

УДК 616-008.63:575.113:612.844:575.116.4:616-001.28

О. В. Шеметун✉, М. А. Пілінська*Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», вул. Юрія Іллєнка, 53, м. Київ, 04050, Україна*

РАДІАЦІЙНО-ІНДУКОВАНИЙ ЕФЕКТ СВІДКА – МОДЕЛЮВАННЯ, ПРОЯВИ, МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ, ПЕРСИСТЕНЦІЯ, ОНКОЛОГІЧНІ РИЗИКИ (огляд літератури)

У статті узагальнені та проаналізовані дані світової наукової літератури і результати власних досліджень щодо одного з основних немішених ефектів дії іонізуючого випромінювання – радіаційно-індукованого ефекту свідка (radiation induced bystander effect – RIBE) – здатності опромінених клітин-мішеней індукувати вторинні біологічні зміни в неопромінених клітинах-реципієнтах. Відображено історію досліджень цього феномену, який під різними назвами описувався ще з 1905 року, почав вивчатися з кінця ХХ століття, коли й одержав назву RIBE, та викликав особливий інтерес у науковій спільноті в останні десятиріччя. Показано, що розвиток біологічної науки і вдосконалення методів досліджень дозволили отримати нові поглиблені дані щодо розвитку RIBE не тільки на рівні цілісного організму, але й на рівні геному. Висвітлено ключові моменти численних досліджень RIBE, зокрема – моделювання; методичні підходи до вивчення; класифікація; особливості взаємодії між опроміненими та інтактними клітинами; роль імунної системи, оксидативного стресу, цитогенетичних порушень, зміни експресії генів в механізмі розвитку RIBE; зворотний ефект свідка (rescue effect), абскопальний ефект (abscopal effect), персистенція, модифікація, медичні наслідки. Підкреслено, що, незважаючи на значний обсяг досліджень феномену bystander response як універсального явища та RIBE як одного із його проявів, ще існує достатньо «білих плям» у визначенні механізмів становлення RIBE та оцінці можливих наслідків його розвитку для здоров'я людини.

Ключові слова: іонізуюче випромінювання, немішеневі ефекти, радіаційно-індукований ефект свідка, класифікація, механізми розвитку, маніфестація, персистентність, модифікація, наслідки.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2019. Вип. 24. С. 65–92. doi: 10.33145/2304-8336-2019-24-65-92

✉ Шеметун Олена Володимирівна, e-mail: shemetun@ukr.net

O. V. Shemetun✉, M. A. Pilinska

State Institution «National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 53 Yurii Illienka St., Kyiv, 04050, Ukraine

RADIATION-INDUCED BYSTANDER EFFECT – MODELING, MANIFESTATION, MECHANISMS, PERSISTENCE, CANCER RISKS (literature review)

The review summarizes and analyzes the data of world scientific literature and the results of the own research concerning one of the main non-targeted effects of ionizing radiation – the radiation induced bystander effect (RIBE) – the ability of irradiated target cells to induce secondary biological changes in non-irradiated receptor cells. The history of studies of this phenomenon is presented – it described under various names since 1905, began to study from the end of the twentieth century when named as RIBE and caused particular interest in the scientific community during recent decades. It is shown that the development of biological science and the improvement of research methods allowed to get new in-depth data on the development of RIBE not only at the level of the whole organism, but even at the genome level. The review highlights the key points of numerous RIBE investigations including modeling; methodological approaches to studying; classification; features of interaction between irradiated and intact cells; the role of the immune system, oxidative stress, cytogenetic disorders, changes in gene expression in the mechanism of development of RIBE; rescue effect, abscopal effect, persistence, modification, medical effects. It is emphasized that despite the considerable amount of research concerning the bystander response as the universal phenomenon and RIBE as one of its manifestations, there are still enough «white spots» in determining the mechanisms of the RIBE formation and assessing the possible consequences of its development for human health.

Key words: ionizing radiation, non-targeted effects, radiation-induced bystander effect, classification, mechanisms of development, manifestation, persistence, modification, consequences.

Problems of Radiation Medicine and Radiobiology. 2019;24:65-92. doi: 10.33145/2304-8336-2019-24-65-92

Традиційна концепція радіобіології базується на теорії мішені, яка передбачає, що всі біологічні ефекти при опроміненні клітини є наслідком прямого пошкодження клітин іонізуючим випромінюванням [1]. Проте, протягом двох останніх десятиліть ця класична парадигма зазнала змін у зв'язку з відкриттям немішених ефектів дії іонізуючої радіації [1–3]. До немішених ефектів дії іонізуючої радіації належить радіаційно-індукований ефект свідка (radiation induced bystander effect – RIBE) – здатність клітин-мішеней, пошкоджених іонізуючим випромінюванням, індукувати вторинні біологічні зміни в неопромінених клітинах-реципієнтах [4–9].

C. Mothersill зі співавторами у роботах, присвячених історії досліджень ефекту свідка, дійшли висновку, що цей феномен під різними назвами описувався ще з 1905 року, коли Н. Heineke та його колеги вперше висловили гіпотезу, що опромінення пухлин у мишей стимулює в їх організмі лімфоїдні елементи, а J. B. Murphy та J. J. Morton звернули увагу на наслідки, спричинені введенням опромінених клітин у неопромінений організм тварин [9]. У 1954 році

The traditional concept of radiobiology is based on the «target» theory, which assumes that all biological effects in irradiated cells are the result of direct cell damage by ionizing radiation [1]. However, during the last two decades this classic paradigm has changed due to the discovery of non-targeted (off-target) effects of ionizing radiation [1–3]. To non-targeted effects of ionizing radiation belongs radiation induced bystander effect (RIBE) – the ability of cells-targets damaged by ionizing radiation to induce secondary biological changes in non-irradiated cells-recipient [4–9].

C. Mothersill et al. in the research devoted to the history of RIBE discovery concluded that this phenomenon has been described under various names since 1905 when H. Heineke et al. for the first time expressed the hypothesis that irradiation of tumors in mice stimulates lymphoid elements in their body, and J. B. Murphy and J. J. Morton drew attention to the consequences caused by the introduction of irradiated cells into the non-irradiated animals [4,

✉ Olena V. Shemetun, e-mail: shemetun@ukr.net

Parsons W. B. et al. зареєстрував явище вторинного пошкодження неопромінених тканин кісткового мозку у дітей, які зазнали опромінення селезінки з метою лікування лейкемії [10]. Проте причини та механізми розвитку цих явищ у ті часи залишались нерозкритими й дослідження були забуті. У 1986 році С. В. Seymour зі співробітниками протягом кількох мітотичних поділів спостерігали летальні мутації, які виникли *de novo* в соматичних клітинах ссавців, що зазнали дії іонізуючого випромінювання [11]. Було показано, що після опромінення вплив початкової дози зберігався протягом усього життя клітини і передавався кільком поколінням її наступників.

Однак науковою спільнотою вважається, що феномен радіаційно-індукованого ефекту свідка вперше описано у 1992 році Н. Nagasawa та J. Little як неочікуване підвищення частоти сестринських хроматидних обмінів (СХО) в яйцеклітинах китайського хом'ячка після опромінення в дозах, що не перевищували 0,31 мГр [12]. При проведенні цих досліджень альфа-частинками було пошкоджено лише 1 % ядер, тоді як частота СХО збільшилась у 30 % клітин популяції. Автори зазначають, що для такого ж зростання частоти СХО внаслідок рентгенівського опромінення необхідна була б доза у 2,0 Гр. Подібні результати були отримані А. Deshpande зі співавторами при опроміненні альфа-частинками фіброblastів легенів людини в дозах нижчих за 50,0 мГр, коли середнє число треків від альфа-частинок на ядро було меншим за 1 (0,05–0,30) [13]. Дослідження Н. Nagasawa та J. B. Little показали, що частота мутацій в неопромінених клітинах-свідках, спричинених проходженням альфа-частинки через ядра клітин-мішеней, в 5 разів перевищувала очікувані розрахункові дані [14]. На сьогодні існування RIBE доведено при дії щільноіонізуючого альфа-випромінювання; рідкоіонізуючих рентгенівського та гамма-випромінювань в дозах від 5,0 мГр до 10,0 Гр; ультрафіолетового і нейтронного випромінювання [6–8], а саме явище вважається «одним із проявів універсального феномену (bystander response), викликаного реакцією клітин на індукований генотоксичний стрес» [7].

Найважливіші результати вивчення радіаційно-індукованого ефекту свідка були отримані в умовах *in vitro* при використанні кількох експериментальних підходів [15–17]:

➤ при дії альфа-опромінення в низьких дозах, коли безпосередньо радіацією пошкоджувалась незначна кількість клітин, а решта залишалась неопроміненою;

9]. In 1954 Parsons W.B. et al. was registered phenomenon of secondary damage of non-irradiated bone marrow in children who have undergone radiation exposure of spleen for the treatment of leukemia [10]. However, the causes and mechanisms of the development of these phenomena in those days remained unsolved and research was forgotten. In 1986 C. B. Seymour et al during several mitotic divisions observed lethal mutations arising *de novo* in somatic mammalian cells exposed to ionizing radiation [11]. It was shown that after radiation exposure the effect of the initial dose was maintained throughout the all life of the cell and passed on to several generations of its successors.

However, the scientific community believed that the phenomenon of radiation-induced bystander effect was first described in 1992 by H. Nagasawa and J. Little as unexpected increase in the frequency of sister chromatid exchanges (SCE) in Chinese hamster ovary cells after irradiation at doses that did not exceed 0.31 mGy [12]. In conducting these studies, only 1% of nuclei were damaged by alpha particles, while the frequency of SCE increased in 30% of cells. The authors note that for the same increase in the frequency of SCE due to X-ray irradiation, a dose of 2 Gy should be required. Similar results were obtained by A. Deshpande et al. at irradiation with alpha particles of human lungs fibroblasts at doses lower than 50 mGy when the average number of tracks from alpha particles per nucleus was less than 1 (0.05–0.3) [13]. H. Nagasawa and J. B. Little showed that the frequency of mutations in non-irradiated bystander cells caused by the passage of the alpha particle through the nucleus of cells-targets was 5 times higher than the expected settlement data [14]. To date, the existence of RIBE has been proved by the action of densation ionizing alpha radiation; rarely ionizing X-rays and gamma rays in doses ranging from 5 mGy to 10 Gy; ultraviolet and neutron radiation [6–8], and the phenomenon itself is considered «one of the manifestation of the universal phenomenon caused by cellular response to induced genotoxic stress» [7].

The most important results from the study of the radiation-induced bystander effect were obtained *in vitro* using several experimental approaches [15–17]:

➤ under the influence of alpha-radiation in low doses, when a small amount of cells were damaged directly by radiation and the rest remained unirradiated;

- при опроміненні клітин мікропучками (головним чином, альфа-частинок), площа яких була меншою за розміри ядра, внаслідок чого вони впливали на окремі ділянки клітини, не пошкоджуючи інші;
- при застосуванні захисних мікрорешіток для екранування частини клітин в момент дії радіації;
- при інкубуванні інтактних клітин в культуральному середовищі, отриманому після витримки в ньому протягом певного часу (6–8 годин) опромінених клітин.

Вивчення ефекту свідка здійснювалось, головним чином, на змішаних міжвидових культурах клітин ссавців (включаючи соматичні клітини людини) і було спрямоване на дослідження процесів апоптозу, диференціації, проліферації, трансформації клітин, мутаційних змін і їх фіксації, змін генної експресії в неопромінених клітинах, що межують з опроміненою «мішенню» [7–9, 15–17]. Дослідженнями показано, що маніфестація ефекту свідка проявляється посиленням утворення вільних радикалів, змінами (підвищенням чи зниженням) експресії окремих генів і синтезу білків, клітинною загибеллю (апоптозом чи некрозом), проліферацією, диференціацією, адаптивною відповіддю, клітинною трансформацією, старінням; індукцією генних мутацій, хромосомних аберацій, СХО, мікроядер [17–20].

Встановлено, що неопромінені клітини-свідки, які межують з опроміненими клітинами-мішенями, можуть набувати радіаційно-індукованої нестабільності геному на всіх рівнях його організації, що реєструється за допомогою відповідних біологічних маркерів, включаючи цитогенетичні [21–24]. Дослідження радіаційно-індукованого ефекту свідка на цитогенетичному рівні, зокрема, на лімфоцитах крові людини, проводилися досить обмежено і переважно при опроміненні *in vivo*. Це зумовлювалось методичними труднощами в необхідності опромінення певної частини клітин та наступному розрізненні популяцій опромінених і неопромінених лімфоцитів при цитогенетичному аналізі. Зазвичай до неопроміненої культури лімфоцитів додавали плазму крові осіб, які зазнали дії іонізуючої радіації. Так, G. S. Pant і N. Kamada встановили кластогенну активність плазми крові осіб, постраждалих внаслідок атомного бомбардування в Японії [25], а I. Emerit зареєструвала кластогенну активність плазми крові персоналу Чорнобильської атомної електростанції (ЧАЕС) та дітей, які зазнали впливу іонізуючого випромінювання внаслідок аварії на ЧАЕС [26, 27]. Н. О. Маз-

- under the irradiation of cells by microbundles (mainly of alpha particles), the area of which was smaller than the size of the nucleus, as a result of that they affected only some parts of the cell, without damaging others;
- under applying protective micro-gratings to shield the part of cells at the time of radiation exposure;
- under the incubation of intact cells in the culture medium obtained after previously incubation in it irradiated cells within a certain time (6–8 hours).

The study of bystander effect was carried out mainly on mixed interspecies cell cultures of mammals (including human somatic cells) and was aimed at the research of apoptosis, differentiation, proliferation, cell transformation, mutational changes and their fixation, changes in gene expression in unirradiated cells bordering with irradiated «target» [7–9, 15–17].

Research has shown that bystander effect is manifested by increased formation of free radicals, changes (increase or decrease) the expression of certain genes and protein synthesis, cell death (apoptosis or necrosis), proliferation, differentiation, cell transformation, adaptive response, aging; induction of gene mutations, chromosomal aberrations, SCE, micronuclei [17–20].

It has been established that non-irradiated bystander cells bordering with irradiated target cells may acquire radiation-induced genomic instability at all levels of its organization, which is recorded using appropriate biological markers, including cytogenetics [21–24]. The study of radiation-induced bystander effect at cytogenetic level held quite limited, particularly on human blood lymphocytes preferably under irradiation *in vivo*. This was due to methodological difficulties in the need of radiation exposure only the certain part of cells and subsequent differentiation of irradiated and non-irradiated lymphocytes populations under cytogenetic analysis. Usually to unirradiated lymphocytes culture blood plasma of persons exposed to ionizing radiation was added. So, G. Pant and N. Kamada established the clastogenic activity of the blood plasma from the victims of the atomic bombing in Japan [25], and I. Emerit registered the clastogenic activity of the blood plasma from the personnel of the Chernobyl nuclear power plant and children exposed to ionizing radiation due to Chernobyl accident [26, 27]. N. Maznyk and colleagues evalu-

ник зі співавторами досліджували цитогенетичні ефекти в лімфоцитах крові донора чоловічої статі при культивуванні з плазмою крові жінок, хворих на рак тіла матки [28]. Автори встановили, що після променевої терапії плазма крові пацієнток спричиняла в лімфоцитах донора статистично достовірне підвищення частоти хроматидних обмінів, фрагментів та ізохроматидних делецій порівняно з відповідними цитогенетичними показниками до опромінення. А. В. Єрмаков з колегами спостерігали транспозицію локусів хромосом від мембрани в середину ядра внаслідок індукції ефекту свідка в неопромінених клітинах після опромінення лімфоцитів крові людини *in vitro* в дозі 100,0 мГр [29]. І. Є. Воробцова зі співавторами з використанням лімфоцитів крові людини досліджувала радіаційно-індукований ефект свідка з моделюванням адаптивної відповіді [30]. При цьому встановлено, що як попередньо опромінені, так і неопромінені лімфоцити стали стійкішими до дії опромінення в дозі 1,0 Гр на стадії G1 клітинного циклу. В серії експериментів *in vitro* лімфоцити крові людини були використані групою авторів (О. П. Василенко, О. В. Проніна, С. Р. Русковський) і як клітини-індуктори, і як клітини-свідки при їх сумісному культивуванні з X-опроміненими або неопроміненими дріжджами (*S. Cerevisiae*) для дослідження класичного (прямого) та зворотного ефектів свідка [31, 32].

Таким чином, через методичну складність використання культури лімфоцитів крові при моделюванні радіаційно-індукованого ефекту свідка докладне вивчення цитогенетичних аспектів його розвитку в соматичних клітинах людини не проводилось. Разом з тим, саме малі Т-лімфоцити крові мають безумовні переваги, порівняно з іншими соматичними клітинами, при дослідженні впливу мутагенних чинників на стабільність хромосом. Це рівномірний розподіл і циркуляція лімфоцитів по всьому тілу, простота й доступність отримання матеріалу, уніфікація протоколу досліджень, низький і відносно стабільний рівень спонтанних аберацій хромосом, природна синхронізація, можливість знаходження пошкоджень хромосом у віддалені терміни після опромінення. Тому Т-лімфоцити крові є основною, добре апробованою, доступною тест-системою, рекомендованою ВОЗ і МАГАТЕ для оцінки пошкоджуючої дії іонізуючого випромінювання на хромосоми людини *in vivo* та *in vitro* [33, 34].

