
<https://doi.org/10.15407/dopovidi2020.10.077>

УДК 616.155.392:547.979.8+57.086.83:612.112:616-001.28

**О.В. Шеметун, О.О. Талан,
О.Б. Дибська, М.А. Пілінська**

ДУ “Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України”, Київ
E-mail: pww@ukr.net

Реалізація ефекту порятунку на цитогенетичному рівні внаслідок взаємодії між інтактними нормальними та опроміненими малігнізованими лімфоцитами крові людини

Представлено членом-кореспондентом НАН України В.А. Кунахом

*Досліджено вплив інтактних лімфоцитів крові умовно здорових осіб на стабільність геному лімфоцитів крові хворих з первинним діагнозом В-клітинна хронічна лімфоцитарна лейкемія (ХЛЛ), опромінених *in vitro* на G_0 стадії клітинного циклу γ -квантами ^{137}Cs у дозі 0,50 Гр. Для дослідження використано власну модельну систему кокультивування лімфоцитів крові різностатевих осіб, розроблену для вивчення різних проявів феномену *bystander response* на цитогенетичному рівні. Встановлено зниження радіаційно-індукованої частоти аберацій хромосом в опромінених клітинах хворих на ХЛЛ з 12,88 до 9,56 на 100 метафаз ($p < 0,01$) внаслідок зменшення рівня аберацій хроматидного типу (з 5,66 до 2,83 на 100 метафаз, $p < 0,001$), які вважаються маркерами хромосомної нестабільності. Частота нестабільних цитогенетичних маркерів радіаційної дії (дицентричних і кільцевих хромосом) залишилася незмінною ($p > 0,05$). Отримані дані свідчать про те, що результатом взаємодії опромінених *in vitro* клітин крові хворих на В-клітинну ХЛЛ (клітин-мішеней) з інтактними лімфоцитами крові умовно здорових осіб (клітинами-свідками) є зниження рівня хромосомної нестабільності в клітинах-мішенях, що подібно до реалізації ефекту порятунку першого типу.*

Ключові слова: змішана культура лімфоцитів крові людини, хронічна лімфоцитарна лейкемія, іонізуюча радіація, аберації хромосом, ефект порятунку.

Новим феноменом, пов'язаним з розвитком радіаційно-індукованого ефекту свідка (radiation-induced bystander effect (RIBE)), є радіаційно-індукований ефект порятунку (radiation-induced rescue effect (RIRE)), що характеризується впливом на опромінені клітини-мішені сигналів зворотного зв'язку від неопромінених клітин-свідків, внаслідок чого дія іонізуючої радіації на клітини-мішені може як послаблюватися (тип 1), так і підсилюватися (тип 2) [1–3]. Відомості про існування цього феномену з'явилися у науковій літературі в 2011 р. [1].

Цитування: Шеметун О.В., Талан О.О., Дибська О.Б., Пілінська М.А. Реалізація ефекту порятунку на цитогенетичному рівні внаслідок взаємодії між інтактними нормальними та опроміненими малігнізованими лімфоцитами крові людини. *Допов. Нац. акад. наук Укр.* 2020. № 10. С. 77–84. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2020.10.077>

У наступні роки його досліджували на різних клітинних лініях, за умов дії різних типів іонізуючого випромінювання та з використанням різних біологічних маркерів радіаційної дії, що було ретельно проаналізовано в огляді Kwan Ngok Yu, в якому також були визначені “білі плями” у вивченні RIRE й окреслені перспективні напрямки майбутніх досліджень [4].

Нами в 2006 р. була розроблена модельна система для вивчення радіаційно-індукованого ефекту свідка, яка на цитогенетичному рівні дає змогу досліджувати взаємний вплив опромінених і неопромінених лімфоцитів периферичної крові (ЛПК) людини за умов їх сумісного культивування [5]. З її застосуванням було встановлено зменшення радіаційно-індукованої частоти аберацій хромосом у клітинах-мішенях (ЛПК, опромінених *in vitro* рентгенівськими променями в дозі 0,25 Гр) за умов 120-годинного сумісного культивування з неопроміненим ЛПК порівняно з їх окремим культивуванням, що в 2011 р. ми назвали зворотним ефектом свідка, а зараз називають ефектом порятунку [6].

