

О.А. Главін
Е.А. Дьоміна

Інститут експериментальної
патології, онкології
і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького
НАН України, Київ, Україна

Ключові слова: периферична
кров, лімфоцити,
іонізуюче випромінювання,
вільнорадикальні сполуки.

ОСОБЛИВОСТІ ПРОДУКЦІЇ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ СПОЛУК ЛІМФОЦИТАМИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ТА ІНТЕНСИВНІСТЬ ЇХ УТВОРЕННЯ ПІСЛЯ РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ

Проблема оцінки шкідливого впливу іонізуючого випромінювання на нормальні клітини і тканини важлива для осіб, що зазнають його дії у зв'язку з професійною діяльністю, для онкологічних хворих при застосуванні променевої терапії та у разі його впливу на організм внаслідок забруднення довкілля. Його дія значною мірою реалізується за рахунок безпосереднього утворення вільнорадикальних сполук (ВРС) при опроміненні та опосередкованих змін інтенсивності вільнорадикальних процесів у тканинах і клітинах. **Мета:** дослідити особливості продукування ВРС лімфоцитами людини після рентгенівського опромінення крові в системі *in vitro*. Обґрунтувати використання цього показника як додаткового маркера негативних наслідків впливу іонізуючого випромінювання на організм людини. **Об'єкт і методи:** у дослідженні використовували зразки периферичної крові 36 умовно здорових осіб — 18 жінок віком 39–69 років та 18 чоловіків віком 18–58 років. Тестуюче рентгенівське опромінення крові (ТО) проводили у дозах 0,5; 1,0; 2,0 та 3,0 Гр. Загальну інтенсивність продукування ВРС у лімфоцитах периферичної крові визначали з використанням флуоресцентного зонда дихлоро-флуоресцеїн-діацетату та перераховували у мМ H_2O_2 на тисячу клітин за годину (мМ/тис. кл./год). **Результати:** Середній рівень продукування ВРС в інтактних лімфоцитах становив 21,4 мМ/тис. кл./год і варіював від 1,6 до 64,3 мМ/тис. кл./год. У жінок рівень утворення ВРС був у 1,5 раза вищим, ніж у чоловіків. Інтенсивність утворення ВРС у лімфоцитах залежала від віку донорів. У віковій групі 18–30 років була достовірно вищою, ніж у групах 31–50 років та 51–69 років (у 1,7 та 2,0 раза відповідно). Така різниця зберігалась і після ТО у всьому використаному діапазоні доз. Середні показники інтенсивності утворення ВРС у лімфоцитах після ТО майже не відрізнялися від неопроміненого контролю. Водночас за низького вихідного рівня (до 10 мМ/тис. кл./год) ТО призводило до підвищення продукування ВРС у 1,84–2,34 раза, а при високому (вище 30 мМ/тис. кл./год) — до зниження їх продукування в 1,29–1,35 раза. Зміни продукції ВРС не мали дозозалежного характеру. При рівні утворення ВРС від 10 до 30 мМ/тис. кл./год ТО не впливало на середні значення цього показника. **Висновок:** показано, що рівень утворення ВРС у лімфоцитах залежить від статі та віку обстежених, а вплив ТО на цей показник залежить від вихідного рівня їх продукування. Отримані результати можуть слугувати підґрунтям для використання цього показника як маркера при оцінці індивідуальної небезпеки впливу іонізуючого випромінювання при професійній діяльності та проведенні променевої терапії.

АКТУАЛЬНІСТЬ

Дія іонізуючого випромінювання (ІВ) на організм людини викликає широкий спектр захворювань кровотворної системи, очей, шкіри та виникнення радіаційно асоційованих пухлин. Особливою проб-

лемою є віддалені стохастичні ефекти його впливу в малих дозах [1].

Проблема оцінки шкідливого впливу ІВ на нормальні клітини і тканини є важливою для осіб, що зазнають його дії у зв'язку з професійною діяльністю,

для онкологічних хворих при застосуванні променевої терапії та радіаційного забруднення довкілля.

