


ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ПОТЕРЮ ТЕЛОМЕРНЫХ УЧАСТКОВ ХРОМОСОМ В Т-ЛИМФОЦИТАХ У ЖЕНЩИН

Я. В. Кривошапова 

Уральский научно-практический центр радиационной медицины, Челябинск, Россия


Более 60 лет назад жители прибрежных сел реки Теча были подвержены хроническому облучению в широком диапазоне доз. Предметом исследования были теломерные районы в метафазных хромосомах культивированных Т-лимфоцитов периферической крови. Целью исследования было оценить влияние хронического облучения на потери теломерных участков хромосом у облученных женщин Южного Урала с применением метода флуоресцентного окрашивания. Определяли хроматидные и хромосомные потери теломерных участков хромосом в трех дозовых подгруппах: группа сравнения (0–0,01 Гр), группа облучения дозой 0,2–0,9 Гр и группа облучения дозой 1–4,6 Гр. В выборке жителей Южного Урала женского пола, подвергшихся хроническому облучению в диапазоне поглощенных доз на ККМ от 0 до 4,6 Гр, было установлено, что хроматидные потери теломер для группы сравнения и группы облученных в дозе более 1 Гр статистически не различимы ($p > 0,33$), в то же время группа облученных средними дозами 0,2–0,9 Гр статистически отличается от них ($p < 0,05$). Для хромосомных потерь установлено статистически значимое различие между всеми группами ($p < 0,05$). Согласно полученным данным, теломерные потери присутствуют в 99,85% клеток доноров. Достоверно чаще во всех группах встречались потери теломерного участка на одной из хроматид. Таким образом, в группе с дозой 0,2–0,9 Гр среднее число потерь хроматид выше и статистически значимо отличается от других групп женского пола в исследуемом возрастном диапазоне.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, Т-лимфоциты, теломеры, хромосомы, потери теломер, флуоресцентная *in situ* гибридизация

Финансирование: государственное задание ФМБА РФ на выполнение прикладной научно-исследовательской работы по теме «Отдаленные цитогенетические эффекты хронического облучения у жителей Южного Урала».

Благодарности: автор выражает благодарность и. о. заведующей лаборатории радиационной генетики Ю. Р. Ахмадуллиной за ценные замечания.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом УНПЦ РМ ФМБА России (протокол № 8 от 19 июня 2024 г.). У лиц, участвующих в цитогенетических исследованиях, было получено информированное согласие на забор образцов крови и на дальнейшее обследование. Все бланки и анкеты хранятся в лаборатории радиационной генетики УНПЦ РМ.

 **Для корреспонденции:** Яна Владимировна Кривошапова
ул. Воровского, д. 68А, г. Челябинск, 454141, Россия; Yana_ho@mail.ru

Статья получена: 16.10.2024 **Статья принята к печати:** 13.11.2024 **Опубликована онлайн:** 13.12.2024

DOI: 10.24075/vrgmu.2024.055

ESTIMATION OF THE IMPACT OF CHRONIC RADIATION EXPOSURE ON TELOMERE LOSS IN WOMEN'S T LYMPHOCYTES

Krivoshchapova IaV 

Urals Research Center for Radiation Medicine of the Federal Medical Biological Agency, Chelyabinsk, Russia


Residents of the Techa Riverside villages were chronically exposed to the wide range of doses more than 60 years ago. Telomeric regions of metaphase chromosomes in the cultured peripheral blood T-lymphocytes were the subject of the research. The study aimed to assess the impact of chronic exposure on telomere loss in exposed women of the Southern Urals using a fluorescent staining method. Chromatid and chromosome telomere loss was determined in three dose subgroups: comparison group (0–0.01 Gy), group of exposed individuals with the dose of 0.2–0.9 Gy, and group of the exposed individuals with the dose of 1–4.6 Gy. In the sample of female residents of the Southern Urals chronically exposed in the range of absorbed doses to RBM of 0–4.6 Gy, it was shown that there were no differences in telomere loss between the comparison group and the group exposed to the dose exceeding 1 Gy ($p > 0.33$), while the group of individuals exposed to medium doses of 0.2–0.9 Gy was statistically significantly different ($p < 0.05$). Statistically significant differences between all groups were reported for chromosome telomere loss ($p < 0.05$). According to the data obtained, telomere loss was found in 99.85% of donor cells. The loss of telomere region on one of the chromatids occurred statistically significantly more often in all the groups. Thus, in the group exposed to the dose of 0.2–0.9 Gy, the average rate of chromatid telomere loss was higher, it was statistically significantly different from that of the other groups of females of the studied age.

Keywords: ionizing radiation, T-lymphocytes, telomere, chromosome, telomere loss, FISH

Funding: State Assignment of FMBA of Russia, R&D project “Long-term Cytogenetic Effects of Chronic Exposure in Residents of the Southern Urals.”

Acknowledgements: the author would like to express sincere gratitude to Yu.R. Akhmadullina, acting head of the Laboratory of Radiation Genetics, for valuable comments.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Urals Research Center for Radiation Medicine (protocol No. 8 dated 19 June 2024). Individuals, who were included into the cytogenetic study, gave the informed consent to blood sampling and further assessment. All forms and questionnaires are stored in the Laboratory of Radiation Genetics of the Urals Research Center for Radiation Medicine.

