

<https://doi.org/10.15407/dopovidi2020.04.091>

УДК 615.849:575.191:616.831 – 006.484

**О.В. Земскова¹, О.Я. Главацький¹, Д.А. Курінний²,
О.М. Демченко², С.Р. Рушковський³**

¹ ДУ “Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України”, Київ

² ДУ “Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України”, Київ

³ ННЦ “Інститут біології та медицини”

Київського національного університету ім. Тараса Шевченка

E-mail: rsr@ukr.net

Індивідуальні особливості радіаційно-індукованої геномної нестабільності у хворих на гліобластому

Представлено членом-кореспондентом НАН України В.А. Кунахом

Методом електрофорезу окремих клітин (comet assay) в нейтральних умовах досліджено особливості індивідуальної радіаційно-індукованої нестабільності геному хворих на гліобластому. Встановлено, що в культурі лімфоцитів периферичної крові у двох осіб з патоморфологічно верифікованою гліобластомою (пацієнти № 1 та № 3) відсоток “комет” з високим рівнем пошкоджень достовірно перевищував показники в культурах лімфоцитів крові осіб з групи порівняння. Після опромінення культур лімфоцитів у дозі 1,0 Гр частота клітин з високим показником розривів ДНК зросла в культурах лімфоцитів двох пацієнтів (№ 2 та № 3) і знизилась у одного пацієнта (№ 1). Частотний аналіз розподілу “комет” за значеннями рівня пошкоджень ДНК показав наявність у неопроміненіх культурах лімфоцитів пацієнтів № 2 та № 3 значного пулу клітин, які зупинили поділ на S стадії клітинного циклу. Після опромінення частота таких клітин у пацієнта № 3 значно зменшилась. Відмічено, що апоптична активність у культурах лімфоцитів нейроонкологічних хворих була достовірно вища, ніж у культурах умовно здорових волонтерів.

Ключові слова: гліобластома, γ -опромінення, культура лімфоцитів периферичної крові людини, апоптоз, електрофорез окремих клітин.

Зростання частоти онкозахворювань у світі є одним із головних викликів сьогодення. За оцінкою ВОЗ, більш ніж 75 % захворювань на рак у людей обумовлені факторами зовнішнього середовища (сюди відносять паління цигарок, особливості харчування, застосування ліків, радіаційне та хімічне забруднення довкілля, особливості географічного місця проживання) [1].

Цитування: Земскова О.В., Главацький О.Я., Курінний Д.А., Демченко О.М., Рушковський С.Р. Індивідуальні особливості радіаційно-індукованої геномної нестабільності у хворих на гліобластому. *Допов. Нац. акад. наук Укр.* 2020. № 4. С. 91–98. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2020.04.091>

Приблизно 1,3 % загальної кількості злоякісних новоутворень різних органів і систем людини складають первинні злоякісні пухлини головного мозку, серед яких найчастіше реєструються гліоми — пухлини, що утворюються з похідних елементів глії. Найбільш агресивною і поширеною пухлиною головного мозку у дорослих є гліобластома (ГБ). ГБ становить 14,9 % первинних пухлин і 46,6 % первинних злоякісних пухлин центральної нервової системи [2].

У комплексному ад'ювантному лікуванні ГБ провідне місце належить радіотерапії, ефективність якої значною мірою залежить від особливостей реакції клітин хворого на дію іонізуючої радіації. Загальна радіочутливість клітин залежить як від ефективності роботи систем підтримки стабільності геному (регуляції клітинного циклу, репарації пошкоджень ДНК), так і активності процесів, що регулюють запуск процесів апоптозу [3–7]. Визначення параметрів, за якими можна охарактеризувати особливості розвитку радіаційно-індукованої геномної нестабільності та апоптичну активність опромінених клітин, є необхідним етапом для встановлення індивідуальних характеристик радіочутливості хворих перед призначенням медичного опромінення.

У даному дослідженні для оцінки індивідуальних особливостей дестабілізації геному хворих на ГБ під дією іонізуючої радіації ми застосовували метод електрофорезу окремих клітин (comet assay) у нейтральних умовах [8, 9]. Дана модифікація кометного електрофорезу дає можливість одночасно оцінювати відносний рівень одно- та дволанцюгових розривів ДНК, визначати кількість клітин, у яких у результаті значних пошкоджень геному відбувається зупинка клітинного циклу на S стадії, а також частоту клітин, які знаходяться у стані апоптозу [10].

