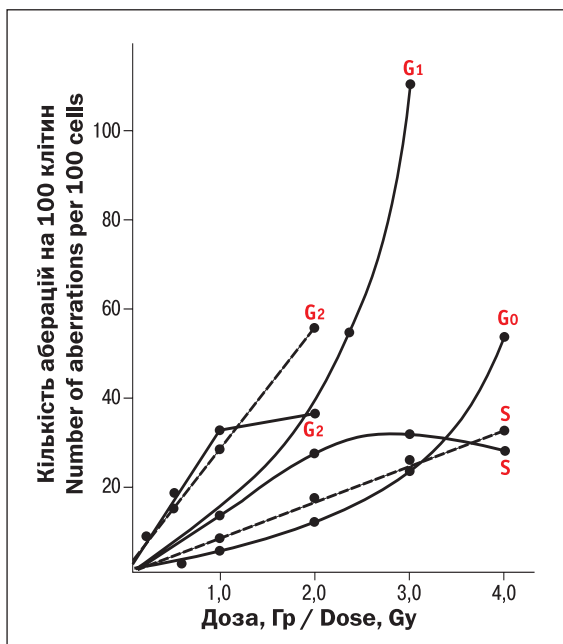


Рисунок 7. Дозова залежність виходу делецій при гамма-опроміненні лімфоцитів у різні стадії мітотичного циклу. Позначення див. рис. 3.

Figure 7. The dose dependence of the deletion yield at the gamma-irradiation of lymphocytes at the different stages of the mitotic cycle.

See Fig. 3 for designations.

числа фрагментів від дози зберігається у всьому дослідженому діапазоні. Обчислені параметри лінійно-квадратичного рівняння для цього виду аберацій підтверджують графічне зображення даних (табл. 5).

Класична інтерпретація утворення аберацій хромосом при впливі рідкоіонізуючого випромінювання включає лінійну залежність ефекту від дози для однорозривних аберацій (делецій) і квадратичну — для дворозривних (обмінів). Це обумовлено тим, що аберації обмінного типу — результат взаємодії двох первинних ушкоджень і рівень їх повинен зростати пропорційно квадрату числа ушкоджень, а кількість делецій — пропорційно числу пошкоджень. Вважають, що частина дворозривних аберацій може бути індукованою одним іонізуючим треком і тому в дозовій кривій очікується лінійна компонента. Отже, частина перебудов хромосом виникає за двоударним, а частина — за одноударним механізмом. Звідси, гетерогенний склад перебудов хромосом описується лінійно-квадратичних рівнянням.

Результати, отримані нами при опроміненні клітин в G₀- і G₁-стадіях, у першому наближенні, не суперечать основним постулатам класичної інтерпретації. Найбільший вихід аберацій обмінного типу реєструється при опроміненні в G₀- і G₁-стадіях мітотичного циклу. При цьому вихід обмінів підпорядковується лінійно-квадратичній залежності від дози опромінення. При опроміненні в S-стадії частота обмінних аберацій хромосом достатня для аналізу і зростає лінійно-квадратично з дозою. Однак в G₂-стадії вихід обмінів незначний і характеризується лінійною дозовою залежністю.

dependence of the number of fragments on the dose remains in the whole investigated range. The calculated parameters of the linear-square equation for this type of aberrations confirm the graphical image of the data (Table 5).

The classical interpretation of the chromosome aberration formation under the influence of the rare-ionizing radiation includes a linear dependence of the effect on the dose for single-breaking aberrations (divisions) and quadratic — for two-breaking (exchanges). This is due to the fact that the exchange-type aberrations are the result of the interaction of two primary lesions and their level should increase proportionally to the square of the number of lesions, and the number of deletions - proportionally to the number of the lesions. It is believed that some of the binary aberrations may be induced by a single ionizing track and therefore a linear component is expected in the dose curve. Consequently, some chromosome rearrangements occur on the basis of a two-impact mechanism and some on the basis of a single-impact mechanism. Hence, the heterogeneous composition of chromosome rearrangements is described by the linear-square equation.

The results obtained in the first approximation of G₀- and G₁-stage cell irradiation do not contradict the basic postulates of classical interpretation. The largest yield of the exchange-type aberrations is registered at the irradiation in the G₀- and G₁-stages of the mitotic cycle. In this case, the output of exchanges is subject to the linear-square dependence on the dose of radiation. During irradiation in the S-stage the frequency of chromosome exchange aberrations is sufficient for the analysis and increases linearly-squarely with the dose. However, in the G₂-stage the exchange rate is insignificant and is characterized by the linear dose dependence.