 **Correspondence should be addressed:** Yana V. Krivoshchapova
Vorovsky, 68A, Chelyabinsk, 454141, Russia; Yana_ho@mail.ru

Received: 16.10.2024 **Accepted:** 13.11.2024 **Published online:** 13.12.2024

DOI: 10.24075/brsmu.2024.055

Ионизирующее излучение оказывает влияние на человеческую жизнь повсюду: медицинские диагностические процедуры, использование воздушного транспорта, действие природного ионизирующего излучения в местах

с повышенным фоновым уровнем радиации. Помимо спланированного и контролируемого воздействия излучения, существует также незапланированное воздействие в результате случайных аварийных ситуаций

с источниками ионизирующего излучения. Изучение механизмов влияния радиации на здоровье человека является важной и актуальной задачей.

Более 60 лет назад на Южном Урале более 100 тыс. человек подверглись кумулятивному хроническому облучению в широком диапазоне доз. Поступление радионуклидов $^{89,90}\text{Sr}$ с пищей и водой обусловило внутреннее облучение, а внешнее сформировалось от поверхности речной воды, куда осуществляли сбросы жидких радиоактивных отходов (γ -облучение). В результате длительного наблюдения за облученными на Южном Урале людьми были отмечены изменения в состоянии многих систем организма [1, 2].

Влияние ионизирующего излучения на процесс формирования хромосомных перестроек доказано многочисленными исследованиями. Структура ДНК в клетке нарушается из-за воздействия ионизирующего излучения с образованием соединений, способных повреждать ДНК. К таким соединениям относят, например, активные формы кислорода, продукты перекисного окисления липидов и др. В результате возникают разрывы межатомных связей в сахаро-фосфатном остове, что ведет к нарушению непрерывности молекулы ДНК. При отсутствии или при недостаточной репарации они могут стать иницирующим событием на пути к старению и онкогенезу [3, 4]. Разрывы бывают одноцепочечные (если разорвана одна цепь ДНК) и двухцепочечные (если разорваны обе цепи).

За поддержание стабильности хромосом и генома в клеточном ядре отвечают повторяющиеся нуклеотидные последовательности — теломеры. Изучение теломерных районов хромосом человека — актуальная научная задача в связи с доказанным участием теломер в таких процессах, как старение, онкотрансформация клеток. Ряд генетических заболеваний связан с изменениями в теломерных участках хромосом.

В проведенных ранее исследованиях теломерных районов хромосом с использованием метода флуоресцентной *in situ* гибридизации FISH (от англ. fluorescence *in situ* hybridization) были выявлены качественные изменения хроматина у облученных лиц. Было отмечено, что внутри хромосомных плеч наблюдались теломерные сигналы, что является результатом инверсий с вовлечением теломерных районов [5]. Показано также статистически значимое снижение длины теломер у облученных лиц в некоторых хромосомных плечах по сравнению с необлученными [6]. Во время исследований обратил на себя внимание тот факт, что не все метафазные хромосомы в клетке имеют четыре теломеры на концевых участках, у части хромосом теломерный участок вообще не визуализируется.

Потеря теломерных участков может возникать как из-за постепенного укорочения теломер во время деления клеток, так и в результате стохастических событий, при которых теломерные повторяющиеся последовательности теряются, например, после терминальной делеции или двухцепочечного разрыва в субтеломерной области [7]. Некоторые исследования опухолевых клеточных линий показывают, что такие спонтанные делеции теломер характерны для раковых клеток [8, 9].

Для эволюции человека потеря теломерных участков имеет важное значение. Многие генетические заболевания возникают в результате изменений вблизи концов хромосом, например, умственная отсталость и мышечная дистрофия [10]. Кроме того, у женщин с бесплодием выявлена значительно более выраженная потеря теломер, чем у пациенток контрольной группы [11].

Влияние ионизирующего излучения также может стать причиной потери теломерных участков хромосом. Механизм этого действия остается обсуждаемым вопросом среди ученых и не имеет однозначного ответа. Из-за того что на долю теломер приходится всего 0,02% от генома человека, маловероятно прямое действие радиации, вследствие которого произойдут разрыв хроматиды и потеря теломерного участка. Анализ литературы дает основание полагать, что влияние активных форм кислорода может приводить к образованию модифицированных оснований и к разрывам отдельных цепей ДНК, в том числе в теломерных участках [12]. Богатые гуанином теломерные последовательности ДНК (-TTAGGG-) становятся мишенью для окислительного повреждения, ведь именно гуанин обладает самым низким окислительно-восстановительным потенциалом из всех азотистых оснований. Гуанин легко окисляется до 8-оксогуанина, который принято считать одним из основных биомаркеров окислительного стресса [13]. Одноцепочечные разрывы в G-богатых цепях плохо восстанавливаются и дольше сохраняются в теломерах [14]. Под действием ионизирующего излучения вблизи теломер могут возникать двухцепочечные разрывы, что может привести к хромосомным перестройкам. Это один из механизмов репликативного старения нормальных клеток человека, вызванного ионизирующим излучением. Клеточные изменения, влияющие на эффективность механизма репликации ДНК, могут способствовать остановке репликационных вилок в теломерах и потере теломер [15].

Существуют также исследования, в которых отмечается, что потери теломерного участка в хромосоме могут появиться в результате действия различных белков, например, TAZP (от англ. telomeric zinc finger associated protein) с одиннадцатью цинковыми пальцами, который способен специфически связываться с теломерами хромосом и обрезать их [16].