Інтенсифікації досліджень радіаційно-індукованого ефекту свідка сприяло виконання у 2006–2010 рр.

ated cytogenetic effects in blood lymphocytes of male donor co-cultivated with blood plasma of women with cancer of the uterus body [28]. The authors note that after radiotherapy blood plasma of patients caused statistically significant increase in the frequency of chromatid exchanges, fragments and isochromatid deletions as compared with the corresponding cytogenetic parameters before radiation exposure. A. Yermakov and colleagues observed transposition of chromosomal loci from the membrane to the inside the nucleus due to the induction of bystander effect in non-irradiated cells after irradiation of human blood lymphocytes *in vitro* in a dose of 100 mGy [29]. I. Vorobtsova and co-authors with the use of human blood lymphocytes studied radiation-induced cytogenetic bystander effect for the modeling of the adaptive response. It was found that both previously irradiated and non-irradiated lymphocytes became more resistant to radiation exposure in a dose of 1,0 Gy at the G1 stage of the cell cycle [30]. In a series of experiments *in vitro* human blood lymphocytes have been used by a group of scientists (Vasilenko O.P., Pronina O.V., Rushkovsky S.R.) both as cells-inductors as well as cells-recipients under their co-cultivation with X-irradiated or non-irradiated yeast (*S. Cerevisiae*) to study the classical (direct) and reverse (rescue) bystander effects [31, 32].

Thus, due to methodically complexity caused by using human blood lymphocytes culture in modeling of radiation-induced bystander effect, a detailed study of cytogenetic aspects of RIBE development in human somatic cells was not carried out. However, namely the small blood T lymphocytes have absolute advantages compared with other somatic cells in the study of the influence of mutagenic factors on the chromosomes stability. This is the uniform distribution and circulation of lymphocytes throughout in the body, the simplicity and availability of material receiving, the unification of the research protocol, the low and relatively stable level of spontaneous chromosomal aberrations, natural synchronization, the possibility of finding chromosomal injuries in the delayed terms after irradiation. Therefore, the culture of blood T lymphocytes are the basic, well-tested, available test system recommended by WHO and the IAEA to evaluate the damaging effects of ionizing radiation on human chromosomes *in vivo* and *in vitro* [33, 34].

For intensification of research the RIBE phenomenon contributed the implementation of the

міжнародного проекту «Немішеневі ефекти іонізуючого випромінювання» («Nontargeted Effects of Ionizing Radiation» – NOTE), яке проводилося під егідою Європейської Комісії та Євроатому за участю 20 науково-дослідних організацій Європи і Канади [35]. При виконанні цього проекту E. Wright запропонував класифікацію радіаційно-індукованого ефекту свідка, що базувалася на врахуванні відомого на той час механізму його розвитку [36, 37]. Згідно з цією класифікацією, розрізняють ефект свідка, що індукується при його моделюванні в умовах *in vitro* (bystander effects) та *in vivo* (bystander-type effects) (рис. 1). Для першого притаманна пряма взаємодія між опроміненими та неопроміненими клітинами, для другого – вторинна генерація сигнальних молекул як послідовність відповіді тканин на первинне пошкодження. До пошкоджень bystander-type effects віднесено дію кластогенних факторів (продуктів перекисного окислення ліпідів, цитокінів та інших оксидантів у плазмі крові після дії радіації) та ефект свідка на віддалі (abscopal effects) – опосередкований імунологічними чинниками, макрофагами чи лімфоцитами ефект впливу на неопромінені тканини факторів, що виникають в результаті опромінення іншої тканини організму.

international project «Nontargeted Effects of Ionizing Radiation» (NOTE) conducted in 2006–2010 by 20 scientific-research organizations from Europe and Canada under the auspices of the European Commission and Euroatom [35]. When doing this project E. Wright proposed the classification of RIBE, based on the known at that time mechanism of its development [36]. According to this classification RIBE which occurs under its modeling *in vitro* (bystander effects) or *in vivo* (bystander-type effects) is distinguished (Fig. 1). For the first one the direct interaction between irradiated and non-irradiated cells is characteristic, for the second – the secondary generation of signaling molecules as a sequence of tissue response to initial damage. Bystander-type effects include effects of clastogenic factors (products of lipids peroxidation, cytokines and other oxidants in blood plasma after radiation) and bystander effects on the distance (abscopal effects) – effects in non-irradiated tissue mediated by immunological factors, macrophages or lymphocytes which arise as a result of irradiation of another tissue of the body [37].

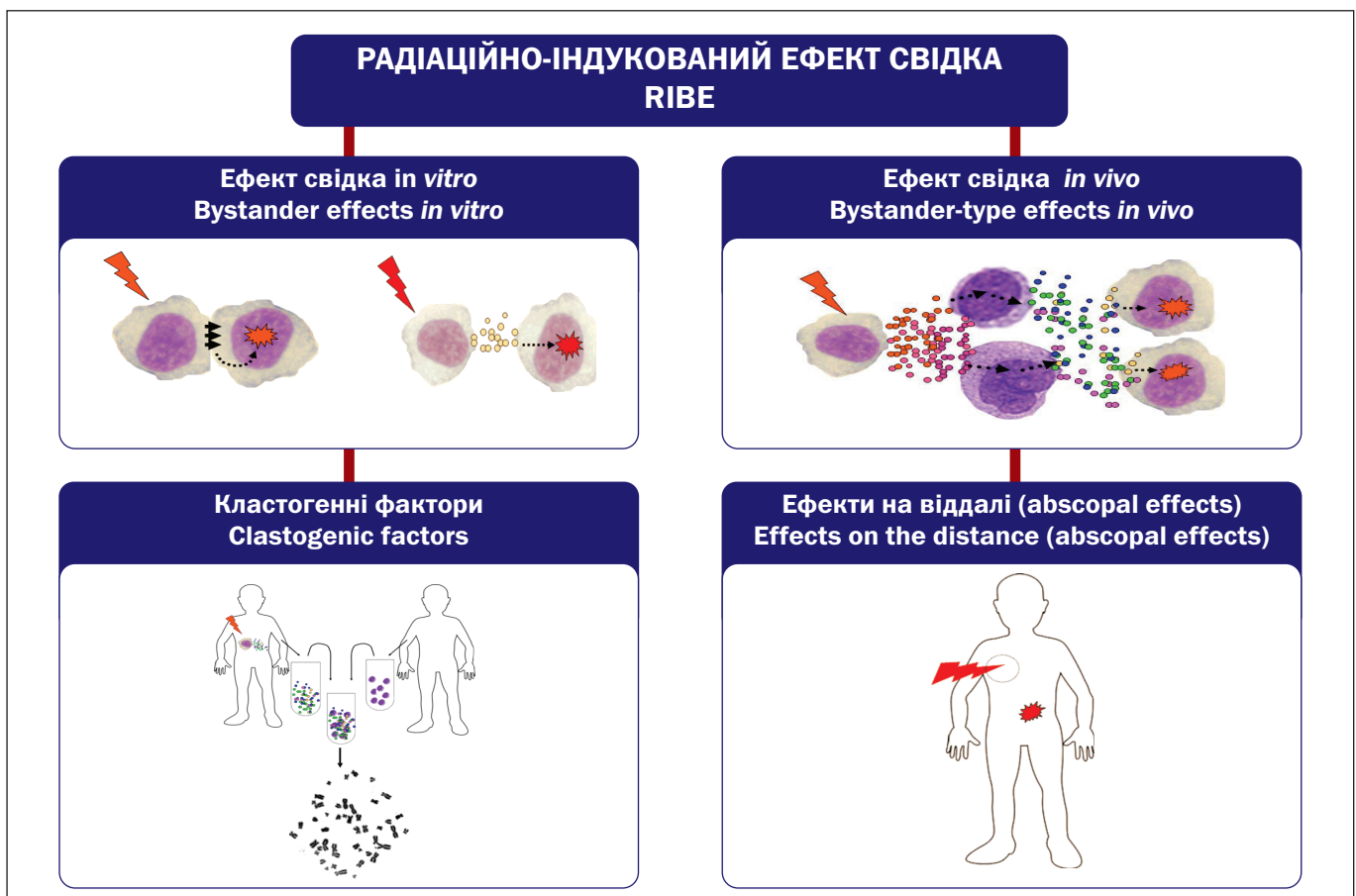


Рисунок 1. Класифікація радіаційно-індукованого ефекту свідка згідно з E. Wright, 2010 [37]
Figure 1. Classification of the radiation-induced bystander effect according to E. Wright, 2010 [37]

Механізм розвитку радіаційно-індукованого ефекту свідка досі є не повністю з'ясованим процесом, хоча багато факторів, які беруть в ньому участь, вже відкрито. Ще на початку досліджень цього феномену було зроблено припущення, що чинник індукції ефекту свідка виробляється безпосередньо опроміненими клітинами і передається неопроміненим клітинам, викликаючи в них певні біологічні зміни [38]. Опромінення культурального середовища за відсутності клітин не спричиняло індукції ефекту свідка, але його розвиток залежав від кількості опромінених клітин, що підтверджувало участь клітинного чинника в передачі пошкоджуючого сигналу [39]. Наразі в індукції ефекту свідка розрізняють два окремих, проте пов'язаних між собою, етапи. Перший включає передачу bystander сигналу від опроміненої клітини-мішені до неопроміненої клітини-свідка, другий – реакції всередині неопромінених клітин при отриманні сигналу від опромінених сусідніх клітин [2].

Поширення пошкоджуючого сигналу навколо опроміненої клітини частково обмежується дифузною відстанню цього сигналу. Тому вважається, що ефект свідка може бути наслідком двох окремих шляхів переносу пошкоджень від опромінених клітин до неопромінених. Перший з них має місце в тканинах з високим ступенем взаємодії між клітинами. Для нього притаманне використання міжклітинних зв'язків розрив–з'єднання (gap junction intercellular communication – GJIC), що є мультимерними білковими каналами, які забезпечують передачу сигнальних молекул між клітинами [40]. При такому з'єднанні сполучні білки (коннексини) утворюють гемі-канали в мембранах сусідніх взаємодіючих між собою клітин, зливаючись з утворенням розривів. Як правило, ці пори дозволяють проходити молекулам розміром 1,000–1,500 Да. Основними іонами і метаболітами, які передаються через GJIC, є Ca^{2+} , нуклеотиди, пептиди. Е. І. Azzam з колегами для встановлення ролі міжклітинних зв'язків у механізмі розвитку ефекту свідка провели дослідження з використанням культури диплоїдних фібробластів людини і низьких доз альфа-випромінювання. Показано, що при пошкодженні 5 % клітин альфа-частинками спостерігається загальне зростання рівня p53 протеїну та його мішені CDKN1A (p21waf1) в

The mechanism of development of radiation-induced bystander effect is still not fully elucidated, although many of the factors involved in it are already open. Even at the beginning of the research of this phenomenon, it was assumed that the factor of induction of the effect of the witness is produced directly by irradiated cells and transmitted to non-irradiated cells, causing them certain biological changes [38]. Even at the beginning of the research of this phenomenon it was assumed that factor of RIBE induction is produced directly by irradiated cells and transmitted to non-irradiated cells causing in them certain biological changes [38]. Irradiation of the culture medium without cells did not induce bystander effect, but its development depended on the amount of irradiated cells that confirmed the participation of the cellular factor in the transmission of the damaging signal [39]. For now in the induction of bystander effect two separate, but interconnected stages were distinguished. The first one involves the transmission of bystander signal from the irradiated targeted cell to the bystander cell, the second – the reaction inside the non-irradiated cells when receiving a signal from irradiated neighboring cells [2].

Distribution of the spatial damaging signal around the irradiated cell is partially limited by the diffuse distance of this signal. Therefore, it is believed that the bystander effect can be the result of two separate ways of transferring damage from irradiated to non-irradiated cells. The first one is in tissues with a high degree of interaction between the cells. For it the use of intercellular bonds is a gap–junction intercellular communication (GJIC), which is a multimeric protein channels that allows signal molecules to be transmitted between cells [40]. In such connection binding proteins (connexins) form a hemi-channels in the membranes of adjacent cells interact with each other, merging to form gaps. As a rule, these pores allow to pass molecules in the size of 1,000–1,500 Da. The major ions and metabolites transmitted through the GJIC are Ca^{2+} , nucleotides, peptides. Much of the research on the role of GJIC in the development of the radiation-induced bystander effect was made using human fibroblasts that sharing, capable of forming monoshares. In this case irradiation by alpha particle was used, allowing the individual cells to be exposed to radiation, and fixing the tracks from the passage of individual charged particles. E. I. Azzam and colleagues conducted a study using the culture of diploid human fibroblasts and low doses of alpha radiation in order to establish the role of intercellular connections in the mechanism of development of the bystander effect. It was shown that when 5 % of cells were damaged by alpha particles, a general increase was observed both in the level of p53 protein and its target CDKN1A (p21waf1) in 3–4 times. The

3–4 рази. Збільшений рівень експресії зменшувався лише після обробки клітин інгібіторами міжклітинних зв'язків [41]. Застосування такого підходу (порушення зв'язків між клітинами внаслідок застосування октанолу) дозволило зареєструвати зменшення ефекту свідка в дослідженнях з опроміненням 10 % популяції клітин альфа-частинками, що підтвердило роль міжклітинної взаємодії в індукції цього феномену.

S. M. de Toledo з колегами вивчали вплив типу міжклітинних зв'язків розрив-з'єднання на нестабільність геному у віддаленому потомстві клітин-свідків [42]. Встановлено, що міжклітинні зв'язки, які складаються з коннексину 26 (Cx26) або коннексину 43 (Cx43), опосередковували індукцію ефекту свідка протягом 5 год спільного культивування опромінених (рідкоіонізуюче γ -опромінення від ^{137}Cs , щільноіонізуюче опромінення від α -частинок, енергетичних іонів заліза або кремнію) і неопромінених клітин. При цьому в клітинах-свідках спостерігали окислювальні зміни і підвищену частоту формування мікроядер. Міжклітинні зв'язки, що склались з коннексину 32 (Cx32), опосередковували захисні ефекти. Віддалене потомство клітин-свідків (через 20–25 клітинних поділів) демонструвало підвищений рівень мікроядер, що також залежав від типу сполучних каналів між клітинами-мішенями та клітинами-свідками. У потомства клітин-свідків, які експресували Cx26 або Cx43, пошкодження ДНК виявлено не було, тоді як в клітинах, що експресували Cx32 встановлено збільшення частоти пошкодження ДНК. Автори дійшли висновку, що клітини-свідки, пошкоджені початковою спільною культурою (з'єднання Cx26 або Cx43), загинули чи зазнали зупинки проліферації, тоді як у потомстві клітин-свідків, що були спочатку захищені (з'єднання Cx32), частота пошкодження ДНК зростала зі збільшенням пасажів.

Другий шлях передачі пошкоджень від опромінених до неопромінених клітин притаманний для тканин, в яких клітини не мають безпосередньої клітинно-клітинної взаємодії, а також для передачі сигналу до клітин, що знаходяться далеко від опроміненої мішені – при індукції ефекту свідка на віддалі (абскопального ефекту) [43, 44]. При цьому з опромінених клітин в оточуюче середовище потрапляють розчинні медіатори (кластогенні фактори), що збільшують рівень активного кисню в неопромінених клітинах.

Дослідженнями С. Mothersill та С. В. Seymour встановлено, що кластогенні чинники, які індукуються опроміненними клітинами, можуть проходити 600–700 мкм у поживному середовищі, є термолабільні-

increased level of such expression decreased only after treatment of cells by inhibitors of intercellular communication [41]. The application of such approach (violation of the relationship between cells due to the use of octanol) allowed to establish reduction of the bystander effect in studies with irradiation of 10 % of the cell population by alpha particles, which confirmed the role of intercellular interaction in inducing of this phenomenon.

S. M. De Toledo et al. studied the influence of the GJIC type on the genome instability in the remote offspring of the bystander cells [42]. It was found that intercellular connections which consist of connexin 26 (Cx26) or connexin 43 (Cx43) were mediated induction of bystander effect during 5 hours joint cultivation of irradiated (sparsely ionizing – ^{137}Cs γ -rays or densely ionizing – α -particles, iron or silicon ions) radiations) and non-irradiated cells. At the same time in the bystander cells observed oxidative changes and increased frequency of micronuclei formation. Intercellular communications composed of connexin 32 (Cx32) mediated protective effects. The delayed progeny of bystander cells (20–25 cell divisions) showed an elevated micronuclei level which also depended on the type of connecting channels between the target and bystander cells. In the progeny of bystander cells expressed Cx26 or Cx43 DNA damage was not detected, whereas in bystander cells expressed Cx32 the DNA damage was increased. The authors concluded that bystander cells damaged by the initial compatible culture (compound Cx26 or Cx43) died or suffered from stop of proliferation, whereas in the bystander cells which were originally protected (compound Cx32) the damage of the DNA increased with increasing of passages.

The second way of transmitting damage from irradiated to non-irradiated cells is inherent to tissues in which cells do not have direct cell-cell interactions, as well as for transmission signal to cells that are far from an irradiated target when bystander effect induced at the distance (abscopal effect). In these cases from irradiated cells into surrounding medium enter soluble mediators (clastogenic factors) that increase the level of active oxygen in un-irradiated cells [43, 44].

C. Mothersill and C. B. Seymour established that clastogenic factors induced by irradiated cells can pass from 600 to 700 microns in the nutrient medium, are thermo-labile, denatured at 70° C

ми, денатуруються при 70 °С, витримують заморожування-розморожування [45]. Індукція ефекту свідка за посередництва факторів, що секретуються в культуру, була продемонстрована В. Е. Lehnert зі співавторами як зростання частоти СХО в неопромінених легеневиx фібробластах людини, які витримувались в середовищі, отриманому після альфа-опромінення клітин в низьких дозах. Ефект свідка спостерігали протягом 24 год після опромінення [46].