У спеціалістів, що зазнають у результаті професійної діяльності впливу низьких доз ІВ, спостерігаються підвищені рівні пошкоджень ядерної ДНК (за методом визначення ДНК-комет), утворення мікроядер та виникнення хромосомних аберацій нестабільного типу [2, 3]. Поширеним для радіологів і медичних працівників, що працюють у сфері дії ІВ, є пошкодження очей в результаті дії низьких доз ІВ [4], також зафіксовано виникнення різних онкологічних захворювань, зокрема раку головного мозку [5]. Тому є необхідність контролю стану їх здоров'я для запобігання виникненню професійних захворювань [6]. При цьому проблема професійного раку без перебільшення є найбільш складною у професійній патології, що зумовлено мультифакторним характером цього захворювання [7].

Щорічно мільйони онкологічних хворих проходять променево терапію, але окрім позитивного впливу, пов'язаного з девіталізацією пухлинних клітин, спостерігаються побічні негативні ефекти у зв'язку з ураженням навколишніх нормальних тканин [8]. Побічні ефекти променевої терапії залишаються найскладнішою проблемою при лікуванні пацієнтів із раком підшлункової залози [9]. Радіаційно-індукована хвороба серця є одним із несприятливих побічних ефектів при проведенні променевої терапії злоякісних пухлин грудної залози, особливо при їх розміщенні з лівого боку [10], при цьому навіть використання високоточної променевої терапії при лікуванні подібних пухлин не дозволяє уникнути серцевої токсичності [11].

Основним раннім ефектом впливу ІВ на організм є продукція вільнорадикальних сполук (ВРС), перш за все — активних форм кисню (АФК). Особливості їх утворення можуть бути контрольним пунктом, що зумовлює виживаність клітин або їх пошкодження та апоптоз [11]. Рівні супероксидного аніон-радикала у крові працівників, що зазнали дії опромінення, були значно вищими порівняно з неопроміненим контролем. Зареєстровано дозозалежний зв'язок між рівнем утворення супероксидного аніон-радикала та змінами імунної системи у працівників, діяльність яких пов'язана із джерелами ІВ [5].

На лінії Т-клітин людини Jurkat показано, що γ -опромінення в дозі 2,5 Гр призводило як до різкого збільшення утворення АФК у клітинах, так і кількості мікроядер. Зниження частоти мікроядер за умов впливу екзогенного внесеного антиоксидантного ферменту каталази свідчить про вільнорадикальний механізм пошкоджень, викликаних дією ІВ [12]. Подібний ефект зареєстровано при застосуванні антиоксиданту N-ацетил-цистеїну та опроміненні стимульованої культури лімфоцитів крові пацієнтів із природженим дискератозом зі стресовим фенотипом, що характеризується підвищеним рівнем продукування АФК [13].

ІВ порушує вільнорадикальні процеси у тканинах і клітинах як за рахунок безпосереднього їх утворення при опроміненні, так і в результаті модифікації процесів ендogenous утворення цих сполук, впливаючи на функціонування ферментів окисно-відновної системи — циклооксигеназ, синтази оксиду азоту, ліпоксигеназ, NADPH-оксидази. Зауважимо, що таке хронічне утворення реактивних сполук може спостерігатися тривалий час, підвищуючи канцерогенний ризик [8]. При опроміненні в малих дозах наслідки опосередкованих змін утворення АФК є більш значущими, ніж ті, що викликані пошкодженням ДНК, внаслідок безпосереднього утворення реактивних сполук у процесі опромінення [14]. При цьому за низьких доз опромінення спостерігається утворення 8-оксо-2'-дезоксигуанозину — переважаючої форми вільнорадикального ушкодження ДНК [15]. Тому зміни утворення АФК і активних форм азоту після впливу радіації та можливі шляхи зменшення вираженості радіаційних ушкоджень в опромінених органах, тканинах і клітинах за рахунок модуляції їх метаболізму викликають значний інтерес [16].

Особливий інтерес для оцінки можливих негативних ефектів при проведенні променевої терапії становлять лімфоцити периферичної крові (ЛПК) у зв'язку з їх високою радіочутливістю та доступністю для проведення досліджень. Вони є найбільш радіочутливими клітинами людини та визнані біодозиметрами/біоіндикаторами опромінення [17, 18]. Одразу після опромінення Т-лімфоцитів у дозі 5 Гр спостерігалось надмірне утворення АФК, яке тривало декілька годин та супроводжувалося окисним пошкодженням ДНК. Причиною гіперчутливості Т-лімфоцитів є висока продукція АФК в їх мітохондріальній ДНК після опромінення [19].

