

УДК(038) 575-161.1-11

Н. Н. Рябченко✉, Э. А. Дёмина

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е.Кавецкого НАН Украины, ул. Васильковская, 45, г. Киев, 03022, Украина

РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА ЧЕЛОВЕКА

Краткий обзор литературы посвящен феномену радиационно-индуцированной нестабильности генома, характерными особенностями которой является повышенный уровень геномных изменений в потомках облученных клеток. Особое внимание уделено проблемам нестабильности генома, индуцированной малыми дозами радиации, роли эффекта “свидетеля” в формировании радиационно-индуцированной нестабильности генома, ее связь с индивидуальной радиационной чувствительностью. Полагаем, что в соответствии с парадигмой современной радиобиологии, повышенная индивидуальная радиационная чувствительность может формироваться вследствие радиационно-индуцированной нестабильности генома и является существенным фактором риска радиационно-индуцированного канцерогенеза.

Ключевые слова: нестабильность генома, ионизирующая радиация, хромосомная нестабильность, радиационно-индуцированный канцерогенез, индивидуальная радиочувствительность человека.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2014. Вип. 19. С. 48–58.

N. Ryabchenko✉, E. Domina

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of NAS of Ukraine, 45 Vasylykivska str., Kyiv, 03022, Ukraine

Radiation-induced instability of human genome

A brief review is dedicated to the phenomenon of radiation-induced genomic instability where the increased level of genomic changes in the offspring of irradiated cells is characteristic. Particular attention is paid to the problems of genomic instability induced by the low-dose radiation, role of the bystander effect in formation of radiation-induced instability, and its relationship with individual radiosensitivity. We believe that in accordance with the paradigm of modern radiobiology the increased human individual radiosensitivity can be formed due to the genome instability onset and is a significant risk factor for radiation-induced cancer.

Key words: genomic instability, ionizing radiation, chromosomal instability, radiation-induced carcinogenesis, human individual radiosensitivity.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014;19:48-58.

Проблема радиационно-индуцированной нестабильности генома (РИНГ) является одной из актуальных, интенсивно разрабатываемых проблем радиобиологии, сопряженной с механизмами мутагенеза и канцерогенеза. Традиционно РИНГ относят к “немишенным”, отсроченным эффектам радиации, связанным с повышенной частотой генетических количественных

Problem of radiation-induced genomic instability (RGI) is one of the important and rapidly developing issue in radiobiology, considered in the context of mutagenesis and carcinogenesis. RGI is traditionally referred to as some non-target delayed effects of radiation associated with an increased incidence of genetic quantitative and

✉ Рябченко Наталья Николаевна, e-mail: nryabchenko@ukr.net

и качественных изменений в потомках облученных клеток, характерных для развития злокачественного фенотипа. Развитие РИНГ обусловлено такими факторами как генетические особенности облученного организма, его тканей и органов, а также характеристиками ионизирующего излучения (ИИ) [1, 2]. По определению [3] – “это феномен структурно-функционального непостоянства генетического материала, возникающего в потомках многократно поделившихся клеток, подвергшихся воздействию радиации, проявляющегося разрывами и переконформациями ДНК, перекомпактизацией хроматина, абберациями хромосом, сестринскими хроматидными обментами, анеу/полиплоидиями, внеплановой экспрессией генов, генными и хромосомными мутациями, что приводит к нарушению геномного баланса и сопровождается развитием клеточной дисфункции, малигнизации, индуцированием апоптоза и гибелью клеток”. Основные фенотипические проявления РИНГ – повышенная частота хромосомной нестабильности, генных мутаций, амплификаций, количественные изменения кариотипа, потеря гетерозиготности были изучены в многочисленных *in vitro* и *in vivo* экспериментах. Согласно [4], регистрируемые повышенные уровни хромосомных аббераций в лимфоцитах периферической крови облученных лиц могут быть обусловлены следующими процессами: прямым попаданием кванта или частицы ИИ в геном (ядро) лимфоцита, циркулирующего в кровяном русле в стадии G0; поступлением определенной доли абберантных клеток из облученных стволовых предшественников в периферическую кровь; индукцией хромосомной нестабильности в потомках многократно поделившихся облученных клеток. Поэтому увеличение частоты аббераций хромосом нестабильного типа в клетках, ранее облученных в малых дозах *in vivo*, не может быть отнесено к истинной РИНГ в тех случаях, когда не были исследованы *in vitro* долгоживущие культуры. Это аргументировано тем, что должна быть доказана молекулярная основа обнаруженных эффектов, так как не исключено, что такие перестройки являются результатом прямых повреждений ДНК стволовых клеток и клеток-предшественников.

В качестве основных механизмов, лежащих в основе РИНГ и канцерогенного риска, рассматривается груз различных мутационных нарушений ДНК половых клеток родителей, приводящий к нестабильности и функциональной неполноценности генома; мутации в генах, контролирующих главные процессы в ДНК (репликацию, репарацию, транскрипцию); мутации в гипервариабельных локусах и др. Сегодня признано, что стабильность генома обеспечивается эффектив-

qualitative changes in progeny of irradiated cells, being characteristic for the development of the malignant phenotype. RGI development is determined by such factors as the genetic characteristics of irradiated organism and its tissues and organs, as well as by the parameters of ionizing radiation (IR) [1, 2]. By definition [3] – RGI is “a phenomenon of structural and functional variability of genetic material that occurs in the offspring of repeatedly dividing cells exposed to ionizing radiation, which manifests itself by DNA breaks and reconfiguration, chromatin recompacting, chromosomal aberrations, SCE, aneuploidy and polyploidy, unscheduled gene expression, gene and chromosomal mutations resulting in genomic imbalance accompanied by the development of cellular dysfunction, malignancy, induction of apoptosis and cell death”. Core manifestations of RGI phenotype such as the increased chromosomal instability, gene mutations and amplifications, karyotype quantitative changes, loss of heterozygosity, etc. have been studied both *in vitro* and *in vivo*. According to [4] such processes as IR quantum or particle direct impact on a gene (nucleus) of circulating in the blood G0 lymphocytes, entering a certain percentage of aberrant cells from irradiated stem precursors to a peripheral blood, induction of chromosomal instability in the progeny of multiply dividing irradiated cells can underlie the elevated levels of chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes of exposed individuals. Therefore an increase in the frequency of unstable chromosome aberrations in cells previously *in vivo* exposed to low radiation doses should be attributed to the “true” RGI in cases with *in vitro* investigation of long-living cell cultures. It is argued in favor by the necessity to prove the molecular basis of the observed effects as it is not excluded that such alterations are the result of a direct DNA damage of stem and progenitor cells.

