Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской академии наук

На правах рукописи

Кузьмина Нина Станиславовна

Изучение отдаленных генетических и эпигенетических нарушений у облученных лиц и их потомков

Специальность 03.02.07 - генетика

диссертация на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Научный консультант:
доктор биологических наук
А.В. Рубанович

Москва 2021

Оглавление

стр.

Введение …….…. 8

1. Обзор литературы ……..... 24

1.1. Цитогенетические эффекты у лиц различных контингентов, пострадавших в результате аварии на ЧАЭС …….. 24

1.1.1. Цитогенетические эффекты у ликвидаторов аварии ……..... 24

1.1.2. Цитогенетические эффекты у взрослых лиц, проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями …….. 27

1.1.3. Цитогенетические эффекты у детей, родившихся от ликвидаторов аварии …….. 29

1.1.4. Цитогенетические эффекты у детей, проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями ……. 31

1.2. Иммуногенетические эффекты у облученных лиц …….. 46

1.2.1. Анализ генных мутаций и готовности клеток к апоптозу как подход к оценке радиационно-индуцированных эффектов в организме человека …… 46

1.2.2. GPA – мутации у облученных лиц ……... 48

1.2.3. TCR – мутации у облученных лиц ……... 51

1.2.4. Апоптотическая активность лимфоцитов у облученных лиц ……... 57

1.3. Радиационно-индуцированные мутации в мини-/микросателлитных локусах ……. 58

1.3.1. Морфо-/функциональная характеристика тандемных повторов…….. 58

1.3.2. Мутации в мини-/микросателлитных локусах как возможный маркер радиационного воздействия …….. 65

1.3.3. Мутации в мини-/микросателлитных локусах у потомков облученных лиц …… 68

1.3.3.1. Мутации у потомков жертв ядерных бомбардировок

Хиросимы и Нагасаки …….. 68
1.3.3.2. Мутации у потомков участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС …….. 69
1.3.3.3. Мутации у потомков лиц, подвергающихся облучению в процессе производственной деятельности …… 71
1.3.3.4. Мутации у потомков лиц, перенесших лучевую терапию…….. 74
1.3.3.5. Мутации у жителей территорий, загрязненных радионуклидами …… 74
1.4. Радиационно-индуцированные изменения метилирования ДНК…… 79
1.4.1. ДНК-метилирование как эпигенетическая модификация генома человека …… 79
1.4.1.1. Сайты метилирования …… 79
1.4.1.2. CpG – островки …… 80
1.4.2. Радиационно-индуцированные изменения метилирования в эксперименте …… 81
1.4.2.1. Экспериментальные исследования in vitro ……..... 81
1.4.2.1.1. Изменение тотального уровня метилирования ДНК …… 81
1.4.2.1.2. Изменения метилирования повторяющихся элементов ДНК …….. 83
1.4.2.1.3. Локус-специфические изменения метилирования ДНК …… 84
1.4.2.1.4. Радиационно-индуцированные изменения метилирования ДНК в потомках облученных клеток …… 87
1.4.2.2. Экспериментаьные исследования in vivo ……..… 90
1.4.2.2.1. Изменение тотального уровня метилирования ДНК …… 90
1.4.2.2.2. Изменения метилирования повторяющихся

элементов ДНК ……. 94
1.4.2.2.3. Локус-специфические изменения метилирования ДНК …… 97
1.4.2.2.4. Радиационно-индуцированные изменения метилирования ДНК как проявления «эффекта свидетеля» …… 101
1.4.3. Радиационно-индуцированные изменения метилирования ДНК у человека …… 103
1.4.3.1. Изменение тотального уровня метилирования ДНК …… 103
1.4.3.2. Изменения метилирования повторяющихся элементов ДНК …….. 103
1.4.3.3. Локус-специфические изменения метилирования ДНК …… 104
1.4.4. Механизмы и последствия радиационно-индуцированных нарушений метилирования ……. 106
1.4.5. Возраст-ассоциированные изменения эпигенома …… 112

2. Материалы и методы исследования…… 116
2.1. Характеристика обследованных групп лиц ……..... 116
2.2. Цитогенетические исследования ……..... 131
2.2.1. Культивирование лимфоцитов и приготовление препаратов метафазных хромосом …… 131
2.2.2. Анализ аберраций хромосом …… 132
2.3. Метод проточной цитофлуориметрии: анализ TCR-мутаций и готовности клеток к апоптозу (CD95+ – лимфоциты) …….. 133
2.4. Анализ мутаций в мини-/микросателлитных локусах ДН …….. 135
2.5. Анализ гиперметилирования CpG-островков промоторов генов ……. 140
2.6. Статистическая обработка результатов …… 150

3. Результаты исследований …… 151
3.1. Цитогенетические эффекты у лиц, проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями после аварии на ЧАЭС……..... 151
3.1.1. Цитогенетические показатели у детей, подвергшихся радиационному воздействию во время аварии в 1986 году ……. 152
3.1.2. Цитогенетические показатели в семьях с детьми, рожденными после аварии в 1987-2007 гг. …… 157
3.2. Цитогенетические эффекты в семьях ликвидаторов аварии на ЧАЭС ……... 174
3.3. Сравнительный анализ цитогенетических показателей у лиц обследованных групп ……. 183
3.4. Иммуногенетические эффекты у ликвидаторов аварии на ЧАЭС и их детей 187
3.4.1. Частота TCR-мутаций у обследованных лиц ……..... 187
3.4.2. Частота $CD95^+$ лимфоцитов – предикторов апоптоза у обследованных лиц …… 189
3.4.3. Кластеризация совокупности результатов иммуногенетических и цитогенетических исследований. Анализ сопряженности между изученными показателями ……. 189
3.5. Анализ мутаций в гипервариабельных тандемных повторах ДНК у профессионалов-атомщиков, работавших с тритием и его окисью …… 197
3.5.1. Анализ мутаций в минисателлитных локусах …… 197
3.5.2. Анализ мутаций в микросателлитных локусах …….. 198
3.5.3. Характеристики семей с выявленными мутациями в мини-/микросателлитных локусах …… 199

3.6. Эпигенетические эффекты в двух независимых выборках облученных лиц …… 201

3.6.1. Гиперметилирование промоторов генов у облученных лиц и их потомков (смешанная выборка № 1) …… 201

3.6.2. Гиперметилирование промоторов генов у облученных работников ПО «Маяк» (выборка № 2) …... 206

3.6.2.1. Гиперметилирование промоторов генов у работников реакторного производства, подвергшихся внешнему воздействию γ – излучения……..……. 206

3.6.2.2. Гиперметилирование промоторов генов у работников радиохимического производства, подвергшихся сочетанному внешнему (γ-лучи)/внутреннему (α-частицы) облучению…… 208

3.6.2.3. Зависимость гиперметилирования промоторов генов от суммарной накопленной дозы хронического воздействия γ- и α-излучений ……..……. 212

3.6.3. Верификация результатов исследований, полученных на двух независимых выборках облученных лиц…… 217

3.6.4. Оценка сопряженности между эпигенетическими и цитогенетическими показателями…… 224

4. Заключение……. 229

4.1. Краткие итоги результатов исследований …… 229

4.2. Обсуждение…… 233

Выводы …….. 288

Список литературы ……..... 291
Список работ, опубликованных по теме диссертации …… 366
Приложение ……..... 372

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Интенсивное развитие атомной промышленности, ядерной медицины, науки приводит к росту количества людей, подвергающихся воздействию радиационного фактора в процессе производственной деятельности, лечебных и диагностических мероприятий, а также в результате техногенных аварий на объектах, использующих источники ионизирующих излучений.

Классической радиобиологией и радиационной генетикой твердо установлены два феномена: 1. беспороговость стохастических эффектов радиации, то есть воздействие в минимальной дозе в случае попадания кванта/ионизирующей частицы в ядро клетки способно вызвать разрывы молекул ДНК и, как следствие, мутации генов и аберрации хромосом (согласно теории мишени и принципа попадания); 2. "биологическое усиление" индуцированных генных/хромосомных мутаций как следствие работы редупликационного механизма в пролиферирующих клетках организма (конкретизация принципа «биологического усилителя») (Ли Д.Е., 1963; Тимофеев-Ресовский Н.В. и др., 1968).

С учетом данных мировой литературы, абсолютно очевидно, что реальная оценка генетического риска (риск для потомства, то есть не соматические эффекты) включает не только анализ гаметических (генных/хромосомных) мутаций, но и таких отдаленных эффектов радиации как трансгенерационная передача нестабильности генома от облученных родителей к их необлученным потомкам (Morgan W.F., 2003; Воробцова И.Е., 2006; Aghajanyan A., Suskov I., 2009; Пилинская М.А. и др., 2011; Fucic A. et al., 2016; Соснина С.Ф., Сокольников М.Э., 2019; Dubrova Yu**.,** 2019**)**.

Результаты эпидемиологических исследований различных когорт облученных лиц не продемонстрировали явных прямых доказательств влияния радиационного воздействия на наследственность человека (наследственные болезни, врожденные пороки, спонтанные аборты,

мертворождения) (ICRP, 2007; UNSCEAR, 2010; Little M.P., 2015; Соснина С.Ф., Сокольников М.Э., 2019; Котеров А.Н., Бирюков А.П., 2012).

Можно сказать, что единственными критериями, по которым активно оцениваются генетические эффекты радиационного воздействия в потомстве облученных индивидов, а результаты воспроизводятся при обследовании различных популяций экспонированных лиц, являются частоты мутаций в таких некодирующих участках генома как мини- и микросателлитные локусы. Это обусловлено уникальными свойствами этого вида последовательностей ДНК – селективной нейтральностью, высокой частотой тандемных повторов в сочетании с их большой вариабельностью (Jeffreys A.J. et al., 1988; Yauk C. L., 2004; Vergnaud G., Denoeud F., 2000; Bouffler S.D., 2006; Dubrova Yu.E., 2003, 2016, 2019; Tsyusko O. et al., 2007, 2011; Costa E.O.A. et al., 2018; и др.).

Статистически значимо повышенные частоты минисателлитных мутаций выявлены только у жителей территорий, загрязненных радионуклидами в результате аварии на ЧАЭС, ядерных взрывах на Семипалатинском полигоне, сбросов радиоактивных отходов в реку Теча, то есть у индивидов, подвергшихся хроническому радиационному воздействию (Dubrova Y.E. et al., 1996, 1997, 2002, 2006; UNSCEAR, 2001; Аклеев, 2007; Dubrova Y.E., 2006, 2016, 2019). Несомненно, требуются дальнейшие исследования для выяснения зависимости индукции мини-/микросателлитных мутаций в гаметах облученных лиц от вида воздействующей радиации.

В целом, в популяционных исследованиях имеет место проблема неоднозначности оценки радиационно-индуцированных генетических эффектов в соматических клетках человека в отдаленный период после облучения и трансгенерационных эффектов у потомков облученных родителей. Это связано с разным характером радиационного воздействия (вид радиации, доза, мощность дозы), промежутком времени между экспонированием и обследованием, информативностью изучаемых

показателей, репрезентативностью выборок и адекватностью контрольных когорт. В первую очередь, речь идет о генотоксических эффектах, индуцированных радиацией в малых дозах. Помимо всего, практически отсутствуют исследования, посвященные изучению мутагенных эффектов облучения в зависимости от стадии онтогенеза, на которую пришлось воздействие радиационного фактора. Между тем, очевидно, что по сравнению со взрослыми, дети являются более чувствительными к воздействию генотоксикантов окружающей среды, в том числе и радиации (Алексахин Р.М., 2014). Последнее обусловлено их антропометрическими характеристиками, быстрым ростом и развитием, физиологической незрелостью компенсаторных механизмов, а также более длинным интервалом жизни, в течение которого могут реализоваться отдаленные последствия мутагенного воздействия, в том числе, и трансгенерационная их передача потомству.

Как известно, выделяемые педиатрами периоды детского возраста (внутриутробный период, периоды новорожденности, грудного возраста и т.д.), характеризующиеся различными темпами роста, особенностями морфофункционального развития тех или иных органов и систем организма (Сергеева, 2007), определяют критические периоды адаптации человека к условиям окружающей среды, в том числе к воздействию генотоксикантов в малых дозах и концентрациях. Авария на Чернобыльской атомной электростанции (ЧАЭС) в 1986 году явилась трагедией, которая привела к облучению огромных контингентов населения, хотя предоставила уникальную возможность для одновременного изучения отдаленных последствий действия радиации, как правило, в малых дозах, на организм человека в наиболее уязвимые периоды его онтогенеза.

Эпидемиологические исследования выявили повышенную заболеваемость соматического характера, хронизацию болезней, учащение случаев развития иммунодефицитных состояний, анемизации, злокачественных новообразований у лиц, подвергшегося

низкоинтенсивному облучению в малых и средних дозах, и в первую очередь это касается наиболее радиочувствительного детского организма (Иванов В.К. и др., 2017, 2018, 2019; Чекин С.Ю. и др., 2017; Ivanov V.K. et al., 2017; Кащеев В.В. и др., 2015; Kashcheev V.V. et al., 2016; Балева Л.С. и др., 2003, 2015, 2019; Коренев Н.М. и др., 2012; Сипягина А.Е. и др., 2018). Судя по всему, такое радиационное воздействие не является фактором, индуцирующим строго специфическую патологию. Исключение составляют некоторые опухолевые заболевания, в частности лейкозы (Домрачева Е.В. и др., 2002).

Поэтому, еще одной задачей изучения отдаленных эффектов радиационного воздействия является поиск маркеров перенесенного облучения, которые могут дать интегральную оценку состояния здоровья индивида. Учитывая постулированное в радиобиологии ускоренное старение, индуцированное радиацией (Виленчик М.М., 1987), все выше упомянутые контингенты облученных лиц относятся к группе риска по преждевременной манифестации возраст-ассоциированных заболеваний (Tong J., Hei T.K., 2020). Однако, разработка системы превентивной диагностики этих патологий имеет ряд сложностей. Во-первых, сами по себе результаты широкогеномных исследований (GWAS – Genome Wide Association Studies), а, именно, анализ совокупности аллельных вариантов для множества «топовых» SNP-единичных нуклеотидных замен, проявивших каждый в отдельности связь с риском развития той или иной патологии, к сожалению, объясняет, как правило, менее 10% наблюдаемой наследуемости ряда мультифакториальных заболеваний, в том числе ассоциированных с возрастом (злокачественные новообразования, сахарный диабет 2 типа, сердечно-сосудистые заболевания и др.) (Manolio T.A. et al., 2009; Visscher P.M. et al., 2012). Во-вторых, хотя однозначно ясно, что повреждения генома, регистрируемые в виде аберраций хромосом, генных мутаций, разрывов ДНК в отдаленный период после облучения организма человека, а также у его потомков, не могут не сказаться на функции клетки и организма в целом,

отсутствуют явные доказательства их связи с индукцией тех или иных возрастных патологий (Сусков И.И. и др., 2006; Михайлова Г.Ф., 2007; Нугис В.Ю., Козлова М.Г., 2017). В то же время, последние достижения в области эпигенетики старения и возраст-ассоциированных заболеваний, связанные с разработкой высокозначимой модели оценки биологического возраста индивида (Horvath S., 2013; Hannum G. et. al., 2013; Marioni R.E. et al., 2015; Soriano-Tárraga K. et al., 2016; Zampieri M. et al., 2015), позволяющей выявлять лиц с преждевременным старением, дают надежду на решение выше изложенной проблемы. Поэтому, изучение закономерностей индукции эпигенетических изменений в организме, подвергшемся радиационному воздействию, является еще одним важным и актуальным аспектом оценки отдаленных последствий облучения (Кузьмина Н.С., 2020).

Степень разработанности темы. К настоящему моменту накопилось достаточное количество сведений о существенно повышенных уровнях отдаленных генетических нарушений (аберрации хромосом, микроядра, генные мутации, разрывы ДНК) в соматических клетках детей и взрослых, подвергшихся хроническому/фракционированному облучению в малых и средних дозах, в частности пострадавших в результате аварии на ЧАЭС (ликвидаторы аварии на ЧАЭС и жители территорий с радионуклидными загрязнениями) (Шевченко В.А., Снигирева Г.П., 2006; Снигирева Г.П. и др., 2011; Воробцова И.Е., Семенов А.В., 2006; Севанькаев А.В. и др., 2005; 2006; Михайлова Г.Ф., 2007; и др.). При использовании цитогенетических методов получены доказательства трансгенерационной нестабильности генома, имеющей место у детей ликвидаторов аварии на ЧАЭС (Степанова Е.И. и др., 2004; Воробцова И.Е., 2006; Aghajanyan A., Suskov I., 2009; Пилинская М.А. и др., 2011). Статистически значимое увеличение частоты минисателлитных мутаций выявлено в хронически облучаемых популяциях, населяющих территории с неблагоприятной радиационной обстановкой (Аклеев, 2007; Dubrova Y.E., 2006, 2016, 2019). Экспериментальные исследования на лабораторных животных (in vivo) показали дозозависимую индукцию

гиперметилирования промоторов генов, которое могло сохраняться на протяжении длительного периода времени (до нескольких месяцев) (Wang J.et al., 2014; Lima F. et al., 2014; Nzabarushimana E. et al., 2014; Impey S. et al., 2016, 2017).

Однако, большая часть исследований по оценке генотоксических эффектов низкоинтенсивной радиации у детей и подростков выполнены в первые 10-15 лет после Чернобыльской катастрофы, а значит посвящены изучению последствий их внутриутробного и постнатального облучения (Севанькаев А.В., 2005; Михайлова Г.Ф., 2007; Степанова Е.И. и др., 2007; и др.). Сравнительный анализ генетических эффектов, выявленных у детей и взрослых, непосредственно облученных во время аварии и продолжающих проживать в условиях низкоинтенсивного воздействия радиации, с таковыми показателями у детей, родившихся спустя годы и десятилетия после Чернобыльской катастрофы, но являющихся потомками родителей, облученных в критические периоды детства, не проводился. Отсутствуют работы по многопараметровой оценке генетических нарушений в семьях индивидов (два поколения: родители и их дети), подвергшихся радиационному воздействию. Между тем эти сведения необходимы для выявления трансгенерационной геномной нестабильности, индуцируемой низкоинтенсивным воздействием радиации в малых дозах, а также выяснения особенностей проявления этого феномена, отличающих его от генетических эффектов, которые индуцируются в организме, подвергшемся непосредственному облучению. Отсутствуют также работы по изучению мутаций мини-/микросателлитных локусов ДНК в таких уникальных когортах лиц как потомки профессионалов-атомщиков, подвергшихся хроническому воздействию β - излучения трития и его окиси, характеризующегося высокой плотностью ионизации тканей. Исследования радиационно-индуцированного гиперметилирования промоторов генов в нормальных лейкоцитах человека в отдаленный период после облучения не проводились. Решение всех этих вопросов, охватывающих несколько

направлений исследований, в совокупности необходимо для разработки системы отдаленных маркеров облучения, имеющих очевидную прогностическую ценность в отношении здоровья облученного индивида и его потомков.

Цель и задачи исследования. В свете вышесказанного цель данной работы заключалась в комплексном изучении генетических и эпигенетических нарушений в лимфоцитах человека в отдаленный период после радиационного воздействия, а также в оценке аналогичных показателей у потомков облученных лиц.

В связи с этим были поставлены следующие задачи:

1. Провести изучение цитогенетических эффектов в двух поколения лиц - жителей территорий, загрязненных радионуклидными в результате аварии на ЧАЭС. Проанализировать показатели мутагенеза у детей в зависимости от стадии онтогенетического развития их родителей на момент облучения.
2. Провести изучение по цитогенетическим и иммуногенетическим критериям состояния генома лимфоцитов у отцов-ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС и их необлученных детей. Оценить сопряженность между изученными показателями в обоих поколениях лиц.
3. Провести изучение частоты мутаций в мини- и микросателлитных локусах у детей профессионалов-атомщиков, подвергавшихся хроническому воздействию β – излучения трития и его окиси.
4. Провести изучение гиперметилирования CpG - островков промоторов генов, участвующих в основных защитных функциях клетки, у облученных лиц вышеперечисленных групп (ликвидаторы аварии на ЧАЭС, жители территорий с радионуклидными загрязнениями, профессионалы-атомщики г. Сарова), а также у их потомков.

5. Провести верификацию полученных эпигенетических данных на независимой выборке работников предприятия атомной промышленности ПО «Маяк» (г. Озерск) с документированными дозами облучения с расширением спектра анализируемых генов.
6. Провести анализ дозовой зависимости индукции гиперметилирования генов в лейкоцитах крови лиц, подвергшихся облучению в результате профессиональной деятельности.
7. Провести анализ сопряженности между цитогенетическими и эпигенетическими показателями. Сравнить их прогностическую значимость как биомаркеров отдаленного радиационного воздействия.

Методология и методы исследования. Диссертационная работа является научным исследованием, в котором решается важная и актуальная проблема - многопараметровая оценка отдаленных генотоксических эффектов у лиц, подвергшихся радиационному воздействию на разных этапах онтогенеза, в том числе в критические периоды детства, трансгенерационного феномена дестабилизации генома у их потомков и анализ закономерностей индукции гиперметилирования CpG-островков промоторов ряда генов основных защитных систем клетки, выявляемого в лимфоцитах крови человека спустя годы и десятилетия после перенесенного облучения.

Объектом исследования являлись различные контингенты лиц, подвергшихся радиационному воздействию: ликвидаторы аварии на ЧАЭС, жители территорий с радионуклидными загрязнениями после Чернобыльской катастрофы, работники предприятий атомной промышленности (реакторный и радиохимический заводы ПО «Маяк» г. Озерска, Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики - РФЯЦ-ВНИИЭФ г. Сарова), а также их облученные и необлученные дети. В целом, обследованные лица подверглись хроническому или фракционированному облучению в широком диапазоне доз.

Предметом исследования являлись цитогенетические показатели (аберрации хромосом в лимфоцитах периферической крови), лимфоциты, мутантные по локусу Т-клеточного рецептора (TCR – мутации), лимфоциты с иммунофенотипом $CD95^{+}$, экспрессирующие на поверхности мембраны FAS/APO1 – маркер апоптоза, мутации в мини-/микросателлитных локусах, метилированные CpG-динуклеотиды CpG-островков промоторов ряда генов. Кроме того, сюда относятся факторы радиационной (доза, мощность дозы, вид ионизирующего излучения) и нерадиационной природы (стадия онтогенеза, на которую пришлось радиационное воздействие, промежуток времени между облучением и взятием образцов крови, промежуток времени между окончанием работы в условиях радиационного воздействия и зачатием детей), влияющие на выраженность геномных/эпигеномных нарушений у облученных лиц и их потомков.

Гипотеза исследования: в облученном организме в отдаленный период после перенесенного воздействия наблюдается широкий спектр генетических/эпигенетических нарушений, а также имеет место сопряженность между исследованными показателями. У части обследованных потомков облученных лиц, в том числе подвергшихся низкоинтенсивному облучению в критические периоды детства, выявляется трансгенерационная нестабильность генома, которая характеризуется разнообразием проявлений, не коррелирующих друг с другом. Наблюдаемые нарушения не только являются отдаленными маркерами перенесенного облучения, но и сопряжены с риском развития соматической заболеваемости у облученных лиц и их потомков.

Для решения поставленных задач применялись цитогенетический и молекулярно-генетические методы исследований, иммунофенотипирование лимфоцитов крови (проточная цитофлуориметрия), а также общепринятые теоретические методы научного познания.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов обусловлена применением современных, соответствующих поставленным задачам экспериментальных подходов и охватом репрезентативных выборок обследуемых лиц, критическим анализом мировой литературы, а также использованием адекватных статистических методов обработки данных. Все сформулированные в диссертации положения, выводы, рекомендации полностью базируются на результатах проведенных исследований.

Материалы диссертационной работы представлены на научно-практической конференции «Парадигмы современной радиобиологии» (Украина, Киев - Чернобыль, 2004), VI Международной конференции «Экология человека и природа» (Москва-Плес, 2004), ежегодных конференциях, посвященных Программе фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки-медицине» (Москва, 2004. 2005, 2006, 2007), III Международной конференции «Генетические последствия чрезвычайных и радиационных ситуаций» (Дубна, 2005), Second International Conference dedicated to the 105th anniversary of the birth of N.W.Timofeeff-Ressovsky “Modern problems of genetics, radiobiology, radioecology and evolution” (Armenia, Yerevan, 2005), III Международном симпозиуме «Хроническое радиационное воздействие: медико-биологические эффекты» (Челябинск, 2005), Международной конференции «Современные проблемы генетики» (Белоруссия, Минск, 2005), V съезде по радиационным исследованиям (Москва, 2006), International Congress “Chernobyl – 20 Years Later” (Germany, Berlin, 2006), 35th Annual Meeting of European Radiation Research Society (Ukraina, Kiev, 2006), Российском конгрессе “Современные технологии в педиатрии и детской хирургии” (Москва, 2006, 2009), II Международной конференции «Человек и электромагнитные поля» (Саров, 2007), конференции «Динамика генофондов» (Москва, 2007), V Съезде Вавиловского общества генетиков и селекционеров (Москва, 2009), Third International Conference dedicated to N.W.Timofeeff-Ressovsky “Modern

problems of genetics, radiobiology, radioecology and evolution” (Alushta, 2010), VI Съезде по радиационным исследованиям (Москва, 2010), конференции «Генофонды и генетическое разнообразие» (Москва, 2010), Second International Conference on Radiation and Dosimetry in Vatious Fields of Research (Serbia, Nis, 2014), VII Съезде по радиационным исследованиям (Москва, 2014), «Seminar of Ecology - 2015» (Sofia, 2015), Fourth International Conference, dedicated to N.W. Timofeeff-Ressovsky and His Scientific School «Modern problems of genetics, radiobiology, radioecology, and evolution» (St. Peterburg, 2015), Российской конференции с международным участием «Современные направления в радиобиологии и астробиологии. Молекулярные, генетические, клеточные и тканевые эффекты» (Дубна, 2015), Российской конференции с международным участием "Актуальные проблемы радиобиологии и астробиологии. Генетические и эпигенетические эффекты ионизирующих излучений" (Дубна, 2016), Российской конференции с международным участием «Современные вопросы радиационной генетики» (Дубна, 2019), на заседаниях Ученого совета ИОГен РАН (Москва, 2015, 2019), межлабораторном семинаре ИОГен РАН (Москва, 2021).

Личный вклад автора. Основные результаты работы получены лично автором, либо при осуществлении его ведущей роли в коллективных исследованиях (планирование проведения всех разделов экспериментальной работы, личное участие в них, анализ и обсуждение результатов, написание статей). Иммуногенетические исследования (анализ TCR-мутантных лимфоцитов и $CD95^+$ - лимфоцитов), основанные на использовании проточной цитофлуориметрии, выполнены совместно с лабораторией иммунодиагностики и иммунокоррекции ФГБУ НМИЦ трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова (зав. лаб. д.м.н., профессор Сускова В.С.).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Два поколения обследованных лиц – жителей территорий с радионуклидными загрязнениями после аварии на ЧАЭС (135–688 кБк/м^2) характеризуются повышенным уровнем соматического мутагенеза. Средние частоты аберраций хромосом у детей, родившихся спустя десятилетия после начала воздействия радиационного фактора на их родителей в критические периоды детства не отличаются значимо от таковых у детей, непосредственно облученных во время аварии (постнатальный/антенатальный период) и продолжающих проживать (10–15 лет до обследования) в условиях низкоинтенсивного действия радиации (средние эффективные дозы у детей двух групп: ~4–6 мЗв и ~30–35 мЗв, соответственно).
2. Результаты оценки сопряженности между изученными показателями (аберрации хромосом, TCR – мутации, CD95$^+$-предикторы апоптоза), средние частоты которых существенно повышены как у облученных отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС (35 – 480 мЗв), так и у их необлученных детей, свидетельствуют об отличительных особенностях, характерных для индукции трансгенерационной геномной нестабильности в необлученном детском организме и ее индивидуальном характере.
3. Повышенная частота микросателлитных мутаций у детей профессионалов-атомщиков, подвергшихся воздействию трития и его окиси (11–994 мЗв), свидетельствует о генотоксических последствиях хронического действия β-излучения этого радионуклида на клетки генеративной системы организма.
4. Показана реальность гиперметилирования CpG-островков промоторов ряда генов основных защитных систем клетки, выявляемого в отдаленный период после перенесенного радиационного воздействия (дозы от 35 до 2000 мЗв и более) и имеющего дозозависимый характер. Продемонстрированы дифференциальные эффекты возраста и облучения в метилировании разных локусов.

5. В целом, выявлен системный характер генетических/эпигенетических нарушений, сопряженность между изученными показателями в клетках организма в отдаленный период после облучения и разнообразие спектра трансгенерационных эффектов у детей – потомков родителей, подвергшихся радиационному воздействию на разных этапах онтогенеза, в том числе в критические периоды детства.

Научная новизна полученных результатов.

Впервые проведено изучение цитогенетических эффектов в двух поколения лиц - жителей территорий, загрязненных радионуклидными в результате аварии на ЧАЭС (135 – 688 кБк/м^2), что позволило оценить последствия радиационного воздействия в малых дозах не только у индивидов, подвергшихся облучению в критические периоды детства, но и у их детей.

Впервые проведено комплексное изучение по цитогенетическим и иммуногенетическим критериям состояния генома лимфоцитов у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС и их детей, и выявлены отличительные особенности, характерные для индукции геномной нестабильности в организме необлученных потомков, по сравнению с отцами, перенесшими непосредственное радиационное воздействие.

Впервые проведено изучение уровня полиморфизма 5 мини- и 11 микросателлитных локусов у детей профессионалов-атомщиков г. Сарова (сотрудники РФЯЦ-ВНИИЭФ) - уникальной группы людей, начавших работать 40 - 50 лет назад с тритием и его окисью, радиобиологические особенности действия которого на организм человека окончательно не изучены. У потомков облученных родителей выявлена тенденция к повышенной частоте микросателлитных мутаций по сравнению с контролем.

Впервые на двух независимых выборках облученных лиц в отдаленный период после радиационного воздействия проведено изучение гиперметилирования CpG–островков промоторов генов основных защитных

систем клетки и закономерностей его индукции в нормальных лейкоцитах крови (новый аспект генотоксического действия радиации).

В целом, впервые в отдаленный период после пролонгированного облучения (как правило, в малых и средних дозах) предпринят комплексный подход к оценке состояния генома/эпигенома клеток организма человека и его потомков.

Теоретическая значимость работы. В результате впервые предпринятого комплексного подхода к оценке состояния генома/эпигенома в клетках организма человека спустя годы и десятилетия после перенесенного радиационного воздействия в малых и средних дозах, а также у его потомков, выявлен системный характер генетических/эпигенетических нарушений, сопряженность между теми или иными изученными показателями и особенности проявлений трансгенерационных эффектов у детей облученных родителей. Впервые проведенное изучение гиперметилирования CpG-островков промоторов ряда генов основных защитных систем клетки у облученных лиц двух независимых выборок показало существенную выраженность этих эпигенетических модификаций, имеющую дозозависимый характер, в отдаленный период после перенесенного радиационного воздействия. Генотоксические эффекты хронического воздействия β-излучения трития и его окиси на клетки генеративной системы организма, впервые выявленные по оценке уровня микросателлитных мутаций у детей профессионалов-атомщиков, существенно пополняют знания о радиобиологических эффектах действия этого радионуклида. В конечном итоге, совокупность результатов, полученных в ходе выполнения работы, существенно расширяет представления о риске пролонгированного облучения в широком диапазоне доз для настоящих и будущих поколений (генетические и соматические эффекты). Это входит в перечень основных проблем, которые ставит перед собой фундаментальная радиационная генетика и радиобиология человека.

Практическая значимость работы. Полученные результаты указывают на необходимость включения комплексной оценки состояния генома с учетом таких эпигенетических показателей, как гиперметилирование CpG - островков промоторов генов, участвующих в основных защитных функциях клетки, в систему регулярного мониторинга состояния здоровья индивидов, подвергшихся облучению в широком диапазоне доз (ликвидаторы радиационных катастроф, жители территорий с радионуклидными загрязнениями, работники атомной индустрии и др.). Это даст возможность своевременного выявления индивидов, имеющих повышенный риск развития радиационно-индуцированной патологии, предшествующей регистрации морфо-функциональных изменений органов и систем организма с помощью клинико-лабораторных и инструментальных методов исследования. Кроме того, особой категорией наблюдения являются потомки родителей, подвергшихся облучению в различные стадии онтогенеза, в том числе в критические периоды детства, независимо от интервала времени между окончанием действия радиационного фактора и зачатием детей.

