ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2013. Вип. 18.

УДК:575.116.4:616.15:616.41:616-001.28

Ж. М. Мінченко[1], І. С. Дягіль[1], О. О. Дмитренко[1], І. В. Дмитренко[1]✉, Т. Ю. Шляхтіченко[1], Т. І. Гавриленко[2], Д. О. Білий[1], В. І. Хоменко[3], В. Г. Бебешко[1]

[1]Державна установа "Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України", вул. Мельникова, 53, м. Київ, 04050, Україна
[2]ДУ ННЦ "Інститут кардіології ім. акад. М. Д. Стражеска" НАМН України, м. Київ
[3]Київський центр трансплантації кісткового мозку, м. Київ

ЗНАЧЕННЯ ГЕНЕТИЧНИХ МАРКЕРІВ РАДІОЧУТЛИВОСТІ І РАДІОРЕЗИСТЕНТНОСТІ В ФОРМУВАННІ ОНКОГЕМАТОЛОГІЧНОЇ ТА СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ ПАТОЛОГІЇ У ОПРОМІНЕНИХ ПІСЛЯ ЧОРНОБИЛЬСЬКОЇ АВАРІЇ

Мета роботи полягала у вивченні внеску імуногенетичної компоненти в формування пострадіаційних ефектів у віддаленому періоді після опромінення на рівні імунного реагування організму людини, як прогностичного критерію оцінки ризику реалізації радіаційно-асоційованої соматичної патології.

Об'єктом дослідження були реконвалесценти гострої променевої хвороби (ГПХ) I ступеня тяжкості і 88 пацієнтів з аналогічним радіаційним анамнезом, але з непідтвердженим діагнозом ГПХ, 73 пацієнти, які мають статус учасників ліквідації наслідків Чорнобильської катастрофи (УЛНЧК) з хронічною ішемічною хворобою серця (ХІХС), 65 пацієнтів – УЛНЧК без ХІХС, 120 неопромінених пацієнтів з ХІХС. Пацієнти з онкогематологічною патологією – 256 осіб. 500 практично здорових осіб – популяційний контроль.

Результати. На основі вивчення спектру імунологічних, гематологічних та молекулярно-генетичних порушень у співвідношенні з імуногенетичними чинниками визначені маркери ризику реалізації генетичної схильності до онкогематологічної та серцево-судинної патології у зазначених контингентів.

Висновки. Отримані дані свідчать про те, що одним із механізмів формування радіаційно-асоційованої мультифакторіальної патології, є реалізація HLA-генетичної схильності до захворювання, як на рівні розладів у гемопоезі та імунопоезі, так і на рівні захворювання в цілому, а носійство в фено/генотипі маркерів радіочутливості підвищує ризик реалізації патологічного процесу в умовах опромінення.

Ключові слова: генетичні маркери, радіочутливість, радіорезистентність, мультифакторіальна патологія, гостра променева хвороба, імунопатологічні реакції, асоціативний зв'язок.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2013. Вип. 18. С. 220–231.

J. M. Minchenko[1], I. S. Dyagil[1], O. O. Dmytrenko[1], I. V. Dmytrenko[1]✉, T. Y. Shlaykhtychenko[1], T. I. Gavrylenko[2], D. O. Biliy[1], V. I. Khomenko[3], V. G.Bebeshko[1]

[1]State Institution "National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Melnykov str., 53, Kyiv, 04050, Ukraine
[2]SE NSC "Acad. N.D.Strazhesko Institute of Cardiology" NAMS of Ukraine, Kyiv, Ukraine
[3]Kyiv Bone Marrow Transplantation Center, Kyiv, Ukraine

Role of radiosensitivity and radioresistance genetic markers in hematological and cardiovascular disease in persons exposed after the Chornobyl accident

The **objective** was to study the immunogenetic component contribution to the formation of post-radiation effects in the long-term period after radiation exposure at the level of the human immune response as a prognostic criterion for risk assessment of radiation-associated somatic diseases.

✉ Дмитренко Ірина Віталіївна, e-mail: irdmitr@mail.ru
© Мінченко Ж. М., Дягіль І. С., Дмитренко О. О., Дмитренко І. В., Шляхтіченко Т. Ю., Гавриленко Т. І., Білий Д. О., Хоменко В. І., Бебешко В. Г., 2013

Study **object** was the convalescents of acute radiation syndrome (ARS) of the first grade of severity, 88 patients with a similar radiation history but with unconfirmed ARS, 73 patients being the liquidators of the Chornobyl accident consequences (LCAC) with chronic ischemic heart disease (HIHD), 65 patients LCAC without HIHD, 120 non-exposed patients with HIHD, 256 patients with oncohematological diseases and 500 healthy people – a population control.

Results. Markers of risk of realization of genetic predisposition to oncohematological and cardiovascular disease in these groups were identified on the basis of study of immunological, hematological and molecular genetic disorders in relation to immunogenetic factors.

Conclusion. These data indicate that realization of HLA-genetic predisposition to the disease is one of the radiation associated multifactorial pathology pathways, and presence of radiosensitivity markers in pheno/genotype enhances the realization risk of pathological process under irradiation.

Key words: genetic markers, radiosensitivity, radioresistance, multifactorial disorders, acute radiation sickness, immunopathological reactions, associative relation.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2013;18:220–231.

Згідно з даними ретроспективної оцінки наслідків дії гострого і довготривалого опромінення у віддаленому періоді спостерігається зменшення частки здорових осіб з числа постраждалих і зростання захворюваності на онкогематологічну та серцево-судинну патології в різні терміни після опромінення. Світові здобутки останніх років в галузі медичної генетики свідчать, що онкогематологічні, серцево-судинні хвороби відносяться до класу мультифакторіальних захворювань, формування і реалізація яких в значній мірі пов'язані не тільки з впливом екзогенних, ендогенних чинників [1, 2], з молекулярно-генетичними порушеннями у геномі, а й з генетичною схильністю особи до самого захворювання. Визначення внеску кожного фактора в реалізацію зазначених захворювань має вкрай важливе значення для розрахунку ризиків розвитку патології і прогнозування її перебігу.

According to retrospective assessment of the effects of acute and long-term radiation exposure, the reduced proportion of healthy people among the exposed group and increased number of oncohematology and cardiovascular diseases is observed in different periods after irradiation. Global achievements of recent years in the field of medical genetics indicate that oncohematological and cardiovascular diseases belong to the class of multifactorial diseases. They are caused not only by multiple exogenous and endogenous factors and molecular-genetic abnormalities in the genome, but are also influenced by personal genetic predisposition to the disease [1, 2]. Determination the contribution of each factor in the implementation of these diseases is important to calculate the risk of the disorders development and predict their course.

МЕТА РОБОТИ

Вивчення внеску імуногенетичної компоненти в формування пострадіаційних ефектів у віддаленому періоді після опромінення на рівні імунного реагування організму людини, як прогностичний критерій оцінки ризику реалізації радіаційно-асоційованої соматичної патології.