Матеріали та методи. Використовували культури лімфоцитів периферичної крові від трьох хворих на ГБ (вік 33, 54 та 55 років). У всіх випадках діагноз було верифіковано патоморфологічно після хірургічного видалення пухлини. Хірургічне лікування проводили в ДУ “Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України”. У жодного хворого ад'ювантне лікування (хіміо-, радіотерапія) не проводилось.

Як контроль використовувались культури лімфоцитів, одержані від чотирьох умовно здорових волонтерів (дві жінки, два чоловіка) віком 35–51 років, середній вік — 43 роки, які заперечували свідомий контакт зі знаними чи потенційними мутагенами, вели здоровий спосіб життя. Усі особи були залучені у дослідження за умови надання поінформованої згоди. Під час досліджень дотримувалися етичних норм, прийнятих українським законодавством.

Лімфоцити культивували протягом 48 год за модифікованим нами стандартним мікрометодом [11]. Частину культур опромінювали γ -квантами (випромінювач IBL-237C, потужність 2,34 Гр/хв) у дозі 1,0 Гр на 0 годині культивування.

Відносний рівень пошкодження ДНК оцінювали методом електрофорезу окремих клітин (comet assay) в нейтральних умовах. Приготування слайдів, лізис клітин та нейтральний кометний електрофорез проводили за загальноприйнятою методикою [8]. Після електрофорезу препарати фарбували DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) у концентрації 2 мкг/мл і аналізували під люмінесцентним мікроскопом. Зображення аналізували за допомогою програми Image J (imagej.nih.gov) з використанням плагіну OpenComet [12]. Як параметр для визначення відносного рівня пошкодження ДНК використовували показник “Tail Moment” (ТМ). “Атипові комети” (АК), які утворюються з клітин з високим рівнем фраг-

ментації ДНК, аналізували окремо. Для статистичної обробки даних застосовували загальноприйняті методи [13].

Результати та їх обговорення. Під час досліджень за допомогою методу Comet assay в культурах лімфоцитів периферичної крові осіб з діагностованою ГБ тільки в одному випадку (пацієнт № 1) було зареєстровано значне підвищення рівня пошкоджень ДНК (показник ТМ) порівняно з середньогруповими показниками умовно здорових волонтерів ($7,61 \pm 0,43$ та $4,07 \pm 0,6$ відповідно, $p < 0,05$) (рис. 1). Показники ТМ у культурах пацієнтів № 2, № 3 і групи порівняння достовірно не відрізнялися ($p > 0,05$).

Відомо, що дія іонізуючого випромінювання в дозі 1,0 Гр призводить до виникнення в клітині близько 1000 одноланцюгових та 20–40 дволанцюгових розривів ДНК [14], що призводить до збільшення ТМ. Крім того, оскільки пошкодження спричиняють посилення процесів репарації ДНК, зростання ТМ пов'язано з міграцією в агарозний гель релаксованих петель ДНК. Згідно з наведеними на рис. 1 даними, очікуване збільшення ТМ після опромінення *in vitro* зафіксовано в культурах лімфоцитів осіб контрольної групи та пацієнтів № 2 і № 3. Відмічене зростання найбільш значущим було у пацієнта № 2 (з $3,71 \pm 0,54$ до $11,09 \pm 1,03$), яке статистично перевищує дані групи контролю (з $4,07 \pm 0,6$ до $7,61 \pm 0,43$, $p < 0,05$). У культурах пацієнта № 1 спостерігалася не характерна реакція – зниження ТМ після дії іонізуючого випромінювання (з $9,54 \pm 1,35$ до $6,98 \pm 0,78$, $p < 0,05$).

Для більш детального аналізу нами досліджено частотний розподіл окремих клітин залежно від рівня пошкоджуваності ДНК. Вибірка “комет”, які були визначені в різних варіантах експерименту, була розбита за значеннями ТМ на 17 груп від 0 до $16 <$ з кроком 1. Якщо значення ТМ дорівнювало граничному, “комету” відносили до наступної групи. Результати частотного аналізу наведені на рис. 2.