Однак у більшості досліджень, присвячених можливості використання лімфоцитів для визначення індивідуальних негативних наслідків дії радіації як маркерів, використовують різні тести, завдяки яким визначають пошкодження ДНК, хромосом, виникнення мікроядер тощо. Показано, що наявна кореляція між частотою хромосомних аберацій в опромінених *in vitro* лімфоцитах та можливістю виникнення раку носоглотки і тяжкістю цього захворювання [20]; індивідуальна радіочутливість лімфоцитів при опроміненні *in vitro*, визначена за кількістю хромосомних делецій, може бути предиктором ризику виникнення гострих ефектів при променевої терапії раку грудної залози [21]; є зв'язок між ступенем реакцій нормальних тканин на опромінення та показниками мікроядерного та G_2 -хромосомного тестів лімфоцитів після *in vitro* опромінення крові [22]. Водночас використання подібних тестів не завжди ефективне [23], а дослідження щодо з'ясування можливості оцінювати променевої реакції за показниками окисно-відновного статусу — поодинокі [24].

Таким чином з'ясування характеру змін інтенсивності вільнорадикальних процесів у нормальних тканинах і клітинах — важливе для оцінки індивідуальної небезпеки внаслідок впливу ІВ, зокрема при проведенні променевої терапії.

Мета роботи — дослідити особливості продукції ВРС лімфоцитами людини після рентгенівського опромінення крові в системі *in vitro*. Обґрунтування використання зазначеного показника як додаткового маркера негативних наслідків впливу ІВ на організм людини.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведено на зразках периферичної крові умовно здорових донорів, від яких отримували інформовану згоду відповідно до принципів біоетики, що викладені в Гельсінській декларації Всесвітньої медичної асоціації. Обстежено кров 36 осіб віком від 18 до 69 років. Гендерний та віковий склад групи представлено у таблиці. Зразки периферичної крові збирали у стерильні пробірки Vacutainer об'ємом 6 мл із антикоагулянтом Li-гепарин, транспортували і зберігали при температурі 3–5 °С.

Таблиця

Гендерний та віковий склад обстеженої групи донорів та її розподіл за вихідним рівнем утворення ВРС у ЛПК

Показник		Група загалом	Жінки	Чоловіки
Кількість донорів		36	18	18
Вікові групи, років		18–69	39–69	18–58
Середній вік, років		37,4	40,9	33,8
Кількість донорів за віковими групами, років	18–30	10	4	6
	31–50	19	9	10
	51–69	7	5	2
Кількість донорів за вихідним рівнем продуктування ВРС у ЛПК, мМ/тис. кл./год	10≤	9	4	6
	<10–30≤	18	9	10
	>30	9	5	2

Рентгенівське тест-опромінення (ТО) зразків крові проводили на апараті РУМ-17 Національного інституту раку МОЗ України: напруга на трубіці — 180 кВ, струм — 10 мА, фільтр — 0,5 мм Cu + 1 мм Al, потужність дози — 0,55 Гр/хв. Дози опромінення — 0,5; 1,0; 2,0 та 3,0 Гр.

Виділення ЛПК проводили на ГІСТО-ПАК-1077 HYBRI-MAX згідно з інструкцією виробника (BioReagent) [25]. Після отримання клітин (суспензія в ізотонічному натрій-фосфатному буфері із рН 7,4 (PBS)) проводили підрахунок кількості життєздатних клітин, використовуючи суправітальне фарбування трипановим синім (Sigma) [26].

Для визначення інтенсивності продуктування ВРС у ЛПК використовували дихлоро-флуоресцеїндіацетат (DCFH-DA). Цей флуоресцентний барвник дає можливість оцінити загальний рівень утворення АФК і активних форм азоту та є показником розвитку окисного стресу в клітинах [27, 28]. Вимірювання флуоресценції проводили у 96-лункових чорних планшетах на рідері Sinergy HT (США) при 37 °С кожні 7,5 хв протягом 90 хв при $I_{ex} = 485$ нм та $I_{em} = 528$ нм. У лунки вносили 250 мкл PBS