STUDY OBJECTIVE

To study the contribution of immunogenetic component to the formation of post-radiation effects in the long-term period after radiation exposure at the level of the human immune response as a prognostic criterion for the risk assessment of realization of radiation associated somatic diseases.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктом дослідження були 65 реконвалесцентів гострої променевої хвороби (ГПХ) I ступеня тяжкості і 88 пацієнтів з аналогічним радіаційним анамнезом, але з непідтвердженим діагнозом ГПХ; 120 пацієнтів з хронічною ішемічною хворобою серця (ХІХС), які не мали контакту з джерелами іонізуючого випромінення.; 73 пацієнти, які мають статус учасників ліквідації наслідків Чорнобильської катастрофи (УЛНЧК), 65 пацієнтів – УЛНЧК без ХІХС. Пацієнти з онкогематологічною патологією: мно-

MATERIALS AND METHODS

The 65 convalescents of acute radiation syndrome (ARS) of the first grade of severity, 88 patients with a similar history of irradiation, but with unconfirmed ARS, 120 patients with chronic ischemic heart disease (CIHD), 73 patients who have the status of the liquidators of the consequences of Chornobyl accident (LCCA), 65 patients (LCCA) without CIHD werew the study subjects. The oncohematological diseases were: multiple myeloma (MM) – 54 patients, chronic lymphoid

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2013. Вип. 18.

жинна мієлома (ММ) – 54 особи, хронічна лімфоїдна лейкемія (ХЛЛ) – 58 осіб, гостра лімфоїдна лейкемія (ГЛЛ) – 48 осіб, гостра мієлоїдна лейкемія (ГМЛ) – 63 особи, мієлодиспластичний синдром (МДС) – 33. 500 практично здорових осіб – популяційний контроль (Центрально-Українська геногеографічна зона).

В якості екзогенного негативного чинника обрано радіаційне опромінення в діапазоні доз 0,75-2,0 Гр, а порушення в імунному гомеостазі хворих розглядались як ендогенний чинник. Генетична схильність до зазначених захворювань оцінювалась за результатами досліджень поліморфізму головного комплексу гістосумісності [3]. Значення дози опромінення у більшості обстежених визначалося за приписними даними, у деяких з них є підтвердженими методами біодозиметрії [4]. Молекулярно-генетичні дослідження опромінених осіб, хворих на гострі лейкемії, включали визначення порушень каріотипу, експресії химерних генів, клональні перебудови генів імуноглобулінів та порушення в мікросателітній ДНК (локуси D9S171 та D12S98).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Для вирішення нами були поставлені наступні питання.

1) чи існують імуногенетичні механізми реалізації генетичної схильності відносно конкретних екзогенних чинників?

2) яка ступінь участі імунологічної та імуногенетичної компонент у формуванні радіаційно-асоційованих і мультифакторіальних захворювань?

3) яка доля внеску імуногенетичних маркерів радіочутливості в ризик реалізації генетичної схильності до мультифакторіальної патології в умовах опромінення?

Чому в якості ендогенного фактора ми обрали порушення в імунному гомеостазі? Відомо, що при дії радіаційного випромінювання найчастіше реалізуються ті захворювання, при яких з одного боку реєструються складні імунологічні порушення в зв'язку з тим, що клітини імунної системи є високочутливими до впливу іонізуючого випромінювання, з другого – кістковий мозок, у якому локалізовані стовбурові клітини і попередники імунокомпетентних клітин, є місцем первинної відповіді на дію радіаційного чинника [5, 6]. Відомо також, що саме імуногенетична компонента відповідає за генетичний контроль імунного гомеостазу для утримання нормального імунопоезу організму людини. Система HLA (human leukocyte antigens), головний комплекс гістосумісності людини забезпечує регуляцію імунної

leukemia (CLL) – 58 patients, acute lymphoid leukemia (ALL) – 48 patients, acute myeloid leukemia (AML) – 63 patients, myelodysplastic syndrome (MDS) – 33 patients. 150 healthy people presented a population control (Central Ukranian genegeographic zone).

Radiation exposure in the dose range of 0.75–2.0 Gy was chosen as an exogenous negative risk factor, the disturbances in immune homeostasis was considered an endogenous factor. Evaluation of genetic susceptibility to these diseases was based on the study of the major histocompatibility complex polymorphism [3]. The value of radiation exposure dose in most patients was determined by pre-conscription data, some doses were confirmed by biodosimetry methods [4]. Molecular-genetic examination of exposed patients with acute leukemia included karyotyping, evaluation of the fusion genes expression, clonal changes in immunoglobulin genes and disturbances in microsatellite DNA (loci D9S171 and D12S98).

RESULTS AND DISCUSSION

The following questions were stated to receive the solution:

1) do the immunogenetic mechanisms of genetic susceptibility realization exist in relation to specific exogenous factors?

2) what is the involvement rate of immunological and immunogenetic components in the formation of radioassociated and multifactorial diseases?

3) what is the contribution of immunogenetic markers of radiosensitivity to the risk of genetic susceptibility to multifactorial diseases under irradiation?

Why the disturbances in immune homeostasis were chosen as an endogenous factor? It is known that under radiation exposure most often occur the diseases that are accompanied by complex immunological disorders due to the fact that immune cells are highly sensitive to ionizing radiation. On the other hand, the bone marrow with localized stem cells and precursor immune cells is the site of the primary response to the radiation [5, 6]. We also know that the immunogenetic component is responsible for the genetic control of immune homeostasis to maintain normal immunopoiesis. HLA (human leukocyte antigenes) system, the major histocompatibility complex provide regulation of the immune response by interaction of all immunocompetent cells

відповіді організму на рівні взаємодії всіх імунокомпетентних клітин, шляхом розпізнавання своїх (в тому числі змінених своїх) і сторонніх клітин, ініціації та реалізації імунної відповіді, що забезпечує виживання людини на рівні індивіду і популяції в цілому в умовах дії негативних екзогенних і ендогенних чинників [7]. Антигени HLA класу I присутні на поверхні всіх ядровмісних клітин і тромбоцитів і необхідні для розпізнавання трансформованих клітин цитотоксичними Т-лімфоцитами. Але вони мають і іншу функцію, а саме забезпечення взаємодії між всіма іншими ядровмісними клітинами (навіть на рівні взаємодії нейрон – синапс), що зокрема забезпечує цілісне функціонування імунного гомеостазу і організму як біологічної системи в цілому [8]. Важливішою імунологічною функцією антигенів HLA класу II є забезпечення взаємодії між Т-лімфоцитами і макрофагами в процесі імунної відповіді. Т-хелпери розпізнають сторонній антиген лише після його опрацювання макрофагами, поєднання з антигенами HLA другого класу і презентації цього комплексу на поверхні макрофага. Гени головного комплексу гістосумісності поряд з генетичним контролем специфічної імунної відповіді обумовлюють генетичний контроль "якості імунної відповіді" на рівні асоційованості конкретних специфічностей алелей системи HLA з активністю різних субпопуляцій імунокомпетентних клітин. Вважається, що дана функція є вторинною і реалізується у випадках, коли людина спроможна відповідати на даний агент. На основі популяційних досліджень були визначені HLA-генотипи, які забезпечують резистентність особи до інфекційних збудників (HLA-A1, -B8, -DR3). Враховуючи факт асоціативного зв'язку резистентності до цілого спектру інфекційних збудників з одним і тим же гаплотипом, можна припустити, що дані асоціації HLA можуть бути пов'язані не тільки з самою генетично обумовленою відповіддю на конкретний інфекційний агент, але й з ланками імунної відповіді, які беруть участь в її реалізації. У світовій літературі вже представлені нечисленні дані стосовно асоціативного зв'язку (позитивного і негативного) з конкретними показниками імунної системи, зокрема з кількістю і функціональною активністю імунокомпетентних клітин $CD4^+$, $CD8^+$, ЕКК, фагоцитуючої функції нейтрофілів [8].