DNA mutations in parental germ cells leading to instability and functional genome disability, mutations in genes controlling DNA transformations (replication, repair, transcription), mutations in the hypervariable loci, etc. are considered as the basic pathways underlying the RGI and being the source of carcinogenic risk. It is recognized now that genome stability is provided by the efficient functioning of the cell

ностью функционирования в клетке так называемой “системы ответа на повреждение ДНК”. DDR – универсальная система восстановления поврежденных генома клетки, возникающих как в результате эндогенных процессов (например, при ошибках репликации), так и при воздействии внешних стрессовых факторов, в т. ч. радиационного. Основные элементы этой системы включают активацию и модификацию многих белковых сенсоров повреждений молекулы ДНК, трансдукторов и эффекторов клеточных сигналов, обеспечивающих контроль клеточного цикла в сверхточных точках, его арест, репарацию либо запрограммированную гибель поврежденных клеток и др. [5, 6]. Основная парадигма радиобиологии также включает постулат о решающем значении процессов репарации радиационно-индуцированных двунитевых разрывов ДНК для выживания клетки и ее потомков [7]. Нерепарированные повреждения либо реализуются в разрывы ДНК/хромосом, мутации генов/хромосом, либо остаются в виде потенциальных длительно живущих повреждений, являясь исходным материалом для индукции РИНГ. Повышенную спонтанную и радиационно-индуцированную хромосомную нестабильность, которая наблюдается в клетках больных наследственными синдромами хромосомной нестабильности с высокой предрасположенностью возникновения рака, а также в соматических клетках больных с различной локализацией злокачественных новообразований, многие исследователи считают прямым следствием мутаций/полиморфизма в генах распознавания и репарации ДНК [8, 9]. У большинства лиц с повышенным уровнем aberrаций хромосом отмечаются не только отклонения в эффективности репарации геномной ДНК на фоне выявленных особенностей индивидуальной гомозиготности, что может свидетельствовать о системном характере дестабилизации генома соматических клеток в организме облученных лиц, но и наличие вторичных иммунодефицитных состояний, повышенный риск развития злокачественных новообразований и др. В условиях длительного низкоинтенсивного облучения к спонтанным повреждениям в матричных производных ДНК, возникающих в течение молекулярно-генетических процессов (репликации, транскрипции, трансляции, сегрегации дочерних структур) в пролиферирующих клетках, добавляются радиационно-индуцированные повреждения. Так, в соматических клетках участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС, подвергшихся облучению в диапазоне доз до 0,25 Гр, через 10 лет обнаружена повышенная частота мутаций, которую авторы связывают с развитием РИНГ [10]. Однако, в отличие от

DNA damage response system (DDR). DDR pathways are the universal system of a damaged genome recovering if arised as the result of both endogenous processes (for e.g., replication errors) and exposure to external stress factors, such as IR. Basic elements of that system include activation and modification of multiple DNA damage sensors of protein nature, transducers and effectors of cellular signals that provide cell cycle checkpoint control, its arrest, repair, or programmed death of the damaged cells [5, 6]. Basic radiobiology paradigm also includes the postulate of the crucial importance of DNA double-strand breaks and efficiency of their repair to the survival of both cell and its offspring [7]. Unrepaired DNA breaks are either implemented into chromosome aberrations and/or gene mutations or remain as a potential long-term damages as a souece for RGI induction. It is believed now by many experts that an increased spontaneous and radiation-induced chromosomal instability, which is observed in cells of individuals with hereditary chromosome instability syndromes and high cancer predisposition, as well as in somatic cells of cancer patients, is a direct consequence of mutations/polymorphisms of genes associated with recognition of DNA damage and repair [8, 9]. There are not only the variations in the effectiveness of DNA repair on the background of individual homozygosity, which may indicate the systematic nature of genome instability in somatic cells of irradiated individuals, but also the secondary immunodeficiency states, an increased risk of malignant tumors, and some other events and in the most individuals having a high level of chromosomal aberrations. In Under the prolonged low-intensity exposure the radiation-induced damage is added to spontaneous damage of DNA matrix derivatives arising during the molecular-genetic processes (replication, transcription, translation, segregation) in proliferating cells. Thus, in somatic cells of the Chornobyl NPP accident emergency workers who were exposed to ionizing radation in a range of doses up to 0.25 Gy an increased frequency of mutations, which the authors are associated with the RGI development, is found 10 years later [10]. However, unlike permanent genomic instability characteristic to chromosome instability syndromes, the RGI is determined not only in off-

перманентной геномной нестабильности, свойственной синдромам хромосомной нестабильности, РИНГ определяется не только копированием потомством радиационных повреждений первичной структуры ДНК родительских клеток, а может возникать в клетках, не подвергавшихся облучению, но получивших “сигналы повреждения” от облученных. Согласно [11], РИНГ обусловлена стойким приобретенным изменением функционирования клетки как целого, передаваемым потомству посредством эпигенетических механизмов. В последние годы проблема механизмов развития РИНГ получила дальнейшее развитие в связи с открытием феномена радиационно-индуцированного эффекта “свидетеля” и роли микроокружения, радиационно-индуцированных эпигенетических изменений в регуляции экспрессии генов, митохондриального метаболизма. Общим для всех предлагаемых механизмов РИНГ является их полимишенная природа. По мнению [12], эти представления не укладываются в один из основных постулатов классической генетики о непрямо наследуемости вновь индуцированных мутаций в гетерозиготном состоянии. Экспрессии геномной нестабильности способствуют факторы эндогенной природы, а также химические токсиканты и вирусы, потенцирующие радиационно-индуцированные первичные повреждения генома.