Таблиця 5

Коефіцієнти регресійного рівняння $Y = \alpha D + \beta D^2 + c$ для делецій при гамма-опроміненні лімфоцитів у різні стадії мітотичного циклу

Table 5

The coefficients of the regression equation $Y = \alpha D + \beta D^2 + c$ for the deletions in the gamma-irradiation of lymphocytes at different stages of the mitotic cycle

Стадії циклу The stage of the cycle	Тривалість опромінення, год The radiation time, h	$Y = \alpha D + \beta D^2 + c$
G ₀	0	$Y = -0,780 + 3,35D^2 + 2,1$
G ₁	24	$Y = -1,66D + 13,45D^2 + 2,1$
S	40	$Y = 16,44D - 2,28D^2 + 2,1$
S*	40	$Y = 8,68D - 0,29D^2 + 2,1$
G ₂	48	$Y = 34,58D - 7,58D^2 + 2,1$
G ₂ *	48	$Y = 27,21D - 0,29D^2 + 2,1$

Примітка. * — фіксація клітин через 62 год.
Note. * — the cell fixation in 62 hours.

При опроміненні клітин в S- і G₂-стадіях основний внесок у спектр радіаційно-індукованих аберацій хромосом вносять делеції, рівень яких зростає лінійно з дозою. Про це свідчать негативні значення квадратичного члена в регресійних рівняннях для цих стадій. У G₀- і G₁-стадіях число делецій зростає по квадратичній компоненті і в регресійних рівняннях, обчислених для цих стадій, лінійний член має негативну величину. Спостережуване відхилення від лінійної залежності у виході делецій може бути пов'язано з тим, що при опроміненні в G₀- і G₁-стадіях у спектрі ушкоджень переважають аберації обмінного типу і, ймовірно, велика частина хромосомних фрагментів є наслідком неповних обмінів (неполучені фрагменти), а при опроміненні в S- і G₂-стадіях індукуються справжні делеції.

Додатковий аналіз дозової кривої з використанням параболічної моделі $Y = k \cdot Dn$ показав, що при опроміненні лімфоцитів в G₀- і G₁-стадіях дозові залежності наближаються до квадратичних. У цих стадіях мітотичного циклу переважають аберації хромосомного і обмінного типів. Це також підтверджує правомочність інтерпретації отриманих цитогенетичних даних з позиції «класичної» теорії.

Далі нами було показано, що використовувана кусочно-лінійна модель (так звана модель сплайнової регресії) [9] є точнішою при апроксимації залежностей цитогенетичних ефектів в області малих доз іонізуючого випромінювання [10]. Крім того, нами встановлено, що на характер залежності виходу аберацій хромосом при гамма-опроміненні культури лімфоцитів впливає генетично детермінована індивідуальна радіочутливість людини, пов'язана з ефективністю процесів репарації [11]. Тому для побудови дозових кривих на основі цитогенетичних показників ЛПК доцільно враховувати індивідуальну радіочутливість людини за результатами хромосомного G₂-тесту [12] і застосовувати модель сплайнової регресії, яка характеризується найбільшою відповідністю експериментальним даним і мінімальною помилкою [13]. Апроксимація стандартних калібрувальних кривих на основі сплайнової моделі дає можливість прогнозувати вихід кривої на плато (дозонезалежну ділянку), що особливо важливо для інтерпретації ефектів у області малих доз іонізуючої радіації.

Слід визнати, що аналіз взаємозв'язку між поглиненою дозою іонізуючого випромінювання та індукованим ефектом, а також вивчення факторів,

When irradiating cells in the S- and G₂-stage, the main contribution to the spectrum of the radiation-induced chromosome aberrations is made by deletions, the level of which increases linearly with the dose. This is evidenced by the negative values of the quadratic term in the regression equations for these stages. In the G₀- and G₁-stages the number of deletions increases by the quadratic component and in the regression equations calculated for these stages, the linear term has a negative value. The observed deviation from the linear relationship in the deletion output can be explained by the fact that during the G₀- and G₁-stage irradiation, the damage spectrum is dominated by the aberrations of exchange type and, probably, most of the chromosomal fragments are the result of the incomplete exchanges (the unbound fragments), and true deletions are induced in the S- and G₂-stage irradiation.

An additional analysis of the dose curve using the parabolic model $Y = k \cdot Dn$ has shown that the dose dependencies in the G₀- and G₁-stage of the lymphocyte's irradiation are close to quadratic. In these stages of the mitotic cycle, chromosomal and exchange aberrations predominate. This also confirms the validity of the interpretation of the obtained cytogenetic data from the perspective of the «classical» theory.