Попередні наші дослідження (1987–1990) в цьому напрямку свідчать, що індивідуальна чутливість організму людини до радіаційного опромінення є генетично детермінованою на рівні генетичних систем крові, перш за все системи HLA. На моделі кістковомозкового синдрому реконвалесцентів ГПХ I ступе-

through recognition of own (including modified own) and alien cells, immune response initiation and realization, that porvide human survival at the individual and the population level under exposure to negative exogenous and endogenous factors [7]. HLA I class antigenes are present on the surface of all nuclear cells and platelets. These antigenes are required for recognition of transformed cells by cytotoxic T-lymphocytes. Furthermore, they have another function – they ensure interaction between all other nuclear cells (even between neurons by the synapses), which provides the integrity of immune homeostasis and functioning of organism as a biological system [8]. The most important immunological function of HLA II class antigenes is to provide interaction between T-lymphocites and macrophages during the immune response. T-helpers recognize foreign antigene only after processing by macrophages, combination with HLA antigenes of the second class and presentation of this complex on the macrophage surface. Genes of major histocompatibility complex besides the genetic control of specific immune response cause genetic control of "immune response quality" at the level of assotiation of allele specificity of HLA system with activity of the various immune cell subpopulations. It is believed that this function is secondary and proceeds when a person is able to respond to this agent. HLA-genotypes that provide resistance to infectious agents (HLA-A1,- B8, -DR3) were identified during the population study. Taking in account the fact of associative relation between resistance to a variety of infectious agents and the same haplotype, it can be assumed that these HLA associations may be related not only to the genetically determined response to specific infectious agents, but also to those stages of the immune response which take part in its implementation. There are few data about the associative relation (positive and negative) with specific parameters of the immune system, including the number and functional activity of immunocompetent cells $CD4^+$, $CD8^+$, NK cells, and phagocytic function of neutrophilic granulocytes. [8].

Our previous study (1987–1990) in this area suggests that the human individual sensitivity to radiation exposure is genetically determined at the level of genetic blood systems, especially HLA system. Immunogenetic markers of human radiosensitivity and radioresistance were defined on the

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2013. Вип. 18.

ня були визначені маркери підвищеної радіочутливості організму. До них віднесені HLA-A10; HLA-A28; HLA-B38; HLA-B35; HLA-DR3, HLA-DR4, а також гомозиготність за фенотипом Hp2-2 (система гаптоглобінів) [9]. Специфічності HLA-B15; HLA-DR2; віднесені до маркерів з протективною функцією. Оскільки в наш час для гістотипування використовуються не серологічні, а молекулярно-генетичні методи, ми провели повторне гістотипування досліджених осіб, що дозволило ідентифікувати маркери радіочутливості і схильності до мультифакторіальної патології як на рівні антигенної специфічності, так і на рівні специфічності алельних генів.

При зіставленні отриманих результатів зі світовими даними відносно HLA асоціацій із захворюваннями визначали у переважної більшості опромінених осіб – реконвалесцентів ГПХ (88%) у фенотипах антигени, які є відповідальними за схильність до гематологічних захворювань. До таких відноситься антиген А2, який вірогідно частіше ідентифікується у хворих на гіпопластичну анемію та хронічну мієлоїдну лейкемію, антигени HLA-B5 и HLA-B35, асоційовані з хронічною лімфоїдною лейкемією, антиген HLA-B8 – з мієлобластною формою гострої лейкемії [10, 11]. Тому одним з аспектів нашої роботи було динамічне вивчення у опромінених осіб параметрів гемопоезу. Встановлено, що у визначенні розбіжностей між опроміненим та неопроміненим організмом до характерних віднесені окремі параметри гемопоезу: загальна кількість лейкоцитів, лімфоцитів та субпопуляційний склад імунокомпетентних клітин.

Встановлено, що у пацієнтів з ГПХ 0 ступеня через 6-8 місяців (перший період) після факту опромінення характерним є достовірне зниження відносного числа лейкоцитів, лімфоцитів та моноцитів. У подальшому, через 5–6 років (другий період) і через 12–14 років (третій період) в даних групах зберігаються ті ж значення лейкоцитів, лімфоцитів та моноцитів. У переважної більшості пацієнтів із ГПХ I і II ступеня також мали місце аналогічні зрушення зазначених показників крові. Дослідження поліморфізму HLA системи показало вірогідно підвищену частоту зустрічаємості антигенів HLA-A10 (24,7% проти 9,8% RR-12,5); HLA-Cw1 (22,2 % проти 7,6%, RR=3,5) в групі реконвалесцентів ГПХ зі зниженою кількістю лімфоцитів, що дає підґрунтя віднести дані специфічності до маркерів-предикторів ризику виникнення лейкопеній.

Частота зустрічаємості антигена HLA-B8 та значення коефіцієнта асоціації (3,7% проти 19,5%.

model of bone marrow syndrome in ARS grade I convalescents. These markers included HLA-A10, HLA-A28, HLA-B38, HLA-B35, HLA-DR3, HLA-DR4, and homozygosis for the Hp2-2 phenotype (haptoglobins system) [9]. Specificities HLA-B15 and HLA-DR2 are markers with protective function. Since nowadays the molecular-genetic techniques are used in histotyping rather than serological ones, we re-typed same patients. It allowed us to identify markers of radiosensitivity and predisposition to multifactorial pathology not only at the level of antigene specificity, but also at the level of specificity of allelic genes.

When the results were compared with worldwide data regarding HLA associations with diseases, it was determined that in the vast majority of exposed individuals – ARS convalescents (88%) – the antigenes that are responsible for predisposition to hematological diseases were present in phenotypes. These antigenes included antigene A2, which is more likely to be identified in patients with hypoplastic anemia and chronic myeloid leukemia, antigenes HLA-B5 and HLA-B35 associated with chronic lymphoid leukemia, and antigene HLA-B8 associated with a acute myeloid leukemia [10, 11]. Therefore, one aspect of our work was the runtime study of hematopoietic parameters in exposed persons. It was found that certain hematopoietic parameters are different in irradiated and non-irradiated organism. These parameters include the total number of leukocytes, lymphocytes and subpopulations of immunocompetent cells.