Одним из важных механизмов РИНГ является эффект “свидетеля”. Данный эффект выявлен сравнительно недавно и его влияние на биологические объекты может быть очень существенным. Показано, что радиационно-индуцированный эффект “свидетеля” может обуславливать клеточную гибель, арест клеточного цикла, апоптоз, изменения экспрессии генов, повышение частоты мутаций и хромосомной нестабильности в необлученных клетках [13–15]. Так, в 90-х годах прошлого столетия было впервые продемонстрировано, что РИНГ проявляется в потомстве необлученных клеток, которые находились в окружении непосредственно облученных [16–20]. Результаты этих исследований были дополнены в *in vivo* экспериментах при трансплантации облученных клеток необлученным животным, после чего наблюдали развитие различных типов РИНГ в интактных клетках реципиентов. Известные сегодня механизмы эффекта “свидетеля” включают передачу сигнала необлученным клеткам посредством прямых межклеточных контактов; продукции цитокинов/факторов роста; продукции свободных радикалов и освобождении связанных с матриксом различных сигнальных факторов [21–24].

Ключевую роль в формировании эффекта “свидетеля” и поддержании РИНГ играет хронический оксидативный

spring by copying of radiation damage of primary DNA structure of the parent cells but can occur in unexposed cells, which had received the “damage signals” from irradiated cells. According to [11] the RGI is caused by the persisting acquired abnormalities in cell function, which are transmitted to offspring through epigenetic pathways. In recent years the problem of knowledge and understanding of mechanisms of the RGI onset and progress has been developed in connection with research of such phenomena as the radiation-induced bystander effect and role of microenvironment, and radiation-induced epigenetic changes in regulation of gene expression and mitochondrial metabolism. The RGI multi-target nature is common to the proposed mechanisms. According to available opinion [12] the idea of bystander effects does not fit one of the basic postulates of classical genetics such as no manifestation of the newly induced mutations in the heterozygous state. Factors of the endogenous nature, as well as chemical toxicants and viruses potentiating a radiation-induced primary genome damage contribute to the expression of radiation-induced primary damages of genome.

Bystander effect is one of the important mechanisms of RGI development. The effect was revealed just recently and its impact on biological objects is supposed to be very significant. It is shown that the radiation-induced bystander effect may be associated with cell death, cell cycle arrest, apoptosis, gene expression changes, increased frequency of mutations and chromosomal instability in non-irradiated cells [13–15]. Among all it was first demonstrated in the 90th of the last century that RGI is manifested in the offspring of non-irradiated cells, which were in the environment of the directly irradiated cells [16–20]. Results of these studies were supplemented by the *in vivo* experiments on transplantation of irradiated cells to unexposed animals and observation of the RGI development in the intact cells of the recipients. Today the known mechanisms of bystander effect include signaling to non-exposed cells through the direct cell-cell contacts, production of cytokines and/or growth factors, free radicals and release a variety of signaling matrix factors [21–24].

Key role in bystander effect development and RGI maintaining is assigned to chronic oxidative

тивний стресс, усиленная продукция активных форм кислорода (АФК) как проявление измененного окислительно-восстановительного метаболизма, унаследованного эпигенетически от родительских клеток, перешедших в это состояние после облучения. Показано, что развитие АФК-опосредованного эффекта “свидетеля” связано с p53 статусом облученных клеток и ролью митохондриальных сигнальных каскадов в его инициации и развитии [25, 26]. Существует гипотеза, согласно которой механизм индуцируемой нестабильности генома обусловлен устойчивым увеличением образования АФК, которое приводит к оксидативному повреждению ДНК и, как следствие, повышению клеточной гибели и частоты aberrаций хромосом [27–29].

Очевидно, что эпигенетические механизмы развития эффекта “свидетеля” и РИНГ занимают особое место при изучении действия малых доз радиации. Показано, что последствия воздействия ИИ в малых дозах проявляются через несколько клеточных генераций: индуцируются при дозах менее, чем 50 мЗв редкоизирующих ИИ и 10 мЗв – плотноизирующих, и могут обнаруживаться через 50 и более клеточных генераций [30, 31]. В крови пострадавших в результате Чернобыльской аварии лиц даже спустя более 20 лет с момента облучения продолжают циркулировать “bystander” факторы, способные вызывать повреждения в интактных клетках [32]. В настоящее время продолжает остро обсуждаться проблема канцерогенных эффектов малых доз облучения, в том числе различие молекулярных механизмов реакций на облучение в высоких и низких дозах. Дефиниция “малой дозы” жестко привязана к понятию “чувствительный объем”. Если за чувствительный объем принимать клеточное ядро, то доза, которая приходится на один акт энергопоглощения при действии редкоизирующего излучения, будет составлять 0,2–0,3 сГр [33]; если же в качестве мишени считать ДНК, которая составляет в эукариотических клетках 1–2 %, то по данным [34], эти дозы находятся в диапазоне 20–30 сГр. К малым дозам относят такие, которые превышают природный фон на порядок [34], 10–15 сГр и ниже [35], от нескольких сантигрэй до 1 Гр [36]. По данным Генеральной Ассамблеи НКДАР ООН (1999), малые дозы – это дозы до 20 сГр. На VI Греевской конференции, посвященной теоретическим и практическим аспектам проблемы жизнедеятельности облученных клеток, мировыми научными авторитетами признаны малыми дозы 2–2,5 Гр. Это дозы, которые чаще используются в радиационной онкологии [37]. В середине прошлого века принято было считать, что выход генетических повреждений на единицу дозы как

stress, increased production of reactive oxygen species (ROS) as a manifestation of the altered redox metabolism, which is inherited from the parent cells after irradiation. It is shown that the initiation and development of ROS-mediated bystander effect is related to the p53 status of the exposed cells and mitochondrial signaling pathways [25, 26]. There is a hypothesis that the mechanism of induced genomic instability is determined by a steady increase of ROS production, which leads to DNA oxidative damage and, as a consequence, to an increased frequency of chromosome aberrations and cell death [27–29].

