

ОЦІНКА ВЗАЄМОДІЇ МІЖ МАЛІГНІЗОВАНИМИ ТА НОРМАЛЬНИМИ ЛІМФОЦИТАМИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЛЮДИНИ ПРИ ЇХ СПІЛЬНО-РОЗДІЛЬНОМУ КУЛЬТИВУВАННІ

Д.А. КУРІННИЙ¹, С.Р. РУШКОВСЬКИЙ², О.М. ДЕМЧЕНКО¹, В.В. ШОЛОЙКО¹, М.А. ПІЛІНСЬКА¹

¹ Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», 04050, Київ, вул. Ю. Ілленка, 53, Україна

² Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, 01601, Київ, вул. Володимирська, 64/13, Україна

E-mail: kurinnyi.d@gmail.com, rsr@ukr.net, _demchenko@ukr.net, vsholoyko@gmail.com, pww@ukr.net.

З використанням методу Comet assay досліджено особливості взаємодії між малігнізованими та нормальними лімфоцитами периферичної крові людини при їх спільно-роздільному культивуванні. В культурі лімфоцитів умовно здорових волонтерів (клітини-свідки) під впливом клітин крові осіб, хворих на ХЛЛ (клітини-індуктори) встановлено зниження показника Tail Moment на фоні збільшення частоти клітин в стані апоптозу. В популяції клітин-індукторів під впливом клітин-свідків зареєстровано статистично значуще ($p < 0,001$) падіння як частоти клітин з високим рівнем пошкоджень ДНК, так і апоптотичної активності. Отримані результати вказують на реалізацію прямого (вплив клітин-індукторів на клітини-свідки) та зворотного (вплив клітин-свідків на клітини індуктори) феномену ТІВЕ.

Ключові слова: культура лімфоцитів периферичної крові людини, tumor-induced bystander effect, Comet assay, пошкодження ДНК, апоптоз.

Вступ. Підвищена фізіологічна активність клітин, які знаходяться в стані онкологічної трансформації, супроводжується посиленням синтезом деяких цитокінів (зокрема, TNF α , IL6, IL8) та стрес-месенджерів (NO, H₂O₂), викидом у міжклітинний простір мікроРНК і фрагментів ДНК, які шляхом прямої чи опосередкованої взаємодії можуть впливати на нормальні клітини, змінюючи їх генну активність [1]. Наслідок такого впливу нагадує результат взаємодії між опроміненними та неопроміненними клітинами — радіаційно-індуковані прямий та зворотний ефекти свідка (bystander та rescue effects, відповідно) [1–4], по аналогії з якими він дістав назву tumor-induced bystander effect — ТІВЕ [5].

Вважають, що феномен ТІВЕ сприяє розвитку вторинних злоякісних новоутворень у онкологічних хворих [5, 6], ризик виникнення яких може підвищуватися після генотоксичної хіміо- чи радіо-онкотерапії, що особливо небезпечно для дитячих та молодих контингентів онкохворих [7–9]. В свою чергу, індукція rescue effect спроможна підсилювати активацію систем репарації в онко-трансформованих клітинах під впливом непошкоджених, що може мати негативні медичні наслідки [10, 11]. Разом із тим, існує вірогідність підвищення супресії малігнізованих клітин внаслідок активації абскопального ефекту за допомогою Т-клітин-залежних шляхів, особливо, у відповідь на сумісну дію променевої та імунної онкотерапії [1, 12–16].

Актуальність проблеми взаємодії неопроміненних або опроміненних онко-трансформованих клітин людини з нормальними клітинами іншого типу стимулювала дослідження в цьому напрямку [11, 12, 16–18]. Маркерами такої взаємодії слугували мікроядра, клітини в стадії апоптозу, деякі молекулярно-генетичні показники. Результати цих досліджень підтвердили реальність маніфестації прямого чи зворотного ТІВЕ. Разом із тим, в доступній науковій літературі досі відсутні дані щодо особливостей взаємодії між малігнізованими та нормальними соматичними клітинами людини однакового типу, зокрема, лімфоцитами периферичної крові (ЛПК).

Виходячи із вищезазначеного, нами при вивченні феномену ТІВЕ в якості моделі онко-трансформованих клітин було обрано малігнізовані гемопоетичні клітини — ЛПК хворих на хронічну лімфоцитарну лейкемію (ХЛЛ), оскільки саме цю форму гемобластозів від-

© Д.А. КУРІННИЙ, С.Р. РУШКОВСЬКИЙ,
О.М. ДЕМЧЕНКО, В.В. ШОЛОЙКО,
М.А. ПІЛІНСЬКА, 2020

носять до радіаційно-асоційованої патології, захворюваність на яку підвищилась в Україні внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС [19], а в якості клітин-свідків – нормальні ЛПК умовно здорових осіб.

