

УДК 615.849.5:616.115.32:576.312.36

І.Р. БАРИЛЯК¹, Е.А. ДЬОМІНА²

¹Науковий центр медичної генетики АМН України, Київ

²Інститут онкології АМН України, Київ

**БІОЛОГІЧНА ІНДИКАЦІЯ
ТА ДОЗИМЕТРІЯ ЗА ЧАСТОТОЮ
НЕСТАБІЛЬНИХ АБЕРАЦІЙ
ХРОМОСОМ У ЛІМФОЦИТАХ
ЛЮДИНИ**



Даний огляд літератури присвячено питанням біологічної (цитогенетичної) дозиметрії та індикації ступеня променевих уражень на основі аналізу нестабільних аберацій хромосом в лімфоцитах крові людини. Розглянуто критерії, які обумовлюють застосування культури лімфоцитів периферичної крові людини як інформативного та об'єктивного показника променевого ураження. Приділяється увага до дії малих доз радіації на хромосоми та обговорюється методологія інтерпретації характеру дозових цитогенетичних кривих. Традиційний цитогенетичний аналіз (по рівню стабільних хромосомних аберацій) залишається базовим при проведенні моніторингу в групах осіб, які зазнали опромінення внаслідок аварійних та надзвичайних ситуацій, та формуванні груп підвищеного ризику виникнення захворювань, в тому числі онкологічних.

© І.Р. БАРИЛЯК, Е.А. ДЬОМІНА, 2004

Показником кількісної радіобіології є поглинена енергія випромінювання, тобто доза, а фізичні і хімічні механізми взаємодії іонізуючих випромінювань з біологічними структурами визначаються енергетикою процесу. Тому біологічна дозиметрія — це визначення величини дози випромінювання [1]. Завданням біологічної індикації променевих уражень є встановлення факту опромінення і ступеня тяжкості, що залежить від ряду факторів: величини поглиненої дози, характеру її розподілу в тканинах і критичних органах, якості випромінювання, потужності дози, особливостей репаративних процесів і, що важливо, індивідуальної радіочутливості [1–3].

Біологічна індикація за допомогою цитогенетичних методів — це виявлення достовірного підвищення частоти хромосомних аберацій над спонтанним рівнем, але при цьому частота аберацій хромосом, статистика (кількість проаналізованих клітин), умови аналізу (віддалений післяпроменевий період та ін.) є недостатньо коректними для визначення дози радіації [4].

Компромісним підходом до уточнення цих двох визначень може бути поділ понять «біологічні дозиметри» і «біологічні індикатори» [3]. Використання «біологічного індикатора» обмежується орієнтовною оцінкою тяжкості ураження, у той час як вимоги до «біологічного дозиметра» значно вищі — це точність визначення дози порядку 5–10 % при дозах опромінення, що перевищують 1 Гр.

Існує ряд критеріїв, які обумовлюють застосування методів біологічної дозиметрії [5, 6]. Коротко ці критерії зводяться до наступного: дозова залежність у широкому діапазоні доз; висока радіочутливість, прояв реакції, що використовується як індикатор протягом певного часу після опромінення; простота одержання вихідного матеріалу для аналізу; специфічність ефекту до дії іонізуючої радіації. Однією з небагатьох таких тест-систем є культура лімфоцитів периферичної крові людини, яку ВООЗ рекомендує для проведення біологічної (цитогенетичної) дозиметрії й індикації променевих ушкоджень [7–9].

Відомо, що лімфоцит — головна функціональна клітина імунної системи. Загальна маса лімфоцитів складає приблизно 1 кг. Вони утворюються з поліпотентних стовбурових клітин кісткового мозку. Оскільки дозрівання лімфоцитів відбувається безперервно (щосекунди

з'являються 10^6 нових лімфоцитів), то їхня популяція складається з клітин, що знаходяться на різних стадіях диференціації [10]. Дозрівання лімфоцитів відбувається внаслідок взаємодії стовбурових клітин з мікрооточенням тимуса та завдяки впливу його гормонів. Розрізняють тимусзалежні (Т) і тимуснезалежні (В) лімфоцити. Т-лімфоцити здатні розпізнавати як «чужі» антигени, так і «свої» змінені продукти, а тому забезпечують імунну протипухлинну активність організму. Т-лімфоцити — це унікальний за своїми властивостями об'єкт для проведення радіаційно-цитогенетичних досліджень. У цьому розумінні великою удачею можна вважати встановлення Moorhead et al. [11] можливості стимуляції лімфоцитів периферичної крові і спостереження їх у метафазі. Розглянемо основні переваги тест-системи культури лімфоцитів [7].

1. Простота та доступність одержання вихідного матеріалу і висока концентрація клітинної популяції — у 1 мл крові міститься $(1-3) \cdot 10^6$ малих лімфоцитів, здатних до бласттрансформації.

2. У периферичній крові лімфоцити не діляться, знаходячись у стадії спокою (G_0), і тому представляють природно синхронізовану популяцію клітин. Відомо, що лише 0,06–0,3 % шойно виділених лімфоцитів здійснюють синтез ДНК [12], тому дослідники застосовують мітогени, які стимулюють лімфоцити у культурі до розподілу. Наприклад, фітогемаглютинін (ФГА) стимулює головним чином Т-клітини. Процес бласттрансформації запускається у перші хвилини після внесення мітогена. При цьому настають швидкі зміни стану ядерного матеріалу, складу і проникності мембран клітин. Через одну добу після внесення мітогена у культуру в лімфоцитах починається синтез ДНК, після якого спостерігається перша хвиля мітозів. Клітини, не здатні до відповіді на даний мітоген, поступово деградують. Ознакою метафазної загибелі лімфоцитів є пікноз ядер, морфологічно обумовлений як розпад ядерного хроматину [13]. Найбільш детальне дослідження ультраструктури лімфоцитів у процесі бласттрансформації, викликаній ФГА, виконано в роботі [14]. Найпершою ознакою активації лімфоцитів під впливом цього мітогена є поляризація ядра, цитоплазми й агрегація ри-

босом. Уже через 5 год після додавання у культуру ФГА в ядрах активованих лімфоцитів збільшуються кількість еухроматину і розміри ядра. Через 9 год збільшується об'єм ядра і цитоплазми, мітохондрій і апарата Гольджи. Через одну добу лімфоцити досягають розмірів 12 мкм. Через дві доби після початку дії ФГА діаметр лімфоцитів досягає 15–18 мкм, а їхніх ядер — 12 мкм.

3. Невисокий і відносно постійний спонтанний рівень хромосомних аберацій у культурі лімфоцитів периферичної крові клінічно здорових донорів (у середньому 1,2–1,5 %) і одночасно з цим високий ступінь радіочутливості хромосом у порівнянні з хромосомами інших клітин дозволяє достовірно реєструвати підвищення (над спонтанним рівнем) індукованого рівня аберацій.

4. Важливим і цінним достоїнством культури лімфоцитів є те, що вона дозволяє проводити експериментальні дослідження безпосередньо на клітинах людини, а не вдаватися до вимушеної екстраполяції ефектів з інших модельних об'єктів, що завжди супроводжується певними неточностями.

5. Основою біологічної (цитогенетичної) дозиметрії є кількісна залежність утворення аберацій хромосом у лімфоцитах від дози випромінювання, приблизно ідентичний вихід їх при опроміненні клітин *in vitro* та *in vivo* [7, 15, 16], а також збіг радіочутливості за цитогенетичними показниками лімфоцитів периферичної крові і кісткового мозку. Останнє особливо важливо, оскільки лімфоцити периферичної крові дуже радіочутливі, і тому кількість їх у людини різко зменшується вже через одну добу після опромінення. Починаючи з цього терміну при дозах випромінювання, більших за 4 Гр, у крові може не виявитися достатньої кількості лімфоцитів для культивування. Дослідники вважають, що у різних відділах кісткового мозку, особливо при нерівномірному опроміненні, лімфоцити можуть бути збережені, і тоді аналіз аберацій хромосом у лімфоцитах кісткового мозку є прийнятним методом цитогенетичного обстеження [13].

6. І, нарешті, треба відзначити здатність лімфоцитів до акумуляції цитогенетичних уражень.

Особливу увагу привертає механізм пострадіаційного руйнування лімфоїдних клітин за

рахунок інтерфазної загибелі, яка настає до першого розподілу клітини. Вона відбувається за типом апоптозу і супроводжується міжнуклеосомною деградацією ДНК [17]. Неабияку роль грає ушкодження мембранних структур, що розглядається деякими авторами як ініціатор наступних подій, що приводять до інтерфазної загибелі [7].