It is clear now that epigenetic mechanisms of bystander effect and RGI hold a special position in the study of low-dose radiation effects. It is shown that they are manifested through several cell generations i.e. induced at doses less than 50 mSv of low-LET and 10 mSv of high-LET radiation and can be found in the 50th or more cell generations [30, 31]. The bystander “factors” capable to cause a damage of intact cells are revealed in blood of the Chernobyl accident survivors even more than 20 years later upon exposure [32]. Currently the problem of carcinogenic effects of low dose ionizing radiation including the difference of molecular mechanisms of the effects induced by exposure to high and low radiation doses is still a debated issue. The definition of “low dose” is related to the concept of a “sensitive volume”. If nucleus is taken as the cell sensitive volume, the dose accounted for one act of energy absorption at low-LET radiation will be 0.2–0.3 cGy [33], if DNA is considered a irradiation target that is 1–2 % of the cell volume, then according to [34] these doses should be in a range of 20–30 cGy. Low doses are also attributed to those that exceed the natural background for the order of magnitude [34], 10–15 cGy and below [35], a few cGy – 1 Gy [36]. According to the proceedings of the UNSCEAR General Assembly (1999) low doses are the doses up to 20 cGy. At the VI L.H. Gray Conference on theoretical and practical aspects of cell survival after the impact of low doses of radiation the world’s scientific authorities recognized the low level doses of 2–2.5 Gy. These are the doses often being used in radiation oncology [37]. In the middle of the last century it was used to assume that the yield of genetic damage per dose unit for both low and high doses is identical, and it was assumed that the

для малых, так и для больших доз одинаков, и предполагалось, что квант энергии ИИ при взаимодействии с хромосомой индуцирует необратимые изменения. Эти постулаты легли в основу линейной беспороговой концепции, подразумевающей безусловную опасность любых уровней облучения, в том числе и не превышающих естественного радиационного фона. Впервые в работах Н. В. Лучника и Н. В. Тимофеева-Ресовского (середина XX века) была обнаружена аномальная реакция биологических объектов на низкодозовое облучение. Дальнейшие экспериментальные исследования показали реальную возможность модификации мутационного процесса разными факторами и способность первичных повреждений ДНК восстанавливаться в ходе процессов репарации. Это коренным образом изменило концептуальную основу понимания природы мутационного процесса. Анализ многочисленных работ разных авторов позволяет выделить два участка, в пределах которых дозовая зависимость отклоняется от ожидаемой линейной: в области доз ниже 5 сГр и в диапазоне 10–50 сГр. Исследование зависимости “доза-ответ” для индукции РИНГ свидетельствует о насыщении эффекта при облучении в низких дозах. По данным [17], для генных мутаций эффект насыщения проявляется уже при облучении в дозах 0,1–0,2 Гр.

Хромосомную нестабильность называют одним из основных фенотипических проявлений РИНГ и злокачественной трансформации клеток. Отмечают, что aberrации хроматидного типа, характерные для злокачественного фенотипа, с большей вероятностью сохраняются в ряду облученных клеточных поколений [38, 39]. Наиболее репрезентативная информация получена в отношении частоты aberrаций хромосом, индуцированных в лимфоцитах периферической крови человека при облучении в малых дозах. Уникальное сочетание свойств закономерно выдвинуло лимфоциты на первое место среди всех тест-систем, предназначенных для оценки генетических эффектов малых доз ИИ. Количественная оценка цитогенетических повреждений в соматических клетках человека при действии ионизирующей радиации крайне важна, поскольку накопление хромосомных aberrаций часто предшествует развитию соматической патологии, а также может служить критерием канцерогенного риска облучения в малых дозах [40]. Полагаем, что формирование РИНГ непосредственно связано с индивидуальной радиационной чувствительностью человека (ИРЧ), имеющей полигенную и мультифакторную природу. По различным данным эпидемиологических и клинических исследований, в популяции человека

energy quantum during interaction with a chromosome induces the irreversible changes. These postulates form the background of the linear no-threshold concept, which implies an unconditional danger of any radiation levels, including those not exceeding the natural background. N.V. Luchnik and N.V. Timofeev-Resovskii (mid-twentieth century) for the first time had found an abnormal reaction induced by low-dose irradiation of biological objects. Further experimental studies have shown a real potential of different factors to modify the mutation process both with the cell ability to recover a primary DNA damage in the course of repair processes. This dramatically changed the conceptual basis for understanding of the mutation process nature. Review of numerous studies allows distinguishing the two plot sections, within which a dose dependence deviates from the expected linear dependence i.e. for the doses below 5 cGy and in the range of 10–50 cGy. Investigation of the “dose-response” dependences for RGI induction indicates the effect of saturation at low radiation doses. According to [17] for gene mutations a saturation effect is manifested even at radiation doses of 0.1–0.2 Gy.

Chromosomal instability is considered one of the major phenotypic manifestations of RGI and malignant cellular transformation. It is noted that chromatid aberrations being characteristic to malignant phenotype more likely persist in a sequence of irradiated cell generations [38, 39]. The most representative information is received in regard to the frequency of chromosome aberrations induced in human peripheral blood lymphocytes by the low dose IR. The unique combination of lymphocyte properties put them forward to a first place among the test systems designed to assess the genetic effects of low-dose radiation exposure. Quantitative assessment of cytogenetic damage in human somatic cells induced by IR is extremely important, because the accumulation of chromosomal aberrations often precedes the development of somatic diseases and can also be applied as a criterion of the carcinogenic risk of a low dose radiation exposure [40]. We believe that RGI development is directly related to the human individual radiation sensitivity (HIRS), which is polygenic and multifactor in its nature. According to the reports on epidemiological and clinical studies there are up to 20 % of individuals in with

насчитывают до 20 % лиц с повышенной радиочувствительностью, которая определяется в первую очередь индивидуальными генетическими особенностями [41, 42]. К ним относят кандидатные гены радиочувствительности человека, функционирующие в системе DDR: гены распознавания и репарации радиационно-индуцированных повреждений ДНК, контроля клеточного цикла, детоксикации ксенобиотиков и др. Считают, что мутации/полиморфизм этих генов, изменение их экспрессии лежат в основе разнообразия индивидуальных реакций человека на облучение и других стрессовых внешних факторов. На сегодняшний день описано большое количество наследственных полиморфных однонуклеотидных вариантов (SNPs) кандидатных генов радиочувствительности, повышающих канцерогенный риск. Показано, что специфический полиморфизм низкопенетрантных генов репарации *XRCC1*, *XRCC3*, *XRCC6*, *hRAD51*, *XPDI* и др., а также генов метаболизма ксенобиотиков при радиационном воздействии способствуют увеличению частоты двойных разрывов ДНК, образованию aberrаций хромосом и микроядер, являясь одновременно фактором риска развития рака молочной железы, желудка, прямой кишки и других локализаций [43–45].