Метою нашої роботи є вивчення взаємного впливу цих клітин при їх сумісному культивуванні за молекулярно-генетичними показниками пошкодження геному.

Матеріали та методи. В групу порівняння було включено четверо умовно здорових волонтерів (двоє жінок, двоє чоловіків), які заперечували свідомий контакт зі зніжними чи потенційними мутагенами. Група хворих на В-клітинну ХЛЛ складалася з чотирьох осіб (двох жінок, двох чоловіків), які знаходилися на обстеженні та лікуванні у відділенні радіаційної гематології Інституту клінічної радіології ННЦРМ. Загальний об'єм досліджень включав аналіз 15600 клітин, з яких 8000 лімфоцитів умовно здорових волонтерів, 7600 малігнізованих клітин онкологічних хворих. Особи з обох груп брали добровільну участь в обстеженнях після підписання інформованої згоди.

Збір венозної крові у хворих осіб проводили до початку лікування. Сумісне культивування ЛПК, одержаних від осіб із обох груп, здійснювали протягом 48 год за модифікованим стандартним мікрометодом [20] у системах, що представляють собою дві ємності, розділені мембраною з діаметром пор 1 мкм.

Оцінку відносного рівня пошкоджуваності ДНК проводили за допомогою методу електрофорезу окремих клітин (Comet assay) в нейтральних умовах. Для приготування слайдів, лізису клітин та проведення нейтрального кометного електрофорезу використовували загальноприйнятну методику [21]. Після електрофорезу препарати фарбували DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) та аналізували під люмінесцентним мікроскопом, до якого приєднували фотоапарат Canon D1000. Зображення обробляли за допомогою програми ImageJ (imagej.nih.gov) з використанням плагіну OpenComet [22]. В якості основного параметру для визначення відносного рівня пошкодження ДНК застосовували показник Tail Moment (ТМ) [23]. Для оцінки інтенсивності процесів апоптозу в клітинній культурі аналізували частоту зустрічності «атипових» комет. Статистичну обробку

даних проводили за загальноприйнятими методами [24].

Результати досліджень та їх обговорення. Встановлено, що у осіб із групи порівняння фонові індивідуальні рівні показника ТМ при окремому культивуванні ЛПК не відрізнялись поміж собою (коливались в межах від 6,28 до 6,60, $p > 0,05$) і в середньому склали $6,46 \pm 0,27$, що збігається з результатами наших попередніх досліджень [20].

При спільному культивуванні ЛПК здорових осіб (клітини-свідки) з клітинами крові осіб, хворих на ХЛЛ (клітини-індуктори), розмах індивідуальних коливань ТМ був в межах від 3,60 до 4,77 і в середньому по групі склав $4,16 \pm 0,80$, що вказує на статистично значуще ($p < 0,001$) зниження в клітинах-свідках показника ТМ. Таким чином, зафіксовано зниження рівня міграції ДНК в агарозний гель в клітинах-свідках в порівнянні з контрольними культурами (окреме культивування).

Для того, щоб встановити з чим пов'язано зниження рівня ТМ в ЛПК умовно здорових осіб, зареєстроване під впливом онко-трансформованих клітин, проведено оцінку частотного розподілу «комет». Всі «комети» були розділені за значеннями ТМ на 17 груп (ТМ від 0 до 16 <). Якщо ТМ дорівнював граничному значенню, «комету» відносили до наступної групи (рис. 1, 2).

Як видно з рис. 1, аналіз такого розподілу при окремому культивуванні ЛПК умовно здорових осіб показав переважання популяцій клітин з ТМ в межах від 0 до 9, що відповідає низькому рівню пошкодження геному. Розподіл «комет» серед цих груп мав рівномірний характер. Зафіксована наявність клітинного пулу зі значенням ТМ від 16 (остання група).

При спільному культивуванні нормальних та малігнізованих ЛПК (рис. 2) виявлено статистично значуще ($p < 0,001$) зростання частоти «комет» першої групи (ТМ < 1).