Подальше вивчення радіаційно-індукованого ефекту порятунку важливе для оцінки можливих негативних медичних наслідків і їх запобігання, що виникають під час променевої терапії онкологічних хворих, яка у разі його реалізації може сприяти активації систем репарації та стабілізації геному в малігнізованих клітинах, знижуючи ефективність лікування злоякісних пухлин [4, 7]. Актуальність проблеми взаємного впливу онкотрансформованих і нормальних клітин для здоров'я людини стимулювала наші дослідження в цьому напрямку. Починаючи з 2018 р. такі прояви універсального феномену bystander response, як радіаційно-індукований ефект свідка, пухлино-індукований ефект свідка і радіаційно-індукований ефект порятунку вивчаються нами як наслідки взаємодії між малігнізованими (неопроміненими чи опроміненими) та нормальними соматичними клітинами людини за цитогенетичними і молекулярно-генетичними маркерами стабільності геному [8, 9]. Як модель малігнізованих клітин-мішеней використовуються клітини хворих на В-клітинну хронічну лімфоцитарну лейкемію (ХЛЛ), як модель інтактних клітин-свідків — ЛПК умовно здорових осіб. Встановлено, що за умов сумісного культивування опромінених *in vitro* клітин крові хворих на ХЛЛ з ЛПК крові умовно здорових осіб підвищується рівень хромосомної нестабільності в клітинах-свідках внаслідок синергізму між пухлино-індукованим та радіаційно-індукованим ефектами свідка [8]. За допомогою методу кометного електрофорезу окремих клітин (Comet assay) доведено вплив ЛПК умовно здорових осіб як на опромінені, так і на інтактні клітини крові хворих на ХЛЛ, що обумовлювало зниження в них рівня геномної нестабільності та посилення апоптичної активності [9]. Проте на цитогенетичному рівні впливу інтактних нормальних ЛПК людини на стабільність хромосом в неопромінених клітинах крові хворих на ХЛЛ не виявлено [8].

Метою дослідження було визначення рівня хромосомної нестабільності в опромінених *in vitro* γ -квантами ^{137}Cs клітинах хворих на ХЛЛ за умов їх взаємодії в сумісних культурах з інтактними ЛПК умовно здорових осіб.

Матеріали та методи. Цитогенетичне дослідження виконано на ЛПК людини, що розрізнялись за цитогенетичними маркерами статі, наявністю онкологічної патології (В-клітинної ХЛЛ) та дією іонізуючого випромінювання *in vitro*.

У дослідження на основі поінформованої згоди були залучені:

сім умовно здорових осіб (п'ять жінок, два чоловіки), які заперечували свідомий контакт з іонізуючою радіацією та іншими мутагенними чинниками;

сім осіб з діагнозом В-клітинний ХЛЛ (п'ять чоловіків, дві жінки), які проходили медичне обстеження в поліклініці ННЦРМ чи відділенні радіаційної гематології Інституту клінічної радіології ННЦРМ.

Згідно з алгоритмом цитогенетичного тесту G_0 -radiation sensitivity assay, зразки крові, одержані від хворих на ХЛЛ до початку лікування, опромінювали γ -квантами ^{137}Cs (випромінювач IBL-237C, потужність 2,34 Гр/хв) у дозі 0,50 Гр перед культивуванням. Застосовували загальноприйняте окреме культивування ЛПК опроміненої крові хворих на ХЛЛ за напівмікрометодом і сумісне культивування ЛПК умовно здорових осіб з опроміненими клітинами крові хворих на ХЛЛ. Сумісне культивування проводили за розробленою нами модельною системою для вивчення радіаційно-індукованого ефекту свідка [5, 10]. Для постановки змішаних культур кров від кожної умовно здорової особи культивували з кров'ю одного із хворих на ХЛЛ протилежної статі.