Рекомендуется расширение спектра исследуемых генов с целью создания панели высоко прогностических превентивных эпигенетических маркеров, являющихся, с одной стороны, молекулярными предикторами перенесенного в прошлом радиационного воздействия, а с другой - сопряжено с преждевременным старением и риском развития возраст-ассоциированной патологии. Биологический возраст – показатель, обладающий очевидной прогностической ценностью. Предполагается, что выявление предикторов преждевременного старения и развития тех или иных заболеваний в лейкоцитах крови облученных индивидов и их потомков – важный диагностический критерий ухудшения здоровья, что должно учитываться при индивидуализации радиационных нагрузок и разработки системы лечебно-профилактических мероприятий в рассматриваемых контингентах лиц.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 68 печатных работах, в том числе 23 статьи в рецензируемых журналах (входят в перечень ВАК и/или БД РИНЦ, Scopus, WoS), 11 публикаций (главы в книгах и монографиях, статьи в сборниках трудов конференций), 35 тезисов докладов, представленных на российских и международных съездах, конференциях, симпозиумах.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Цитогенетические эффекты у лиц различных контингентов пострадавших в результате аварии на ЧАЭС

1.1.1. Цитогенетические эффекты у ликвидаторов аварии

Результаты многочисленных исследований цитогенетических эффектов в лимфоцитах ликвидаторов аварии на ЧАЭС, которые широко освещены в многочисленных экспериментальных и обзорных публикациях, свидетельствуют о существенном повышении уровня аберраций хромосомного типа, в первую очередь, стабильных (реципрокные транслокации) и нестабильных обменных перестроек (дицентрики и кольца). Выявлено, что частота нестабильных хромосомных аберраций постепенно уменьшается со временем, однако, превышает спонтанный уровень на протяжении десятилетий, прошедших после облучения. Использование G-бэндинга и FISH-метода (флюоресцентная *in situ* гибридизация) существенно расширило возможности цитогенетического мониторинга для выявления стабильных аберраций хромосомного типа – реципрокных транслокаций, уровень которых, как показано, не изменяется с течением времени после облучения. Поэтому, анализ этих хромосомных перестроек позволяет более корректно проводить не только оценку уровня соматического хромосомного мутагенеза, но и ретроспективную биодозиметрию для лиц, подвергшихся радиационному воздействию многие годы назад. Хотя при высоких дозах облучения (более 1-2 Гр) существенно количество клеток, несущих нестабильные аберрации в сочетании с реципрокными транслокациями, а, следовательно, элиминирующих с течением времени. Последнее приводит к снижению регистрируемого уровня этих стабильных обменных перестроек хромосом (Шевченко В.А.и др., 1995; Pilinskaya M.A., 1996; Пилинская М.А., Дыбский С.С., 2000; Пилинская М.А. и др., 2011; Шевченко В.А., Снигирева Г.П., 2006; Снигирева Г.П. и др., 2011;

Sevan'kaev A. V. at al., 2005; Нугис В. Ю., Дудочкина Н.Е., 2006; Nugis V.Iu. et al., 2011; Елисова Т.В., 2008; Сальникова Л.Е. и др., 2008; Воробцова И.Е., Семенов А.В., 2006; Maznik N.A., Vinnikov V.A., 1997, 2004; Svirnovskiĭ A.I. et al., 1998; Golub E.V., 2009; Neronova E. et al., 2003; Alexanin S.S., 2010).

Сопряженность частоты клеток с поврежденным геномом и дозы облучения, а также уменьшение уровня таких клеток со временем выявлены у ликвидаторов аварии на ЧАЭС (средняя доза на ККМ 59,5 мЗв) спустя 12-18 лет после катастрофы в исследовании и с применением микроядерного теста буккального эпителия (Bazyka D. et al., 2017).

Показано, что у ликвидаторов аварии на ЧАЭС – носителей мультиаберрантных клеток частота нестабильных аберраций хромосомного типа была существенно выше таковой у облученных индивидов, характеризующихся отсутствием лимфоцитов с множественными перестройками генома (Domracheva E.V. et al., 2000).

В некоторых работах не выявлены различия в уровнях рассматриваемых повреждений генома между группами людей с разной средней дозой облучения, что указывет на индивидуальную радиочусвтвительность организма (Neronova E. at al., 2003).

Достижения за последние 15-20 лет в области экспериментальной радиобиологии и радиационной генетики указывали на необходимость выявления в отдаленный период после облучения человека не только мишенных эффектов, индуцированных при непосредственном действии радиации на клетку-мишень, но и возможных немишенных эффектов (геномная нестабильность, эффект «свидетеля), что потребовало внедрения новых методических подходов. К последним относится изучение чувствительности генома лимфоцитов к тестирующим воздействиям in vitro, долговременное культивирование этих клеток (96 и 144-часовое), а также оценка способности лимфоцитов облученных лиц индуцировать аберрации в необлученных клетках при совместном культивировании (лимфоциты разнополых доноров).

Установлена способность лимфоцитов участников ликвидации аварии на ЧАЭС (350-690 мГр и 1,01 – 2,37 Гр) индуцировать эффект свидетеля в виде простых аберраций хроматидного типа (хроматидных разрывов) в необлученных клетках (совместное культивировании облученных in vivo необлученных клеток), что, по мнению авторов, свидетельствует о персистенции радиационно-индуцированного эффекта свидетеля (Пилинская М.А. с соавт., 2011).

Приводятся экспериментальные доказательства индукции геномной нестабильности в организме облученных ликвидаторов аварии на ЧАЭС. Во-первых, частоты аберрантных клеток после фракционированного и острого облучения in vitro лимфоцитов крови в диапазоне низких и средних доз (10-100 сГр) были значительно выше у облученных индивидов, по сравнению с их необлученными женами. Во-вторых, у этих облученных лиц наблюдалось возрастание уровня клеток с цитогенетическими нарушениями и одноразрывных аберраций хромосом во 2-ом митозе, по сравнению с таковыми показателями в 1-ой клеточной генерации (Aghajanyan A.V., Suskov I.I., 2009). Повышенная чувствительность к тестирующему облучению in vitro в дозе 1,5 Гр выявлена и в работе других авторов (Воробцова И.Е., Семенов А.В., 2006).

Показана повышенная чувствительность хромосом лимфоцитов к блеомицину у ликвидаторов Чернобыльской катастрофы (Pilinska M.A. et al., 2010). Следует отметить, что выявлена высокая межиндивидуальная вариабельность чувствительности к этому известному радиомиметику (0,05 и 5 мкг/мл), а также отсутствие положительной корреляционной связи между фоновыми и индуцированными блеомицином частотами аберраций хромосом. Так показано, что скрытая хромосомная нестабильность (доля гиперчувствительных лиц) наблюдалась у 40-42 % облученных индивидов этой категории, в то время как этот показатель в контрольной группе составил 33 % (Pilinska M.A. et al., 2010; Пилинская М.А. с соавт, 2012).

1.1.2. Цитогенетические эффекты у взрослых лиц, проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями

Результаты цитогенетических исследований взрослых индивидов, проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями, проведенных в разные сроки после аварии на ЧАЭС, свидетельствуют о существенно повышенных средних уровнях хромосомных аберраций, в первую очередь аберраций хромосомного типа (в среднем, в 2 – 3 раза), как простых, так и обменных, по сравнению с таковыми показателями у лиц, проживающих в чистых районах (Бездробная Л.К. и др., 2002; Тарасенко Л.В. и др., 2004; Шевченко В.А., Снигирева Г.П., 2006; Снигирева Г.П. и др., 2011; Aghajanyan A.V., Suskov I.I., 2009). В некоторых исследованиях отмечается снижение с течением времени суммарного уровня аберраций хромосом за счет частоты парных фрагментов, но уровень обменных аберраций хромосомного типа – маркеров радиационного воздействия, не изменяется (Бездробная Л. К. и др., 2002). Авторы отмечают, что радиационно-индуцированные дисгеномные эффекты обусловлены не только внешним, но и внутренним облучением (Тарасенко Л.В. и др., 2004). Выявлена высокая межиндивидуальную вариабельность наблюдаемых цитогенетических эффектов (Бездробная Л.К. и др., 2002).

Изучение динамики цитогенетических эффектов в лимфоцитах крови жителей (102 чел.), эвакуированных из г. Припять и других населенных пунктов, расположенных в 30-километровой зоне ЧАЭС, показало, что уровень нестабильных аберраций хромосомного типа (дицентрики и кольца) превышал таковые показатели в контрольной группе в течение 1 года после эвакуации и постепенно снижался в последующие 14 лет. Частота дицентриков и колец положительно коррелировала с длительностью пребывания в зоне аварии (Maznik N.A., Vinnikov V.A., 2002; Мазник Н.А., 2004). В другом исследовании у лиц этого контингента выявлена повышенная чувствительность хромосом генома к тестирующему облучению in vitro в дозе 1.5 Гр (Воробцова И.Е., Семенов А.В., 2006).

В целом результаты изучения цитогенетических эффектов у жителей территорий, загрязненных радионуклидами в результате аварии на ЧАЭС, сопоставимы с таковыми, характерными для жителей других территорий, характеризующихся неблагоприятной экологической обстановкой. Так, длительный мониторинг цитогенетического статуса представителей локальных популяциях жителей Алтайского края, проведенный с целью оценки генетических последствий ядерных взрывов на Семипалатинском полигоне, выявил повышенные уровни радиационно-индуцированных аберраций хромосом как у родителей, облученных в 1949-1962 годах, так и у необлученных их детей и внуков. Аналогичные хромосомные нарушения отмечены у жителей Южного Урала, подвергшихся длительному радиационному воздействию в результате радионуклидного загрязнения р. Теча. Очевидно, что наиболее высокие уровни хромосомных аберраций, особенно транслокационных, выявлены у представителей I поколения, подвергшихся наибольшим дозовым нагрузкам (Шевченко В.А. и др., 1994, 1995; Сусков И.И. и др., 1997, 2000; Акаева Э.А. и др., 2000; Veremeyeva G. et al., 2010; Возилова А. В. и др., 1998; Vozilova A.V. et al., 2013). Наличие мультиаберрантных клеток у лиц, проживающих на радиационно-загрязненных территориях, является результатом преимущественно внутреннего облучения за счет поступления радионуклидов в организм с продуктами питания и водой (Домрачева Е.В. и др., 1991; Pilinskaya et al., 1994). Считается, что такие клетки являются биомаркером внутреннего воздействия плотноионизирующих излучений (излучений с высокой ЛПЭ), в первую очередь α-частиц (Aseeva E.A. et al., 2010; Popova N.A. et al., 2004; Druzhinin V. et al., 2016).

Кроме того, у мужчин-жителей территорий с радионуклидными загрязнениями, как и у ликвидаторов аварии на ЧАЭС, частоты аберрантных клеток после фракционированного и острого облучения in vitro лимфоцитов крови в диапазоне низких и средних доз (10-100 сГр) были значительно выше по сравнению с таковыми показателями у их необлученных жен. Также

наблюдалось возрастание уровня клеток с цитогенетическими нарушениями и одноразрывных аберраций хромосом во 2-ом митозе, по сравнению с таковыми показателями в 1-ой клеточной генерации (Aghajanyan A.V., Suskov I.I., 2009).

Таким образом, через десятилетия после перенесенного фракционированного облучения (исследован широкий диапазон доз: от малых – до 100 мГр до доз, вызывающих лучевую болезнь, то есть более 1 Гр) у ликвидаторов аварии на ЧАЭС отмечается выраженный мутационный процесс в лимфоцитах крови, что является результатом как непосредственного действия радиационного фактора (внешнего и внутреннего) на клетки-мишени, так и индукции в организме отдаленных немишенных эффектов (нестабильности генома и эффекта свидетеля). Аналогичный спектр изменений генома соматических клеток отмечается и для лиц – жителей территорий с радионуклидными загрязнениями (135-688 кБк/м^2), подвергшихся низкоинтенсивному хроническому воздействию радиации в малых дозах.

1.1.3. Цитогенетические эффекты у детей, родившихся от ликвидаторов аварии на ЧАЭС

Дети, родившиеся от отцов - ликвидаторов аварии на ЧАЭС и не подвергшиеся непосредственному радиационному воздействию, представляют собой особую когорту наблюдения.

Показано, что уровень одиночных хроматидных фрагментов в лимфоцитах периферической крови детей, рожденных от отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС, подвергшихся облучению в диапазоне малых и средних доз (как правило не превышали 25 сГр), статистически значимо (в 2 раза) превышал контрольный уровень. Кроме того, у потомков экспонированных лиц чаще, чем в контроле выявлялись сложные хромосомные перестройки - дицентрики и кольца. Эти дети характеризовались повышенной радиочувствительностью (нестабильностью)

хромосом генома, о чем свидетельствовали результаты проведенных экспериментов с дополнительным тестирующим γ-облучением лимфоцитов in vitro (1,5 Гр) (Воробцова И. Е. и др., 1995; Воробьева М. В., 1995; Воробцова И.Е., Семенов А.В., 2006). Согласующиеся с этими выводами получены результаты в другой работе, свидетельствующие о повышенной чувствительности лимфоцитов крови к фракционированному и острому облучению in vitro в диапазоне низких и средних доз (10-100 сГр) у детей ликвидаторов Чернобыльской катастрофы (Aghajanyan A.V., Suskov I.I., 2009).

Аналогичные результаты получены при обследовании детей, рожденных от отцов ликвидаторов аварии на ЧАЭС, подвергшихся облучению не только в высоких дозах, то есть перенесших в 1986 г. острую лучевую болезнь I-II степени, но и в диапазоне малых и средних доз (от 0,1 до 1 Зв), что сопровождалось выраженными отклонениями в состоянии здоровья у потомков облученных родителей (Степанова Е.И., Ванюрихина Е.А., 1993; Степанова Е.И. и др., 1996; Степанова Е.И. с соавт., 2004).

С целью выявления скрытых потенциальных повреждений ДНК у детей, родившихся от облученных ликвидаторов аварии на ЧАЭС (дозы облучения 40-670 мГр), проведено как общепринятое 48-часовое, так и долгосрочное 144-часовое культивирование лимфоцитов периферической крови и выявлены существенно повышенные уровни аберраций хромосом (по сравнению с таковым показателем в контрольной группе) только при втором варианте эксперимента. Это может указывать на отсроченную хромосомную нестабильность, о чем свидетельствовали повышенные уровни обменных аберраций хромосомного типа, как стабильных (атипичные моноцентрики), так и нестабильных (центрических колец) (по сравнению с таковыми показателями у детей контрольной группы). Выявлена высокая межиндивидуальная вариабельность цитогенетических эффектов как краткосрочных, так и в долгосрочных культурах и отсутствие корреляции между этими двумя показателями, что, по мнению авторов является

отображением индивидуальных особенностей спонтанной и /или радиационно-индуцированных экспрессии нестабильности генома (Пилинская М.А. и др., 2011).

Показано, что после приема детьми, родившимися от облученных отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС, per os фолиевой кислоты (3 раза в сутки по 0,001 г, 15 дней), чувствительность лимфоцитов периферической крови к тестирующему воздействию in vitro митомицина С (3 мкг/мл) значимо снижалась по сравнению с таковым показателем у детей, не получавшим этот антимутаген. Спонтанная частота аберраций хромосом у потомков облученных родителей также снижалась после приема этого препарата. Таким образом, показан протективный эффект фолиевой кислоты в отношении выраженности нестабильности генома у этого контингента лиц (Ковалева В.И., Багацкая Н.В., 2013).

Таким образом, рядом исследователей выявлен повышенный уровень аберраций хромосом у необлученных детей, родившихся от облученных отцов ликвидаторов аварии на ЧАЭС. Это свидетельствует о трансгенерационном феномене дестабилизации генома у потомков облученных родителей, что получило экспериментальное подтверждение в работах на культурах лимфоцитов этих индивидов, в том числе с применением тестирующих воздействий радиации на клетки крови in vitro.

1.1.4. Цитогенетические эффекты у детей, проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями

Результаты многолетнего цитогенетического мониторинга (1988 – 2000 гг.) детей – школьников, проживающих на радиационно-загрязненных после аварии на ЧАЭС территориях Украины (районы Житомирской и Киевской обл., от 9,9 до 26 Ки/км^2 по ^{137}Cs и ^{134}Cs) свидетельствуют о существенно повышенных уровнях как хроматидных фрагментов, так и аберраций хромосомного типа (парные фрагменты, дицентрики, кольца, реципрокные транслокации). Некоторые облученные дети являлись носителями

мультиаберрантных клеток (содержат 3 и более перестроек хромосом, специфичных для радиационного мутагенеза). Выявлена тенденция к накоплению сложных обменных аберраций хромосомного типа, в первую очередь, реципрокных транслокаций с течением времени. Зависимость выраженности хромосомного мутагенеза от плотности почвенного загрязнения радиоактивными изотопами цезия не обнаружена (Пилинская М.А. и др., 1992, 1995, 2001).

Аналогичные результаты, а именно увеличение с течением времени (трехлетний период наблюдения:1988-1990 гг.) средней частоты аберраций хромосомного типа (с 0,68 до 1,30 на 100 клеток), которая статистически значимо превышала контрольный уровень (0,2 на 100 клеток), наряду с ростом доли лиц с этими цитогенетическими нарушениями выявлены в группе детей из других районов Житомирской области Украины (5 и более и 1-2 Ки/км^2 по ^{137}Cs и ^{134}Cs) (Елисеева И.М. и др., 1994).

Спустя 9 лет после аварии на ЧАЭС выявлена существенно повышенная частота микроядер в мононуклеарных (но не в бинуклеарных) лимфоцитах крови у детей (10-15 лет на момент обследования), проживающих на загрязненных радионуклидами территориях Белоруссии (Калинковичи, 35,9 кБк/м^2, ^{137}Cs) (Mikhalevich L. S. et al., 2000). У детей, проживающих в г. Новозыбкове Брянской обл. (до 40 Ки/км^2 по ^{137}Cs), наблюдалась значимо повышенная по сравнению с детьми контрольной группы частота клеток с микроядрами, выявленных в тесте с цитокинетическим блоком и цитохалазином В (Пелевина И.И. и др., 1999, 2003).

С использованием трехцветного FISH-окрашивания хромосом 1, 3, 10 выявлено, что частота реципрокных транслокаций (2,69 ± 0,50 на 1000 клеток) у детей, проживающих в г. Гомель – одной из наиболее радиоактивно загрязненных территорий после аварии на ЧАЭС, существенно превышала аналогичный показатель в контрольной группе (г. Пиза, Италия) (0,79 ± 0,24 на 1000 клеток). Заслуживает внимание факт, что вовлеченность хромосомы

10 в перестройки в 4 раза (p = 0,0009) превышала таковые для 3 и 1 хромосомы, что оценивалось с учетом поправки на размер этих единиц генома (Scarpato R. et al., 1997).

Через 8 лет после аварии на ЧАЭС у детей – жителей Гомельской области с опухолевой патологией щитовидной железы уровень радионуклидов в моче существенно превышал таковой у здоровых детей, проживающих на этой же территории. В обоих группах облученных детей уровень дицентриков – маркеров радиационного воздействия (3,4 и 1,3 на 1000 клеток) у больных и здоровых облученных детей, соответственно) был существенно выше такового у необлученных индивидов (0,4 на 1000 клеток). Причем, уровень метафаз с нестабильными аберрациями хромосомного типа (ацентрические фрагменты, дицентрические и кольцевые хромосомы) коррелировал с радиоактивностью мочи, что указывает на индукцию повреждений генома, обусловленную внутренним облучением организма за счет присутствующих в нем радионуклидов (Roberto B. et al., 1998). В другом исследовании выявлена повышенная частота разрывов ДНК (комет-тест) спустя 10 лет после аварии на ЧАЭС у детей, проживающих в этом же районе, наиболее загрязненном после аварии на ЧАЭС (Frenzilli G. et al., 2001).

В другой работе у детей и взрослых, иммигрировавших в 1989-1991 гг в США из 4-городов (Киев, Гомель, Мозир, Бобряск), находящихся на расстоянии 100-200 км от Чернобыля, выявлена положительная корреляционная связь содержанием радиоактивного цезия в организме с уровнями микроядер в лимфоцитах крови и GPA – мутантных эритроцитов (O/N): r=0,57, p=0,002 и r=0,75, p=0,002, соответственно) (Livingston et al., 1997).

Существенно повышенный суммарный уровень аберраций хромосомного типа (1,0 на 100 метафаз у облученных лиц против 0,4 на 100 метафаз в контроле) выявлен у детей с опухолями щитовидной железы, проживающих в г. Гомеле Белоруссии, но не у здоровых детей из этого

региона. Отмечена зависимость частоты рассматриваемых цитогенетических нарушений у больных детей с уровнем радиоактивной загрязненности их территории проживания (Gemignani F. et al., 1999). В другой работе также показан значимо повышенный уровень нестабильных обменных аберраций хромосомного типа (дицентриков и колец) у детей из загрязненного радионуклидами г. Клинцы Брянской области (менее 5 Ки/км^2 по ^{137}Cs) по сравнению со здоровыми детьми из этого же региона (0,16 на 100 метафаз у больных детей против 0,03 на 100 метафаз у здоровых детей) (Хандогина Е.К. и др., 1995).

В другой работе спустя 8 лет после аварии на ЧАЭС проведено изучение микроядер в бинуклеарных лимфоцитах крови у детей (42 чел.), проживающих в г. Гомель (Белоруссия), загрязненном радионуклидами. Выявлена существенно повышенная частота микроядер в бинуклеарных лимфоцитах крови только у детей с опухолевыми заболеваниями щитовидной железы, проживающих в г. Гомель (Белоруссия), загрязненном радионуклидами. Причем отмечена положительная корреляционная связь частоты микроядерных клеток не только с наличием опухоли у ребенка, но и уровнем радиоактивности его мочи (выделение ^{137}Cs). Причем высокий уровень содержания радионуклида был характерен для индивидов с данным заболеванием щитовидной железы, что указывает на то, что повреждения генома, в первую очередь, являются результатом действия радиации, а не опухоленосительства (Zotti-Martelli L. et al., 1999).

Дети – жители Красногорского района Брянской обл. (15-40 Ки/км^2 по ^{137}Cs) с высокими показателями внутреннего облучения (счетчик излучения человека, свыше 400 нКи) характеризовались значимо повышенной по сравнению с контролем средней частотой дицентриков (0,15±0,06 на 100 метафаз у облученных детей против 0,01±0,01 на 100 метафаз в контрольной группе), причем последнее не наблюдалось для детей с более низкими показаниями СИЧ. Следует отметить, что у облученных детей этой

подгруппы выявлены также повышенные уровни аберраций хроматидного типа (Хандогина Е.К. и др., 1995).

Проведенное в 1993-94 гг. цитогенетическое обследование детей, подвергшихся облучению во время аварии на ЧАЭС в возрасте 3-5 лет и продолжающих проживать в г. Новозыбкове Брянской обл. (148 х 10^{10} Бк/км^2 по ^{137}Cs) выявило двукратно повышенный суммарный уровень аберраций хромосомного типа (0,62 на 100 клеток против 0,33 на 100 клеток в контрольной группе). Зависимость частоты рассматриваемых цитогенетических нарушений от показателей радиоактивности, зарегистрированной в организме, отсутствовала (Padovani L. et al., 1997). В то же время другие исследователи не выявили значимых отличий по выраженности цитогенетических эффектов между детьми (возраст от 0 до 14 лет на момент обследования в 1991-1992 гг.), проживающими на территориях Брянской обл., загрязненных радионуклидами (1-15 и 15-30 Ки/км^2 по ^{137}Cs) и детьми из чистых районов (Бочков Н.П. и др., 1994).

Результаты длительного многократного (с 1989 по 2003 гг.) цитогенетического мониторинга детей и подростков (1-17 лет) – жителей Жиздринского и Ульяновского районов Калужской области (111 кБк/м^2 и 200 кБк/м^2 по ^{137}Cs) с охватом многочисленных выборок обследованных лиц (858 облученных детей) свидетельствуют о значимо повышенных уровнях средней суммарной частоты аберраций хромосомного типа и нестабильных обменных перестроек хромосом (дицентрики и центрические кольца) у облученных детей по сравнению с индивидами контрольной группы на протяжении всего периода наблюдения с отсутствием тенденции к снижению уровня маркеров радиационного воздействия. Наибольшие частоты цитогенетических нарушений выявлены в группе детей, подвергшихся во время аварии облучению в антенатальный период своего развития (Севанькаев и др., 1995; Севанькаев А.В.и др., 2005; Михайлова Г.Ф., 2007).

В другой работе этих же авторов также наблюдались значимо повышенные частоты аберраций хромосомного типа и сложных

нестабильных перестроек хромосом у детей и подростков - жителей четырех районов Брянской области, загрязненных радионуклидами (от 100 кБк/м^2 до 1000 кБк/м^2 по ^{137}Cs) по прошествии 5-7 лет после аварии на ЧАЭС (1991 – 1993 гг.). Наибольшие частоты цитогенетических нарушений выявлены через 5 лет после радиационной катастрофы у жителей самого загрязненного Злынковского района (Севанькаев А.В. и др., 1995; Михайлова Г.Ф. и др., 2007).

В то же время снижение с течением времени после аварии на ЧАЭС (спустя 20 лет после катастрофы) уровня дицентрических хромосом в лимфоцитах крови детского организма подтверждают следующие результаты, полученные испанскими учеными (Montoro A. et al., 2013). Так, результаты проведенного в 2007-2008 гг. изучения частоты дицентриков у 55 детей, родившихся, как правило, уже после Чернобыльской катастрофы (1987-1999 г.р.) – жителей территорий Украины с радионуклидными загрязнениями (менее 100 км от зоны реактора, плотность радионуклидного загрязнения по ^{137}Cs: от 1 до 30 Ки/км^2) выявили, что этот показатель в среднем составляет 0.0007 на клетку. Последний находится в диапазоне фонового уровня рассматриваемых обменных перестроек (0,0005 – 0,0010 на клетку), принятого IAEA (2011), а также оцененного (0,0009 на клетку) этими же учеными в других их исследованиях (Barquinero J.F. et al., 1997; Montoro A. et al., 2005). Хотя авторы отмечают, что у некоторых детей из Ирпеня, Горностай и Феневичи частота дицентрических хромосом достигала 0.002 на клетку, что, вероятно, связано с близким расположением данных населенных пунктов к киевскому водохранилищу, получающему воду из реки Припять, протекающую через зону отчуждения вокруг реактора. В целом, полученные данные согласуются с результатами физической дозиметрии, свидетельствующими об отсутствии повышенного содержания радионуклидов ^{137}Cs, ^{134}Cs, ^{40}K в крови и моче обследованных лиц (Montoro A. et al., 2013).

Анализ зависимости уровня цитогенетических нарушений у детей – жителей Жиздринского района Калужской области, подвергшихся радиационному воздействию в 1986 гг. в антенатальный период развития, от накопленных к моменту обследования средних индивидуальных эффективных доз облучения (внешнее + внутреннее) свидетельствует о наибольшей выраженности повреждений генома (суммарные частоты аберрации хромосомного типа и нестабильные обменные хромосомные перестройки) в подгруппе лиц с более высокими дозовыми нагрузками (10-23, 9 мЗв) (Михайлова Г.Ф., 2007).

Проведенный дважды с перерывом в 10 лет (1992 и 2003 гг.) анализ частот сложных обменных аберраций хромосомного типа у детей (21 чел.)-жителей г. Клинцы Брянской области (100 кБк/м^2 по ^{137}Cs), подвергшихся во время аварии на ЧАЭС облучению в антенатальный период развития, свидетельствует о незначительном снижении со временем суммарной частоты нестабильных дицентриков и центрических колец (элиминация клеток с такими повреждениями) при увеличении уровня стабильных реципрокных транслокаций (в 1,5 раза), которые были выявлены с помощью рутинного цитогенетического анализа (Михайлова Г.Ф. и др., 2004; Михайлова Г.Ф., 2007). В другой работе авторов по оценке реципрокных FISH-транслокаций в этой же категории облученных лиц (внутриутробное облучение, 60 чел.), постоянно проживающих в Жиздринском районе Калужской области и обследованных через 17 лет после аварии (2003 г) выявлен существенно повышенный (0, 26 на 100 клеток) по сравнению с контролем (0,08 на 100 клеток) уровень этих хромосомных перестроек, который к тому же в 3 раза превышал наблюдаемую суммарную частоту дицентриков и центрических колец (Севанькаев А.В., 2005; Михайлова Г.Ф., 2007).

Не выявлена зависимость выраженности цитогенетических нарушений у обследованных детей от плотности загрязнения территорий их проживания

радиоактивными изотопами цезия (в общей сложности проанализирован диапазон значений показателя от 20 до 1100 кБк/м^2) (Михайлова Г.Ф., 2007).

В исследовании других авторов также показана максимальная выраженность цитогенетических нарушений и отклонения в состоянии здоровья (в том числе, встречаемость патологий щитовидной железы) у детей 1986 – 1987 гг. р. – постоянных жителей загрязненных радионуклидами территорий Брянской обл., то есть подвергшихся внутриутробному облучению во время аварии на ЧАЭС или в первые месяцы после нее, по сравнению с детьми, рожденными до Чернобыльской катастрофы или 2 года спустя (Лория С.С. и др., 2001).

Кроме того, сравнительный анализ цитогенетических эффектов у детей, подвергшихся облучению во время Чернобыльской катастрофы в антенатальный и неонатальный периоды своего индивидуального развития и и продолжающих проживать на территориях Калужской, Орловской и Брянской областей с радионуклидными загрязнениями, показал большую их выраженность у детей первой группы, о чем свидетельствовали более высокие частоты дицентриков и центрических колец, а также лиц-носителей реципрокных транслокаций. При этом, самые высокие суммарные уровни аберраций хромосомного типа, частоты дицентриков и центрических колец, а также доля индивидов с выявленными реципрокными транслокациями (100 %) наблюдались в подгруппе детей, подвергшихся облучению во время аварии в эмбриональный период внутриутробного развития (0-8 недель) (Севанькаев А.В. и др., 2005; Михайлова Г.Ф., 2006, 2007).

G-бэндинговый анализ цитогенетического статуса лимфоцитов крови детей, подвергшихся будучи в антенатальном периоде развития облучению в 1986 году и постоянно проживающих в Народическом районе Житомирской области, загрязненном радионуклидами (более 555 кБк/м^2, накопленные эффективные дозы находились в диапазоне 19-52 мЗв), выявил существенно повышенные по сравнению с контролем частоты как стабильных (транслокаций, инверсий, делеций), так и нестабильных (парных фрагментов,

дицентриков, колец) аберраций хромосомного типа (Stepanova E.I. et al., 2002).

В другой работе, в общей сложности охватывающей результаты обследования 1144 детей, подвергшихся во время аварии на ЧАЭС воздействию радиации в антенатальный период своего развития, и продолжающих проживать в условиях низкоинтенсивного действия ионизирующего излучения в малых дозах, выявлены положительные коррелятивные связи между суммарной эквивалентной дозой облучения красного костного мозга (от 10,5 до 72,1 мЗв) и частотами аберрантных клеток, аберраций хромосомного типа ($r = 0,62$ при $p < 0,002$; $r = 0,72$ при $p < 0,0003$, соответственно), как стабильных ($r = 0,64$ при $p < 0,003$), так и нестабильных ($r = 0,58$ при $p < 0,01$) (Степанова и др., 2007).

Выше уже излагались выводы, сделанные рядом исследователей о более высокой частоте цитогенетических нарушений у детей – жителей радиационно-загрязненных территорий с различными формами тиреопатологии, в том числе с новообразованиями, по сравнению со здоровыми детьми их этих же регионов (Roberto B. et al., 1998; Gemignani F. et al., 1999; Zotti-Martelli L. et al., 1999; Хандогина Е.К. и др., 1995; Лория С.С. и др., 2001). В другой работе на многочисленных выборках обследуемых лиц (472 чел.) проведен анализ сопряженности цитогенетического статуса с морфо-функциональными показателями щитовидной железы у жителей территорий Калужской и Орловской областей (6 районов), облученных в 1986 году будучи детьми и подростками (от 0 до 19 лет) и продолжающих проживать на территориях, загрязненных радионуклидами (38 – 200 кБк/м^2). Средняя частота аберраций хроматидного и хромосомного типа (в том числе дицентриков и центрических колец) по прошествии 12 – 14 лет после аварии на ЧАЭС у облученных детей статистически значимо превышала таковой показатель в контрольной группе. Хотя не выявлено статистически значимых различий в частотах цитогенетических нарушений между группами лиц с нормальной щитовидной железой и с ее патологией, частота случаев

узловых новообразований в этом органе выше в подгруппе индивидов с высоким (50 – 100 % квантиль) уровнем хромосомных аберраций. Показано, что в первую очередь эта закономерность наблюдалась у лиц, подвергшихся внутриутробному облучению во время Чернобыльской катастрофы (Севанькаев А.В.и др., 2006; Михайлова Г.Ф., 2007).

Хотя в целом не выявлена ассоциативная связь между уровнем аберраций хромосомного типа и заболеваемостью у детей и подростков – постоянных резидентов территорий Калужской области, загрязненных радионуклидами, в подгруппе детей, подвергшихся облучению в 1986 году в антенатальный период развития и характеризующихся высокой частотой этих цитогенетических нарушений, существенно чаще (в 2-3 раза) выявлялись патологии дыхательной и пищеварительной системы (Михайлова Г.Ф.).

В другом вышеупомянутом исследовании установлена прямая ассоциация количества малых аномалий развития с дозой общего облучения плода ($r = 0,61$ при $p < 0,002$) и обратная – со сроком гестации на момент аварийного действия радиации ($r = -0,53$ при $p < 0,003$). Выявлена значимая корреляционная связь ($r = 0,45$ при $p < 0,03$) между дозой радиационного воздействия и состоянием здоровья ребенка (наличие мультифакториальных хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта, органов дыхания, сердечно-сосудистой системы, аллергические реакции и т.п.) (Степанова и др., 2007).

Результаты проведенного (2014-2015 гг.) цитогенетического анализа у 155 женщин с доброкачественными заболеваниями щитовидной железы и органов женской репродуктивной системы, проживающих в Брянской (г. Клинцы) и Калужской областях (г. Людиново), загрязненных радионуклидами, и облученных во время аварии на ЧАЭС будучи детьми и подростками, свидетельствуют об отсутствии значимых отличий от контрольного уровня общей частоты повреждений хромосом. Однако, спустя десятилетия после аварии на ЧАЭС частота дицентрических хромосом у

жительниц более загрязнённого района значимо превышает (p = 0,012) таковой показатель в контроле (Иванова Т.И. и др., 2018).

Имеется несколько работ, посвященных экспериментальному тестированию нестабильности генома у детей, проживающих в условиях низкоинтенсивного воздействия радиации. Так, отмечена существенно пониженная частота детей – жителей радиационно-загрязненных территорий (г. Новозыбков Брянской обл., до 40 Ки/км^2 по ^{137}Cs) с адаптивным ответом (19,8 %) по сравнению с таковым показателем в группе индивидов их «чистых» районов (5,2 %). Наоборот, в группе экспонированных детей чаще встречались индивиды с повышенной радиочувствительностью (Пелевина И.И. и др., 1999, 2003, 2015; Пелевина И.И. и др., 2011).