із 100 тис. ЛПК + 50 мкл 300 мкМ DCFH-DA у збалансованому сольовому розчині. Для проведення підрахунків брали час вимірювань 30–90 хв та виражали отримані дані у мМ H₂O₂ на 1000 кл. за годину (мМ/тис. кл./год) згідно з калібрувальною кривою, де замість клітин у лунки додавали 250 мкл H₂O₂ у фінальних концентраціях 0; 0,42; 0,83; 1,67 та 3,33 мМ.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням програм «MS Excel» та «OriginPro 2015». Достовірні відмінності ($p \leq 0,05$) та відмінності на рівні тенденції ($p \leq 0,1$) визначали з використанням парного рангового критерію Wilcoxon, критерію Mann — Whitney, t-критерію Student та двофакторного дисперсійного аналізу [29].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Середній рівень продуктування ВРС в інтактних ЛПК становив 21,4 мМ/тис. кл./год, але при цьому спостерігалася значна індивідуальна варіабельність — від 1,6 до 64,3 мМ/тис. кл./год, коефіцієнт варіації 0,695. Останній практично не залежав від статі донорів, але у жінок середній рівень утворення ВРС був у 1,50 раза вищим ($p \leq 0,05$), ніж у чоловіків. Після ТО крові різниця між жінками та чоловіками за цим показником зберігалася (перевищення над чоловіками у 1,10–1,29 раза) у всьому вибраному діапазоні доз (рис. 1).

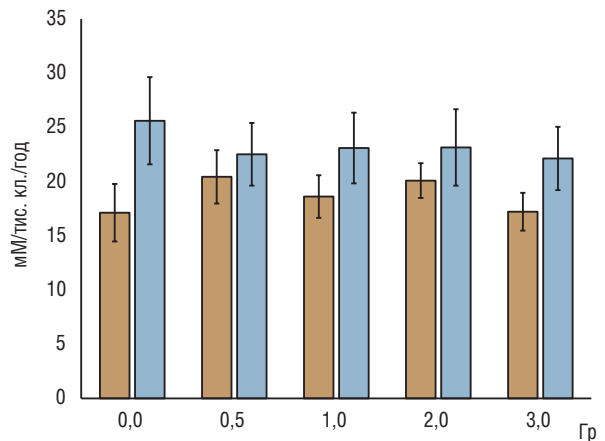


Рис. 1. Інтенсивність продуктування ВРС у ЛПК чоловіків та жінок до та після ТО крові: ■ — чоловіки; ■ — жінки

Проаналізовано особливості утворення ВРС у ЛПК залежно від віку донорів. Для цього когорту обстежених було розподілено на три вікові підгрупи — 18–30, 31–50 та 51–69 років. Встановлено, що інтенсивність продуктування ВРС у ЛПК із віком знижується (рис. 2). У донорів віком до 30 років їх продуктування було у 1,65 раза більшим, ніж у осіб віком 31–50 років та у 2,04 раза порівняно з донорами віком 51–69 років (достовірні відмінності, $p \leq 0,05$). Різниця між підгрупами віком 31–50 та 61–69 років була недостовірною, але середня інтенсивність продуктування ВРС у підгрупі похилого віку була у 1,23 раза нижчою. Така залежність зберігалась і після опромінення зразків крові. У осіб ві-

ком до 30 років продукування ВРС було достовірно більшим — $p \leq 0,05$ після опромінення в дозах 0,5 та 3,0 Гр та $p \leq 0,1$ — в дозах 1,0 та 2,0 Гр (див. рис. 2).

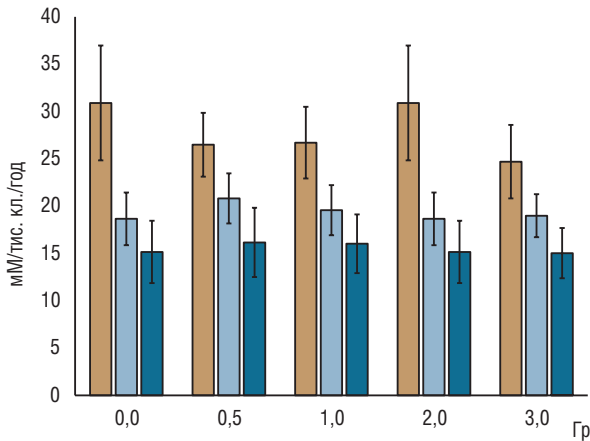


Рис. 2. Інтенсивність продукування ВРС у ЛПК до та після ТО крові залежно від їх віку: ■ — 18–30 років; ■ — 31–50 років; ■ — 51–69 років