Препарати метафазних хромосом фарбували рівномірно барвником Гімза (Giemsa stain, Merck, Німеччина). Цитогенетичний аналіз виконували з груповим каріотипуванням, на зашифрованих препаратах, під мікроскопами зі збільшенням $\times 1000$. Клітини-свідки і клітини-індуктори розрізняли за наявністю чи відсутністю статевої чоловічої хромосоми Y. Під час цитогенетичного аналізу враховували аберації хроматидного (одиначні ацентричні фрагменти, хроматидні обміни) та хромосомного (вільні парні фрагменти, ацентричні кільця, дицентричні та кільцеві хромосоми, аномальні моноцентрики) типів.

Загалом було проаналізовано 2473 метафази.

Для кожної точки досліду розраховували відсоток аберантних метафаз і частоту аберацій хромосом на 100 метафаз. Дані по окремих точках досліду об'єднували в групи відповідно до дизайну дослідження з подальшим розрахунком середньогрупових значень і статистичних похибок. Знаходили різницю між середніми значеннями в окремих варіантах дослідження. Перевірку нульових гіпотез проводили на рівні значущості $p \leq 0,05$ за допомогою критерію Стьюдента [11].

Результати та їх обговорення. Після опромінення крові хворих на ХЛЛ *in vitro* в дозі 0,50 Гр середньогрупова частота аберантних метафаз в їх лімфоцитах становила 11,55 %, середньогруповий рівень аберацій хромосом становив 12,88 на 100 метафаз (табл. 1). Спостерігали радіаційно-індукований цитогенетичний ефект, характерний для дії іонізуючого випромінювання в культурі ЛПК людини на G_0 стадії мітотичного циклу [12], а саме — перевищення спонтанної частоти асиметричних і симетричних обмінних аберацій, які є класичними цитогенетичними маркерами радіаційного впливу (дицентричні та кільцеві хромосоми — 1,57 та 0,48 на 100 метафаз відповідно; аномальні моноцентрики, які формуються внаслідок транслокацій та інверсій — 1,08 на 100 метафаз). Також в опромінених лімфоцитах крові хворих на ХЛЛ зареєстрували зростання частоти простих аберацій хроматидного та хромосомного типів (одиначних ацентричних фрагментів — 5,66 на 100 метафаз, вільних парних фрагментів — 4,09 на 100 метафаз), які вважаються цитогенетичними маркерами хромосомної нестабільності. Останнє, на нашу думку, зумовлено тим, що опромінені Т-лімфоцити, в яких визначалися цитогенетичні показники, у свою чергу, ставали клітинами-свідками під час розвитку В-клітинної ХЛЛ [8].

Дослідження цитогенетичних показників у лімфоцитах крові хворих на ХЛЛ, опромінених *in vitro* в дозі 0,50 Гр, за умов кокультивування з інтактними ЛПК умовно здорових

осіб показало, що встановлена в них середньогрупова частота аберацій хромосом (9,56 на 100 метафаз) була нижчою за відповідний показник у разі окремого культивування ($p < 0,01$). Зниження загальної частоти хромосомних аберацій в опроміненіх ЛПК хворих на ХЛЛ за умов їх сумісного культивування з інтактними нормальними клітинами відбувалося переважно за рахунок зменшення частоти одиночних фрагментів з 5,66 до 2,83 на 100 клітин ($p < 0,001$).