До чинників, які можуть брати участь в індукції ефекту свідка, віднесено цитокіни, посередники ROS, TGF- β , TNF- α , IL-8, IL-6, що виробляються опроміненими клітинами [47–49]. В дослідженнях І. Mittra зі співавторами показано, що новим класом фізіологічних мобільних генетичних елементів є нуклеїнові кислоти, вивільнені як зі здорових, так і з пошкоджених (у тому числі, ракових чи опромінених) клітин [50, 51]. S. Kirolikar з колегами встановлено, що безклітинні хроматинові (cfCh) частинки, вивільнені внаслідок апоптозу Jurkat клітинами (лімфобластної лейкемії людини), опроміненими в дозі 15,0 Гр, інтегрувались в геноми оточуючих інтактних фібробластів миші (NIH3T3 клітин) та індукували в них ефект свідка (активація H2AX, каспази-3, NF κ B і IL-6) при спільній інкубації протягом 24 год [52].

А. В. Єрмаковим зі співавторами на підставі серії досліджень запропонована схема розвитку ефекту свідка за посередництва позаклітинної ДНК, що вивільнюється внаслідок апоптозу радіочутливих клітин-мішеней, спричиненого первинним окислювальним стресом при безпосередньому опроміненні клітин [53–55]. Автори вважають, що фрагменти ДНК апоптичних клітин виділяються в міжклітинне середовище та взаємодіють з ДНК-зв'язуючими рецепторами клітин-свідків. Ця взаємодія в свою чергу активує в лімфоцитах-свідках синтез активних форм кисню та азоту, тобто ініціює вторинний оксидативний стрес, що може індукувати ефект свідка в неопромінених клітинах і знову супроводжується апоптозом частини клітин.

Абскопальні немішеневі ефекти індукуються на великій відстані від місця опромінення (наприклад, при локальному опроміненні грудних залоз). Розвиток абскопального ефекту може призвести до загибелі, трансформації або виживання клітин. Результати, отримані І. Koturbash зі співавторами, показали, що рентгенівське опромінення ділянки шкіри мишей індукувало пошкодження ДНК на відстані, більшій за сантиметр від опроміненого місця [56]. J. Tamminga з колегами встановили, що опромінення ділянки голови у мишей індукувало абскопальний

and withstand freezing and defrosting [45]. Induction of bystander effect via the mediation by factors secreted into the culture was demonstrated by V. E. Lehnert et al. as the increase in the frequency of SCE in non-irradiated human lung fibroblasts which were kept into the medium obtained after alpha irradiation of cells in low doses. The bystander effect was observed within 24 hours after irradiation [46].

The factors that may be involved in the induction of the bystander effect include cytokines, intermediates ROS, RNA, TGF- β , TNF- α , IL-8, IL-6 produced by irradiated cells [47–49]. Studies fulfilled by I. Mittra show that the new class of physiological mobile genetic elements is nucleic acids released from both healthy and damaged (including cancer / irradiated) cells [50, 51]. S. Kirolikar et al. found that such non-cellular chromatin (cfCh) particles released due to the apoptosis of Jurkat cells (human lymphoblastic leukemia) irradiated at 15,0 Gy were integrated into the genomes of surrounding intact mouse fibroblasts (NIH3T3 cells) and induced in them bystander effect (activation of H2AX, caspase-3, NF κ B and IL-6) under joint incubation for 24 hours [52].

A.V. Yermakov et al. proposed scheme for the development of the bystander effect via the mediation of extracellular DNA released due to the apoptosis of radiosensitive target cells caused by primary oxidative stress under direct irradiation of targeted cells [53–55]. The authors believe that DNA fragments of apoptotic cells secreted into the intercellular medium and interact with the DNA-binding receptor of the bystander cells. Such interaction in turn activates in the bystander lymphocytes the synthesis of active forms of oxygen and nitrogen that triggers the secondary oxidative stress which can induce bystander effect in un-irradiated cells and again accompanied by apoptosis in the part of the cells.

Abscopal non-targeted effects are induced at a large distance from the irradiation site (for example, under local irradiation of the mammary glands). The development of the abscopal effects can lead to the death, transformation or survival of cells. The results obtained by I. Koturbash et al. showed that X-ray irradiation of the skin area in mice induced DNA damage at a distance greater than one santymetr from the irradiated site [56]. J. Tamminga et al. found that irradiation of the head area in mice induced an abscopal effect – an

ефект — збільшення частоти пошкоджень в хромосомах сперматозоїдів, а також зниження рівня метилювання ДНК у локусах CCGG в яєчках і спермі [57]. На думку А. L. Brooks, малі дози іонізуючого випромінювання в умовах як *in vitro*, так і *in vivo* індукують ефект свідка лише в межах опроміненого органу [58]. Внаслідок дії радіації у високих дозах продукуються кластогенні фактори, що виходять в кров. Це може спричинити пошкодження органів, безпосередньо не опромінені іонізуючою радіацією, та повинно обов'язково враховуватись при розрахунку радіаційних ризиків [58].

В дослідженнях J. Ventura з колегами показано розвиток абскопального ефекту (кластерних ушкоджень ДНК, подвійних розривів ДНК, апоптозу, змін концентрацій цитокінів, IL10, TIMP1, VEGF, TGFβ1 і TGFβ2 у плазмі крові), а також системних імунних відповідей (змін кількості макрофагів, нейтрофілів, Т-лімфоцитів) у неопроміненій частині тіла мишей лінії C57BL/6, що були локально опромінені рентгенівськими променями з використанням медичного синхротрону [59]. G. Stephan зі співавторами зареєстрували підвищений рівень хроматидних розривів в лімфоцитах крові пацієнтів, які отримували лікування анкілозуючого спондиліту опроміненням ²²⁴Ra, що може бути наслідком ефекту свідка [60, 61].

Численними експериментальними дослідженнями встановлено, що у механізмі розвитку радіаційно-індукованого ефекту свідка може бути задіяна відповідь імунної системи на дію іонізуючого випромінювання [62]. Найважливішими чинниками імунної системи, що беруть участь в індукції ефекту свідка, є лімфоцити та макрофаги [63]. Іонізуюче випромінювання, стимулюючи ці клітини, підвищує продукцію ними цитокінів (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNFα і TGFβ, які беруть участь у проліферації та диференціюванні стовбурових клітин, розвитку вторинних радіогенних пухлин після променевої терапії) і також впливають на неопромінені клітини [64, 65]. В дослідженнях V. L. Calveley et al. при частковому опроміненні легень шурів зареєстровано збільшення таких цитокінів у захищеній від дії радіації ділянці легень [66]. Підвищення вироблення цитокінів стимулює продукування оксиду азоту, що призводить до розвитку оксидативного стресу і, як наслідок, мутагенних змін в генетичному матеріалі неопромінені клітин та їх апоптозу [67]. Зважаючи на участь цитокінів, активних форм кисню та азоту в передачі пошкоджуючого сигналу від безпосередньо опромінені до неопромінені клітин, розвиток радіаційно-індукованого ефекту свідка порівнюють-

increase in the frequency of damage in sperm chromosomes and a decrease in the level of DNA methylation in CCGG loci in testicles and sperm [57]. According to A.L. Brooks small doses of ionizing radiation induce bystander effect only within the limits of the irradiated organ both *in vitro* and *in vivo* [58]. Due to the exposure of high radiation doses clastogenic factors produced and enter into the bloodstream. It can cause damage to organs that are not directly irradiated by ionizing radiation and must be taken into account in the calculation of radiation risks [58].

J. Ventura shown the development of abscopal effect (clustered DNA damage, double DNA breaks, apoptosis, changes in IL10, TIMP1, VEGF, TGFβ1 і TGFβ2 cytokine concentrations in blood plasma), as well as systemic immune responses (changes in the number of macrophages, neutrophils, T lymphocytes) in the non-irradiated part of the body of the C57BL/6 mice locally exposed to X-rays using a medical synchrotron [59]. G. Stephan et al. recorded the elevated level of chromatid breaks in blood lymphocytes of patients treated the ankylosing spondylitis by exposure to ²²⁴Ra, which may be the result of bystander effect [60, 61].

Numerous experimental studies established that in the mechanism of development of radiation-induced bystander effect the response of the immune system to radiation exposure may be involved [62]. The most important factors of the immune system involved into the induction of bystander effect are lymphocytes and macrophages [63]. Ionizing radiation by stimulating these cells increases the production of cytokines (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNFα and TGFβ which take part in the proliferation and differentiation of stem cells and in the development of secondary radiogenic tumors after radiotherapy) that, in turn, affect non-irradiated cells [64, 65]. In studies of V. L. Calveley et al. under partial irradiation of rat's lungs an increase of these cytokines only in the radiation-protected lung area has been found [66]. Increased production of cytokines stimulates the production of nitric oxide, leading to the development of oxidative stress and, consequently, to mutagenic changes in the genetic material of non-irradiated cells and their apoptosis [67]. In connection with the participation of cytokines, active forms of oxygen and nitrogen in the transmission of a damaging signal from

ся з розвитком реакцій запалення, що підтверджується й зміною експресії генів, які беруть участь як у розвитку запальних процесів, так і в індукції ефекту свідка [68, 69].

Одним із способів розкриття механізмів розвитку радіаційно-індукованого ефекту свідка є дослідження впливу на його прояв різних модифікаторів. І. П. Моссе зі співавторами провели модифікацію радіаційно-індукованого ефекту свідка з використанням меланіну та мелатоніну, що мають високу антирадикальну активність [70]. Додавання цих речовин зменшувало прояв феномену RIBE і покращувало виживання кератиноцитів людини HPV-G, оброблених середовищем від клітин, опромінених в дозах 0,5 та 1,0 Гр.

На думку М. Конораска, в механізмі розвитку радіаційно-індукованого ефекту свідка важливим може бути пошкодження ДНК внаслідок розвитку в неопромінених клітинах-свідках оксидативного стресу, при якому збільшується продукування вільних радикалів та інактивується антиоксидантний захист клітин [71, 72]. Для нормального функціонування організму притаманний низький рівень продукування радикалів-ініціаторів і збалансована система антиоксидантного захисту. Внаслідок впливу іонізуючого випромінювання цей баланс порушується, зростає ефективність ініціації вільнорадикальних реакцій за рахунок збільшення продукування активних форм кисню [62, 73]. Вільні радикали мають занадто короткий термін існування після утворення в опромінених клітинах, що зумовлює їх нездатність досягати інших клітин, внаслідок чого вони не можуть розглядатися як чинник пошкодження неопромінених клітин. Проте вільні радикали в присутності кисню можуть бути перетворені в довгоживучі пероксиди [73], що допомагає їм проходити довші шляхи поза опроміненими клітинами і спричиняти пошкодження неопромінених клітин. В експериментах *in vitro* М. Конораска з колегами показали, що розщеплювачі вільних радикалів і пероксидів (наприклад, ДМСО, вітамін С), знижують частоту розривів хромосом, апоптозу та мікроядер у неопромінених клітинах-свідках [71, 72].

Утворення вільних радикалів і супероксидів у клітинах значно залежить від мітохондріальної активності [48, 74–76]. Встановлено, що супресія клітинних дихальних шляхів мітохондрій, поглинання кальцію мітохондріями і виснаження клітин з мтДНК значно знижували рівень хромосомних ушкоджень, індукованих ефектом свідка [76].

directly irradiated to non-irradiated cells, the development of the radiation-induced bystander effect compared with the development of inflammatory reactions [68, 69].

One way of disclosing mechanisms of discovery of radiation-induced bystander effect is a study of the impact on its manifestation of various modifiers. I. Mosse et al. conducted modification of radiation-induced bystander effect using melanin and melatonin which have high antiradical activity [70]. The usage of these antioxidants diminished the manifestation of the RIBE phenomenon and improved the survival of human keratinocytes HPV-G treated with medium where cultured the cells irradiated at doses of 0.5 and 1.0 Gy.

It is believed that in the mechanism of development of the radiation-induced bystander effect damage of DNA can be decisive due to the development of oxidative stress in non-irradiated bystander cells which increases the production of free radicals and inactivates antioxidant defense of cells [71, 72]. For normal functioning of the organism a low level of production of radical-initiators and balanced antioxidant defense system is inherent. As the result of ionizing radiation exposure this balance is violated, the effectiveness of the initiation of free radical reactions increases due to the elevation the production of active forms of oxygen [62, 73]. Free radicals have an extremely short lifetime after formation in irradiated cells resulting in their inability to reach intact cells and therefore they can not be considered as a factor of damage non-irradiated cells [72]. However, free radicals in the presence of oxygen can be converted into long-lived peroxides, which can have more than twenty hours of half-life which helps them to travel longer paths outside of the irradiated cells and cause damage to non-irradiated cells. Konopacka M. et al. in the *in vitro* experiments shown that interceptors of free radicals and peroxides (for example, DMSO, vitamin C), reduce the frequency of chromosomal breaks, apoptosis and micronuclei in non-irradiated bystander cells [71, 72].

The production of free radicals and superoxides in cells strongly depends on mitochondrial activity [48, 74–76]. It was found that suppression of the cellular respiratory tract of mitochondria, calcium absorption by mitochondria, and depletion of cells from mtDNA significantly reduced the level of chromosomal damages induced by the bystander effect [76].

Багато досліджень щодо механізмів розвитку радіаційно-індукованого ефекту свідка були зосереджені на виявленні пошкоджень геному на різних рівнях його організації. Показано, що при розвитку ефекту свідка ці пошкодження можуть спричинятися не тільки генотоксичними чинниками, але й епігенетичними модуляторами (зміна метилювання та мікроРНК) у неопромінених клітинах-свідках, що може призводити до зміни експресії генів [9, 62, 77]. Найважливіша роль у цьому належить метильній групі. Скорочення метильних груп у промоторній ділянці генів збільшує їх експресію [78]. Втрата метилювання є ознакою ракових клітин, що збільшує частоту розривів ДНК, сприяє індукції мутацій і розвитку геномної нестабільності [79]. Встановлено, що гостре рентгенівське та гамма-опромінення спричиняють подібні ефекти внаслідок гіпометилювання ДНК шляхом зміни експресії ДНК метилтрансфераз (DNMT3a та DNMT3b) в безпосередньо опромінених тканинах [80]. Показано, що в неопромінених клітинах, які знаходились неподалік від опромінених клітин-мішеней, також зменшувалось метилювання ДНК, що спричиняло виникнення пошкоджень хроматидного і хромосомного типів, збільшення геномної нестабільності, розвитку апоптозу та загибелі клітин [81].

У процесах міжклітинної комунікації беруть також участь мікроРНК [82]. Вони невеликі за розміром, відносно стабільні і здатні проходити через клітини великі відстані. Пряма дія іонізуючого випромінювання змінює експресію мікроРНК, вони можуть виходити з опроміненої тканини і впливати на експресію генів у віддалених тканинах, що дозволяє їм брати участь в індукції ефекту свідка на відстані. S. Xu зі співавторами показали, що мікроРНК (miR-21) може бути перенесена від опромінених клітин в позаклітинне середовище, а потім до неопромінених клітин-свідків за посередництва екзосом [83].

Роль епігенетичних чинників в індукції та персистенції ефекту свідка в умовах *in vivo* досліджена групами дослідників (I. Koturbash et al., J. Tamminga et al., J. N. Filkowski et al.) при опроміненні мишей [56, 57, 84–86]. Встановлено, що радіаційна експозиція черепа тварин призводила до підвищення рівня експресії мікроРНК, який зберігався протягом кількох місяців після опромінення. Показано, що зміни метилювання залежали від виду тканини – опромінення черепа спричиняло тривале гіпометилювання в селезінці, тоді як у шкірі гіпометилювання було короткочасним. Встановлено, що у неопроміненого потомства опромінених мишей зменшувались рівні метилювання ДНК і активність ферментів ДНК-метил-

Many studies on the mechanisms of radiation-induced bystander effect have focused on identifying the inductors of genomic damages. According generalizations made by M. Najafi et al. these damages can be caused not only by genotoxic factors, but also by epigenetic modulators (change in methylation and miRNA) in non-irradiated bystander cells that may lead to changes in gene expression [9, 62, 77]. The most important role in this belongs to the methyl group. The reduction of methyl groups in the promoter region of genes increases their expression [78]. Loss of methylation is a sign of cancer cells which increases the frequency of DNA lesions, promotes the induction of mutations and the development of genomic instability [79]. Similar effects were induced by acute X-ray and gamma-radiation exposure owing to DNA hypomethylation by altering the expression of DNA methyltransferases (DNMT3a and DNMT3b) in directly irradiated tissues [80]. In non-irradiated bystander cells closed to irradiated targets reduced DNA methylation, chromatid and chromosome breaks, increased genomic instability, apoptosis and cell death also were established [81].

In the processes of intercellular communication, microRNAs are also involved [82]. They are small, relatively stable and able to pass through the cell long distance. Direct action of ionizing radiation changes the expression of miRNA, they can come from irradiated tissue and affect the expression of genes in distant tissues, which allows them to participate in inducing bystander effect at a distance. S. Xu et al. showed that microRNA (miR-21) can be transferred from irradiated cells in the extracellular medium and then to non-irradiated bystander cells through exosomes [83].