Зазначимо, що середній вік обстежених донорів жінок становив 40,9 року, перевищуючи середній вік обстежених чоловіків на 7,2 року (у 1,21 раза). У зв'язку з цим та різною інтенсивністю утворення ВРС у ЛПК залежно від статі обстежених донорів було проаналізовано наявність різниці в інтенсивності продукування ВРС для чоловіків та жінок різних вікових груп. Різниця щодо досліджуваного показника між чоловіками та жінками спостерігалась як у цілому, так і для всіх вікових груп (рис. 3). Найбільша різниця (у 2,24 раза, $p \leq 0,05$) відзначена в групі донорів віком до 30 років, у яких середній рівень продукування ВРС був найвищим. Для вікових груп 31–50 та 51–59 років різниця між чоловіками та жінками була менш вираженою (відповідно у 1,50 і 1,72 раза) та недостовірною, що може бути пов'язано із нижчим рівнем продукції ВРС.

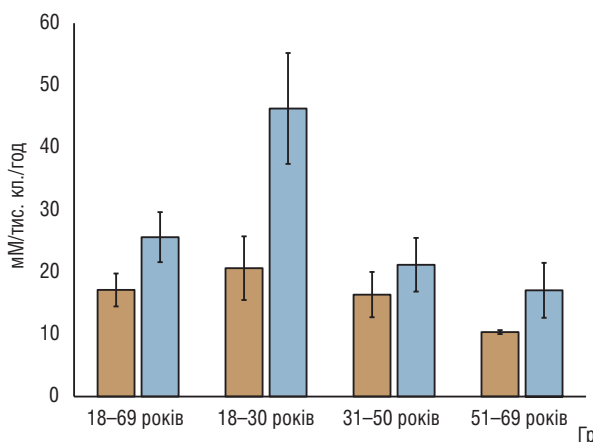


Рис. 3. Інтенсивність продукування ВРС у ЛПК залежно від віку та статі донорів: ■ — чоловіки; ■ — жінки

Середні показники інтенсивності утворення ВРС у лімфоцитах після проведення ТО крові майже не відрізнялися від неопроміненого контролю (рис. 4). Максимальне відхилення від контрольного рівня спостерігалось за опромінення в дозі 3,0 Гр —

зниження середнього рівня продукування ВРС на 7,9% ($p \leq 0,05$). Враховуючи значну варіацію цього показника у ЛПК інтактної крові окремих донорів, проаналізовано ефекти ТО залежно від вихідного рівня утворення ВРС. Виявлено різну променевою реакцію ЛПК залежно від величини цього показника (рис. 4). Для донорів із середнім рівнем утворення ВРС (від 10 до 30 мМ/тис. кл./год, 50% обстежених), як і для всієї когорти обстежених донорів, ТО достовірно не впливало на середні значення цього показника. Максимальне зростання інтенсивності утворення ВРС не перевищувало 12,9% (ТО в дозі 0,5 Гр), а зниження — 5,5% (ТО в дозі 3,0 Гр).

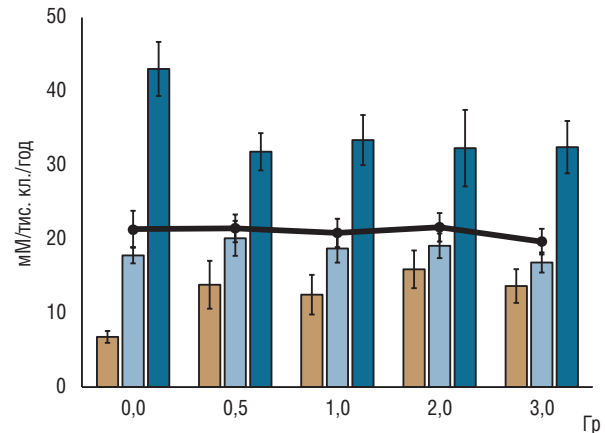


Рис. 4. Вплив ТО на інтенсивність продукування ВРС у ЛПК залежно від вихідного рівня їх продукування: ■ — $10 \leq$; ■ — $<10-30 \leq$; ■ — >30 ; —•— обстежена група загалом

В осіб із низьким та високим вихідним рівнем утворення ВРС у ЛПК спостерігали достовірні ($p \leq 0,05$) та протилежно спрямовані зміни після рентгенівського опромінення крові. За низького вихідного рівня (до 10 мМ/тис. кл./год, 25% обстежених) після ТО продукування ВРС зростало у 1,84–2,34 раза ($p \leq 0,05$) із максимальними змінами після опромінення у дозі 2 Гр. Водночас для вибраного в дослідженні діапазону доз їх зростання не призводило до відповідного збільшення продукції ВРС. Зазначимо, що продукування ВРС після ТО в дозі 2,0 Гр було достовірно більшим (у 1,27 раза, $p \leq 0,05$) порівняно з таким при дозі 1 Гр.