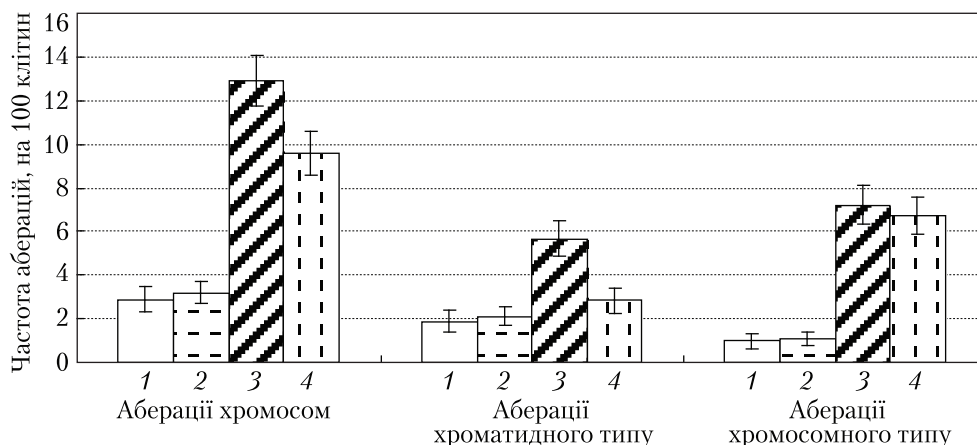
Частота парних фрагментів та нестабільних цитогенетичних маркерів радіаційної дії (дицентричних і кільцевих хромосом) не залежала від способу культивування опроміненіх ЛПК і залишалася незмінною ($p > 0,05$). Беручи до уваги останнє, а також те, що під дією іонізуючої радіації нестабільні та стабільні обмінні аберації індукуються з однаковою частотою, зареєстроване нами зниження рівня аномальних моноцентриків у разі культивування опроміненіх клітин крові хворих на ХЛЛ з інтактними лімфоцитами можна пояснити неможливістю повного виявлення транслокованих хромосом на рівномірно забарвлених цитогенетичних препаратах за умови, що у перебудови вступали рівноцінні за розмірами частини хромосом, які не змінювали їх величини чи співвідношення хромосомних пліч (центромерного індексу).

Індивідуальні значення частоти хромосомних пошкоджень в опроміненіх клітинах крові хворих на ХЛЛ у разі їх культивування в окремих культурах знаходились у межах від 11,00 до 14,44 на 100 метафаз (табл. 2). Культивування в змішаних культурах з інтактними лімфоцитами умовно здорових осіб знизило цей показник і звужило межі його коливання до 8,00–10,05 на 100 метафаз. У всіх обстежених була виявлена тенденція до зниження рівня аберацій хромосом за рахунок зменшення частоти пошкоджень хроматидного типу, що не корелювала ні з фоновим, ні з радіаційно-індукованим рівнем аберацій хромосом у клітинах крові хворих на ХЛЛ у разі окремого культивування. При цьому у випадках 5, 6, 7 спостерігали нормалізацію частоти аберацій хроматидного типу, що не мала статистично зна-

Таблиця 1. Частота аберацій хромосом у ЛПК хворих на ХЛЛ, опроміненіх *in vitro* в дозі 0,50 Гр, за умов окремого культивування та в змішаній культурі з інтактними клітинами умовно здорових осіб

Аберації хромосом	Частота аберацій хромосом, на 100 клітин	
	Окреме культивування	Змішана культура (ефект порятунку)
Хроматидного типу	5,66 ± 0,80	2,83 ± 0,57*
одиночні фрагменти	5,66 ± 0,80	2,83 ± 0,57*
хроматидні обміни	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Хромосомного типу	7,22 ± 0,90	6,73 ± 0,86
парні фрагменти	4,09 ± 0,69	4,84 ± 0,74
аномальні моноцентрики	1,08 ± 0,36	0,12 ± 0,12*
дицентричні хромосоми	1,57 ± 0,43	1,42 ± 0,41
кільцеві хромосоми	0,48 ± 0,24	0,35 ± 0,20
Загалом	12,88 ± 1,16	9,56 ± 1,01*

* Статистично значуща відмінність з ЛПК хворих на ХЛЛ, опроміненіми *in vitro* в дозі 0,50 Гр за умов окремого культивування ($p < 0,05$ – $p < 0,001$).