It was revealed that for patients with ARS grade 0 a significant reduction in the directed number of leukocytes, lymphocytes and monocytes is fairly typical at the point of 6–8 months (first period) after the radiation exposure. Later, after 5–6 years (second period) and 12–14 years (third period) the same values of leukocytes, lymphocytes and monocytes are kept in the same group. Among most of patients with ARS grade I and II the similar alterations in these blood parameters were observed. Study of HLA system polymorphism showed a significantly increased antigenes HLA-A10 frequency (24.7% vs. 9.8% RR-12. 5); HLA-Cw1 (22.2% vs. 7.6%, RR = 3.5) in ARS convalescents with reduced number of lymphocytes. This fact allows to attributr these specificities to the marker-predictors of leukocytopenia risk.

Frequency of the HLA-B8 antigene and the coefficient of association (3.7% vs 19.5%. RR = 0.3) in

RR=0,3) в дослідженій групі осіб свічить про протективні функції даної специфічності.

У реконвалесцентів ГПХ, в яких встановлена онкогематологічна патологія через 7–9–12 років після опромінення, в усіх випадках у фенотипі хворих поряд з антигенами, асоційованими саме з захворюванням, ідентифіковані маркери підвищеної радіочутливості організму.

Наводимо приклад. Хворий Ш. Фенотип за системою HLA-A3,11; B17,38; Cw2,3; DR1,4. У фенотипі присутнє гаплотипове сполучення антигенів радіочутливості HLA-B38; Cw3; DR4. У хворого в подальшому розвинулася гостра мієлобластна лейкемія, про схильність до якої вказували позитивні асоціативні зв'язки, а також про певний внесок імуногенетичної компоненти ще на рівні розладів в гемота імунопоезі при іонізуючому опроміненні. Визначення імуногенетичного паспорту хворих на онкогематологічну патологію дозволило віднести присутність в HLA-генотипі специфічностей HLA-A*24; HLA-A*02 ; HLA-A*11; HLA-B*18; HLA-B*35; HLA-B*51; HLA-C*03; DRB1*11 та гаплотипу DQA1*0101, DQB1*0501 до факторів генетичної схильності до гострих лейкемій. При цьому певні алелі, зокрема, HLA-C*03; HLA-B*35 є біологічним індикатором підвищеної радіочутливості організму. Тобто, носійство даних алелей можна розглядати як імуногенетичні фактори ризику розладів в конкретних ланках гемопоезу, реалізації кістковомозкового синдрому і онкогематологічної патології при опроміненні.

Імуногенетичний моніторинг пацієнтів ГПХ-0 з виразними розладами в гемопоезі свідчить про наявність у 45% індивідів імуногенетичних маркерів, асоційованих з онкогематологічними захворюваннями (HLA-A2; HLA-B35; HLA-B5; HLA-DRB1*11) та зі зниженою імунореактивністю організму (HLA-A24; HLA-A9; HLA-B7), (HLA-B35 асоціація з аутоімунною компонентою). Тобто, простежуються аналогічні асоціативні закономірності взаємозв'язку між імуногенетичними факторами та розладами в імуно- і гемопоезі у опромінених осіб незалежно від ступеня опромінення. Це також свідчить про підвищений ризик у подальшому реалізації лейкемічних процесів у даних осіб і складає основу віднесення їх до групи ризику формування онкогематологічної патології.

Аналіз ступеня внеску імуногенетичних маркерів радіочутливості у формування онкогематологічної патології в умовах опромінення свідчить про підсилення ступеня ризику формування патологічного процесу (рис. 1).

the studied group indicates the protective functions of this specificity.

In ARS convalescents with oncohematologic diseases diagnosed 7–9–12 years after the radiation exposure the markers of increased radiosensitivity were identified in all cases in the patient phenotypes as well as antigenes associated just with the disease.

Example. Patient Sh. The HLA-phenotype is A3,11; B17,38; Cw2,3; DR1,4. Phenotype includes haplotype combinations of radiosensitivity antigenes HLA-B38; Cw3; DR4. The patient subsequently had got an acute myeloid leukemia, the predisposition to which was obvious due to positive associations. The same is relevant to a certain contribution of immunogenetic components at a level of haemo- and immunopoietic disorders under irradiation. Identification of immunogenetic passport of patients with malignant haematologic disease allowed to attribute the presence of specificities HLA-A*24, HLA-A*02, HLA-A*11, HLA-B*18, HLA-B*35, HLA-B*51, HLA-C*03, DRB1*11 and haplotype DQA1*0101, DQB1*0501 to the factors of genetic susceptibility to acute leukemia. Specific alleles, including HLA-C*03 and HLA-B*35, are biological indicators of increased organism radiosensitivity. I.e. the presence of these alleles can be regarded as immunogenetic factors of risk for hematopoietics disorders and for bone marrow syndrome and oncohaematologic diseases implementation under radiation exposure.

Immunogenetic monitoring of patients with ARS grade 0 with serious hematopoiesis disorders indicates that 45% of individuals have immunogenetic markers associated with oncohematological disease (HLA-A2, HLA-B35, HLA-B5, HLA-DRB1*11) and with reduced immunoreactivity (HLA-A24, HLA-A9, HLA-B7), (HLA-B35 is the association with autoimmune component). Similar patterns of association relationship between immunogenetic factors and disorders are observed in the immune- and haemopoiesis in exposed persons, regardless of the exposure grade. This fact also indicates an increased risk of subsequent implementation of leukemic processes in these individuals and forms the basis of referring them to the group with risk of oncohaematologic pathology development.

The analysis of the contribution degree of immunogenetic markers of radiosensitivity in the formation of oncohaematologic pathology under irradiation shows the enhancement of risk for the pathological process (Fig. 1).

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2013. Вип. 18.