Further we have shown that the used piecewise linear model (the so-called spline regression model) [9] is more accurate when approximating the dependencies of the cytogenetic effects in the area of low doses of IR [10]. Later on, we found out that the dependence of chromosome aberrations yield during a gamma-irradiation of a lymphocyte culture is influenced by the genetically determined human individual radiation sensitivity (IRS) associated with the efficiency of the repair processes [11]. Therefore, for the construction of the dose curves based on the cytogenetic parameters of PBL, it is advisable to take into account the human IRS based on the results of the chromosomal G₂-test [12] and apply the spline regression model, which is characterized by the highest correspondence to the experimental data and the minimum error [13]. The approximation of the standard calibration curves on the basis of the spline model makes it possible to predict the output of the curve on the plateau (a dose-dependent area), which is especially important for the interpretation of the effects in the field of low doses of ionizing radiation.

It should be noted that the analysis of the relationship between the absorbed dose of IR and the induced effect, as well as the factors influencing

які впливають на цей зв'язок, залишається актуальною проблемою не тільки радіобіології, а й радіаційної онкології. Так, новий напрямок радіаційної онкології (conformal radiotherapy) засновано на формуванні поля опромінення, наближеного до конфігурації пухлинного вогнища. Це знижує дозове навантаження на здорові клітини, що потрапляють в зону терапевтичного опромінення. Однак використання лінійних прискорювачів високої потужності, великої кількості полів опромінення збільшує коліматорне і фантомне розсіювання, що в тій чи іншій мірі відбивається на радіочутливості здорових тканин з оточення пухлини. Тому облік характеру дозової залежності при опроміненні нормальних клітин залишається затребуваною темою радіобіологічних досліджень для об'єктивного прогнозу розвитку ранніх і пізніх постпроменевих ускладнень.

ВИСНОВКИ

Результати, отримані при гамма-опроміненні культури лімфоцитів людини в різні стадії мітотичного циклу, свідчать про те, що одна й та ж доза радіації індукує різний якісний і кількісний цитогенетичний ефект залежно від фізіологічного стану клітини в момент опромінення. Поєднання таких факторів, як величина дози радіації, стадія мітотичного циклу, постпроменеві умови, індивідуальна радіочутливість людини відображаються на кількісній та якісній варіаціях радіочутливості клітин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Радиационная цитогенетика / Э. А. Демина, М. А. Пилинская, Ю. И. Петунин, Д. А. Ключин. Киев : Здоров'я, 2009. 368 с.
2. Lymphocyte radiosensitivity is a significant prognostic factor for morbidity in carcinoma of the cervix / S. C. West, S. F. Davidson, S. A. Elayn et al. *Int. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2001. Vol. 51. P. 10–15. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0360-3016\(01\)01575-9](https://doi.org/10.1016/S0360-3016(01)01575-9).
3. Cytogenetic dosimetry: Applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna : IAEA, 2011. 232 p.
4. West S. C. Molecular views of recombination proteins and their control. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2003. Vol. 4. P. 435–445. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrm1127>.
5. Kastan M. B., Bartek J. Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature.* 2004. Vol. 432. P. 316–323. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature03097>.
6. Lieber M. R. The mechanism of human nonhomologous DNA end joining. *J. Biol. Chem.* 2008. Vol. 283. P. 1–5. DOI: 10.1074/jbc.R700039200.
7. Джойнер М. С., Когель О. Д. Основы клинической радиобиологии. Пер. с англ. М. : БИНОМ, 2013. 600 с.

this relationship, remains an important problem not only in a radiobiology, but also in a radiation oncology. Thus, a new direction of a radiation oncology – a conformal radiotherapy – is based on the formation of an irradiation field, close to the configuration of the tumor location. This reduces the burden of the dose on the healthy cells in the zone of the therapeutic radiation. However, the use of the high power linear accelerators and a large number of radiation fields increases a collimator and a phantom scattering, which has some effect on the radiosensitivity of the healthy tissues around a tumor location. Therefore, taking into account the nature of the dose dependence in the irradiation of normal cells remains a popular topic for radiobiological studies to objectively predict the development of early and late post-radiation complications.

CONCLUSIONS

The results obtained during the gamma-irradiation of the human lymphocyte culture at different stages of the mitotic cycle indicate that the same radiation dose induces different qualitative and quantitative cytogenetic effects depending on the physiological state of the cell at the time of irradiation. The combination of such factors as a radiation dose rate, a stage of the mitotic cycle, the post-beam conditions, and a human IRS are reflected in the quantitative and qualitative variations of the cellular sensitivity.