Однією з особливостей кометного електрофорезу в нейтральних умовах є відсутність міграції ДНК в агарозний гель із клітин, що знаходяться на S стадії мітотичного циклу [20]. Саме такі клітини формують групу з ТМ від 0 до 1. Таким чином, враховуючи те, що культури ЛПК є умовно синхронізованими, отриманий результат може бути пов'язаний з наявністю пу-

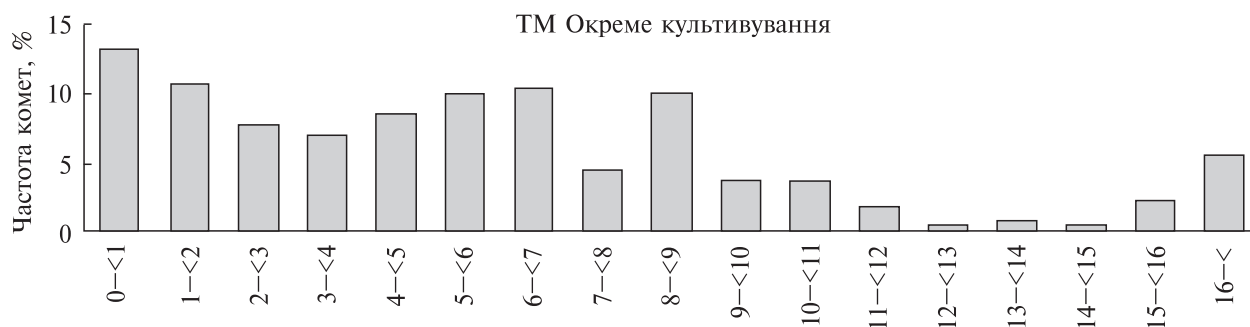


Рис. 1. Розподіл «комет» за ТМ при окремому культивуванні ЛПК умовно здорових осіб

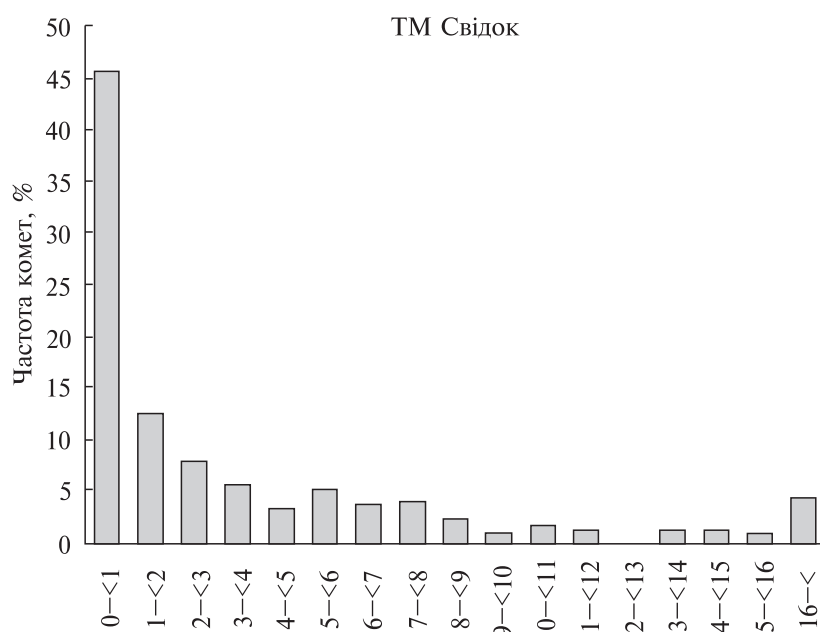


Рис. 2. Розподіл «комет» за ТМ при спільному культивуванні ЛПК умовно здорових осіб з малігнізованими клітинами крові хворих на ХЛЛ

лу інтенсивно пошкоджених клітин, у яких спрацював чутливий checkpoint S/G₂, що призвело до їх затримання на цій стадії клітинного циклу.

Як відомо, в малігнізованих ЛПК хворих на ХЛЛ спостерігається значне збільшення синтезу цитокінів, які є одним із ключових елементів запуску радіаційно-індукованого ефекту свідка [25, 26]. Ймовірно, що вплив онкотрансформованих клітин також призводить до розвитку в нормальних клітинах-свідках аналогічних процесів. У відповідь на дію стрес-факторів з клітин-індукторів (цитокінів, мікроРНК, фрагментів ДНК) в клітинах-свідках зростає синтез вторинних стрес-месенджерів з активною формою кисню (NO, H₂O₂) [1, 27], що призводить до виникнення одно-ланцюго-

вих розривів ДНК, та, як наслідок, до розвитку геномної нестабільності [28]. В результаті цього клітини з високим рівнем нерепарованих геномних пошкоджень не проходять checkpoint на S стадії клітинного циклу. Отриманий нами результат підтверджує вплив малігнізованих гемопоетичних клітин хворих на ХЛЛ на стабільність геному ЛПК здорових осіб, тобто реалізацію феномену TІВЕ.