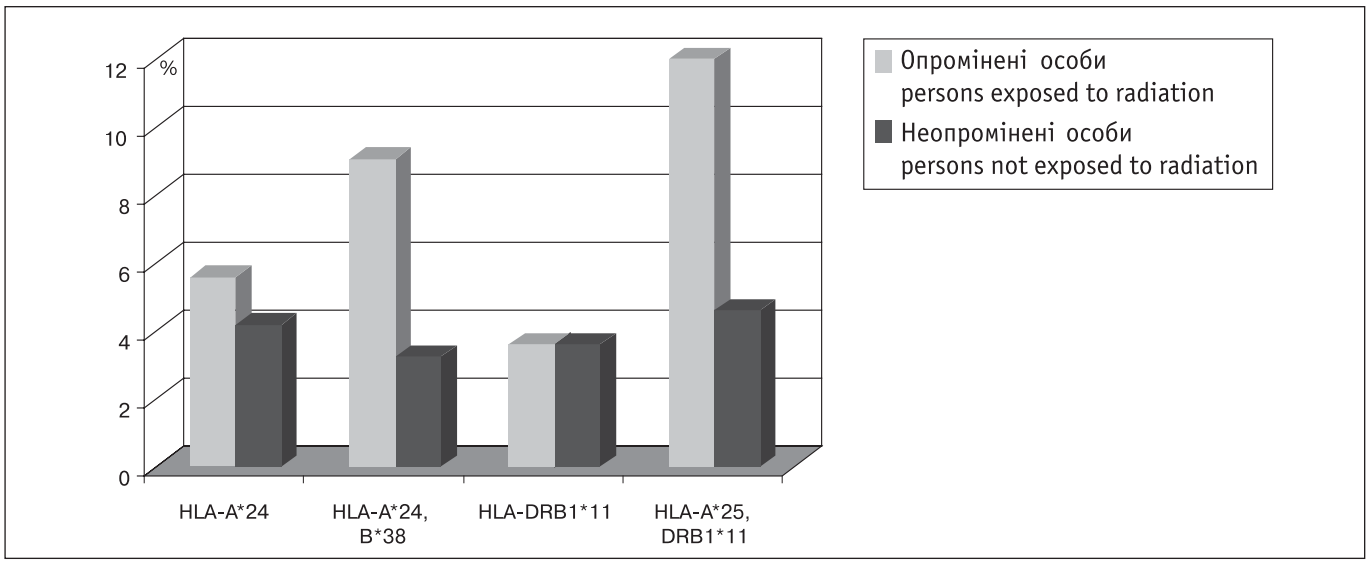

Рисунок 1. Вірогідні HLA-асоціації з ризиком виникнення онкогематологічної патології у реконвалесцентів ГПХ і неопромінених осіб в залежності від наявності в генотипі маркерів схильності до патології у поєднанні з маркерами радіочутливості.

Figure 1. Significant HLA-associations with risk of hematologic disease development in ARS convalescents and unexposed persons depending on the presence in genotype markers of susceptibility to disease combined with markers of radiosensitivity.

Дослідження імуногенетичного паспорту у неопромінених хворих на гостру лейкемію, свідчить, що факторами генетичної схильності до захворювання є присутність в HLA-генотипі специфічностей HLA-A*24; HLA-B*18; HLA-B*35; HLA-B*51; HLA-C*03; DRB1*11 та гаплотипу DQA1*0101, DQB1*0501, а факторами генетичної схильності до мієломної хвороби є присутність в HLA-генотипі специфічностей HLA-C*06; DQB1*0501; DQB1*0601. Тобто, імуногенетичні фактори схильності до захворювань системи гемопоезу є загальними незалежно від фізичної характеристики екзогенного чинника.

Відносно прогнозу перебігу захворювання встановлено, що у опромінених і неопромінених хворих на гостру лейкемію, незалежно від віку хворого, ефективність терапії асоційована з певним HLA генотипом. Наявність специфічностей HLA-A*02 і HLA-B*51 асоціюється з більш сприятливим прогнозом щодо тривалості першої ремісії, а присутність специфічностей HLA-A*11 і HLA-B*08 - відносно тривалості життя. Позитивна відповідь на імунотерапію із застосуванням трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин асоційована з носійством алелей HLA-C*06 і HLA-DQA1*0101, які можна розглядати як чинники для прогнозування відповіді на лікування.

Обстеження опромінених хворих на гострі лейкемії не виявило специфічних молекулярно-генетичних порушень. Характер, частота та складність

The study of immunogenetic passport in unexposed patients with acute leukemia shows that the presence of specificities HLA-A*24, HLA-B*18, HLA-B*35, HLA-B*51, HLA-C*03, DRB1*11 and haplotype DQA1*0101, DQB1*0501 is a factor of genetic susceptibility to the disease, and the presence of HLA-genotype specificities HLA-C*06, DQB1*0501, DQB1*0601 is a factor of genetic susceptibility to multiple myeloma. That is, the immunogenetic factors of susceptibility to hematopoiesis disorders are common regardless of the physical nature of exogenous factors.

Concerning the prognosis of the disease course it was found that the effectiveness of therapy is associated with a specific HLA genotype in radiation exposed and unexposed patients with acute leukemia, regardless of the patient's age. Presence of specificities HLA-A*02 and HLA-B*51 is associated with a more favorable prognosis for the duration of a first remission, and specificities HLA-A*11 and HLA-B*08 are associated with a more favorable prognosis regarding lifetime. Positive response to immunotherapy with transplantation of hematopoietic stem cells is associated with a carriage of allele HLA-C*06 and HLA-DQA1*0101, which can be considered as factors to predict the response to treatment.

Examination of irradiated patients with acute leukemia revealed no specific molecular and genetic disturbances associated with ionizing radiation

порушень каріотипу, експресія химерних генів, клональні перебудови генів імуноглобулінів та порушення в мікросателітній ДНК (локуси D9S171 та D12S98) у зіставленні з показниками перебігу гострих лейкемій у хворих є аналогічними для опромінених і неопромінених осіб. Так, наявність клітин зі спорідненими клонами незалежно від групи спостереження є прогностично несприятливою ознакою перебігу ГЛ, складні клональні порушення каріотипу у хворих на ГЛ є незалежним прогностично несприятливим чинником індивідуальної відповіді на терапію, а делеція 16-ї хромосоми в сегменті 16q13 у хворих на ГМЛ не погіршує прогноз перебігу захворювання. У хворих на ГЛЛ незалежно від групи спостереження в мікросателітних локусах D9S171 та D12S98 частіше має місце втрата гетерозиготності, ніж поява нового алеля.

Результати досліджень свідчать, що в композиції маркерів, асоційованих з ризиком виникнення патологічного процесу, незалежно від досліджуваної нозологічної форми (онкогематологічна чи серцево-судинна) входять специфічності, які вважаються маркерами напрямку імунної відповіді: HLA-B7; HLA-A9; HLA-DR2; (низька сила імунної відповіді), HLA-B8 (висока сила імунної відповіді); HLA-B35 (аутоімунна компонента). Даний факт свідчить про те, що в патогенезі формування мультифакторіальної патології вагомою складовою є імунологічна та імуногенетична компоненти [12]. Були визначені маркери, асоційовані з імунологічними порушеннями субпопуляційного складу імунорегуляторних імунокомпетентних клітин. Так, специфічності HLA-B21 (RR=7,54); DR2; (RR=6,24) ; DR7(RR=4,23) та гаплотипи HLA-B7, DR2 (RR=3,82) асоційовані зі зниженою кількістю CD4 клітин. Гаплотипові сполучення HLA-DR3, 7 (RR=7,53) асоційовані зі зниженою кількістю CD3 клітин. Маркер HLA-B8 несе протективну функцію відносно ризику зниження кількості даних клітин. Встановлені однонаправлені асоціативні зв'язки маркерів HLA з ризиком порушень у субпопуляційному складі імунокомпетентних клітин у опромінених і неопромінених осіб, що свідчить про загальні механізми реалізації генетичної схильності.