Применение FISH и локуспецифичных зондов позволяет выявлять изменения в теломерных участках хромосом. Потеря теломерных участков может затрагивать как одно плечо, так и оба (хромосомная потеря теломерных участков на сестринских хроматидах).

Цель пилотного исследования — оценить потери теломерных участков хромосом в лимфоцитах периферической крови с применением метода флуоресцентного окрашивания у женщин, облученных на реке Теча.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Характеристика обследованных лиц

Так как исследование потерь теломерного участка было пилотным и проводилось в ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России впервые, было принято решение ограничить группы по половому признаку, и на начальном этапе оценить исследуемый эффект только у групп женщин. Критерии включения: женщины, проживавшие на загрязненных радионуклидами территориях, 1939–1959 гг. рождения, подвергшиеся хроническому радиационному воздействию в широком диапазоне доз: женщины из группы сравнения, которые аварийному облучению не подвергались.

Информация о выборке и состоянии здоровья облученных лиц была предоставлена отделом «База данных "Человек"». Индивидуализированные суммарные дозы от внешнего и внутреннего облучения (далее — дозы

Таблица 1. Характеристика обследованных женщин

Группа	Число доноров, <i>n</i>	Средний возраст, лет (диапазон)	Доза, Гр средняя
Группа 1 (сравнения) (0–0,01 Гр)	10	65,4 ± 3,3 (62–71)	0,003 ± 0,003
Группа 2 (облученные) (0,2–0,9 Гр)	10	74,5 ± 4,6 (69–81)	0,64 ± 0,21
Группа 3 (облученные) (1–4,6 Гр)	12	74 ± 2,6 (71–80)	1,7 ± 0,9
Все доноры (0–4,6 Гр)	32	71,4 ± 5,4 (62–81)	

облучения) на ККМ были рассчитаны по системе TRDS-2016 в биофизической лаборатории [17]. Данные о наличии онкопатологии в анамнезе обследуемых женщин были предоставлены эпидемиологической лабораторией ФГБУН УНПЦ РМ. Критерии исключения из исследования: наличие в анамнезе аутоиммунных, онкологических, хронических воспалительных заболеваний в фазе обострения; прием в анамнезе цитостатиков, антибиотиков, дата рождения после 1961 г.

Было обследовано 32 женщины. Группу сравнения (далее — группа 1) составили 10 человек, шесть из них имели дозу на ККМ от 0,0001 до 0,01 Гр, а четыре аварийному облучению не подвергались. 10 женщин подверглись хроническому радиационному воздействию в дозах 0,2–0,9 Гр (далее — группа 2), средняя доза 0,64 ± 0,21 Гр. В группу высокодозовых облученных (далее — группа 3) были включены 12 женщин с кумулятивной дозой на ККМ более 1 Гр, так как именно при высоких дозах наиболее часто проявляются цитогенетические эффекты [1]. Диапазон — 1,01–4,6 Гр, средняя доза — 1,7 ± 0,9 Гр (табл. 1).

Получение препаратов метафазных хромосом Т-лимфоцитов периферической крови

Цитогенетическое исследование проводили на метафазах Т-лимфоцитов периферической крови, стимулированных фитогемагглютинином (ФГА). Препараты хромосом получали по принятому в лаборатории протоколу: проводили культивирование клеток в течение 54 ч. За 3 ч вводили колцемид в итоговой концентрации 0,1 мг/мл. Гипотоническую обработку метафазных клеток проводили за 40–50 мин до фиксации теплым 37 °С раствором KCl (0,55%). Затем смесь центрифугировали. Далее проводили фиксацию метафазных пластинок (три части этанол медицинский, 95%: одна часть — ледяная уксусная кислота) и получение препаратов хромосом [18].

В процессе раскапывания клеточной суспензии на предметные стекла для получения лучшего результата стремились свести к минимуму чрезмерное распределение и наложение хромосом, чтобы каждая метафаза была пригодна для анализа. После раскапывания клеточной суспензии предметные стекла сушили на термоплате при температуре 42 °С, затем флуоресцентно окрашивали.

Методика окраски теломерных районов методом флуоресцентной *in situ* гибридизации с локуспецифичными зондами (FISH)

Использовали зонды набора Telomere FISH Kit/Cy3 (Dako, Дания). Окрашивали хромосомы в соответствии с протоколом производителя зондов. Зонд окрашивает только теломерные районы хромосом и не распознает

субтеломерные последовательности [19]. Для получения данного зонда производитель использует Су3-контюгированную пептидную нуклеиновую кислоту, которая является синтетическим аналогом ДНК, и связывается с ДНК хромосом по правилам спаривания оснований.

Анализ флуоресцентно окрашенных препаратов проводили на микроскопе Axio Imager Z2 (Zeiss, Германия), фильтры DAPI и SpO, ПО Isis. Для поиска и оцифровки метафазных пластинок система Metafer была настроена таким образом, чтобы автоматически получать изображения пяти кадров для канала SpO, каждый из которых будет отличаться по высоте друг от друга на полмикрона. После того как Metafer сделал пять кадров, в фоновом режиме автоматически из каждого кадра выбираются самые контрастные участки. В результате получается итоговая фотография, где все сигналы резкие и контрастные, что повышает точность результата анализа. Таким образом, возможности программы Isis позволяют достоверно установить отсутствие теломерного сигнала на любой хроматиде. Для этого оцифрованное изображение просматривается при использовании фильтров DAPI-SpO и при черно-белом инвертированном изображении интересующей хромосомы.