Дані аналізу частоти пошкоджень ДНК в клітинах крові осіб, хворих на ХЛЛ, при їх окремому культивуванні та спільному культивуванні з ЛПК умовно здорових осіб представлені на рис. 3, 4.

Як видно з даних, наведених на рис. 3, при окремому культивуванні клітин хворих осіб

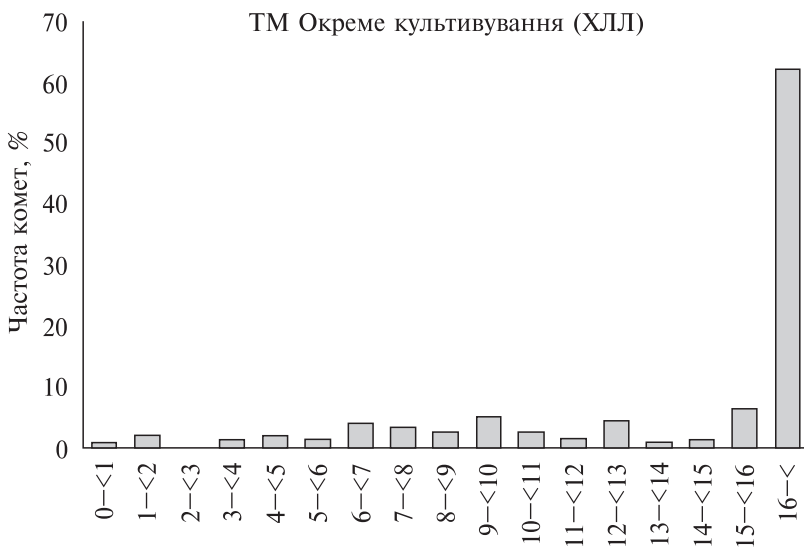


Рис. 3. Розподіл «комет» за ТМ при окремому культивуванні клітин осіб, хворих на ХЛЛ

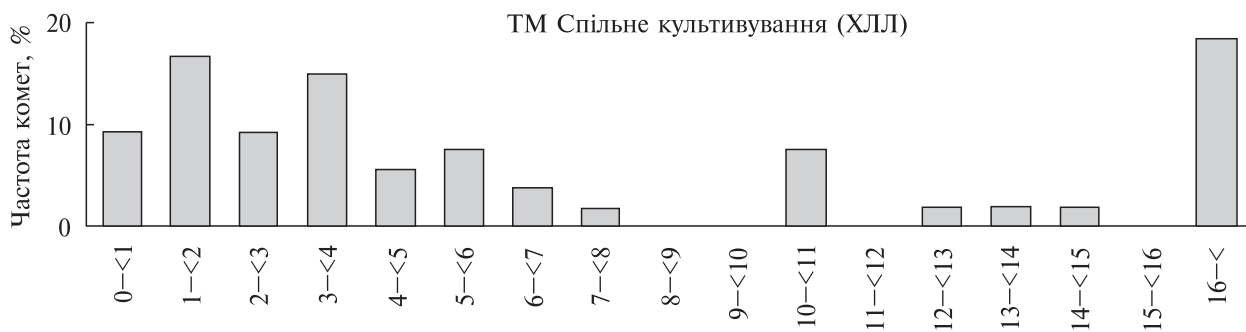


Рис. 4. Розподіл «комет» за ТМ при спільному культивуванні клітин крові осіб хворих на ХЛЛ з нормальними ЛПК умовно здорових осіб

домінували «комети» з максимальним значенням ТМ > 16, що свідчить про високий рівень геномної нестабільності в онко-трансформованих клітинах. Разом із тим, при спільному культивуванні клітин хворих на ХЛЛ з ЛПК умовно здорових осіб (рис. 4) встановлено статистично значуще ($p < 0,001$) зниження частоти «комет» з ТМ > 16 та зростання популяції клітин з ТМ від 0 до 6. Одержані дані свідчать про реалізацію ефекту, який за своєю дією аналогічний радіаційно-індукованому зворотному ефекту свідка (rescue effect), коли в клітинах-індукторах під впливом клітин-свідків відбувається посилення процесів репарації [1, 27, 28]. Однак, зважаючи на те, що в крові хворих на ХЛЛ не всі клітини знаходяться в стані злоякісної трансформації, отриманий результат відкриває питання: яка з клітинних популяцій

задіяна в цих процесах – онко-трансформована чи нормальна? Якщо посилення процесів репарації відбувається в малігнізованих клітинах, чи не збільшує це їх резистентність? Відповідь на ці запитання потребує проведення подальших досліджень, які будуть сприяти розумінню потенціального ризику виникнення вторинних злоякісних новоутворень у онкологічних хворих та його профілактиці.