У віддаленому періоді простежений аналогічний імуногенетичний механізм формування серцево-судинної патології у досліджених контингентів. Слід відзначити, що за часом формування після опромінення серцево-судинні захворювання за гене-

exposure. The type, rate and complexity of karyotype abnormalities, fusion genes expression, clonal rearrangements of immunoglobulin genes and disturbances in microsatellite DNA (loci D9S171 and D12S98) are similar for irradiated and unexposed patients with acute leukemia. So, the presence of cells with related clones regardless of observation group is an unfavorable prediction feature of acute leukemia course, complex clonal karyotype abnormalities in patients with acute leukemia is an independent unfavorable prognostic factor of individual therapy response, and deletion of the 16th chromosome in segment 16q13 in patients with acute myeloid leukemia (AML) does not worsen the prognosis of the disease course. Among patients with ALL in both groups the loss of heterozygosity in the microsatellite loci D9S171 and D12S98 is more often than new allele appearance.

Research results indicate that the markers associated with risk of pathological process development, regardless of analyzed nosological form (oncohaematologic or cardiovascular), include specificities which are considered being markers of the immune response direction: HLA-B7, HLA-A9, HLA- DR2 (low strength of the immune response), HLA-B8 (high strength of the immune response), HLA-B35 (autoimmune component). This fact indicates that immunological and immunogenetic components are the essential components in pathogenesis of multifactorial diseases [12]. Markers, associated with immunological disorders of immunoregulatory subpopulation of immunoregulatory immunocompetent cells, were identified. Thus, the specificity of HLA-B21 (RR=7.54), DR2; (RR=6.24), DR7 (RR=4.23) and haplotypes HLA-B7, DR2 (RR=3.82) are associated with a reduced number of CD4 cells. Haplotype combination of HLA-DR3, 7 (RR=7.53) is associated with a decrease in the number of CD3 cells. Marker HLA-B8 has a protective function in regard to risk of CD3 in cells number reduction. One-way associative relation of HLA markers with risk of disturbances in subpopulation of immunocompetent cells in the irradiated and non-irradiated individuals was shown. It is the evidence of common mechanisms for realization of genetic predisposition.

In the late period the similar immunogenetic mechanism of cardiovascular disease onset is observed in the studied groups. It should be noted that for the time of onset after irradiation the cardiovascular disease with genetic predisposition

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2013. Вип. 18.

Таблиця 1

Частота виявлення деяких HLA-генів у хворих на ХІХС, що зазнали радіаційного опромінення

Table 1

Frequency of some HLA-genes identification in patients with CIHD that have undergone radiation exposure

HLA-гени та їх сполучення HLA-genes and their combinations	Контрольна група The control group N=150	Хворі на ХІХС Patients with CIHD N=60	Хворі на ХІХС, що зазнали радіаційного впливу Patients with CIHD, radiation exposed N=48	RR
A* 29	0,015	0,118	0,132	3,36
A* 33	0,013	0,118	0,121	3,36
B* 27	0,023	0,124	0,145	2,94
B* 35	0,071	0,213	0,286	3,87
B* 38	0,071	0,082	0,286	3,87
DRB1*03	0,165	0,152	0,367	4,15
DRB1*04	0,157	0,023	0,031	0,11
DRB1*12	0,023	0,152	0,145	3,45
DQA1*0103	0,069	0,191	0,183	3,52
DQA1*0201	0,140	0,023	0,031	0,23
DQA1*0501	0,106	0,383	0,367	4,71
DQB1*0301	0,203	0,191	0, 183	0,87
DQB1*0303	0,032	0,164	0,183	4,25
DQB1*0602	0,128	0,023	0, 031	0,46
B*35, DRB1*12	0,012	0,126	0,145	7,21

тичною схильністю реалізовані значно пізніше, через 15 і більше років, відповідно.

В усіх випадках ризик реалізації патологічного процесу у опромінених і неопромінених осіб був асоційованим з аналогічними за специфічністю HLA-генами (табл. 1, рис. 2).

У 80 % опромінених осіб, хворих на ХІХС, була визначені HLA-маркери радіочутливості в композиції з антигенами, які асоційовані саме з захворюванням.

were realized much later, after 15 years or even more, respectively.

In all cases the risk of pathological process realization in the irradiated and unexposed individuals was associated with specificity similar HLA-genes (Tabl. 1, Fig. 2).

In 80 % of irradiated patients with CIHD the HLA-markers of radiosensitivity in combination with antigens associated with disease were identified.

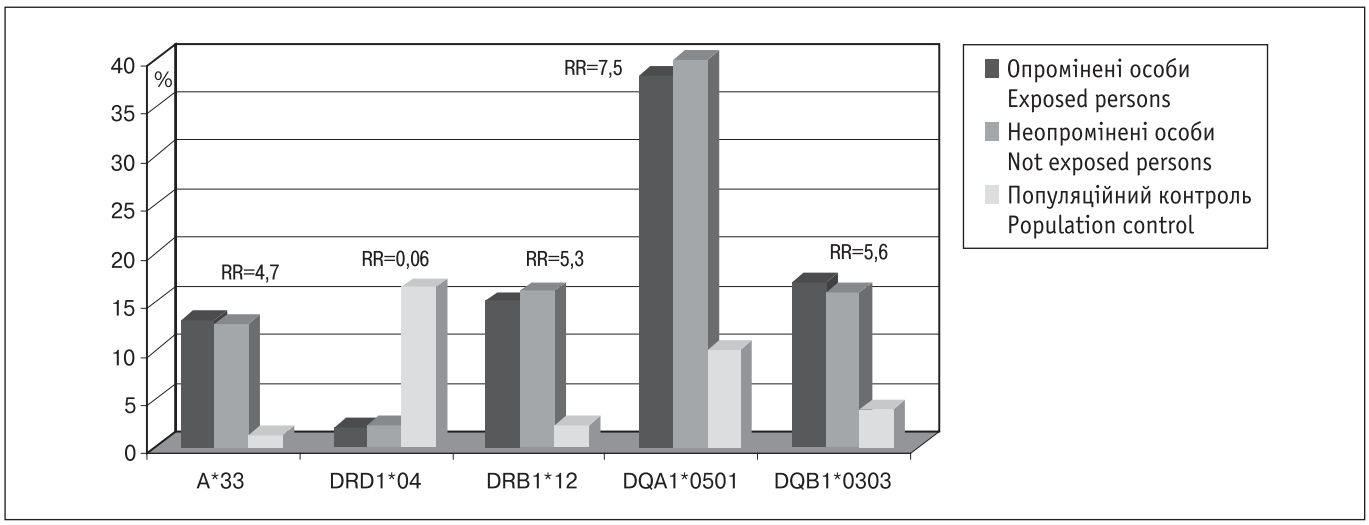

Рисунок 2. Вірогідні HLA-асоціації з ризиком розвитку ХІХС у опромінених та неопромінених осіб