У культурах лімфоцитів умовно здорових волонтерів після опромінення значно зростає частота “комет” з ТМ більш ніж 16 (див. рис. 2, а), яка формується клітинами з високим рівнем пошкоджень ДНК. До цієї групи також можуть входити клітини, в яких розпочався, але не завершився процес апоптозу. Спостерігається також підвищення частоти “комет”, які належать до груп з ТМ від 2 до 3 та від 3 до 4.

Аналізуючи контрольний розподіл “комет” пацієнтів, звернемо увагу на наявність крупного клітинного пулу, який належить до групи з ТМ від 0 до 1, в культурах лімфоцитів пацієнтів № 2 та № 3 ($32,03 \pm 4,12$ та $21,89 \pm 3,16$ на 100 клітин відповідно; див. рис. 2, в, з). Однією з особливостей кометного електрофорезу в нейтральних умовах є відсутність міграції ДНК в агарозний гель у клітин, що знаходяться на S стадії циклу [11]. Саме такі клітини формують групу з ТМ від 0 до 1. Збільшення їх кількості відображає наявність сильно пошкоджених лімфоцитів, в яких, імовірно, спрацював чек-поїнт на S фазі клітинного циклу. Також, у культурах лімфоцитів пацієнтів № 1 та № 3 зареєстровано біль-

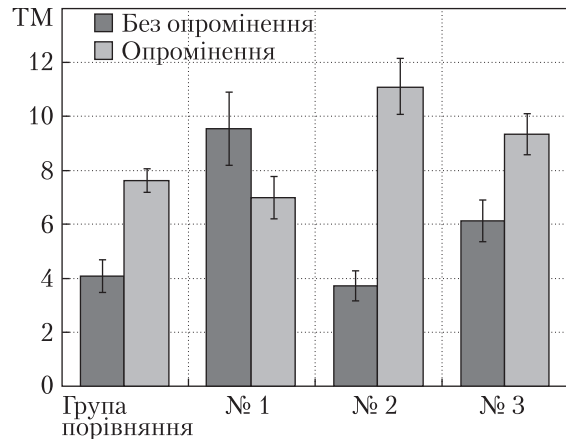


Рис. 1. Рівень ТМ в інтактних та опроміненних культурах лімфоцитів периферичної крові