Результаты другого экспериментального изучения стабильности генома у 15 детей (внутриутробно облученных во время аварии в 1986 году – 5 чел., родившихся после аварии в 1987-1992 гг. – 5 чел. и 1994-2000 гг. – 5 чел. от облученных родителей), проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами, свидетельствуют о повышенной радиочувствительности геномов лимфоцитов детей к тестирующему облучению in vitro в дозах 10 и 100 сГр. Кроме того, у обследованных индивидов выявлен возрастающий характер кривых время-эффект для парных фрагментов+центромерных разрывов хромосом в интактных и облученных in vitro клетках в дозе 10 сГр и убывающий характер после облучения в дозе 100 сГр, что свидетельствует о дифференциальной значимости степени радиационного поражения генома радиацией в малых и средних дозах. Опережающий рост вышеуказанных цитогенетических показателей и повышенный (по сравнению с контролем) уровень реципрокных СХО в метафазах 3-го митоза интактных и облученных in vitro лимфоцитах у детей, подвергающихся низкоинтенсивному облучению, по сравнению с детьми контрольной группы, указывает на индуцированную пострадиационную хромосомную нестабильность (Кузьмина Н.С., 2003).

Согласующиеся с выше приведенными выводами получены результаты в другой работе, свидетельствующие о повышенной чувствительности лимфоцитов крови к фракционированному и острому облучению in vitro в диапазоне низких и средних доз (10-100 сГр) у детей рассматриваемого контингента (Aghajanyan A.V., Suskov I.I., 2009).

У детей, родившихся от облученных родителей и постоянно проживающих на территориях Ровенской области, загрязненных радионуклидами после аварии на ЧАЭС (особенность области – высокий коэффициент перехода радиоцезия из почвы в растения и аккумуляция его в продуктах питания), проведено как общепринятое 48-часовое, так и долгосрочное 144-часовое культивирование лимфоцитов периферической крови. Выявлены существенно повышенные уровни аберраций хромосом (по сравнению с таковым показателем в контрольной группе) при обоих вариантах эксперимента. Это может указывать на отсроченную хромосомную нестабильность, о чем свидетельствовали повышенные уровни обменных аберраций хромосомного типа, как стабильных (атипичные моноцентрики), так и нестабильных (центрических колец) (по сравнению с таковыми показателями у детей контрольной группы). Выявлена высокая межиндивидуальная вариабельность цитогенетических эффектов как краткосрочных, так и в долгосрочных культурах и отсутствие корреляции между этими двумя показателями, что, по мнению авторов является отображением индивидуальных особенностей спонтанной и /или радиационно-индуцированных экспрессии нестабильности генома. Авторы полагают, что проживание в такой местности могло способствовать дестабилизации генома, которая приводит к повышению чувствительность хромосом к другим мутагенам. Следует подчеркнуть, что дозы облучения родителей этой когорты были существенно ниже таковых у ликвидаторов аварии на ЧАЭС (Пилинская М.А. и др., 2011).

Имеется несколько работ, посвященных изучению отдаленных цитогенетических эффектов у детей, эвакуированных из г. Припять, то есть

подвергшихся острому облучению во время аварии на ЧАЭС. Как правило, они свидетельствуют о статистически значимо повышенных частотах обменных аберраций хромосомного типа в лимфоцитах периферической крови детского организма спустя почти десятилетие и более после перенесенного радиационного воздействия (Пилинская М.А. и др., 2001; Воробьева М.В., 1995). В одном из исследований хотя и выявлены повышенные частоты аберраций хромосомного типа у облученных детей этого контингента, значимых отличий от контрольной группы не отмечалось (Padovani L. et al., 1997).

С вышеприведенными результатами согласуются таковые, полученные в работе, посвященной оценке последствий острого воздействия радиации во время аварии на ЧАЭС на внутриутробно развивающийся организм. Так, выявлены многократно повышенные (5,64±0,94 на 100 метафаз) по сравнению с контролем (0,43±0,19 на 100 метафаз) уровни стабильных аберраций хромосомного типа у детей, рожденных женщинами, которые будучи беременными были эвакуированы из г. Припять (эквивалентная доза облучения красного костного мозга плода составляла от 10 до 376 мЗв). Причем наблюдалась положительная ассоциативная связь между дозой облучения костного мозга плода и частотой рассматриваемых хромосомных перестроек (Stepanova E.I. et al., 2002; Степанова Е.И. с соавт., 2002).

В другой работе показано отсутствие различий в средней частоте аберраций хромосом у подростков, подвергшихся острому облучению (30 мЗв) во время внутриутробного развития в 1986 году и у постоянных жителей территорий с радионуклидными загрязнениями (Народический район Житомирской области, более 555 кБк/м^2), накопивших примерно такую же дозу хронического воздействия радиации. Однако, в первой группе (острое облучение) выявлен существенно повышенный уровень стабильных аберраций хромосомного типа (транслокации, инверсии, инсерции) (Nastyukova V.V. et al., 2002).

Существенно повышенная чувствительность геномов лимфоцитов к тестирующего γ-облучению in vitro (1,5 Гр) выявлена у детей, эвакуированных в 1986 году из районов с неблагоприятной радиационной обстановкой после аварии на ЧАЭС, срок проживания на которых находился в диапазоне от 2 дней до нескольких лет (Воробьева М.В., 1995). Причем позже было установлено, что клетки этих детей характеризовались большей радиочувствительностью по сравнению со взрослыми индивидами, подвергшимися в прошлом (годы и десятилетия назад) радиационному воздействию (участники ликвидации аварий на ЧАЭС, атомной подводной лодке, работники предприятий атомной промышленности). Это свидетельствует о большей нестабильности генома клеток облученного в малых дозах детского развивающегося организма по сравнению со взрослым организмом, также подвергшемся радиационному воздействию (Любимова Н.Е., Воробцова И.Е., 2008).

Таким образом, отмечается определенная противоречивость в результатах оценки цитогенетических эффектов в лимфоцитах периферической крови детей, проживающих в условиях пролонгированного действия радиации в малых дозах. Тем не менее, в работах, выполненных с охватом многочисленных выборок индивидов, большинством исследователей выявлены существенно повышенные уровни радиационно-индуцированных аберраций хромосом, что особенно характерно для детей, подвергшихся радиационному воздействию в антенатальный период онтогенеза с различными отклонениями в состоянии здоровья, причем по мере увеличения длительности проживания на радиационно-загрязненных территориях, частота хромосомных нарушений возрастает (Пилинская М.А., Дыбский С.С., 1992; Елисеева И.М. и др., 1994; Севанькаев А.В. и др., 1995; 2005; Михайлова Г.Ф., 2997; Padovani L. et al., 1997; Stepanova E.I. et al., 2002, Степанова Е.И. и др., 2007; и др.).

В большинстве работ показана положительная ассоциативная связь между содержанием радионуклидов в организме и уровнем аберраций хромосом/микроядер (Roberto B. et al., 1998; Livingston G.K. et al., 1997; Zotti-Martelli L. et al., 1999; и др.). При этом, не во всех работах выявлена значимая сопряженность частоты цитогенетических перестроек с плотностью радиоактивного загрязнения территорий проживания, тем не менее максимальные уровни хромосомных нарушений выявлены у детей, проживающих в районах с наиболее неблагоприятной радиационной обстановкой (Севанькаев А.В. и др., 1995, 2005; Хандогина Е.К., 1995; Gemignani F. et al., 1999; Михайлова Г.Ф., 2007; Иванова Т.И. и др., 2018). Получены экспериментальные доказательства реальности индукции геномной нестабильности в организме детей, постоянно проживающих в условиях низкоинтенсивного действия радиации в малых дозах: подвергшихся облучению во время аварии на ЧАЭС в антенатальный период развития либо являющихся потомками облученных родителей (1987-1998 г.р.) (Воробьева М.В., 1995; Воробцова И.Е., Семенов А.В., 2006; Пелевина И.И. и др., 1999; Воробцова И.Е., 2006; Кузьмина Н.С., Сусков И.И., 2003; Aghajanyan A.V., Suskov I.I., 2009; Пилинская М.А. и др., 2011).

Следует отметить, что большинство работ по данной тематике выполнено в течение первых 10-15 лет после аварии на ЧАЭС, а следовательно, отсутствуют исследования, посвященные сравнительному изучению цитогенетических эффектов у детей – жителей территорий с радионуклидными загрязнениями: родившихся до аварии на ЧАЭС, в первые годы и через десятки лет после катастрофы.

1.2. Иммуногенетические эффекты у облученных лиц

1.2.1. Анализ генных мутаций и готовности клеток к апоптозу как подход к оценке радиационно-индуцированных эффектов в организме человека

По сравнению с цитогенетическими методами исследования аберраций хромосом и микроядер, анализ генных мутаций является более новым подходом к оценке уровня соматического мутагенеза и биоиндикации генотоксического воздействия. В настоящее время, в основном, используются методы определения мутаций по двум генным локусам: гликофорина А (GPA-мутации) и Т-клеточного рецептора (TCR – мутации). Спонтанные частоты этих мутаций в популяции ($1x10^{-5}$ и $>1x10^{-4}$ для GPA- и TCR - мутаций, соответственно) на один-два порядка выше некоторых других, используемых для оценки уровня соматического мутагенеза в популяциях ($\sim5x10^{-8}$, $\sim5x10^{-6}$, $>1x10^{-5}$ для HbS мутаций серповидноклеточности, HPRT-мутаций гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы, мутаций гена *HLA-A* главного комплекса гистосовместимости, соответственно) (J. Cole, T.R. Skopek, 1994; Langlois R.G. et al., 1990, 1993).

Субъединицы Т-клеточного рецептора (ТКР), N – концевые домены которых содержат гипервариабельные участки, огромное разнообразие которых (порядка 10^{15} уникальных рецепторов) обеспечивает распознование различными Т-клетками широчайшего спектра антигенов, агрегированы с мембранным полипептидным комплексом CD3. Последний образован четырьмя типами полипептидов — γ, δ, ε и ζ., не имеющих вариабельных участков), а значит не способных определять специфичность рецептора к антигену (Arstila T.P. et al., 2009; Zoete et al., 2013). Распознавание антигена является исключительно функцией ТКР, а CD3 обеспечивает передачу сигнала в клетку (Call M.E. et al., 2002). За счёт электростатических взаимодействий противоположно заряженных аминокислотных остатков

субъединиц трансмембранных сегментов CD3 и собственно ТКР образуется общий функциональный комплекс Т-клеточного рецептора (Zoete et al., 2013).

Как известно, предшественниками Т-лимфоцитов являются тотипотентные гемопоэтические стволовые клетки, мигрирующие в тимус, где происходит дифференциация и созревание Т-клеток. Процесс созревания Т-лимфоцитов в тимусе сопровождается комбинаторными и соединительными перестройками сегментов генов, изменениями их транскрипции и экспрессии на поверхности CD3 - белкового комплекса (Krangel M.S. et al., 2009; Britanova O.V. et al., 2014; Robins H., 2013).

Рецептор CD95 (APO-1/Fas) – один из 6 описанных рецепторов смерти: TNF (TNF_R1, p55), CD95 (Fas/CD95/APO1), TRAIL_R1, TRAIL_ R2, DR3, DR6. Его экспрессия - внешний путь индукции апоптоза. В результате связывания с рецептором проапоптотического лиганда FASL образуется рецепторный комплекс, в котором происходит активация прокаспазы 8 – “универсального инициатора” апоптоза, запускаемого через рецепторы смерти. Но активацию прокаспазы-8 может подавлять белок c-FLIP, “универсальный ингибитор” апоптоза, запускаемого через рецепторы смерти. Потому, судьбу клетки во многом определяет соотношение между про и антиапоптотическими белками, в частности прокаспазой 8 и cFLIP в каждой отдельной клетке. Таким образом, оценка уровня лимфоцитов крови, экспрессирующих Fas антиген, свидетельствует лишь о готовности клеток к апоптозу (И. Н. Лаврик, 2011). Однако, в последние годы появились данные об участии рецептора CD95 в сигнальных путях другой направленности, а именно, в канцерогенезе, воспалении, регуляции гомеостаза иммунных клеток и/или индукции метастатической диссеминации. Молекулярные механизмы, лежащие в основе переключения между абсолютно противоположными реакциями сигналлинга, остаются непонятны. В частности, не ясен вопрос о вовлеченности в них одних и тех же или различных рецепторных доменов. Имеются сведения о роли

посттрансляционных модификаций Fas-антигена в изменениях CD95 – опосредованного сигналлинга (Seyrek K., Lavrik I.N., 2019; Guégan J.P., Legembre P., 2018; Le Gallo M. et al., 2017; Fouqué A. et al., 2014).

Изучение всех выше перечисленных иммуногенетических нарушений, а именно, выявление эритроцитов, мутантных по локусу гликофорина А (гликофориновый тест), то есть красных клеток крови, на поверхности которых отсутствует гликопротеин М (мутация М - аллеля) или N (мутация N – аллеля), Т-лимфоцитов – хелперов, мутантных по локусу Т – клеточного рецептора (CD3 – негативные клетки среди CD4 – позитивных Т-хелперов), а также лимфоцитов, экспрессирующих CD95 (Fas) - рецептор смерти, осуществляется методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител и пригодно для массового скрининга. Следует сразу отметить, что существенным недостатком гликофоринового теста является его применимость только в отношении гетерозигот по локусу GPA.

1.2.2. GPA – мутации у облученных лиц

Впервые анализ GPA-мутаций был применен к жертвам атомных бомбардировок. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о высокой коррелятивной связи выявленных генетических нарушений с дозой радиационного воздействия (данные физической дозиметрии) (Langlois R.G. et al., 1987; Kyoizumi S. et al., 1989, 1996; Nakamura N. et al., 1991). В то же время, в ряде работ не выявлено повышения частоты мутантных эритроцитов (по сравнению с контрольной группой) у ликвидаторов аварии на ЧАЭС (Jones I. M. et al., 2002; W.L. Bigbee et al., 1997), что по мнению авторов связано с низкими дозами облучения этого контингента лиц.

Авторы работы (Tawn E. et al., 2003) пришли к выводу о недостаточной чувствительности GPA теста для биоиндикации низкодозового хронического воздействия (кумулятивная доза больше 5 мЗв), о чем свидетельствуют «слабые» эффекты, выявленные у работников комплекса «Селлафилд» (Великобритания), для которых средняя частота индукции мутаций составила

2,6±2,2 x 10^{-6} на 1 Зв и статистически значимо не зависела от дозы облучения. Однако, в другой работе выявлена статистически значимая дозозависимая повышенная частота эритроцитов с фенотипом NO (0,18x10^{-6} на 1 сГр) у работников атомной промышленности и радиологов госпиталя, подвергшихся, как правило, низкодозовому хроническому действию радиации (до 12 сГр). Полученные результаты авторы объясняют присутствием в обследованной выборке лиц с высокими дозами облучения (Ha M. et al., 2002).

Выявлена большая эффективность в индукции GPA-мутаций в результате острого воздействия радиации по сравнению с хроническим облучением, то есть зависимость мощность дозы-эффект. Анализ регрессионных кривых доза-эффект для GPA-мутантных эритроцитов свидетельствует о том, что частоты индукции рассматриваемых мутаций у лиц, подвергшихся острому (производственные аварии) и хроническому (профессиональная деятельность) облучению в высоких дозах (32x10^{-6} на 1 сГр) существенно различаются и составляют 32x10^{-6} на 1 Гр и 9,6x10^{-6} на 1 Гр (Saenko et al., 2000). Эти данные согласуются с вышеупомянутыми результатами других исследований, полученными при обследовании лиц, подвергшихся облучению в высоких дозах (жертвы атомных бомбардировок, ликвидаторы аварии на ЧАЭС) (Kyoizumi S. et al., 1989; Jensen R.H. et al., 1995) и свидетельствуют о реальности применения рассматриваемого теста не только для биоиндикации, но и для дозиметрии в отдаленный период после воздействия радиации).

Выявлена лишь тенденция к повышению частоты GPA-мутаций у ликвидаторов аварии на ЧАЭС (по прошествии 5-6 лет после катастрофы), подвергшихся облучению в дозах ниже 250 мГр, что обусловлено наличием в этой группе лиц с очень высокими частотами этих генетических нарушений (Saenko A.S. et al., 2000). Результаты последующей работы этого же коллектива авторов не выявили отличий в частоте этих нарушений у

ликвидаторов, обследованных в более поздние сроки после аварии (9-17 лет) (по сравнению с контрольной группой) (Замулаева И.А. и др., 2006).

По-видимому, примененный классический (BR6 метод-выявление клеток с иммунофенотипом NO) не обладает достаточной чувствительностью для биоиндикации и биодозиметрии радиационного воздействия в данном диапазоне доз. Выводы, согласующиеся с этими результатами, получены и в другой работе (Kleinerman R. A. et. al., 2006). Радиочувствительность, оцененная по частоте мутаций GPA у женщин, которые пережили атомные бомбардировки будучи беременными, не отличалась от таковой у остальных облученных лиц женского пола. Частота индукции рассматриваемых мутаций составила 26 на 1 Гр, удваивающая доза – 1,2 Зв, а минимальная доза облучения, индикация которого возможна этим методом – 0,24 Зв (Miles E.F. et al., 2011).

Результаты обследования трех поколений лиц, населяющих территории, прилегающих к Семипалатинскому ядерному полигону, свидетельствуют о повышенной частоте рассматриваемых генетических нарушений ($12x10^{-6}$ и $7x10^{-6}$ для облученных лиц и контрольной группы, соответственно) только у индивидов самого старшего поколения, подвергшихся наибольшим дозам облучения во время ядерных испытаний 1949 г. Значения рассматриваемых показателей свидетельствуют об относительно невысоких дозах воздействия (меньше 1 Гр) (Lindholm C. et al., 2004).

Через 9-10 лет после катастрофы на ЧАЭС, средняя частота мутантных по GPA локусу эритроцитов у ее ликвидаторов, эмигрировавших из России в Израйль, составила $25,6\pm7,0x10^{-6}$, и существенно превышала аналогичный показатель в соответствующей группе необлученных лиц ($6,1\pm2,7$ $x10^{-6}$) (Wishkerman V.Y. et al., 1997). Повышенный уровень красных клеток крови с фенотипом NO у ликвидаторов аварии на ЧАЭС, обследованных в первые 6 лет после аварии, продемонстрирована и в другой работе (Jensen R.H. et al.,

1995). Отмечено, что частота мутантных клеток существенно не изменялась по прошествии более 7 лет после первого взятия образцов крови.

Спустя 16 лет после аварии на ЧАЭС, установлено статистически значимое увеличение средней частоты GPA-мутантных клеток у жителей различных районов Орловской области, загрязненных радионуклидами в результате аварии на ЧАЭС: Болховский, Колпнянский, Урицкий, Мценский (от 38,2±4,7 x10^{-6} до 41,9±5,4 x10^{-6}), по сравнению с контролем (22,7±4,6 x10^{-6}). Средняя частота GPA-мутаций у лиц с выявленной узловой патологией ЩЖ, проживающих на загрязненных территориях, была значимо выше (45,8±5,1 x10^{-6}), чем у лиц без такой патологии (34,7±3,4 x10^{-6}) (Саенко А.С. и др., 2003).

1.2.3. TCR – мутации у облученных лиц

Как показано в уже упомянутой работе выявлена плохая ассоциативная связь между дозой хронического облучения (от 0,25 Гр до 14 Гр) и частотой TCR-мутаций в отдаленный период после радиационного воздействия (десятилетия); в то же время при регистрации эффекта в ближайшие сроки после облучения (несколько лет) рассматриваемая корреляции была достаточно высокой, а частота мутаций составляла 2-3 x10^{-4} на 1 Гр. Следует отметить, что в этом случае наблюдалась и высокая сопряженность между частотами TCR- и GPA-мутаций (r = 0,73). Уровень TCR-мутантных клеток у ликвидаторов аварии на ЧАЭС существенно превышал таковой показатель в контроле (Saenko A.S. et al., 2000).

Аналогичные результаты выявлены и в последующей работе выше указанных авторов, полученные в более поздние сроки после аварии: 9-17 лет (частота TCR-мутаций составляет 4,8±2,9 x10^{-4} у облученных лиц vs 3,8±1,4 x10^{-4} в контроле). Результаты обследования одних и тех же индивидов на протяжении длительного периода времени (9-11, 12-14, 15-17 лет после аварии) свидетельствуют о стабильности этого показателя соматического мутагенеза. Повышенный средний уровень TCR-мутантных клеток

обусловлен наличием в выборке облученных лиц индивидов с высокими значениями этого показателя: у 17 % частота рассматриваемых мутаций превышает 95% доверительный интервал в контроле. Зависимость эффекта от дозы радиационного воздействия отсутствовала (Замулаева И.А. и др., 2006). С этими данными согласуются результаты, продемонстрированные в работе Смирновой С.Г. с соавторами (2012), посвященной изучению рассматриваемых генных мутаций через 22-25 лет после аварии на ЧАЭС.

В последующей работе вышеупомянутого коллектива авторов при обследовании 407 ликвидаторов аварии на ЧАЭС на протяжении более длительного периода времени (9-33 года), в целом для группы, ранее полученные результаты подтверждаются. Кроме того, рассматривая данные на индивидуальном уровне, можно отметить разнонаправленный характер изменений частоты TCR-мутаций: как превышение возрастной нормы по прошествии десятков лет после облучения, так и уменьшение изучаемого показателя со временем. Показано, что только у части многократно обследованных ликвидаторов (~ 17 %) повышенная частота мутантных клеток сохранялась на протяжении всего периода наблюдения. Полученные результаты авторы связывают с гетерогенностью клонов облученных клеток или их потомков по экспрессии нестабильности генома при периодическом обновлении общего пула Т-лимфоцитов, а также с наличием/отсутствием дополнительных генотоксических воздействий в течение жизни после облучения индивида (Орлова Н.В. и др., 2019).

Отмечено, что высокие показатели мутагенеза, регистрируемые по тесту TCR-мутаций, чаще наблюдаются у лиц с низкими уровнями апоптотической гибели (метод анализа апоптоза лимфоцитов после тестирующего облучения in vitro в дозах 0,5 – 5 Гр, метод окраски йодистым пропидием). Повышенный уровень мутантных клеток у другой части облученных индивидов, по мнению авторов, связана с индукцией нестабильности генома в отдаленный период после облучения. Зависимость

частоты TCR-мутаций от дозы радиационного воздействия отсутствовала (Замулаева И.А. и др., 2006).

Результаты обследования сотрудников ГНЦ РФ Физико-энергетического института им. академика А.И. Лейпунского, подвергшихся низкоинтенсивному хроническому облучению на протяжении многих лет (средняя суммарная накопленная доза облучения 100 мЗв), свидетельствуют о значимо повышенной частоте TCR-мутаций в группе лиц с величиной радиационного атрибутивного риска злокачественных новообразований более 10 % (RR = 9,7) (Иванов В.К. и др., 2009).

Выявлена повышенная по сравнению с контролем частота лимфоцитов, мутантных по генам Т-клеточного рецептора (TCR), у работников ядерно-химических предприятий, подвергшихся пролонгированному внешнему воздействию γ-излучения ($9{,}1 \times 10^{-4}$ vs $3{,}5 \times 10^{-4}$) или сочетанному внешнему/внутреннему облучению ($8{,}9 \times 10^{-4}$ vs $3{,}5 \times 10^{-4}$). Причем, у лиц, подвергшихся сочетанному воздействию радиации, рассматриваемый показатель коррелировал с частотой стабильных и нестабильных аберраций хромосомного типа, а также с содержанием радиоактивного плутония в организме. По мнению авторов, полученные результаты анализа сопряженности уровней хромосомных аберраций и генных мутаций могут указывать на индукцию нестабильности генома в отдаленные сроки после перенесенного внешнего облучения и обусловленностью наблюдаемых генетических нарушением постоянным действием α-излучения от инкорпорированного ^{239}Pu (Смирнова С.Г. и др., 2005).

В другой работе этих же исследователей наблюдался повышенный уровень TCR-мутантных лимфоцитов у сотрудников ГНЦ-Физико-энергетический институт, подвергшихся пролонгированному воздействию радиации в малых дозах (114,9 ±10,8 мЗв), который составил $(6{,}1 \pm 1{,}0) \times 10^{-4}$ vs $(4{,}1 \pm 0{,}2) \times 10^{-4}$ в контрольной группе, а у 14 % облученных лиц частота клеток с мутациями выходила за пределы 95% доверительного интервала, установленного для группы необлученных индивидов. Показана

положительная корреляция между этими нарушениями и уровнем внутриклеточного оксида азота NO (источник пироксинитрита ONO^-_2 и других ДНК-повреждающих радикалов, ингибитор ферментов репарации и, в определенных условиях, апоптоза), что не исключает участие этого соединения в индукции нестабильности генома (Замулаева И.А. и др., 2007). В последующем исследовании авторов выявлена положительная ассоциативная связь уровня TCR-мутантных клеток и концентрации фрагмента CpG-богатой транскрибируемой области рибосомного повтора ТОрДНК во внДНК плазмы крови, что отражает единый процесс в клетках организма – индукцию повреждений ДНК, в ряде случаев приводящих к апоптозу (Костюк С.В. и др., 2008).

Спустя 16 лет после аварии на ЧАЭС, установлено статистически значимое увеличение средней частоты TCR-мутантных клеток у жителей различных районов Орловской области, загрязненных радионуклидами в результате аварии на ЧАЭС: Болховский, Колпнянский, Урицкий, Мценский (от 3,4±0,2 $x10^{-4}$ до 4,7±0,5 $x10^{-4}$), по сравнению с контролем (2,6±0,2 $x10^{-4}$). Средняя частота TCR-мутантных клеток у лиц с выявленной узловой патологией ЩЖ, проживающих на загрязненных территориях, была значимо выше (4,2±0,2 $x10^{-4}$), чем у лиц без такой патологии (3,7±0,2 $x10^{-4}$) (Саенко А.С. и др., 2003).

Результаты последующего обсследования 553 жительниц наиболее загрязненных радионуклидами районов трех областей (Орловская, Брянская, Калужская) через 15-18 лет после аварии на ЧАЭС, свидетельствуют о наибольших частотах TCR-мутантных лимфоцитов в группе лиц, подвергавшихся облучению начиная с внутриутробного периода развития (Замулаева И.А. и др., 2006). Эта закономерность подтвердилась и через 28 лет после аварии на ЧАЭС, когда при обследовании 250 девочек и женщин – жительниц территорий Брянской области, загрязненных радионуклидами (г. Клинцы и г. Новозыбков, ^{137}Cs 322 и 708 кБк/м^2, соответственно),

наибольшие частоты TCR-мутаций выявлены у индивидов, облучение которых началось in utero и затем продолжалось после рождения ($4{,}6\pm0{,}7x10^{-4}$ и $2{,}8\pm0{,}2x10^{-4}$ для облученных и необлученных лиц, соответственно) (Смирнова С. Г. и др., 2016).

Показано, что уровень TCR-мутантных лимфоцитов у женщин с заболеваниями репродуктивной системы (миомы, фиброзно-кистозная мастопатия) коррелировал с уровнем радионуклидного загрязнения территорий после аварии на ЧАЭС. Например, у жительниц г. Новозыбкова (708 кБк/м^2 по ^{137}Cs) этот показатель составил $(5{,}13\pm0{,}39)x10^{-4}$, что существенно превышало таковой для г. Клинцы (322 кБк/м^2 по ^{137}Cs) - $(3{,}95\pm0{,}20)x10^{-4}$. Наибольшая частота TCR-мутантных лимфоцитов наблюдалась у женщин – носителей минорного аллеля 4889G локуса *CYP1A1* (Замулаева И.А. и др., 2009).

Выявлена существенно повышенная частота TCR-мутаций у лиц, проживающих на территориях, прилегающих к Семипалатинскому полигону и подвергшихся хроническому воздействию радиации в суммарной дозе более 1 Гр ($(5{,}49\pm1{,}78)\times10^{-4}$ и $(2{,}88\pm1{,}14)\times10^{-4}$, у облученных и необлученных лиц, соответственно). Статистически значимых отличий от контроля по рассматриваемому показателю группы индивидов с меньшими значениями накопленной за десятилетия дозы облучения (меньше 0,5 Гр) не выявлено (Taooka Y. et al., 2006).

В то же время не зарегистрировано дозозависимого повышения частоты TCR-мутаций у лиц, перенесших атомные бомбардировки Хиросимы и Нагасаки, в отдаленный период после облучения в высоких дозах (более 1,5 Гр) (Kyoizumi S. et al., 1992).

Повышенный уровень TCR-мутантных лимфоцитов выявлен у жителей прибрежных сел реки Теча, загрязненной жидкими радиоактивными отходами химкомбината «Маяк» в период 1949–1956 гг. (0,33 % у облученных лиц vs 0,27% в контроле). Причем, у лиц с хронической лучевой болезнью этот показатель составил 0,41%, а частота лиц-носителей этих

генных мутаций в 4 раза превышала таковую в контрольной группе (Blinova E. A. et al., 2012; Veremeyeva G. et al., 2010). У индивидов, проживающих на этих загрязненных территориях и имеющих высокие значения уровней TCR-мутантных лимфоцитов (M + 2δ) показано зависимое от дозы и мощности дозы облучения возрастание количества естественных киллеров (лимфоцитов с иммунофенотипом $CD3^{+}CD16^{+}CD56^{+}$) и лизосомальной активности нейтрофилов в отдаленный период после хронического воздействия радиации (дозы на ККМ от 0,09 до 1,96 Гр, в среднем 0,89 ± 0,09 Гр). По мнению авторов, выявленные отклонения могут отражать реакцию иммунной системы (в частности, врожденного иммунитета), направленную на элиминацию TCR – мутантных клеток. Таким образом, последнее осуществляется с помощью лимфоцитов с цитотоксическими свойствами, но не путем индукции апоптоза (Akleyev A.A. et al., 2019).

Таким образом, как правило, повышенные уровни GPA-мутаций сопряжены с перенесенным облучением в диапазоне доз, превышающих 250 мГр, причем острое облучение является более эффективным индуктором этих нарушений, чем хроническое. Хотя результаты единичных работ свидетельствуют о повышенном уровне мутантных эритроцитов у лиц – жителей территорий с радионуклидными загрязнениями, подвергающихся хроническому воздействию радиации в малых дозах. Принято считать, что выявление GPA-мутаций в отдаленный период после радиационного воздействия – это результат индукции мутаций в стволовых гемопоэтических клетках. Напротив, повышение уровня TCR-мутантных лимфоцитов выявлено у жителей территорий с радионуклидными загрязнениями, подвергшихся радиационному воздействию в суммарных дозах, соответствующих широкому диапазону (в том числе, диапазон малых доз), причем значимые эффекты имели место и в отдаленный период после максимальной дозовой нагрузки. Повышенные частоты этих нарушений выявлены у лиц, подвергающихся пролонгированному воздействию радиации в результате профессиональной деятельности, а также у

ликвидаторов аварии на ЧАЭС спустя десятилетия после фракционированного облучения в дозах, как правило не превышающих 250 мГр. С современных позиций, выявление TCR-мутаций в отдаленный период после радиационного воздействия – это результат индукции нестабильности генома в потомках облученных стволовых гемопоэтических клеток.

1.2.4. Апоптотическая активность лимфоцитов у облученных лиц

Выявлена активация апоптотической (ранний и поздний апоптоз, метод FITC Annexin V) и некротической гибели лимфоцитов периферической крови у людей-жителей прибрежных сел реки Теча, подвергшихся низкоинтенсивному хроническому радиационному воздействию в диапазоне доз от 0,01 до 4,23 Гр. У индивидов, подвергшихся облучению в дозах до 0,2 Гр, существенно повышена частота клеток с фрагментацией ДНК (метод TUNEL). Показано снижение CD95+ - клеток у облученных пациентов по сравнению с необлученными индивидами. Полученные авторами данные указывают на радиационно-индуцированную инициацию внутреннего митохондриального пути реализации апоптоза, но не внешнего, опосредованного Fas/Apo1 и являющимся физиологическим и стандартным для большинства клеток (Е.А. Блинова, А.В. Аклеев, 2016).

У лиц – жителей г. Озерска, но в прошлом проживающих на близлежащих территориях, загрязненных радионуклидами в результате аварии на ПО «Маяк», не выявлено значимых различий от контрольной группы, в уровне лимфоцитов крови, экспрессирующих Fas – антиген (Е. Н. Кириллова и др., 2017).

Во всех группах детей, постоянно проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями в результате аварии на ЧАЭС (до 1665 кБк/м^2) и начавших подвергаться воздействию радиационного фактора в постнатальный и пренатальный периоды онтогенеза, а также у потомков родившихся от облученных родителей спустя годы после катастрофы (1990 г. и позже) выявлена тенденция к увеличению количества лимфоцитов с

маркерами готовности к апоптозу (CD95+ - клетки) наряду с уменьшением числа пролиферирующих клеток (CD71+ клетки). Аналогичные изменения выявлены у детей ликвидаторов аварии, а также у детей, эвакуированных на момент аварии из зоны “отчуждения” и “жесткого” контроля, то есть подвергшихся острому облучению в 1986 г. По мнению авторов, полученные данные указывают на «ускоренное старение» клеток организма, подвергшегося радиационному воздействию в малых дозах. Однако не исключен защитный компенсаторный механизм, направленный на элиминацию клеток с морфо-функциональными изменениями (Балева и др., 2011).

Таким образом, данные по оценке готовности клеток крови к апоптозу у облученных лиц малочисленны и противоречивы.