Таким образом, процессы формирования ИРЧ, РИНГ и канцерогенеза имеют общие молекулярные детерминанты, относящиеся к системе DDR. Согласно собственным данным [46], в когорте обследованных (с помощью G2-теста) условно здоровых лиц более 10 % имеют повышенную ИРЧ на хромосомном уровне лимфоцитов периферической крови. Важно отметить, что среди онкологических больных “скрытая” хромосомная нестабильность, индуцированная “провокационным” нагрузочным облучением лимфоцитов периферической крови в *in vitro* G2 тесте (G2-тест, микроядерный тест), встречается гораздо чаще: от 30 до 60 % среди когорт больных спорадическими формами рака различной локализации, в том числе рака молочной железы [47], желудка, простаты и др. [48]. Полагаем, что условно здоровых лиц с цитогенетическими показателями ИРЧ выше популяционной нормы следует относить к группе повышенного риска формирования РИНГ и канцерогенеза.

Таким образом, результаты многолетних исследований проблемы нестабильности генома, современные представления о механизмах её развития и роли в злокачественной трансформации клеток свидетельствуют о том, что РИНГ является этиологическим фактором радиационного канцерогенеза.

increased radiosensitivity human population, which is primarily determined by individual genetic characteristics [41, 42]. These include the candidate genes of radiosensitivity functioning in DDR system, namely genes of identification and repair of radiation-induced DNA damage, cell cycle control, detoxication of xenobiotics, apoptosis, etc. It is supposed that mutations and polymorphism of the genes and changes in their expression underlie a variety of human individual reactions to stress and other external factors including the IR. Today a number of genetic single nucleotide polymorphic variants (SNPs) among radiosensitivity candidate genes are described to be associated with an increased cancer risk. It is shown that a specific polymorphism in DNA repair genes of low penetrance, such as *XRCC1*, *XRCC3*, *XRCC6*, *hRAD51*, *XPDI*, etc. and other genes of xenobiotic metabolism promote the increased level of radiation-induced DNA double-strand breaks, chromosomal aberrations and micronuclei, being simultaneously a risk factor for breast, stomach, colon cancer and some malignancies of other localizations [43–45].

Thus, individual radiosensitivity, RGI development and carcinogenesis may often share common molecular determinants related to DDR system. According to the own data [46], more than 10 % of persons in a cohort of healthy individuals have elevated radiosensitivity at the chromosomal level of peripheral blood lymphocytes (assessed with lymphocyte G2 test). It is important to note that a “hidden” chromosomal instability among cancer patients induced by a “provocative” radiation in peripheral blood lymphocytes *in vitro* (G2-test, micronucleus test) is much more common, as it occurs in 30 to 60 % of patients having the sporadic malignancies, including breast [47], stomach, prostate cancer, etc. [48]. We believe that healthy individuals with elevated chromosomal radiosensitivity (higher than average/normal values in population) are assumed to be at an increased risk of RGI development and carcinogenesis.

Thus, the results of long-term research of the issues of genome instability, current understanding of the pathways of its development and its role in cell malignant transformation indicate that RGI should be considered an etiological factor of radiation carcinogenesis.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wright E. G. Inducible genomic instability: new insights into the biological effects of ionizing radiation // *Med. Confl. Surviv.* – 2000. – Vol. 16, № 1. – P. 117–130.
2. Morgan W. Radiation-induced genomic instability / W. Morgan // *Health Phys.* – 2011. – Vol. 100, No 3. – P. 281–288
3. Сусков И. И. Проблема индуцированной геномной нестабильности в детском организме в условиях длительного действия малых доз радиации / И. И. Сусков, Н. С. Кузьмина // *Радиационная биология. Радиоэкология.* – 2001. – Т. 41, № 5. – С. 606–614.
4. Котеров А. Н. Отсутствие фактов нестабильности генома после воздействия в малых дозах радиации с низкой ЛПЭ на клетки без явных дефектов и организм вне in utero / А. Н. Котеров // *Радиационная биология. Радиоэкология.* – 2006. – Т. 46, № 5. – С. 563–574.
5. Bartek J. DNA damage checkpoints: from initiation to recovery or adaptation / J. Bartek, J. Lukas // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 2007. – Vol. 19, No. 2. – P. 238–245.
6. Jackson S. The DNA-damage response in human biology and disease / S. Jackson, J. Bartek // *Nature.* – 2009. – Vol. 461. – P.1071–1078.
7. Mothersill C.. Changing paradigm in radiobiology / C. Mothersill, C. Seymour // *Mutat. Res.* – 2012. – Vol. 750, No. 2. – P. 85–95.
8. Mills K. D. The role of DNA breaks in genomic instability and tumorigenesis/ K. D. Mills, D. O. Ferguson, F. W. Alt // *Immunol. Rev.* – 2003. – Vol. 194. – P. 77–95.
9. Activation of DNA damage checkpoints and genomic instability in human precancerous lesions/ V. G. Gorgoulis, L. V. F. Vassiliou, P. Karakaidos [et al.] // *Nature.* – 2005. – Vol. 434. – P. 907–913.
10. Саенко А. С. Результаты и перспективы использования методов определения частоты мутантных клеток по локусам гликофорина А и Т-клеточного рецептора для оценки генотоксического действия ионизирующих излучений в отдаленные сроки после воздействия / А. С. Саенко, И. А. Замулаева // *Радиационная биология. Радиоэкология.* – 2000. – Т. 40, № 5. – С. 549–553.
11. Воробцова И. Е. Генетические и соматические эффекты ионизирующей радиации у человека и животных (сравнительный аспект) / И. Е. Воробцова. // *Радиационная биология. Радиоэкология.* – 2002. – Т. 42, № 6. – С. 639–643.
12. Мазурик В. К. Радиационно-индуцированная нестабильность генома: феномен, молекулярные механизмы, патогенетическое значение/ В. К. Мазурик, В. Ф. Михайлов // *Радиационная биология. Радиоэкология.* – 2001. – Т. 41, № 3. – С. 272–289.
13. Lorimore S. A.. Radiation-induced genomic instability and bystander effects: inter-related nontargeted effects of exposure to ionizing radiation / S. A. Lorimore, P. J. Coates, E. G. Wright // *Oncogene.* – 2003. – No 45. – P. 7058–7069.
14. Mothersill C. Radiation-induced bystander effects and the DNA paradigm: an “out of field” perspective / C. Mothersill, C. B. Seymour // *Mutat. Res.* – 2006. – Vol. 597. – P. 5–10.
15. Шеметун Е. В. Цитогенетические особенности индукции и персистенции радиационно-индуцированного эффекта свидетеля в лимфоцитах крови человека/ Е. В. Шеметун, О. А. Талан, М.