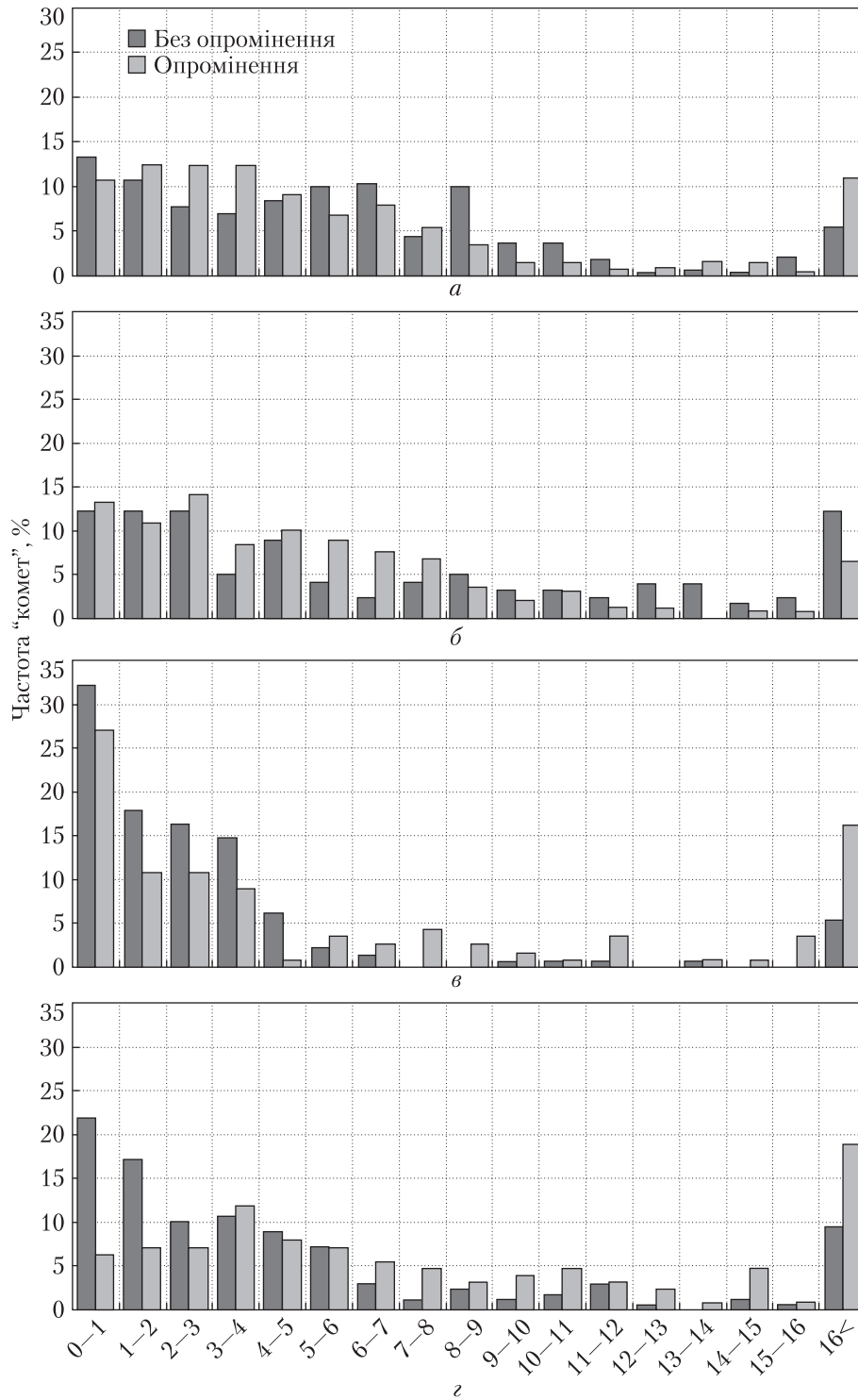


Рис. 2. Частотний розподіл "комет" за значеннями ТМ (0–16<) у неопроміненних та опроміненних культурах. *a* – група порівняння; *б* – пацієнт № 1; *в* – пацієнт № 2; *г* – пацієнт № 3

ший, ніж у групі порівняння, рівень клітин з високим рівнем пошкоджень (ТМ більше 16, $p < 0,05$).

Після провокаційного опромінення *in vitro* (доза 1,0 Гр) у клітинних культурах пацієнтів № 2, № 3 зареєстровано падіння частоти “комет” у перших трьох групах на фоні статистично значущого зростання ($p < 0,05$) частоти клітин з високим рівнем пошкоджень ДНК (остання група, ТМ 16<; див. рис. 2, в, г). Зважаючи на те що група ТМ 0 – 1 формується з клітин, що зупинилися в поділі в результаті наявності пошкоджень ДНК, зареєстровані нами процеси, імовірно, відображають порушення функціонування чек-поінт контролю на стадії S клітинного циклу після опромінення.

В опроміненіх культурах лімфоцитів пацієнта № 1 привертає увагу зменшення ($p < 0,001$) пулу клітин з високим рівнем пошкоджень (ТМ 16<, з $12,29 \pm 2,97$ до $6,47 \pm 1,56$; див. рис. 2, б), що пояснює відсутність зростання середніх показників ТМ у клітинних культурах цього пацієнта у відповідь на дію іонізуючого випромінювання (див. рис. 1).

Оскільки зменшення рівня комет в останній групі (ТМ 16<) може бути пов’язано з елімінацією клітин з високим рівнем пошкоджень, було проведено додатковий контроль апоптичної активності в культурах лімфоцитів периферичної крові (рис. 3). Дані, наведені на рис. 3, свідчать про те, що частота клітин у стані апоптозу в неопроміненіх клітинних культурах нейроонкологічних хворих достовірно ($p < 0,001$) перевищувала відповідний показник у культурі групи порівняння у всіх варіантах експерименту. Після опромінення збільшення кількості клітин у стані апоптозу спостерігалось тільки у пацієнта № 1 (з $12,50 \pm 1,96\%$ до $30,40 \pm 2,75\%$, $p < 0,01$), тоді, як у пацієнта № 2 апоптична активність у лімфоцитах значно знижувалася (з $30,00 \pm 3,24\%$ клітин у стані апоптозу в неопроміненіх культурах до $21,86 \pm 3,65\%$ клітин після опромінення, $p < 0,05$).