Figure 2. Significant HLA-associations with the risk of CIHD development in radiation exposed and unexposed persons

Таблиця 2
Вірогідні асоціації HLA-маркерів з імунопатологічними реакціями у хворих на ХІХС

Table 2
Significant associations of HLA-markers with immunopathological reactions in patients with CIHD

Імунологічні параметри Immunological parameters	HLA-специфічності HLA-specificities	Частота HLA-специфічностей (F) The HLA-specificities rate (R)		RR
		I (n=30)	II (n=29)	
Гіперсекреція мононуклеарними клітинами крові ІЛ-6	B*35	0,079	0,214	4,17
Hypersecretion of IL-6 by mononuclear blood cells	DRB1*03	0,076	0,167	3,82
	DQA1*0103	0,077	0,286	4,23
Підвищена сенсибілізація лімфоцитів до тканин судинної сітки	B*08	0,063	0,121	3,34
Increased lymphocytes sensitizertion to the tissues of vascular wall	B*14	0,035	0,100	4,69
	DQB1*0501	0,167	0,070	0,17
Знижена проліферативна здатність лімфоцитів	B*35	0,057	0,153	2,97
Reduced proliferative capacity of lymphocytes	DRB1*03	0,050	0,143	4,23
	DRB1*16	0,025	0,107	3,68
	A*01	0,143	0,036	0,12
	B*07	0,163	0,036	0,11
	DQA1*0103	0,163	0,071	0,21

Примітка. I – хворі на ХІХС з нормальними імунологічними реакціями, II – хворі на ХІХС з імунопатологічними реакціями
Note. I – Patients with CIHD with normal immunological reactions, II – Patients with CIHD with imunopatological reactions

Аналіз спектру імунопатологічних реакцій у хворих на ХІХС свідчить, що найбільш характерними є: знижена проліферативна здатність лімфоцитів, підвищена сенсибілізація лімфоцитів до тканини судинної стінки, гіперсекреція мононуклеарними клітинами крові IL-6, незалежно від групи спостереження (опромінені, неопромінені). Проведений аналіз асоціації імуногенетичних чинників з ризиком виникнення даних імунопатологічних змін дозволив визначити маркери відносно кожного типу імунних реакцій (табл. 2).

Встановлено, що у 80% хворих на ХІХС переважав гіперреактивний тип імунопатологічних реакцій, що супроводжувалось вираженими атеросклеротичними коронарними ураженнями судин. В цій групі хворих встановлено позитивні і негативні асоціативні зв'язки з факторами імунного реагування. Так, за частотою зустрічаємості та значень коефіцієнтів асоціації до предикторів були віднесені специфічності HLA-B8 (RR=4,17); HLA-DQA1*0103 (RR=3,5); HLA-DRB1*03 (RR=3,7); HLA-DRB1*16 (RR=3,8). У 30% хворих на ХІХС переважав аутоімунний тип імунопатологічних реакцій, що корелювало з раннім початком захворювання (до 45 років і розвитком ускладнень). За ступенем коефіцієнта асоціації до предикторів розвитку імунопатологічних реакцій при ІХС віднесені алелі HLA-B14 (RR=4,7); HLA-B35 (RR=3,3); HLA-DRB1*03 (RR=3,8); HLADRB*16 (RR=3,7).

Analysis of immunopathological reactions in patients with CIHD shows that the reduced lymphocyte proliferative capacity, increased sensitizing of lymphocytes to vascular wall tissue, mononuclears blood cells hypersecretion of IL-6 regardless of observation groups (irradiated, unexposed) are the most typical ones. Analysis of the immunogenetic factors association with risk of appearance of appropriate immunopathological changes allowed to determine the markers for each type of immune reactions (Tabl. 2).

It was found that in 80% of patients with CIHD the hyperreactive type of immunopathological reactions was prevalent followed by severe atherosclerotic lesions in coronary vessels. In this group of patients the positive and negative associative relations with immune response factors were revealed. Thus, according the rate and association coefficients the specificities the HLA-B8 (RR=4.17), HLA-DQA1*0103 (RR=3.5), HLA-DRB1*03 (RR=3.7), HLA-DRB1*16 (RR=3.8) were referred to the predictors. In 30% of patients with CIHD the autoimmune type of immunopathological reactions was predominant and correlated with early disease onset (before 45 years with complications). According to the level of association coefficient the alleles HLA-B14 (RR 4.7), HLA-B35 (RR=3.3), HLA-DRB1*03 (RR=3.8), HLADRB*16 (RR=3.7) were attributed to the predictors of immunopathological reactions in patients with CIHD.

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2013. Вип. 18.

До протекторів розвитку імунопатологічних реакцій були віднесені специфічності: HLA-A*68 (RR=4,7); HLA-DRB1*01 (RR=4,2) носійство яких сприяє пізньому початку атеросклерозу; HLA-A*01, B*07 (RR=4,7); HLA-DQA1*0101 (RR=4,6) - асоційоване з відсутністю аутоімунізації за гуморальним типом; присутність алелей HLA-DQB1*0501 (RR=7,2) асоціюється з відсутністю аутоімунізації за клітинним типом.

ВИСНОВКИ

Таким чином, отримані нами дані свідчать про те, що одним із механізмів формування радіаційно-асоційованої мультифакторіальної патології, є реалізація HLA-генетичної схильності до захворювання, як на рівні розладів у гемопоезі та імунопоезі, так і на рівні захворювання в цілому, а носійство в фено/генотипі маркерів радіочутливості підвищує ризик реалізації патологічного процесу в умовах опромінення. Отримані дані також свідчать про вагомий внесок імунологічної та імуногенетичної компонент у патогенез мультифакторіальної патології як ендогенних факторів ризику формування захворювання, а також про загальні механізми реалізації спадкової схильності при впливі негативних екзогенних чинників ризику, незалежно від їх спектру.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Предиктивная медицина в онкогематологии / В. Г. Бебешко, Е. В. Кучер Ж. Н. Минченко [и др.] // Журн. АМН України. – 2010. – Т. 16. – С. 19–20.

2. Імуногенетичні чинники як екзогенні та ендогенні маркери ризику виникнення мультифакторіальної патології / Ж. М. Мінченко, Т. І. Гавриленко, О. О. Дмитренко [та ін.] // Журн. НАМН України. – 2012. – Т. 18, додаток. – С. 102–104.

3. Shankarkumar U. The Human Leukocyte Antigen (HLA) System / U. Shankarkumar // Kamla-Raj. – 2004. – Vol. 4, N 2. – P. 91–103.