Частота аберацій хромосом у клітинах крові хворих на ХЛЛ за різних умов культивування: 1 – окреме культивування, фоновий рівень; 2 – кокультивування неопромінених клітин крові хворих на ХЛЛ з неопроміненими ЛПК умовно здорових осіб; 3 – окреме культивування, опромінення *in vitro* в дозі 0,5 Гр; 4 – кокультивування опромінених *in vitro* в дозі 0,5 Гр клітин крові хворих на ХЛЛ з неопроміненими ЛПК умовно здорових осіб

Таблиця 2. Індивідуальні значення частоти аберацій хромосом в ЛПК хворих на ХЛЛ, опромінених *in vitro* в дозі 0,50 Гр, у разі сумісного культивування з інтактними ЛПК умовно здорових осіб

Ви- падок №	Частота аберацій хромосом, на 100 клітин								
	хроматидного типу			хромосомного типу			всього		
	фонова	опромінення		фонова	опромінення		фонова	опромінення	
		окрема культура	змішана культура		окрема культура	змішана культура		окрема культура	змішана культура
1	3,00	4,00	3,83	1,00	8,00	6,22	4,00	12,00	10,05
2	2,00	6,00	4,00	1,00	5,00	6,00	3,00	11,00	10,00
3	1,00	5,00	4,00	1,00	6,00	5,00	2,00	11,00	9,00
4	1,33	4,86	3,00	0,67	9,03	7,00	2,00	13,89	10,00
5	1,00	7,00	1,00	1,00	6,00	7,00	2,00	13,00	8,00
6	3,81	5,00	1,45	2,86	8,00	7,97	6,67	13,00	9,42
7	1,43	6,95	2,00	0,00	7,49	8,00	1,43	14,44	10,00

чущої різниці з фоновим рівнем цих пошкоджень в інтактних клітинах крові хворих на ХЛЛ ($p > 0,05$). Індивідуальні значення частоти аберацій хромосомного типу в опроміненіх клітинах всіх обстежених осіб не залежали від способу їх культивування (окремого чи сумісного) з інтактними лімфоцитами ($p > 0,05$).

Аналізуючи узагальнені результати взаємодії нормальних і малігнізованих соматичних клітин людини за різних умов їх культивування (рисунок), треба звернути увагу на підвищений фоновий рівень аберацій хромосом в інтактних клітинах крові хворих на ХЛЛ у разі їх окремого культивування (2,89 на 100 метафаз) порівняно зі середньогруповою

частотою хромосомних пошкоджень в ЛПК умовно здорових осіб (1,52 на 100 метафаз) ($p < 0,05$) [8], що вказує на хромосомну нестабільність у клітинах крові хворих на ХЛЛ. При цьому варто зазначити, що використаний у наших дослідженнях класичний напівмікрометод культивування ЛПК базується на застосуванні мітогену (ФГА), що стимулює поділ Т-лімфоцитів, і зареєстрований цитогенетичний ефект стосується тільки цих клітин [8]. Тому за умов окремого культивування неопроміненої крові хворих на ХЛЛ Т-лімфоцити були первинними клітинами-свідками завдяки розвитку пухлино-індукованого ефекту свідка, що характеризувалося зростанням у них частоти цитогенетичних маркерів нестабільності геному. Вказане підтверджується виявленням у злоякісно трансформованих В-клітинах у пацієнтів з ХЛЛ специфічних хромосомних аберацій (del13q14, del11q4, del17p13, del6q21, трисомії 12) [13–15], що свідчить про геномну нестабільність цих клітин та їх здатність до індукції пухлино-індукованого ефекту свідка.