Класичним варіантом цитогенетичного методу є аналіз нестабільних хромосомних аберацій [7]. Незважаючи на традиційний імідж даного методу, застосування його не універсальне і обмежено певним післяпроменевим терміном дослідження через елімінацію хромосомних порушень та загибель аберантних лімфоцитів. Описано також фракцію довгоіснуючих лімфоцитів і стовбурових клітин, що уперше вступають у розподіл через значний час після опромінення і зберігають таким чином індуковані хромосомні ушкодження нестабільного типу протягом десятків років. Так, згідно з даними Федорова [18], у крові міститься 34 % короткоіснуючих і 66 % довгоіснуючих лімфоцитів, при цьому середній час життя лімфоцитів варіює від 15 днів до 5 років. Крім того, може мати значення утворення клонів аберантних лімфоцитів з опромінених стовбурових клітин кісткового мозку [19].

Обмежимося коротким описом основних типів аберацій, що спостерігаються при метафазному аналізі лімфоцитів людини після променевої дії.

Як відомо, за структурою розрізняють хромосомний та хроматидний типи аберацій, обміни та фрагменти, а також за характером залежності «час-ефект»: нестабільні аберації (дицентрики, кільця та ацентричні фрагменти), тому що їхній рівень з часом поступово знижується, та стабільні аберації (транслокації, інверсії та інсерції), які зберігаються протягом тривалого періоду після опромінення. Механізм, що обумовлює стабільність чи нестабільність аберацій лімфоцитів крові людини, пояснюється в роботах [20–23].

Опромінення *in vivo* викликає утворення хромосомних пошкоджень як у зрілих лімфоцитах, так і в клітинах-попередниках. Стабільні аберації не перешкоджають мітотичному розподілу клітин-попередників і вільно передаються в дочірні лімфоцити, що забезпечує їхній

постійний рівень, незважаючи на оновлення популяції для компенсації лімфопенії. На відміну від симетричних хромосомних обмінів дицентрики з 50%-ною вірогідністю можуть блокувати мітоз через утворення анафазного мосту при розташуванні дицентрика вздовж веретена розподілу. Ацентричні фрагменти як безцентромірні структури можуть не потрапити до дочірньої клітини; вірогідність передачі, за оцінками різних авторів [20, 23], може становити від 30 до 80 %. Це означає, що при активній проліферації клітин-попередників більша частка променевих маркерів може еліминувати за 2–3 мітотичні цикли і не потрапить до зрілих лімфоцитів [24, 25].

Існує досить багато гіпотез утворення аберацій хромосом. Ці уявлення почали розвиватися з того часу, коли Стадлер і незалежно від нього Навашин висунули гіпотезу розриву-возз'єднання, або фрагментаційну гіпотезу утворення хромосом (цит. з [7]), за якою первинною подією при утворенні аберацій під впливом опромінення є розрив у хромосомі чи хроматиді з утворенням вільних кінців, здатних до взаємодії як між собою, так і з іншими, близько розташованими розірваними кінцями хромосом. Спектр хромосомних аберацій в цьому випадку визначали за типом взаємодії первинних розривів. Якщо в результаті з'єднання розірваних кінців відновлювалася вихідна структура хромосоми, то ніяких аберацій не виникало. Збереження розриву приводило до появи фрагмента, а при двох близько розташованих розривах хромосом випадкове сполучення чотирьох вільних кінців було причиною появи різного роду обмінних аберацій. Таким чином, характер взаємодії первинних розривів хромосом визначав і характер дозових залежностей для цих типів аберацій — лінійний для фрагментів і близький до квадратичного для обмінних аберацій. В продовження гіпотези Сакс встановив лінійну залежність ефекту від дози для фрагментів і квадратичну — для дицентриків та кільць при рентгенівському опроміненні мікроспор традесканції. З цього часу фрагменти стали називати одноударними, а розриви з наступним обміном ділянками хромосом — двоударними абераціями.

Подальший розвиток фрагментаційна гіпотеза утворення аберацій хромосом одержала в

дослідженнях Лі і Кетчесаїда [26], Циммера [27] і Тимофєєва-Ресовського [28], які розвинули теорію «мішені» і принцип влучення. У їхній інтерпретації фрагментаційна гіпотеза стала класичною теорією утворення аберацій хромосом. Однак основний недолік класичної теорії утворення аберацій хромосом полягав у тому, що вона допускала одномоментний і незворотний характер процесів ушкодження хромосом іонізуючим випромінюванням та не враховувала процесів відновлення, а також можливість модифікації цитогенетичних ушкоджень у момент променевого впливу чи в пострадіаційний період.

Далі були запропоновані гіпотези — «обмінна» [29], кросинговерна [30], «матрична» [31], «помилкової» репарації [32], репараційні [33, 34] та ін. Серед них, на наш погляд, треба відзначити гіпотезу «міжмолекулярної перевірки», яку запропонував Лучник [35]. Відповідно до цієї гіпотези у мітотичному циклі соматичних клітин еукаріотів є два важливих періоди обміну генетичною інформацією між субодинами хромосом, названих автором періодами «міжмолекулярної перевірки». Один з них здійснюється до реплікативного синтезу ДНК, а інший — після його закінчення, незадовго до настання мітозу. Передача генетичної інформації з однієї молекули ДНК на іншу здійснюється в періоди міжмолекулярної перевірки за допомогою утворення гетеродуплексів між полінуклеотидними нитками різних молекул ДНК. У гетеродуплексах відбувається процес генетичної корекції, тобто звірення полінуклеотидних ниток за допомогою ферментативної системи, подібно тій, котра здійснює репаративний синтез ДНК. При цьому в залежності від умов відбувається репарація первинного ушкодження або його поширення з однієї полінуклеотидної нитки гетеродуплекса на іншу, і далі по всьому перетину хромосоми. Перевага цієї гіпотези у порівнянні з іншими в тому, що вона пояснює механізм утворення практично всіх типів аберацій. І хоча автор попереджає, що не слід розуміти в буквальному значенні запропоновану ним схему, проте це одна з гіпотез, яка зв'язує «механізм утворення аберацій хромосом і відновлення генетичних структур з нормально протікаючими процесами життєдіяльності клітин в ході зміни фаз міто-

тичного циклу, а з іншого боку — дається конкретна схема молекулярного механізму структурних порушень хромосом і їхнього відновлення від первинних ушкоджень» (цит. з [7]).

Критичними радіаційно-індукованими ушкодженнями, що ведуть до формування аберацій хромосом, вважають двониткові розриви ДНК. Вагомим аргументом на користь цієї точки зору є подібність виходу подвійних розривів ДНК і аберацій хромосом у залежності від виду випромінювань, стадії мітотичного циклу [36]. Проаналізовано тривалість періоду формування аберацій хромосом на основі ефектів інгібіторів синтезу ДНК і динаміки обмінних аберацій [37]. Мінімальний період формування обмінів для клітин тварин — 1 год, для рослин — 1,5 год, середній для більшості об'єктів — 4 год. Але, напевно, виникнення аберацій не настільки однозначно, як це впливає з індукції двониткових розривів. Так, сьогодні вважають, що для виникнення аберації недостатньо подвійного розриву ДНК, потрібний також одночасний розрив матричної білкової структури [38].

Запропоновано узагальнену системну модель репродуктивної загибелі клітин ссавців [39], згідно з якою виникнення у клітині хоча б однієї аберації хромосом може привести до її загибелі.

У стислому огляді історії розвитку уявлень про механізми утворення аберацій хромосом необхідно відзначити, що все ще не існує єдиного погляду на цю проблему.

Зростаюче використання тест-системи культури лімфоцитів периферичної крові людини у радіобіологічних дослідженнях потребує коректних знань про спонтанний рівень аберацій хромосом. Це необхідно, перш за все, для кількісної оцінки цитогенетичних ефектів іонізуючих випромінювань з метою біодозиметрії та високочутливої біоіндикації променевих уражень.

Результати досліджень спонтанного рівня структурних порушень хромосом у лімфоцитах людини коротко зводяться до наступного [40–47 та ін.].