The role of epigenetic factors in induction and persistence of bystander effect *in vivo* was investigated by researchers groups (I. Koturbash et al., J. Tamminga et al., J. N. Filkowski et al.) with irradiated mice [56, 57, 84–86]. It was established that the radiation exposure of the skull of animals led to increased expression of microRNAs, which persisted for several months after exposure. These changes of methylation depended on the type of tissue – the irradiation of the skull led to prolonged hypomethylation in the spleen, whereas in the skin the hypomethylation was short-lived. In non-irradiated offspring of irradiated mice levels of DNA methylation and activity of DNA-

трансферази у тимусі, селезінці та кістковому мозку, але вказаних змін не було зареєстровано в печінці. Виявлено підвищену експресію miRNA-29a і miRNA-29b у клітинах зародка та тканинах наступних поколінь опромінених мишей, що зменшило рівень метилування ДНК. Таким чином, епігенетичні зміни, індуковані іонізуючим випромінюванням у клітинах-свідках, можуть передаватися наступним поколінням цих клітин, чим підтримують подальшу персистенцію в них радіаційно-індукованого ефекту свідка.

Тривалість персистенції радіаційно-індукованого ефекту свідка оцінювалась за результатами медичних обстежень опромінених осіб у віддалені строки після дії іонізуючої радіації, а також при виконанні цілеспрямованих експериментальних досліджень в умовах *in vitro* та *in vivo*.

G. S. Pant і N. Kamada виявили кластогенну активність плазми крові японців, які пережили атомне бомбардування в Хіросімі, через 31 рік після опромінення [25]. I. Emerit з колегами зареєстрували кластогенну активність плазми крові у персоналу Чорнобильської атомної електростанції через 7 років після Чорнобильської аварії [26]. На думку I. Emerit, персистенція у крові кластогенних чинників протягом багатьох років після опромінення може пояснюватися утворенням продуктів перекисного окислення ліпідів і супероксидів та зсувом прооксидантного і антиоксидантного балансу в опроміненому організмі. Таке припущення підтверджено прямим біохімічним дослідженням стану окислювальних процесів в учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС, виконаним Л. М. Овсянніковою зі співавторами [87, 88]. Моніторинг, що проводився ними протягом 24 років після аварії, зареєстрував розвиток хронічного окислювального стресу з накопиченням цитотоксичних продуктів перекисного окислення ліпідів і окислювальну модифікацію білків у їхній крові. Вказане підтверджує можливість тривалої персистенції в організмі людини кластогенних чинників після опромінення та розвитку геномної нестабільності внаслідок індукції ефекту свідка [89]. Разом з тим, Н. О. Мазник зі співавторами не виявили генотоксичного впливу плазми крові пацієнток, які отримували променеви терапію, на неопромінені лімфоцити крові здорового чоловіка через один рік після опромінення [28].

Ще у 1998 р. дослідженнями S. A. Lorimore зі співавторами показано, що гемопоетичні стовбурові клітини мишей, пошкоджені внаслідок ефекту свідка після альфа-опромінення кісткового мозку, здатні виживати

methyltransferase in the thymus, spleen, and bone marrow decreased, but such changes were not detected in the liver. Found high expression of miRNA-29a and miRNA-29b in embryonic cells and tissues of subsequent generations of irradiated mice which reduced the level of DNA methylation. Thus, the epigenetic changes induced by ionizing radiation in the bystander cells can be transmitted to next generations of these cells which support in them the further persistence of radiation-induced bystander effect.

The duration of the RIBE persistence was evaluated based on the results of medical observation of irradiated persons in the delayed terms following radiation exposure, as well as when performing purposeful experimental research *in vivo* and *in vitro*.

G. S. Pant. and N. Kamada discovered clastogenic activity of blood plasma from Japanese survivors of atomic bombing in Hiroshima through 31 years after irradiation [25]. I. Emerit et al. registered the clastogenic activity of blood plasma from the personnel of the Chornobyl nuclear power station 7 years after the Chornobyl accident [26]. According to I. Emerit, persistence of clastogenic factors in the blood over many years after radiation exposure may be explained by the formation of lipid peroxidation products and superoxides and the shift of the prooxidant and antioxidant balance in the irradiated organism. This assumption was confirmed by a direct biochemical investigation of the status of oxidative processes in the liquidators of the Chornobyl accident, performed by L. M. Ovsyannikova with co-authors [87, 88]. The monitoring carried out by them within 24 years after the accident recorded the development of chronic oxidative stress with the accumulation in their blood the cytotoxic products of lipid peroxidation and oxidative modification of proteins. These results confirm the possibility of long-term persistence in human body the clastogenic factors after radiation exposure and the development of genomic instability due to induction of bystander effect [89]. However, N. Maznik et al. did not reveal the genotoxic effect of blood plasma from female patients received radiation therapy on intact cells of healthy man one year after irradiation [28].

Even in 1998 S.A. Lorimore and co-authored show that haematopoietic stem cells of mice damaged as a result of bystander effect after alpha-irradiation of bone marrow can survive and trans-

і передавати генетичні зміни багатьом поколінням клітин [90]. В роботі А. Н. Осипова при вивченні віддалених наслідків дії радіації в експерименті з сумісним культивуванням неопромінених клітин з клітинами, опроміненими в дозі 1,0 Гр (10 % чи 30 % суміші), встановлено статистично достовірне збільшення вмісту активних форм кисню, ступеня фрагментації ДНК та частки апоптичних клітин на 9-ту та 11-ту добу експерименту, що автор вважає проявом нестабільності геному, індукованої ефектом свідка [91]. В дослідженнях N. Autsavapromporn з колегами доведено, що поширення bystander effect у наступних генераціях клітин-свідків залежить від якості функціонування міжклітинних зв'язків і виду іонізуючого випромінювання [92, 93]. В проведеному ними експерименті фібробласти шкіри людини піддавали впливу радіації з різним лінійним переносом енергії (рентгенівським з LET ~ 6 keV/ μm , протонами з LET ~ 11 keV/ μm та іонами вуглецю з LET ~ 103 keV/ μm) при середніх абсорбованих дозах 0,4 Гр, коли 0,036–0,400 % клітин були безпосередньо пошкоджені радіацією. Після 20 поділів клітини збирали та аналізували. Виявили присутність стійкого окислювального стресу у потомства клітин-свідків, опроміненних рентгенівськими променями та протонами, що корелював зі збільшенням частоти мікроядер і мутацією в локусі гіпоксантин-гуанін-фосфорибозилтрансферази (HPRT). Таких ефектів не спостерігали після опромінення фібробластів іонами вуглецю (LET 3103 keV/ μm). Зменшення персистенції радіаційно-індукованого ефекту свідка встановлено також в культурах, що піддавали впливу протонів або іонів вуглецю в умовах пригнічення міжклітинних зв'язків. Однак цей ефект не був виявлений при опроміненні культури фібробластів рентгенівськими променями.

Процеси, що відбуваються в неопромінених клітинах при розвитку ефекту свідка, можуть впливати на реалізацію медичних наслідків опромінення **в організмі людини**. Вважається, що стохастична і нестохастична патологія в осіб, які зазнали дії іонізуючої радіації (з лікувальною метою, при професійній діяльності, в аварійних ситуаціях), може бути зумовлена не лише прямим радіаційним ушкодженням клітин-мішеней, а й вторинними змінами в неопромінених клітинах-свідках [6, 94]. Разом з тим, індукція ефекту свідка може бути захисним механізмом, зменшуючи кількість пошкоджених клітин шляхом апоптозу або через неможливість клітин зі значними пошкодженнями пройти мітотичний поділ [8, 9].

Велика увага приділяється проблемі розвитку радіаційно-індукованого ефекту свідка при проме-

mit genetic changes to many next generations of cell [90]. A. N. Osipov in the study of the long-term radiation exposure in an experiment with compatible cultivation of non-irradiated cells with cells irradiated in a dose of 1.0 Gy (10 or 30 % of the mixture), a statistically significant increase of the active forms of oxygen, degree of DNA fragmentation and the apoptotic cells on the 9th and 11th days of the experiment, which the author considers the manifestation of the genomic instability induced by the bystander effect [91]. N. Autsavapromporn et al. proved that RIBE in subsequent generations of bystander cells depends on the quality of the intercellular connections and the type of ionizing radiation [92, 93]. In their experiment, human skin fibroblasts were exposed to radiation with different linear energy transport (X-ray with LET ~ 6 keV/ μm , LET ~ 11 keV/ μm protons and LET ~ 103 keV/ μm carbon ions) at mean absorbed doses of 0.4 Gy when 0.036–0.400% of cells were directly irradiated. After 20 cell divisions the presence of persistent oxidative stress was observed in the progeny of x-ray and proton-irradiated cells correlated with increasing micronuclei frequency and mutation in the hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase (HPRT) locus. Such effects were not observed after irradiation of fibroblasts with carbon ions (LET 3103 keV/ μm). Reducing the persistence of the radiation-induced bystander effect was also established in cultures exposed to protons or carbon ions under conditions of inhibition of intercellular connections. However, this effect was not detected when irradiating the culture of fibroblasts with X-rays.

Processes occurring in non-irradiated bystander cells under the development of RIBE may affect on the implementation of the health effects of radiation exposure **in humans**. It is believed that stochastic and non-stochastic pathology in individuals exposed to ionizing radiation (for medical purposes, under professional contact, in emergency situations) may be due not only to direct radiation damage of targeted cells but also to secondary changes in non-irradiated bystander cells [6, 94]. However, the induction of the bystander effect can be a protective mechanism, reducing the number of damaged cells by apoptosis or because of the inability of cells with significant damage to undergo mitotic division [8, 9].

Much attention is paid to the problem of RIBE development in radiation therapy of cancer and

невій терапії онкологічних захворювань і оцінці ризику вторинного канцерогенезу [95–101]. Прогнозування ефективності та побічних ефектів променевої терапії залежить від встановлення взаємозв'язку доза–ефект між дозою опромінення і реакціями тканин. При проведенні променевої терапії пухлини опромінюються у високих дозах. Реакція пухлинної тканини на таке опромінення належить до нестохастичних ефектів радіації, підвищується зі збільшенням поглинутої дози опромінення і може бути описана за допомогою математичних моделей (лінійної, лінійно-квадратичної), що відображають знищення більшості радіорезистентних клоногенних злоякісних клітин, присутніх в пухлині [102, 103].

На відміну від прямих ефектів радіаційної дії (наприклад, пошкодження ДНК), індукція ефекту свідка не є строго дозозалежним явищем. Його розвиток притаманний насамперед для низьких доз випромінювання і насичення ефекту відбувається вже при порогових дозах 0,2–0,3 Гр [102] (рис. 2). Підвищення дози опромінення клітин-мішеней не збільшує кількості уражених неопромінених клітин в популяції [103, 104]. М. В. Sowa зі співавторами показали, що індукція ефекту свідка не залежить від дози опромінення клітин-мішеней в діапазоні від 0,5 до 5,0 Гр [105].

Під час лікування пухлин (особливо при застосуванні інтенсивно-модульованої променевої терапії, томотерапії та терапії з використанням важких іонів) непухлинні тканини, розташовані на краю поля опромінення, або на межі градієнтів дози, можуть зазнавати впливу іонізуючого випромінювання саме в низьких дозах (0,1–0,2 Гр), внаслідок чого в них може розвиватися радіаційно-індукований ефект свідка, що спричиняє пошкодження геному і підвищує частоту виникнення канцерогенезу у віддалених тканинах [9]. Проте М. Tomita і М. Maeda, проаналізувавши значну кіль-

assessment of the risk of secondary carcinogenesis [95–101]. The prediction of efficacy and side effects of radiation therapy depends on establishing a dose / effect relationship between the dose of irradiation and tissue responses. When conducting radiotherapy tumors are irradiated in high doses. The reaction of tumor tissue to such exposure relates to non-stochastic effects of radiation, increases with increasing absorbed radiation dose and can be described by mathematical models (linear, linear-quadratic), reflecting the destruction of most radio-resistant clonogenic malignant cells which present in the tumor [102, 103].

In contrast to the direct effects of radiation exposure (e.g., DNA damage), induction of bystander effect is not strictly dose-dependent phenomenon. Its development is inherent first of all for low doses of radiation and saturation of this effect already occurs at a threshold dose of 0.2–0.3 Gy [102] (Fig. 2). Increasing the radiation dose of target cells does not increase the number of affected non-irradiated bystander cells in the population [103, 104]. M. V. Sowa et al. had shown that induction of bystander effect did not depend on the radiation doses for target cells in the range of 0.5 to 5.0 Gy [105].

During treating tumors (especially with intensive-modulated radiation therapy, tomotherapy and heavy ion therapy), non-tumor tissues located at the edge of the irradiation field or at the limit of dose gradients may be exposed to ionizing radiation in low doses (0.1–0.2 Gy), as a result of which the radiation-induced bystander effect may develop in them, causing damage to the genome and increases the incidence of carcinogenesis in distant tissues [9, 106]. However M. Tomita and M. Maeda analyzed a large number of RIBE

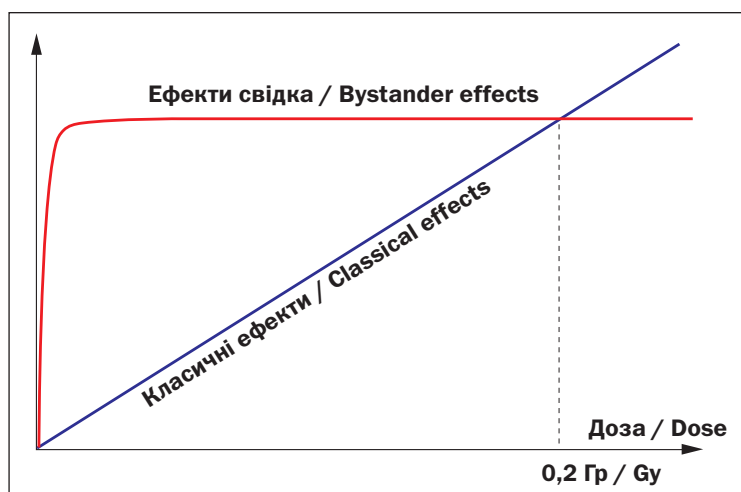


Рисунок 2. Порівняння кривих «доза-ефект» при прямій дії іонізуючого випромінювання і розвитку ефекту свідка [102]

Figure 2. Comparison of the «dose-effect» curves in the direct action of ionizing radiation and development of the bystander effect [102]

кість робіт з дослідження радіаційно-індукованого ефекту свідка в різних тканинах і експериментальних моделях, дійшли висновку, що індукція ефекту свідка та абскопального ефекту при низьких дозах рентгенівського і гамма-опромінення (від 1,2 мГр до 2,0 Гр) не спричиняли порушення гомеостазу в тканинах і організмах, тобто не сприяли індукції в них канцерогенезу [3].

S. Kirolikar з колегами провели експеримент з опроміненням пупочної області мишей діаметром 1 см в дозі 2000 сГр з використанням платформи для променевої терапії Varian/BrainLAB Novalis Tx™ і дотриманням умов, що виключили розсіювання діючої дози радіації [52]. При цьому в неопромінені клітини головного мозку мишей було зареєстровано індукцію ефекту свідка, що проявлялась у підвищенні рівнів γ H2AX, Caspase-3, NF κ B, IL-6. Було показано інгібування ефекту свідка внаслідок введення мишам агентів, що інактивували безклітинний хроматин cfCh (виділяється внаслідок апоптичної загибелі опромінені клітин), що дозволило авторам зробити висновок про участь частинок cfCh в індукції абскопального ефекту (шляхом розповсюдження по організму тварини з током крові) і зробити застереження стосовно можливої участі ефекту свідка в індукції вторинних пухлин після променевої терапії раку.

В багатьох дослідженнях показано, що вторинні радіогенні пухлини можуть утворюватись за посередництва імунних чинників внаслідок розвитку абскопального ефекту при променевої терапії первинних пухлин. Зокрема, підтверджено високий рівень захворюваності на рак легенів у пацієнтів після променевої терапії ректального раку, раку шийки матки і раку яєчників [106–109]. До онкологічної патології, що може зумовлюватись радіаційно-індукованим ефектом свідка, відносять ракові захворювання легенів і бронхів, меланоми та саркоми після променевої терапії раку простати [110]. Ризик появи вторинних раків зберігається протягом багатьох років після променевої терапії [110].

У Доповіді Наукового комітету ООН з впливу атомної радіації (UNSCEAR) зазначається, що в науковій спільноті досі немає консенсусу щодо того, чи збільшує/зменшує індукція ефекту свідка ризик розвитку онкологічної патології при дії низьких доз іонізуючого випромінювання, адже крім пошкоджень ДНК і можливого розвитку геномної нестабільності цей процес супроводжується збільшенням частоти апоптозів, внаслідок чого пошкоджені клітини елімінуються [111].

Крім того, встановлено, що стабілізації геному в організмі, який зазнав дії іонізуючого випромінювання,

studies in various tissues and experimental models and concluded that the induction of bystander and abscopal effects at low doses of X-ray and gamma irradiation (from 1.2 mGy to 2.0 Gy) did not cause a violation of homeostasis in tissues and organisms, that is they did not contribute to the induction of carcinogenesis in them [3].

S. Kirolikar et al. conducted an experiment with the irradiation of the mice umbilical region diameter of 1 cm at a dose of 2000 cGy using platform for radiotherapy Varian/BrainLAB Novalis Tx™ and adhering to the conditions excluded dispersion of the active doses of radiation [52]. In the non-irradiated brain cells of mice induction of bystander effect was recorded which was manifested in increasing levels of γ H2AX, Caspase-3, NF κ B, IL-6. Inhibition of bystander effect was shown due to introduction to mice the agents that inactivated cell-free chromatin cfCh (released as a result of apoptotic death of irradiated cells), which allowed authors to conclude that the particles of cfCh were involved in the inducing of the abscopal effect (by spreading with blood flow) and make reservations concerning the possible participation of bystander effect in the induction of secondary tumors after radiation therapy of cancer.