1.3. Радиационно-индуцированные мутации в мини-/микросателлитных локусах

В этом разделе обзора литературы частично использованы материалы публикации автора по теме диссертации (Шайхаев Г.О., **Кузьмина Н.С.**, Мязин А.Е., Панушкина О.Г., Рубанович А.В., Хаймович Т.И., Снигирева Г.П. Изучение частоты мутаций в мини- и микросателлитных локусах ДНК в клетках членов семей работников атомной промышленности, работавших с тритием и его окисью. Радиац. биол. Радиоэкол. 2008. Т. 48. № 6. С. 690-697).

1.3.1. Морфо-/функциональная характеристика тандемных повторов

Изучение генетических последствий облучения человека продолжает оставаться актуальной задачей современной радиационной генетики и радиобиологии. Известно, что определенные мутации хромосом и генов, являющиеся причиной тех или иных наследственных заболеваний с характерным фенотипическим проявлением, имеют низкую спонтанную частоту в популяции, а следовательно, не могут быть использованы для реальной оценки генетического риска облучения человека. Так, частота мутагенеза у человека оценивается как $2 \cdot 10^{-7}$ мутаций/ген/клетку. Основной причиной этого являются особенности онтогенеза, связанные с элиминацией еще на доимплантационной стадии развития, зародышей, несущих геномные

повреждения (58 % беременностей завершаются летальным исходом) (Дурнев А.Д., 2011; Дурнев А.Д. и др., 2013; Бочков Н.П., Дурнев А.Д., 2012). С современных позиций это объясняется фактом тотального деметилирования генома, приводящего к его нестабильности на этом этапе (Толмачева Е.Н. и др., 2008; Лебедев И.Н. и др., 2011; Васильев С.А. и др., 2015).

Результаты эпидемиологических исследований не продемонстрировали явных прямых доказательств влияния радиационного воздействия на наследственность человека. По сути, оценка генетического риска облучения основана на экстраполяции данных экспериментальных исследований по анализу частоты гаметических мутаций отдельных генов у самцов облученных мышей, которая, к сожалению, является крайне низкой (1 на 100 000 генов на 1 Гр рентгеновского излучения) (ICRP, 2007; UNSCEAR, 2010; Little M.P., 2015; Соснина С.Ф., Сокольников М.Э., 2019; Котеров А.Н., Бирюков А.П., 2012).

Анализ частоты мутаций в мономорфных и полиморфных локусах, кодирующих белки/ферменты, требует обследование крайне многочисленных выборок облученных людей и их потомков в связи с низкой скоростью мутирования этих генов. Еще более крупные выборки необходимы для оценки генетических эффектов, индуцированных радиацией в малых дозах. В конце XX – начале XXI века анализ таких некодирующих участков генома как мини- и микросателлитные локусы стал применяться как возможный перспективный метод изучения генетических последствий влияния ионизирующего излучения на наследственность человека. Это обусловлено уникальными свойствами этого вида последовательностей ДНК – селективной нейтральности, высокой частоте тандемных повторов в сочетании с их большой вариабельностью (Jeffreys A.J. et al., 1988; Yauk C. L., 2004; Vergnaud G., Denoeud F., 2000; Bouffler S.D., 2006; Dubrova Yu.E., 2003, 2016, 2019; Satoh C. et al., 1996; Slebos R.J. et al., 2004; Furitsu K. et al.,

2005; Tsyusko O. et al., 2007, 2011; Anmarkrud J. A. et al., 2011; Costa E.O.A. et al., 2018; da Cruz A. D. et al., 2008; Beal M. A.et al., 2012, 2015).

Мини- (МНС) и микросателлиты (МКС) относятся к GC-богатым тандемно повторяющимся последовательностям ДНК, которые плотно и равномерно расположены в различных частях генома, образуя однородные структуры размером от сотни до нескольких десятков сотен пар нуклеотидов. В геноме человека насчитывается несколько десятков тысяч МНС локусов и около миллиона МКС локусов. МНС представляют собой последовательности с коровым элементом (минимальная повторяющаяся единица) в 6-100 bp, частотой повторов от двух до нескольких сотен, имеющие общий размер до 20 kb (Bois P.R. et al., 2003; Biscotti M. A. et al., 2015; Bolton K. A. et al., 2013; Gymrek M. et al., 2017).

Помимо истинных минисателлитов, существуют ESTR-локусы (expanded simple tandem repeat loci) – тандемные повторы с менее протяженной коровой частью (4-6 bp), характерные для генома мышей и отличающиеся чрезвычайно высокой спонтанной частотой мутирования как в половых, так и в соматических клетках (Bois P. et al., 1998; Somers C. M., 2006; Singer T. M. et al., 2006). Следует отметить, что в отличии от этих локусов, человеческие минисателлиты мутируют преимущественно в половых клетках (Buard J. et al., 2000). Частота индукции мутаций в истинных минисателлитах мышей крайне мала и на порядок ниже таковой в гаметах человека (Bois P. et al., 1999, 2002). Причем, у человека спонтанная частота индукции мутаций в МНС сопоставима с таковой в ESTR-локусах мышей. Именно поэтому, они стали широко использоваться в экспериментальных исследованиях для оценки уровня мутагенеза, индуцированного генотоксикантами физической и химической природы в широком диапазоне доз и концентраций, в том числе химиотерапевтическими препаратами в дозах, используемых при лечении злокачественных новообразований (Dubrova Y.E. et al., 1993, 1998, 2000, 2019; Barber R.C. et al., 2009; Ali H.E.A. et al., 2012; Wilson J.W. et al., 2015;

Barber R. et al., 2000; Somers C.M. et al., 2002; 2004; Yauk C.L. et al., 2007, 2008; Mughal S.K. et al., 2012). Показана повышенная частота спонтанных ESTR-мутаций в гаметах мышей, накаутированных по генам репарации:SCID мыши - severe combined immunodeficient, PARP-1-/-, XPC -/-. Msh2 -/-), причем этот эффект не отмечен для p53 – дефицитных животных. Мыши XPC -/- характеризовались существенно повышенным уровнем не только спонтанных, но и радиационно-индуцированных мутаций (Barber R.C. et al., 2004; Burr K.L.-A. et al., 2005, 2007; Miccoli L. et al., 2007).

МКС характеризуются длиной кора 1 – 5 bp, частотой повторов от 10 до 100 и имеют общую длину последовательности до 500 bp. Общее число гипервариабельных МНС последовательностей (VNTR-повторы – полиморфные минисателлиты) в геноме человека составляет 1500, а МКС – около 100000 (Новик А.А. и др., 2001; Näslund K. et al., 2005 Gymrek M., 2017).

Спонтанные мутации, которые возникают в результате ошибок в репликации ДНК или неравного кроссинговера, могут приводить к изменению числа повторов, т.е. общей длины многокопийной последовательности. Показано, что в наиболее вариабельных МНС локусах частота мутаций может достигать 5% и выше на гамету (Горбунова В.Н., Баранов В.С., 1997; Yauk C.L., 2004). Уровень мутаций в наиболее вариабельных МКС у представителей разных видов колеблется от 0,81 до 4,2 % на гамету (Beal M. A. et al., 2012)

Хотя до сих пор окончательно не ясна функция МНС, считают, что некоторые из них играют роль в образовании структуры ДНК высокого уровня, необходимой для пространственной организации хроматина и осуществления ДНК-белковых взаимодействий. Известно, что некоторые гены содержат в своих кодирующих областях VNTR-повторы. Есть предположение, что происхождение некоторых локусов связано с конкатемиризацией повторов, характеризующейся созданием длинных последовательностей ДНК, устойчивых к точковым мутациям, приводящим к

терминации считывания (Bois P., Jeffreys A.J., 1999; Yauk C. L., 2004). Кроме того, результатом мини-/микросателлитной нестабильности может быть нарушение экспрессии близлежащих генов или локусов, содержащих рассматриваемые повторы (Pacheco A. et al., 2019; Tripathy A.S. et al., 2019; Brookes KJ., 2013; Golalipour M. et al., 2017; Babushkina N.P., Kucher A.N., 2011; Lipkova J. et al., 2014). Не исключено также, что некоторые последовательности ДНК могут вообще не выполнять никаких определенных функций. Повышенный полиморфизм таких тандемных повторов как раз и свидетельствует об этом. Существует мнение, что их единственной функцией является репликация. Однако, учитывая стабильность структурной организации генома в пределах вида, можно говорить о важной эволюционной роли некодирующих последовательностей ДНК и об их участии в процессах онтогенеза (Горбунова В.Н., Баранов В.С., 1997; Никитина Т.В., Назаренко С.А., 2004).

МКС повторы могут предположительно являться промоторными сайтами рекомбинации или сайтами связывания ДНК-топоизомераз, а полиморфизм этих тандемных повторов сопряжен с изменением экспрессии генов и генерации нуклеосомных позиционных сигналов (Abaneze V. et al., 2001; Contente A. et al., 2002; Zheng J. et al., 2018; Fotsing S.F. et al., 2019). Так, например, пентануклеотидная полиморфная последовательность (TGYCC), где Y = C или T, расположенная в промоторной области гена *PIG3*, является сайтом связывания опухолевого супрессора p53 и активации транскрипции (Contente A. et al., 2002). Z-мотив ДНК (GT) является нестабильным участком, склонным к индукции двунитевых разрывов ДНК в ходе репликации и тем самым запуску процесса гомологичной рекомбинации, имеющего место как в половых, так и соматических клетках (Zheng J. et al., 2018).

С МКС связывают такой специфический для человека феномен как экспансия тринуклеотидов (Mirkin S.M., 2007), характеризующаяся увеличением длины повторяющихся последовательностей и показанная при

синдроме Мартина-Белла (синдром фрагильной Х-хромосомы), хореи Геттингтона, спинно-мозжечковой атаксии, миотонической дистрофии, боковом амиотрофическом склерозе и др. (Ueyama M., Nagai Y., 2018; Iyer R.R. et al., 2015; Kraus-Perrotta C., Lagalwar S., 2016; Rodriguez C.M., Todd P.K., 2019; Rohilla K.J., Gagnon K.T., 2017). Например, CTG-повтор, экспансия которого ведет к появлению миотонической дистрофии, характеризуется существенной способностью к формированию нуклеосом, усиливающейся с ростом длины повторяющейся последовательности (Wang Y.H., 2007). Увеличение числа новых аллельных вариантов и потеря гетерозиготности в МКС локусах обнаруживают в клетках опухолей панкреатической, гепато-билиарной, репродуктивной систем, легких и т.д. (Nikiforov Y.E., 1998; Thibodeau S.N. et al., 1998; Zhang P. et al., 2018; Huang X. et al., 2016). Не являясь специфичными для какого-либо определенного вида опухолей, изменения частоты мутаций в МКС локусах являются характерным признаком повышенного риска онкологических заболеваний.

Механизмы возникновения мутаций в мини-/микросателлитных локусах до конца не ясны. Предполагается их сопряженность с такими процессами как проскальзывание полимеразы при репликации ДНК, генная конверсия, неравные обмены в мейозе, а также неравные обмены сестринских хроматид. Так показано, что индукции мутаций в минисателлитных локусах половых клеток в основном ассоциирована с межаллельными обменами в процессе мейоза (Yauk C., 1998; Jeffreys A.J. et al., 1994, 1998; Jeffreys A.J., 1997; Buard J, Vergnaud G., 1994; Cederberg H., Rannug U., 2006; Shanks M.E., 2008). Этот процесс инициируется двойными разрывами, которые затем репарируются путем гомологичной рекомбинации. Анализ некоторых минисателлитных локусов человека выявил мутации, являющиеся результатом сложных перестроек, причем в эти обмены не вовлекаются фланкирующие последовательности, что может указывать на то, что механизмы генной конверсии преобладают над процессами неравных обменов в мейозе и проскальзывания ДНК полимеразы. Таким образом,

имеет место перенос блока повторов от аллеля-донора к аллелю-реципиенту, при этом длина аллеля донора не изменяется, так как перед обменом эта последовательность копируется. Хотя показано, что генерация двунитевых разрывов ассоциирована с генной конверсией, их радиационно-индуцированная индукция не является механизмом имеющего место мутагенеза в МНС в результате облучения (Yauk C., 1998). Полагается, что повышение уровня минисателлитных мутаций в результате перенесенного облучения является результатом аккумуляции повреждений ДНК в другом месте генома, что приводит к нестабильности этих тандемных повторов (Dubrova Yu., 2019).

Экспериментальное исследование с применением методов полногеномного секвенирования показало, что у потомков мышей-самцов, подвергшихся острому воздействию Х-лучей в дозе 3 Гр, частота CNVs (Copy Number Variations – вариация числа копий) и Ins/Dels (Insertions/Deletions – инсерции/делеции) повышены в 7.7 и в 2.4 раза, соответственно. Хотя уровни de novo SNVs (single nucleotide variants) у потомков облученных и необлученных животных значимо не различались, у первых частота кластерных мутаций (находящихся друг от друга в пределах нескольких пар оснований) превышала таковую в контрольной группе в 9 раз, что может указывать на нарушения процессов репарации таких повреждений ДНК (Adewoye A.B. et al., 2015; Georgakillas A.G. et al., 2013).

Напротив, возникновение минисателлитных мутаций в соматических клетках сопряжено с внутриаллельными событиями, такими как неравные обмены сестринских хроматид, делеции, дупликации. Эти процессы являются результатом рекомбинации, имеющей место в митозе (S и M фазы) и сопряжены с индукцией двунитевых разрывов. К тому же, все эти события могут происходить в результате остановки репликативной вилки при синтезе ДНК (Buard J,, 2004; Jeffreys AJ, Neumann R., 1997). Отмечено, что преобладание того или иного молекулярно-генетического события и родительское происхождение мутаций зависит от конкретного

рассматриваемого локуса (Yauk C., 1998; Jeffreys A.J., Neumann R., 1997; Bois P., Jeffreys A.J., 1999; Shanks M.E., 2008).

Подавляющее большинство мутаций в МКС возникает в результате специфической ошибки репликации–проскальзывания ДНК-полимеразы вдоль гомополимерной последовательности на число нуклеотидов, кратное длине повтора, однако вероятность этого события неодинакова в разных локусах (Никитина Т.В., Назаренко С.А., 2004; Животовский Л.А., 2006).

1.3.2. Мутации в мини-/микросателлитных локусах как возможный маркер радиационного воздействия

Еще в конце прощлого века результаты серии исследований, проведенных на лабораторных животных, показали статистически значимое возрастание частоты мутаций в минисателлитных локусах у потомков самцов облученных мышей (0,5-1 Гр). Кроме того, при остром облучении (рентгеновские лучи, 1 Гр) наблюдалась вариабельность в частоте индуцированных мутаций между различными тканями (сперма, селезенка, мозг), а наиболее чувствительными являются клетки зародышевого пути (Dubrova Y.E. et al., 1993; Yauk C.L. et al., 2002). Таким образом, показана индукция ESTR-мутаций и в соматических клетках. Выявлена зависимость радиочувствительности клеток зародышевого пути от стадии сперматогенеза. Показано, что премейотическая стадия созревания гамет характеризуется наибольшей чувствительностью к облучению (Dubrova Y.E. et al., 1993, 1998; Безлепкин В.Г. и др., 2001). Получены экспериментальные доказательства сопоставимости эффектов острого и хронического воздействия радиации с низкой ЛПЭ в диапазоне малых и средних доз (до 1 Гр), а также их линейной зависимости от дозы облучения (Dubrova Y.E., Plumb M.A., 2002; Dubrova Y.E. et al., 2000). В то же время, в эксперименте на культуре клеток V79 показано, что излучение с высокой ЛПЭ, в частности ионы гелия, оказалось более эффективным в отношении индукции минисателлитных мутаций, а

также HPRT – мутаций по сравнению с γ-излучением (Cherubinit R. et al., 2002).

В другой серии работ показано сохранение повышенного уровня ESTR-мутаций не только в первом, но также во 2-ом и 3-ем поколениях мышей, являющихся потомками самцов, подвергшихся воздействию плотноионизирующей (нейтроны) и редкоионизирующей (γ-излучение) радиации. Полученные данные свидетельствуют о трансгенерационной индукции нестабильности генома у потомков облученных родителей, а выраженность этого феномена зависела от генотипа животных и была максимальной у мышей линий CBA/H и BALB/c, но не C57BL/6 (Dubrova Y.E., Plumb M.A., 2002; Barber R. et al., 2002; Dubrova Y.E., 2003; Barber R.C. et al., 2006). Позже реальность феномена геномной нестабильности у потомков самцов (но не самок), подвергшихся радиационному воздействию (1 Гр, X -лучи), а также дестабилизация генома, выявляемая в организме взрослых животных (гаметы и клетки соматических тканей), облученных на ранних стадиях внутриутробного развития (12 день гестации), подтверждены в уникальных экспериментах с использованием метода ПЦР отдельных клеток (Ali H.E.A. et al., 2012; Barber R.C. et al., 2009). Причем трансгенерационные эффекты дестабилизации генома наблюдались только в потомстве внутриутробно облученных самцов, но не самок (Barber R.C. et al., 2009).

Показано наличие дозового порога в индукции трансгенерационных эффектов нестабильности генома у потомков облученных родителей. Так, показано дозозависимое увеличение частоты ESTR-мутаций в гаметах мышей, подвергшихся острому воздействию γ – излучения в диапазоне 10-100 сГр (удваивающая доза 57 сГр), но трансгенерационные эффекты у потомков F1(повышенные уровни мутаций в клетках спермы и мозга) наблюдались только для доз 50-100 сГр, но не 10 и 25 сГр. Кроме того выявлено, что острое облучение в дозе 100 сГр являлось более сильным индуктором мутагенных эффектов в гаметах мышей, чем низкоинтенсивное

воздействие в той же дозе, которое, кроме того, не приводило и к дестабилизации генома у потомков облученных родителей (Mughal S.K. et al., 2012).

Заслуживает внимания факт, что предпринятое другими исследователями изучение 19 мышиных МКС локусов (характеризуются средним уровнем спонтанного полиморфизма - до 0,5 % на гамету) у животных (Swiss – Webster мыши), подвергшихся острому воздействию γ – излучения (0,5 и 1 Гр) на сперматогониальной стадии не выявило статистически значимого повышения частоты мутаций в тандемных повторах по сравнению с контролем. Это противоречило результатам полученным с помощью анализа ESTR – локусов, что по мнению авторов связывают с более эффективной репарацией STR локусов по сравнению с ESTR. Следует отметить, что в экспериментальных исследованиях с применением мутагенов химической природы МКС локусы характеризовались высокой чувствительностью к генотоксическому воздействию (Beal M. A. et al., 2012, 2015).

Таким образом, полученные на лабораторных животных данные свидетельствуют о том, что изучение мутаций в мини-/микросателлитных локусах может являться перспективным подходом в биоиндикации, биодозиметрии, и в конечном итоге, в оценке генетического риска облучения популяций человека. Поэтому, в первое десятилетие 21 века было проведено достаточно много исследований, посвященных оценке генетических последствий радиационного воздействия на популяции человека с использованием методов анализа мутаций в мини-/микросателлитных локусах ДНК.

1.3.3. Мутации в мини-/микросателлитных локусах у потомков облученных лиц

1.3.3.1. Мутации у потомков жертв ядерных бомбардировок Хиросимы и Нагасаки

Как известно, анализ мутаций в МНС локусах (*Pc-1, λ TM-18, ChdTC-15, p λg3, λMS-1, CEB-1*) предпринял впервые Kodaira с соавторами в 1995 году для оценки генетических эффектов у детей – потомков родителей, подвергшихся воздействию острого однократного внешнего облучения в высоких дозах (средняя доза на гонады составила 1,9 Гр) в результате бомбардировок Хиросимы и Нагасаки. Авторы провели обследование 64 детей из 50 семей, в которых один или оба родителя подверглись облучению при взрыве атомной бомбы, и 60 детей, родители которых не были облучены. В исследованиях участвовали дети, родившиеся более чем через 10 лет после облучения родителей. Показано отсутствие статистически значимых по частотам этих молекулярно-генетических нарушений экспанированной группы от контроля. Так средний уровень мутаций составил 1,5% в облученных и 2% в необлученных семьях. Авторы отмечают высокую мутабильность только двух из шести локусов (*λMS-1, CEB-1*), причем для *CEB-1* все мутантные аллели имели отцовское происхождение, что не отмечалось для λMS-1 локуса (Kodaira M. et al., 1995).

Позже, коллектив авторов провел исследование этого же контингента лиц с анализом других МНС (*CEB-1, CEB-15, CEB-25, CEB-36, MS-1, MS-31, B6.7, MS-32*). Проведенный анализ не выявил увеличения частоты мутаций в минисателлитных локусах в облученной группе (61 ребенок) по сравнению с контрольной (58 детей). Частота мутаций для восьми исследованных локусов составила 4,6% в облученной группе и 4,7% в контрольной группе (Kodaira M. et al., 2004).

Кроме того, оценка уровня мутаций в 40 МКС у потомков лиц – жертв атомных бомбардировок Хиросимы и Нагасаки (средняя доза на гонады 1,87 Гр и 1,27 Гр для отцов и матерей, соответственно) не выявила его значимого повышения по сравнению с контрольной группой: 0,39 x 10^{-2} vs 0,35 x 10^{-2} (Kodaira M. et al., 2010). Satoh C. с соавторами также не выявили мутаций в 5 исследованных микросателлитных локусах у детей, родители которых подверглись облучению при взрыве атомной бомбы в Японии, в то же время частота мутаций у детей необлученных родителей составила 0,5% (Satoh C. et al., 1996).

Отсутствие выраженных эффектов у потомков облученных родителей в этих исследованиях авторы связывают с длительным периодом времени, прошедшем после радиационного воздействия, достаточно ограниченной численностью проанализированных выборок, имевшем зачастую место облучение только одного родителя (Nakamura N., 2013; Little M.P., 2015).

1.3.3.2. Мутации у потомков участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС

В работе Slebos R.J. с соавторами (2004) при обследовании семей ликвидаторов с использованием двух мультилокусных минисателлитных проб 33.6 и 33.15 не выявлено статистически значимых отличий в частотах МНС мутаций между группой детей, родившихся от облученных отцов, и их сибсами, родившимися до аварии. Однако только для пробы 33.6 было выявлено некоторое увеличение числа мутаций у детей, родившихся после аварии на ЧАЭС от облученных родителей. Дозовая зависимость анализируемых эффектов в данной работе не проводилась. Зависимость частоты мутаций от срока зачатия детей после окончания облучения их отцов не выявлена.

Furitsu K. с соавторами (2005) не выявили увеличения частоты мутаций в МКС по сравнению с контрольной группой у детей ликвидаторов аварии на ЧАЭС (обследовано 64 семьи ликвидаторов и 66 семьи из группы контроля).

Следует отметить, что исследование проводили по 72 локусам: аутосомным (31 локус) и сцепленным с X- (1 локус) и Y – хромосомами (40 локусов). Так, например, частота мутаций в аутосомных МКС составила $5{,}9 \times 10^{-3}$ и $8{,}5 \times 10^{-3}$ на гамету у потомков облученных и необлученных отцов, соответственно.

Только в работе Livshits L.A. с соавторами (1999, 2001) отмечена тенденция к увеличению частоты мутантных аллелей (исследовано 8 МНС, которые анализировались в выше приведенной работе Kodaira с соавторами (2004): *B6.7, MS-1, CEB-1, CEB-15, CEB-25, CEB-36, MS-31, MS-32*) у детей (обследовано 183 потомка), которые были зачаты в течение двухмесячного периода (но не спустя 4 месяца) после окончания работы их отцов на атомной станции. Причем наиболее мутабильным оказался локус CEB1, частота мутаций для которого составила 14%.

В работе Kiuru A. с соавт. (2003) у детей, являющихся потомками эстонских рабочих-ликвидаторов аварии на ЧАЭС выявлен незначительно повышенный уровень мутаций в МНС по сравнению с их сибсами, зачатыми до аварии на ЧАЭС. В частности, наибольшие частоты этих молекулярно-генетических нарушений выявлены у детей, отцы которых получили дозу 20 сЗв и выше. Максимальная частота мутаций (10%) опять же выявлена для уже упомянутого локуса *CEB1*. Выявлена также тенденция к более высокому уровню минисателлитных мутаций у потомков, зачатие которых имело место по прошествии 49 дней после облучения отцов. Основываясь на продолжительности сперматогенеза человека (74 дня), авторы сделали вывод, что наибольшее количество мутаций в половых клетках индуцировано на стадии стволовых клеток и сперматогоний, что согласуется с результатами выше рассмотренных экспериментальных работ на мышах, свидетельствующими о наибольшей радиочувствительности клеток в премейотической стадии сперматогенеза.

Имеет место только одно исследование, результаты которого не согласуются с таковыми, полученными другими авторами. А именно, Weinberg H.Sh. с соавт. (1997, 1999) методом RAPD-PCR (ПЦР с

использованием праймеров к случайным последовательностям ДНК) показали, что частота неродительских полос у детей ликвидаторов аварии на ЧАЭС семикратно превышала таковой показатель у индивидов контрольной группы. Однако данный метод использовался для мониторинга мутаций у человека только этими авторами, а выявленные уровни спонтанного мутагенеза невозможно соотнести с таковыми для человеческих популяций, полученными другими исследователями. В этом плане, результаты Weinberg с соавт. кажутся неприемлемыми для сравнительного анализа, а причина такой высокой частоты неродительских полос может быть вовсе не связана с радиационным воздействием на гаметы отцов.

Таким образом, у потомков ликвидаторов аварии на ЧАЭС, подвергшихся фракционированному облучению в течение периода времени, составляющего от нескольких дней до нескольких месяцев, не выявлено статистически значимых отличий от контроля по частотам мутаций в исследованных гипервариабельных участках генома. Хотя в ряде работ выявлена тенденция к более высокому уровню этих молекулярно-генетических нарушений у потомков облученных отцов, причем эффект наблюдался, как правило, для отдельных локусов. Отсутствие значимых эффектов авторы объясняют фракционированностью облучения этого контингента лиц, диапазоном суммарных поглощенных доз, не превышающих, как правило 250 мГр, гетерогенностью данной группы в отношении условий облучения (сочетание внешнего и внутреннего. обусловленного поступившими в организм радионуклидами, воздействия радиации).

1.3.3.3. Мутации у потомков лиц, подвергающихся облучению в процессе производственной деятельности

Назаренко С.А. с соавторами (2004) проведено исследование частоты мутаций в минисателлитных локусах в гаметах работников Сибирского химического комбината (СХК), работающих в условиях повышенного

радиационного фона и получивших на момент рождения ребенка суммарную дозу внешнего гамма-излучения в диапазоне от 0,01 до 1,4 Гр. Обследовано 60 семей облученной группы, а также 31 семья контрольной группы (жители «чистого» района Томской области). Исследовались пять гипервариабельных локусов, которые, по данным литературы, характеризуются высокими частотами спонтанного мутирования. Для всех исследованных локусов общая частота мутаций у потомков работников Сибирского химического комбината не отличалась значимо от такового показателя в контрольной группе (5,6% и 3,8% соответственно). Авторы также показали, что среди выявленных мутаций превалируют таковые отцовского происхождения: их частота в отцовских гаметах в 4,3 раза и в 3,2 раза выше чем в женских половых клетках для группы работников СХК и группы контроля, соответственно. Причиной этого, по мнению авторов, является тот факт, что при сперматогенезе терминальные клетки претерпевают во много раз больше циклов репликации, чем яйцеклетки. С возрастом число таких циклов у отца значительно увеличивается и, соответственно, увеличивается вероятность возникновения мутаций в ходе мужского гаметогенеза. Женские половые клетки не делятся в постнатальном периоде, а мейоз для яйцеклетки заканчивается во время ее овуляции. Полученные авторами данные о преобладании мутаций отцовского происхождения свидетельствуют о справедливости гипотезы репликационного происхождения значительной части мутаций в минисателлитных локусах.

Выявлена тенденция к увеличению частоты мутаций минисателлита *CEB1* в группе детей, рожденных от облученных отцов – работников ПО «Маяк», подвергшихся хроническому радиационному воздействию внешнего γ–/внутреннего α-излучения от инкорпорированного плутония-239 (преконцептивные дозы на гонады составили от 0,57 до 5,7 Гр и от 0 до 0,015 Гр для γ– и α-излучения, соответственно): p = 0,109. Наибольшая частота мутаций, превышающая таковую в контроле (отличия не значимы: p=0,58), выявлена у индивидов, чьи отцы подверглись облучению в наименьшей дозе

(0,5 – 1 Гр). Дозовый порог выявления мутаций у потомков этой когорты облученных лиц составил 0,38 Гр (Русинова Г.Г. и др., 2014).

Результаты изучения мутаций в 8 ранее упомянутых минисателлитных локусах (*B6.7, CEB1, CEB15, CEB25, CEB36, MS1, MS31, MS32*) в 160 семьях (255 потомков) отцов – работников атомного комплекса «Селлафилд» (средняя доза на гонады 194 мЗв) свидетельствуют об отсутствии статистически значимых отличий уровней этих молекулярно-генетических нарушений в гаметах облученных отцов (5,8 %) от таковых показателей у лиц контрольной группы (5 %) (Tawn E.J. et al., 2015).

В работе других авторов при обследовании работников ПО «Маяк» выявлено статистически значимое повышение уровня полиморфизма микросателлит-ассоциированных повторов ДНК (ДНК фингерпринтинг на основе ПЦР со «случайно выбранным» праймером: АР-ПЦР) в клеток периферической крови лиц, подвергавшихся пролонгированному внешнему воздействию γ-излучения в дозе выше 2,0 Гр, а также у потомков родителей с накопленной преконцептивной дозой выше 2,0 Гр. У потомков, отцы или матери которых имели до зачатия потомства накопленную дозу выше 2,0 и 3,0 Гр соответственно, регистрировали также повышенный уровень частоты мутаций в гене *p53* и гетероплазмии мтДНК независимо от того, кто из родителей подвергся воздействию радиации в преконцептивном периоде (Безлепкин В. Г. и др., 2011).

Таким образом, результаты единичных работ, посвященных изучению мутаций в тандемных повторах потомков лиц, подвергающихся хроническому облучению в результате профессиональной деятельности, единичны и противоречивы. Значимое повышение уровня полиморфизма микросателлит-ассоциированных повторов ДНК выявлено только при облучении в дозе более 2 Гр. Однако, несмотря на малочисленность проведенных исследований, имеет место разнообразие методических особенностей (метод анализа мутаций, количество проанализированных локусов, их спонтанная вариабельность), что затрудняет сравнительный

анализ результатов и не позволяет сделать ясные выводы относительно уровня радиационно-индуцированного мутагенеза в этой группе лиц.

1.3.3.4. Мутации у потомков лиц, перенесших лучевую терапию

У детей, родившихся от родителей, перенесших в детском и подростковом возрасте лучевую терапию при лечении онкологических заболеваний статистически значимые отличия от контрольного уровня частоты минисателлитных мутаций не выявлены (обследовано 24 семьи). Доза на гонады, полученная этими больными находилась в широком диапазоне от 0,01 до 9,2 Гр (Rees G.S. et al., 2006). Аналогичные результаты получены при исследовании этих же восьми гипервариабельных локусов (*B6.7, CEB1, CEB15, CEB25, CEB36, MS1, MS31, MS32*) у лиц того же контингента, то есть семей, где один из родителей перенес в детстве или юности радиотерапевтическое воздействие:средняя доза на гонады у отцов составила 1,23 Гр, а у матерей 0,58 Гр (Tawn E.J. et al., 2011). Предпринятый С. May с соавторами принципиально новый метод для оценки частоты минисателлитных мутаций (исследованы наиболее мутабильные исходя из ряда исследований локусы: *B6.7* и *CEB1*) непосредственно в гаметах (SP-PCR) онкологических больных, подвергшихся радиотерапии и получивших дозу на гонады 0,38-0,75 Гр, также не выявил увеличения частоты этих генетических нарушений у облученных людей, по сравнению с контролем. Авторы объясняют такой результат фракционированностью облучения (May C.A. et al., 2000).

1.3.3.5. Мутации у жителей территорий, загрязненных радионуклидами

У людей, проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами в результате аварии на ЧАЭС, ядерных взрывах на Семипалатинском полигоне, сбросов радиоактивных отходов в реку Теча средние частоты мутаций в минисателлитных локусах в 1,5-2 раза

превышали контрольный уровень (Dubrova Y.E. et al., 1996, 1997, 2002, 2006; Dubrova Y.E., 2006, 2016, 2019; Аклеев, 2007). В данных случаях имеет место хроническое многолетнее облучение. При этом следует отметить, что жители территорий, прилегающих к Семипалатинскому полигону, подверглись облучению в относительно высоких дозах (до 1 Зв) (Bersimbaev R.I. et al., 2002).

В 1996 году Dubrova Y.E. с соавторами провели обследование 79 семей, проживающих в загрязненных радионуклидами районах Могилевской области. Для исследования были выбраны две мультилокусные минисателлитные пробы 33.6 и 33.15 и 8 гипервариабельных однолокусных проб:*CEB-1, CEB-15, CEB-25, CEB-36, MS-1, MS-31, B6.7, MS-32*. Авторы обнаружили повышенную в 2 раза среднюю частоту мутаций в минисателлитных локусах ДНК. Также было выявлено увеличение частоты мутаций в зависимости от степени загрязнения территории радиоактивным цезием (Dubrova Y.E. et al., 1996).

Позже был проведен дополнительный анализ материала - выборка достигла 127 и 120 семей в облученной и контрольной группах соответственно. Результаты полностью подтвердились – частота мутаций в минисателлитных локусах была более высокой в облученных семьях и коррелировала с дозой облучения, полученной родителями, а также уровнем радионуклидной загрязненности территорий проживания (по ^{137}Cs) (Dubrova Y.E. et al., 1997). Однако были и некоторые возражения со стороны отдельных исследователей, которые считали, что существенным недостатком этих работ является отсутствие адекватной контрольной группы (контрольная группа была представлена жителями Великобритании) (Neel J.V., 1998).