Потери теломерного участка в ходе анализа разделяли на два вида — хроматидные и хромосомные. Хроматидные потери определяли, если теломерный сигнал отсутствовал в одной из сестринских хроматид, а вторая не была изменена. На рис. 1 представлена пятая пара хромосом: в левой хромосоме визуализируются все четыре теломеры, в правой хромосоме видно, что один теломерный район q-плеча отсутствует. В случае отсутствия теломерных сигналов в двух сестринских хроматидах потерю считали хромосомной (рис. 2). Отсутствие двух сигналов на не парных хроматидах или на разных плечах одной хроматиды считали, как две хроматидные одиночные потери.

В анализ включали метафазы, содержащие 46 хромосом без наложений и артефактов. В каждой клетке анализировали все хромосомы. Считали 25–100 клеток для каждого донора. Данные о потере теломерных участков заносили в протокол анализа.

Статистическая обработка данных

Таким образом, исходными данными для статистического анализа стали результаты исследования 1560 клеток для 32 людей в возрасте 62–81 год, разделенные на три группы в соответствии с дозами облучения. Для каждой клетки просматривали все 46 хромосом и отмечали факт хроматидной или хромосомной потери теломерных участков для каждой из них. Анализ результатов проводили с использованием пакета программ STATISTICA 10 (StatSoft, США).



Рис. 1. Пример выявления потери теломерного участка в красно-синем фильтре и в инвертированном изображении. У хромосомы слева визуализируются все четыре теломеры. Справа представлен пример потери теломеры на одной из хроматид q-плеча

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исходные данные, разделенные на дозовые группы, для обоих случаев потерь теломер (хроматидных и хромосомных) представлены на рис. 3. Изучаемое явление (потери теломерных участков для разных дозовых групп) не может быть представлено с помощью нормального распределения (рис. 4), поэтому для сравнения результатов наблюдений между группами использовали непараметрический критерий Манна–Уитни.

За нулевую гипотезу принимали отсутствие различий числа потерь теломер (хромосомных или хроматидных) в отдельных клетках между дозовыми группами. Было установлено, что хроматидные потери для группы сравнения (группа 1) и группы с высокими уровнями облучения (группа 3) статистически не различимы ($p > 0,33$), в то же время группа средних доз (группа 2) статистически отличается от них ($p < 0,05$). Для хромосомных потерь было установлено статистически значимое различие ($p < 0,05$) между всеми группами. Таким образом, можно сделать вывод, что во второй группе среднее число хроматидных потерь выше и статистически значимо отличается от других групп.

На рис. 5 представлены диаграммы размаха исходных данных для каждой из групп облучения (прямоугольниками отображены 5-й и 95-й процентиля, центральная точка — медиана, «усы» соответствуют максимальным и минимальным значениям), в табл. 2 — данные для каждой из исследуемых дозовых подгрупп для хроматидных потерь и хромосомных потерь: относительное содержание в клетках, медиана, процентиля 5%–95%, минимум и максимум.

Потеря хотя бы одного теломерного участка встречалась в 99,85% проанализированных клеток.

Во всех группах достоверно чаще встречались потери на одной из хроматид, чем хромосомная потеря ($p < 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Одна из функций теломер — обеспечение стабильности хромосомы, поэтому понимание причин изменений в теломерных областях позволит пролить свет на механизмы развития онкопатологии, генетических заболеваний человека, бесплодия а также старения организма [20]. Воздействие ионизирующего излучения на клетки человека способно вызывать изменения на уровне хроматина, например, разрывы цепей ДНК, неправильное воссоединение которых может приводить к возникновению хромосомных перестроек. Эти события приводят к перераспределению гетерохроматина по плечам хромосом, могут влиять на распределение генов на хромосомах, изменять экспрессию генов, а значит, могут приводить к реализации различных биомедицинских эффектов, что в итоге скажется на здоровье человека [21].

Пилотный проект, представленный в настоящей статье, является частью исследования по изучению теломерных участков хромосом в лаборатории радиационной генетики УНПЦ РМ. Ранее были оценены такие показатели, как длина теломерных районов и частота инверсий с захватом теломерного участка для лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию на реке Теча [5, 6]. В ходе настоящего исследования предметом исследования были потери теломерного участка в метафазных хромосомах культивированных Т-лимфоцитов периферической крови у облученных жителей Южного Урала. Для этих целей использовали метод флуоресцентной окраски теломерных районов хромосом. Был проведен анализ влияния

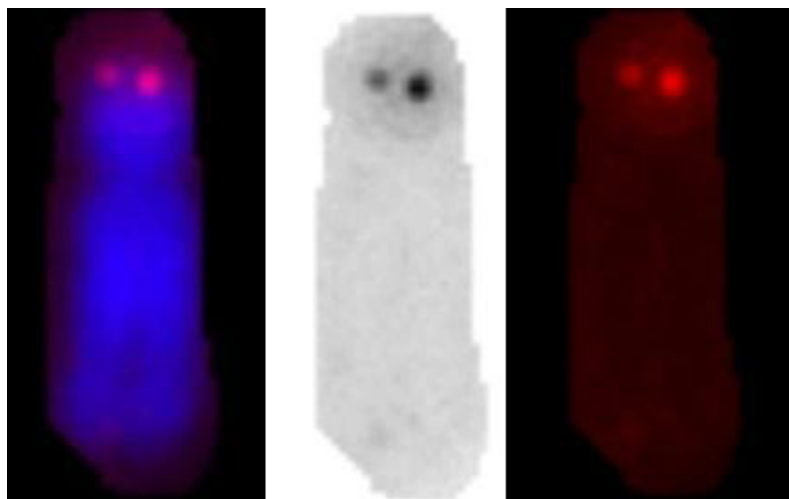


Рис. 2. Пример выявления хромосомной потери теломерного участка в красно-синем фильтре и в инвертированном изображении. Теломеры на обоих q-плечах не визуализируются