При високому вихідному рівні продукування ВРС у ЛПК (від 30 до 65 мМ/тис. кл./год, 25% обстежених) ТО крові призводило до достовірного ($p \leq 0,05$) зниження інтенсивності їх утворення в 1,29–1,35 раза. Як і в разі низького вихідного рівня продукції ВРС зміни після проведення ТО не мали дозалежного характеру. Слід зазначити, що після ТО крові середні показники інтенсивності продукування ВРС при його високому вихідному рівні залишалися вищими, ніж при низькому, хоча різниця зменшилась із 6,33 раза до 2,03–2,67 раза. Водночас мінімальні рівні утворення ВРС у ЛПК після ТО крові донорів із високим вихідним рівнем їх продукції були нижчими, ніж максимальні при низько-

му, у 1,10–2,49 разів із найбільшою різницею у разі опромінення в дозі 2,0 Гр.

Таким чином, у проведеному дослідженні встановлено, що інтенсивність змін продукування ВРС у лімфоцитах у відповідь на опромінення периферичної крові залежить від статі та віку обстежених осіб, а також вихідного рівня їх продукції. За отриманими результатами найбільші зміни цього параметру при дії радіації слід очікувати для жінок віком 18–30 років. При проведенні подальших досліджень та порівнянні отриманих даних слід прийняти до уваги те, що відповідь на ТО значною мірою залежить від умов проведення модельних експериментів [30, 31] та використаних джерел ІВ [32]. Результат дослідження є підґрунтям для подальшого послідовного визначення доцільності використання рівнів продукування ВРС у лімфоцитах як маркера ушкоджень немалігнізованих клітин і тканин, що потрапляють у зону терапевтичного опромінення. Це, у свою чергу, дасть можливість прогнозувати виникнення променевих ускладнень, що виникають у віддалені строки після променевої терапії.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що інтенсивність продукування ВРС у лімфоцитах крові пов'язана зі статтю та віком. Вона знижується з віком та вища у жінок, ніж у чоловіків.

2. Показано, що зміни інтенсивності утворення ВРС у лімфоцитах у відповідь на рентгенівське опромінення крові залежать від вихідного рівня їх продукування — у разі низького продукція ВРС зростає, високого, навпаки, знижується, а за середнього — зміни не мають односпрямованого характеру.

3. Не виявлено залежності між дозою опромінення крові та подальшими змінами інтенсивності продукції ВРС у лімфоцитах у діапазоні доз 0,5–3,0 Гр.

4. Отримані результати можуть слугувати підґрунтям для використання продукції ВРС у лімфоцитах крові як додаткового біомаркера для оцінки індивідуальної небезпеки впливу ІВ на організм людини.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Wilczyńska U, Szeszenia-Dabrowska N. Occupational diseases caused by ionizing radiation in Poland, 1971–2006. *Med Pr* 2008; **59** (1): 1–8 (in Polish).
2. Djokovic-Davidovic J, Milovanovic A, Milovanovic J, et al. Analysis of chromosomal aberrations frequency, haematological parameters and received doses by nuclear medicine professionals. *J BUON* 2016; **21** (5): 1307–15.
3. Gerić M, Popić J, Gajski G, et al. Cytogenetic status of interventional radiology unit workers occupationally exposed to low-dose ionising radiation: A pilot study. *Mutat Res* 2019; **843**: 46–51.
4. Loganovsky KN, Marazziti D, Fedirko PA, et al. Radiation-Induced Cerebro-Ophthalmic Effects in Humans. *Life (Basel)* 2020; **10** (4): 41.
5. Ahmad IM, Abdalla MY, Moore TA, et al. Healthcare Workers Occupationally Exposed to Ionizing Radiation Exhibit Altered Levels of Inflammatory Cytokines and Redox Parameters. *Antioxidants (Basel)* 2019; **8** (1): 12.