Дані щодо апоптогенної активності в культурі ЛПК умовно здорових осіб та пацієнтів з діагнозом ХЛЛ представлені на рис. 5.

При окремому культивуванні ЛПК осіб з групи порівняння спонтанний рівень апоптичної активності коливався в межах $1,11 \pm 0,67$ до $2,89 \pm 1,33$ на 100 клітин ($p > 0,05$) і в середньому становив $2,00 \pm 0,60$ на 100 клітин, що відповідало нашим попереднім даним [20].

В культурі ЛПК осіб, хворих на ХЛЛ, спостерігали статистично значуще ($p < 0,05$) підвищення в порівнянні з відповідними показниками культур ЛПК умовно здорових осіб як індивідуальних частот клітин в стані апоптозу з розмахом індивідуальних коливань від $3,11 \pm 1,01$ до $6,33 \pm 1,33$ на 100 клітин, так, відповідно, і їх середньо-групового рівня ($4,94 \pm 1,33$ на 100 клітин).

При спільному культивуванні малігнізованих гемопоетичних клітин хворих на ХЛЛ (клітини-індуктори) та ЛПК умовно здорових волонтерів (клітини-свідки) виявлено різноспрямовані процеси – статистично значуще зростання середньогрупової частоти клітин в стані апоптозу в популяції клітин-свідків ($7,86 \pm 0,97$ на 100 клітин, $p < 0,001$), але зменшення цього показника в клітинах-індукторах ($2,40 \pm 0,63$ на 100 клітин, $p < 0,01$).

Відомо, що реалізація радіаційно-індукованого ефекту свідка супроводжується підвищенням частоти апоптозу серед клітин-свідків [30]. Зважаючи на активну участь в розвитку класичного ефекту свідка фактора некрозу пухлин TNF- α та інших цитокінів [1], а також враховуючи посилений синтез цих речовин онкотрансформованими клітинами хворих на ХЛЛ [25, 26, 29], не виключено, що встановлена нами зміна апоптичної активності в ЛПК умовно здорових осіб при їх сумісному культивуванні з клітинами хворих на ХЛЛ пов'язана з відповіддю саме на цей вплив.

Особливу увагу привертають результати щодо зниження апоптичної активності в культурі клітин хворих на ХЛЛ при їх спільному культивуванні з ЛПК умовно здорових осіб. Статистично значуще ($p < 0,01$) падіння середньогрупових частот клітин в стані апоптозу з $4,94 \pm 0,67$ на 100 клітин (окреме культивування) до $2,40 \pm 0,63$ на 100 клітин (спільне культивування), може бути пов'язано з активацією процесів репарації. Можливим поясненням отриманих результатів є активація NF- κ B залежного шляху блокування апоптозу в клітинах хворих на ХЛЛ [31], яка була викликана впливом ЛПК умовно здорових осіб. Це припущення потребує подальшої перевірки.

Отримані результати свідчать про наявність взаємного впливу нормальних та онкологічно-трансформованих соматичних клітин людини

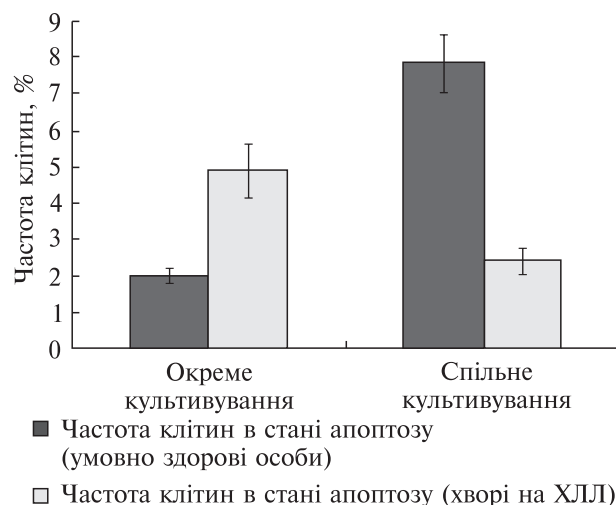


Рис. 5. Порівняння частот клітин в стані апоптозу при окремому та спільному культивуванні клітин осіб, хворих на ХЛЛ, та ЛПК умовно здорових осіб

і підтверджують можливість індукції прямого та зворотного феноменів ТІВЕ.