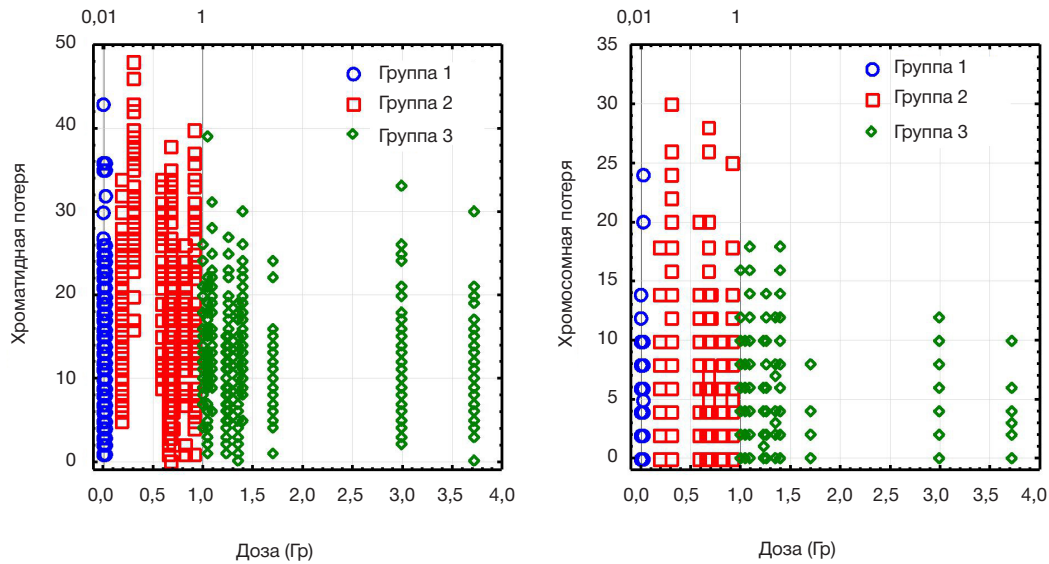


Рис. 3. Исходные данные, разделенные на дозовые группы

радиационного фактора на потери теломерных районов хромосом. Согласно полученным данным, теломерные потери присутствуют в 99,85% клеток доноров. Оказалось, что достоверно чаще во всех группах встречались потери теломерного участка на одной из хроматид. Потеря одной из сестринских теломер может возникать из-за дефектов репликации в S-стадии клеточного цикла, а хромосомная, скорее всего, в результате возникновения потери до синтетической стадии, когда хромосома представляет собой одну хроматиду, впоследствии удваивается в синтетической стадии (соответственно участок с потерей теломеры также удваивается и образуется хромосомная потеря) [22, 23]. Также низкие частоты хромосомных потерь, по сравнению с хроматидными, можно объяснить тем, что эти события реализуются с разной вероятностью. Хромосома занимает определенное пространство в ядре и в норме не пересекается с хроматином других

хромосом, поэтому наиболее частые изменения будут отмечаться в пределах одной хроматиды. Лишенные теломерных районов концы плеч сестринских хроматид могут являться маркером для гибели данной клетки. То есть клетка с большим количеством теломерных потерь будет элиминирована в ходе деления для сохранения целостности генома.

В результате нашего исследования было установлено, что потери одиночных хроматид для группы сравнения и группы с высокими уровнями облучения статистически не различимы ($p > 0,33$), тогда как группа средних доз статистически отличается от них ($p < 0,05$). Для хромосомных потерь было установлено статистически значимое различие ($p < 0,05$) между всеми дозовыми группами. Таким образом, можно сделать вывод, что во второй группе среднее число потерь теломерных участков выше и статистически значимо отличается от других групп.