Лімфоцити периферичної крові людини характеризуються досить низькою спонтанною частотою хромосомних аберацій, що складає у середньому 0,01–0,02 на клітину. В роботі [41] наводяться більш високі цифри — 0,056–0,065

на клітину, що, можливо, пояснюється недостатньою вибіркою. За даними [43], спонтанний рівень хромосомних аберацій зі збільшенням віку підвищується (у осіб старше 60 років він дорівнює 0,05–0,06 аберацій на клітину) і не залежить від статі [42].

Севанькаєвим та співавт. [42] у дочорнобильський період виконано кількісну та якісну оцінку спонтанного рівня аберацій хромосом в лімфоцитах крові на представницькій вибірці — 300 здорових донорів чоловічої та жіночої статі у віці 20–50 років. Спонтанна частота аберацій дорівнювала в середньому 0,0104 аберацій на одну клітину, з них частота дицентриків — 0,0001 на клітину. Одиночні та парні фрагменти склали 95 % загальної кількості аберацій. Відношення кількості аберацій хроматидного типу до аберацій хромосомного типу становило в середньому 1,5:1. Відсоток аберантних клітин у обстежених осіб варіював від 0 до 5 %. Більшість (90 %) мала від 0 до 2 % аберантних клітин, а інші 10 % осіб мали 3–5 % аберантних клітин [42]. Пізніше (через 20 років) цим же автором було показано, що спонтанна частота аберацій хромосом у людини коливається від 0 до 3 на 100 клітин, складаючи в середньому 1,2–1,5 на 100 клітин [48]. Середня частота дицентриків та центричних кілець — маркерів радіаційного впливу — складала 0,00013 на клітину.

За даними [49], у практично здорових осіб один дицентрик зустрічається в середньому на 2000 клітин, а за іншими — один дицентрик на 1000 клітин [50]. Бочковим та співавт. [40] показано, що в 1967–1972 рр. частота хромосомних аберацій складала 1,19, а в 1987–1992 рр. вона дорівнювала вже 1,63 у групі непромислового контролю і 2,85 у групі промислового контролю [45]. Тобто, за 20 років спонтанний рівень аберацій хромосом в лімфоцитах периферичної крові людини підвищився в 1,5–2 рази.

У роботі [47] відзначено, що при цитогенетичному обстеженні 959 осіб рівень аберантних метафаз не змінювався з віком, але підвищувалась частота фрагментів, а обмін, навпаки, знижувалась. Автори пов'язують це із більш ефективним перебігом репараційних процесів у молодому віці.

Таким чином, спонтанний рівень хромосомних аберацій у лімфоцитах людини, поперше, може варіювати, а по-друге, підвищу-

ватися за рахунок забруднення оточуючого середовища мутагенними факторами, у тому числі як наслідок Чорнобильської катастрофи. Тому ми цілком погоджуємося з висновком [47], що «...при аналізі дії на частоту хромосомних аберацій яких-небудь середовищних факторів необхідно проводити дослідження у контрольній вибірці, причому терміни проведення обстеження в основній та контрольній групах повинні бути однаковими».

Перш ніж перейти до обговорення питання про біологічну, а точніше цитогенетичну дозиметрію, вважаємо за доцільне зупинитися на дефініції дози.

Доза — це макроскопічна величина, що характеризує середню енергію, яка поглинена одиницею маси речовини, котра опромінюється [51]. До аварії на ЧАЕС розвивалися переважно такі радіобіологічні напрямки, у яких досліджували ефекти опромінення у великих дозах (понад 1 Гр). Результати цих досліджень дозволили з'ясувати механізми виникнення і репарації променевих ушкоджень, зрозуміти клініко-гематологічний перебіг гострої променевої хвороби (ГПХ) і т.д. [52]. Нині однією з найважливіших і в той же час найбільш складних, до кінця не вирішених проблем радіобіології і радіаційної медицини є проблема біологічної дії малих доз. Саме визначення поняття «малі дози» наразі складає предмет дискусії.

Класичне мікродозиметричне визначення «малої дози» випромінювання — це доза, при якій на один чуттєвий об'єм клітини припадає в середньому один трек [53]. Таким чином, це доза одиночної події, яка залежить від виду випромінювання, довжини пробігу і траєкторії частки в досліджуваному мікрооб'ємі, його щільності, тобто вона є стохастичною величиною. Аналіз мікродозиметричних даних показав, що для мікрооб'єктів з діаметром 8 мкм (що відповідає діаметру ядер лімфоцитів людини) це доза одиночної події, яка залежить від енергії частки та знаходиться в інтервалі декількох мГр. Ця доза мінімальна (6 мГр) для електронів з енергіями 20–25 KeV, для протонів і альфа-частинок з енергіями 1–10 MeV — близька до 20–100 і 200 мГр відповідно, для гамма-променів ^{60}Co , ^{137}Cs , 250 кВ рентгенівського випромінювання — від одиниць до декіль-

кох десятків мГр та для нейтронів з енергією 14 МеВ — десятки мГр [51].

Таким чином, визначення малої дози жорстко прив'язано до поняття «чуттєвий об'єм». Якщо за «чуттєвий об'єм» брати клітинне ядро, то доза, що припадає на один акт енергопоглинання при дії рідкоіонізуючого випромінювання, буде дорівнювати 0,2–0,3 сГр, якщо ж мішенню для випромінювання вважати ДНК, що складає в еукаріотичних клітинах 1–2 %, то ці дози складають 20–30 сГр [54].

До малих доз відносять такі, що перевищують природний фон на один порядок [55], 10–15 сГр і нижче [56], від декількох сГр до 1,0 Гр [57]. Нагадаємо, що VI Греєвську конференцію було присвячено теоретичним і практичним аспектам проблеми життєздатності клітин, опромінених у малих дозах, які визначалися науковими авторитетами світу як діапазон 2–2,5 Гр, тобто це дози, які найчастіше використовуються в променевої терапії онкологічних хворих [58].

Пильна увага до малих доз визначена, насамперед, відомим основним радіобіологічним парадоксом — непропорційно високий біологічний ефект у порівнянні з поглиненою енергією. У 80-ті роки основними непорушними положеннями радіобіології були: чим менше доза, тим менше шкода, хоча вона залишається, якою б малою не була доза опромінення. Більше того, основні механізми дії іонізуючої радіації, встановлені при дії великих доз, справедливі в будь-якому діапазоні доз і дозволяють розрахувати імовірність шкоди при кожній як завгодно малій величині дози. Звідси проблема малих доз зводиться до встановлення мінімальних значень, за яких можна реєструвати ушкодження, що індуковані радіацією на організменному, тканинному, клітинному чи молекулярному рівнях. Оскільки імовірність виникнення таких ушкоджень падає зі зменшенням дози за встановленими закономірностями (лінійна, лінійно-квадратична й ін.), то це не дозволяє об'єктивно визначити область малих доз [59].

При цитогенетичній дозиметрії й індикації опромінення враховуються усі нестабільні аберації хромосомного типу, але найчастіше рівень дицентричних хромосом [4, 60]. Цитогенетична дозиметрія в діапазоні малих доз (до 25 сГр) досить складна, хоча нижня границя

чутливості методу складає 0,02–0,1 Гр [61]. Насамперед це пов'язано з трудомісткістю проведення цитогенетичного аналізу (необхідно проаналізувати мінімум 500 метафаз [61], а за даними [62] — десятки тисяч метафаз на кожну дозу) і недостатньою обґрунтованістю екстраполяції даних *in vitro*, отриманих при великих дозах опромінення (1 Гр і вище), в область малих доз.

Головний висновок робіт [62–64 та ін.] полягає в тому, що кількісні закономірності формування структурних ушкоджень хромосом в області низьких доз відрізняються від таких при дії високих доз. При екстраполяції цитогенетичного ефекту з високих доз на низькі спостерігали ефект, що був вище очікуваного, а для дицентриків відзначали плато на дозовій кривій в діапазоні 10–30 сГр, причому в одних роботах відзначали лінійний характер цитогенетичних ефектів в області низьких доз [63], в інших — лінійно-квадратичний [64]. Усі ці роботи поєднує наявність плато на дозовій кривій, яке визначали в різних діапазонах досліджених доз [62]. Взагалі аналіз даних літератури свідчить про особливості в кінетиці частоти дицентриків в інтервалі доз нижче 40 сГр [4, 63, 65, 66 та ін.].