6. Domina EA. Evaluation of the effect of professional irradiation on cytogenetic parameters of peripheral blood lymphocytes. *Dopov Nac akad nauk Ukr* 2018; **10**: 112–9 (in Russian).

7. Domina EA. Radiogenic cancer: epidemiology and primary prevention. Kiev: Naukova Dumka, 2016. 195 p. (in Russian).

8. Yahyapour R, Motevaseli E, Rezaeyan A, et al. Reduction-oxidation (redox) system in radiation-induced normal tissue injury: molecular mechanisms and implications in radiation therapeutics. *Clin Transl Oncol* 2018; **20** (8): 975–88.

9. Wason MS, Lu H, Yu L, et al. Cerium Oxide Nanoparticles Sensitize Pancreatic Cancer to Radiation Therapy through Oxidative Activation of the JNK Apoptotic Pathway. *Cancers (Basel)* 2018; **10** (9): 303.

10. Ping Z, Peng Y, Lang H, et al. Oxidative Stress in Radiation-Induced Cardiotoxicity. *Review Oxid Med Cell Longev* 2020; **V**. 2020, Art. ID 3579143, 15 p.

11. Franco A, Ciccarelli M, Sorriento D, et al. Rays Sting: The Acute Cellular Effects of Ionizing Radiation Exposure. *Transl Med UniSa* 2016; **14** (8): 42–53.

12. Choi KM, Kang CM, Cho ES, et al. Ionizing radiation-induced micronucleus formation is mediated by reactive oxygen species that are produced in a manner dependent on mitochondria, Nox1, and JNK. *Oncol Rep* 2007; **17** (5): 1183–8.

13. Pereboeva L, Westin E, Patel T, et al. DNA damage responses and oxidative stress in dyskeratosis congenital. *PLoS One* 2013; **8** (10): e76473.

14. Kawamura K, Qi F, Kobayashi J. Potential relationship between the biological effects of low-dose irradiation and mitochondrial ROS production. *J Radiat Res* 2018; **59** (Suppl. 2): ii91–ii97.

15. Sangsuwan T, Haghdoost S. The nucleotide pool, a target for low-dose gamma-ray-induced oxidative stress. *Radiat Res* 2008; **170** (6): 776–83.

16. Farhood B, Ashrafizadeh M, Khodamoradi E, et al. Targeting of cellular redox metabolism for mitigation of radiation injury. *Life Sci* 2020; **250**: 117570.

17. Domina EA. Radiogenic cancer: Epidemiology and primary prevention. Kiev: Naukova Dumka, 2016. 196 p. (in Russian).

18. Grinevich YuA, Domina EA. Immune and cytogenetic effects of dense and rarely ionizing radiation. Kiev: Zdorov'ya, 2006. 200 p. (in Russian).

19. Ogawa Y, Kobayashi T, Nishioka A, et al. Radiation-induced reactive oxygen species formation prior to oxidative DNA damage in human peripheral T cells. *Int J Mol Med* 2003; **11** (2): 149–52.

20. Tang Y, Zhang Y, Guo L, et al. Relationship between individual radiosensitivity and radiation encephalopathy of nasopharyngeal carcinoma after radiotherapy. *Strahlenther Onkol* 2008; **184** (10): 510–4.

21. Borgmann K, Hoeller U, Nowack S, et al. Individual radiosensitivity measured with lymphocytes may predict the risk of acute reaction after radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; **71** (1): 256–64.

22. Guogytė K, Plieskienė A, Ladygienė R, et al. Assessment of Correlation between Chromosomal Radiosensitivity of Peripheral Blood Lymphocytes after *In vitro* Irradiation and Normal Tissue Side Effects for Cancer Patients Undergoing Radiotherapy. *Genome Integr* 2017; **8**: 1.

23. Adamczyk A, Biesaga B, Klimek M, et al. Comet assay is not useful to predict normal tissue response after radiochemotherapy in cervical and larynx cancer patients *Pol J Pathol* 2018; **69** (4): 410–21.

24. Pajic J, Rovcanin B, Kekic D, et al. The influence of redox status on inter-individual variability in the response of human peripheral blood lymphocytes to ionizing radiation. *Int J Radiat Biol* 2018; **94** (6): 569–75.