Many studies have shown that secondary radiogenic tumors can be formed through the mediation of immune factors as a result of the development of the abscopal effect during radiation therapy of primary tumors. In particular, a high incidence of lung cancer in patients after radiation therapy for rectal cancer, cervical cancer and ovarian cancer has been confirmed [106–109]. To the oncological pathology that can be caused by RIBE include cancers of lungs and bronchies, melanoma and sarcoma after radiation therapy for prostate cancer [110]. The risk of these secondary cancers persists for many years after radiotherapy.

The report of the UN Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation (UNSCEAR) states that there is still no consensus in the scientific community as to whether the induction of the RIBE increases/decreases the risk of developing cancer under the influence of low doses of ionizing radiation, because in addition to DNA damage and the possible development of genomic instability this process is accompanied by an increase in the frequency of apoptosis, resulting in damaged cells being eliminated [111].

In addition, it has been found that to stabilization of the genome in organism exposed to ioniz-

сприяє здатність неопромінених нормальних клітин впливати на пошкоджені опроміненням клітини, що дістало назву зворотного ефекту свідка, або рятувального ефекту (mutual bystander response, rescue effect, protective bystander cross-talk). Зворотний ефект свідка описує явище, при якому опромінені клітини зазнають впливу від оточуючих їх неопромінених клітин внаслідок розвитку сигналів зворотного зв'язку, результатом чого може бути зменшення частоти індукованих радіацією пошкоджень ДНК в опромінені клітинах, що розцінюється як «позитивний» вплив [112–115]. Разом з тим, індукція зворотного ефекту свідка може знижувати та навіть нівелювати терапевтичну ефективність променевої терапії онкологічних захворювань. Зазначене спонукає наукову спільноту до подальшого всебічного вивчення цього феномену.

Таким чином, узагальнені і проаналізовані нами результати наукових досліджень стосовно радіаційно-індукованого ефекту свідка підтверджують, що іонізуюче випромінювання індукує не тільки мішеневі ефекти в безпосередньо опромінені клітинах, але й немішеневі ефекти в інтактних клітинах. У механізмі розвитку радіаційно-індукованого ефекту свідка можуть бути задіяні різні процеси – оксидативний стрес, зміна експресії генів внаслідок дії епігенетичних чинників, відповідь імунної системи на опромінення, внаслідок чого виникають локальні чи віддалені від місця опромінення ушкодження клітин.

Незважаючи на значний обсяг досліджень щодо феномену bystander response як універсального явища та radiation induced bystander effect зокрема, ще існує достатньо «білих плям» у визначенні механізмів його становлення та оцінці можливих наслідків для здоров'я людини.

Авторами огляду були визначені цитогенетичні аспекти розвитку радіаційно-індукованого ефекту свідка в соматичних клітинах людини (особливості його моделювання, індукції, маніфестації, персистенції, модифікації) шляхом дослідження хромосомної нестабільності в неопромінені та опромінені лімфоцитах крові людини з використанням аналізу диференційно GTG-зabarвлених метафазних хромосом.

В результаті проведених досліджень вперше запропоновано, розроблено та апробовано модельну систему для вивчення радіаційно-індукованого ефекту свідка з використанням змішаної культури опромінені *in vitro* чи *in vivo* і неопромінені лімфоцитів крові людини, які розрізняються за цитогенетичними маркерами статі, що дозволило встановити основні закономірності розвитку цього феномену на цитогенетичному рівні. Доведено, що розвитку радіаційно-індукованого

ing radiation contributes the ability of non-irradiated normal cells to affect damaged by radiation targeted cells, so-called the reverse bystander effect (mutual bystander response, rescue effect, protective bystander cross-talk). This effect describes the phenomenon in which directly irradiated cells received from the non-irradiated bystander cells the feedback signals, the result of which may be decrease in the frequency of radiation-induced DNA damages in irradiated cells, which considered as «positive» effect [112–115]. At the same time, the induction of rescue effect can decrease and even reduce the therapeutic effectiveness of radiation therapy for cancer. This prompts the scientific community to further comprehensively study of this phenomenon.

Thus, the generalized and analyzed by us results of research on the radiation-induced bystander effect confirm that ionizing radiation induces not only targeted effects in directly irradiated cells, but also non-targeted effects in the intact cells. In the mechanism of RIBE can be involved different processes – oxidative stress, changes in gene expression causing by the epigenetic factors, the response of the immune system to radiation exposure – as a result of which arise local or remote from the site of irradiation damages of cells.

In spite of a significant amount of research on the phenomenon of bystander response as a universal phenomenon and radiation induced bystander effect, in particular, there are still enough «white spots» in determining the mechanisms of its formation and the assessment of its possible consequences for human health.

The reviewers identified the cytogenetic aspects of the development of RIBE in somatic human cells (peculiarities of its modeling, induction, manifestation, persistence, modification) by studying chromosomal instability in non-irradiated and irradiated human blood lymphocytes using the analysis of differential GTG-stained metaphase chromosomes.

As a result of our research for the first time a model system for the study of radiation-induced bystander effect using the mixed culture from irradiated *in vitro* or *in vivo* and intact human blood lymphocytes differing in cytogenetic markers of gender (X, XY) was proposed, developed and tested, which allowed to establish the basic patterns of this phenomenon at the cytogenetic level. It was proved that for the development of radiation-induced bystander effect was inherent the

ефекту свідка притаманна підвищена індукція цитогенетичних маркерів геномної нестабільності — аберацій хроматидного типу, частота яких не залежить від дози опромінення клітин-мішеней і може бути передана наступним поколінням клітин-свідків *in vivo/in vitro*. Виявлено міжіндивідуальні і вікові відмінності у здатності до розвитку радіаційно-індукованого цитогенетичного ефекту в клітинах-свідках, які можуть бути генетично детермінованими, спричиненими індивідуальними особливостями стану про- і антиоксидантних систем чи викликаними дією інших генотоксикантів. Показано, що розвиток ефекту свідка може бути наслідком стресової відповіді організму на вплив генотоксичних агентів нерадіаційної природи, що проявляється підвищеною фоновою частотою аберацій хроматидного типу, яка не змінюється при радіаційному впливі. Встановлено, що лімфоцити крові людини, опромінені *in vivo* в широкому діапазоні доз, індують bystander-type effect в інтактних клітинах-свідках навіть у віддалені терміни після впливу іонізуючої радіації, що підтверджує його здатність до тривалої персистенції в організмі людини. Зареєстровано зворотний ефект свідка, що спричиняє зниження радіаційно-індукованої частоти аберацій хромосом в клітинах-мішенях. Встановлено підвищену частоту аберацій хроматидного типу внаслідок розвитку абскопального ефекту у осіб, які зазнали впливу ^{131}I внаслідок аварії на ЧАЕС. Показано, що розвиток радіаційно-індукованого ефекту свідка може бути модифікований (нівелований) антиоксидантними препаратами, які захищають клітини-свідки від пошкоджуючої дії вільних радикалів і активних форм кисню. Підтверджено, що для біологічної індикації і дозиметрії у віддалені терміни після опромінення людини коректним є облік частоти тільки стабільних цитогенетичних маркерів дії радіації, а не таких показників як «частота аберантних клітин» і «рівень аберацій хромосом», що може завищувати результати за рахунок аберацій хроматидного типу, індукованих в результаті bystander-type effect. Основні результати вказаних досліджень викладені в публікаціях [116–122].

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Goodhead D. T. New radiobiological, radiation risk and radiation protection paradigms. *Mutat. Res.* 2010. Vol. 687. P. 13–16. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2010.01.006>.
2. Djordjevic B. Bystander effects: a concept in need of clarification. *Bioessays.* 2000. Vol. 22. P. 286–290. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-1878\(200003\)22:3<286::AID-BIES10>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-1878(200003)22:3<286::AID-BIES10>3.0.CO;2-S).
3. Tomita M., Maeda M. Mechanisms and biological importance of photon-induced bystander responses: do they have an impact on low-dose radi-

increased induction of cytogenetic markers of genomic instability — chromatid type aberrations the frequency of which is independent from radiation dose of targeted cells and can be passed on to subsequent generations of bystander cells *in vivo* and *in vitro*. Inter-individual and age differences in the ability to develop radiation-induced cytogenetic effect in the bystander cells, which can be genetically determined, caused by individual peculiarities of the state of pro- and anti-oxidant systems or by the impact of other genotoxicants were revealed. It was shown that the development of bystander effect can be consequence of the stress response of the organism to the influence of genotoxic agents of non-radiation nature, which was manifested by an increased background frequency of chromatid aberrations and did not change under radiation exposure. It was established that human blood lymphocytes irradiated *in vivo* over a wide range of doses induced bystander-type effect in non-irradiated cells even during the long term after radiation exposure, confirming its ability to long-term persistence in the human body. The rescue effect was registered causing decrease in the frequency of radiation-induced chromosomal aberrations in the target cells. The elevated level of chromatid type aberrations was established due to the development of the abscopal effect in persons exposed to ^{131}I as a result of the Chernobyl accident. It was shown that the development of radiation-induced bystander effect can be modified (levelled) by antioxidants that protect the bystander cells from the damaging impact of free radicals and active forms of oxygen. It was confirmed that for biological indication and dosimetry of human irradiation in the delayed terms following exposure, it is correct to record only the frequency of stable cytogenetic radiation markers, but not such indicators as «frequency of aberrant cells» and «level of chromosome aberrations» which can overvalue the results due to chromatid type aberrations induced by the bystander-type effect. The main results of these studies are presented in our publications [116–122].

REFERENCES

1. Goodhead DT. New radiobiological, radiation risk and radiation protection paradigms. *Mutat Res.* 2010;687:13-6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2010.01.006>.
2. Djordjevic B. Bystander effects: a concept in need of clarification. *Bioessays.* 2000;22:286-90. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-1878\(200003\)22:3<286::AID-BIES10>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-1878(200003)22:3<286::AID-BIES10>3.0.CO;2-S)
3. Tomita M, Maeda M. Mechanisms and biological importance of photon-induced bystander responses: do they have an impact

- ation responses. *J. Radiat. Res.* 2015. Vol. 56, no. 2. P. 205–219. DOI: <https://doi.org/10.1093/jrr/rru099>.
4. Mothersill C., Seymour C. Radiation-induced bystander effects: past history and future directions. *Radiat. Res.* 2001. Vol. 155, no 6. P. 757–765.
 5. Shemetun O. V., Pilins'ka M. A. Radiation-induced «bystander» effect. *Cytol. Genet.* 2007. Vol. 41, no. 4. P. 251–255. DOI: <https://doi.org/10.3103/S0095452707040111>.
 6. Widel M. Radiation induced bystander effect: from in vitro studies to clinical application. *International Journal of Medical Physics, Clinical Engineering and Radiation Oncology.* 2016. Vol. 5. P. 1–17. DOI: <http://dx.doi.org/10.4236/ijmpcero.2016.51001>.
 7. Verma N., Tiku A. B. Significance and nature of bystander responses induced by various agents. *Mutat. Res.* 2017. Vol. 773. P. 104–121. doi: 10.1016/j.mrrev.2017.05.003.
 8. Burdak-Rothkamm S., Rothkamm K. Radiation-induced bystander and systemic effects serve as a unifying model system for genotoxic stress responses. *Mutat. Res.* 2018. Vol. 778. P. 13–22. doi: 10.1016/j.mrrev.2018.08.001.
 9. Pouget J.-P., Georgakilas A. G., Ravanat J.-L. Targeted and off-target (bystander and abscopal) effects of radiation therapy: redox mechanisms and risk/benefit analysis. *Antioxid. Redox Signal.* 2018. Vol. 29, no 15. P. 1447–1487. doi: 10.1089/ars.2017.7267.
 10. Mothersill C., Rusin A., Fernandez-Palomo C., Seymour C. History of bystander effects research 1905-present; what is in a name? *Int. J. Radiat. Biol.* 2018. Vol. 94, no 8. P. 696–707. doi: 10.1080/09553002.2017.1398436.
 11. Parsons W. B., Watkins C. H., Pease G. L., Childs D. S. Changes in sternal marrow following roentgen-ray therapy to the spleen in chronic granulocytic leukemia. *Cancer.* 1954. Vol. 7. P. 179–89.
 12. Seymour C. B., Mothersill C., Alper T. High yields of lethal mutations in somatic mammalian cells that survive ionizing radiation. *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.* 1986. Vol. 50, no. 1. P. 167–179.
 13. Nagasawa H., Little J. B. Induction of sister chromatid exchanges by extremely low doses of alpha-particles. *Cancer Res.* 1992. Vol. 52. P. 6394–6396.
 14. Deshpande A., Goodwin E. H., Bailey S. M. et al. Alpha-particle-induced sister chromatid exchange in normal human lung fibroblasts: evidence for an extranuclear target. *Radiat. Res.* 1996. Vol. 145. P. 260–267.
 15. Nagasawa H., Little J. B. Unexpected sensitivity to the induction of mutations by very low doses of alpha-particle radiation: evidence for a bystander effect. *Radiat. Res.* 1999. Vol. 152. P. 552–557.
 16. Prise K. M., Belyakov O. V., Newman H. C. et al. Non-targeted effects of radiation: bystander responses in cell and tissue models. *Radiat. Prot. Dosimetry.* 2002. Vol. 99, no. 1-4. P. 223–226. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.rpd.a006768>
 17. Hill M. A., Stevens D. L., Kadhim M. et al. Experimental techniques for studying bystander effects in vitro by high and low-LET ionising radiation. *Radiat. Prot. Dosimetry.* 2006. Vol. 122, no. 1–4. P. 260–265.
 - on low-dose radiation responses. *J Radiat Res.* 2015;56(2):205-19. DOI: <https://doi.org/10.1093/jrr/rru099>.
 4. Mothersill C, Seymour C. Radiation-induced bystander effects: past history and future directions. *Radiat Res.* 2001;155(6):757-65.
 5. Shemetun OV, Pilins'ka MA. Radiation-induced «bystander» effect. *Cytol Genet.* 2007;41(4):251-5. DOI: <https://doi.org/10.3103/S0095452707040111>.
 6. Widel M. Radiation induced bystander effect: from in vitro studies to clinical application. *International Journal of Medical Physics, Clinical Engineering and Radiation Oncology.* 2016;5:1-17. DOI: <http://dx.doi.org/10.4236/ijmpcero.2016.51001>
 7. Verma N, Tiku AB. Significance and nature of bystander responses induced by various agents. *Mutat Res.* 2017;773:104-21. DOI: 10.1016/j.mrrev.2017.05.003.
 8. Burdak-Rothkamm S, Rothkamm K. Radiation-induced bystander and systemic effects serve as a unifying model system for genotoxic stress responses. *Mutat Res.* 2018;778:13-22. DOI: 10.1016/j.mrrev.2018.08.001.
 9. Pouget J-P, Georgakilas AG, Ravanat J-L. Targeted and off-target (bystander and abscopal) effects of radiation therapy: redox mechanisms and risk/benefit analysis. *Antioxid Redox Signal.* 2018;29(15):1447-87. DOI: 10.1089/ars.2017.7267
 10. Mothersill C, Rusin A, Fernandez-Palomo C, Seymour C. History of bystander effects research 1905-present; what is in a name? *Int J Radiat Biol.* 2018;94(8):696-707. doi: 10.1080/09553002.2017.1398436.
 11. Parsons WB, Watkins CH, Pease GL, Childs DS. Changes in sternal marrow following roentgen-ray therapy to the spleen in chronic granulocytic leukemia. *Cancer.* 1954;7:179-89.
 12. Seymour CB, Mothersill C, Alper T. High yields of lethal mutations in somatic mammalian cells that survive ionizing radiation. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med.* 1986;50(1):167-79.
 13. Nagasawa H, Little JB. Induction of sister chromatid exchanges by extremely low doses of alpha-particles. *Cancer Res.* 1992;52:6394-6.
 14. Deshpande A, Goodwin EH, Bailey SM, Marrone BL, Lehnert BE. Alpha-particle-induced sister chromatid exchange in normal human lung fibroblasts: evidence for an extranuclear target. *Radiat Res.* 1996;145:260-7.
 15. Nagasawa H, Little JB. Unexpected sensitivity to the induction of mutations by very low doses of alpha-particle radiation: evidence for a bystander effect. *Radiat Res.* 1999;152:552-7.
 16. Prise KM, Belyakov OV, Newman HC, Patel S, Schettino G, Folkard M, et al. Non-targeted effects of radiation: bystander responses in cell and tissue models. *Radiat Prot Dosimetry.* 2002;99(1-4):223-6. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.rpd.a006768>
 17. Hill MA, Stevens DL, Kadhim M, Blake-James M, Mill AJ, Goodhead DT. Experimental techniques for studying bystander effects in vitro by high and low-LET ionising radiation. *Radiat Prot Dosimetry.* 2006;122(1-4):260-5.