REFERENCES

1. Domina EA, Pilinskaya MA, Petunin YI, Klushin DA. [Radiation cytogenetics]. Kyiv: Zdorov'ya; 2009. 368 p. Russian.
2. West SC, Davidson SF, Elayn SA, Valentine H, Roberts SA, Swindell R, Hunter RD. Lymphocyte radiosensitivity is a significant prognostic factor for morbidity in carcinoma of the cervix. *Int Radiat Oncol Biol Phys.* 2001;51:10-5. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0360-3016\(01\)01575-9](https://doi.org/10.1016/S0360-3016(01)01575-9).
3. Cytogenetic dosimetry: Applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna: International Atomic Energy Agency; 2011. 232 p.
4. West SC. Molecular views of recombination proteins and their control. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003;4:435-45. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrm1127>.
5. Kastan MB, Bartek J. Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature.* 2004;432:316-23. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature03097>.
6. Lieber MR. The mechanism of human nonhomologous DNA end joining. *J Biol Chem.* 2008;283:1-5. DOI: : 10.1074/jbc.R700039200.
7. Joyner MS, Kogel OD. [Fundamentals of clinical radiobiology. Transl. from English]. Moscow: BINOM; 2013. 600 p. Russian.

8. Севаньяев А. В. Радиочувствительность хромосом лимфоцитов человека в митотическом цикле. М. : Энергоатомиздат, 1987. 160 с.
9. Ключин Д. А., Петунин Ю. И. Доказательная медицина. Киев : Диалектика, 2008. 320 с.
10. Демина Э. А. Радиогенный рак: эпидемиология и первичная профилактика. Киев : Наукова думка, 2016. 196 с.
11. Дьоміна Е. А., Рябченко Н. М., Баріляк І. Р. Дослідження внеску процесів репарації у формування індивідуальної радіочутливості людини на хромосомному рівні. *Цитологія і генетика*. 2008. Т. 42, № 2. С. 42–45.
12. Цитогенетичний спосіб (G₂-assay) визначення індивідуальної радіочутливості людини з метою первинної профілактики радіогенного раку. Методичні рекомендації / Е. А. Дьоміна, Н. М. Рябченко, М. О. Дружина, В. Ф. Чехун. Київ, 2007. 28 с.
13. Дьоміна Е. А., Демченко О. М., Михайленко В. М., Петунин Ю. І., Савкіна М. Ю. Модель сплайнової регресії і урахування індивідуальної радіаційної чутливості людини для реконструкції дози опромінення по хромосомним абераціям. Патент України 46933. Опубліковано: 2010, Бюл. № 1.
8. Sevankayev AV. [The radiosensitivity of human lymphocyte chromosomes in the mitotic cycle]. Moscow: Energoatomizdat; 1987. 160 p. Russian.
9. Klyushin DA, Petunin YI. [Evidence-based medicine]. Kyiv: Dialectica; 2008. 320 p. Russian.
10. Domina EA. [Radiogenic cancer: epidemiology and primary prevention]. Kyiv: Naukova Dumka; 2016. 196 p. Russian.
11. Domina EA, Ryabchenko NN, Barlyak I.R. [Investigation of the contribution of reparation processes to the formation of individual radiosensitivity of a person on the chromosomal level]. *Cytology and Genetics*. 2008. 42, 2. P. 42-45. Ukrainian.
12. Domina EA, Ryabchenko NM, Druzhina MO, Chekhun VF. [The cytogenetic method (G₂-assay) of assessing the individual human radiosensitivity for the purposes of the primary prevention of radiogenic cancer. Methodical recommendations]. Kyiv; 2007. 28 p. Ukrainian.
13. Domina EA, Demchenko OM, Mikhailenko VM, Petunin YI, Savkina MU, inventors. [The model of spline regression and a consideration of the human individual radiosensitivity for the reconstruction of the irradiation dose of chromosomal aberrations]. Patent of Ukraine 46933. Published: 2010, Bulletin No. 1. Ukrainian.

ІНФОРМАЦІЯ ПРО АВТОРА

Дьоміна Емілія Анатоліївна – доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, провідний науковий співробітник відділу радіобіології та екології, Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України, м. Київ

INFORMATION ABOUT AUTHOR

Emiliia A. Djomina – Doctor of Biological Sciences, leading research associate, Department of Radiobiology and Ecology, R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Стаття надійшла до редакції 3.04.2019

Received: 3.04.2019