4. Пілінська М.А. Цитогенетичні наслідки у Чорнобильських контингентів пріоритетного спостереження / М.А. Пілінська, Г.М. Шеметун, С.С. Дибський // Медичні наслідки аварії на Чорнобильській атомній електростанції / за ред. О. Ф. Возіанова, В. Г. Бебешка, Д. А. Базики. – К. : ДІА, 2007. – С. 156–169.

5. Effects of A-Bomb radiation on the human body / I. Shigematsu, Ch. Ito, N. Kamada [et al.]. – Tokyo : Harwood academic Publishers, Bunkodo Co., 1995. – 419 p.

6. Abbas A. K. Cellular and molecular immunology / A. K. Abbas, A. N. Lichtman, J. S. Pober. – Philadelphia : W. B. Saunders Co, 2008. – 560 pp.

7. Klein JMackay I. The HLA System. First of two parts / J. Klein, A. Sato I. Mackay, S. Rosen Fred // N. Engl. J. Med. – 2000. – Vol. 343, N 10. – P. 702–709.

The specificities HLA-A*68 (RR=4.7), HLA-DRB1*01 (RR=4.2) were attributed to protectors against immunopathological reactions. Their presence promotes later start of atherosclerosis. HLA-A*01, B*07 (RR=4.7), HLA-DQA1*0101 (RR=4.6) are associated with lack of humoral type of autoimmunization. Presence of HLA-DQB1*0501 allele is associated (RR=7.2) with lack of the cell type of autoimmunization.

CONCLUSIONS

Our findings emphasize the fact that realization of HLA-genetic predisposition to the disease at the level of disturbances in haematopoiesis and immunopoiesis as well as on the level of disease in general is one of the mechanisms of formation of radiation-associated multifactorial disease. Presence of markers of radiosensitivity in the pheno/genotype increases the risk of pathological process realization under radiation exposure. Obtained data also indicate a significant contribution of immunological and immunogenetic components to pathogenesis of multifactorial pathology as endogenous risk factors for the disease onset. Data show also the general mechanisms of genetic predisposition realization under negative exogenous risk factors exposure, regardless of their spectrum.

REFERENCES

1. Bebeshko VG, Kucher EV, Minchenko JN, Dmytrenko EA, Dmytrenko IV. [Predictive medicine in oncology]. Zhurnal Akademii medychnykh nauk Ukrainy. 2010;16(Suppl):19–20. Ukrainian.

2. Minchenko JM, Gavrylenko TI, Dmytrenko OO, Pidhaina OA, Shlyahtychenko T., Belyi DO, Lomakovskyi AM. [Immunogenetic factors as exogenous and endogenous markers of risk multifactorial pathology]. Zhurnal Akademii medychnykh nauk Ukrainy. 2012;18(Suppl):102–4. Ukrainian.

3. Shankarkumar U. The Human Leukocyte Antigen (HLA) System. Kamla-Raj. 2004;4(2):91–103.

4. Pilinska MA Shemetun GM, Dybskyi SS. [Cytogenetic effects in Chornobyl contingents priority monitoring]. In: Vozianov AF, Bebeshko VG, Bazyka DA, editors. [Medical consequences of the accident in Chornobyl nuclear power plant]. Kyiv: DIA; 2007. p. 156–69. Ukrainian.

5. Shigematsu I, Ito C, Kamada N, Akiyama M., Sasaki H. Effects of A-Bomb radiation on the human body. Tokyo: Harwood academic Publishers, Bunkodo Co; 1995. 419 p.

6. Abbas AK, Lichtman AN, Pober JS. Cellular and molecular immunology. Philadelphia: WB. Saunders Co. 2008. 560 p.

7. Klein J, Sato A. The HLA System. First of two parts. N Engl J Med. 2000 Sep7;343(10):702–9.

8. Shiina T. An update of the HLA genomic region, locus information and disease associations / T. Shiina, H. Inoko, J. K. Kulski // Tissue Antigens. – 2004. – Vol. 64. – P. 631–649.

9. Минченко Ж. Н. Генетические системы крови и радиочувствительность организма человека / Ж. Н. Минченко // Междунар. журн. радиац. медицины. – 2006. – № 5. – С. 128–138.

10. Гематологічні ефекти в ранньому та віддаленому періодах після аварії на чорнобильській Чорнобильській АЕС / В. Г. Бебешко, І. С. Дягіль, С. В. Клименко [та ін.] // Медичні наслідки аварії на Чорнобильській атомній електростанції / за ред. О. Ф. Возіанова, В. Г. Бебешка, Д. А. Базики. – К. : ДІА, 2007. – С. 327–355.

11. Thorsby E. HLA associated genetic predisposition to autoimmune diseases: Genes involved and possible mechanisms / E. Thorsby, B. Lie // Transpl. Immunol. – 2005. – Vol. 14. – P. 175–182.

12. Імуногенетичні чинники в механізмах радіочутливості організму людини і ризику реалізації пострадіаційних ефектів на рівні дисфункції в імунопоезі та формуванні соматичної патології у опромінених осіб внаслідок аварії на ЧАЕС / Ж. М. Мінченко, О. О. Дмитренко, Д. А. Базика [та ін.] // Медичні наслідки аварії на Чорнобильській атомній електростанції / за ред. О. Ф. Возіанова, В. Г. Бебешка, Д. А. Базики. – К. : ДІА, 2007. – С. 413–421.

8. Shiina T, Inoko H, Kulski JK. An update of the HLA genomic region, locus information and disease associations: 2004. Tissue Antigens. 2004 Dec;64:631–49.

9. Minchenko JM. [Genetic blood system and radiosensitivity of the human body]. Int J Radiat Med. 2006;(5):128–38. Russian

10. Bebeshko VG, Dyahil IS, Klymenko SV, Minchenko JM, Belyi DO, Kriachok IA, et al. [Hematologic effects of early and remote period after the Chornobyl NPP accident]. In: Vozianov AF, Bebeshko VG, Bazyka DA, editors. [Medical consequences of the accident in Chornobyl nuclear power plant]. Kyiv: DIA; 2007. p. 327–55. Ukrainian.

11. Thorsby E, Lie B. HLA associated genetic predisposition to autoimmune diseases: Genes involved and possible mechanisms. Transpl Immunol. 2005;14:175–82.

12. Minchenko JM, Dmytrenko OO, Bazyka DA, Dyahil IS, Chumak AA, Bebeshko VG. [Immunogenetic factors in the mechanisms of radiosensitivity of the human body and the risk of post-radiation effects at the level of dysfunction in imunopoezi and formation of somatic pathology in individuals exposed to the Chornobyl accident]. In: Vozianov AF, Bebeshko VG, Bazyka DA, editors. [Medical consequences of the accident in Chornobyl nuclear power plant]. Kyiv: DIA; 2007. p. 413–21. Ukrainian.

Стаття надійшла до редакції 20.08.2013 *Received: 20.08.2013*