В 2002 году Dubrova с соавторами опубликовали и работу, в которой представили результаты исследования частоты мутаций в тех же 8 минисателлитных локусах у членов семей, проживающих в районах, загрязненных радионуклидами в результате аварии на Чернобыльской АЭС

(окрестности Киева и Житомира). В качестве контроля были обследованы семьи, проживающие в этом же регионе, дети которых родились до Чернобыльской аварии (98 детей). Частота мутаций у детей из облученных семей (240 детей) в 1,6 раз превышала аналогичный показатель в контрольной группе. Было также показано, что именно в половых клетках отцов повышена частота мутаций, т.е. мутации возникали и передавались детям в результате облучения отцов. Авторы делают вывод, что повышенный уровень мутаций является следствием облучения в результате аварии на Чернобыльской АЭС. Наибольшую мутабильность имел локус *CEB1*, что совпадало с данными, полученными на когортах семей ликвидаторов аварии на ЧАЭС и жертв атомных бомбандировок Хиросимы и Нагасаки (Kodaira M. et al., 1995; Livshits L.A. et al., 1999, 2001; Kiuru A. et al., 2003). Не выявлена корреляция между частотой мутаций и годом зачатия ребенка (1986 -1995) (Dubrova Y.E. et al., 2002).

Позже этот же коллектив авторов совместно с казахстанскими учеными провели анализ выше перечисленных минисателлитных локусов в семьях, постоянно проживающих вблизи Семипалатинского ядерного полигона и получивших большие эффективные дозы за счет радиоактивных выпадений, имевших место после четырех наземных взрывов 1949-1956 гг. Показано статистически значимое увеличение частоты минисателлитных мутаций, почти в 2 раза превышаущую таковую у лиц контрольной группы (необлученные семьи, проживающие вблизи Талды-Кургана). В этой облученной когорте уровень рассматриваемых молекулярно-генетических нарушений зависел от года рождения облученных родителей. Наибольшие уровни мутаций выявлены у потомков родителей 1926-1960 г.р., для всех остальных групп отмечена обратная ассоциативная связь между уровнем мутаций и годом рождения родителей (Dubrova Y.E. et al., 2002; Dubrova Y.E., 2003). Эти результаты авторы объясняют особенностями условий облучения в разные временные периоды. Известно, что четыре крупных наземных взрыва за период с 1949 по 1956 гг. обусловили 85% эффективной

дозы облучения популяции. Поэтому, родители 1926-1960 г.р. подверглись наибольшему радиационному воздействию после этих взрывов 1949, 1951, 1953 и 1956 гг., максимально загрязнивших территории. Кумулятивные дозы внешнего облучения составили до 2 Гр. Так как после 1950 г. проводились в основном подземные взрывы, индивиды, родившиеся после 1960 г. получили наименьшие дозы облучения, к тому же часть ранее выпавших радионуклидов распалась (Bersimbaev R.I. et al., 2002).

Результаты оценки уровня мутаций в МНС в последующем 2-ом поколении потомков (внуки индивидов, родившихся в 1926–1960 гг.), свидетельствуют о его повышении в 1,5 раза по сравнению с контролем, которое однако не было статистически значимым (Dubrova Y.E. et al., 2002; Bolegenova N.K. et al., 2009).

Посемейный анализ жителей прибрежных сел реки Теча, подвергшихся хроническому радиационному воздействию (преконцептивные дозы на гонады у отцов и матерей составили, соответственно, 0,3 – 624 мГр и 0,2 – 493 мГр), выявил существенно повышенную суммарную частоту минисателлитных мутаций (исследовано 8 уже упоминавшихся локусов: *CEB-1, CEB-15, CEB-25, CEB-36, MS-1, MS-31, B6.7, MS-32*) в отцовских аллелях, по сравнению с контролем (0,049 и 0,025, соответственно). Локусы *CEB1* и *B6.7* характеризовались наибольшим уровнем мутирования, существенно превышающим таковой в контроле. Частота мутаций материнских аллелей не отличалась от контрольного уровня. Зависимоти доза-ффект и мощность дозы-ффект не выявлены (Dubrova Y.E. et al., 2006; Аклеев А.В. и др., 2007).

В обзорах, посвященных генетическим эффектам облучения, Dubrova Y.E. (2006, 2016, 2019), подводя итоги экспериментальным исследованиям, а также анализируя результаты обследования облученных людей (жители Казахстана и районов, прилегающих к Чернобыльской АЭС, население Японии, облученное в результате атомных взрывов), делает вывод, что анализ мутаций в минисателлитных локусах является чувствительным

методом для мониторинга радиационно-индуцированных мутаций у человека. Однако, большинством исследователей значимого повышения частоты этих молекулярно-генетических нарушений у потомков облученных родителей не выявлено. Kodaira (2004) предположил, что последнее связано с различием в условиях облучения лиц обследованных групп. Статистически значимый эффект индукции мутаций в тандемных повторах генома был зарегистрирован у жителей территорий с радионуклидными загрязнениями, то есть у детей – потомков родителей, которые оба подвергались хроническому воздействию радиации на протяжении многих лет до зачатия. Кроме того, сами дети подвергались облучению в антенатальный период развития с момента образования зиготы. Автор делает предположение, что наблюдаемые эффекты связаны с синергизмом между облучением обоих родительских гамет и облучением на ранних стадиях дробления зиготы. Однако, в упомянутой выше работе показано, что частота мутаций в минисателлитных локусах детей – потомков родителей, подвергшихся хроническому облучению в результате проживания на реке Теча, не зависела от дозы внутриутробного облучения красного костного мозга (Аклеев А.В. и др., 2007).

Имеются также результаты обследования 10 семей (анализ 12 МКС у 37 человек), в которых хотя бы один из родителей подвергся острому облучению (от 5 до 150 сГр) в результате инцидента в Гояни (Бразилия) - радиоактивного заражения ^{137}Cs (рассеивание высокорадиоактивного порошка из украденной детали от установки для радиотерапии). Авторы выявили статистически значимое дозозависимое возрастание среднего уровня мутаций в рассматриваемых локусах у потомков облученных родителей по сравнению с контрольной группой (2×10^{-2} vs $6,9 \times 10^{-4}$) (da Cruz A. D. et al., 2008). В дальнейшем, исследователи этой же лаборатории при анализе 15 МКС в 10 семьях из той же популяции, но характеризующихся гораздо меньшей дозовой нагрузкой у родителей (менее 20 сГр), не выявили статистически значимого повышения частоты STR

мутаций по сравнению с контролем (0,006 vs 0,002, p = 0,09) (Costa E.O. et al., 2011).

Таким образом, в настоящее время имеется много работ, посвященных изучению генетических последствий воздействия радиации с использованием таких ДНК-маркеров как МНС или МКС. Статистически значимо повышенные частоты минисателлитных мутаций выявлены только у жителей территорий, загрязненных радионуклидами в результате аварии на ЧАЭС, ядерных взрывах на Семипалатинском полигоне, сбросов радиоактивных отходов в реку Теча (Dubrova Y.E. et al., 1996, 1997, 2002, 2006; Dubrova Y.E., 2006, 2016, 2019; Аклеев, 2007; UNSCEAR, 2001).

1.4. Радиационно-индуцированные изменения метилирования ДНК

В этом разделе обзора литературы использовались материалы публикаций автора по теме диссертации (**Кузьмина Н.С.**, Лаптева Н.Ш., Русинова Г.Г., Азизова Т.В., Вязовская Н.С., Рубанович А.В. Гиперметилирование промоторов генов в лейкоцитах крови человека в отдаленный период после перенесенного радиационного воздействия. Радиационная биология. Радиоэкология. 2017. Т.57. № 4. С. 341 – 356; **Н. С. Кузьмина**. Радиационно-индуцированные нарушения метилирования ДНК: исследования in vitro и in vivo. Радиационная биология. Радиоэкология. 2020. Т.60. № 5. С. 481-506; **N. S. Kuzmina**, T. M. Luong, and A. V. Rubanovich. Changes in DNA Methylation Induced by Dioxins and Dioxin-Like Compounds as Potential Predictor of Disease Risk. Russian Journal of Genetics. 2020. V. 56. № 10. P. 1180-1192).

1.4.1. ДНК-метилирование как эпигенетическая модификация генома человека

1.4.1.1. Сайты метилирования.

Как известно, ДНК-метилирование – эпигенетическая модификация генома, играющая ключевую роль в регуляции многих биологических процессов (Jones P.A., Takai D., 2001; Suzuki M.M., Bird A., 2008; Jones P.A., 2012). Сайтами метилирования ДНК в геноме человека являются,

преимущественно, CpG - динуклеотиды. За счет того, что 5-метилцитозин склонен к реакции деаминирования с образованием тимина, цитозин характеризуется высокой частотой мутирования в CpG-контексте (CG>TG), а наиболее распространенный однонуклеотидный полиморфизм в геноме человека – это замена цитозина на тимин (C>T). Поэтому, эволюционно сложилось, что наблюдаемая частота CpG-динуклеотидов в несколько раз ниже ожидаемой (Pfeifer G.P., 2006; Bird A.P., 1980). В геноме человека 5-метилцитозин составляет около 1% всех нуклеотидов в ДНК, а метилированное состояние характерно для 70 % CpG - динуклеотидов. Большинство метилированных цитозинов локализовано в диспергированных (*LTR, LINE, SINE, Alu*) и тандемных повторах (сателлитная ДНК), которые составляют по крайней мере половину человеческого генома. Такое эпигенетическое маркирование защищает геном от инсерционного мутагенеза и рекомбинаций ДНК (Jones P.A., Takai D., 2001; Robertson K.D., Wolffe A.P. , 2000; Jaco I. et al., 2008; Blasco M.A., 2007; Tomso D.J., Bell D.A., 2003).

1.4.1.2. CpG-островки

Неметилированные CpG-динуклеотиды представлены, в основном, в CpG островках, и приблизительно 60 % этих элементов генома ассоциированы с промоторами генов, абсолютное большинство которых постоянно экспрессируются (гены «домашнего хозяйства»). Остальные 40% CpG-островков, удалены от сайтов старта транскрипции, являются внутригенными или межгенными и называются «орфанные CpG-островки», так как они не ассоциированы с соответствующими промоторами, но выполняют похожие функции (Jones P.A., Takai D., 2001; Jones P.A., 2012). В CpG-островках частота CpG-динуклеотидов в 7-10 раз выше (приблизительно 1:10-20), а уровень CG>TG почти в 7 раз ниже, чем в других регионах генома (Tomso D.J., Bell D.A., 2003). Следует подчеркнуть, что метилирование CpG-динуклеотидов промоторов генов сопряжено с подавлением инициации

транскрипции, но не элонгации. Внутригенные CpG–островки в большей степени подвержены метилированию, блокирующему использование альтернативных промоторов. Большая роль в регуляции экспресии некодирующих РНК (нкРНК, англ. ncRNA), энхансерной активности, РНК процессинга (альтернативные сайты сплайсинга и полиаденилирования) отводится метилированию внутригенных CpG (Kulis M. et al., 2013; Maunakea A.K. et al., 2010).

Как правило, метилирование CpG-островков промоторов часто рассматривается как один из механизмов генного сайленсинга, опосредованного протеинами, содержащими метил-CpG-связывающий домен (MBD) или ассоциированное с изменением эффективности связывания позитивных и негативных факторов транскрипции (TFs) с их сайтами узнавания. Однако, показано, что отсутствие метилирования не обязательно сопряжено с активным состоянием гена, а подавление экспрессии локуса может быть обеспечено другими эпигенетическими механизмами (Kulis M. et al., 2013).

1.4.2. Радиационно-индуцированные нарушения метилирования в эксперименте

1.4.2.1. Экспериментальные исследования in vitro

1.4.2.1.1. Изменение тотального уровня метилирования ДНК

Еще в 70-80–ые годы прошлого столетия были получены первые экспериментальные данные, свидетельствующие о реальности индукции радиацией изменений метилирования генома, зарегистрированных при оценке тотального уровня 5-метилцитозина. Так, показано, что воздействие на *Escherichia coli* 15T^{-} (555-7) УФ-света и рентгеновского излучения приводит к увеличению метилирования вновь синтезируемой ДНК (метод

основан на включении L-methyl-^{3}H methionine в новосинтезированную ДНК) на 25 и 15 %, соответственно; при этом, дополнительное включение метильных групп или деметилирование родительской ДНК отсутствует (Whitfield B. L., Billen Daniel, 1972). Воздействие γ-излучения ^{60}Co в дозах 0.5 – 10 Гр на клетки четырех линий (Chinese Hamster Ovary – CHO, Chinese hamster lung fibroblasts – V79A03, human HeLa - S-3, клетки мышиной нейробластомы – C-1300N1E-115) приводило к глобальному гипометилированию ДНК, выявляемому через 24, 48 и 72 часа после облучения (метод высокоэффективной жидкостной хроматографии – HPLC). Выявленная эпигенетическая модификация сопровождалась снижением активности ДНК-метилтрансфераз (Kalinich J. F. et al., 1989). Однако, изменения метилирования не выявлены в эксперименте других исследователей, а именно, при воздействии рентгеновского излучения (10 Гр) на мышиные эмбриональные клетки линии m5S/1M и на клетки китайского хомячка CHO/K1 (Tawa R. et al., 1998).

Проведено изучение изменений паттерна метилирования после воздействия Х–лучей (2 Гр) на лимфобластоидные клетки человека радиочувствительной TK6 (нормальный генотип по гену *p53)* и радиорезистентной WTK1 (мутантный генотип по гену p53, высокая эффективность рекомбинационной репарации) линий. Исходный уровень 5-метилцитозина был выше в WTK1 клетках по сравнению с TK6 клетками. В обоих клеточных линиях выявлено радиационно-индуцированное гипометилирование генома в первые 2-8 часов после облучения (иммуноферментный метод ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). В целом, в радиорезистентных клетках эффекты гипометилирования и снижения экспрессии генов метилтрансфераз *DNMT1, DNMT3A, DNMT13B,* индуцированные облучением, были более выражены. Транскрипция *TET1* гена, кодирующего фермент, конвертирующий 5-метилцитозин геномной ДНК в 5-гидроксиметилцитозин (стадия деметилирования ДНК), была существенно повышена через 24 часа после радиационного воздействия в

обоих клеточных линиях, однако наибольший эффект наблюдался для ТК6 клеток (Chaudhry M. A., Omaruddin R.A., 2012).

Еще ранее было показано, что p53 участвует в эпигенетической регуляции генома. В частности, выявлено, что p53, формируя комплекс с Sp1 и модификаторами хроматина в области промотора *DNMT1* гена, приводит к репрессии этого локуса (Lin R.K. et al., 2010). Выявлено, что делеция *p53* приводит к увеличению транскрипции мРНК *DNMT1* локуса (Peterson E.J. et al., 2003). Кроме того, показано, что p53 приводит к супрессии гена гистоновой метилтрансферазы *EZH2* (Tang X. et al., 2004). Считается, что p53 контролирует экспрессию *DNMT1* через прямое связывание с ДНК. Воздействие ионизирующей радиации ослабляет это связывание, приводя к увеличению уровня *DNMT1* (Peterson E.J. et al., 2003).

Показано, что облучение нормальных фибробластов человека в дозах 2 и 4 Гр (X – лучи) приводит к статистически незначимому снижению общего уровня метилированных цитозинов (метод ELISA) через 6 часов после воздействия. Существенные различия ($p = 0.04$) обнаруживались только через 24 часа после облучения клеток в дозе 2 Гр (Maierhofer A. et al., 2017).

1.4.2.1.2. Изменения метилирования повторяющихся элементов ДНК

Так как диспергированные и тандемные повторы составляют, по крайней мере, половину генома человека, их эпигенетический статус часто рассматривают как показатель тотального метилирования генома. Так, в уже упомянутой работе (Maierhofer A. et al., 2017) не выявлено (бисульфитное пиросеквенирование) значимых различий между уровнями метилирования *LINE-1*, а также центромерной α-сателлитной ДНК в облученных (X – лучи, 2 и 4 Гр) и необлученных нормальных фибробластах человека. Только уровень метилирования *ALU* повторов возрастал ($p = 0,01$) через 6 часов после радиационного воздействия в дозе 4 Гр. Кроме того, поклеточный

анализ эпигенома не выявил повышенной вариабельности метилирования повторов в облученных клетках по сравнению с интактными.

При фракционированном воздействия γ – излучения ^{137}Cs в суммарных дозах 10 и 20 Гр (1-2 недели, 5 фракций в неделю по 2 Гр) на клетки рака молочной железы (линия MCF7), не выявлено (масс-спектрометрия) статистически значимых различий в уровне метилирования повторов (*LINE-1, Alu, LTR*, сателлитная ДНК) в облученных и необлученных клетках, а восстановление способности клеток к делению (14 дней после облучения) не сопровождалось снижением общего уровня метилирования ДНК (Kuhmann C. et al., 2011).

1.4.2.1.3.Локус-специфические изменения метилирования ДНК

Выявлено (комбинация методов MIRA - methylated-CpG island recovery assay и microarray) незначительное количество изменений в метилировании генома нормальных клеток человека (фибробластов HFBs и клеток бронхиального эпителия NHBEC) через 7 ней после острого воздействия γ – излучения ^{137}Cs в дозах 0,1 – 4 Гр. Однако, наиболее выраженные радиационно-индуцированные модификации генов *CLEC18A, SDHALP1, ZCCHC16* в фибробластах, а также локусов *MBP, CLEC18C* и Y-хромосомного региона в клетках бронхиального эпителия не были подтверждены методами COBRA и бисульфитным секвенированием. Авторы отмечают, что рассматриваемые изменения, вероятно имеют место на уровне отдельных CpG-динуклеотидов анализируемого участка генома и/или затрагивать только малую фракцию клеточной популяции. Однозначно, в данной работе не показана индукция механизмов (например, инициация сигнальных каскадов), которые приводят к генерализованным изменениям ДНК-метилирования, представляющим собой ответ клетки на облучение (Lahtz C. et al., 2012).

Кроме того, широкогеномное изучение паттерна метилирования (ДНК-микрочип, Illumina 450 K) не выявило значимых изменений изучаемых

эпигенетических показателей в облученных фибробластах (X – лучи, 2 и 4 Гр) по сравнению с необлученными клетками, причем результат не зависел от области расположения CpG-сайта (промотор, 5'UTR, 3'UTR, экзоны, интроны, межгенные участки ДНК). Таким образом, показано, что по крайней мере в ранней фазе (в пределах первого клеточного цикла после облучения) ответ нормальных клеток на облучение не ассоциирован с изменением паттерна метилирования (Maierhofer A. et al., 2017).

В другом широкогеномном исследовании метилома (ДНК-микрочип, Illumina 450 K) клеток бронхиального эпителия человека показано, что воздействие на них такой радиации как тяжелые ионы ^{56}Fe (170 keV/μm, 0,1-1,0 Гр) и ^{28}Si (70 keV/μm, 0,3-1,0 Гр), рентгеновское излучение (2 keV/μm, 1,0 Гр) приводит к индукции изменений метилирования генома, регистрируемых не только через 2 дня после воздействия, но и спустя 50 суток. Отмечено, что сайты, характеризующиеся дозозависимым изменением эпигенетического статуса, преимущественно гиперметилируются при воздействии ^{56}Fe и ассоциированы с открытым хроматином (энхансеры, промоторы, берега CpG -островков), ^{28}Si в равной степени вызывает как гипер, так и гипометилирование сайтов в более репрессированном хроматине, а X-лучи в большей степени приводят к гипометилированию, затрагивая транскрибируемую область гена и межгенные промежутки. Причем эффекты, индуцируемые при воздействии ^{56}Fe, ^{28}Si и рентгеновских лучей, наблюдались соответственно в сайтах, изначально характеризующихся низким, промежуточным и высоким уровнем метилирования. Отмечено, что спектр CpG-динуклеотидов, модифицированных в результате воздействия ^{56}Fe совпадает с таковым в клетках аденокарциномы и плоскоклеточного рака легких человека (Kennedy E. M. et al., 2018).

Частота гидроксиметилирования цитозинов, которое имело место преимущественно в облученных (X-лучи, 0,5 и 2 Гр) фибробластах легких (IMR90) по сравнению с необлученными клетками (метод иммунопреципитации + последующее секвенирование), возрастала с

течением времени, прошедшего после облучения (от 1 до 120 ч), причем выраженность эффекта зависела от дозы облучения. Противоположная динамика отмечена для CpG-сайтов, расположенных в межгенных промежутках (Becker B. V. et al., 2019).

В широкогеномном исследовании (ДНК-микрочип, Illumina 450 K) на раковых клетках молочной железы (линия MDA-MB-231), подвергшихся воздействию X-лучей в дозах 4 и 6 Гр и проанализированных через 1–72 часа после облучения, выявлены сотни дифференциально-метилированных генов, которые ассоциированы с клеточным циклом, ДНК репарацией, апоптозом. Измененный эпигенетический статус на протяжении всего эксперимента при облучении в дозах 2 Гр и 6 Гр, выявлен для 15 и 23 локусов, соответственно. Выраженность рассматриваемых эпигенетических изменений зависела от дозы облучения и времени, прошедшем после воздействия радиации. Авторы отмечают, что в целом, динамика метилирования согласуется с биологическим ответом клеток на повреждающее действие радиации и имеет не беспорядочный характер (Antwih D.A. et al., 2013).

Другое широкогеномное исследоваение метилома (метил-ЦГ-иммунопреципитация+ДНК-микрочип методы) показало, что после фракционированного воздействия γ - излучения ^{137}Cs в суммарной дозе 10 и 20 Гр (1-2 недели, 5 фракций в неделю по 2 Гр) на клетки рака молочной железы (линия MCF7), 15 генов характеризовались измененным эпигенетическим статусом (сравнение с необлученными клетками этой линии). Однако, только для 4 генов (*ADAMTS9, FOXC1, TRAPPC9, AMIGO3*) дифференциальный статус метилирования CpG-островков верифицировался масс-спектрометрическим анализом. В целом, уровень рассматриваемой модификации первых трех генов возрастал на 15-18 % после облучения, а для *AMIGO3* локуса выявлено его снижение на 18 %. Спустя 14 дней после воздействия, то есть время, за которое происходило восстановление клоногенной активности клеток при дозе 10 Гр, но не 20 Гр, уровни метилирования генов *FOXC1* и *TRAPPC9* были значительно снижены по

сравнению с таковыми, имевшими место сразу после экспонирования, но существенно превышали рассматриваемые показатели в необлученных клетках. По мнению авторов, возобновление роста клеток после фракционированного облучения в дозе 10 Гр ассоциировано с локус-специфическими изменениями ДНК-метилирования, связанными с апоптотическим сигналингом (Kuhmann C. et al., 2011).

Показано, что воздействие радиации в дозе 5 Гр на клетки колоректальной карциномы линий HCT116 and SW620 приводит к ослаблению связывания DNMT1 с промоторами генов *Fas* и *4-1BBL*, снижая их метилирование. Аналогичный эффект наблюдался при обработке клеток 5 – Aza. Таким образом модулируется экспрессия этих генов, делая опухолевые клетки более чувствительноми к иммунной атаке, опосредованной Т-лимфоцитами (Cacan E. et al., 2015).

Таким образом, количество исследований индуцированных облучением изменений метилирования нормальных (неопухолевых) клеток, ограничено.

1.4.2.1.4. Радиационно-индуцированные изменения метилирования ДНК в потомках облученных клеток

Имеются работы, свидетельствующие об изменении профиля метилирования в отдаленных потомках облученных клеток. Так, воздействие Х-лучей (2 Гр) и ионов ^{56}Fe (1 Гр) на гибридные GM10115 клетки приводило к индукции гипометилирования *LINE-1* and *Alu* повторов (метод COBRA, Combined Bisulfite Restriction Analysis) в их отдаленных потомках (16-20 клеточная генерация). Что касается более низких доз облучения (Х-лучи 0.5 Гр и ^{56}Fe 0.1 Гр), только воздействие рентгеновского излучения в дозе 0.5 Гр приводило к значимому эффекту гиперметилирования. Существенное увеличение тотального уровня 5-метилцитозина (метод MSAP, methylation sensitive amplified polymorphisms) выявлено только для Х-лучей в дозе 0.5 Гр, а его уменьшение – для ^{56}Fe (1 Гр). При всех вариантах эксперимента не выявлено изменений в метилировании промоторов изученных генов (*NFkB,*

TSLC1, CDH1) (метод метилспецифической ПЦР, бисульфитное пиросеквенирование) (Aypar U et al., 2011). В целом, с этими данными согласуются результаты, полученные в других исследованиях с использованием других клеточных линий. Так, показана индукция гипометилирования *LINE-1* в отдаленных потомках клеток колоректальной карциномы человека RKO, подвергшихся воздействию X-лучей в дозе 1 Гр. Однако, такое же воздействие приводило к гиперметилированию этих элементов генома в первичных диплойдных фибробластах кожи человека AGO1522D. Рассматриваемых эпигенетических изменений *Alu* повторов не выявлено. Однако, воздействие протонов и ионов ^{56}Fe приводило к гипометилированию *LINE-1* и *Alu* в обеих клеточных линиях. Для последних показано тотальное гиперметилирование при действии протонов и ионов, и гипометилирование при действии X-лучей (Goetz W. et al., 2011). Таким образом, показана зависимость рассматриваемых эпигенетических эффектов от типа радиации, ЛПЭ излучения, типа клеток, тканей, времени, прошедшем после облучения.

Показаны дисрегуляции в метилировании ДНК в потомках 20-й клеточной генерации HPV-G кератиноцитов человека, подвергшихся воздействию γ-излучения в дозах 0,1-1,0 Гр. Аналогичные нарушения выявлены в потомках клеток, обработанных средой от облученных клеток (5 Гр) и проявляющих «эффект свидетеля». В основном преобладало гиперметилирование, в том числе в последовательностях ретротранспозона и сателлитной ДНК (*MLT1A* и *SAT2*). Эти эпигенетические нарушения сопровождались проявлениями нестабильности генома: повышенные частоты аберрации хромосом, апоптотическая и репродуктивная гибель клеток (Каир S. et al., 2006).

Как известно, метилирование ДНК является необходимым условием нормального роста и функционирования соматических клеток, а эмбриональные стволовые (ЭС) клетки являются удобной моделью для изучения роли этого эпигенетического процесса в механизмах таких

эффектов радиации как геномная нестабильность и эффект свидетеля. DNMT1(-/-) или DNMT3A(-/-)DNMT3B(-/-). ЭС клетки, нокаутированные по генам метилтрансфераз, не изменяли способность пролиферировать, сохранять постоянный набор хромосом, перицентромерные гетерохроматиновые домены (метилирование лизина 9 гистона H3) и свойства недифференцированных клеток (Tsumura A. et al., 2006).

Проведена серия экспериментов, доказывающая роль метилирования ДНК и метилтрансфераз DNMT1, DNMT3A (но не DNMT3B) в сохранении «памяти» в потомках облученных ЭС клеток о перенесенном воздействии γ-излучения (^{60}Co, 3 Гр, 73 сГр/мин) и в индукции нестабильности генома в клетках – соседях, культивированных в одной среде с этими клетками. Так, не выявлено отличий в частотах сестринских хроматидных обменов (СХО) в клетках, культивированных совместно с потомками облученных и необлученных «нокаутированных» DNMT1-/- (или DNM3A-/-) ЭС клеток. При этом отмечено, что в отличии от необлученных нормальных ЭС клеток (WT-клетки), клетки DNMT1-/- и DNM3A-/- индуцировали СХО в их WT-клетках соседях, что указывает на нестабильный фенотип клеток с «нокаут» генами метилтрансфераз и свидетельствует об определенном пороге, выше которого не происходит индукция нестабильности генома, индуцированной радиацией. Эксперименты с добавлением доксициклина, вызывающего временную супрессию гена *DNMT1,* подтверждают роль метилтрансфераз-опосредованных механизмов в сохранении и передачи сигнала о нестабильности генома клеткам, соседствующим в культуре с потомками облученных клеток (Rugo R.E. et al., 2011).

Экспериментальные исследования ЭС клеток, характеризующихся различным уровнем метилирования ДНК (результат наличия или отсутствия ДНК-метилтрансфераз), показали, что их радиочувствительность (радиационно-индуцированная отсроченная геномная нестабильность) не определяется только сниженным уровнем метилирования генома, а зависит от присутствия в клетке в активном состоянии определенных ДНК-

метилтрансфераз. Так, отсутствие DNMT1 (но не DNMT3A и DNMT3B) приводило к 10-кратному увеличению de novo HPRT мутаций, но этот уровень не изменялся при воздействии радиации; напротив, в ЭС клетках дикого типа радиационно-индуцированная нестабильность генома в отдаленных потомках облученных клеток имела место. Такая парадоксальность результатов, по-видимому, объясняется тем, что требуется специфический паттерн метилирования и/или присутствие метилтрансфераз, чтобы рассматриваемый феномен имел место. Предполагается, что изменения в активности DNMTs или паттерне метилирования ДНК потенциально может изменять секреторный профиль клетки (такие факторы как TNFα, NO and TGFβ), что влияет на стабильность генома (Armstrong C.A. et al., 2012). Эта проблема является очень важной, так как лежит в основе механизмов радиорезистентности особой популяции опухолевых клеток, имеющих характеристики, аналогичные таковым стволовых клеток (потенциал к самообновлению, способность формировать опухоли, генетический и эпигенетический код) (Calvanese V. et al., 2008; Wong, D. J. et al., 2008).

1.4.2.2. Экспериментаьные исследования in vivo

1.4.2.2.1. Изменения тотального уровня метилирования ДНК

Эксперименты, проведенные на клетках тимуса и ККМ аутбредных мышей Wister свидетельствуют о динамическом характере гипо-/гиперметилирования синтезируемой ДНК в течение первых 9 дней после облучения животных, и относятся к концу 70-хх годов прошлого века (Rakova I., 1979). Позже было выявлено снижение уровня 5-метилцитозина (метод HPLC - High performance liquid chromatography) в печени мышей C57BL/6NJcI через 8 часов после воздействия (X-лучи, 4-7 Гр), а не сразу после экспозиции. Эффект гипометилирования сохранялся в течение всего

эксперимента (8-72 часа) и не зависел от дозы. Аналогичные эффекты в клетках мозга и селезенки отсутствовали (Tawa R. et al., 1998).

Показано, что облучение мышей CBA/H (X-лучи, 3 Гр) приводило к снижению тотального уровня 5-метилцитозина (на 8 %, HPLC – метод) в клетках ККМ животных, но не селезенки, через 4-14 дней после воздействия. Причем, рассматриваемый эффект не наблюдался у мышей линии C57BL/6, являющихся резистентными к радиационно-индуцированной индукции острой миелойдной лейкемии (ОМЛ) и хромосомной нестабильности. При этом, степень гибели клеток в гипометилированном костном мозге (больше 80 %) превышает таковую в селезенке (50 %) и не различается у животных с рассматриваемыми генотипами. Полученные данные свидетельствуют о связи гипометилирования с повышенной радиочувствительностью генома клеток. Учитывая то, что у животных обеих линий общая радиочувствительность и кинетика восстановления ККМ одинаковы, различия в индукции эпигенетических модификаций в зависимости от генотипа особи, не могут объясняться исключительно особенностями пролиферативной активности клеток (Giotopoulos G. et al., 2006).

У потомков облученных мышей-самцов C57B1/6 и обоих облученных родителей (острое воздействие, X-лучи, 2.5 Гр), наряду с повышенной частотой разрывов ДНК в тимусе, наблюдались существенные отклонения в эпигенетической регуляции: снижение глобального метилирования, сопровождающееся пониженной экспрессией ДНК-метилтрансфераз DNMT1 (восстановление метилирования в дочерней нити ДНК после репликации), DNMT3A и DNMT3B (метилирование de novo), а также метил-CpG-связывающего белка MeCP2 – фактора, регулирующего экспрессию генов и ремоделирование хроматина (Koturbash I. et al., 2006). Аналогичные изменения выявлены в тимусе мышей, подвергшихся фракционированному воздействию X-лучей в дозе 0,5 Гр (Pogribny et al, 2005).

В клетках молочной железы крыс после острого воздействия X-лучей в дозе 5 Гр, также наблюдались существенные изменения эпигенетического

статуса (глобальное гипометилирование, сопровождающееся снижением экспрессии ДНК-мелилтрансфераз DNMT1, DNMT3A, DNMT3B и белка MeCP2) наряду с повышением уровня белков внутриклеточных сигнальных систем (фосфорилированные киназы p-ERK1/2 и p-AKT), белков репарации (RAD51, KU70, POLB-фермент) и контроля клеточного цикла (циклины D1, D3 и PCNA). Через 6 часов после облучения отмечался повышенный уровень апоптоза, что сопровождалось незначительным повышением клеточной пролиферации (Loree J. et al., 2006). Авторы рассматривают полученные данные в контексте связи этих изменений с механизмами канцерогенеза. Следует отметить, что аналогичные эпигенетические нарушения выявлены и в раковых клетках молочной железы человека (Tryndyak V.P. et al, 2006).