Висновки. Сумісне культивування гемопоетичних клітин осіб, хворих на ХЛЛ, з інтактними лімфоцитами периферичної крові умовно здорових осіб призводить до збільшення рівня пошкоджень ДНК та зростання частоти клітин в стані апоптозу в нормальних клітинах, що подібно до прямого ефекту свідка. Сумісне культивування гемопоетичних клітин осіб, хворих на ХЛЛ, з інтактними лімфоцитами периферичної крові умовно здорових осіб призводить до зниження рівня геномної нестабільності та пригнічення процесів апоптозу в клітинах-індукторах, що подібно до зворотного ефекту свідка.

Дотримання етичних стандартів. У роботі керувались положенням Гельсінкської декларації Всесвітньої Медичної Асоціації (2008 р.), яка передбачає інформовану згоду осіб на участь у проведенні відповідних досліджень, а також загальними етичними принципами, ухваленими Першим національним конгресом України з біоетики (2001 р.).

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Робота виконувалась авторами без фінансування зі сторони державних та/або не державних фондів та фінансових інституцій.

EVALUATION OF THE INTERACTION BETWEEN MALIGNANT AND NORMAL HUMAN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES UNDER THEIR JOINT-SEPARATION CULTIVATION

D.A. Kurinnyi, S.R. Rushkovsky, O.M. Demchenko, V.V. Sholoiko, M.A. Pilinska

State institution «National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Yu. Illenka str., 53, Kyiv, 04050, Ukraine
Educational and Research Center «Institute of Biology and Medicine» of Kyiv Taras Shevchenko National University, Vladimirskaya str., 64/13, Kyiv, 01601, Ukraine
E-mail: kurinnyi.d@gmail.com, rsr@ukr.net, _demchenko@ukr.net, vsholyko@gmail.com, pww@ukr.net.

Using the Comet assay the peculiarities of the interaction between malignant and normal human peripheral blood lymphocytes under their joint-separation cultivation were investigated. A decrease in Tail Moment was observed against an increase in the frequency of cells in the state of apoptosis in the culture of lymphocytes from conditionally healthy volunteers (bystander cells) under the influence of blood cells from patients with CLL (inductor cells). A statistically significant ($p < 0.001$) reduction both in the frequency of cells with high levels of DNA damages and apoptotic activity was established in the population of inductor cells under the influence of the bystander cells. The results obtained indicate the realization as direct (effect of cells-inductors on bystander cells) as well as the reverse (effect of bystander cells on cells-inductors) TIBE phenomenon.

ОЦЕНКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ МАЛИГНИЗИРОВАННЫМИ И НОРМАЛЬНЫМИ ЛИМФОЦИТАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ИХ СОВМЕСТНО-РАЗДЕЛЬНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

Д.А. Куринний, С.Р. Рушковський, О.М. Демченко, В.В. Шолойко, М.А. Пилинская

С использованием метода Comet assay исследованы особенности взаимодействия между малигнизированными и нормальными лимфоцитами периферической крови человека при их совместно-раздельном культивировании. В культуре лимфоцитов условно здоровых добровольцев (клетки-свидетели) под влиянием клеток крови лиц, больных ХЛЛ (клетки-индукторы) установлено снижение показателя Tail Moment на фоне увеличения частоты клеток в состоянии апоптоза. В популяции клеток-индукторов под влиянием клеток-свидетелей зарегистрировано статистически значимое ($p < 0,001$) падение как частоты клеток с высоким уровнем