REFERENCES

1. Wright EG. Inducible genomic instability: new insights into the biological effects of ionizing radiation. *Med Confl Surviv.* 2000;16(1):117-30.
2. Morgan W. Radiation-induced genomic instability. *Health Phys.* 2011;100(3):281-8.
3. Suskov II, Kuzmina NS. [The problem of induced genome instability in child organism under the effects of low doses of radiation]. *Radiats Biol Radioecol.* 2001;41(5):604-14. Russian.
4. Koterov AN. [The absence of the facts connected with the genomic instability after the irradiation in low doses by radiation with low LET]. *Radiats Biol Radioecol.* 2006;46(5):563-74. Russian.
5. Bartek J, Lukas J. DNA damage checkpoints: from initiation to recovery or adaptation. *Curr Opin Cell Biol.* 2007;19(2):238-45.
6. Jackson S, Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature.* 2009;461:1071-8.
7. Mothersill C, Seymour C. Changing paradigm in radiobiology. *Mutat Res.* 2012;750(2):85-95.
8. Mills KD, Ferguson DO, Alt FW. The role of DNA breaks in genomic instability and tumorigenesis. *Immunol Rev.* 2003;194:77-95.
9. Gorgoulis VG, Vassiliou LVF, Karakaidos P, Zacharatos P, Kotsinas A, Liloglou T, et al. Activation of DNA damage checkpoints and genomic instability in human precancerous lesions. *Nature.* 2005;434:907-13.
10. Saenko AS, Zamulaeva IA. [Results of and prospects for methods of determination of the frequency of mutant cells for glycoporphin A and T-cell receptor loci to estimate long-term genotoxic effect of ionizing radiation]. *Radiats Biol Radioecol.* 2000 Sep-Oct;40(5):549-53. Russian.
11. Vorobtsova IE. [Genetic and somatic effects of ionizing radiation in human and animals]. *Radiats Biol Radioecol.* 2002;42(6):639-43. Russian.
12. Mazurik VK, Mikhailov VF. [Radiation-induced genomic instability: phenomenon, molecular mechanisms, pathogenetic significance]. *Radiats Biol Radioecol.* 2001;41(3):272-89. Russian.
13. Lorimore SA, Coates PJ, Wright EG. Radiation-induced genomic instability and bystander effects: inter-related nontargeted effects of exposure to ionizing radiation. *Oncogene.* 2003;22(45):7058-69.
14. Mothersill C, Seymour C. Radiation-induced bystander effects and the DNA paradigm: an “out of field” perspective. *Mutat Res.* 2006;597:5-10.
15. Shemetun OV, Talan OO, Pilinska MA. [Cytogenetic peculiarities of induction and persistence of radiation induced bystander effect in human blood lymphocytes]. *Tsitol Genet.* 2014; 48(4): 51-8. Russian.
16. Kadhim MA, Macdonald DA, Goodhead DT, Lorimore SA, Marsden SJ, Wright EG. Transmission of chromosomal instability after plutonium a-particle irradiation. *Nature.* 1992 Feb 20;355(6362):738-40.