18. Thust R., Tomicic M.T., Grabner R. et al. Cytogenetic detection of trans-species bystander effect: induction of sister chromatid exchanges in murine 3T3 cells by ganciclovir metabolized in HSV thymidine kinase gene-transfected Chinese hamster ovary cells. *Mutagenesis*. 2004. Vol. 19, no. 1. P. 27–33. DOI: <https://doi.org/10.1093/mutage/geh002>
19. Mothersill C., Fernandez-Palomo C., Fazzari J. et al. Transmission of signals from rats receiving high doses of microbeam radiation to cage mates: an inter-mammal bystander effect. *Dose Response*. 2014. Vol. 12, no. 1. P. 72–92. DOI: <https://doi.org/10.2203/dose-response.13-011.Mothersill>
20. Desouky O., Ding N., Zhou G. Targeted and non-targeted effects of ionizing radiation. *J. Radiat. Res. Appl. Sci.* 2015. Vol. 8, no. 2. P. 247–254. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-1212>
21. Watson G. E., Lorimore S. A., Macdonald D. A., Wright E. G. Chromosomal instability in unirradiated cells induced in vivo by a bystander effect of ionizing radiation. *Cancer Res*. 2000. Vol. 60. P. 5608–5611.
22. Morgan W. F., Hartmann A., Limoli C.L. et al. Bystander effects in radiation-induced genomic instability. *Mutat. Res*. 2002. Vol. 504, no. 1–2. P. 91–100.
23. Morgan W. F. Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation: II. Radiation-induced genomic instability and bystander effects in vivo, clastogenic factors and transgenerational effects. *Radiat. Res*. 2003. Vol. 159. P. 581–596.
24. Lorimore S. A., Chrystal J. A., Robinson J. I. et al. Chromosomal instability in unirradiated hemaopoietic cells induced by macrophages exposed in vivo to ionizing radiation. *Cancer Res*. 2008. Vol. 68. P. 8122–8126. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0698.
25. Pant G. S., Kamada N. Chromosome aberrations in normal leukocytes induced by the plasma of exposed individuals. *Hiroshima J. Med. Sci.* 1977. Vol. 26. P. 149–154.
26. Emerit I. Transferable clastogenic activity in plasma from persons exposed as salvage personnel of the Chernobyl reactor. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 1994. Vol. 120. P. 558–561.
27. Emerit I., Quastel M., Goldsmith J., Merkin L. et al. Clastogenic factors in the plasma of children exposed at Chernobyl. *Mutat. Res*. 1997. Vol. 373, no. 1. P. 47–54.
28. Мазник Н. А., Винников В. А., Сыпко Т. С. и др. Изучение эффекта свидетеля в модельных экспериментах с использованием in vivo облученной плазмы. VI съезд по радиационным исследованиям: тез. докл. Москва, 2010. Т. 1. С. 66.
29. Ермаков А. В., Вейко Н. Н., Моисеева О. С. и др. Эффект свидетеля транспозиции локусов хромосом, индуцированной адаптивными дозами ионизирующей радиации. Генетические последствия чрезвычайных радиационных ситуаций: Материалы III Междунар. конф. М., 2005. С. 43–44.
30. Воробцова И. Е., Колесникова И. С. Исследование радиационно-индуцированного «эффекта свидетеля» в совместной культуре лимфоцитов людей разного пола. *Радиаци. биология. Радиэкология*. 2007. Т. 47, № 6. С. 645–649.
18. Thust R, Tomicic MT, Grabner R, Friedrichs C, Wutzler P, Kaina B. Cytogenetic detection of trans-species bystander effect: induction of sister chromatid exchanges in murine 3T3 cells by ganciclovir metabolized in HSV thymidine kinase gene-transfected Chinese hamster ovary cells. *Mutagenesis*. 2004;19(1):27-33. <https://doi.org/10.1093/mutage/geh002>
19. Mothersill C, Fernandez-Palomo C, Fazzari J, Smith R, Schultke E, Brauer-Krisch E, et al. Transmission of signals from rats receiving high doses of microbeam radiation to cage mates: an inter-mammal bystander effect. *Dose Response*. 2014;12(1):72-92. <https://doi.org/10.2203/dose-response.13-011.Mothersill>
20. Desouky O, Ding N, Zhou G. Targeted and non-targeted effects of ionizing radiation. *J Radiat Res Appl Sci*. 2015;8(2): 247-54. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-1212>
21. Watson GE, Lorimore SA, Macdonald DA, Wright EG. Chromosomal instability in unirradiated cells induced in vivo by a bystander effect of ionizing radiation. *Cancer Res*. 2000;60: 5608-11.
22. Morgan WF, Hartmann A, Limoli CL, Nagar S, Ponnaiya B. Bystander effects in radiation-induced genomic instability. *Mutat Res*. 2002;504(1-2):91-100.
23. Morgan WF. Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation: II. Radiation-induced genomic instability and bystander effects in vivo, clastogenic factors and transgenerational effects. *Radiat Res*. 2003;159:581-96.
24. Lorimore SA, Chrystal JA, Robinson JI, Coates PJ, Wright EG. Chromosomal instability in unirradiated hemaopoietic cells induced by macrophages exposed in vivo to ionizing radiation. *Cancer Res*. 2008;68:8122-6. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0698.
25. Pant GS, Kamada N. Chromosome aberrations in normal leukocytes induced by the plasma of exposed individuals. *Hiroshima J Med Sci*. 1977;26:149-54.
26. Emerit I. Transferable clastogenic activity in plasma from persons exposed as salvage personnel of the Chernobyl reactor. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1994;120:558-61.
27. Emerit I, Quastel M, Goldsmith J, Merkin L, Levy A, Cernjavski L, et al. Clastogenic factors in the plasma of children exposed at Chernobyl. *Mutat Res*. 1997;373(1):47-54.
28. Maznik NA, Vinnikov VA, Sytko TS, et al. [Study of the bystander effect in model experiments using in vivo irradiated plasma]. In: *VI Congress on radiation research: abstracts*. Moscow; 2010. Vol. 1. p. 66. Russian.
29. Yermakov AV, Veiko NN, Moiseeva OS, et al. [The bystander effect is a transposition of chromosome loci induced by adaptive doses of ionizing radiation]. In: *Genetic implications of emergency radiation situations: Proceedings of the 3rd International conf*. Moscow; 2005. p. 43-4. Russian.
30. Vorobtsova IYe, Kolesnikova IS. [Investigation of radiation-induced «bystander effect» in a joint culture of lymphocytes of people of different sexes]. *Radiatsionnaia biologii, radioecologia / Rossiiskaia akademiia nauk*. 2007;47(6):645-9. Russian.

31. Василенко О. П., Пронина О. В., Рушковский С. Р. Эффект свидетеля при совместном культивировании дрожжей с лимфоцитами периферической крови человека. *Матер. Междунар. конф. «Радиация и экосистемы»*. Гостомель, 2008. С. 263–267.
32. Vasilenko O. P., Pronina O. V., Rushkovsky S. R. Bystander effect in human lymphocytes incubated with irradiated mitochondrial DNA deficient yeast cells. *Radioprotection*. 2012. Vol. 46, no. 6. P. S555–S559. DOI: <https://doi.org/10.1051/radiopro/20116908s>.
33. World Health Organization. Guidelines for study of genetic effects in human populations. Environmental health criteria 46-WHO. Geneva : WHO, 1985. 126 p.
34. Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna : International Atomic Energy Agency, 2011. 229 p.
35. Salomaa S. The scientific bases of radiation protection Non-targeted effects of ionising radiation - Implications for radiation protection [Internet]. URL: <https://www.osti.gov/etdeweb/servlets/purl/20854826> (дата звернення 14.05.2019).
36. Wright E. G. Manifestations and mechanisms of non-targeted effects of ionizing radiation. *Mutat. Res.* 2010. Vol. 687, no. 1–2. P. 28–33.
37. Wright E. Mechanisms of non-targeted effects. Available from: https://www.note-ip.org/Meetings_and_events/NOTE_Workshops (дата звернення 14 червня 2010).
38. Mothersill C. E., Seymour C. B. Medium from irradiated human epithelial cells but not human fibroblasts reduces the clonogenic survival of unirradiated cells. *Int. J. Radiat. Biol.* 1997. Vol. 71. P. 421–427.
39. Vines A. M., Lyng F. M., McClean B. et al. Bystander signal production and response are independent processes which are cell line dependent. *Int. J. Radiat. Biol.* 2008. Vol. 84. P. 83–90. DOI: <https://doi.org/10.1080/09553000701797062>.
40. Cali B., Ceolin S., Ceriani F. et al. Critical role of gap junction communication, calcium and nitric oxide signaling in bystander responses to focal photodynamic injury. *Oncotarget*. 2015. Vol. 6. P. 10161–10174. doi: 10.18632/oncotarget.3553.
41. Wright E. G. Commentary on radiation-induced bystander effects. *Hum. Exp. Toxic.* 2004. Vol. 23. P. 91–94. DOI: <https://doi.org/10.1191/0960327104ht4240a>.
42. de Toledo S. M., Buonanno M., Harris A. L., Azzam E. I. Genomic instability induced in distant progeny of bystander cells depends on the connexins expressed in the irradiated cells. *Int. J. Radiat. Biol.* 2017. Vol.93, no. 10. P. 1182–1194. doi: 10.1080/09553002.2017.1334980.
43. Facchetti A., Ballarini F., Cherubini R. Gamma ray-induced bystander effect in tumour glioblastoma cells: a specific study on cell survival, cytokine release and cytokine receptors. *Radiat. Prot. Dosimetry*. 2006. Vol. 122, no. 1-4. P. 271–274. DOI: <https://doi.org/10.1093/rpd/nc1431>.
44. Morgan W. F. Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation: Radiation-induced genomic instability and bystander effects in vitro. 2003. *Radiat. Res.* 2012. Vol. 178, no. 5. P. AV223–236.
31. Vasilenko OP, Pronina OV, Rushkovsky SR. [The bystander effect under the joint cultivation of yeast with human peripheral blood lymphocytes]. In: *Materials of the International conf. «Radiation and Ecosystems»*. Gostomel; 2008. p. 263-7. Russian.
32. Vasilenko OP, Pronina OV, Rushkovsky SR. Bystander effect in human lymphocytes incubated with irradiated mitochondrial DNA deficient yeast cells. *Radioprotection*. 2012;46(6):S555-9. DOI: <https://doi.org/10.1051/radiopro/20116908s>.
33. World Health Organization. Guidelines for study of genetic effects in human populations. Environmental health criteria 46-WHO. Geneva: WHO; 1985. 126 p.
34. Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna : International Atomic Energy Agency; 2011. 229 p.
35. Salomaa S. The scientific bases of radiation protection. Non-targeted effects of ionising radiation - Implications for radiation protection [Internet]. URL: <https://www.osti.gov/etdeweb/servlets/purl/20854826> (last accessed 14.05.2019).
36. Wright EG. Manifestations and mechanisms of non-targeted effects of ionizing radiation. *Mutat Res.* 2010;687(1-2):28-33.
37. Wright E. Mechanisms of non-targeted effects [Internet]. Available from: https://www.note-ip.org/Meetings_and_events/NOTE_Workshops. (last accessed 14.06.2010).
38. Mothersill CE, Seymour CB. Medium from irradiated human epithelial cells but not human fibroblasts reduces the clonogenic survival of unirradiated cells. *Int J Radiat Biol.* 1997;71:421-7.
39. Vines AM, Lyng FM, McClean B, Seymour C, Mothersill CE. Bystander signal production and response are independent processes which are cell line dependent. *Int J Radiat Biol.* 2008; 84:83-90. DOI: <https://doi.org/10.1080/09553000701797062>.
40. Cali B, Ceolin S, Ceriani F, Bortolozzi M, Agnellini AH, Zorzi V, et al. Critical role of gap junction communication, calcium and nitric oxide signaling in bystander responses to focal photodynamic injury. *Oncotarget*. 2015;6:10161-74. doi: 10.18632/oncotarget.3553.
41. Azzam EI, de Toledo SM, Little JB. Direct evidence for the participation of gap junction-mediated intercellular communication in the transmission of damage signals from alpha-particle irradiated to nonirradiated cells. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 2001;98:473-8.
42. De Toledo SM, Buonanno M, Harris AL, Azzam EI. Genomic instability induced in distant progeny of bystander cells depends on the connexins expressed in the irradiated cells. *Int J Radiat Biol.* 2017;93(10):1182-94. doi: 10.1080/09553002.2017.1334980.
43. Facchetti A, Ballarini F, Cherubini R. Gamma ray-induced bystander effect in tumour glioblastoma cells: a specific study on cell survival, cytokine release and cytokine receptors. *Radiat Prot Dosimetry.* 2006;122(1-4):271-4. DOI: <https://doi.org/10.1093/rpd/nc1431>.
44. Morgan WF. Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation: Radiation-induced genomic instability and bystander effects in vitro. 2003. *Radiat Res.* 2012;178(5):AV223-36.

45. Lehnert B. E., Goodwin E. H. Extracellular factor(s) following exposure to alpha particles can cause sister chromatid exchanges in normal human cells. *Cancer Res.* 1997. Vol. 57. P. 2164–2171.
46. Mothersill C., Seymour C. B. Cell-cell contact during gamma irradiation is not required to induce a bystander effect in normal human keratinocytes: Evidence for release during irradiation of a signal controlling survival into the medium. *Radiat. Res.* 1998. Vol. 149. P. 256–262.
47. Kashino G., Prise K. M., Suzuki K. et al. Effective suppression of bystander effects by DMSO treatment of irradiated CHO cells. *J. Radiat. Res.* 2007. Vol. 48. P. 327–333. DOI: <https://doi.org/10.1269/jrr.07008>.
48. Chen S., Zhao Y., Zhao G. et al. Up-regulation of ROS by mitochondria-dependent bystander signaling contributes to genotoxicity of bystander effects. *Mutat. Res.* 2009. Vol. 666. P. 68–73. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2009.04.006>.
49. Lyng F. M., Howe O. L., McClean B. Reactive oxygen species-induced release of signalling factors in irradiated cells triggers membrane signalling and calcium influx in bystander cells. *Int. J. Radiat. Biol.* 2011. Vol. 87. P. 683–695. DOI: <https://doi.org/10.3109/09553002.2010.549533>
50. Mitra I., Khare N. K., Raghuram G. V. et al. Circulating nucleic acids damage DNA of healthy cells by integrating into their genomes. *J. Biosci.* 2015. Vol. 40, no. 1. P. 91–111. doi: 10.1007/s12038-015-9508-6.
51. Mitra I., Samant U., Sharma S. et al. Cell-free chromatin from dying cancer cells integrate into genomes of bystander healthy cells to induce DNA damage and inflammation. *Cell Death Discov.* 2017. Vol. 3. P. 17015. doi: 10.1038/cddiscovery.2017.15.
52. Kirolikar S., Prasannan P., Raghuram G. V. et al. Prevention of radiation-induced bystander effects by agents that inactivate cell-free chromatin released from irradiated dying cells. *Cell Death Disease.* 2018. Vol. 9. Art. no. 1142. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41419-018-1181-x>.
53. Ермаков А. В.; Костюк С. В.; Еголина Н. А. и др. Сигнализация между лимфоцитами человека после индукции эффекта свидетеля воздействием ионизирующей радиации в адаптирующих дозах. *Радиаци. биология. Радиозэкология.* 2007. Т. 47, № 6. С. 650–656.
54. Ермаков А. В., Конькова М. С., Костюк С. В. и др. Фрагменты внеклеточной ДНК из среды инкубирования лимфоцитов человека, облученных в малых дозах, запускают развитие окислительного стресса и адаптивного ответа в необлученных лимфоцитах-свидетелях. *Радиаци. биология. Радиозэкология.* 2008. Т. 48, № 5. С. 553–564.
55. Ермаков А. В., Костюк С. В., Конькова М. С. Внеклеточная ДНК облученных клеток - фактор, индуцирующий эффект свидетеля при действии малых доз ионизирующей радиации. *VI съезд по радиационным исследованиям : тез. докл. М., 2010. Т. 1. С. 26.*
45. Lehnert BE, Goodwin EH. Extracellular factor(s) following exposure to alpha particles can cause sister chromatid exchanges in normal human cells. *Cancer Res.* 1997;57:2164-71.
46. Mothersill C, Seymour CB. Cell-cell contact during gamma irradiation is not required to induce a bystander effect in normal human keratinocytes: Evidence for release during irradiation of a signal controlling survival into the medium. *Radiat Res.* 1998;149:256-62.
47. Kashino G, Prise KM, Suzuki K, Matsuda N, Kodama S, Suzuki M, et al. Effective suppression of bystander effects by DMSO treatment of irradiated CHO cells. *J Radiat Res.* 2007;48:327-33. DOI: <https://doi.org/10.1269/jrr.07008>.
48. Chen S, Zhao Y, Zhao G, Han W, Bao L, Yu KN, et al. Up-regulation of ROS by mitochondria-dependent bystander signaling contributes to genotoxicity of bystander effects. *Mutat Res.* 2009;666:68-73. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2009.04.006>.
49. Lyng FM, Howe OL, McClean B. Reactive oxygen species-induced release of signalling factors in irradiated cells triggers membrane signalling and calcium influx in bystander cells. *Int J Radiat Biol.* 2011;87:683-95. DOI: <https://doi.org/10.3109/09553002.2010.549533>.
50. Mitra I, Khare NK, Raghuram GV, Chaubal R, Khambatti F, Gupta D, et al. Circulating nucleic acids damage DNA of healthy cells by integrating into their genomes. *J Biosci.* 2015;40(1):91-111. doi: 10.1007/s12038-015-9508-6.
51. Mitra I, Samant U, Sharma S, Raghuram GV, Saha T, Tidke P, et al. Cell-free chromatin from dying cancer cells integrate into genomes of bystander healthy cells to induce DNA damage and inflammation. *Cell Death Discov.* 2017;3:17015. doi: 10.1038/cddiscovery.2017.15.
52. Kirolikar S, Prasannan P, Raghuram GV, Pancholi N, Saha T, Tidke P, et al. Prevention of radiation-induced bystander effects by agents that inactivate cell-free chromatin released from irradiated dying cells. *Cell Death Disease.* 2018; 9:1142. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41419-018-1181-x>.
53. Yermakov AV, Kostiuk SV, Yegolina NA, Kalashnikova EA, Kokarovtseva SN, Malinovskaya EM, et al. [Stress signaling between human lymphocytes after induction of bystander effect by exposure to ionizing radiation in adaptive doses]. *Radiatsionnaia biologiya, radioecologiya / Rossiiskaia akademiia nauk.* 2007;47(6):650-6. Russian.
54. Yermakov AV, Kon'kova MS, Kostiuk SV, Ershova E, Egoлина NA, Veiko N. [Extracellular DNA fragments from culture medium of low-dose irradiated human lymphocyte trigger instigating of the oxidative stress and the adaptive response in non-irradiated bystander lymphocytes]. *Radiatsionnaia biologiya, radioecologiya / Rossiiskaia akademiia nauk.* 2008;48(5):553-64. Russian.
55. Yermakov AV, Kostiuk SV, Konkova MS. [Extracellular DNA of irradiated cells is a factor that induces the bystander effect at