За умов сумісного культивування клітин крові хворих на ХЛЛ з нормальними ЛПК здорових осіб (вторинними клітинами-свідками) останні не мали статистично значущого зворотного впливу на Т-лімфоцити хворих на ХЛЛ. Опромінення крові хворих на ХЛЛ індукувало потужний цитогенетичний ефект у Т-лімфоцитах внаслідок прямої мутагенної дії іонізуючої радіації та пошкоджувального bystander сигналу з малігнізованих В-лімфоцитів. Культивування ЛПК крові хворих на ХЛЛ з інтактними лімфоцитами крові умовно здорових осіб сприяло статистично значущому зменшенню частоти маркерів хромосомної нестабільності в опромінених Т-лімфоцитах, що свідчить про стабілізацію їх геному і може бути віднесено до прояву радіаційно-індукованого ефекту порятунку першого типу.

Отримані результати підтверджують можливість маніфестації ефекту порятунку першого типу в опромінених клітинах крові хворих на ХЛЛ під впливом інтактних нормальних клітин.

Висновки. Сумісне культивування опромінених *in vitro* клітин крові хворих на В-клітинну ХЛЛ (клітин-мішеней) з інтактними ЛПК периферичної крові умовно здорових осіб (клітинами-свідками) призводить до зниження рівня хромосомної нестабільності в клітинах-мішенях, що подібно до реалізації ефекту порятунку першого типу.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Chen S., Zhao Y., Han W., Chiu S.K., Zhu L., Wu L., Yu K.N. Rescue effects in radiobiology: unirradiated bystander cells assist irradiated cells through inter-cellular signal feedback. *Mutat. Res.* 2011. **706**. P. 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2010.10.011>
2. 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. **16**. P. 2591–2609. <https://doi.org/10.3390/ijms16022591>
3. Fu J., Yuan D., Xiao L., Tu W., Dong C., Liu W., Shao C. The crosstalk between α -irradiated Beas-2B cells and its bystander U937 cells through MAPK and NF- κ B signaling pathways. *Mutat. Res.* 2016. **783**. P. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2015.11.001>
4. Yu K.N. Radiation-induced rescue effect. *Radiat. Res.* 2019. **60**, Iss. 2. P. 163–170. <https://doi.org/10.1093/jrr/rry109>
5. Шеметун О.В., Талан О.О., Пілінська М.А. Модель для дослідження радіаційно-індукованого ефекту свідка з використанням лімфоцитів периферичної крові людини. *Журн. Акад. мед. наук України*. 2006. **12**, № 3. С. 556–565.
6. Pilinska M., Dybskii S., Shemetun O., Dybska O. Cytogenetic effects. *Health effects of the Chernobyl Accident – a Quarter of Century Aftermath*. Kyiv: DIA, 2011. P. 235–250.