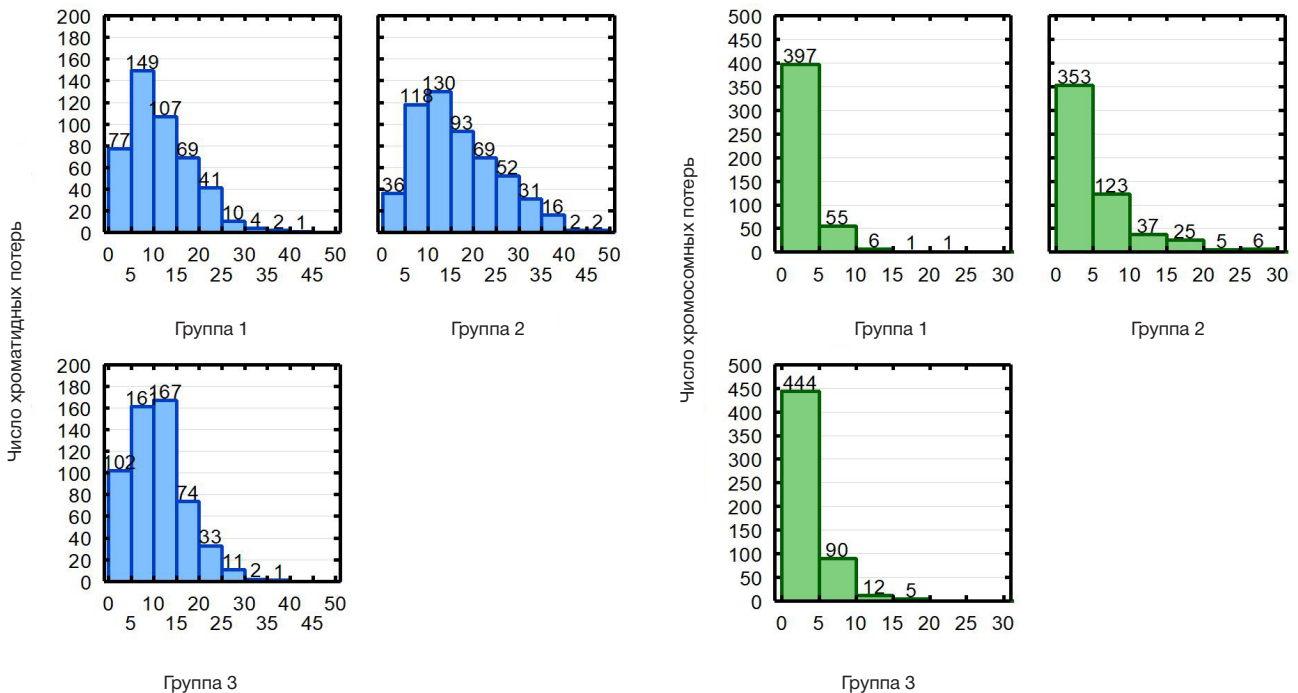


Рис. 4. Частота наблюдений хроматидных и хромосомных потерь в разных группах облучения

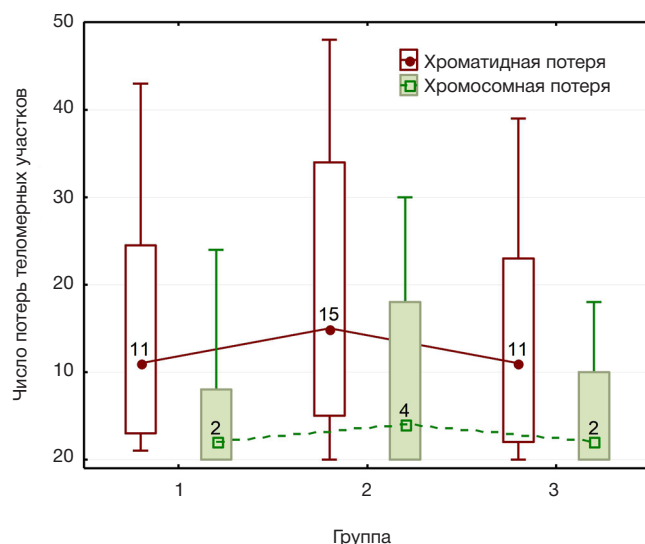


Рис. 5. Медианы, 5-й и 95-й процентиля, минимумы и максимумы исходных данных для разных групп облучения

Вопреки ожиданиям, в группе женщин, подвергшихся самым высоким уровням облучения, показатели потерь теломерных участков статистически не отличались от таковых у группы сравнения. При этом мы видим, что хроническое облучение все же оказывает влияние на количество теломерных потерь, судя по результатам, полученным для группы 2, где достоверно выше количество потерь хромосомных и хроматидных по сравнению с женщинами из группы сравнения того же возраста, проживавшими в сходных социально-экономических условиях, но не подвергавшихся действию хронического радиационного воздействия в дозах выше 0,01 Гр. Возможно, при достижении какого-то критического уровня в клетке происходит элиминация поврежденных хромосом, в результате чего показатели группы сравнения и группы доноров, облученных в дозах выше 1 Гр находятся на одном уровне и не имеют статистически значимых различий.

Такие «парадоксальные» данные на самом деле не противоречат результатам других цитогенетических исследований, где было выдвинуто предположение, что критерии отбора доноров для цитогенетических исследований могут способствовать выбору наиболее радиоустойчивых доноров среди облученных лиц, которые в пожилом возрасте не имеют ни аутоиммунных, ни онкологических заболеваний, не имеют сахарного диабета, а также не принимают препараты, которые могут оказать влияние на получаемые цитогенетические результаты. Косвенным подтверждением этому служат

исследования, в которых отмечалось, что у облученных лиц показатели частоты хромосомных aberrаций сравнивались с рассчитанными для необлученных доноров [24].

Таким образом, понимание механизмов, ответственных за чувствительность теломерных областей к влиянию внешних факторов, позволит по-новому взглянуть на причины генетических заболеваний человека, бесплодия, старения и развития онкопатологии. Дальнейшее изучение структуры хромосом цитогенетическими методами важно для понимания взаимодействия генов друг с другом. Требуется продолжение данной работы и расширение выборки для подтверждения полученных результатов, а также для оценки влияния нерадиационных факторов.