повреждений ДНК, так и апоптотической активности. Полученные результаты указывают на реализацию прямого (влияние клеток-индукторов на клетки-свидетели) и обратного (влияние клеток-свидетелей на клетки индукторы) феномена TIBE.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Rong, Wang, Tingyang, Zhou, Wei, Liu, and Li, Zuo, Molecular mechanism of bystander effects and related abscopal/cohort effects in cancer therapy. *Oncotarget.*, 2018, vol. 9, no. 26, pp. 18637–47. doi: 10.18632/oncotarget.24746.
2. Widel, M., Radiation induced bystander effect: From *in vitro* studies to clinical application. *Int. J. Medical Physics. Clinic. Engin. Radiat. Oncol.*, 2016, vol. 5, pp. 1–17. doi: 10.4236/ijmpcero.2016.51001.
3. Verma, N., Tiku, A.B., Significance and nature of bystander responses induced by various agents. *Mutat. Res.*, 2017, vol. 773, pp. 104–21. doi: 10.1016/j.mrrev.2017.05.003.
4. Mothersill, C., Rusin, A., Fernandez-Palomo, C., and Seymour, C., History of bystander effects research 1905 – present; what is in a name? *Int. J. Radiat. Biol.*, 2018, vol. 94, no. 8, pp. 696–707. doi: 10.1080/09553002.2017.1398436.
5. Redon, C.E., Dickey, J.S., Nakamura, A.J., Kareva, I.G., Naf, D., Nowsheen, S., Kryston, T.B., Bon-ner, W.M., Georgakilas, A.G., and Sedelnikova, O.A., Tumors induce complex DNA damage in distant proliferative tissues *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, vol. 107, no. 42, pp. 17992–7. doi: 10.1073/pnas.1008260107.
6. Martin, O.A., Redon, C.E., Nakamura, A.J., Dickey, J.S., Georgakilas, A.G., and Bonner, W.M., Systemic DNA damage related to cancer. *Cancer Res.*, 2011, vol. 71, no. 10, pp.3437–41. doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-4579.
7. Choi, D.K., Helenowski, I., and Hijjiya, N., Se-condary malignancies in pediatric cancer survivors: perspectives and review of the literature, *Inter. J. Cancer*. 2014, vol. 135, pp. 1764–73. doi: 10.1002/ijc.28991.
8. Lee, J.S., DuBois, S.G., Coccia, P.F., Bleyer, A., Olin, R.L., and Goldsby, R.E., Increased risk of second malignant neoplasms in adolescents and young adults with cancer. *Cancer*, 2016, vol. 122, pp. 116–23. doi: 10.1002/cncr.29685.
9. He, X., Wu, W., Ding, Y., Li, Y., Si, J., and Sun, L., Excessive risk of second primary cancers in young-onset colorectal cancer survivors. *Cancer Med.*, 2018, vol. 7, pp. 1201–10. doi: 10.1002/cam4.1437.
10. Chen, S., Zhao, Y., Han, W., Chiu, S.K., Zhu, L., Wu, L., and Yu, K.N., Rescue effects in radiobiology: Unirradiated bystander cells assist irradiated cells through intercellular signal feedback. *Mut. Res.*, 2011, vol. 706, pp. 59–64. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2010.10.011.