Острое и фракционированное воздействие радиации (50 сГр за 10 дней, то есть 5 сГр за день, 0,2 сГр/сек) на мышей линии C57/B16 приводило к значительному снижению метилирования ДНК в клетках селезенки и печени у самок. Напротив, у самцов выявлено глобальное гиперметилирование ДНК клеток селезенки и отсутствие каких-либо эпигенетических изменений в клетках печени. Выявленные глобальное гипо- и гиперметилирование были сопряжены, соответственно, со сниженной и повышенной экспрессией ДНК-метилтрансфераз DNMT3A и DNMT3B. Изменение активности DNMT1 наблюдалось только у самок в клетках печени после хронического облучения. Выявлена роль половых гормонов, в частности, эстрогенов в индукции изменений в метилировании ДНК (Raiche et al., 2004). Тканеспецифичный и зависящий от пола облученной особи характер изменений метилирования ДНК отмечен и в других публикациях этих авторов (Kovalchuk O. et al., 2004; Pogribny I. et al., 2004). При этом показано, что хроническое облучение в высоких дозах (5 Гр) не приводит к изменению паттерна метилирования ДНК (Pogribny I. et al., 2004).

Выявлено существенное снижение уровня глобального метилирования (метод HPLC) в клетках крови мышей BALB/c через 2 часа после их фракционированного облучения (0,5 Гр, 10 дней, X-лучи) и отсутствие

эффекта спустя 1 месяц после радиационного воздействия (Wang J. et al., 2014).

Показано, что через 22 недели после перенесенного мышами C57BL/6 воздействия ионов ^{56}Fe в дозе 40 сГр уровень тотального метилирования ДНК (метод ELISA) в клетках легкого существенно превышал аналогичный показатель в контроле. При этом, значимый эффект отсутствовал при облучении в дозе 10 и 20 сГр (Nzabarushimana E. et al., 2014).

В отдаленные периоды (1 неделя, 1 месяц) после воздействия на мышей CBA/CaJ ионов ^{48}Ti (0,1-0,5 Гр, 0,01 Гр/мин, 1 GeV/n) выявлено зависимое от дозы увеличение общего уровня метилированных цитозинов (ELISA метод) в клетках печени животных. Через 6 месяцев после радиационного воздействия, значимое повышение рассматриваемого эпигенетического показателя наблюдалось только при облучении в дозе 0,5 Гр. Напротив, уровень 5-гидроксиметилцитозина был снижен во всех вариантах эксперимента и зависел от дозы облучения. Выявленные изменения паттерна метилирования сопровождались выраженным хроническим оксидативным стрессом (повышение уровня малонового диальдегида) и восполительным ответом (возрастание уровней активированного NF-kB, TNF-α, IL-1β, Il-6) (Jangiam W. et al., 2015).

Выявлен разнонаправленный характер изменений общего уровня метилирования ДНК (метод ELISA) в гонадах самок и самцов крыс Sprague-dawley, получавших от рождения до 9-ти месячного возраста питьевую воду, содержащую природный уран UO_2 (40 мг/л): гипометилирование ДНК клеток яичников (на 18 % меньше, чем в контроле) и гиперметилирование ДНК (на 17 % больше) клеток семенников. Аналогичные изменения, но в большей степени, наблюдались в этих же тканях в F1 и F2 поколениях животных, что указывает на трансгенерационный характер эпигенетических нарушений. Выявлены также изменения в экспрессии ДНК-метилтрансфераз (DNMT1, DNMT3A, DNMT3B), что не всегда коррелировало с уровнем метилирования

ДНК и указывает, по мнению авторов, на посттранскрипционные эффекты регуляции активности энзимов (Elmhiri G. et al., 2018).

В костномозговых гемопоэтических клетках (стволовых и клетках-предшественниках, HPSCs) мышей C57BL/6J выявлен разнонаправленный характер изменений паттерна метилирования в ближайшие (4 недели) и отдаленные (22 недели) сроки после воздействия на животных ^{56}Fe (0,1, 0,2 и 0,4 Гр). Так, эпигенетический статус этих клеток после облучения характеризовался отчетливой тенденцией к повышенному тотальному уровню 5-метилцитозина (иммунофлюоресцентный метод). По прошествии 22 недель наблюдалось дозозависимое уменьшение тотального уровня метилирования генома, значимое при дозе 0,4 Гр (Miousse I.R. et al., 2014).

1.4.2.2.2. Изменение метилирования повторяющихся элементов ДНК

Не вывлено изменений уровней метилирования повторов (методы высокочувствительного плавления и пиросеквенирования) *LINE-1, SINE B1* и *IAP* в клетках периферической крови мышей C57BL/6 спустя 85-420 дней после воздействия на них X-лучей в дозе 10 мГр, по сравнению с таковыми показателями, зарегистрированными за 3 дня до облучения животных. Аналогичные результаты получены для клеток селезенки и печени спустя 420 дней после воздействия радиации, хотя, как известно, клетки этих органов обладают высокой радиочувствительностью и выраженными возрастными изменениями, соответственно (Newman M. R. et al., 2014).

В то же время, облучение мышей радиочувствительных (BALB/c и CBA) и радиорезистентной (C57BL/6) линий в дозе 1 Гр (X –лучи) приводило к изменениям метилирования, зависящих от генотипа организма, пола, исследованной ткани, времени после облучения и типа изученного повтора (*LINE-1, SINE B1* и *IAP*). Наиболее выраженный ответ наблюдался у самцов BALB/c и CBA. Показано, что животные всех линий проявляли ранний ответ на облучение (через 1 день после воздействия), характеризующийся

возрастанием уровня метилирования *LINE-1* элемента. Причем, у мышей BALB/c эти эпигенетические изменения сохранялись и через 6 дней после воздействия, а у радиорезистентных животных C57BL/6 наблюдалась потеря метилирования через 14 дней после экспозиции (Newman M. R. et al., 2014).

Не выявлены изменения метилирования *LINE 1* повторов (*TF* и *A1* мономеры, бисульфитное пиросеквенирование) в легких и печени мышей C3H/HeN через 1-120 сут. после воздействия на них ^{56}Fe в дозах 10, 30 и 100 сГр, по сравнению с таковыми показателями у необлученных животных (Lima F. et al., 2014). В то же время в уже упомянутой работе (Nzabarushimana E. et al., 2014) уровень метилирования *LINE1* повтора (метилчувствительная McrBC-qPCR) в клетках легкого у мышей через 22 недели после перенесенного животными воздействия ионов ^{56}Fe в дозе 40 сГр, существенно превышал аналогичный показатель в контроле. При этом, значимый эффект отсутствовал при облучении в дозе 10 и 20 сГр. Заслуживает внимания факт, что при этом наблюдалась существенная потеря экспрессии *LINE* 1 и *SINE1* транспозонов, а также других повторов (Charlie, минорные сателлиты), проявивших тенденцию к гиперметилированию.

Через 2 месяца после воздействия γ-радиации в дозах 0,1 и 1 Гр на мышей C57BL/6J и CBA/J наиболее выраженный эффект индукции гипометилирования 5'-нетранслируемых регионов (5'-UTRs) *LINE-1* элементов наблюдался в гемопоэтических стволовых клетках (HSCs) у радиочувствительных CBA/J животных, склонных к канцерогенезу системы кроветворения. Эффект был более выражен при облучении в большей дозе. В предшественниках зрелых клеток крови (HPCs) наблюдались разнонаправленные эффекты при воздействии излучения в дозе 0,1 и 1 Гр: гиперметилирование и гипометилирование, соответственно. В мононуклеарных клетках (MNCs) у этих же мышей выявлено радиационно-индуцированное гиперметилирование с наиболее выраженным эффектом при воздействии в дозе 1 Гр. Таким образом, направленность и выраженность радиационно-индуцированных изменений метилирования 5'-UTRs *LINE-1*

элементов зависела от генотипа особи, вида анализируемых клеток, дозы облучения (Miosse I.R., 2017).

Выявлена индукция гипометилирования *LINE-1* ORF1 (кодирует шаперон ORF1p) в клетках сердца мышей C57BL/6J через неделю после воздействия на животных излучений с высокой ЛПЭ: протонов (0,1 Гр, 150 MeV, 0,53 ± 0,08 Гр/мин), тяжелых ионов ^{56}Fe (0,5 Gy, 600 MeV, 0,38 ± 0,06 Гр/мин). Радиационно-индуцированные изменения метилирования других исследованных повторов (*ERV1, ERV2, SINE B1, SINE B1*, транспозоны *Charlie* and *Mariner*, центромер-ассоциированная сателлитная ДНК) не наблюдались. В то же время, на 90 день после облучения выявлено гиперметилирование нескольких изученных повторяющихся последовательностей ДНК, индуцированное в результате воздействия этих плотноионизироующих излучений: *LINE-1* ORF1, *ERV2*, а для *SINE B1* и основных сателлитов этот эффект наблюдался только при воздействии тяжелых ионов ^{56}Fe, но не протонов (Koturbash I. et al., 2016).

В костномозговых гемопоэтических клетках (стволовых и клетках-предшественниках, HPSCs) мышей C57BL/6J выявлен разнонаправленный характер изменений паттерна метилирования *LINE1* и *SINE B1* повторов (метилчувствительная Real-time PCR) в ближайшие (4 недели) и отдаленные (22 недели) сроки после воздействия на животных ^{56}Fe (0,1, 0,2 и 0,4 Гр): статистически значимая зависимая от дозы индукция гиперметилирования и тенденция к их гипометилированию, соответственно. В то же время, в более дифференцированных мононуклеарных клетках (MNCs) через 4 недели после облучения наблюдалось зависимое от дозы гипометилирование *LINE1* и *SINE B1* (при облучении в дозе 0,4 Гр изменения были статистически значимые) (Miousse I.R. et al., 2014). Полученные результаты демонстрируют разный ответ клеток гемопоэтической системы на облучение, что связано со степенью их дифференцировки, сопряженной с разным эпигенетическим статусом. Показано, что менее дифференцированные HPSCs клетки имеют более высокие уровни тотального метилирования генома (на 19 % выше),

метилирования *LINE1* и *SINE B1* повторов (в 5-10 раз выше) и экспрессии ДНК-метилтрансфераз (в 2-4,6 раза выше), по сравнению с дифференцированными MNCs клетками. Эти результаты согласуются с выводами, сделанными другими исследователями (Hogart A. et al., 2012), в том числе, о том, что ответ клеток организма на метил-дефицитную диету будет определяться паттерном метилирования (Pogribny I.P. et al., 2009).

Выявлена (бисульфитное пиросеквенирование) существенная индукция гипометилирования *LINE-1* ORF1 в ткани легкого после воздействия протонов и последовательного действия протонов (1 день) + ^{56}Fe (2 день). В этой же работе показано, что воздействие протонов (0,1 Гр, 150MeV/n), ^{56}Fe (0,5 Гр, 600MeV/n) или протонов (1 день) + ^{56}Fe (2 день) приводило преимущественно к гиперметилированию 5'-UTRs области *LINE-1*, имеющих больший эволюционный возраст, а паттерн метилирования «более молодых» повторов оставался неизменным спустя 4 недели после облучения (Prior S., 2016). Следует отметить, что показана обратная связь между уровенем метилирования и эволюционным возрастом *LINE-1*. При этом, в эксперименте in vitro с RAW264 мышиными макрофагами, воздействие деметилирующего агента 5-аза-2′-дезоксицитидина приводило к значимому снижению метилирования «более молодых» повторов, способных к реактивации и ретранспозиции. Кроме того, эксперименты in vivo с мышами, находящимися на метионин-дефицитной диете, свидетельствуют о существенной потере метилирования в пределах 5'-UTRs области только двух A-типов *LINE-1*: L1MdA_I (0,21 Myr) и L1MdA_VI (4,7 Myr) (Prior S., 2016).

1.4.2.2.3. Локус-специфические изменения метилирования ДНК

Показана реальность индукции гиперметилирования генов при воздействии на животных как ионизирующих излучений с высокой ЛПЭ (^{56}Fe, 10-100 сГр), так и низкой ЛПЭ (X-лучи, 50 сГр). Так, показано радиационно-индуцированное гиперметилирование 811 регионов генома

(иммунопреципитация+ДНК-микрочип: MeDIP-on-chip), определяющих все основные биологические процессы, в клетках крови мышей BALB/c через 2 часа после перенесенного хронического радиационного воздействия (0,5 Гр, 10 дней, Х-лучи). Для двух генов репарации и клеточного цикла (*Rad23b* и *Ddit3*) проведено изучение (бисульфитное секвенирование) и выявлено сохранение аберрантного эпигенетического маркирования через 1 месяц после облучения, что сопряжено со сниженной экспрессией этих генов (Wang J. et al., 2014).

Выявлены изменения метилирования промоторов генов (бисульфитное пиросеквенирование) в легких, но не в печени, у мышей C3H/HeN, подвергшихся воздействию ^{56}Fe в дозах 10, 30 и 100 сГр. Показана зависимость наблюдаемых эффектов от дозы облучения, причем, в целом, воздействие в более низких дозах ассоциировалось с наибольшими эффектами. Так, в ближайшие сроки после облучения (1 день), выраженное гиперметилирование наблюдалось для всех изученных генов (*DAPK1, EVL, 14.3.3, p16, MGMT, IGFBP3*) только при воздействии в дозе 10 сГр. Выраженность и направленность отдаленных эпигенетических эффектов определялись временем, прошедшим после облучения, дозой радиации, анализируемым локусом и имели циклический характер. Так, на 7 день после радиационного воздействия, наблюдалось существенное гипометилирование *DAPK1* и *14.3.3* при облучении только в дозе 10 сГр, а для других генов аналогичный эффект наблюдался при всех дозах. Через 30 и 120 дней после облучения для 5 изученных генов (*DAPK1, EVL, 14.3.3, p16, MGMT)* отмечена разнонаправленность в изменении метилирования при облучении в дозах 10 и 30 сГр: гиперметилирование через 30 дней после воздействия и гипометилирование через 4 месяца после облучения. Эти эффекты не наблюдались при воздействии в дозе 100 сГр (Lima F. et al., 2014).

Результаты изучения локус-специфических изменений метилирования (Mouse Lung Cancer DNA Methylation PCR Array) в клетках легкого мышей через 22 недели после перенесенного животными воздействия ионов ^{56}Fe в

дозе 10-40 сГр свидетельствуют о наличии значимых эффектов облучения преимущественно при самой низкой дозе – 10 сГр: 5 (*Cadm1, Cdh13, Cdkn1c, Mthfr and Sfrp1*) из 22 исследованных генов, потенциально ассоциированных с развитием рака легкого, были гиперметилированы, при том, что воздействие в более высоких дозах приводило к аберрантному метилированию только 1 гена - *Cdkn1c* (Nzabarushimana E. et al., 2014).

Выявлены устойчивые изменения уровней (иммунопреципитация+секвенирование:MeDIP-Seq) метилирования и гидроксиметилирования CpG–сайтов в клетках левого желудочка сердца, а также гиппокампа через 5 месяцев после воздействия на мышей протонов (1 Гр, 150 MeV). Выявленный спектр CpG-динуклеотидов, характеризующихся эпигенетическим ремоделированием, индуцированным в результате облучения, имел тканеспецифичный характер и затрагивал гены, ответственные за развитие и дифференцировку клеток сердца и сосудов (*SRF, Nkx2-5, Miocardin* и др.), а также рост аксонов, дифференцировку нейронов, нейрогенез, синаптическую передачу, G-протеиновый сигналинг (Impey S. et al., 2016). В другом исследовании этих же авторов выявлены изменения уровней метилирования и гидроксиметилирования CpG-сайтов генома в клетках гиппокампа мышей, подвергшихся воздействию ^{56}Fe (600 MeV) в дозах 0,1 и 0,4 Гр (но не 0,2 Гр), регистрируемые через 2 недели после облучения, что коррелировало с когнитивными изменениями. При этом, сохранность эпигенетического ремоделирования генома по прошествии 20 недель после воздействия отмечалась только в отношении уровней 5-гидроксиметилцитозина и коррелировала с экспрессией генов (Impey S. et al., 2016, 2017).

Показано выраженное аномальное метилирование промотора гена опухолевого супрессора *p16/INKa* при хроническом низкодозовом воздействии (50 сГр за 10 дней, 0,2 сГр/сек, Х-лучи). Отмечены тканеспецифичные и зависящие от пола различия в метилировании. У самцов облученных мышей метилирование промотора гена *p16/INKa* в клетках

печени было более выражено, чем у самок. Напротив, для клеток мышечной ткани не выявлено различий по этому показателю у особей разного пола. Не выявлено существенных изменений после радиационного воздействия в метилировании промотора гена *MGMT*. Авторы также заключают, что хроническое воздействие радиации в малых дозах является более сильным индуктором эпигенетических эффектов, а значит и дестабилизации генома, чем острое облучение в той же дозе (Kovalchuk O. et al., 2004).

У мышей BALB/c уровень метилирование 8 из 23 проанализированных сайтов CpG-островка гена *p16* (бисульфитное секвенирование) был существенно выше в радиационно-индуцированных тимических лимфомах, индуцированных облучением в дозе 1,75 Гр (4-MV линейный ускоритель), чем в необлученных образцах тимуса, что сопровождалось транскрипционной инактивацией этого гена (Song W.G. et al., 2014).

Показано, что внутриутробное облучение (MicroCT scanner) мышей-самцов A^{vy} агути (но не самок) приводило к гиперметилированию *IAP* промотора (часть инсерции *IAP* элемента в псевдоэкзоне PS1A, расположенном перед промотором дикого типа) в клетках хвоста и печени при воздействии в дозах 0,7 – 3 сГр, но не 0,4 сГр и 7,6 сГр, что коррелировало с окраской шерсти – псевдоагути, характерной для животных, имеющих пониженный риск развития ожирения, рака, инсулиновой резистентности. Таким образом, в данном случае, радиационное воздействие приводило к положительному адаптивному эффекту, индукция которого зависела от дозы и пола особи (Bernal A.G. et al., 2013).

Гиперметилирование промоторов генов *p16/INK4A* и *RASSF1*, повышенная активность ДНК-метилтрансфераз и модификации гистонов наблюдались также в клетках кожи мышей, подвергшихся воздействию УФ-В, а также в опухолях кожи, индуцированных этим излучением (Nandakumar V. et al., 2011).

Выявлены нарушения импринтинга гена *H19* в сперме мышей, подвергшихся хроническому воздействию рентгеновского излучения (1,3 Гр)

на постмейотической стадии сперматогенеза, и аналогичные изменения паттерна метилирования контрольного региона импринтинга в печени потомков (Zhu B. et al., 2006).

В целом, отмечены тканеспецифичные, зависящие от пола, анализируемого локуса, дозы и мощности дозы, типа воздействующей радиации, времени, прошедшем после облучения, различия в выраженности индуцированного аберрантного эпигенетического маркирования.

1.4.2.2.4. Радиационно-индуцированные изменения метилирования ДНК как проявления «эффекта свидетеля»

Имеются данные, свидетельствующие о сопряженности эпигенетических нарушений с индукцией эффекта свидетеля на уровне организма in vivo. Так показано, что после локального воздействия рентгеновского излучения на область черепа крыс в дозе 20 Гр (терапевтическая доза при лечении опухолей головного мозга) индуцируется «эффект свидетеля» в необлученной селезенке (свинцовая защита) этих же животных, сопряженный с существенной дисрегуляцией эпигенетических механизмов, о чем свидетельствуют изменения ряда показателей, выявляемые даже через 7 месяцев после облучения: глобальное ДНК гипометилирование, изменения в метилировании *LINE-1* повторов и области ретротранспозонов, снижение экспрессии ДНК-метилтрансфераз и метил-CpG-связывающего протеина MeCP2. Кроме того, выявлены значительные изменения в экспрессии miR-194, мишенью которых являются как ДНК-метилтрансфераза DNMT3A, так и MeCP2. Этими же авторами показана значимость пола особи в индукции «байстендер эффектов» (повреждения ДНК, изменения клеточной пролиферации и апоптоза, глобального метилирования ДНК) в необлученной селезенке у мышей, подвергшихся радиационному воздействию на область головы (Koturbash I. et al, 2007, 2008).

Проведено моделирование «эффекта свидетеля» на лабораторных животных (мыши C57BL/6), которые подверглись острому (0, 5 Гр) или фракционированному (0,1 Гр/день, 5 дней) воздействию рентгеновских лучей, при этом рассматривались 2 варианта эксперимента: облучение всего тела и локальное облучение черепа. Полученные результаты свидетельствуют о том, что как фракционированное, так и острое облучение вызывают эффект свидетеля в необлученных селезенке и коже, однако его эпигенетические проявления (гипометилирование ДНК, снижение экспрессии метил-CpG-связывающего протеина MeCP2, изменение спектра микроРНК) в коже и селезенке были различными. Так, только в селезенке они наблюдались даже через 14 дней после облучения (Ilnytskyy Y. et al, 2009).

Показано, что хотя через 4 дня после облучения у мышей только одной половины тела (Х-лучи, 1 Гр, 2 сГр/сек), в клетках облученной и необлученной кожи (свинцовая защита) уровень разрывов ДНК достиг контрольного уровня, в «байстэндер» клетках сохраняются изменения, характеризующиеся дисрегуляторными процессами в метилировании ДНК, а именно, ДНК-метилтрансфераза DNMT1 сверхэкспрессирована, а уровни метил-CpG-связывающих протеинов MeCP2 и MBD2 значительно повышены, что не отмечено для облученных клеток (Koturbash I. et al., 2006).

В целом, эпигенетические изменения, характерные для эффекта свидетеля, зависят от анализируемого органа, мощности дозы, области тела, подвергшейся облучению. Эта проблема является крайне важной и должна учитываться при разработке стратегии и тактики радиотерапии злокачественных опухолей и последующих лечебно-диагностических мероприятий с целью минимизации риска развития побочных эффектов в здоровых тканях организма.

1.4.3. Радиационно-индуцированные изменения метилирования ДНК у человека

1.4.3.1. Изменение тотального уровня метилирования ДНК

Имеется лишь одна работа, результаты которой свидетельствуют о тотальном гипометилировании генома у рабочих атомной индустрии (анализ с применением антител к 5-метилцитозину), подвергшихся комбинированному воздействию излучений с высокой и низкой ЛПЭ. При этом, выявлена обратная корреляционная связь между уровнем метилированных цитозинов и частотой аберраций хромосомного типа в группе облученных лиц, а также дозой облучения, накопленной ими за последние 1,5 года, предшествовавших взятию образцов крови. Кроме того, отмечено, что у рабочих с суммарной накопленной дозой больше 103,14 мЗв уровень метилирования генома был существенно выше такового при более низких уровнях облучения (менее 103,14 мЗв), что указывает на дифференциальный характер ответа эпигенома на воздействие в низких и высоких дозах. По мнению авторов, возрастание рассматриваемого эпигенетического показателя при увеличении дозы облучения имеет защитный механизм (Lee Y. et al., 2015). В последующей работе этого же коллектива авторов также показано снижение общего уровня 5-метилцитозина (люминометрический анализ метилирования, LUMA) в лейкоцитах крови работников промышленной радиографии, подвергшихся воздействию γ- и рентгеновского излучений (Cho Y.H. et al., 2019).

1.4.3.2. Изменения метилирования повторяющихся элементов ДНК

В уже упомянутой работе (Lee Y. et al., 2015) показано, что средний уровень метилирования *LINE-1* элемента выше в группе облученных работников, чем у необлученных индивидов, но уменьшался с ростом тотальной дозы облучения. Показана тенденция к прямой ассоциативной связи между уровнями метилирования *LINE 1* и частотой аберраций

хроматидного типа у рабочих атомной промышленности. По мнению авторов, гетерохроматизация хроматина приводит к замедленной кинетики репарации разрывов ДНК. Напротив, выявлено *LINE-1* гипометилирование (бисульфитное пиросеквенирование) у специалистов по радиографии, подвергшихся воздействию редкоионизирующей радиации на производстве (X – лучи, γ – лучи). При этом, отмечена обратная корреляция между уровнем метилирования *LINE-1* и частотой анеуплоидий по 1 и 4 хромосомам, а также между рассматриваемым эпигенетическим показателем и накопленной дозой облучения, рассчитанной при исключении значений дозовых нагрузок за последние 3 года, предшествующие исследованию. По мнению авторов, это свидетельствует о сопряженности снижения метилирования диспергированных повторов с отсроченной индукцией нестабильности генома (Cho, Y. H. et al., 2018).

1.4.3.3. Локус-специфические изменения метилирования ДНК

Имеются единичные работы, свидетельствующие о гиперметилировании промоторов генов, выявленного в нормальных и опухолевых клетках человека, подвергшегося внутреннему облучению за счет поступления в организм радионуклидов – источников α–излучения.

Так, результаты анализа ДНК, выделенной из образцов слюны работников урановых рудников, подвергшихся пролонгированному воздействию α-излучения радона, свидетельствуют о дозозависимом гиперметилировании генов *p16/INK4A* и *MGMT*. Авторы отмечают, что *MGMT* локус имеет большую склонность к рассматриваемой эпигенетической модификации в результате перенесенного пролонгированного воздействия α-излучения (Su S.B. et al., 2006).

В другой работе показано, что частота гиперметилирования гена *p16/INK4A* в аденокарциноме легкого у облученных работников ПО «Маяк» существенно превышает таковой показатель в аналогичных опухолях необлученных лиц. Выявлена зависимость метилирования локуса *p16/INK4A*

в клетках этой опухоли от суммарной накопленной дозы α-излучения ^{239}Pu. Причем не выявлено различий в гиперметилировании *MGMT* и *DAP-K* в опухолях от облученных и необлученных лиц. Гиперметилирование гена *RASSF1A* преимущественно наблюдалось в опухолях, развившихся у лиц контрольной группы (Belinsky S.A. et al., 2004). Последующее исследование образцов аденокарциномы легкого облученных работников выявило также существенно повышенную частоту гиперметилирования гена *GATA5* по сравнению с таковым показателем в опухолях необлученных лиц. Причем анализ метилирования промоторов 5 генов (*p16/INK4A, GATA5, PAX5beta, MGMT* и *DAP-K)* показал, что гиперметилирование по крайней мере одного гена наблюдалось в 93 % и 66 % аденокарцином от облученных работников и необлученных индивидов, соответственно. Частота аденокарцином, индуцированных у лиц, подвергшихся радиационному воздействию, с метилированием 3 и более генов двукратно превышала этот показатель в опухолях от необлученных индивидов (Lyon C.M. et al., 2007).

Анализ сопряженности изменений паттерна метилирования генов (ДНК-микрочип, Illumina 450 K) с проживанием в помещениях с повышенной удельной активностью радона (>200 Бк/м^3) показал как гипометилирование, так и гиперметилирование ряда CpG-сайтов, ассоциированное с воздействием излучения, как у беременных матерей, так и у их детей, обследованных с момента рождения до 15 лет. Те или иные выявленные эпигенетические изменения в локусах, потенциально ассоциированные с аномалиями в амниотической жидкости и врожденными уродствами (*PMM2*), карциномой легких (*HCG14*), глиобластомой и болезнью Альцгеймера (*NDRG2*), нефротическим синдромом (*SGPL1*) наблюдались только в определенные периоды онтогенеза (de Vocht F. et al., 2019).

1.4.4. Механизмы и последствия радиационно-индуцированных нарушений метилирования

Хотя накопилось достаточно много феноменологических данных, механизмы радиационно-индуцированных изменений метилирования остаются не выясненными. Что касается механизмов снижения тотального уровня метилирования генома, некоторые исследователи это связывают с индукцией повреждений ДНК и последующей активацией механизмов их репарации. ДНК-полимеразы, вовлеченные в репарацию и рекомбинацию, используют для репарационного синтеза цитозин, а не метилцитозин (Pogribny I. et al, 2004, 2005). Во-вторых, есть мнение, что радиационно-индуцированные повреждения ДНК интерферируют со способностью ДНК-метилтрансфераз метилировать ДНК. По-видимому, этот механизм имеет место в первое время после облучения, когда проходят репарационные процессы. Кроме того, речь должна идти об активно пролиферирующих клетках (Miousse, I. R. et al., 2017). В-третьих, снижение метилирования ДНК после облучения может быть результатом уменьшения экспрессии de novo ДНК-метилтрансфераз – ранний ответ клетки на повреждение. Действительно, в экспериментальных работах показана сопряженность гипометилирования ДНК и супрессии ДНК-метилтрансфераз DNMT3A и DNMT3B в клетках тимуса, селезенки, печени животных, подвергшихся радиационному воздействию (Pogribny I. et al., 2005; Raiche et al, 2004). Авторы также не исключают возможность повышения экспрессии некоторых энзимов с ДНК-деметилирующей активностью. Кроме того, в результате облучения возможно повышение экспрессии ряда микроРНК (например, miR-29, miR-141, miR-152), мишенями которых являются мРНК метилтрансфераз (Koturbash I. et al., 2011; Wang Y. et al., 2011). Не исключено индуцированное радиацией ингибирование синтеза метионина и/или его трансформации в S-аденозилметионин – донора метильных групп [97]. Возможна и радиационно-индуцированная стимуляция клеточной

пролиферации при отсутствии достаточного функционирования DNMT1, обеспечивающего воспроизведение родительского характера метилирования в дочерних цепях ДНК (Koturbash et al., 2008).

Относительно механизмов индукции гиперметилирования под действием радиации, нельзя исключать, что активные формы кислорода приводят к сверхрегуляции активности ДНК-метилтрансфераз. Кроме того, индуцированные облучением разрывы ДНК могут приводить к рекрутированию ДНК-метилтрансфераз к специфическим сайтам репарации ДНК, индуцируя метилирование CpG-динуклеотидов, находящихся вблизи повреждений ДНК (Cuozzo C. et al., 2007; Morano A. et al., 2014).

Так, показано, что $O^{(6)}$meG – одно из повреждений, индуцированное воздействием на ДНК некоторых продуктов метаболизма и метилирующих мутагенов окружающей среды, приводит к изменению метилирования атома углерода (в пятом положении) в цитидиновом остатке CpG пары путем изменения стабильности DNMT3A-CD (комплекс: поврежденный ДНК-дуплекс и DNMT3A-CD-каталитического домена метилтрансферазы DNMT3A) (Maltseva D.V., Gromova E.S., 2010). С использованием лазерной системы микрооблучения (с целью индукции повреждений генома в определенной области ядра) и флюоресцентных антител к ДНК-метилтрансферазам DNMT1, DNMT3A, DNMT3B1 и ядерному антигену пролиферирующих клеток (PCNA) показана роль только DNMT1 в восстановлении эпигенетической информации, сопряженного с процессом репарации ДНК (Mortusewicz O. et al, 2005).

Интересен факт, что ДНК-метилтрансферазы DNMT1 и DNMT3A, экспрессирующиеся в постмитотических нейронах, играют важную роль в функционировании центральной нервной системы, а именно в процессах запоминания и обучения. Так мыши, накаутированные по генам этих двух ферментов, показали нарушение пластичности синаптических структур в области гиппокампа, уменьшение размера нейронов, дисрегуляцию экспрессии генов МНС класса I и гена *Stat1*, резкое снижение метилирования

ДНК, а в конечном счете нарушение процессов запоминания и обучения (Feng J. et al, 2010). Хотя, разумеется, функционирование нервных клеток имеет свои особенности, по-видимому, существует единый механизм, посредством которого клетки сохраняют и передают информацию в условиях воздействия генотоксикантов и других стрессовых факторов. Роль ДНК-метилтрансфераз в радиочувствительности и выраженности немишенных эффектов, изученных на модели ЭС клеток, уже обсуждалась ранее (Rugo R.E. et al, 2011).

Судя по всему, механизм радиационно-индуцированного изменения метилирования сложный и может вовлекать многие пути. Так, в уже упомянутой работе показано, что на 7 день после воздействия на мышей C57BL/6J протонов или ионов железа ^{56}Fe, в клетках сердца животных экспрессия *DNMT1* и *DNMT3A*, а также *UHRF1*, вовлеченных в репарацию ДНК, были увеличены (Koturbash I. et al., 2016). Это может быть связано с ответом клетки на индукцию повреждений ДНК (Mistry H. et al., 2010). Имеются экспериментальные доказательства других исследователей, что сверхэкспрессия *UHRF1* приводит к индукции гипометилирования (Mudbhary R. et al, 2014). Напротив, в более отдаленные сроки после облучения (90 день), экспрессия ДНК-метилтрансфераз и белка MeCP2 существенно снижены, что, по мнению авторов, может являться компенсаторным механизмом в условиях индуцированного гиперметилирования. При этом, синтез доноров метильных групп (метионин, SAM) был существенно повышен на 90 день после облучения и незначительно понижен на 7 сутки после воздействия радиации, что может быть механизмом выявленных изменений в паттерне метилирования. Кроме того, гиперметилирование генома в отдаленный срок сопровождалось снижением экспрессии белка TET1, вовлеченного в конверсию метилцитозина в 5-гидроксиметилцитозин (Koturbash I. et al., 2016).

Как уже отмечалось выше, очень часто о глобальном уровне 5-метилцитозина судят по показателям метилирования диспергированных

повторов. С одной стороны, метилирование повторяющихся последовательностей ДНК, в первую очередь, транспозонов и ретротранспозонов, является необходимым условиям их «сайлейсинга», то есть предотвращает реактивацию генной экспрессии и развитие геномной нестабильности. Так показано, что кратковременное гипометилирование (96 часов после облучения: рентгеновское излучение, 0.1–2.5 Гр) промотора *LINE-1* элемента приводило к долговременным эффектам (12-24 недели после облучения) реактивации диспергированного повтора: повышенным уровням экспрессии *LINE-1 ORF1* и трансляции 148-kDa LINE-1 протеина в клетках молочной железы крыс. Эти эпигенетические изменения сопровождались возрастанием количества c-MYC белка, что может являться результатом инсерций *LINE-1* копий в онкоген (Luzhna L. et al., 2015). Сопряженность эпигенетических изменений *LINE-1* промотора (или выявленных инсерций повтора в онкоген) с активацией онкогенов *c-MET* и *c-MYC* наблюдалась и в более ранних работах других авторов в клетках злокачественных опухолей у пациентов с хроническим миелолейкозом и раком молочной железы (Roman-Gomez J. et al., 2015; Morse B. et al., 1988). Показано, что повышенная частота L1-ретротранспозиций в облученных клетках является эндонуклеаз-зависимой и пропорциональна количеству фосфорилированных H2AX фокусов, а, значит, сопряжена с индукцией двунитевых разрывов ДНК в сайтах интеграции, что является одним из механизмов нестабильности генома при активации *LINE-1* (Farkash E.A. et al., 2006). Показано, что инсерция *L1* в интрон гена может приводить к подавлению экспрессии локусов. По сути, гипометилированный интрогенный *L1* является siРНК опосредованным цис-регуляторным элементом, который может репрессировать гены посредством образования многокомпонентного нуклеопротеидного комплекса RISC (RNA-induced silencing complex), обеспечивающего сайленсинг генов по механизму РНК-интерференции, и в состав которого входит белок семейства Argonaute –

Ago2. Это один из механизмов подавления экспрессии генов-онкосупрессоров в клетках раковых опухолей (Aporntewan C. et al., 2011).