Цитогенетична дозиметрія та індикація променевого впливу ускладнюється за рахунок поступового зниження цитогенетичного ефекту через елімінацію нестабільних хромосомних аберацій та аберантних клітин під час клітинного розподілу, постійного відновлення пула нормальних циркулюючих лімфоцитів [67]. Крім того, довгоіснуючі мітотично неактивні лімфоцити можуть вступати у перший пострадіаційний мітоз у віддалений термін після опромінення, завдяки чому навіть нестабільні ушкодження хромосом відзначаються через десятки років після контакту із радіаційним фактором [68, 69]. Можливе також формування клонів аберантних лімфоцитів і опромінених стовбурових клітин кісткового мозку [70]. Зазначені обставини хоча обмежують можливості цитогенетичних методів для визначення поглиненої дози іонізуючої радіації у віддалений термін, однак дозволяють констатувати факт радіаційної поразки та орієнтовно оцінити ступінь тяжкості за залишковим рівнем ушкоджень хромосом.

У цілому для обліку часу, що пройшов між періодом опромінення і терміном цитогенетичного обстеження крові, розроблено декілька підходів. Необхідність врахування поправки на час обумовлено елімінацією лімфоцитів, що містять нестабільні хромосомні аберації. При цьому передбачається, що заміщення відбувається на неушкоджені лімфоцити [67]. Для кількісного опису процесу елімінації було запропоновано експонентну модель з напівперіодом життя лімфоцита — 3 роки [71, 72]. Цю оцінку було отримано на основі даних елімінації абераційних лімфоцитів в периферичній крові хворих, опромінених за медичними показаннями [73]. Обстеження пацієнтів після променевої терапії [74, 75] та аварійно опромінених осіб [76] виявило швидкий спад частоти хромосомних аберацій в початковий період після гострого опромінення у високій дозі, яка стабілізувалась через 3–4 роки. За даними роботи [74], протягом перших чотирьох років після опромінення рівень хромосомних аберацій знизився на 43 % за рік, далі зниження цитогенетичного ефекту уповільнювалось і зберігалось на рівні 14 % за рік. При цитогенетичному обстеженні осіб, що зазнали локальне опромінення у високих дозах (30 Гр), у післяпроменевий період встановлено гіперболічну залежність частоти аберацій від часу; введено поняття диференційно залежного від часу після опромінення напівперіоду життя для абераційних лімфоцитів — для дицентриків він дорівнював 0,4 роки [75].

Відомо, що при розташуванні дицентриків уздовж веретена розподілу вони блокують мітоз за допомогою утворення мостів на стадії анафази з 50%-ною імовірністю. Можливість влучення ацентричних фрагментів у дочірні клітини складає 30–80 % [77, 78], тобто при активній проліферації клітин-попередників значна частина променевих маркерів елімінує за 2–3 мітози і не влучає в зрілі лімфоцити [65]. Загальна тенденція до зниження середньогрупових і індивідуальних рівнів у післяпроменевий період підтверджує нездатність частини аберацій хромосом вільно передаватися із клітин-попередників дочірнім клітинам внаслідок утворення мостів або втрат (фрагменти) під час мітозу.

Особливу увагу варто приділити роботам Buckton [74, 79–81], які відносяться до найбільш тривалих (впродовж 30 років) досліджень у

радіаційній цитогенетиці людини [74, 79–81]. У роботах представлено дані цитогенетичного обстеження хворих на анкілозуючий спонділартрит, який уражає переважно чоловіків в молодому віці, і хоча не відноситься до онкологічних захворювань, однак хворі піддаються локальній рентгенотерапії (область хребта, крижово-клубова область, які включають значну частину кровотворних органів і депо). Сумарну дозу розподіляли на десять фракцій протягом 2 тиж, і до 1949 р. вона складала 2500 рад; з 1949 по 1955 рр. — 8000 рад; у 1983 р. — 1500 рад. Результати цитогенетичного обстеження 190 пацієнтів були отримані з використанням метафазного аналізу із груповим каріотипуванням традиційно пофарбованих препаратів хромосом і вперше повідомлені у 1960 р. Декількох пацієнтів обстежували щодня після кожного опромінення, тобто досліджували цитогенетичний ефект при дії в дозах 150–1500 рад і при цьому спостерігали лінійну дозову залежність для дицентриків. Відзначали різке падіння частоти аберацій хромосом через 4 роки, яке автори пояснюють відновленням пула лімфоцитів за рахунок неушкоджених стовбурових клітин. Відразу після закінчення лікування близько 40 % лімфоцитів містили нестабільні аберації, через 4 роки — 5 % циркулюючих лімфоцитів зберігали нестабільні аберації хромосом, а 10 % — стабільні аберації. Через 5–8 років частота клітин з нестабільними абераціями знижувалася на 1 % за рік. Однак навіть через 30 років після опромінення зберігався підвищений рівень дицентриків (14/1000), більшість яких не супроводжувалась парним фрагментом. З точки зору дослідників цей факт пояснюється старінням пацієнтів, а також наявністю довгоіснуючих лімфоцитів. Через 4 роки після опромінення у обстежених осіб спостерігали лейкопенію, і темпи зниження абераційних клітин були прискореними (період напівелімінації складав близько 1 року). Це обумовлено швидким «розведенням» абераційної фракції неушкодженими клітинами, що активно проліферували, компенсуючи лейкопенію. Після відновлення кількості лейкоцитів у крові темпи елімінації уповільнювалися, і протягом наступних 5–6 років швидкість зниження частоти абераційних клітин у обстежених пацієнтів відповідала напівперіоду життя — 3 рокам.

За даними Norman et al. [82], напівперіод життя лімфоцитів у 36 пацієнток після променевої терапії складав 1 рік, тобто елімінація абераційних клітин відбувалася за експонентним законом зі швидкістю 50 % за рік; за даними [83–85] — 3,3 роки; за [86] — 4 роки; за [13] — 2 роки; за [87] — 12 місяців; за [76] — 130 днів; за [83, 88] — 3 роки, а за даними [89] — 7 років для лімфоцитів з дицентриками.

Період нормалізації рівня дицентриків і кілець у учасників ліквідації наслідків аварії на Чорнобильській АЕС (УЛНА) залежить винятково від первинної частоти аберацій і складає від 13–14 років у осіб з документованими дозами до 25 сГр і початковим рівнем 1,5 на 100 клітин; до 16,5 років у осіб з підвищеним первинним рівнем ушкоджень. Вінніков [65] прогнозує нормалізацію зазначених цитогенетичних показників у 93,5 % осіб чорнобильського контингенту в період до 17,5 років після експозиції.

При дослідженні індивідуальної динаміки хромосомних аберацій УЛНА встановлено, що кількісні зміни цитогенетичних показників вказують на зниження частоти (елімінація) або стабільність акумуляції ефекту. Крім того, спостерігається істотна індивідуальна варіабельність цитогенетичних ефектів за рахунок генетично детермінованої радіочутливості [90, 91]. Зниження частоти хромосомних аберацій обумовлено «розведенням» пула абераційних клітин нащадками неушкоджених клітин-попередників, які активно проліферують для компенсації лейкопенії, що виникла внаслідок сполученої інтерфазної радіаційної загибелі зрілих лімфоцитів і мітотичної загибелі клітин-попередників [13, 67].

Відомо, що аберації хромосомного типу індуються променевими агентами. Аберації хроматидного типу утворюються звичайно при дії радіації в S і G₂ стадіях мітотичного циклу лімфоцитів, але при дії щільноіонізуючої радіації — на протязі всього мітотичного циклу [92, 93], а також під впливом хімічних мутагенів [94]. Підвищений рівень хроматидних аберацій у УЛНА пояснюється дією хімічних речовин, які використовували при гасінні пожежі, дезактивації, а також хімічних елементів, викинутих у навколишнє середовище під час вибуху реактора. Дослідники відзначають, що підвищений рівень хроматидних аберацій реєстру-

вали у УЛНА із тривалим періодом перебування у вогнищі аварії [95].