25. Product Information Histopaque®-1077 Hybri-Max™ (H8889) (https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/2/h8889pis.pdf).

26. Bokunyaeva NI, Zolotnitskaya RP. Handbook of clinical laboratory research methods. Moscow: Meditsina, 1975. 338 p. (in Russian).

27. Yao K, Wu W, Wang K, *et al.* Electromagnetic noise inhibits radiofrequency radiation-induced DNA damage and reactive oxygen species increase in human lens epithelial cells. *Mol Vis* 2008; **19** (14): 964–9.

28. Tarpey MM, Wink DA, Grisham MB. Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: *in vitro* and *in vivo* considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; **286**: R431–44.

29. Lakin GF. Biometry. Moscow: Vyschaya Shkola, 1990. 352 p. (in Russian).

30. Song Y, Xie L, Lee Y, *et al.* Integrative assessment of low-dose gamma radiation effects on *Daphnia magna* reproduction: Toxicity pathway assembly and AOP development. *Sci Total Environ* 2020; **705**: 135912.

31. Gomes T, Song Y, Brede DA, *et al.* Gamma radiation induces dose-dependent oxidative stress and transcriptional alterations in the freshwater crustacean *daphnia magna*. *Sci. Total Environ* 2018; (628–629): 206–16.

32. Hoeller U, Borgmann K, Bonacker M, *et al.* Individual radiosensitivity measured with lymphocytes may be used to predict the risk of fibrosis after radiotherapy for breast cancer. *Radiother Oncol* 2003; **69** (2): 137–44.

THE PECULIARITIES OF THE PRODUCTION OF FREE RADICAL COMPOUNDS BY PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES AND INTENSITY OF THEIR FORMATION AFTER X-RAY EXPOSURE

O.A. Glavin, E.A. Domina

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Summary. *The problem of assessing the negative effects of ionizing radiation on normal cells and tissues is important for those who are exposed to it due to their profession, cancer patients during chemotherapy and people in radiation-contaminated areas. Its action is mainly realized owing to the direct formation of free radical compounds and indirectly as a result of changes in the intensity of free radical processes in tissues and cells. Aim: to examine in vitro the features of free radical compounds (FRC) production by human lymphocytes of X-ray irradiated blood; to substantiate the use of this indicator as an additional marker for the negative effects of ionizing radiation exposure on humans. Object and methods: in the study, 36 peripheral blood samples from apparently healthy individuals — 18 women aged 39–69 years and 18 men aged 18–58 years — were used.*

Test X-ray irradiation of blood (TI) was carried out at a dose of 0.5; 1.0; 2.0 and 3.0 Gy. The total intensity of FRC production in peripheral blood lymphocytes was determined with dichloro-fluorescein diacetate fluorescent probe and converted to mmol H₂O₂ per thousand cells per hour (mmol/thousand cells/hour). Results: in intact lymphocytes, the mean level of FRC production was 21.4 mmol/thousand cells/h and varies from 1.6 to 64.3 mmol/thousand cells/h. The level of FRC production was 1.5 times higher for females than for males. Furthermore, the intensity of FRC production in lymphocytes depended on the age of donors: in the 18–30 years age group it was 1.7 and 2.0 times significantly higher than, respectively, in the 31–50 and 51–69 age groups. After TI, this difference remained despite the dose used. The mean values of FRC production intensity in lymphocytes after TI did not differ from the non-irradiated control. At the same time, when the baseline of FRC production was low (up to 10 mmol/thousand cells/h) TI led to the increase in FRC production by 1.84–2.34 times; when the initial level was high (30 mmol/thousand cells/h and above) TI decreased FRC formation by 1.29–1.35 times. These changes in FRC production were not dose-dependent. At the level of FRC formation from 10 to 30 mmol/thousand cells/h TI did not affect the mean values of this indicator. Conclusions: it is shown that the level of FRC formation in lymphocytes depends on sex and age of the examined people, and the influence of TI on this indicator depends on the initial level of FRC production. The obtained results can provide a basis for the application of FRC formation as a marker in assessing the individual risk of the adverse impact of ionizing radiation exposure in profession activity and radiation therapy.

Key Words: peripheral blood, lymphocytes, ionizing radiation, free radical compounds.

Адреса для листування:

Главін О.А.

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

вул. Васильківська, 45, Київ, 03022

Email: veterok61@ukr.net

Одержано: 20.09.2020