56. Koturbash I., Rudo R. E., Hendricks C. A. et al. Irradiation induces DNA damage and modulates epigenetic effectors in distant bystander tissue in vivo. *Onkogene*. 2006. Vol. 25. P. 4267–4275. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209467>.
57. Tamminga J., Koturbash I., Baker M. et al. Paternal cranial irradiation induces distant bystander DNA damage in the germline and leads to epigenetic alterations in the offspring. *Cell Cycle*. 2008. Vol. 7, Iss. 9. P. 1238–1245. DOI: <https://doi.org/10.4161/cc.7.9.5806>.
58. Brooks A. L. Evidence for 'bystander effects' in vivo. *Hum. Exp. Toxicol.* 004. Vol. 23, no 2. P. 67–70. DOI: <https://doi.org/10.1191/0960327104ht419oa>
59. Ventura J., Lobachevsky P. N., Palazzolo J. S. et al. Localized synchrotron irradiation of mouse skin induces persistent systemic genotoxic and immune responses. *Cancer Res*. 2017. Vol. 77, no. 22. P. 6389–6399. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1066.
60. Stephan G. Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of patients treated with radium-224 for ankylosing spondylitis: evidence for a bystander effects. *Генетические последствия чрезвычайных радиационных ситуаций : материалы III Междунар. конф. М., 2005. С. 6.*
61. Stephan G., Kampen W.U., Nobke D., Roos H. Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of patients treated with radium-224 for ankylosing spondylitis. *Radiat. Environ. Biophys.* 2005. Vol. 44. P. 23–28. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00411-005-0275-x>
62. Najafi M., Fardid R., Hadadi Gh., Fardid M. The mechanisms of radiation-induced bystander effect. *J. Biomed. Phys. Eng.* 2014. Vol. 4, no. 4. P. 163–172.
63. Liu S. Z., Jin S. Z., Liu X. D. Radiation-induced bystander effect in immune response. *Biomed. Environ. Sci.* 2004. Vol. 17, no. 1. P. 40–46.
64. Moore M. A. Cytokine and chemokine networks influencing stem cell proliferation, differentiation and marrow homing. *J. Cell Biochem. Suppl.* 2002. Vol. 38. P. 29–38.
65. Zamarron B. F., Chen W. Dual roles of immune cells and their factors in cancer development and progression. *Int. J. Biol. Sci.* 2011. Vol. 7, no. 5. P. 651–658. doi:10.7150/ijbs.7.651.
66. Calveley V. L., Khan M. A., Yeung I. W. et al. Partial volume rat lung irradiation: temporal fluctuations of in-field and out-of-field DNA damage and inflammatory cytokines following irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 2005. Vol. 81, no. 12. P. 887–899. DOI: <https://doi.org/10.1080/09553000600568002>.
67. Sprung C. N., Ivashkevich A., Forrester H. B. et al. Oxidative DNA damage caused by inflammation may link to stress-induced non-targeted effects. *Cancer Lett.* 2015. Vol. 356, no. 1. P. 72–81. doi: 10.1016/j.canlet.2013.09.008.
68. Hei T. K., Zhou H., Ivanov V. N. et al. Mechanism of radiation-induced bystander effects: a unifying model. *J. Pharm. Pharmacol.* 2008. Vol. 60, no. 8. P. 943–950. doi: 10.1211/jpp.60.8.0001
69. Rastogi S., Boylan M., Wright E. G., Coates P. J. Interactions of apoptotic cells with macrophages in radiation-induced bystander the action of low doses of ionizing radiation]. In: VI Congress on Radiation Research. Abstracts. Moscow; 2010. Vol. 1. p. 26. Russian.
56. Koturbash I, Rudo RE, Hendricks CA, Loree J, Thibault B, Kutanzi K, et al. Irradiation induces DNA damage and modulates epigenetic effectors in distant bystander tissue in vivo. *Onkogene*. 2006;25:4267-75. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209467>.
57. Tamminga J, Koturbash I, Baker M, Kutanzi K, Kathiria P, Pogribny IP, et al. Paternal cranial irradiation induces distant bystander DNA damage in the germline and leads to epigenetic alterations in the offspring. *Cell Cycle*. 2008;7(9):1238-45. DOI: <https://doi.org/10.4161/cc.7.9.5806>.
58. Brooks AL. Evidence for 'bystander effects' in vivo. *Hum Exp Toxicol*. 2004;23(2):67-70. DOI: <https://doi.org/10.1191/0960327104ht419oa>.
59. Ventura J, Lobachevsky PN, Palazzolo JS, Forrester H, Haynes N M, Ivashkevich A, et al. Localized synchrotron irradiation of mouse skin induces persistent systemic genotoxic and immune responses. *Cancer Res*. 2017;77(22):6389-99. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1066.
60. Stephan G. [Chromosomal aberrations in peripheral]. In: *Genetic implications of emergency radiation situations: Materials III International. conf.* Moscow; 2005. p. 6. Russian.
61. Stephan G, Kampen WU, Nobke D, Roos H. Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of patients treated with radium-224 for ankylosing spondylitis. *Radiat Environ Biophys*. 2005; 44:23-8. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00411-005-0275-x>.
62. Najafi M, Fardid R, Hadadi Gh, Fardid M. The mechanisms of radiation-induced bystander effect. *J. Biomed Phys Eng*. 2014;4(4)163-72.
63. Liu SZ, Jin SZ, Liu XD. Radiation-induced bystander effect in immune response. *Biomed Environ. Sci.* 2004;17(1):40-6.
64. Moore MA. Cytokine and chemokine networks influencing stem cell proliferation, differentiation and marrow homing. *J Cell Biochem Suppl*. 2002;38:29-38.
65. Zamarron BF, Chen W. Dual roles of immune cells and their factors in cancer development and progression. *Int J Biol Sci*. 2011;7(5):651-8. doi:10.7150/ijbs.7.651.
66. Calveley VL, Khan MA, Yeung IW, Vandyk J, Hill RP. Partial volume rat lung irradiation: temporal fluctuations of in-field and out-of-field DNA damage and inflammatory cytokines following irradiation. *Int J Radiat Biol*. 2005;81(12):887-99. DOI: <https://doi.org/10.1080/09553000600568002>.
67. Sprung CN, Ivashkevich A, Forrester HB, Redon CE, Georgakilas A, Martin OA. Oxidative DNA damage caused by inflammation may link to stress-induced non-targeted effects. *Cancer Lett*. 2015;356(1):72-81. doi: 10.1016/j.canlet.2013.09.008.
68. Hei TK, Zhou H, Ivanov VN, Hong M, Lieberman HB, Brenner DJ, et al. Mechanism of radiation-induced bystander effects: a unifying model. *J. Pharm. Pharmacol.* 2008;60(8):943-50. doi: 10.1211/jpp.60.8.0001.

- signaling. *Radiat. Res.* 2013. Vol. 179. P. 135–145. DOI: <https://doi.org/10.1667/RR2969.1>.
70. Моссе И. Б., Морозик П. М. Радиоиондуцированный «байстендер» эффект и его биологический смысл. *Наукові праці. Техногенна безпека*. 2010. В. 126. Т. 139. С. 37–41.
71. Konopacka M., Rzeszowska-Wolny J. The bystander effect-induced formation of micronucleated cells is inhibited by antioxidants, but the parallel induction of apoptosis and loss of viability are not affected. *Mutat. Res.* 2006. Vol. 593, Iss. 1–2. P. 32–38. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.06.017>.
72. Konopacka M. The influence of antioxidant vitamins on the radiation-induced bystander effect in normal human lymphocytes. Сучасні проблеми радіаційних досліджень. 35-та щорічна конференція Європейського товариства з радіаційних досліджень : зб. матеріалів. Київ, 2007. С. 94–101.
73. Koyama S., Kodama S., Suzuki K. et al. Radiation-induced long-lived radicals which cause mutation and transformation. *Mutat. Res.* 1998. Vol. 421, no. 1. P. 45–54. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(98\)00153-5](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(98)00153-5).
74. Zhou H., Ivanov V. N., Lien Y. C. et al. Mitochondrial function and nuclear factor-kappaB-mediated signaling in radiation-induced bystander effects. *Cancer Res.* 2008. Vol. 68. P. 2233–2240.
75. Chen S., Zhao Y., Han W. et al. Mitochondria-dependent signalling pathway are involved in the early process of radiation-induced bystander effects. *Br. J. Cancer.* 2008. Vol. 98, no. 11. P. 1839–1844. doi: 10.1038/sj.bjc.6604358.
76. Yang G., Wu L., Chen S. et al. Mitochondrial dysfunction resulting from loss of cytochrome c impairs radiation-induced bystander effect. *Br. J. Cancer.* 2009. Vol. 100, no. 12. P. 1912–1916. doi: 10.1038/sj.bjc.6605087.
77. Ilnytsky Y., Kovalchuk O. Non-targeted radiation effects-an epigenetic connection. *Mutat. Res.* 2011. Vol. 714, no. 1-2. P. 113–125. doi:10.1016/j.mrfmmm.2011.06.014
78. Holliday R. Epigenetics: a historical overview. *Epigenetics.* 2006. Vol. 1, no. 2. P. 76–80.
79. Das P. M., Singal R. DNA methylation and cancer. *J. Clin. Oncol.* 2004. Vol. 22, no. 22. P. 4632–4642. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380866-0.60002-2>
80. Kalinich J. F., Catravas G. N., Snyder S. L. The effect of gamma radiation on DNA methylation. *Radiat. Res.* 1989. Vol. 117, no. 2. P. 185–197.
81. Sedelnikova O. A., Nakamura A., Kovalchuk O. et al. DNA double-strand breaks form in bystander cells after microbeam irradiation of three-dimensional human tissue models. *Cancer Res.* 2007. Vol. 67, no. 9. P. 4295–4302. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4442.
82. Zaratiegui M., Irvine D. V., Martienssen R. A. Noncoding RNAs and gene silencing. *Cell.* 2007. Vol. 128, no. 4. P. 763–776. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.016>.
83. Xu S., Wang J., Ding N. et al. Exosome-mediated microRNA transfer plays a role in radiation-induced bystander effect. *RNA Biol.* 69. Rastogi S, Boylan M, Wright EG, Coates PJ. Interactions of apoptotic cells with macrophages in radiation-induced bystander signaling. *Radiat Res.* 2013;179):135-45. <https://doi.org/10.1667/RR2969.1>.
70. Mosse IB, Morozyk PM. [Radio-induced «baystender» effect and its biological meaning]. *Scientific works. Technological safety.* 2010;126(139):37-41. Russian.
71. Konopacka M, Rzeszowska-Wolny J. The bystander effect-induced formation of micronucleated cells is inhibited by antioxidants, but the parallel induction of apoptosis and loss of viability are not affected. *Mutat Res.* 2006;593(1-2):32-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.06.017>.
72. Konopacka M. The influence of antioxidant vitamins on the radiation-induced bystander effect in normal human lymphocytes. Modern problems of radiation research. In: *35th Annual Conference of the European Society for Radiological Research. Conference proceedings.* Kyiv; 2007. p. 94-101.
73. Koyama S, Kodama S, Suzuki K, Matsumoto T, Miyazaki T, Watanabe M. Radiation-induced long-lived radicals which cause mutation and transformation. *Mutat Res.* 1998;421(1):45-54. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(98\)00153-5](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(98)00153-5).
74. Zhou H, Ivanov VN, Lien YC, Davidson M, Hei TK. Mitochondrial function and nuclear factor-kappaB-mediated signaling in radiation-induced bystander effects. *Cancer Res.* 2008;68:2233-40.
75. Chen S, Zhao Y, Han W, Zhao G, Zhu L, Wang J, et al. Mitochondria-dependent signalling pathway are involved in the early process of radiation-induced bystander effects. *Br J Cancer.* 2008;98(11):1839-44. doi: 10.1038/sj.bjc.6604358. PubMed PMID: 18475304.
76. Yang G, Wu L, Chen S, Zhu L, Huang P, Tong L, et al. Mitochondrial dysfunction resulting from loss of cytochrome C impairs radiation-induced bystander effect. *Br J Cancer.* 2009;100(12):1912-6. doi: 10.1038/sj.bjc.6605087.
77. Ilnytsky Y, Kovalchuk O. Non-targeted radiation effects-an epigenetic connection. *Mutat Res.* 2011;714(1-2):113-25. doi:10.1016/j.mrfmmm.2011.06.014.
78. Holliday R. Epigenetics: a historical overview. *Epigenetics.* 2006;1(2):76-80.
79. Das PM, Singal R. DNA methylation and cancer. *J Clin Oncol.* 2004;22(22):4632-42. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380866-0.60002-2>.
80. Kalinich JF, Catravas GN, Snyder SL. The effect of gamma radiation on DNA methylation. *Radiat Res.* 1989;117(2):185-97.
81. Sedelnikova OA, Nakamura A, Kovalchuk O, Koturbash I, Mitchell SA, Marino SA, et al. DNA double-strand breaks form in bystander cells after microbeam irradiation of three-dimensional human tissue models. *Cancer Res.* 2007;67(9):4295-302. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4442.
82. Zaratiegui M, Irvine DV, Martienssen RA. Noncoding RNAs and gene silencing. *Cell.* 2007;128(4):763-76. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.016>.

2015. Vol. 12, no. 12. P. 1355–1363. DOI: <https://doi.org/10.1080/15476286.2015.1100795>.
84. Koturbash I., Boyko A., Rodriguez-Juarez R. et al. Role of epigenetic effectors in maintenance of the long-term persistent bystander effect in spleen in vivo. *Carcinogenesis*. 2007. Vol. 28, no. 8. P. 1831–1838. DOI: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgm053>.
85. Ilnytskyi Y., Koturbash I., Kovalchuk O. Radiation-induced bystander effects in vivo are epigenetically regulated in a tissue-specific manner. *Environ. Mol. Mutagen*. 2009. Vol. 50, no. 2. P. 105–113. DOI: <https://doi.org/10.1002/em.20440>.
86. Filkowski J. N., Ilnytskyi Y., Tamminga J. et al. Hypomethylation and genome instability in the germline of exposed parents and their progeny is associated with altered miRNA expression. *Carcinogenesis*. 2010. Vol. 31, no. 6. P. 1110–1115. DOI: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp300>.
87. Овсянникова Л. М., Чумак А. А., Алехина С. М. и др. Состояние окислительных процессов у ликвидаторов в разные периоды после аварии на ЧАЭС. *Тез. докл. VI съезда по радиационным исследованиям (Москва, 25–28 октября 2010 г.)*. Москва, 2010. Т. 1. С. 118.
88. Ovsyannikova L., Chumak A., Nosach O. et al. Antioxidant system, oxidative modification of proteins and lipids (Chapter 14). *Health effects of the Chernobyl Accident - a Quarter of Century Aftermath*. Kyiv: DIA, 2011. P. 419–432.
89. Marozik P., Mothersill C., Seymour C., Mosse I., Melnov S. Bystander effect induced by serum from survivors of the Chernobyl accident. *Exp. Hematol*. 2007. Vol. 35, no. 4 Suppl 1. P. 55–63.
90. Lorimore S. A., Kadhim M. A., Pocock D. A. et al. Chromosomal instability in the descendants of unirradiated surviving cells after alpha-particle irradiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. Vol. 95, no. 10. P. 5730–5733. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.95.10.5730>.
91. Осипов Н. А., Лизунова Е. Ю., Воробьева Н. Ю., Анчишкіна Н. А. Роль эффекта свидетеля в формировании отдаленных последствий облучения в культуре клеток линии CHO-K1. *VI съезд по радиационным исследованиям : тез. докл. М.*, 2010. Т. 1. С. 39.
92. Autsavapornporn N., Plante I., Liu C. et al. Genetic changes in progeny of bystander human fibroblasts after microbeam irradiation with X-rays, protons or carbon ions: the relevance to cancer risk. *Int. J. Radiat. Biol*. 2015. Vol. 91, no. 1. P. 62–70. DOI: <https://doi.org/10.3109/09553002.2014.950715>.
93. Autsavapornporn N., Liu C., Konishi T. Impact of co-culturing with fractionated carbon-ion-irradiated cancer cells on bystander normal cells and their progeny. *Radiat. Res*. 2017. Vol. 188, no. 3. P. 335–341. DOI: <https://doi.org/10.1667/RR14773.1>.
94. Widel M., Przybyszewski W., Rzeszowska-Wolny J. [Radiation-induced bystander effect: the important part of ionizing radiation response; potential clinical implications]. *Postepy Hig. Med. Dosw*. 2009. Vol. 63. P. 88–94. Polish.
83. Xu S, Wang J, Ding N, Hu W, Zhang X, Wang B, et al. Exosome-mediated microRNA transfer plays a role in radiation-induced bystander effect. *RNA Biol*. 2015;12(12):1355-63. DOI: <https://doi.org/10.1080/15476286.2015.1100795>.
84. Koturbash I, Boyko A, Rodriguez-Juarez R, McDonald RJ, Tryndyak VP, Kovalchuk I, et al. Role of epigenetic effectors in maintenance of the long-term persistent bystander effect in spleen in vivo. *Carcinogenesis*. 2007;28(8):1831-8. DOI: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgm053>.
85. Ilnytskyi Y, Koturbash I, Kovalchuk O. Radiation-induced bystander effects in vivo are epigenetically regulated in a tissue-specific manner. *Environ Mol Mutagen*. 2009;50(2):105-13. DOI: <https://doi.org/10.1002/em.20440>.
86. Filkowski JN, Ilnytskyi Y, Tamminga J, Koturbash I, Golubov A, Bagnyukova T, et al. Hypomethylation and genome instability in the germline of exposed parents and their progeny is associated with altered miRNA expression. *Carcinogenesis*. 2010;31(6):1110-5. DOI: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp300>.
87. Ovsyannikova LM, Chumak AA, Alekhina SM, et al. [The state of oxidative processes in liquidators at various periods after the Chernobyl accident]. In: *Proceed. report of the VI Congress on Radiation Research; 2010 Oct 25-28; Moscow*. Moscow, 2010. Vol. 1. p. 118. Russian.
88. Ovsyannikova L, Chumak A, Nosach O, et al. Antioxidant system, oxidative modification of proteins and lipids (Chapter 14). In: Serdiuk A, Bebesko V, Bazyka D, Yamashita S. *Health effects of the Chernobyl Accident - a Quarter of Century Aftermath*. Kyiv: DIA; 2011. p. 419-32.
89. Marozik P, Mothersill C, Seymour C, Mosse I, Melnov S. Bystander effect induced by serum from survivors of the Chernobyl accident. *Exp. Hematol*. 2007;35(4 Suppl 1):55-63.
90. Lorimore SA, Kadhim MA, Pocock DA, Papworth D, Stevens DL, Goodhead DT, et al. Chromosomal instability in the descendants of unirradiated surviving cells after alpha-particle irradiation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95(10):5730-3. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.95.10.5730>.
91. Osipov NA, Lizunova EYu, Vorob'eva NYu, Anchishkina NA. [The role of the bystander effect in the formation of long-term effects of irradiation in the cell culture of the CHO-K1 line]. In: *VI Congress on Radiation Research: Abstracts*. Moscow, 2010. Vol. 1. p. 39. Russian.
92. Autsavapornporn N, Plante I, Liu C, Konishi T, Usami N, Funayama T, et al. Genetic changes in progeny of bystander human fibroblasts after microbeam irradiation with X-rays, protons or carbon ions: the relevance to cancer risk. *Int J Radiat Biol*. 2015;91(1):62-70. DOI: <https://doi.org/10.3109/09553002.2014.950715>.
93. Autsavapornporn N, Liu C, Konishi T. Impact of co-culturing with fractionated carbon-ion-irradiated cancer cells on bystander normal cells and their progeny. *Radiat Res*. 2017;188(3):335-41. DOI: <https://doi.org/10.1667/RR14773.1>.
94. Widel M, Przybyszewski W, Rzeszowska-Wolny J. [Radiation-induced bystander effect: the important part of ionizing radiation