- А. Пилинская // Цитология и генетика. – 2014. – Т. 48, № 4. – С. 51–58.
16. Transmission of chromosomal instability after plutonium α -particle irradiation / M. A. Kadhim, D. A. Macdonald, D. T. Goodhead [et al.] // *Nature*. – 1992. – Vol. 355. – P. 738–740.
17. Gorgojo L. Expression of lethal mutations in progeny of irradiated mammalian cells / L. Gorgojo, J. B. Little // *Int. J. Radiat. Biol.* – 1989. – Vol. 55. – P. 619–630.
18. Chang W. P. Persistently elevated frequency of spontaneous mutations in progeny of CHO clones surviving X-irradiation: association with delayed reproductive death phenotype / W. P. Chang, L. B. Little // *Mutat. Res.* – 1992. – Vol. 270. – P. 191–199.
19. Chromosomal instability in unirradiated cells induced in vivo by a bystander effect of ionizing radiation/ G. E. Watson, S.A. Lorimore, D.A. Macdonald [et al.] // *Cancer Res.* – 2000. – Vol. 60, No 20. – P. 5608–5611.
20. Morgan W. F. Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation: II. radiation-induced genomic instability and bystander effects in vivo, clastogenic factors and transgenerational effects / W. F. Morgan // *Radiat. Res.* – 2003. – Vol. 159. – P. 581–596.
21. Iyer R. Factors underlying the cell growth-related bystander responses to alpha particles / R. Iyer, B. E. Lehnert, R. Svensson // *Cancer Res.* – 2000. – Vol. 60. – P. 1290–1298.
22. Azzam E. I. Oxidative metabolism, gap junctions and the ionizing radiation-induced bystander effect / E. I. Azzam, S. M. de Toledo, J. B. Little // *Oncogene*. – 2003. – Vol. 22. – P. 7050–7057.
23. Gamma-H2AX in bystander cells: not just a radiation-triggered event, a cellular response to stress mediated by intercellular communication / M. V. Sokolov, J. S. Dickey, W. M. Bonner, O. A. Sedelnikova // *Cell Cycle*. – 2006. – Vol. 6. – P. 2210–2212.
24. Gerashchenko B. I. Bystander cell proliferation is modulated by the number of adjacent cells that were exposed to ionizing radiation / B. I. Gerashchenko, R.W. Howell // *Cytometry*. – 2005. – Vol. 66. – P. 62–70.
25. Mitochondria-dependent signaling pathways are involved in the early process of radiation-induced bystander effects/ S. Chen, Y. Zhao, W. Han [et al.] // *Br. J. Cancer*. – 2008. – Vol. 98, No. 11. – P. 1839–1844.
26. Radiation-induced intercellular signaling mediated by cytochrom c via p53 depended pathway hepatoma cells / M. He, M. Zhao, B. Shen [et al.] // *Oncogene*. – 2011. – Vol. 30. – P. 1947–1955.
27. Rugo R. E. Increases in oxidative stress in the progeny of X-irradiated cells / R. E. Rugo, R. H. Schiestl // *Radiat. Res.* – 2004. – Vol. 162, No. 4. – P. 416–425.
28. Limoli C. L. Induction of chromosomal instability by chronic oxidative stress / C. L. Limoli, E. Giedzinski // *Neoplasia*. – 2003. – Vol. 5, No. 4. – P. 339–346.
29. Бурлакова Е. Б. Система окислительно-восстановительного гомеостаза при радиационно-индуцируемой нестабильности генома / Е. Б. Бурлакова, В. Ф. Михайлов, В. К. Мазурик // *Радиац. биология. Радиоэкология*. – 2001. – Т. 41, № 5. – С. 489–499.
30. Dubrova Y. E. Radiation-induced transgenerational instability / Y. E. Dubrova // *Oncogene*. – 2003. – Vol. 22. – P. 7087–7093.
17. Gorgojo L, Little JB. Expression of lethal mutations in progeny of irradiated mammalian cells. *Int J Radiat Biol.* 1989;55:619-30.
18. Chang WP, Little JB. Persistently elevated frequency of spontaneous mutations in progeny of CHO clones surviving X-irradiation: association with delayed reproductive death phenotype. *Mutat Res.* 1992;270:191-9.
19. Watson GE, Lorimore SA, Macdonald DA, Wright EG. Chromosomal instability in unirradiated cells induced in vivo by a bystander effect of ionizing radiation. *Cancer Res.* 2000 Oct 15;60(20):5608-11.
20. Morgan WF. Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation: II. radiation-induced genomic instability and bystander effects in vivo, clastogenic factors and transgenerational effects. *Radiat Res.* 2003;159:581-96.
21. Iyer R, Lehnert BE, Svensson R. Factors underlying the cell growth-related bystander responses to alpha particles. *Cancer Res.* 2000;60:1290-98.
22. Azzam EI, de Toledo SM, Little JB. Oxidative metabolism, gap junctions and the ionizing radiation-induced bystander effect. *Oncogene.* 2003;22:7050-7.
23. Sokolov MV, Dickey JS, Bonner WM, Sedelnikova OA. Gamma-H2AX in bystander cells: not just a radiation-triggered event, a cellular response to stress mediated by intercellular communication. *Cell Cycle.* 2006;6:2210-2.
24. Gerashchenko BI, Howell RW. Bystander cell proliferation is modulated by the number of adjacent cells that were exposed to ionizing radiation. *Cytometry.* 2005;66:62-70.
25. Chen S, Zhao Y, Han W, Zhao G, Zhu L, Wang J, et al. Mitochondria-dependent signaling pathways are involved in the early process of radiation-induced bystander effects. *Br J Cancer.* 2008 Jun 3;98(11):1839-44.
26. He M, Zhao M, Shen B, Prise KM, Shao C. Radiation-induced intercellular signalling mediated by cytochrom c via p53 depended pathway in hepatoma cells. *Oncogene.* 2011 Apr 21;30(16):1947-55.
27. Rugo RE, Schiestl RH. Increases in oxidative stress in the progeny of X-irradiated cells. *Radiat Res.* 2004;162(4):416-25.
28. Limoli CL, Giedzinski E. Induction of chromosomal instability by chronic oxidative stress. *Neoplasia.* 2003;5(4):339-46.
29. Burlakova EB, Mikhailov VF, Mazurik VK. [The redox homeostasis system in radiation-induced genomic instability]. *Radiats Biol Radioecol.* 2001 Sep-Oct;41(5):489-99. Russian.
30. Dubrova YE. Radiation-induced transgenerational instability. *Oncogene.* 2003;22:7087-93.
31. Barber C, Hickenbotham L, Hatch T, Kelly D. Radiation-induced transgenerational alterations in genome stability and DNA damage. *Oncogene.* 2006;25:7336-42.
32. Marozik P, Mosse I, Melnov S, Mothersill C. [Investigation of the nature of bystander factors in vitro and in vivo]. *Proceedings of the 6th Meeting on Radiation Research.* Vol. 2; 2010 Oct 25-28; Moscow, Russia. Moscow: PFUR; 2010. p. 72. Russian.