З метою більш об'єктивної оцінки цитогенетичних даних необхідно зупинитись на методології інтерпретації характеру дозових кривих, яка ґрунтується на одержанні калібрувальних (дозових) кривих частоти хромосомних аберацій. Оцінка поглинених доз здійснюється на основі співставлення наявного рівня аберацій хромосом з калібрувальною кривою. Відомо, що найбільш популярною є так звана лінійно-квадратична модель, розвинута на основі мікродозиметричних концепцій, які Келлерер і Россі сформулювали у відомій теорії дуальної дії [96]. В рамках цієї моделі дозові криві, проміжні між лінійною та квадратичною (а це більшість дозових кривих, описаних у літературі), пояснюються тим, що енергія, яку повинні поглинути мішені для виникнення біологічного ефекту, може бути отримана в результаті як одного, так і двох влучень. В зв'язку з цим криві описуються рівнянням $y = \alpha D + \beta D^2 + c$, і вважається, що коефіцієнти, які стоять перед D та D^2 , відображають відносну роль двох механізмів. Класична інтерпретація утворення аберацій хромосом при рідкоіонізуючому випромінюванні передбачає лінійну залежність ефекту від дози для однорозривних аберацій (делецій) та квадратичну — для дворозривних (обмінів). Це пов'язують з тим, що аберації обмінного типу є наслідком взаємодії двох первинних уражень, і рівень їх зростає пропорційно квадрату числа уражень, а кількість делецій — пропорційно числу уражень. Встановлено, що залежність частоти хромосомних аберацій від дози при рідкоіонізуючому випромінюванні (рентгенівське і гамма-випромінювання, електрони) апроксимується лінійно-квадратичною моделлю, а при дії щільноіонізуючого випромінювання (нейтрони, іони) — лінійною [92, 93, 97 та ін.].

В роботі [93] встановлено, що при дії швидких нейтронів на культуру лімфоцитів у різних періодах мітотичного циклу в характері дозових кривих для сумарної частоти аберацій та окремих типів аберацій хромосом переважає лінійний компонент. Це може бути обумовлено високою щільністю іонізації при нейтронному опроміненні. Якщо при гамма-опроміненні розриви у двох хромосомах, необхідних для ут-

ворення обміну, виникають в результаті двох незалежних влучень, то при дії нейтронів одна іонізуюча частка (протон віддачі) з великою вірогідністю може пронизувати дві хромосоми, і обмін у цьому випадку буде результатом одного влучення.

Пропонували також використання моделі ступеневої залежності $Y = kDn$ або обох моделей [98, 99 та ін.]. В цілому дослідники вважають, що з урахуванням механізму виникнення хромосомних аберацій більш виправдано використання лінійно-квадратичної моделі [8, 100 та ін.]. Проте у деяких випадках як лінійні, так і лінійно-квадратичні моделі «доза-ефект» не дають задовільного наближення до істинних функціональних залежностей [61].

Згідно з методичними рекомендаціями [101] доцільно визначати дозу опромінення за відсотком абераційних лімфоцитів і загальної кількості аберацій хромосом. Ці два цитогенетичні показники (автори особливо виділяють відсоток абераційних клітин, диференціальний облік яких є найбільш простим) у діапазоні доз 15–400 сГр мають цілком прийнятну точність оцінки дози радіації. За відсотком абераційних клітин з 95%-ним показником вірогідності можна реєструвати дози опромінення з похибкою, що не перевищує 40 % при дозі 50 сГр, 30 % — при 100 сГр, 20 % — при 200 сГр, 15 % — при 300 сГр і 20 % — при 400 сГр. Автор підкреслює, що точність оцінки дози радіації за рівнем дицентриків і кілець можлива лише при дозі понад 50 сГр, оскільки частота аберацій цього типу при дозах нижче за 50 сГр недостатня, щоб служити основою біологічної дозиметрії. Відповідно до методичних рекомендацій [102] оцінку дози виконують за відсотком лімфоцитів з дицентриками і частотою дицентриків.

При моделюванні клітинних радіобіологічних ефектів в діапазоні малих доз автори [103] виходили з того, що при певній поглиненій енергії опромінення у клітині активуються додаткові репараційні системи, які «насячуються» при подальшому підвищенні дози. Результати моделювання індукції нестабільних аберацій хромосом у клітинах лімфоцитів людини при дії γ -опромінення показали, що «плато», яке спостерігається в діапазоні доз 0,1–0,4 Гр, задовільно відтворюється моделлю тільки при активації репараційних систем.

Підсумовуючи треба зазначити, що репаративні процеси, які обумовлюють кінцевий радіобіологічний процес, формуються за рахунок компенсаційної здатності об'єкта. На наш погляд, розробка математичних методів для опису радіаційно-індукованих цитогенетичних ефектів, особливо при дії малих доз радіації, має бути пов'язана з використанням більш динамічних моделей. Наприклад, використання моделі сплайнової регресії з метою дозиметрії підвищує точність апроксимації цитогенетичних даних та надає можливість визначення виходу калібрувальної дозової кривої на плато [104].

Слід враховувати, що лімфоцити периферичної крові, які циркулюють у всіх тканинах і виконують адаптаційно-трофічну функцію, здійснюють також захист організму від впливу навколишнього середовища, контролюють і підтримують його гомеостаз. Особлива увага приділяється ролі лімфоцитів у неопластичному процесі, їхній взаємодії з пухлинними клітинами. Показано, що у пацієнтів зі злоякісними новоутвореннями зменшується загальна кількість лімфоцитів, в основному Т-лімфоцитів [105], знижується реакція бласттрансформації при взаємодії лімфоцитів з фітогемаглютиніном у хворих на рак молочної залози та шлунка [106]. Так, встановлено достовірне збільшення частоти структурних змін хромосом у лімфоцитах хворих раком молочної залози ($3,7 \pm 0,58$ %), гастритом і раком шлунка (8–22 %), раком легенів, раком тіла матки ($5,8 \pm 0,49$ %) [106–108 та ін.]. Виявлені аберації представлено парними й одиночними фрагментами, центричними кільцями. Підвищений рівень цитогенетичних змін у лімфоцитах периферичної крові онкологічних хворих, які виникають внаслідок порушень у системі репарації, призводить до поглиблення імунодепресивного стану організму [109] або до порушення здатності імунної системи елімінувати абераційні клітини [110]. Ці факти необхідно враховувати при обстеженні УЛНА з онкологічними захворюваннями у післячорнобильські терміни й інтерпретації даних цитогенетичного обстеження цих осіб.

* * *

В цілому дослідники вказують на складність реконструкції індивідуальних доз опромінення за результатами цитогенетичних обстежень у

віддалені строки після впливу іонізуючої радіації [111]. У цьому зв'язку при проведенні моніторингу стану здоров'я УЛНА, які піддалися дії малих і середніх доз іонізуючого випромінювання, використання індикації ступеня променевого ураження хромосом більш коректне, ніж здійснення цитогенетичної дозиметрії [112, 113]. Принаймні традиційний цитогенетичний аналіз (по рівню стабільних хромосомних аберацій) залишається базовим при проведенні моніторингу в групах осіб, які зазнали опромінення внаслідок аварійних та надзвичайних ситуацій [114]. Дані цитогенетичного обстеження — це інформативний критерій оцінки підвищеного ризику виникнення захворювань, в тому числі онкологічних, в групі УЛНА на Чорнобильській АЕС [112, 114], оскільки вірогідно встановлено зв'язок між виникненням пухлин та опроміненням [115].

SUMMARY. Review is devoted to the problems of biological (cytogenetic) dosimetry and indication of degree of radiation lesions based on analysis of unstable chromosome aberrations in lymphocytes of human peripheral blood. Effects of radiation in low doses on human chromosomes and methodology of interpretation of the character of dose cytogenetic curves are discussed. Traditional cytogenetic analysis remains the basic one for monitoring in groups of people with accidental irradiation.