С другой стороны, в последние годы установлено, что многие нкРНК (например, днРНК, микроРНК) состоят из последовательностей повторяющихся элементов генома, в частности, транспозонов (Kapusta A. Et al., 2013; Gim J. et al., 2014). Поэтому, возможна большая роль повторов в регуляции альтернативного процессинга мРНК и генерации регуляторных РНК. Нарушения в экспрессии генов могут быть вызваны изменениями в структуре хроматина в гиперметилированных транспозонах, что обеспечивает транскрипционные преграды для близлежащих энхансеров и сайленсеров. В таком случае, гиперметилирование повторов может также иметь решающее значение в развитии опухолевых и других патологий.

В то же время, повышение тотального уровня метилирования генома в результате хронического воздействием радиации в малых дозах выявлено не только в исследованиях in vivo (Kovalchuk O. et al., 2003; Georgieva M. et al., 2017; Volkova P.Yu. et al., 2018), но и in vitro (Ye S. et al., 2013). Показано, что индукция гиперметилирования генома, индуцированная пролонгированным облучением в малых дозах, играет существенную роль в адаптивном ответе. Так, обработка В-лимфобластных клеток линии HMy2.CIR 5-aza-dC приводило к отмене адаптивного ответа в эксперименте с адаптирующим низкоинсивным пролонгированным (4 недели, воздействие 3 раза в неделю, 0,78 Гр/мин) действием γ-излучения в суммарной дозе 0,032 Гр и последующим повреждающим воздействием (2 Гр). По мнению авторов, глобальное гиперметилирование генома является защитной реакцией, направленной на сохранение его стабильности. Эта эпигенетическая модификация приводит к формированию конденсированного гетехроматина, более резистентного к индукции повреждений ДНК под действием радиации (Ye S. et al., 2013).

Показано, что радиационно-индуцированные изменения метилирования не всегда сопровождаются отрицательной ассоциативной

связью с транскрипционной активностью соответствующих генов или повторов и положительной корреляцией с экспрессией ДНК-метилтрансфераз (Lima F.et al., 2014; Nzabarushimana E. et al., 2014; Koturbash I. et al., 2016; Miousse I.R. et al., 2014, 2017; Prior S. et al., 2016). Это является доказательством того, что регуляция экспрессии определяется не только метилированием ДНК, но и другими механизмами, в частности, модификацией гистонов. Например, радиационно-индуцированное повышение экспрессии *LINE-1* ORF1 и ORF2 было обусловлено не снижением их метилирования, а модификацией гистонов, а, именно, потерей диметилирования гистоном Н3К9 и увеличением триметилирования Н3К4 в 5'-UTRs регионе *LINE-1* (Prior S. et al., 2016).

Возможно, что индукция двунитевых разрывов, оксидативных повреждений ДНК приводит к рекрутированию ДНК-метилтрансфераз (например, с участием белков репарации неспаренных нуклеотидов MSH2-MSH6) и других модификаторов гистонов, таких как белки группы polycomb (ингибиторные комплексы 1 и 2:PRC1 и PRC2), метилтрансфераза EZH2, сиртуины (например, SIRT1, катализируют деацетилирование остатков лизина в гистонах), что должно опосредовать временную локальную репрессию хроматина, препятствующую транскрипции. Репарация повреждений ДНК – это динамический процесс, который требует, как открытого, так и конденсированного хроматина, а значит сопряжен с процессами ацетилирования и деацетилирования гистонов. В свою очередь, последние могут быть высоко специфичны в отношении расстояния от сайта повреждения: ацетилирование имеет место в непосредственной близости от разрыва, а обратный процесс – на расстоянии нескольких нуклеосом от него. Кроме того, не исключена зависимость хронологии этих процессов от времени, прошедшего после индукции повреждения ДНК: ацетилирование гистонов происходит вслед за возникновением этого повреждения, а деацетилирование – после окончания восстановления генетической структуры (Ding N. et al., 2016; O’Hagan H. M., 2014; O’Hagan H. M. et al.,

2008, 2011). Поэтому, ошибки этих процессов, отсутствие их своевременной остановки и нарушения скоординированности, что, по-видимому, имеет место при хроническом действии генотоксических факторов, приводит к эпигенетическим модификациям, которые могут сохраняться длительное время в последующих клеточных делениях (например, гиперацетилированный H4K16, H3K9me2 и me3, and H3K27me3). Показано, что такие плотноионизирующие излучения как ионы углерода ^{14}C вызывают труднорепарируемые кластерные повреждения вдоль трека частиц, локализованные в гетерохроматиновых регионах (Lorat, Y. et al., 2016).

Экспериментально показано, что независимые от репликации эндогенные двунитевые разрывы ДНК (RIND-EDSBs) сохраняются преимущественно в метилированных участках генома в неацетилированном хроматине, поскольку существует временная задержка между индукцией этих повреждений и репарацией. Быстрый ответ клетки на индукцию повреждений ДНК (γ-H2AX) в этом случае блокируется компактной структурой хроматина, которая потом позволяет восстановиться EDSBs путем негомологичной рекомбинации, осуществляемой более точным ATM-зависимым способом. Деметилирование ДНК сопряжено с эухроматизацией хроматина, а разрывы, возникшие в таких регионах, будут восстанавливаться Ku-опосредованной NHEJ, в наибольшей степени склонной к ошибкам, что приводит к нарастанию нестабильности этих регионов генома (Kongruttanachok N. et al., 2010; W. Pornthanakasem et al., 2008).

1.4.5. Возраст-ассоциированные изменения метилирования ДНК

Представленные выше данные свидетельствуют о разнообразии спектра радиационно-индуцированных нарушений метилирования ДНК. Учитывая классический постулат о преждевременном старении облученного организма, немного остановимся на возраст-ассоциированных изменениях метилирования ДНК. Твердо установлено, что с возрастом наблюдается тотальное гипометилирование генома и гиперметилирование промоторов

генов. Полагается, что возраст-ассоциированные изменения в транскрипционных факторах и гистон-модифицирующих энзимах влияют на метилирование ДНК и наоборот. В течение старения метилирование генов-мишений белков группы Polycomb (PcGTs) изменяется, что является возможным объяснением изменения с возрастом триметилирования H3K27 (Horvath S., 2013; Hannum G. et al., 2013; Maegawa S. et al., 2010; Teschendorff A.E. et al., 2010; Bocker M.T. et al., 2011; Kane A. E., Sinclair D. A., 2019; Booth L., Brunet A., 2016). Повышение метилирования ДНК имеет место в регионах с H3K27me3, а понижение – ассоциировано с такими активными гистоновыми метками хроматина, как ацетилирование H3K9 (H3K9ac), H3K27 (H3K27ac) и метилирование H3K4 (H3K4me1, H3K4me2, H3K4me3) (Raddatz G. et al., 2013; Mcclay J. L. et al., 2014).

Представляется, что возраст-ассоциированные изменения эпигенома – это, с одной стороны, результат реализации «закодированной» программы онтогенетического развития и естественного старения, механизмы которой непонятны. Так нельзя утверждать, что CpG-часы связаны с митотическим возрастом. Несмотря на то, что темпы нарастания изменений метилирования максимальны во время наибольшей пролиферативной активности клеток организма, и эпигенетический возраст (DNAm) коррелирует с порядковым номером клеточного деления в культуре, он «отслеживает» также календарный возраст в непролиферативных тканях. С другой стороны, DNAm не является маркером клеточного старения, так как этот показатель существенно коррелирует с хронологическим возрастом иммортализованных клеток (например, B-клетки, трансформированные вирусом Эпштейна-Барра) и номером пассажа культуры бессмертных ЭС клеток. По мнению автора, DNAm – некая кумулятивная работа, сделанная определенного рода эпигенетической системой сохранности, направленная на стабилизацию генома/эпигенома (Horvath S., 2011). В этом плане, заслуживает также внимания следующий факт. Широкогеномное исследование метилома с последующим анализом выживаемости с использованием модели Кокса

выявило 2552 CpG сайта, сопряженных с риском смерти (1403 и 1149 сайта показали положительную и отрицательную корреляцию, соответственно). Однако, из них меньше 30 % CpG проявили связь метилирования с возрастом. Причем для большинства этих сайтов (более чем 90%) показан разнонаправленный характер ассоциаций метилирования с возрастом и со смертностью. Таким образом, получается, что такие возраст-ассоциированные эпигенетические модификации отражают ход «здорового» старения и носят «полезный» характер для выживаемости индивида. CpG-динуклеотиды, метилирование которых сопряжено с повышенным риском смерти в большей степени расположены в «теле» гена и межгенных промежутках, а с пониженным риском – в генных промоторах (Lund J. B., 2019). Тем не менее, в геноме присутствуют десятки CpG сайтов (а именно, 53 из 2552 CpG), метилирование которых имеет однонаправленный характер корреляций с возрастом и смертностью. Высокая точность оценки биологического возраста индивида, на основе «CpG-часов», и его повышение по сравнению с календарным, отмечено при различных соматических заболеваниях (злокачественные новообразования, инсульты, гипертензия и др.) (Horvath S., 2013; Hannum G. et al., 2013; Marioni R.E. et al., 2015; Soriano-Tárraga K. et al., 2016; Zampieri M. et al., 2015).

С другой стороны, изменения эпигенома, ассоциированные с возрастом, это результат накопления «стохастических» событий – эпигенетических модификаций, сопряженных с ошибками воспроизведения паттерна метилирования в митотических потомках клеток, активацией клеточных программ и индукцией повреждений ДНК в результате действия эндо-/экзогенных стрессовых факторов, в том числе генотоксикантов (Horvath S., 2013; Hannum G. et al., 2013).

Таким образом, в исследованиях с использованием культур клеток и лабораторных животных выявлен широкий спектр нарушений метилирования ДНК, индуцированных ионизирующими излучениями как с

высокой, так и низкой ЛПЭ (тотальное гипо-/гиперметилирование, гипо-/гиперметилирование повторяющихся элементов генома, локус-специфическое гипо-/гиперметилирование) (таблицы 1 и 2, приложение). Они наблюдаются не только сразу после облучения, но и могут сохраняться на протяжении длительного периода времени. Подытожены имеющиеся сведения о последствиях этих эпигенетических модификаций для функционирования клеточного генома (рис., приложение). Результаты единичных работ указывают на то, что выраженность и направленность изменений паттерна метилирования как повторов, так и генов, зависит от структурной области, к которой относятся изученные CpG-сайты (CpG-островок промотора или транскрибируемая часть гена, *LINE-1* ORF1 или *LINE-1* 5'-UTRs, эволюционный возраст повтора). К сожалению, в большинстве работ в этом аспекте полученные данные не анализируются. В ряде исследований выявлены зависимости доза-эффект и мощность дозы-эффект для уровня нарушений в паттерне метилирования ДНК. Показана сопряженность индуцированных изменений в метилировании ДНК с проявлениями таких немишенных эффектов радиации как геномная нестабильность и эффект «свидетеля»; это направление исследований является крайне важным в аспекте радиотерапии злокачественных новообразований. На настоящий момент имеются единичные исследования, свидетельствующие о реальности дозозависимой индукции и сохранении в течение длительного времени тех или иных эпигенетических модификаций в лейкоцитах крови облученного человека. Так как старение, последствия радиационного воздействия и возраст-ассоциированные заболевания сопровождаются общими эпигенетическими нарушениями, рассматриваемая проблема является одной из наиболее важных в области молекулярной радиобиологии и геронтологии человека.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Характеристика обследованных групп лиц

В этом разделе частично используются материалы, представленные в публикациях автора по теме диссертации (Сусков И.И., **Кузьмина Н.С.,** Балева Л.С., Сипягина А.Е. Проблема индуцированной геномной нестабильности как основы повышенной заболеваемости у детей, подвергающихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах. Радиобиология. Радиоэкология. 2006. Т.46. № 2. С. 167-177; Сусков И.И., Агаджанян А.В., **Кузьмина Н.С.,** Елисова Т.В., Иофа Э.Л., Нилова И.Н., Акаева Э.А., Кузнецова Г.И., Рубанович А.В., Цховребова Л.В., Балева Л.С., Сипягина А.Е. Проблема трансгенерационного феномена геномной нестабильности у больных детей разных возрастных групп после аварии на ЧАЭС. Радиобиология. Радиоэкология. 2006. Т.46. № 4. С.466-474; Сусков И.И., **Кузьмина Н.С.,** Сускова В.С., Агаджанян А.В., Рубанович А.В. Индивидуальные особенности трансгенерационной геномной нестабильности у детей ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС (цитогенетические и иммуногенетические показатели). Радиац. биол. Радиоэкол. 2008. Т. 48. № 2. С. 278-286; Шайхаев Г.О., **Кузьмина Н.С.**, Мязин А.Е., Панушкина О.Г., Рубанович А.В., Хаймович Т.И., Снигирева Г.П. Изучение частоты мутаций в мини- и микросателлитных локусах ДНК в клетках членов семей работников атомной промышленности, работавших с тритием и его окисью. Радиац. биол. Радиоэкол. 2008. Т. 48. № 6. С. 690-697; Anna Aghajanyan, **Nina Kuzmina,** Alla Sipyagina, Larisa Baleva, Igor Suskov. Analysis of the genomic instability in offspring of fathers exposed to low doses of ionizing radiation. Environmental and Molecular Mutagenesis. Vol. 52. Issue 7. 2011. P. 538-546; **Кузьмина Н.С.,** Мязин А.Е., Лаптева Н.Ш., Рубанович Изучение аберрантного метилирования в лейкоцитах крови ликвидаторов аварии на ЧАЭС. Радиационная биология. Радиоэкология. 2014. Т.54. № 2. С. 127-139; **Nina S. Kuzmina**, Andrey E.Myazin, Nellya Sh. Lapteva, Alexander B. Rubanovich, The study of hypermethylation in irradiated parents and their children blood leukocytes. Central European Journal of Biology. 2014. V. 9. № 10. P. 941-950; **Nina S. Kuzmina,** Nellya Sh. Lapteva, Alexander B. Rubanovich. Hypermethylation of gene promoters in peripheral blood leukocytes in humans long term after radiation exposure. Environmental Research. 2016. V. 146. P. 10-17; **Кузьмина Н.С.**, Лаптева Н.Ш., Русинова Г.Г., Азизова Т.В., Вязовская Н.С., Рубанович А.В. Гиперметилирование промоторов генов в лейкоцитах крови человека в отдаленный период после перенесенного радиационного воздействия. Радиационная биология. Радиоэкология. 2017. Т.57. № 4. С. 341 – 356; **Кузьмина Н.С.,** Лаптева Н.Ш.,

Русинова Г.Г., Азизова Т.В., Вязовская Н.С., Рубанович А.В. Дозовая зависимость гиперметилирования промоторов генов в лейкоцитах крови лиц, подвергшихся сочетанному воздействию гамма- и альфа-излучений. Генетика. 2018. Т. 54. Приложение. С. S22-S26; **Kuzmina N. S.,** Lapteva N. Sh., Rusinova G. G., Azizova T.V., Vyazovskaya N. S., Rubanovich A. V. Dose dependence of hypermethylation of gene promoters in blood leukocytes in humans occupationally exposed to external gamma radiation. Biology Bulletin. 2019. V. 46. № 11. P. 1563-1569).

Проведено комплексное изучение отдаленных генетических и эпигенетических нарушений у лиц, подвергшихся облучению в различных радиационных ситуациях, а также у их облученных и необлученных детей. Основные контингенты обследованных лиц и проанализированные показатели представлены на рис. 1.

Проведено цитогенетическое обследование детей, постоянно проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами (г. Новозыбков и Новозыбковский район Брянской обл., 135–688 кБк/м^2 по ^{137}Cs), подвергшихся облучению во время Чернобыльской катастрофы в постнатальный (грудной возраст, период раннего детства, дошкольный возраст) либо антенатальный период онтогенеза, а также родившихся от облученных родителей спустя годы и десятилетия после аварии (1987 - 2007 гг..). Наряду с цитогенетическим обследованием детей, родившихся после аварии на ЧАЭС, спектр и частота аберраций хромосом также были изучены у их родителей, подвергшихся облучению в различные стадии онтогенеза, в том числе в наиболее уязвимые периоды детства. Численность и характеристика обследованных индивидов представлены в табл. 1.

Для обследования дети поступали в Федеральный детский научно-практический центр противорадиационной защиты ОСП «Научно-исследовательского клинического института педиатрии» ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова (руководитель центра-проф. Л.С. Балева). Как жители территорий с неблагоприятной радиационной обстановкой, так и дети из «чистых» регионов (контрольная группа) имели различные

Рис.1 Основные контингенты обследованных лиц и проанализированные показатели.

Таблица 1. Характеристика обследованных групп лиц, пострадавших в результате Чернобыльской катастрофы (оценка цитогенетических показателей)

<table>
<tr><td colspan="4">Дети (средняя эффективная доза облучения)</td><td colspan="4">Родители (средняя эффективная доза облучения)</td></tr>
<tr><td rowspan="2">N</td><td colspan="2">На момент аварии</td><td rowspan="2">Возраст на момент обследования</td><td rowspan="2">N</td><td colspan="2">На момент аварии</td><td rowspan="2">Возраст на момент обследования</td></tr>
<tr><td>Возраст</td><td>Стадия онтогенеза</td><td>Возраст</td><td>Стадия онтогенеза</td></tr>
<tr><td colspan="8">Дети и родители – жители территорий с радионуклидными загрязнениями (г. Новозыбков и Новозыбковский р-н Брянской обл., 135 – 688 кБк/м^2)
200 чел.</td></tr>
<tr><td colspan="4">Дети 1982 – н. 1986 г.р. (~ 30 – 35 мЗв)</td><td colspan="4" rowspan="4">Родители (~ 30 – 40 мЗв)</td></tr>
<tr><td>32</td><td>0,3 – 4 г.</td><td>постнатальная</td><td>11 – 17 лет</td></tr>
<tr><td colspan="4">Дети 1986 г.р. (~ 30 – 35 мЗв)</td></tr>
<tr><td>15</td><td>12 – 37
неделя гестации</td><td>внутриутробная</td><td>10 – 17 лет</td></tr>
<tr><td colspan="3">Дети 1987 – 2007 г.р. – потомки облученных родителей
(~ 4 – 20 мЗв)</td><td>2 – 14 лет</td><td colspan="4"></td></tr>
<tr><td>44</td><td colspan="2" rowspan="3">Облучение гамет родителей, внутриутробное и постнатальное облучение</td><td>1987 – 1992 г.р
6 – 14 лет</td><td>32</td><td>19 – 40 лет</td><td>Постнатальная (юношеский – средний возраст)</td><td>30 – 55</td></tr>
<tr><td>21</td><td>1994 – 1995 г.р
5 – 8 лет</td><td>22</td><td>13 – 17 лет</td><td>Постнатальная (пубертатный возраст)</td><td>24 – 35 лет</td></tr>
<tr><td>15</td><td>1997 – 2007 г.р
2 – 5 лет</td><td>21</td><td>6 – 11 лет</td><td>Постнатальная (преддошкольный – препубертатный возраст)</td><td>23 – 33 года</td></tr>
<tr><td colspan="8">Дети (24 чел.) и родители (26 чел.) – жители «чистых» территорий</td></tr>
<tr><td colspan="8">Необлученные дети (1987 – 2006 г.р.) отцов ликвидаторов (79 чел.), облученные отцы – ликвидаторы (31 чел.; 35 – 480 мЗв) и их необлученные жены (31 чел.)</td></tr>
</table>

отклонения в состоянии здоровья, среди которых преобладали астеноневротические расстройства, заболевания органов дыхания и гастроэнтерологическая патология. Реже встречались гипертензионно-гидроцефальный синдром, болезни органов мочевыделения (циститы, пиелонефриты и др.) и эндокринной системы (в основном тиреоидная патология).

Как известно, в первые дни после аварии на ЧАЭС существенный вклад в дозу облучения детей и подростков вносили изотопы радиоактивного йода, активно поглощающиеся щитовидной железой детского организма в силу его морфофункциональных особенностей и приводящие к развитию тяжелых патологий этого органа, вплоть до рака щитовидной железы (Ron, 2007; Cardis, 2005; Ivanov, 2006, Карпеева, 2001; и др.) В этом плане наиболее пострадали дети в возрасте до 3 лет. Показано, что поглощенные дозы на щитовидную железу у жителей России, Украины, Белоруссии варьировали в широком диапазоне вплоть до 40 000 мЗв, средняя доза на этот орган составила 1000 мЗв (Bouville, 2007*)*. В связи с этим, в группе детей, родившихся до аварии, была выделена подгруппа с высокой дозовой нагрузкой на щитовидную железу (200 Бэр и выше), для которой отмечалась своя специфика заболеваемости (аутоиммунный тиреоидит, диффузный токсический зоб, узловой зоб).

Показано, что исключая дозовую нагрузку на щитовидную железу, накопленные за 20 лет (1986-2005) дозы облучения у населения России, Украины, Белоруссии варьировали в широком диапазоне от нескольких миллизиверт (мЗв) до сотни мЗв, составляя в среднем 10 мЗв (Bouville, 2007*)*.

Согласно данным Института радиационной гигиены Госкомсанэпиднадзора РФ (Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт радиационной гигиены имени профессора П.В. Рамзаева) по средним годовым эффективным дозам облучения жителей населенных пунктов, отнесенных к зонам радиоактивного загрязнения вследствие Чернобыльской катастрофы (Балонов М.И. и др., 1993; Методические

указания МУ 2.6.1.2003-05, 2005; Брук Г.Я. и др., 2017) и Российского национального доклада по динамике (начиная с 1986 г) средних годовых эффективных доз облучения жителей территорий с радионуклидными загрязнениями (1996), для всех вышеуказанных групп детей и их родителей были рассчитаны приблизительные средние эффективные дозы облучения (внешнее + внутреннее облучение), накопленные к моменту обследования, которые находились в диапазоне 4–40 мЗв (табл. 1).

Кроме того, проведено обследование 79 детей (41 мальчик и 38 девочек, 2-15 лет), рожденных от ликвидаторов аварии на ЧАЭС в 1987-2006 гг., но проживающих на «чистых» территориях. Структура заболеваемости этих детей была примерно аналогична таковой у жителей территорий с радионуклидными загрязнениями, за исключением отсутствия тиреоидной патологиии у необлученных детей – потомков облученных отцов. Зарегистрированные дозы облучения у ликвидаторов (если такие сведения имелись) находились в диапазоне от 50 до 460 мЗв. Сроки работ в зоне ликвидации составили от 2 недель до 6 месяцев. Злокачественные новообразования у всех обследованных отцов-ликвидаторов отсутствовали. Спектр другой мультифакториальной заболеваемости у взрослых лиц контрольной группы и ликвидаторов аварии на ЧАЭС (если не учитывать степень их тяжести) был, в-основном, представлен распространенными патологиями: функциональными нервными расстройствами, сердечно-сосудистыми заболеваниями, обструктивными заболеваниями органов дыхания, хроническими гастродуоденитами, язвенной болезнью желудка и др.

Проведено цитогенетическое обследование 31 полной семьи ликвидаторов аварии на ЧАЭС (отцы-ликвидаторы – 31 чел., их необлученные жены – 31 чел., дети – 39 чел.); 25 семей имели 1-го ребенка, 4 семьи – двух детей, в двух семьях было по три ребенка. Средняя эффективная доза у ликвидаторов составляла 226 мЗв (диапазон: 50 – 460 мЗв); у одной трети участников ликвидации последствий аварии дозы были

неизвестны. Средний возраст отцов-ликвидаторов на момент аварии составлял 28 ± 1.5 года. Промежуток времени между облучением отцов и зачатием детей составлял от одного месяца до 18 лет. Средний возраст отцов и матерей на момент зачатия составлял 30 ± 2.2 и 26 ± 2.3 лет, соответственно. Родители (облученные отцы и необлученные матери) поступили в Федеральный детский центр противорадиационной защиты ОСП «Научно-исследовательского клинического института педиатрии» ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова с целью обследования своих детей. Контрольная группа включала необлученных детей и их родителей (9 семей:18 взрослых и 11 детей) примерно такого же возраста, проживающих в «чистых» районах.

Кроме того, у 34 детей и 17 отцов-ликвидаторов проведено изучение генных мутаций по локусу Т-клеточного рецептора (клеток с вариантным иммунофенотипом $CD3^{-}CD4^{+}$) и готовности клеток к апоптозу (по уровню клеток с иммунофенотипом $CD95^{+}$).

Проведено изучение уровня полиморфизма 5 МНС и 11 МКС локусов у детей профессионалов-атомщиков г. Сарова – сотрудников Российского федерального ядерного центра – Всероссийского научно-исследовательского института экспериментальной физики (РФЯЦ-ВНИИЭФ) - федерального государственного унитарного предприятия Государственной корпорации по атомной энергии "Росатом"), начавших работать с тритием и его окисью 40 - 50 лет назад. Средний стаж работы отца или матери на опасном участке работы до зачатия ребенка составлял 7 ± 1 лет, при этом средняя ежегодная доза в данной группе была 12,8 ± 6,8 мЗв (0,6 ÷ 116 мЗв). В обследованной группе суммарные накопленные дозы за период работы с тритием варьировали от 11 до 481 мЗв, один человек подвергся облучению в дозе 994 мЗв. Контрольную группу составили семьи жителей г. Сарова, не подвергавшиеся радиационному воздействию и соответствующие по возрасту семьям профессионалов-атомщиков. Всего было обследовано 19

семей профессионалов-атомщиков и 23 семьи из контрольной группы. Уровень полиморфизма МНС и МКС изучен у 27 детей, родившихся от облученных родителей, и 26 детей необлученных родителей. Средний возраст отцов, их детей и жен из группы профессионалов-атомщиков на момент обследования составил 66,8 ± 1,3 (53 ÷ 75), 37,6 ± 1,4 (17 ÷ 51), 64,7 ± 1,1 (54 ÷ 72), соответственно. Характеристика обследованных семей профессионалов представлена в таблице 2.

На двух независимых выборках облученных лиц проведено изучение гиперметилирования CpG – островков промоторов генов основных защитных систем клетки. Первая выборка (смешанная выборка № 1: ликвидаторы аварии на ЧАЭС – 83 чел., профессионалы-атомщики г. Сарова – 21 чел., взрослые жители территорий с радионуклидными загрязнениями – 135 - 688 кБк/м^2) была гетерогенной, так как включала индивидов, отличающихся друг от друга по виду воздействующей радиации, дозам облучения, длительности радиационного воздействия и времени, прошедшем после него до момента обследования. Все эти лица были объединены в одну группу и рассмотрены нами в аспекте наличия у них в анамнезе перенесенного облучения (табл. 3).

Большая часть ликвидаторов (67 чел.) проходила обследование и лечение в 2003-2007 гг. в отделении радиационной медицины ФГБУ "Российский научный центр рентгенорадиологии" Минздрава России. Остальные 16 человек поступили в Федеральный детский центр противорадиационной защиты ОСП «Научно-исследовательского клинического института педиатрии» ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова с целью обследования своих детей. Зарегистрированные дозы облучения (если такие сведения имелись) находились в диапазоне от 35 до 480 мЗв. Злокачественные новообразования у всех обследованных пациентов отсутствовали. Спектр другой мультифакториальной заболеваемости у пациентов контрольной группы старшего возраста и ликвидаторов аварии на ЧАЭС (если не учитывать степень их тяжести) был, в-основном, представлен

Таблица 2. Характеристика обследованных семей профессионалов-атомщиков

№ семьи	Код	Суммарная реконструированная доза у отца, мЗв	Пол и год рождения ребенка	Начало-конец работы в условиях проф.вредности, год	Возраст родителей на момент рождения ребенка	
					мать	отец
1	S215	61 ± 9	ж, 1964	1960-1990	30	27
2	S227	11 ± 4	ж, 1959	1959-1975	22	27
3	S208	994 ± 220	м, 1955	1955-1967	20	28
			м, 1963		20	28
4	S204	85 ± 12	ж, 1960	1960-2002	21	23
			ж,1966		27	29
5	S222	76 ± 10	м,1962	1959-1980	23	25
			м,1969		39	32
6		42 ± 10	м,1953	1953-1959	21	23
7	S266	102 ± 21	м,1966	1962-1997	24	27
			ж,1962		28	31
8	S255	348 ± 93	ж,1966	1955-1958	30	34
9	S229	107 ± 18	ж,1970	1959-2002	28	33
10	S244	481 ± 50	ж,1963	1956-2002	27	29
			ж,1972		36	38
11	S270	116 ± 12	ж,1957	1955-1989	21	21
			м,1964		28	28
12	S232	37 ± 3	ж,1987	1974-2002	37	39
13	S225	76 ± 12	ж,1970	1953-1993	38	41
14	S233	34 ± 6	м,1971	1969-2002	26	29
15	S276	244 ± 15	м,1964	1958-2001	25	27
			ж,1976		37	39
16	S278	17 ± 0,8	м,1979	1973-2002	34	34
17	S200	156 ± 23	м,1971	1962-2002	28	33
			ж,1965		22	27
18	S240	100 ± 14	м,1972	1956-1997	31	33
19	S280	103 ± 6	ж,1975	1968-1990	26	24

Таблица 3. Характеристика обследованных (анализ гиперметилирования CpG-островков промоторов генов) облученных (смешанная выборка № 1) и необлученных лиц (соответствующая контрольная группа).

	Обследованные лица						
	Облученные лица n = 124			Дети облученных родителей n = 74			Необлученные лица[b] (контрольная группа) n= 208
	Ликвидаторы аварии на ЧАЭС n = 83	Профессионалы-атомщики n = 21	Жители территорий с радионуклидными загрязнениями n = 20	Рожденные от ликвидаторов аварии на ЧАЭС n = 29	Рожденные от профессионалов-атомщиков n = 29	Жители территорий с радионуклидными загрязнениями n = 16	
Возраст, лет	38 - 76 54,81 ± 1,14	53 - 77 67,29 ± 1,30	24 - 50 36,9 ± 1,53	3 - 19 13,21 ± 0,83	17 - 51 37,69 ± 1,38	2 - 17 9,03 ± 1,27	19 - 77 37,03 ± 1,26
	24 - 77 54,03 ± 1,15			2 - 51 21,9 ± 1,64			
Пол, муж./жен.	81/2	21/0	14/6	13/16	14/15	8/8	117/91
	116/8			38/36			
Промежуток времени между окончанием работы и взятием крови, лет	17 - 21 19,05 ± 0,76	2 - 46 13,4 ± 3,17	0	-	-	-	-
Накопленные дозы, мЗв	30 - 480 183,8 ± 17,5	11 - 994 183,5 ± 52,7	Индивидуальные дозы не известны	-	-	-	-

[a]Представлены диапазон вариабельности и среднее ± ошибка среднего показаны; [b]Родители этих индивидов не имели контакта с радиацией

распространенными паталогиями: функциональными нервными расстройствами, сердечно-сосудистыми заболеваниями, обструктивными заболеваниями органов дыхания, эссенциальной гипертензией, хроническими гастродуоденитами, язвенной болезнью желудка и 12-перстной кишки, остеохондрозом, доброкачественными изменениями щитовидной железы и др. Лица контрольной группы в возрасте до 35 лет были практически здоровы. Продолжительность работы профессионалов-атомщиков г. Сарова с тритием и его окисью варьировала от 3 до 46 лет, а суммарные накопленные дозы за период работы с тритием варьировали от 11 до 481 мЗв, один человек подвергся облучению в дозе около 994 мЗв. Промежуток времени между окончанием работы с тритием и взятием образцов крови составлял более 10 лет для 48% атомщиков. Обследованные жители территорий с радионуклидными загрязнениями в момент аварии на ЧАЭС были облучены в возрасте 8-17 лет. Возраст этих облученных индивидов на время взятия образцов крови составлял 24-78 лет (таблица 3).

Контрольная группа включала необлученных индивидов, соответствующих по всем общепринятым показателям (пол, возраст, социально-экономические факторы, вредные привычки и др.) облученной группе (208 чел.). Кроме того, были обследованы 74 потомка облученных родителей. Среди них 29 необлученных детей (1987 – 2006 г.р.), рожденных от ликвидаторов аварии на ЧАЭС, а также 29 потомков профессионалов-атомщиков. Время между облучением отцов и зачатием детей варьировало от нескольких месяцев до 18 лет. Также было обследовано 16 детей, рожденных после Чернобыльской катастрофы в 1987–2005 гг. от облученных родителей, которые подверглись максимальному радиационному воздействию во время аварии в 1986 году и длительное время до зачатия детей проживали на территориях с радионуклидными загрязнениями. Постнатальное облучение этих детей было минимальным. Среди этих детей, 4 индивида были рождены

родителями (мать или отец), эвакуированными из зоны отселения в 1986 году (таблица 3).

Все обследованные лица были жителями «чистых» Российской Федерации. На время взятия образцов крови ни один человек не имел онкологических заболеваний и острого радиационного синдрома.