11. Kobayashi, A., Autsavapromporn, N., Ahmad, T., Oikawa, M., Homma-Takeda, S., Furusawa, Y., Wang, J., and Konishi, T., Bystander WI-38 cells modulate DNA double-strand break repair in microbeam-targeted A549 cells through gap junction intercellular communication. *Rad. Protec. Dosim.*, 2018, pp. 1–5. doi: 10.1093/rpd/ncy249.
12. Widel, M., Przybyszewski, W.M., Cieslar-Pobuda, A., Saenko, Y.V., and Rzeszowska-Wolny, J., Bystander normal human fibroblasts reduce damage response in irradiated targeted cancer cells through intercellular ROS level modulation. *Mutat. Res.*, 2012, vol. 731, no. 1–2. pp. 117–24. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.12.007.
13. Verma, V., Lin, S.H., Implications of the bystander and abscopal effects of radiation therapy. *Clin. Cancer Res.*, 2016, vol. 22, no. 19. pp. 4763–65. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1512.
14. Stamell E.F., Wolchok J.D., Gnjatic S., Lee N.Y., Brownell I. The abscopal effect associated with a systemic anti-melanoma immune response. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2013, vol. 85, pp. 293–5. doi: 10.1016/j.ijrobp.2012.03.017.
15. Muto, P., Falivene, S., Borzillo, V., Giugliano, F.M., Sandomenico, F., Petrillo, A., Curvietto, M., Esposito, A., Paone, M., Palla, M., Palmieri, G., Caract, C., Ciliberto, G., Mozzillo, N., and Ascierio, P.A., Abscopal effects of radiotherapy on advanced melanoma patients who progressed after ipilimumab immunotherapy. *Oncoimmunology*. 2014, no. 3, e28780. doi: 10.4161/onci.28780.
16. Batson, S.A., Breazzano, M.P., Milam, R.W., Shinohara, E., Johnson, D.B., and Daniels, A.B., Rationale for Harnessing the Abscopal Effect as Potential Treatment for Metastatic Uveal Melanoma. *Int. Ophthalmol. Clin.*, 2017, vol. 57, pp. 41–8. doi: 10.1097/IIO.0000000000000152.
17. Desai, S., Kobayashi, A., Konishi, T., Oikawa, M., and Pandey, B.N., Damaging and protective bystander cross-talk between human lung cancer and normal cells after proton microbeam irradiation. *Mutat. Res.*, 2014. vol. 763–764. pp. 39–44. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2014.03.004.
18. Ghosh, S., Ghosh, A., and Krishna, M., Role of ATM in bystander signaling between human monocytes and lung adenocarcinoma cells. *Mutat. Res.*, 2015. vol. 794. pp. 39–45. doi: 10.1016/j.mrgentox.2015.10.003.
19. Bazyka, D., Dyagil, I., Gudzenko, N., Chumak, V., and Romanenko, A., Leukemia in cleanup workers: radiation, professional and lifestyle risks. Health effects of the Chernobyl accident – thirty years aftermath. Kyiv: DIA, 2016, 524 p.
20. Kurinnyi, D.A., Rushkovsky, S.R., Demchenko, O.M., and Pilinska, M.A., Peculiarities of modification by astaxanthin the radiation-induced damages in the genome of human blood lymphocytes exposed *in vitro* on different stages of the mitotic cycle. *Cytol. Genet.*, 2018, vol. 52, no. 1, pp. 40–5. doi: 10.3103/S0095452718010073.
21. Olive, P.L., Banáth, J.P., The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. *Nat. protocols*, 2006, vol. 1, no. 1, pp. 23–9. doi:10.1038/nprot.2006.5. doi: 10.1038/nprot.2006.5.
22. Gyori, B.M., Venkatachalam, G., Thiagarajan, P.S., Hsu, D., and Clement, M., OpenComet: An automated tool for comet assay image analysis. *Redox Biol.*, 2014, no. 2, pp. 457–65. doi: 10.1016/j.redox.2013.12.020.
23. Kurinnyi, D., Rushkovsky, S., Demchenko, O., and Pilinska, M., Astaxanthin as a modifier of genome instability after γ -radiation. *Progress in Carotenoid Res.*, Ed. by L. Zepka, E. Jacob-Lopes, V. Vera De Rosso. London, In Tech Open., 2018, pp. 121–38.
24. Rosner, B., *Fundamentals of Biostatistics*, Eighth Edition. Cengage Learning, 2015, 962 p.
25. Rozovski, U., Keating, M.J., and Estrov, Z., Targeting inflammatory pathways in chronic lymphocytic leukemia. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2013, vol. 88, no. 3, P. 655–66. doi: 10.1016/j.critrevonc.2013.07.011.
26. Saulep-Easton, D., Vincent, F.B., Le Page, M., Wei, A., Ting, S.B., Croce, C.M., Tam, C., and Mackay, F., Cytokine-driven loss of plasmacytoid dendritic cell function in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*, 2014, vol. 28, pp. 2005–15. doi: 10.1038/leu.2014.105.
27. Lam, R.K., Fung, Y.K., Hun, W., and Yu, K.N., Rescue effects: irradiated cells helped by unirradiated bystander cells. *Int. J. Mol. Sci.*, 2015, vol. 16, no. 2, pp. 2591–609. doi: 10.3390/ijms16022591.
28. Burdak-Rothkamm, S., Rothkamm, K., Radiation-induced bystander and systemic effects serve as a unifying model system for genotoxic stress responses. *Mutat Res.*, 2018, vol. 778, pp. 13–22. doi: 10.1016/j.mrrev.2018.08.001.
29. Yan, X.J., Dozmorov, I., Li, W., Yancopoulos, S., Sison, C., Centola, M., Jain, P., Allen, S.L., Koltz, J.E., Rai, K.R., Chiorazzi, N., and Sherry, B., Identification of outcome-correlated cytokine clusters in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.*, 2011, vol. 118, no. 19, pp. 5201–10. doi: 10.1182/blood-2011-03-342436.
30. Najafi, M., Fardid, R., Hadadi, G., and Fardid, M. The mechanisms of radiation-induced bystander effect. *J. Biomed. Phys. Eng.*, 2014, vol. 4, no. 4, pp. 163–72.
31. Kaltschmidt, B., Kaltschmidt, C., Hofmann, T.G., Hehner, S.P., Dröge, W., and Schmitz, M.L., The pro- or anti-apoptotic function of NF-kappaB is determined by the nature of the apoptotic stimulus. *Eur. J. Biochem.*, 2000, vol. 267, no. 12, pp. 3828–35. doi: 10.1046/j.1432-1327.2000.01421.x.

Надійшла в редакцію 30.08.19
Після доопрацювання 23.10.19
Прийнята до друку 18.03.20