Таким чином, за допомогою методу електрофорезу окремих клітин нами встановлені індивідуальні особливості прояву геномної нестабільності в інтактних та опроміненіх лімфоцитах периферичної крові хворих на ГБ: підвищення рівня геномної нестабільності в інтактних клітинних культурах лімфоцитів периферичної крові пацієнтів № 1 і № 3 порівняно з відповідними показниками умовно здорових осіб; достовірне збільшення частоти клітин у стані апоптозу в неопроміненіх і опроміненіх культурах лімфоцитів всіх нейроонкологічних хворих відносно групи порівняння; опромінення *in vitro* в дозі 1,0 Гр спричинило збільшення рівня ТМ у культурах лімфоцитів пацієнтів № 2 і № 3, а у пацієнта № 1 – зменшення частоти клітин з великою кількістю пошкоджень ДНК за рахунок додаткової активації апоптичної активності.

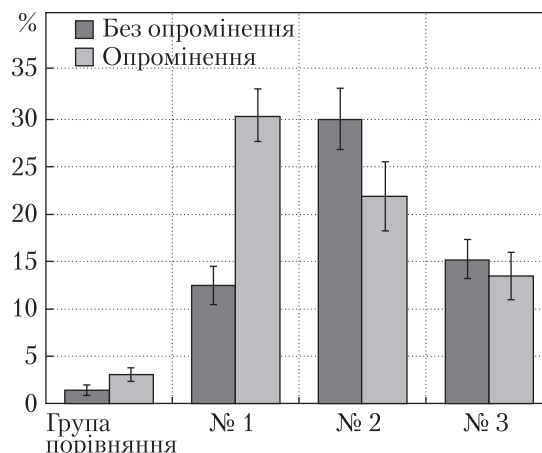


Рис. 3. Зміна частоти клітин у стані апоптозу в культурах лімфоцитів периферичної крові після опромінення *in vitro* в дозі 1,0 Гр

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Latest global cancer data: Cancer burden rises to 18.1 million new cases and 9.6 million cancer deaths in 2018. IARC, WHO. Press Release № 263. 2018. 3 p. URL: https://www.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/09/pr263_E.pdf
2. Ostrom Q.T., Gittleman H., Truitt G., Boscia A., Kruchko C., Barnholtz-Sloan J.S. CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2011-2015. *Neuro Oncol.* 2018. **20**, Suppl. 4. P. iv1–iv86. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nyy131>
3. Dyomina E.A., Ryabchenko N.M. Increased individual chromosomal radiosensitivity of human lymphocytes as a parameter of cancer risk. *Exp. Oncol.* 2007. **29**, № 3. P. 217–220.
4. Borgmann K., Hoeller U., Nowack S., Bernhard M., Röper B., Brackrock S., Petersen C., Szymczak S., Ziegler A., Feyer P., Alberti W., Dikomey E. Individual radiosensitivity measured with lymphocytes may predict the risk of acute reaction after radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2008. **71**, № 1. P. 256–264. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2008.01.007>
5. Han W., Yu K.N. Response of cells to ionizing radiation. *Advances in biomedical sciences and engineering*: Tjong S.C. (Ed.). Oak Park, Illinois: Bentham Science Publishers Ltd., 2009. P. 204–262. <https://doi.org/10.2174/978160805040610901010204>
6. Furlong H., Mothersill C., Lyng F. M., Howe O. Apoptosis is signalled early by low doses of ionising radiation in a radiation-induced bystander effect. *Mutat. Res.* 2013. **741–742**. P. 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2013.02.001>
7. Foray N., Bourguignon M., Hamada N. Individual response to ionizing radiation. *Mutat. Res.* 2016. **770**, Pt. B. P. 369–386. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2016.09.001>
8. Afanasieva K., Zazhytska M., Sivolob A. Kinetics of comet formation in single-cell gel electrophoresis: loops and fragments. *Electrophoresis.* 2010. **31**, № 3. P. 512–519. <https://doi.org/10.1002/elps.200900421>
9. Olive P. L., Banáth J. P. The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. *Nature protocols.* 2006. **1**, № 1. P. 23–29. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.5>
10. Kurinnyi D., Rushkovsky S., Demchenko O., Pilinska M. Astaxanthin as a modifier of genome instability after γ -radiation. *Progress in carotenoid research*: Zepka L. Q., Jacob-Lopes E., Vera De Rosso V. (Eds.). London: IntechOpen, 2018. P. 121–138. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79341>
11. Kurinnyi D.A., Rushkovsky S.R., Demchenko O.M., Pilinska M.A. Peculiarities of modification by astaxanthin of radiation-induced damages in the genome of human blood lymphocytes exposed *in vitro* on different stages of the mitotic cycle. *Cytol. Genet.* 2018. **52**, № 1. P. 40–45. <https://doi.org/10.3103/S0095452718010073>
12. Gyori B.M., Venkatachalam G., Thiagarajan P.S., Hsu D., Clement M. OpenComet: an automated tool for comet assay image analysis. *Redox Biol.* 2014. **2**. P. 457–465. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.12.020>
13. Rosner B. Fundamentals of biostatistics. 8th ed. Boston: Cengage Learning, 2015. 962 p.
14. Ahnström G., Erixon K. Measurement of strand breaks by alkaline denaturation and hydroxyapatite chromatography. *DNA Repair: a laboratory manual of research procedures*. Friedberg E.C., Hanawalt P.C. (Eds.). New York: Marcel Dekker, 1981, P. 403–418.