7. Mukherjee S., Chakraborty A. Radiation-induced bystander phenomenon: insight and implications in radiotherapy. *Int. J. Radiat. Biol.* 2019. **95**, Iss. 3. P. 243–263. <https://doi.org/10.1080/09553002.2019.1547440>
8. Пілінська М.А., Шеметун О.В., Талан О.О., Дибська О.Б., Кравченко С.М., Шолойко В.В. Цитогенетичні ефекти в змішаній культурі клітин крові хворих на хронічну лімфоцитарну лейкомію з лімфоцитами крові здорових осіб. *Допов. Нац. акад. наук Укр.* 2020. № 7. С. 86–93. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2020.07.086>
9. Kurinnyi D.A., Rushkovsky S.R., Demchenko O.M., Sholoiko V.V., Pilinska M.A. Evaluation of the interaction between malignant and normal human peripheral blood lymphocytes under cocultivation and separate cultivation. *Cytol. Genet.* 2020. **54**, № 2. P. 124–129. <https://doi.org/10.3103/S0095452720020103>
10. Шеметун Е.В., Талан О.А., Пилинская М.А. Цитогенетические особенности индукции и персистенции радиационно-индуцированного эффекта свидетеля в лимфоцитах крови человека. *Цитология и генетика.* 2014. **48**, № 4. С. 51–58.
11. Артаментова Л.А. Дизайн и статистика (биологические исследования). Харьков: НТМТ, 2014. 255 с.
12. Дьоміна Е.А. Залежність доза—ефект в радіаційній цитогенетиці людини. *Проблеми радіаційної медицини та радіобіології.* 2019. Вип. 24. С. 235–249. <https://doi.org/10.33145/2304-8336-2019-24-235-249>
13. Döhner H., Stilgenbauer S., Benner A., Leupolt E., Kröber A., Bullinger L., Döhner K., Bentz M., Lichter P. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2000. **343**, № 26. P. 1910–1916. <https://doi.org/10.1056/NEJM200012283432602>
14. Durak B., Akay O.M., Aslan V., Ozdemir M., Sahin F., Artan S., Gülbas Z. Prognostic impact of chromosome alterations detected by FISH in Turkish patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2009. **188**, № 2. P. 65–69. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2008.08.019>
15. Lai Y.Y., Huang X.J. Cytogenetic characteristics of B cell chronic lymphocytic leukemia in 275 Chinese patients by fluorescence in situ hybridization: a multicenter study. *Chin Med. J.* 2011. **124**, № 16. P. 2417–2422.

Надійшло до редакції 31.08.2020

REFERENCES

1. Chen, S., Zhao, Y., Han, W., Chiu, S. K., Zhu, L., Wu, L. & Yu, K. N. (2011). Rescue effects in radiobiology: unirradiated bystander cells assist irradiated cells through inter-cellular signal feedback. *Mutat. Res.*, 706, pp. 59-64. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2010.10.011>
2. Lam, R. K. K., Fung, Y. K., Han, W. & Yu, K. N. (2015). Rescue effects: irradiated cells helped by unirradiated bystander cells. *Int. J. Mol. Sci.*, 16, pp. 2591-2609. <https://doi.org/10.3390/ijms16022591>
3. Fu, J., Yuan, D., Xiao, L., Tu, W., Dong, C., Liu, W. & Shao, C. (2016). The crosstalk between α -irradiated Beas-2B cells and its bystander U937 cells through MAPK and NF- κ B signaling pathways. *Mutat. Res.*, 783, pp. 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2015.11.001>
4. Yu, K.N. (2019). Radiation-induced rescue effect. *Radiat. Res.*, 60, Iss. 2, pp. 163-170. <https://doi.org/10.1093/jrr/rry109>
5. Shemetun, O. V., Talan, O. O. & Pilinska, M. A. (2006). Model for the study of radiation-induced bystander effect using human peripheral blood lymphocytes. *Journal of the Academy of Medical Sciences of Ukraine*, 12, No. 3, pp. 556-565 (in Ukrainian).
6. Pilinska, M., Dybskii, S., Shemetun, O. & Dybska, O. (2011). Cytogenetic effects. In *Helth effects of the Chernobyl Accident – a Quarter of Century Aftermath* (pp. 235-250). Kyiv: DIA.
7. Mukherjee, S. & Chakraborty, A. (2019). Radiation-induced bystander phenomenon: insight and implications in radiotherapy. *Int. J. Radiat. Biol.*, 95, Iss. 3, pp. 243-263. <https://doi.org/10.1080/09553002.2019.1547440>
8. Pilinska, M. A., Shemetun, O. V., Talan, O. A., Dibska, O. B., Kravchenko, S. M. & Sholoiko, V. V. (2020). Cytogenetic effects in mixed culture of blood cells from patients with chronic lymphocytic leukemia with blood lymphocytes of healthy individuals. *Dopov. Nac. akad. nauk Ukr.*, No. 7, pp. 86-93 (in Ukrainian). <https://doi.org/10.15407/dopovidi2020.07.086>
9. Kurinnyi, D. A., Rushkovsky, S. R., Demchenko, O. M., Sholoiko, V. V. & Pilinska, M. A. (2020). Evaluation of the interaction between malignant and normal human peripheral blood lymphocytes under cocultivation and separate cultivation. *Cytol. Genet.*, 54, No. 2, pp. 124-129. <https://doi.org/10.3103/S0095452720020103>