Выводы

В выборке жителей Южного Урала женского пола, подвергшихся сочетанному хроническому облучению в диапазоне поглощенных доз на ККМ от 0 до 4,6 Гр, было установлено, что хроматидные потери теломер для группы сравнения и группы с высокими уровнями облучения более 1 Гр статистически не различимы ($p > 0,33$), в то же время группа средних доз 0,2–0,9 Гр статистически отличается от них ($p < 0,05$). Для хромосомных потерь установлено статистически значимое различие между всеми дозовыми группами ($p < 0,05$). Таким образом, во второй группе среднее число потерь теломерных участков выше и статистически значимо отличается от других групп женского пола в исследуемом возрастном диапазоне.

Таблица 2. Медиана (5% и 95%) потерь теломерных районов в Т-клетках у женщин Южного Урала, подвергшихся облучению

Хроматидные потери						
Группа	Частота потери, %	Медиана	Минимум	Максимум	5%	95%
1	7	11	1	43	3	24,5
2	9	15	0	48	5	34
3	6	11	0	39	2	23
Хромосомные потери						
1	2	2	0	24	0	8
2	5	4	0	30	0	18
3	3	2	0	18	0	10

Литература

1. Аклев А. В., редактор. Последствия радиоактивного загрязнения реки Теча. Челябинск: Книга, 2016; 400 с.
2. Akhmadullina Y. The Composition of Micronuclei in T-Lymphocytes in Women Affected by Chronic Radiation Exposure. *Biology Bulletin*. 2023; 50: 2986–96.
3. Shim G, Ricoul M, Hempel WM, et al. Crosstalk between telomere maintenance and radiation effects: A key player in the process of radiation-induced carcinogenesis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 2014; 760: 1–17.
4. Льюин Б. Ген. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011; 896 с.
5. Возилова А. В., Кривошапова Я. В. Исследование частоты инверсий и комплексных транслокаций в Т-лимфоцитах у облученных жителей Южного Урала. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2022; 62 (4): 408–15.
6. Кривошапова Я. В. Влияние хронического облучения на теломерные участки хромосом Т-лимфоцитов периферической крови человека. *Медицинская генетика*. 2022; 21 (11): 40–43.
7. Muraki K, Nyhan K, Han L, et al. Mechanisms of telomere loss and their consequences for chromosome instability. *Front Oncol*. 2012; 2: 135.
8. Gisselsson D, Jonson T, Petersen A, et al. Telomere dysfunction triggers extensive DNA fragmentation and evolution of complex chromosome abnormalities in human malignant tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001; 98: 12683–8.
9. Nakamura AJ, Redon CE, Bonner WM. Telomere-dependent and telomere-independent origins of endogenous DNA damage in tumor cells. *Aging*. 2009; 1: 212–8.
10. Mefford HC, Trask BJ. The complex structure and dynamic evolution of human subtelomeres. *Nat Rev Genet*. 2002; 3: 91–102.
11. M'kacher R, Colicchio B, Marquet V. Telomere aberrations, including telomere loss, doublets, and extreme shortening, are increased in patients with infertility. *Fertility and Sterility*. 2021; 115 (1): 164–73.
12. Coluzzi E, Colamartino M, Cozzi R, et al. Oxidative stress induces persistent telomeric DNA damage responsible for nuclear morphology change in mammalian cells. *PLoS One*. 2014; 9 (10): e110963. DOI: 10.1371/journal.pone.0110963. PMID: 25354277; PMCID: PMC4212976.
13. Мармий Н., Моргунова Г., Есипов Д., и др. 8-Оксо-2'-дезоксигуанозин: биомаркер клеточного старения и окислительного стресса или потенциальное лекарство против возрастных болезней? *Клиническая геронтология*. 2016; 22 (9–10): 46–47.
14. Petersen S, Saretzki G, Von Zglinicki T. Preferential accumulation of single-stranded regions in telomeres of human fibroblasts. *Exp Cell Res*. 1998; 239: 152–60.
15. von Zglinicki T. Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem*. 2002; 27: 339–44.
16. Li JS, Miralles Fusté J, Simavorian T, et al. TZAP: A telomere-associated protein involved in telomere length control. *Science*. 2017; 10: 355 (6325): 638–41.
17. Shishkina EA, Napier BA, Preston DL, Degteva MO Dose estimates and their uncertainties for use in epidemiological studies of radiation-exposed populations in the Russian Southern Urals. *PLoS ONE*. 2023; 18 (8): e0288479. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0288479>.
18. IAEA. Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna, Austria: IAEA. 2011; 229.
19. Nielsen PE, Egholm M, Berg RH, Buchardt O. Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide. *Sci*. 1991; 254 (5037): 1497–500.
20. Ахмадулина Ю. П., Возилова А. В., Кривошапова Я. В. Влияние хронического облучения на показатели цитогенетических маркеров старения у жителей прибрежных сел реки Теча. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2024; (2): 56–66. DOI: 10.47183/mes.2024.018.
21. Hoffmann AA, Rieseberg LH. Revisiting the impact of inversions in evolution: from population genetic markers to drivers of adaptive shifts and speciation. *Annu Rev Ecol Evol Syst*. 2008; 39: 21–42.
22. Eidelman YA, Salnikov IV, Stanina SV, Andreev SG. Chromosome folding promotes intrachromosomal aberrations under radiation- and nuclease-induced DNA breakage. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (22): 12186. DOI: 10.3390/ijms222212186.
23. Jullien L, Mestre M, Roux P, Gire V. Eroded human telomeres are more prone to remain uncapped and to trigger a G2 checkpoint response. *Nucleic Acids Res*. 2013; 41 (2): 900–11.
24. Возилова А. В. Оценка влияния хронического облучения на преждевременное старение Т-лимфоцитов человека на основе нестабильных хромосомных аберраций. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2023; 2: 85–90. DOI: 10.47183/mes.2023.015.