Надійшло до редакції 27.01.2020

REFERENCES

1. IARC (2018). Latest global cancer data: Cancer burden rises to 18.1 million new cases and 9.6 million cancer deaths in 2018. WHO. Press Release No. 263. Retrieved from https://www.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/09/pr263_E.pdf
2. Ostrom, Q. T., Gittleman, H., Truitt, G., Boscia, A., Kruchko, C. & Barnholtz-Sloan, J. S. (2018). CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2011-2015. *Neuro Oncol.*, 20, Suppl. 4, pp. iv1-iv86. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nyy131>
3. Dyomina, E. A. & Ryabchenko, N. M. (2007). Increased individual chromosomal radiosensitivity of human lymphocytes as a parameter of cancer risk. *Exp. Oncol.*, 29, No. 3, pp. 217-220.
4. Borgmann, K., Hoeller, U., Nowack, S., Bernhard, M., Röper, B., Brackrock, S., Petersen, C., Szymczak, S., Ziegler, A., Feyer, P., Alberti, W. & Dikomey, E. (2008). Individual radiosensitivity measured with lymphocytes may predict the risk of acute reaction after radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 71, No. 1, pp. 256-264. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2008.01.007>

- Han, W. & Yu, K. N. (2009). Response of cells to ionizing radiation. In Tjong, S. C. (Ed.). *Advances in biomedical sciences and engineering* (pp. 204-262). Oak Park, Illinois: Bentham Science Publishers Ltd. <https://doi.org/10.2174/978160805040610901010204>
- Furlong, H., Mothersill, C., Lyng, F. M. & Howe, O. (2013). Apoptosis is signalled early by low doses of ionising radiation in a radiation-induced bystander effect. *Mutat Res.*, 741-742, pp. 35-43. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2013.02.001>
- Foray, N., Bourguignon, M. & Hamada, N. (2016). Individual response to ionizing radiation. *Mutat. Res.*, 770, Pt. B., pp. 369-386. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2016.09.001>
- Afanasieva, K., Zazhytska, M. & Sivolob, A. (2010). Kinetics of comet formation in single-cell gel electrophoresis: loops and fragments. *Electrophoresis*, 31, pp. 512-519. <https://doi.org/10.1002/elps.200900421>
- Olive, P. L. & Banáth, J. P. (2006). The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. *Nature protocols*, 1, No. 1, pp. 23-29. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.5>
- Kurinnyi, D., Rushkovsky, S., Demchenko, O. & Pilinska, M. (2018). Astaxanthin as a modifier of genome instability after γ -radiation. In Zepka, L. Q., Jacob-Lopes, E. & Vera De Rosso, V. (Eds.). *Progress in carotenoid research* (pp. 121-138). London: IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79341>
- Kurinnyi, D. A., Rushkovsky, S. R., Demchenko, O. M. & Pilinska, M. A. (2018). Peculiarities of modification by astaxanthin of radiation-induced damages in the genome of human blood lymphocytes exposed *in vitro* on different stages of the mitotic cycle. *Cytol. Genet.*, 52, No. 1, pp. 40-45. <https://doi.org/10.3103/S0095452718010073>
- Gyori, B. M., Venkatachalam, G., Thiagarajan, P. S., Hsu, D. & Clement, M. (2014). OpenComet: an automated tool for comet assay image analysis. *Redox Biol.*, 2, pp. 457-465. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.12.020>
- Rosner, B. (2015). *Fundamentals of biostatistics*. 8th ed. Boston: Cengage Learning.
- Ahnström, G. & Erixon, K. (1981). Measurement of strand breaks by alkaline denaturation and hydroxyapatite chromatography. In Friedberg, E. C. & Hanawalt, P. C. (Eds.). *DNA repair. a laboratory manual of research procedures* (pp. 403-418). New York: Marcel Dekker.