РЕЗЮМЕ. Обзор литературы посвящен вопросам биологической (цитогенетической) дозиметрии и индикации степени лучевых поражений на основе анализа нестабильных абераций хромосом в лимфоцитах периферической крови человека. Уделено внимание действию малых доз радиации на хромосомы и обсуждается методология интерпретации характера дозовых цитогенетических кривых. Традиционный цитогенетический анализ остается базовым при осуществлении мониторинга в группах лиц, подвергшихся аварийному облучению.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Аклеев А. В., Ава А., Акияма М. и др. Биологическая индикация хронического облучения в отдаленные сроки // Мед. радиология и радиац. безопасность. — 1999. — С. 7–19.
2. Ильин Л.А. Радиобиология и радиационная медицина — проблемы и перспективы их взаимодействия в рамках регламентации ионизирующих излучений // Мед. радиология и радиац. безопасность. — 1998. — 43, № 1. — С. 8–17.
3. Комар В.Е. Современное состояние проблемы биологической индикации лучевых поражений // Радиобиология. — 1992. — 32, № 1. — С. 84–96.
4. Моисеенко В.В. Применение методов биофизического моделирования для ретроспективной оценки доз по хромосомным аберациям в различные сроки после облучения : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Обнинск, 1993. — 24 с.
5. Мазурик В.К. Некоторые проблемы радиационной биохимии ДНК // Современные проблемы радиобиологии. Радиационная биохимия / Под ред. Е. Ф. Романцова. — М.: Атомиздат, 1975. — Т. 4. — С. 5–59.
6. Altman K.J. Criteria for the evaluation and selection of radiation induced metabolic changes as biochemical indicator of radiation damage // Biochemical indicators of radiation injury in man: Proc. Sci. Meet. (Paris-Le Vesinet. — IAEA/WHO). — Vienna : IAEA, 1971. — P. 11–32.
7. Севаньяев А.В. Радиочувствительность хромосом лимфоцитов человека в митотическом цикле. — М.: Энергоатомиздат, 1987. — 160 с.
8. Biological dosimetry: chromosomal aberrations analysis for dose assessment. Technical Reports series № 260. — Vienna : IAEA, 1986. — 69 p.
9. United Nations. Genetic and somatic effects of ionizing radiation. United Nat. Sci. Comm. on the effects of atomic radiation (1986): Report to the General Assembly, with annexes. — New York : United Nat. sales publ., 1986. — 237 p.
10. Уманский Ю.А., Пинчук В.Г. Лимфоциты и опухолевый рост. — Киев : Наук. думка, 1982. — 256 с.
11. Moorhead P.S., Nowele P.S., Mellman W.J. et al. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood // Cell Res. — 1960. — 20, № 3. — P. 613–616.
12. Bender M.A., Prescott D.M. DNA synthesis and mitosis in cultures of human peripheral leukocytes // Exp. Cell Res. — 1962. — 27. — P. 221–229.
13. Жербин Е.А., Чухловин А.Б. Радиационная гематология. — М.: Медицина, 1989. — 176 с.
14. Biberfeld P. Morphogenesis in blood lymphocytes stimulated with phytohaemagglutinin (PHA) // Acta pathol. et microbiol. scand. — 1971. — 223, № 1. — P. 1–70.
15. Buckton K.E., Langlands A.O., Smith P.G. Further studies on chromosome aberrations production after whole-body irradiation in man // Int. J. Radiat. Biol. — 1971. — 19, № 4. — P. 369–378.
16. Schmid E., Bauchinger M., Bunde E. et al. Comparison of the chromosome damage and its dose response after medical whole-body exposure to ⁶⁰Co-rays and irradiation of blood in vitro // Int. J. Radiat. Biol. — 1974. — 26, № 1. — P. 31–37.
17. Матылевич А.П., Афанасьев В.Н., Король Б.А. и др. Участие клеточных структур в процессе апоптоза, индуцированного гамма-облучением в лимфоидных клетках // Тр. Всесоюз. радиобиол. съезда. — Пушкино, 1989. — 1. — С. 155.
18. Федоров Н.А. Нормальное кроветворение и его регуляция. — М.: Медицина, 1976. — 467 с.
19. Руководство по изучению генетических эффектов в популяциях человека. Гигиенические критерии

- состояния окружающей среды. — Женева : ВОЗ, 1989. — Вып. 46. — 122 с.
20. *Sasaki M.S., Norman A.* Selection against chromosome aberrations in human lymphocytes // *Nature*. — 1967. — **214**. — P. 502–503.
 21. *Carrano A.V.* Chromosome aberrations and radiation induced cell death. 1. Transmission and survival parameters of aberrations // *Mutat. Res.* — 1973. — **17**. — P. 341–353.
 22. *Al-Achkar W., Sabatier L., Dutrillaux B.* Transmission of radiation-induced rearrangement through cell division // *Mutat. Res.* — 1988. — **198**. — P. 191–198.
 23. *Bauchinger M., Schmid E., Braselmann H.* Cell survival and radiation-induced chromosome aberrations. 2. Experimental findings in human lymphocytes analysed in first and second post-irradiation metaphases // *Radiat. Environ. Biophys.* — 1988. — **25**. — P. 23–260.
 24. *Вітніков В.А.* Динаміка цитогенетичних ефектів у осіб, які зазнали впливу іонізуючої радіації в малих дозах в ході ліквідації наслідків аварії на Чорнобильській АЕС : Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — Київ, 2000. — 18 с.
 25. *Maznic N.A., Vinnikov V.A., Lloyd D.C., Edwards A.A.* Chromosomal dosimetry for some groups of evacuees from Pripiat and Ukrainian liquidators at Chernobyl // *Radiat. Protect. Dosim.* — 1997. — **74**, № 1/2. — P. 5–11.
 26. *Lea D.E., Catcheside D.G.* The mechanism of the induction by radiation of chromosome aberrations in *Tredescantia* // *J. Genet.* — 1942. — **44**. — P. 216–245.
 27. *Циммер К.Г.* Проблемы количественной радиобиологии. — М.: Госатомиздат, 1962. — 100 с.
 28. *Тимофеев-Ресовский Н.В., Иванов В.И., Корогодін В.И.* Применение принципа попадания в радиобиологии. — М.: Атомиздат, 1968. — 228 с.
 29. *Revell S.H.* The accurate estimation of chromatid breakage and its relevance to a new interpretation of chromatid aberrations induced by ionizing radiations // *Proc. Roy. Soc. London*. — 1959. — **150**, № 941. — P. 563–589.
 30. *Митрофанов Ю.А., Олимпиенко Г.С.* Индуцированный мутационный процесс эукариот. — М.: Наука, 1980. — 264 с.
 31. *Лучник Н.В.* Биофизика цитогенетических поражений и генетический код. — Л.: Медицина, 1968. — 296 с.
 32. *Evans H.J.* Repair and recovery from chromosome damage after fractionated X-ray dosage // *Genet. aspects of radiosensitivity : Mechanisms of repair*. — Vienna : IAEA, 1996. — P. 31–48.
 33. *Bender M.A., Griggs H.G., Bedford S.S.* Mechanisms of chromosomal aberration production. 3. Chemicals and ionizing radiation // *Mutat. Res.* — 1974. — **23**, № 2. — P. 197–212.
 34. *Тарасов В.А., Сафонова Г.М.* Сенсibiliзующее действие 5-бромдезоксипуридина в постсинтетическом периоде митотического цикла при гамма-облучении клеток // *Генетика*. — 1973. — **9**, № 2. — С. 35–44.
 35. *Лучник Н.В.* Образование aberrаций хромосом при облучении клеток на разных стадиях митотического цикла // *Радиобиология*. — 1973. — **13**, № 2. — С. 163–177.
 36. *Обатуров Г.М., Филимонов А.Е.* Роль двунитевых разрывов ДНК в процессах радиационного структурного мутагенеза в эукариотических клетках // *Радиационная биология. Радиоэкология*. — 1993. — **2**, № 5. — С. 718–723.
 37. *Митрофанов Ю.Ф.* Определение периода формирования aberrаций хромосом // 3-й съезд по радиационным исследованиям. — М., 1997. — **3**. — С. 75–76.
 38. *Малиновский Ю.Ю.* Молекулярные механизмы образования цитогенетических повреждений: факты и гипотезы // *Проблемы радиационной генетики на рубеже веков : Материалы Международ. конф.* — М., 2000. — С. 46.
 39. *Обатуров Г.М., Филимонов А.Е.* Нейтроны и тяжелые заряженные частицы в биологии и медицине. — Обнинск, 1989. — 44 с.
 40. *Бочков Н.П., Кулешов Н.П., Журков В.С.* Анализ спонтанных хромосомных aberrаций в культуре лейкоцитов человека // *Цитология*. — 1972. — **14**, № 10. — С. 1267–1273.
 41. *Littlefield L.G., Goh K.O.* Cytogenetic studies in control men and women. 1. Variations in aberration frequencies in 29709 metaphases from 305 cultures obtained over a three-year period // *Cytogenet. and Cell Genet.* — 1973. — **12**, № 1. — P. 17–34.
 42. *Севаньяев А.В., Козлов В.М., Гузев Г.Г., Измайлова Н.Н.* Частота спонтанных хромосомных aberrаций в культуре лейкоцитов человека // *Генетика*. — 1974. — **10**, № 6. — С. 114–120.
 43. *Лежава Т.А., Хмаладзе Е.В.* Спонтанный уровень количественно-структурных изменений хромосом в старческом возрасте // *Изв. Груз. ССР, сер. Биология*. — 1978. — **4**, № 2. — С. 162–170.
 44. *Ivanov V., Praskova L., Mileva M. et al.* Spontaneous chromosomal aberrations in human peripheral lymphocytes // *Mutat. Res.* — 1978. — **52**, № 3. — P. 421–426.
 45. *Бочков Н.П., Катосова Л.Д., Платонова В.И. и др.* Неоднородность контрольных выборок как причина дополнительных вариаций спонтанного уровня хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов человека // *Генетика*. — 1994. — **30**, № 4. — С. 463–466.
 46. *Tucker J.D.* Chromosome painting and the accumulation on stable cytogenetic damage with age in healthy controls // *Environ. and Mol. Mutagen.* — 1995. — **25**. — P. 54.
 47. *Чеботарев А.Н.* Закономерности хромосомной изменчивости соматических клеток человека // *Вестн. РАМН*. — 2001. — № 10. — С. 64–69.
 48. *Севаньяев А.В., Жлоба А.А., Потетня О.И.* Результаты цитогенетического обследования детей и подростков, проживающих на загрязненных радионуклидами территориях Калужской области // *Радиация и риск*. — 1994. — № 4. — С. 121–124.
 49. *Lloyd D.C., Edwards A.A.* Chromosome aberrations in human lymphocytes : Effect of radiation quality, dose,