References

1. Akleev AV, redaktor. Posledstviya radioaktivnogo zagrjaznenija reki Techa. Cheljabinsk: Kniga, 2016; 400 s. Russian.
2. Akhmadullina Y. The Composition of Micronuclei in T-Lymphocytes in Women Affected by Chronic Radiation Exposure. *Biology Bulletin*. 2023; 50: 2986–96.
3. Shim G, Ricoul M, Hempel WM, et al. Crosstalk between telomere maintenance and radiation effects: A key player in the process of radiation-induced carcinogenesis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 2014; 760: 1–17.
4. Ljuin B. Geny. M.: BINOM. Laboratorija znaniy, 2011; 896 s. Russian.
5. Vozilova AV, Krivosshapova JaV. Issledovanie chastoty inversij i kompleksnyh translokacij v T-limfocitah u obluchennyh zhitelej Juzhnogo Urala. *Radiacionnaja biologija. Radiojekologija*. 2022; 62 (4): 408–15. Russian.
6. Krivosshapova JaV. Vlijanie hronicheskogo obluchenija na telomernye uchastki hromosom T-limfocitov perifericheskoj krvi cheloveka. *Medicinskaja genetika*. 2022; 21 (11): 40–43. Russian.
7. Muraki K, Nyhan K, Han L, et al. Mechanisms of telomere loss and their consequences for chromosome instability. *Front Oncol*. 2012; 2: 135.
8. Gisselsson D, Jonson T, Petersen A, et al. Telomere dysfunction triggers extensive DNA fragmentation and evolution of complex chromosome abnormalities in human malignant tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001; 98: 12683–8.
9. Nakamura AJ, Redon CE, Bonner WM. Telomere-dependent and telomere-independent origins of endogenous DNA damage in tumor cells. *Aging*. 2009; 1: 212–8.
10. Mefford HC, Trask BJ. The complex structure and dynamic evolution of human subtelomeres. *Nat Rev Genet*. 2002; 3: 91–102.
11. M'kacher R, Colicchio B, Marquet V. Telomere aberrations, including telomere loss, doublets, and extreme shortening, are increased in patients with infertility. *Fertility and Sterility*. 2021; 115 (1): 164–73.
12. Coluzzi E, Colamartino M, Cozzi R, et al. Oxidative stress induces persistent telomeric DNA damage responsible for nuclear morphology change in mammalian cells. *PLoS One*. 2014; 9 (10): e110963. DOI: 10.1371/journal.pone.0110963. PMID: 25354277; PMCID: PMC4212976.
13. Marmij N, Morgunova G, Esipov D, i dr. 8-Okso-2'-dezoksiguanozin: biomarker kletocznego starenija i oksilitel'nogo stressa ili potencial'noe lekarstvo protiv vozrastnyh boleznej? *Klinicheskaja gerontologija*. 2016; 22 (9–10): 46–47. Russian.
14. Petersen S, Saretzki G, Von Zglinicki T. Preferential accumulation of single-stranded regions in telomeres of human fibroblasts. *Exp Cell Res*. 1998; 239: 152–60.
15. von Zglinicki T. Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem*. 2002; 27: 339–44.
16. Li JS, Miralles Fusté J, Simavorian T, et al. TZAP: A telomere-associated protein involved in telomere length control. *Science*. 2017; 10: 355 (6325): 638–41.
17. Shishkina EA, Napier BA, Preston DL, Degteva MO Dose estimates and their uncertainties for use in epidemiological studies of radiation-exposed populations in the Russian Southern

- Urals. PLoS ONE. 2023; 18 (8): e0288479. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0288479>.
18. IAEA. Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna, Austria: IAEA. 2011; 229.
 19. Nielsen PE, Egholm M, Berg RH, Buchardt O. Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide. *Sci*. 1991; 254 (5037): 1497–500.
 20. Akhmadullina YuR, Vozilova AV, Krivoshchapova YaV. The effect of chronic exposure on the parameters of cytogenetic markers of senescence in the residents of the Tëcha riverside settlements. *Extreme medicine*. 2024; (2): 53–63. DOI: 10.47183/mes.2024.018.
 21. Hoffmann AA, Rieseberg LH. Revisiting the impact of inversions in evolution: from population genetic markers to drivers of adaptive shifts and speciation. *Annu Rev Ecol Evol Syst*. 2008; 39: 21–42.
 22. Eidelman YA, Salnikov IV, Slanina SV, Andreev SG. Chromosome folding promotes intrachromosomal aberrations under radiation- and nuclease-induced DNA breakage. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (22): 12186. DOI: 10.3390/ijms222212186.
 23. Jullien L, Mestre M, Roux P, Gire V. Eroded human telomeres are more prone to remain uncapped and to trigger a G2 checkpoint response. *Nucleic Acids Res*. 2013; 41 (2): 900–11.
 24. Vozilova AV. Assessment of the effect of chronic exposure on premature aging of human T-lymphocytes based on unstable chromosome aberrations. *Extreme medicine*. 2023; 2: 79–85. DOI: 10.47183/mes.2023.015.