Received 27.01.2020

А.В. Земскова¹, О.Я. Главацкий¹, Д.А. Куринный²,
О.М. Демченко², С.Р. Рушковский³

¹ ГУ “Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины”, Киев

² ГУ “Национальный научный центр радиационной медицины НАМН Украины”, Киев

³ УНЦ “Институт биологии и медицины”

Киевского национального университета им. Тараса Шевченко

E-mail: rsr@ukr.net

ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОЙ ГЕНОМНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ У БОЛЬНЫХ С ГЛИОБЛАСТОМОЙ

Методом электрофореза отдельных клеток (comet assay) в нейтральных условиях исследовали особенности индивидуальной радиационно-индуцированной нестабильности генома больных гліобластомой. Установлено, что в культуре лимфоцитов периферической крови у двух человек с патоморфологически верифицированной гліобластомой (пациенты № 1 и № 3) доля “комет” с высоким уровнем повреждений достоверно превышала показатели, полученные в культурах лимфоцитов крови лиц из группы сравнения. После облучения культур лимфоцитов в дозе 1,0 Гр частота клеток с высоким показателем разрывов ДНК возросла в культурах лимфоцитов двух пациентов (№ 2 и № 3) и снизилась у одного пациента (№ 1). Частотный анализ распределения “комет” по значениям уровня повреждений ДНК показал наличие в необлученных культурах лимфоцитов пациентов № 2 и № 3 значительного пула клеток, которые остановили деление на S стадии клеточного цикла. После облучения частота таких клеток у пациента № 3 значительно уменьшилась. Отмечено, что апоптотическая активность в культурах лимфоцитов нейроонкологических больных была достоверно выше, чем в культурах условно здоровых добровольцев.

Ключевые слова: гліобластома, γ -облучение, культура лимфоцитов периферической крови человека, апоптоз, электрофорез отдельных клеток.

*O.V. Zemskova*¹, *O.Ya. Glavatsky*¹, *D.A. Kurinnyi*²,
*O.M. Demchenko*², *S.R. Rushkovsky*³

¹ Romodanov Neurosurgery Institute of the NAMS of Ukraine, Kyiv

² National Research Center for Radiation Medicine of the NAMS of Ukraine, Kyiv

³ Institute of Biology and Medicine, Taras Shevchenko National University of Kyiv

E-mail: rsr@ukr.net

INDIVIDUAL FEATURES OF RADIATION-INDUCED GENOMIC INSTABILITY IN PATIENTS WITH GLIOBLASTOMA

Using the method of Comet assay under neutral conditions, the features of individual radiation-induced genome instability in patients with glioblastoma was studied. It was found that, in the culture of peripheral blood lymphocytes of two patients with pathomorphologically verified glioblastoma (patients No. 1 and No. 3), the frequency of comets with a high level of DNA damage significantly exceeded the values in the cultures of blood lymphocytes of the comparison group. After irradiation in a dose of 1.0 Gy, the frequency of cells with a high DNA damage rate was increased in lymphocyte cultures of patients No. 2 and No. 3 and decreased in patient No. 1. Frequency analysis of the distribution of individual “comets” depending on their levels of DNA damage revealed the presence of a significant pool of cells in the lymphocyte cultures of patients No. 2 and No. 3 which stopped division at the *S* stage of the cell cycle. After the irradiation, the frequency of such cells in patient No. 3 decreased significantly. It was noted that apoptotic activity in cultures of lymphocytes of neuro-oncological patients was significantly higher than in cultures of conditionally healthy volunteers.

Keywords: *glioblastoma, γ -irradiation, human peripheral blood lymphocytes culture, apoptosis, Comet assay.*