10. Shemetun, O. V., Talan, O. A. & Pilinska, M. A. (2014). Cytogenetic features of induction and persistence of radiation-induced bystander effect in human lymphocytes. *Cytol. Genet.*, 48, No. 4, pp. 51-58 (in Russian).
11. Atramentova, L. A. (2014). Design and statistics (biological research). Kharkiv: NTMT (in Russian).
12. Djomina, E. A. (2019). The dependence of dose/effects in human radiation cytogenetics. *Problems of Radiation Medicine and Radiobiology*, Iss. 24, pp. 235-249. <https://doi.org/10.33145/2304-8336-2019-24-235-249>
13. Döhner, H., Stilgenbauer, S., Benner, A., Leupolt, E., Kröber, A., Bullinger, L., Döhner, K., Bentz, M. & Lichter, P. (2000). Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 343, No. 26, pp. 1910-1916. <https://doi.org/10.1056/NEJM200012283432602>
14. Durak, B., Akay, O.M., Aslan, V., Ozdemir, M., Sahin, F., Artan, S. & Gülbas, Z. (2009). Prognostic impact of chromosome alterations detected by FISH in Turkish patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 188, No. 2, pp. 65-69. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2008.08.019>
15. Lai, Y. Y. & Huang, X. J. (2011). Cytogenetic characteristics of B cell chronic lymphocytic leukemia in 275 Chinese patients by fluorescence in situ hybridization: a multicenter study. *Chin Med. J.*, 124, No. 16, pp. 2417-2422.

Received 31.08.2020

O.V. Shemetun, O.A. Talan,
O.B. Dibska, M.A. Pilinska

National Research Center for Radiation Medicine of the NAMS of Ukraine, Kyiv
E-mail: shemetun@ukr.net

REALIZATION OF THE RESCUE EFFECT
AT THE CYTOGENETIC LEVEL DUE TO THE INTERACTION
BETWEEN INTACT NORMAL AND IRRADIATED
MALIGNANT HUMAN BLOOD LYMPHOCYTES

The effect of intact blood lymphocytes from conditionally healthy persons on the genome stability in blood lymphocytes of patients with primary diagnosis of B-cell chronic lymphocytic leukemia (CLL) exposed *in vitro* to γ -quanta ^{137}Cs at the G_0 stage of the cell cycle in a dose of 0.5 Gy was investigated. For the study, the own model system of co-cultivation of blood lymphocytes from persons with different genders that permit to study various manifestations of the bystander response phenomenon at the cytogenetic level was used. The decrease in the radiation-induced total frequency of chromosome aberrations in irradiated cells of patients with CLL (from 12.88 till 9.56 per 100 metaphases, $p < 0.01$) due to a reduction in the level of chromatid-type aberrations (from 5.35 till 2.83 per 100 cells, $p < 0.001$), which are considered as markers of the chromosomal instability, was established. The frequencies of unstable cytogenetic markers of a radiation exposure (dicentric and ring chromosomes) remained unchanged ($p > 0.05$). The obtained data indicate that the result of the interaction between irradiated *in vitro* blood cells of patients with B-cell CLL (target cells) with intact blood lymphocytes of relatively healthy individuals (bystander cells) is a decrease of the chromosome instability in target cells, which is similar to the radiation-induced rescue effect type one.

Keywords: mixed culture of human blood lymphocytes, B-cell chronic lymphocytic leukemia, ionizing radiation, chromosomal instability, radiation-induced rescue effect.