- and dose rate // Radiation-induced chromosome damage in man. — New York, 1983. — P. 23–49.
50. *Bender M.A., Preston R.J., Leonard R.S. et al.* Chromosome aberration and sister-chromatid exchange frequencies in peripheral blood lymphocytes of a large human population sample // *Mutat. Res.* — 1988. — **204**. — P. 421–433.
 51. *Спитковский Д.М.* Концепция действия малых доз ионизирующих излучений на клетки и ее возможные приложения к трактовке медико-биологических последствий // *Радиобиология.* — 1992. — **32**, № 3. — С. 383–400.
 52. *Ярмоненко С.П.* Радиобиология человека и животных. — М.: Высш. шк., 1984. — С. 164–183.
 53. *ICRU, Report 36. Microdosimetry.* — Maryland: Int. Comis. on Radiat. Units and Measur., 1983. — 170 p.
 54. *Burkart W., Heusser P.* Microdosimetric constraints on specific adaptation mechanisms to reduce DNA damage caused by ionizing radiation // *Radiat. Protect. Dosim.* — 1990. — **31**, № 1/4. — P. 269–274.
 55. *Барабой В.А.* Особенности биологического действия ионизирующего излучения в малых дозах // *Врачеб. дело.* — 1991. — № 7. — С. 111–112.
 56. *Корогодин В.И., Корогодина В.Л.* Онкогенные последствия облучения человека // *Мед. радиология и радиац. безопасность.* — 1997. — **42**, № 2. — С. 26–30.
 57. *Готлиб В.Я., Пелевина И.И., Конопля Е.Ф. и др.* Некоторые аспекты биологического действия малых доз радиации // *Радиобиология.* — 1991. — **31**, № 3. — С. 318–325.
 58. *Жизнеспособность* клеток, облученных в малых дозах: теоретические и клинические аспекты: Тр. 6-й Гревской конф. (Лондон, 1974) / Под ред. С. Альнер. — М.: Медицина, 1980. — 205 с.
 59. *Кузин А.М.* Проблема малых доз и идеи гормезиса в радиобиологии // *Радиобиология.* — 1991. — **31**, № 1. — С. 16–21.
 60. *Пяткин Е.К., Нугис В.Ю., Чирков А.А.* Оценка поглощенной дозы по результатам цитогенетических исследований культуры лимфоцитов у пострадавших при аварии на Чернобыльской АЭС // *Мед. радиология.* — 1989. — **34**, № 6. — С. 52–57.
 61. *Семов А.Б., Иофа Э.П., Акаева Э.А., Шевченко В.А.* Дозовая зависимость индукции хромосомных абераций у ликвидаторов Чернобыльской аварии // *Радиац. биология. Радиоэкология.* — 1994. — № 6. — С. 865–870.
 62. *Севаньяев А.В.* Современное состояние вопроса количественной оценки цитогенетических эффектов в области низких доз радиации // *Радиобиология.* — 1991. — **31**, № 4. — С. 600–605.
 63. *Завитаева Т.А.* Количественные закономерности повреждения хромосом лимфоцитов периферической крови человека при гамма- и нейтронном облучении *in vitro* в малых дозах: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киев, 1987. — 18 с.
 64. *Севаньяев А.В.* Закономерности возникновения абераций хромосом в митотическом цикле клеток человека при гамма- и нейтронном облучении: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Обнинск, 1982. — 36 с.
 65. *Винников В.А.* Динаміка цитогенетичних ефектів у осіб, які зазнали впливу іонізуючої радіації в малих дозах в ході ліквідації наслідків аварії на Чорнобильській АЕС: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — Київ, 2000. — 18 с.
 66. *Pohl-Ruling J.* Chromosome aberration of blood lymphocytes induced by low-level doses of ionizing radiation // *Adv. in Mutagenesis Res.* 2. — Berlin: Springer, 1990. — P. 155–189.
 67. *Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных веществ.* — Женева: ВОЗ, 1989. — 212 с.
 68. *Chree C.A., Libiry P.D.* Cytogenetic findings 30 years after low level exposure to the Nagasaki atomic bomb // *J. Radiat. Res.* — 1977. — **18**, № 2. — P. 132–138.
 69. *Awa A.A.* Chromosome damage in atomic bomb survivors and their offspring — Hiroshima and Nagasaki // *Radiation induced chromosome damage in man* / Eds T. Ishihara, M.S. Sasaki. — New York, 1983. — P. 433–454.
 70. *Amenomori T., Honda T., Otake M. et al.* Growth and differentiation of circulating hemopoietic stem cells with atomic bomb irradiation-induced chromosome abnormalities // *Exp. Hematol.* — 1988. — **16**, № 10. — P. 849–854.
 71. *Lloyd D.C., Purrott R.J., Reeder E.J.* The incidence of unstable chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes from unirradiated and occupationally exposed people // *Mutat. Res.* — 1980. — **72**. — P. 523–532.
 72. *Dolphin G.W., Lloyd D.C., Purrott R.J.* Chromosome aberration analysis as a dosimetric technique in radiological protection // *Health Phys.* — 1973. — **25**. — P. 7–15.
 73. *Tomomura A., Kishi K., Saito F.* Types and frequencies of chromosome aberrations in peripheral lymphocytes of general populations // *Radiation-induced chromosome damage in man* / Eds T. Ishihara, M. Sasaki. — New York: Alan R. Liss, 1983. — P. 605–616.
 74. *Buckton K.E., Hamilton G.E., Paton L. et al.* Chromosome aberration in irradiated ankylosing spondylitis patients // *Mutagen-induced chromosome damage in man* / Eds. H.J. Evans, D.C. Lloyd. — Edinburg: Edinburg Univ. Press, 1978. — P. 142–150.
 75. *Bauchinger M., Schmid E., Braselmann H. et al.* Time-effect relationship of chromosome aberrations in peripheral lymphocytes after radiation therapy for seminoma // *Mutat. Res.* — 1989. — **211**. — P. 265–272.
 76. *Ramalho A.T., Nascimento A.C.H.* The fate of chromosomal aberrations in ¹³⁷Cs-exposed individuals in the Goiania radiation accident // *Health Phys.* — 1991. — **60**. — P. 67–70.
 77. *Sasaki M.S., Norman A.* Selection against chromosome aberrations in human lymphocytes // *Nature.* — 1967. — **214**. — P. 502–503.
 78. *Bauchinger M., Schmid E., Braselmann H.* Cell survival and radiation induced chromosome aberrations. 2. Experimental finding in human lymphocytes ana-