95. Mothersill C., Seymour C. Radiation-induced bystander effects - implications for cancer. *Nat. Rev. Cancer*. 2004. Vol. 4, no. 2. P. 158–164. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc1277>.
96. Brady D., O'Sullivan J. M., Prise K. M. What is the role of the bystander response in radionuclide therapies? *Front. Oncol*. 2013. Vol. 3. P. 215. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2013.00215>
97. Georgakilas A. G. Bystander and non-targeted effects: a unifying model from ionizing radiation to cancer. *Cancer Lett*. 2015. Vol. 356, no. 1. P. 3–4. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2014.03.032>.
98. Martin O. A., Yin X., Forrester H. B. et al. Potential strategies to ameliorate risk of radiotherapy-induced second malignant neoplasms. *Semin. Cancer Biol*. 2016. Vol. 37–38. P. 65–76. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2015.12.003>.
99. Yahyapour R., Motevaseli E., Rezaeyan A. et al. Mechanisms of radiation bystander and non-targeted effects: implications to radiation carcinogenesis and radiotherapy. *Curr. Radiopharm*. 2018. Vol. 11, no. 1. P. 34–45. DOI : 10.2174/1874471011666171229123130.
100. Wang C. K. The progress of radiobiological models in modern radiotherapy with emphasis on the uncertainty issue. *Mutat. Res*. 2010. Vol. 704, no. 1–3. P. 175–181. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2010.02.001>
101. Kadhim M., Salomaa S., Wright E. et al. Non-targeted effects of ionising radiation - implications for low dose risk. *Mutat. Res*. 2013. Vol. 752, no. 2. P. 84–98. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2012.12.001>.
102. Belyakov O. V. Non-targeted effects of ionising radiation. In: Belyakov O. V., editor. Non-targeted effects of ionising radiation. In: *Proceedings of the RISC-RAD specialised training course «Non-targeted effects of ionising radiation»*. 2005. P. 13–46.
103. Liu Z., Mothersill C. E., McNeill F. E. et al. A dose threshold for a medium transfer bystander effect for a human skin cell line. *Radiat. Res*. 2006. Vol. 166, no. 1. P. 19–23. DOI: <https://doi.org/10.1667/RR3580.1>.
104. Prise K. M., O'Sullivan J. M. Radiation-induced bystander signalling in cancer therapy. *Nat. Rev. Cancer*. 2009. Vol. 9. P. 351–360. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc2603>.
105. Sowa M. B., Goetz W., Baulch J. E. et al. Lack of evidence for low-LET radiation induced bystander response in normal human fibroblasts and colon carcinoma cells. *Int. J. Radiat. Biol*. 2010. Vol. 86, no. 2. P. 102–113. DOI: <https://doi.org/10.3109/09553000903419957>.
106. Kleinerman R. A., Boice J. D., Storm H. H. et al. Second primary cancer after treatment for cervical cancer. An international cancer registries study. *Cancer*. 1995. Vol. 76, no. 3. P. 442–452.
107. Dent S. F., Klaassen D., Pater J. L. et al. Second primary malignancies following the treatment of early stage ovarian cancer: Update of a study by the National Cancer Institute of Canada-Clinical Trials Group (NCIC-CTG). *Ann. Oncol*. 2000. Vol. 11, iss. 1. P. 65–68. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1008356806417>.
108. Birgisson H., Pahlman L., Gunnarsson U., Glimelius B. Occurrence of second cancers in patients treated with radiotherapy for response; potential clinical implications]. *Postepy Hig Med Dosw*. 2009;63:88-94. Polish.
95. Mothersill C, Seymour C. Radiation-induced bystander effects - implications for cancer. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(2):158-64. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc1277>.
96. Brady D, O'Sullivan JM, Prise KM. What is the role of the bystander response in radionuclide therapies? *Front Oncol*. 2013;3:215. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2013.00215>.
97. Georgakilas AG. Bystander and non-targeted effects: a unifying model from ionizing radiation to cancer. *Cancer Lett*. 2015;356(1):3-4. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2014.03.032>.
98. Martin OA, Yin X, Forrester HB, Sprung CN, Martin RF et al. Potential strategies to ameliorate risk of radiotherapy-induced second malignant neoplasms. *Semin Cancer Biol*. 2016;37-38:65-76. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2015.12.003>.
99. Yahyapour R, Motevaseli E, Rezaeyan A, Abdollahi H, Farhood B, Cheki M, et al. Mechanisms of radiation bystander and non-targeted effects: implications to radiation carcinogenesis and radiotherapy. *Curr Radiopharm*. 2018;11(1):34-45. DOI : 10.2174/1874471011666171229123130.
100. Wang CK. The progress of radiobiological models in modern radiotherapy with emphasis on the uncertainty issue. *Mutat Res*. 2010; 704(1-3):175-81. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2010.02.001>.
101. Kadhim M, Salomaa S, Wright E, Hildebrandt G, Belyakov OV, Prise KM, et al. Non-targeted effects of ionising radiation - implications for low dose risk. *Mutat Res*. 2013;752(2):84-98. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2012.12.001>.
102. Belyakov OV. Non-targeted effects of ionising radiation. In: Belyakov O. V., editor. Non-targeted effects of ionising radiation. *Proceedings of the RISC-RAD specialised training course «Non-targeted effects of ionising radiation»*. Helsinki; 2005. p. 13-46.
103. Liu Z, Mothersill CE, McNeill FE, Lyng FM, Byun SH, Seymour CB, et al. A dose threshold for a medium transfer bystander effect for a human skin cell line. *Radiat Res*. 2006;166(1):19-23. DOI: <https://doi.org/10.1667/RR3580.1>.
104. Prise KM, O'Sullivan JM. Radiation-induced bystander signalling in cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2009;9:351-60. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc2603>.
105. Sowa MB, Goetz W, Baulch JE, Pyles DN, Dziegielewski J, Yovino S, et al. Lack of evidence for low-LET radiation induced bystander response in normal human fibroblasts and colon carcinoma cells. *Int J Radiat Biol*. 2010;86(2):102-13. DOI: <https://doi.org/10.3109/09553000903419957>.
106. Kleinerman RA, Boice JD, Storm HH, Sparen P, Andersen A, Pukkala E, et al. Second primary cancer after treatment for cervical cancer. An international cancer registries study. *Cancer*. 1995;76(3):442-52.
107. Dent SF, Klaassen D, Pater JL, Zee B, Whitehead M. Second primary malignancies following the treatment of early stage ovarian cancer: Update of a study by the National Cancer Institute of

- rectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 2005. Vol. 23, no. 25. P. 6126–6131. DOI: 10.1200/JCO.2005.02.543.
109. Brenner D. J., Curtis R. E., Hall E. J., Ron E. Second malignancies in prostate carcinoma patients after radiotherapy compared with surgery. *Cancer.* 2000. Vol. 88, no. 2. P. 398–406.
110. Marin A., Martin M., Linan O. et al. Bystander effects and radiotherapy. *Rep. Prac. Oncol. Radiother.* 2015. Vol. 20, no. 1. P. 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.rpor.2014.08.004>.
111. UNSCEAR. Biological mechanisms of radiation actions at low doses. New York: United Nations, 2012.
112. Chen S., Zhao Y., Han W. et al. Rescue effects in radiobiology: Unirradiated bystander cells assist irradiated cells through intercellular signal feedback. *Mutat. Res.* 2011. Vol. 706. P. 59–64. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrfm-mm.2010.10.011>.
113. Desai S., Kobayashi A., Konishi T. et al. Damaging and protective bystander cross-talk between human lung cancer and normal cells after proton microbeam irradiation. *Mutat. Res.* 2014. Vol. 763–764. P. 39–44. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrfm-mm.2014.03.004>.
114. He M., Dong C., Xie Y. et al. Reciprocal bystander effect between α -irradiated macrophage and hepatocyte is mediated by cAMP through a membrane signaling pathway. *Mutat. Res.* 2014. Vol. 763–764. P. 1–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrfm-mm.2014.03.001>.
115. Lam R. K. K., Fung Y. K., Han W., Yu K. N. Rescue effects: irradiated cells helped by unirradiated bystander cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2015. Vol. 16. P. 2591–2609. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms16022591>.
116. Шеметун Е. В., Пилинская М. А. Моделирование радиационно-индуцированного «эффекта свидетеля» в культуре лимфоцитов периферической крови человека. *Генетические последствия чрезвычайных радиационных ситуаций : материалы III Междунар. конф., Дубна, 4–7 октября 2005 г.* М., 2005. С. 136–138.
117. Шеметун Е. В., Пилинская М. А. Радиационно-индуцированный «эффект свидетеля» *Цитология и генетика.* 2007. Т. 41, №. 4. С. 251–255.
118. Shemetun O. V., Talan O. A., Pilinskaya M. A. Radioinduced bystander effect revealed in vitro and in vivo in mixed human lymphocytes culture. *Radioprotection.* 2008. Vol. 43, no. 5, Art. 075. (36th annual meeting of the European Radiation Research Society). DOI: <https://doi.org/10.1051/radiopro:2008531>.
119. Шеметун О. В., Талан О. О. Індукція ефекту свідка лімфоцитами крові ліквідаторів аварії на ЧАЕС, опроміненими в малих дозах. *Фактори експериментальної еволюції організмів.* 2009. Т. 7. С. 421–425.
120. Шеметун О. В. Індукція ефекту свідка в соматичних клітинах людини при дії рентгенівського опромінення in vitro в Canada-Clinical Trials Group (NCIC-CTG). *Ann Oncol.* 2000;11(1): 65-8. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1008356806417>.
108. Birgisson H, Pahlman L, Gunnarsson U, Glimelius B. Occurrence of second cancers in patients treated with radiotherapy for rectal cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23(25):6126-31. DOI: 10.1200/JCO.2005.02.543.
109. Brenner DJ, Curtis RE, Hall EJ, Ron E. Second malignancies in prostate carcinoma patients after radiotherapy compared with surgery. *Cancer.* 2000;88(2):398-406.
110. Martin A, Martin M, Linan O, Alvarenga F, Lopez M, Fernandez L, et al. Bystander effects and radiotherapy. *Rep Prac Oncol Radiother.* 2015;20(1):12-21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rpor.2014.08.004>.
111. UNSCEAR. Biological mechanisms of radiation actions at low doses. New York: United Nations; 2012.
112. Chen S, Zhao Y, Han W, Chiu SK, Zhu L, Wu L, Yu KN. Rescue effects in radiobiology: Unirradiated bystander cells assist irradiated cells through intercellular signal feedback. *Mutat Res.* 2011;706:59-64. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrfm-mm.2010.10.011>.
113. Desai S, Kobayashi A, Konishi T, Oikawa M, Pandey BN. Damaging and protective bystander cross-talk between human lung cancer and normal cells after proton microbeam irradiation. *Mutat Res.* 2014;763-764:39-44. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrfm-mm.2014.03.004>.
114. He M, Dong C, Xie Y, Li J, Yuan D, Bai Y, Shao C. Reciprocal bystander effect between α -irradiated macrophage and hepatocyte is mediated by cAMP through a membrane signaling pathway. *Mutat Res.* 2014;763-764:1-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrfm-mm.2014.03.001>.
115. Lam RKK, Fung YK, Han W, Yu KN. Rescue effects: irradiated cells helped by unirradiated bystander cells. *Int J Mol Sci.* 2015;16:2591-609. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms16022591>.
116. Shemetun EV, Pilinskaya MA. [Modeling of radiation-induced «bystander effect» in the culture of human peripheral blood lymphocytes]. In: *Genetic implications of emergency radiation situations: Materials III International. Conf.; 2005 Oct 4-7; Dubna.* Moscow; 2005. p. 136-8. Russian.
117. Shemetun OV, Pilins'ka MA. [Radiation-induced «bystander» effect]. *Cytol Genet.* 2007;41(4):251-5. Russian.
118. Shemetun OV, Talan OA, Pilinskaya MA. Radioinduced bystander effect revealed in vitro and in vivo in mixed human lymphocytes culture. *Radioprotection.* 2008;43(5 Art. 075). (36th annual meeting of the European Radiation Research Society). DOI: <https://doi.org/10.1051/radiopro:2008531>.
119. Shemetun OV, Talan OA. [Induction of the bystander effect by blood lymphocyte of liquidators of the Chernobyl accident irradiated in low doses]. *Factors of experimental evolution of organisms.* 2009;7:421-5. Ukrainian.
120. Shemetun OV. [Induction of the bystander effect in human somatic cells by X-ray irradiation in vitro at low and high doses]. *Reports of*

малих та високих дозах. *Доповіді НАН України*. 2011. № 10. С. 163–167.

121. Шеметун Е. В., Талан О. А., Пілінська М. А. Цитогенетические особенности индукции и персистенции радиационно-индуцированного эффекта свидетеля в лимфоцитах крови человека. *Цитология і генетика*. 2014. Т. 48, № 4. С. 51–58.
122. Шеметун О. В., Талан О. О., Демченко О. М., Пілінська М. А. Развитие радиационно-индуцированного эффекта свидетеля в соматических клетках осіб різного віку. *Проблеми радіаційної медицини і радіобіології*. 2018. Вип. 23. С. 499–509.

the National Academy of Sciences of Ukraine. 2011;(10):163-7. Ukrainian.

121. Shemetun EV, Talan OA, Pilinska MA. [Cytogenetic features of induction and persistence of radiation-induced bystander effect in human lymphocytes]. *Cytology and genetics*. 2014;48(4):51-8. Ukrainian.
122. Shemetun OV, Talan OO, Demchenko OM, Pilinska MA. [Development of radiation-induced bystander effect in the somatic cells of persons from different age groups]. *Probl Radiac Med Radiobiol*. 2018;23:499-509. Ukrainian.

ІНФОРМАЦІЯ ПРО АВТОРІВ

Шеметун Олена Володимирівна – кандидат медичних наук, завідувач лабораторії цитогенетики, Інститут експериментальної радіології ННЦРМ, м. Київ

Пілінська Марія Андріївна – доктор медичних наук, професор, головний науковий співробітник лабораторії цитогенетики, Інститут експериментальної радіології ННЦРМ, м. Київ

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Olena V. Shemetun – Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, Head of the Laboratory of Cytogenetic, Department of Medical Genetics, Experimental Radiology Institute NRCRM, Kyiv, Ukraine

Mariya A. Pilinska – Doctor of Medical Sciences, Chief Researcher of the Laboratory of Cytogenetics, Department of Medical genetics, Experimental Radiology Institute, NRCRM, Kyiv, Ukraine

Стаття надійшла до редакції 3.04.2019.

Received: 3.04.2019.