31. Radiation-induced transgenerational alterations in genome stability and DNA damage / C. Barber, L. Hickenbotham, T. Hatch, D. Kelly // *Oncogene*. – 2006. – Vol. 25. – P. 7336–7342
32. Изучение природы “байстэндер” факторов в условиях *in vitro* и *in vivo* / П. М. Морозик., И. Б. Моссе, С. Б. Мельнов, К. Мазерсилл // Матер. VI съезда по радиац. исследованиям. М. : РУДН, 2010. – Т. 2. – С. 72.
33. ICRU, Report 36. –Maryland : Int. Comis. On Radiat. Units and Measu., 1983. – 170 p.
34. Burkart W. Microdosimetric constraints on specific adaptation mechanisms to reduce DNA damage caused by ionizing radiation / W. Burkart, P. Heusser, H. Vijalfami // *Radiat. Protect. Dosim.* – 1990. – Vol. 31, No. 1(4). – P. 269–274.
35. Корогодин В. И. Онкогенные последствия облучения человека / В. И. Корогодин, В. Л. Корогодина // *Мед. радиология и радиац. безопасность*. – 1997. – Т. 42, № 2. – С. 26–30.
36. Некоторые аспекты биологического действия малых доз радиации / В. Я. Готлиб, И. И. Пелевина, Е. Ф. Конопля [и др.] // *Радиобиология*. – 1991. – Т. 31, № 3. – С. 318–325.
37. Жизнеспособность клеток, облученных в малых дозах: теоретические и клинические аспекты : труды 6-й Греевской конф. (Лондон, 1974) / под ред. С. Альнер. – М. : Медицина, 1980. – 205 с.
38. Свойства потомков облученных клеток / И. И. Пелевина, В. Я. Готлиб, О. В. Кудряшова [и др.] // *Цитология*. – 1998. – Т. 5, №8. – С. 467–477.
39. *In vivo* chromosomal instability and transmissible aberrations in the progeny of haemopoietic stem cells induced by high- and low-LET radiations / G. Watson, D. Pocock, D Papworth, S. Lorimore [et al.] // *Int. J. Radiat. Biol.* – 2001. – Vol. 77. – P. 409–417.
40. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: evidence from human studies / S. Bonassi, R. El-Zein, C. Bolognesi, M. Fenech // *Mutagenesis*. – 2011. – Vol. 26, No. 11. – P. 93–100.
41. Twardella D. Studies on radiosensitivity from an epidemiological point of view – overview of methods and results / D. Twardella, J. Chang-Claude // *Radiother. Oncol.* – 2002. – Vol. 62. – P. 249–260.
42. Normal tissue effects: reporting and analysis / S. M. Bentzen, W. Dorr, M. S. Anscher [et al.] // *Semin. Radiat. Oncol.* – 2003. – Vol. 13. – P. 202–213.
43. Byrnes G. B. Are the so-called low penetrance breast cancer genes, ATM, BRIP1, PALB2 and CHEK2, high risk for women with strong family histories? / G. B. Byrnes, M. C. Southey, J. L. Hopper // *Breast Cancer Res.* – 2008. – Vol. 10. – P. 208–211.
44. Bau D. T. Role of the XRCC5/XRCC6 dimer in carcinogenesis and pharmacogenomics / D. T. Bau, C. W. Tsai, C. N. Wu // *Pharmacogenomics*. – 2011. – Vol. 12, No. 4. – P. 515–534.
45. Polymorphisms in nonhomologous end-joining genes associated with breast cancer risk and chromosomal radiosensitivity / P. Willems, K. Claes, A. Baeyens [et al.] // *Genes Chromosomes Cancer*. – 2008. – Vol. 47, No. 2. – P. 137–148.
46. Determination of individual radiosensitivity of healthy donors on the basis of cytogenetic investigations / E. A. Domina, N. M. Ryabchenko, M. O. Druzhina [et al.] // *Current problems of radiation research. Proc. 35th*
33. ICRU, Report 36. Microdosimetry. – Maryland: Int. Comis. on Radiat. Units and Measur., 1983. – 170 p.
34. Burkart W, Heusser P, Vijalfami H. Microdosimetric constraints on specific adaptation mechanisms to reduce DNA damage caused by ionizing radiation. *Radiat Protect Dosim.* 1990;31(1):269-74.
35. Korogodin VI, Korogodina VL. [Oncogenic consequences of human irradiation]. *Med Radiol Radiats Besopasnost.* 1997; 42(2):26-30. Russian.
36. Gotlib VYa, Pelevina II, Konoplia YeF, Alferovich AA, Kondratov AA. [Some aspects of low dose radiation effects]. *Radiobiologia.* 1991;31(3):318-25. Russian.
37. Cell survival after low doses of radiation: theoretical and clinical implications: Proceedings of the Sixth L.H. Gray Conference, London, 16-21 September 1974. Chichester: John Wiley; 1975. 397 p.
38. Pelevina II, Gotlib VI, Kudriashova OV, Antoshchina MM, Serebrianyi AM. [Properties of progeny of irradiated cells]. *Tsitologiya.* 1998;40(5):467-77. Russian.
39. Watson GE, Pocock DA, Papworth D, Lorimore SA, Wright EG *In vivo* chromosomal instability and transmissible aberrations in the progeny of haemopoietic stem cells induced by high- and low-LET radiations. *Int J Radiat Biol.* 2001 Apr;77(4):409-17.
40. Bonassi S, El-Zein R, Bolognesi C, Fenech M. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: evidence from human studies. *Mutagenesis.* 2011;26(11):93-100.
41. Twardella D, Chang-Claude J. Studies on radiosensitivity from an epidemiological point of view – overview of methods and results. *Radiother Oncol.* 2002;62:249-60.
42. Bentzen SM, Dorr W, Anscher MS, Denham JW, Hauer-Jensen M, Marks LB, Williams J. Normal tissue effects: reporting and analysis. *Semin Radiat Oncol.* 2003 Jul;13(3):189-202.
43. Byrnes GB, Southey MC, Hopper JL. Are the so-called low penetrance breast cancer genes, ATM, BRIP1, PALB2 and CHEK2, high risk for women with strong family histories? *Breast Cancer Res.* 2008;10:208-11.
44. Bau DT, Tsai CW, Wu CN. Role of the XRCC5/XRCC6 dimer in carcinogenesis and pharmacogenomics. *Pharmacogenomics.* 2011;12(4):515-34.
45. Willems P, Claes K, Baeyens A, Vandersickel V, Werbroutck J, De Ruyck K, et al. Polymorphisms in nonhomologous end-joining genes associated with breast cancer risk and chromosomal radiosensitivity. *Genes Chromosomes Cancer.* 2008;47(2): 137-48.
46. Domina EA, Ryabchenko NM. Determination of individual radiosensitivity of healthy donors on the basis of cytogenetic investigations. *Current problems of radiation research. Proc. 35th annual meeting of the ERRS.* – Kyiv: Inst. of cell biol. and genet. Engineering; 2007. p. 162-8.
47. Ryabchenko NM, Glavin OA, Shtefura W, Anikusko NF. Chromosomal radiosensitivity in Ukrainian breast cancer patients and healthy individuals. *Exp Oncol.* 2012;34(2):1-4.

annual meeting of the ERRS. – Kyiv : Inst. of cell biol. and genet. engineering, 2007. – P. 162–168.

47. Chromosomal radiosensitivity in Ukrainian breast cancer patients and healthy individuals / N. M. Ryabchenko, O. A. Glavin, V. V. Shtefura [et al.] // Exp. Oncol. – 2012. – Vol. 34, No. 2. – P. 1–4.

48. Individual differences in chromosomal aberrations after in vitro irradiation of cells from healthy individuals, cancer and cancer susceptibility syndrome patients / L. V. R. Distel, S. Neubauer, U. Keller [et al.] // Radiother. Oncol. – 2006. – Vol. 81, No. 3. – P. 257–263.

48. Distel LVR, Neubauer S, Keller U, Sprung CN, Sauer R, Grabenbauer G. Individual differences in chromosomal aberrations after in vitro irradiation of cells from healthy individuals, cancer and cancer susceptibility syndrome patients. Radiother Oncol. 2006;81(3):257-63.

Стаття надійшла до редакції 1.08.2014

Received: 1.08.2014