- lysed in first and second post-irradiation metaphases // *Radiat. Environ. Biophys.* — 1986. — **25**. — P. 233–260.
79. *Buckton K.E., Brown C.W.M., Smith P.C.* The estimation of lymphocyte lifespan from studies on males treated with X-rays for ankylosing spondylitis // *Human radiation cytogenetics* / Eds H.J. Evans, C.W.M. Brown, A.C. McLean. — Amsterdam : North Holland publ., 1967. — P. 106–114.
 80. *Buckton K.E., Hamilton G.E., Paton L., Langlands A.O.* Chromosome aberrations in irradiated ankylosing spondylitis patients // *Mutagen-induced chromosome damage in man* / Eds H.J. Evans, D.C. Lloyd. — Edinburgh, 1978. — P. 142–150.
 81. *Buckton K.E.* Chromosome aberrations in patients treated with X-irradiation for ankylosing spondylitis // *Radiation-induced chromosome damage in man* / Eds T. Ishihara, M. Sasaki. — New York : A.R. Liss, 1983. — P. 491–511.
 82. *Norman A., Ottoman R.E., Sasaki M.* The frequency of dicentric in human leukocytes irradiated in vivo and in vitro // *Radiology.* — 1986. — **83**. — P. 108–110.
 83. *Lloyd D.C., Edwards A.A., Prosser J.S. et al.* Accidental intake of tritiated water : a report of two cases // *Radiat. Protect. Dos.* — 1986. — **15**, № 3. — P. 191–196.
 84. *Lucas J.N., Poggensee M., Straume T.* The persistence of chromosome translocations in a radiation worker accidentally exposed to tritium // *Cytogenet. Cell. Genet.* — 1992. — **60**. — P. 255–256.
 85. *Lloyd D.C., Moquet J.E., Oram S. et al.* Accidental intake of tritiated water: a cytogenetic follow-up cases on translocation stability and dose reconstruction // *Int. J. Radiat. Biol.* — 1998. — **73**, № 5. — P. 543–547.
 86. *Шевченко В.А., Семов А.Б., Акаева Э.Ф. и др.* Цитогенетические эффекты у лиц, пострадавших в результате аварии на Чернобыльской АЭС // *Радиационная биология. Радиоэкология.* — 1995. — **35**, № 5. — С. 646–654.
 87. *Scheid W., Weber J., Traut H.* Chromosome aberration induced in human lymphocytes by an X-radiation accident : Results of a 4-years post-irradiation analysis // *Int. J. Radiat. Biol.* — 1988. — **54**, № 3. — P. 395–402.
 88. *Sasaki M.S.* Use of lymphocyte chromosome aberrations in biological dosimetry: possibilities and limitations // *Radiation-induced chromosome damage in man* / Eds T. Ishimura, M. Sasaki. — New York : Alan R. Liss, 1983. — P. 585–604.
 89. *Brasemann H., Schmid E., Bauchinger M.* Chromosome aberration in nuclear power plant workers: the influence of dose accumulation and lymphocyte lifetime // *Mutat. Res.* — 1994. — **306**. — P. 197–202.
 90. *Пилинская М.А., Шеметун А.М., Дыбский С.С. и др.* Результаты 14-летнего цитогенетического мониторинга контингентов приоритетного наблюдения, пострадавшего от действия факторов аварии на Чернобыльской АЭС // *Вестн. РАМН.* — 2001. — **10**. — С. 80–84.
 91. *Пилинская М.А., Дыбский С.С.* Частота хромосомных обменов в критических группах жертв Чернобыльской аварии по данным традиционного цитогенетического анализа и метода FISH // *Int. J. Radiat. Med.* — 2002. — **1**, № 5. — P. 83–95.
 92. *Деміна Э.А.* Кривые доза-эффект при гамма-воздействии в различных стадиях митотического цикла культуры лимфоцитов человека // *Радиобиология.* — 1987. — **27**, № 3. — С. 428.
 93. *Деміна Э.А.* Кривые доза-эффект при действии нейтронов со средней энергией 6 МэВ на культуру лимфоцитов человека в различных стадиях митотического цикла // *Радиобиология.* — 1987. — **27**, № 3. — С. 357–361.
 94. *Бочков Н.П., Чеботарев А.Н.* Наследственность человека и мутагены окружающей среды. — М.: Медицина, 1989. — 270 с.
 95. *Нугис В.Ю., Чирков А.А.* Сопоставление числа хроматидных aberrаций с дозой, оцененной по частоте дицентриков, при цитогенетическом исследовании лимфоцитов у лиц, пострадавших при аварии на ЧАЭС // *Радиобиология.* — 1990. — **30**, № 5. — С. 585–587.
 96. *Kellerer A.M., Rossi H.H.* The theory of dual radiation action // *Curr. Top. Radiat. Res. Quart.* — 1972. — **8**. — P. 85–158.
 97. *Обатуров Г.М. и др.* Актуальные проблемы радиобиологии нейтронов // *Радиационная биология. Радиоэкология.* — 1997. — № 4. — С. 475–481.
 98. *Sasaki M.S.* Radiation-induced chromosome aberrations in lymphocytes : Possible biological dosimeter in man // *Biological aspects of radiation protection* / Eds T. Sugahara, O. Hug. — Berlin : Springer, 1971. — P. 81–89.
 99. *Barjaktarovic N., Savage J.R.K.* RBE for d 42 MeV Be neutrons based on chromosome-type aberrations induced in human lymphocytes and scored in cells at first division // *Int. J. Radiat. Biol.* — 1980. — **37**. — P. 667–675.
 100. *Merkle W.* Statistical methods in regression and calibration analysis of chromosome aberration data // *Radiat. Environ. Biophys.* — 1983. — **21**. — P. 217–233.
 101. *Севаньяев А.В., Насонов А.П.* Биологическая дозиметрия по хромосомным aberrациям в культуре лимфоцитов человека : Метод. рекомендации. — Обнинск, 1979. — С. 16.
 102. *Пяткин Е.К., Баранов А.Е., Филюшкин И.В. и др.* Оценка дозы и равномерности облучения при острых радиационных поражениях человека с помощью анализа aberrаций хромосом : Метод. рекомендации. — М., 1988. — 26 с.
 103. *Обатуров Г.М., Филимонов А.С.* Математическая модель клеточных радиобиологических эффектов в области малых доз и мощностей доз // III съезд по радиационным исследованиям : Тез. докл. — М., 1997. — **1**. — С. 114.
 104. *Барияк И.Р., Деміна Э.А., Ключин Д.А. и др.* О форме дозовых кривых радиационно индуцированных цитогенетических повреждений лимфоцитов человека // *Цитология и генетика.* — 2001. — **35**, № 4. — С. 55–58.
 105. *Bernt T., Jankovis D., Vecsek N. et al.* Helper-suppressor lymphocyte ratio in patients with endometrial cancer // *Period Biol.* — 1987. — **89**, № 3. — P. 173–176.

106. Якимова Т.П., Самсонова Л.А. Потеря способности лимфоцитов к делению в культуре периферической крови при метастазировании рака молочной железы // *Вопр. онкологии.* — 1988. — **34**, № 7. — С. 859–860.
107. Полицук Л.З., Несина И.П. Цитогенетические изменения в лимфоцитах периферической крови онкологических больных // *Цитология и генетика.* — 1990. — **24**, № 6. — С. 46–56.
108. Di Lernia R., Magnani I., Doneda L. et al. Cytogenetic instability in a family with gastric cancer recurrence // *Cancer Genet. and Cytogenet.* — 1987. — **27**, № 2. — P. 299–310.
109. Ильинских Н.Н., Бессудова С.С., Ильинских И.Н. Аутоиммунный процесс и хромосомные аномалии // *Цитология и генетика.* — 1987. — **21**, № 1. — С. 64–70.
110. Скорова С.В. Влияние иммунологических реакций организма на частоту структурных мутаций хромосом : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Новосибирск, 1982. — 24 с.
111. Бочков Н.П. Аналитический обзор цитогенетических исследований после Чернобыльской аварии // *Вестн. Рос. Академии мед. наук.* — 1993. — № 6. — С. 51–54.
112. Дьоміна Е.А. Радіогенні цитогенетичні ефекти у учасників ліквідації аварії на Чорнобильській АЕС : Автореф. дис. ... д-ра біол. наук. — Київ, 2002. — 36 с.
113. Мосэ И.Б. Радиочувствительность с точки зрения генетики // *Лекции школы по радиобиологии.* — Обнинск : Галактика, 2003. — С. 136–149.
114. Любченко П.Н., Снигирева Г.П., Широкова Е.Б. и др. Некоторые клинико-цитогенетические сопоставления у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС в отдаленном периоде // *Мед. радиология и радиац. безопасность.* — 2001. — **46**, № 3. — С. 17–21.
115. Hasegawa Y. An overview of studies on the health effects of atomic bomb radiation at the Radiation Effects Research Foundation // *Health Effects of Atomic Radiation — Hiroshima-Nagasaki, Lucky Dragon Techa River, Chernobyl.* — Tokyo, 1990. — P. 172–189.

Надійшла 30.07.03