Вторая выборка представляла собой 149 работников (выборка № 2, от 52 до 86 лет) реакторного и радиохимического производств ПО «Маяк», подвергшихся, соответственно, пролонгированному внешнему воздействию γ-излучения и сочетанному внешнему (γ–лучи)/внутреннему (α–частицы, инкорпорированный ^{239}Pu) облучению (таблица 4). Таким образом, для работников реакторного производства имело место только внешнее воздействие γ-излучения и исключался контакт с аэрозолями плутония (^{239}Pu). Лица, задействованные на радиохимическом производстве, подверглись не только внешнему облучению, но и внутреннему воздействию α-излучения от инкорпорированного ^{239}Pu. В отличии от предыдущей смешанной выборки в эту выборку вошли две однородные группы облученных лиц, подвергшихся воздействию радиации в результате профессиональной деятельности и имеющих продолжительный стаж работы в условиях одного завода.

Контрольная группа включала биологический материал необлученных лиц – жителей г. Озерска, соответствующих по всем общепринятым показателям (пол, возраст, социально-экономические факторы, вредные привычки и др.) облученной группе (50 чел.) (табл. 4).

Уникальный банк ДНК работников ПО «Маяк» создан в 1999 - 2012 гг. в клиническом отделе Южно-уральского института биофизики ФМБА России (ЮУрИБФ, г. Озерск), осуществляющем систематический эпидемиологический и биомедицинский мониторинг работников производств атомной промышленности. Накопленные дозы воздействия γ- и α-излучений на ККМ (красный костный мозг) составили, соответственно, от 0,142 до 2,95 Гр и от 0 до 0,068 Гр. Промежуток времени между

Таблица 4. Характеристика обследованных лиц – облученных работников ПО «Маяк» (выборка № 2) и необлученных индивидов (соответствующая контрольная группа).

	Работники реакторного производства (внешнее воздействие γ-излучения) n = 88	Работники радиохимического производства (сочеранное воздействие γ-/ α-излучение n = 61	Облученные лица (объединенная группа) (n = 149)	Необлученные лица (n = 50)
Возраст, лет Диапазон M ± m	 53 - 86 73,30 ± 0,69	 52 - 84 71,18 ± 0,76	 52 - 86 72,43 ± 0,52	 66 - 86 72,18 ± 0,65
Пол, муж/жен	69/19	35/26	104/45	34/16
Промежуток времени между окончанием работы и взятием крови, лет Диапазон M ± m	 0 - 59.0 15,95±1,22	 0 - 61 15,4±1,87	 0 - 61 15,74±1,04	 - -
Продолжительность работы с радиацией, лет Диапазон M ± m	 2 - 51 35,5±1,01	 1 - 51 34,7±1,7	 1 - 51 35,2±0,9	 - -
Накопленные дозы (на ККМ), мГр γ-излучение				

Диапазон	200 - 2950	142.2 - 1740.9	0 - 2950	-
M ± m	763,1 ± 45,1	552,9 ± 37,9	672,0 ± 31,9	-
α-излучение	-			
Диапазон		0.63 - 67.7	0 - 67.7	-
M ± m		15,2 ± 2,1	6,2 ± 1,04	-
Курение				
курящие (n, %)	72 (81,81)	53 (86,89)	125 (83,89)	36 (72)
некурящие (n, %)	16 (18,18)	8 (13,11)	24 (16,11)	14 (28)
Алкоголь				
употребляющие (n, %)	35 (39,8)	29 (47,54)	64 (42,95)	18 (36)
неупотребляющие(n, %)	53 (60,2)	32 (52,46)	85 (57,05)	32 (64)
Заболевания (n, %)[a]				
Злокачественные новообразования	21 (23,9)	13 (21,3)	34 (22,8)	12 (46)[b]
Церебро-васкулярные патологии	72 (81,8)	36 (59,0)	108 (72,5)	25 (100)[c]
Сердечно-сосудистые патологии	60 (68,2)	30 (49,2)	90 (60,4)	24 (100)[d]

[a]Заболевания, диагносцированные на момент взятия крови или в течение последующих 5 лет.

[b,c,d] Информация об этих заболеваниях была доступна для 26, 25 и 24 необлученных индивидов, соответственно. Процент указан для группы индивидов с известной информацией.

Частота заболеваний в группе облученных лиц (объединенная выборка) значимо меньше таковой у лиц контрольной группы: p = 0.017, p = 1.4E-3 и p = 3.0E-5, для злокачественных новообразований, ЦВЗ и ИБС, соответственно.

окончанием работы в условиях радиационного воздействия и взятием крови находился в диапазоне от нескольких месяцев до 61 года, 8 человек (5,37 %) еще продолжали работать в условиях облучения (в среднем, 15,65±1,57 лет). Для каждого работника имеется информация об индивидуальной накопленной дозе пролонгированного облучения, рассчитанной на основе измерений индивидуальным дозиметром и согласно дозиметрической системы ДСРМ-2008.

Эпидемиологические данные получены из медико-дозиметрической базы данных «Клиника» персонала ПО «Маяк» и населения г. Озерска ЮУрИБФ. В таблице 4 представлены данные о наличии у облученных и необлученных индивидов злокачественных новообразований, цереброваскулярной и кардиоваскулярной патологии на момент взятия крови и диагностированных в течение пяти лет после этого. У облученных индивидов и лиц контрольной группы структура онкологической заболеваемости была примерно одинакова, однако у облученных индивидов выявлены злокачественные новообразования лимфоидной ткани (3 случая) и органов дыхания (1 случай). Больше чем у половины обследованных облученных лиц на момент взятия биоматериала имелись цереброваскулярные заболевания (ЦВЗ) и ишемическая болезнь сердца (ИБС). ЦВЗ зарегистрированы также почти у всех индивидов контрольной группы (расчет для той части группы, на которую имелась информация по заболеваемости). У необлученных лиц с отсутствующим диагнозом ИБС на момент взятия крови, эта патология была выявлена в течение последующих пяти лет (6 человек).

2.2. Цитогенетические исследования

В этом разделе изложена классическая методика цитогенетического анализа, используемая сотрудниками лаборатории экологической генетики ИОГен РАН, и которая также была изложена в кандидатской диссертации автора (Кузьмина Н.С. Изучение геномной нестабильности у детей, проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями. Дис. канд. мед. наук. Москва: Институт Общей Генетики им. Н.И. Вавилова РАН. 2003. 138 с.).

2.2.1. Культивирование лимфоцитов и приготовление препаратов метафазных хромосом

Все цитогенетические исследования в данной работе выполнены на культивированных лимфоцитах периферической крови человека с использованием метафазного метода учета аберраций хромосом.

Образцы венозной крови детей и их родителей получали из Федерального детского научно - практического центра противорадиационной защиты ОСП «Научно-исследовательского клинического института педиатрии» ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова (г. Москва). Образцы крови части ликвидаторов (45 чел.) были получены из ФГБУ "Российский научный центр рентгенорадиологии" Минздрава России. Культивирование лимфоцитов периферической крови и приготовление препаратов метафазных хромосом проводили по общепринятой методике согласно рекомендациям ВОЗ (1975) и МАГАТЭ (1986) с некоторыми модификациями: 0,8 мл цельной крови добавляли к 8 мл инкубационной среды, приготовленной заранее в стерильных флаконах объемом 20 см^3 и состоящей из 6,5 мл среды RPMI 1640 с глютамином («Панэко»), 1,5 мл сыворотки крупного рогатого скота («Панэко»), 0,02 мл фитогемагглютинина («Difco P”), 40 γ/мл антибиотиков (гентамицин), 10γ/мл 5-БДУ и помещали в термостат на 48 часов, что позволило получить клетки, находящиеся преимущественно в первом митозе. За 2 часа до окончания культивирования в культуры добавляли колхицин в конечной концентрации 0,2 мкг/мл. По окончании культивирования лимфоциты подвергали 10-ти минутному воздействию подогретого до 37^{0}С

гипотонического раствора (0,075 М KCl), что необходимо для набухания клеток в целом, и хромосом в частности. Фиксацию клеток проводили смесью абсолютного этанола и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3:1, применяли трехкратную смену фиксатора. Через 1-2 суток готовили препараты метафазных хромосом: клеточную суспензию раскапывали на чистые охлажденные влажные стекла, высушивали на воздухе, а затем окрашивали для анализа хромосомных аберраций по Романовскому-Гимза. Идентификацию метафаз первого митоза проводили согласно закономерностей дифференциальной окраски сестринских хроматид (Пяткин Е.К., Нугис В.Ю., 1980).

2.2.2. Методика анализа АХ

Анализ хромосомных аберраций проводили путем микроскопирования монохромно окрашенных, с хорошим разбросом метафазных пластинок.

Начинали анализ под малым объективом Х10 микроскопа; окуляры Х10. Отбор метафаз и их детальный анализ осуществляли под иммерсионным объективом Х100; окуляры Х10 в соответствии с методическими рекомендациями ВОЗ (1975) и Института медицинской генетики АМН СССР (1974). Анализировались метафазные пластинки, содержащие не менее 44 хромосом. Учет наблюдавшихся структурных перестроек хромосом в метафазах проводили согласно общепринятой классификации хромосомных аберраций. Учитывали все видимые в микроскоп типы аберраций хромосом. К аберрациям хромосомного типа относили ацентрические парные фрагменты, центромерные разрывы, делеции, не сопровождающиеся ацентрическими фрагментами (простые аберрации), а также дицентрики, центрические и ацентрические кольца, симметричные транслокации, инверсии (сложные обменные перестройки). Учет всех делеций, реципроктных транслокаций, инверсий проводился с применением частичного кариотипического анализа с идентификацией гомологичных хромосом и/или групп хромосом, к которым они относятся (группа А: 1,2,3

хромосомы, группа B: 4, 5 хромосомы, группа C и X хромосома: 6-12 хромосомы и X-хромосомы, группа D: 13-15 хромосомы, группа E: 16,17,18 хромосомы, группа F: 19,20 хромосомы, группа G: 21,22 хромосомы, Y-хромосома). К аберрациям хроматидного типа относили одиночные фрагменты, изохроматидные фрагменты, а также межхромосомные хроматидные обмены.

Так как каждая хроматида материнской метафазной хромосомы в дочерних клетках становится генетически активной интерфазной хромосомой, определяли не только уровни вышеперечисленных аберраций хромосом, но и подсчитывали частоты разрывов хроматид. Количество разрывов хроматид считали равным 1 для одиночных хроматидных фрагментов, 2- для парных хромосомных и изохроматидных фрагментов, центромерных разрывов, хроматидных обменов, 4-для дицентриков, реципрокных транслокаций, колец, инверсий (сопутствующие дицентрикам и кольцам парные фрагменты не учитывались). Анализировали по 250-500 метафаз в 48-часовых культурах лимфоцитов. Примеры анализируемых метафаз приведены на рис. 2.

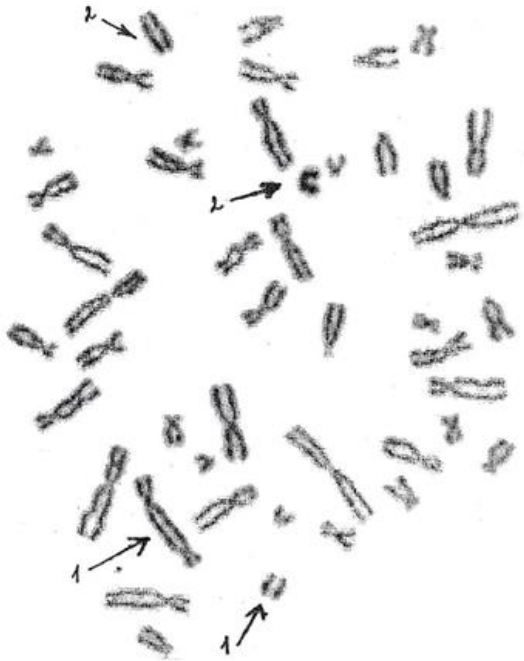
2.3. Метод проточной цитофлуориметрии: анализ TCR-мутаций и готовности клеток к апоптозу (CD95+ – лимфоциты)

В этом разделе частично представлены материалы по описанию методик цитофлуориметрического анализа, изложенные в публикации автора по теме диссертации (Сусков И.И., **Кузьмина Н.С.,** Сускова В.С., Агаджанян А.В., Рубанович А.В. Индивидуальные особенности трансгенерационной геномной нестабильности у детей ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС (цитогенетические и иммуногенетические показатели). Радиац. биол. Радиоэкол. 2008. Т. 48. № 2. С. 278-286).

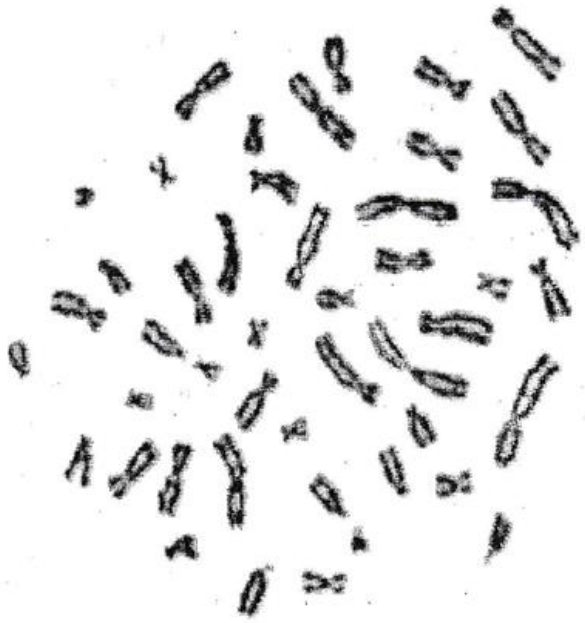
TCR – метод основан на использовании моноклональных антител, меченых разными флуорохромами FITC и PE (фикоэритрин), к CD3 и CD4-антигенам. Одиночная мутация в функционирующем аллеле приводит к

Микрофотографии метафазных пластинок

А. нормальный кариотип (46, XY)



Б. 46, XX, dic (C; C), cbr (C)
дицентрик с сопутствующим парным фрагментом



В. 46, XY, tr (C; G)
реципрокная транслокация,
(т.к. 46, XY, -C, -G, +D, +E)

Рис.2.

тому, что CD3-комплекс не экспрессируется на мембране Т-лимфоцита. Определение количества TCR - мутантных лимфоцитов проводили методом проточной цитофлуориметрии (FACScan, Becton Dickinson, США) с использованием моноклональных антител («Beckman Coulter», Франция) как CD3-негативные клетки среди CD4 - позитивных Т - хелперов (Пинегин Б.В., Ярилин А.А., 2001). Частота мутантов рассчитывалась из соотношения количества клеток с иммунофенотипом $CD3^{-}CD4^{+}$, соответствующий клеткам с генными мутациями по локусу TCR, к общему числу $CD3^{+}CD4^{+}$ клеток. Примеры распределения лимфоцитов по интенсивности связывания с антителами, мечеными флуорохромами, к CD3 и CD4 - антигенам (результаты обследования трех индивидов) показаны на рис. 3.

О готовности клеток к апоптозу судили по уровню предикторов апоптоза - клеток с иммунофенотипом $CD95^{+}$, экспрессирующих на поверхности мембраны FAS/APO1 – маркер апоптоза, методом проточной цитофлуориметрии.

Эти исследования были выполнены совместно с лабораторией иммунодиагностики и иммунокоррекции ФГБУ НМИЦ трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова (зав. лаб. д.м.н., профессор Сускова В.С.).

2.4. Анализ мутаций в мини-/микросателлитных локусах ДНК

В этом разделе представлены материалы по описанию методики анализа мутаций в мини-/микросателлитных локусах ДНК, изложенные в публикации автора по теме диссертации (Шайхаев Г.О., **Кузьмина Н.С.**, Мязин А.Е., Панушкина О.Г., Рубанович А.В., Хаймович Т.И., Снигирева Г.П. Изучение частоты мутаций в мини- и микросателлитных локусах ДНК в клетках членов семей работников атомной промышленности, работавших с тритием и его окисью. Радиац. биол. Радиоэкол. 2008. Т. 48. № 6. С. 690-697).

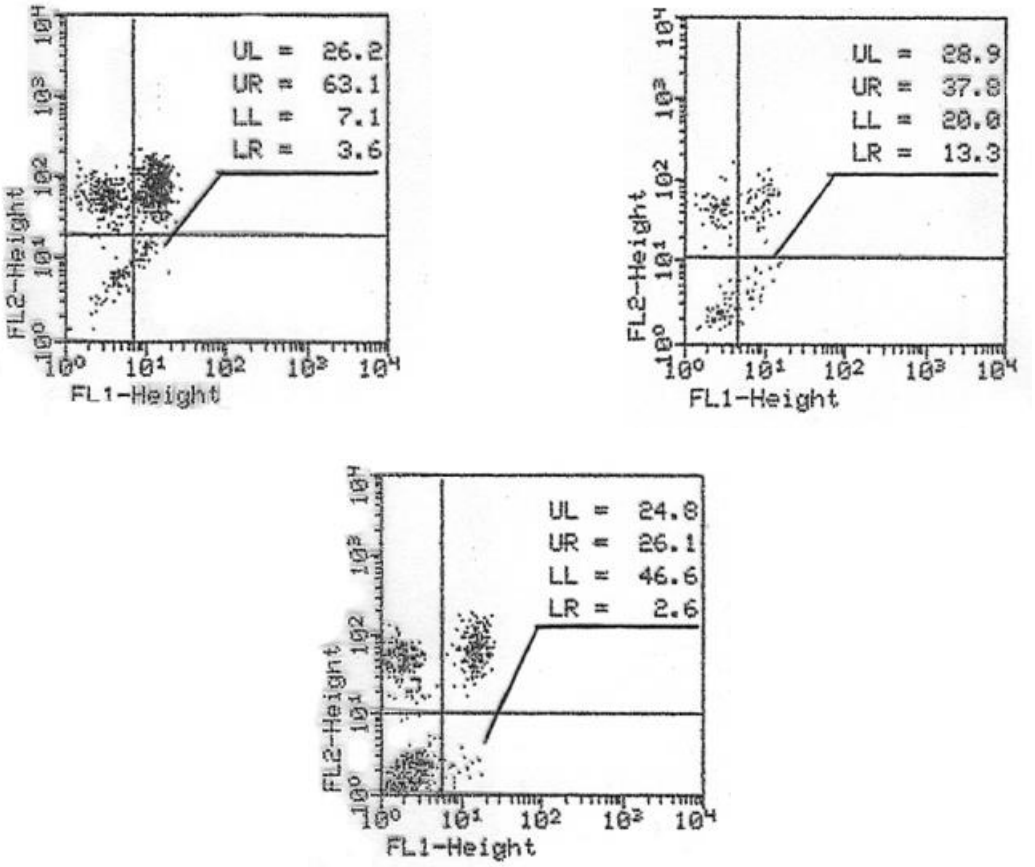


Рис. 3. Распределение лимфоцитов по интенсивности связывания с антителами, мечеными флуорохромами, к CD3 и CD4 – антигенам (примеры). По оси абсцисс: интенсивность связывания с антителами (меченые ФИТЦем) к CD4 – антигену. По оси ординат: интенсивность связывания с антителами (меченые фикоэритрином) к CD3 – антигену.

LR – лимфоциты с иммунофенотипом $CD3^{-}CD4^{+}$

UR – лимфоциты с иммунофенотипом $CD3^{+}CD4^{+}$

Характеристика исследованных МНС и МКС локусов представлена в таблице 4. Выбор данных локусов обусловлен, с одной стороны, минимальным спонтанным уровнем мутирования, а с другой – их широким применением для идентификации личности человека.

ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови с помощью наборов Diatom DNA prep (ООО “Лаборатория Изоген“), руководствуясь прилагаемой инструкцией. Набор основан на использовании лизирующего реагента с гуанидинтиоцианатом, который предназначен для лизиса клеток,

Таблица 4. Характеристика исследованных МКС и МНС локусов

Локус	Длина повтора, п.н.	Число аллелей локуса	Диапазон размеров аллелей, п.н.	Гетерози-готность, %
МКС				
LPL	4	8	110-138	69,4
VWA	4	12	123-171	82,2
D3S1358	4	9	105-156	78,9
D5S818	4	10	119-155	77,9
D19S433	4	10	104-144	78,5
Penta D	5	16	385-450	86,3
FGA	4	16	241-396	85,9
SE33	4	42	270-320	94,7
Penta E	5	18	379-474	88,2
CSF1P0	4	10	321-357	81,2
D18S51	4	18	290-366	88,2
МНС				
IgH	50	7	470-920	69,0
D1S111	37	14	378-859	67,0
D1S80	16	28	430-650	81,9
ApoB	15	12	541-871	77,5
D17S5	70	11	170-940	86,5

солюбилизации клеточного дебриса, а также для денатурации клеточных нуклеаз. Выход ДНК из крови составляет 5 - 10 мкг на 200 мкл крови. Для ПЦР-амплификации исследуемых локусов использовались готовые

реакционные наборы Genepack STR Scan (ООО «Лаборатория Изоген»), рассчитанные на проведение одной реакции в объеме 20 мкл и представляющие собой лиофилизованные в отдельной реакционной пробирке сухие смеси. Каждая пробирка с готовой смесью содержит ингибированную для "горячего старта" Taq ДНК полимеразу, пару праймеров, дезоксинуклеозидтрифосфаты и хлорид магния с конечными концентрациями, соответственно, 1Е, 0,5 мкМ, 200 мкМ и 2,5 мМ, а также оптимизированную буферную систему для проведения одной стандартной ПЦР. Протокол проведения ПЦР состоял из минимального количества операций - добавления к готовому ПЦР-Мастермиксу ПЦР-растворителя, исследуемой ДНК и бидистиллированной воды. В качестве отрицательного контроля использовали амплификационную смесь, состоящую из всех ПЦР-компонентов, кроме ДНК человека. Для амплификации использовали термоциклер «MyCycler» (Bio-Rad). На предварительном этапе были отработаны и оптимизированы условия ПЦР-амплификации ДНК по каждому локусу. При отработке экспериментальных условий основное внимание отводилось получению воспроизводимых результатов, посредством стандартизации каждого этапа эксперимента.

На модельной популяции случайной выборки численностью 24 человека (разного пола) были отработаны профили амплификационных программ для каждой локусспецифической пары праймеров (таблица 5).

Аналитический электрофорез амплифицированных фрагментов ДНК проводили: МНС - в 1,5%-ном агарозном геле, а МКС - в 8% полиакриламидном геле. Порядок нанесения образцов на гель был стандартизован: отец, ребенок, мать. Использовали маркер молекулярных весов - ДНК-ладдер (ООО «Лаборатория Изоген»), состоящий из десяти фрагментов с диапазоном размеров от 100 до 1000 п.н. для МНС и диапазоном от 50 до 500 п.н. для МКС. Для характеристики МКС в полиакриламидном геле использовали маркер молекулярной массы

Таблица 5. Программы амплификации МКС и МНС локусов.

азвание локуса	Денатура-ция предварит. темп./время	Денатура-ция темп./вре-мя	Отжиг, темп./время	Синтез, темп./время	Заключитель-ный синтез, темп./время	Кол-во циклов
МКС						
VWA *LPL*	95^0C/2 мин	95^0C/40 сек	60^0C/40 сек	74^0C/60 сек	74^0C/15 мин	33-35
D5S818 *D3S1358* *D19S433*	95^0C/2 мин	95^0C/40 сек	58^0C/40 сек	74^0C/60 сек	74^0C/15 мин	33-35
FGA	95^0C/2 мин	95^0C/50 сек	58^0C/40 сек	74^0C/60 сек	74^0C/15 мин	33-35
Penta E *Penta D* *CSF1PO* *D18S51* *SE33*	95^0C/2 мин	95^0C/50 сек	60^0C/40 сек	74^0C/60 сек	74^0C/15 мин	33-35
МНС						
D1S80	95^0C/2 мин	95^0C/50 сек	66^0C/50 сек	74^0C/90 сек	74^0C/15 мин	33-35
ApoB			50^0C/50 сек			
D17S5			60^0C/50 сек			
IgH			66^0C/50 сек			
D1S111			62^0C/50 сек			

ДНК - ладдер М12, состоящий из 33 фрагментов с диапазоном от 112 до 496 п.н. с шагом 12 п.н. (ООО «Лаборатории Изоген»). Документирование гелей проводили в проходящем УФ-свете с помощью видеосистемы Gel Imager (Россия), состоящей из видеокамеры «Samsung», подключенной к персональному компьютеру, и программного обеспечения. С целью выявления новых неродительских полос сравнивали электрофореграммы продуктов ПЦР ДНК родителей и их детей. Если полоса потомка на электрофореграмме была смещена, по крайней мере, на толщину полосы выше или ниже соответствующей родительской полосы, делали вывод о

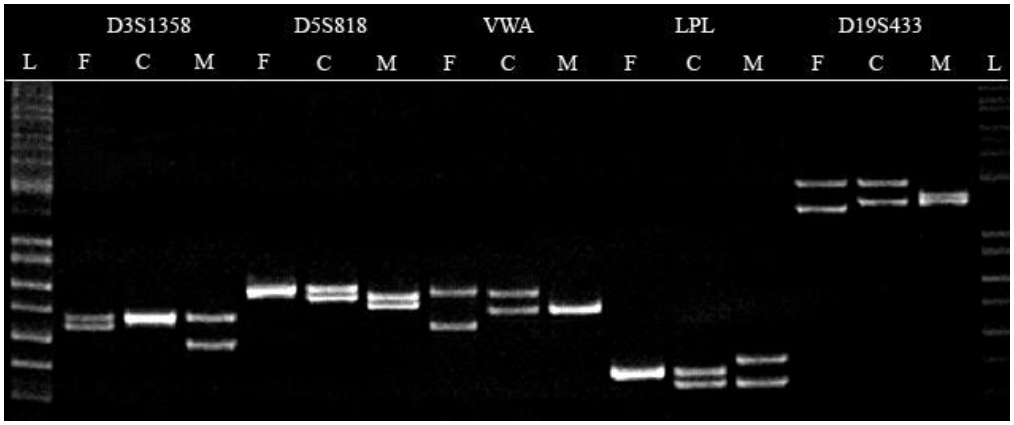
наличии мутации. Если в образце ДНК потомка отсутствовала какая-либо из родительских полос, это свидетельствовало о делеции соответствующего аллеля, то есть нуль-мутации. Примеры электрофореграмм представлены на рис. 4. Во всех случаях при выявлении у потомка неродительской полосы проводилось несколько повторных амплификаций соответствующих МНС и МКС локусов с последующим электрофорезом для получения воспроизводимых результатов (рис. 5).

2.5. Анализ гиперметилирования CpG-островков промоторов генов

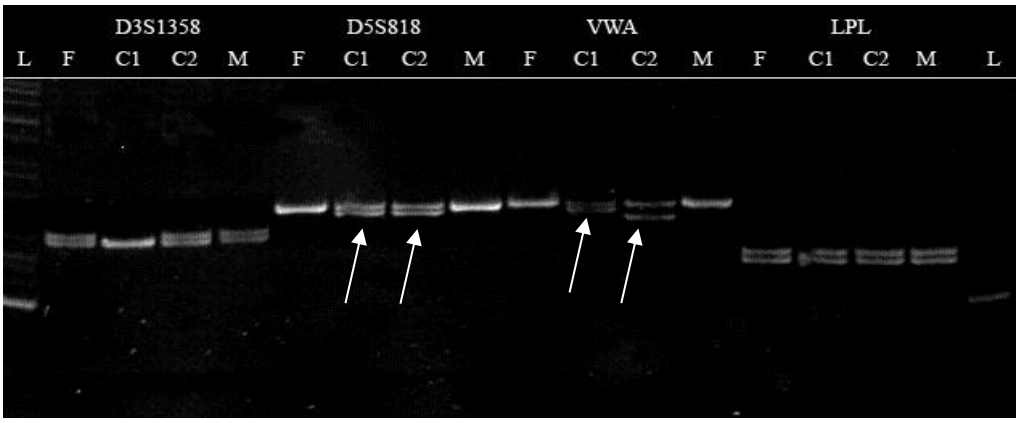
В этом разделе представлены материалы по описанию методики анализа гиперметилирования CpG-островков промоторов генов, изложенные в публикациях автора по теме диссертации (**Кузьмина Н.С.,** Мязин А.Е., Лаптева Н.Ш., Рубанович А.В. Изучение аберрантного метилирования в лейкоцитах крови ликвидаторов аварии на ЧАЭС. Радиационная биология. Радиоэкология. 2014. Т.54. № 2. С. 127-139; **Кузьмина Н.С.**, Лаптева Н.Ш., Русинова Г.Г., Азизова Т.В., Вязовская Н.С., Рубанович А.В. Гиперметилирование промоторов генов в лейкоцитах крови человека в отдаленный период после перенесенного радиационного воздействия. Радиационная биология. Радиоэкология. 2017. Т.57. № 4. С. 341 – 356).

В двух независимых выборках облученных лиц (и соответствующих контрольных групп) проведен анализ метилирования отдельных CpG–динуклеотидов CpG–островка промоторного района генов клеточного цикла (*p16/INK4A, p14/ARF, RASSF1A*) и детоксикации ксенобиотиков (*GSTP1*). В выборке работников ПО «Маяк» (и соответствующей контрольной группы) кроме этих генов, проведено исследование данных эпигенетических модификаций в следующих локусах: *p53, ATM, SOD3* и *ESR1*. Выбор генов был основан на анализе современной научной литературы и научно-информационных баз данных (PubMed, MEDLINE, OMIM, HuGENavigator, SNP500Cancer), результаты которого свидетельствуют о потенциальной сопряженности гиперметилирования рассматриваемых генов с индукцией

A



B



C

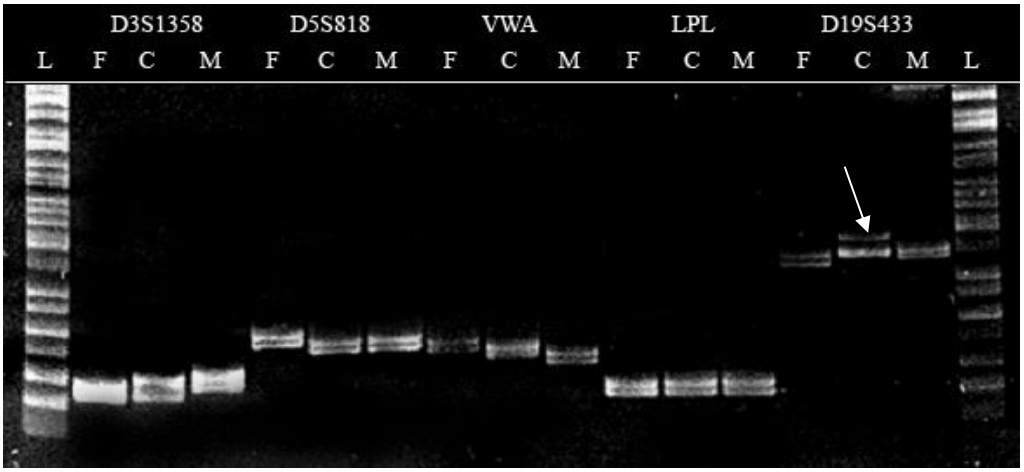
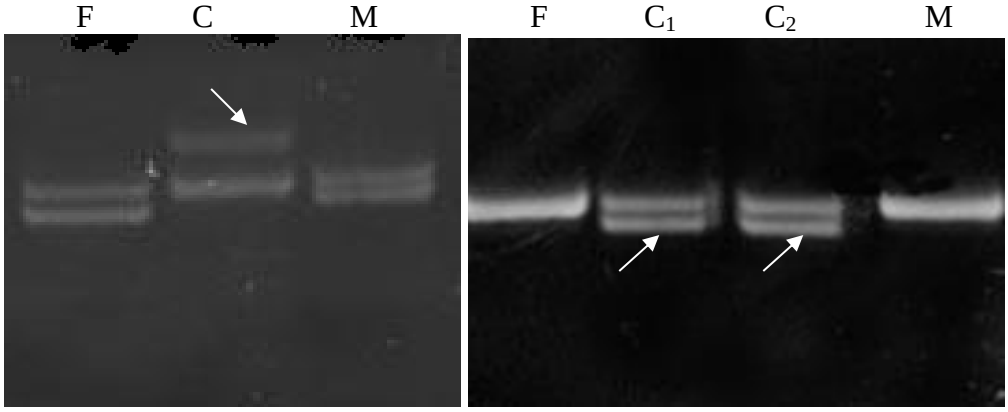


Рис. 4. Электрофореграммы продуктов амплификации МКС локусов (примеры)

L – ДНК-ладдер, F – отец, C – ребенок, M – мать.
Стрелками обозначены неродительские полосы (мутации) у потомков.
A - семья контрольной группы - по всем 5 локусам мутации не выявлены;
B - семья из группы профессионалов-атомщиков - мутации по локусам D5S818 и VWA;
C - семья из группы профессионалов-атомщиков - мутация по локусу D19S433.

A. Семья № 13 профессионала-атомщика D19S433

B. Семья № 3 профессионала-атомщика D5S818



C. Семья № 3 профессионала-атомщика VWA

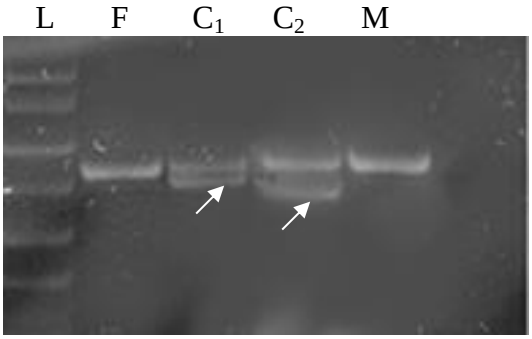


Рис.5. Электрофореграммы продуктов повторной амплификации микросателлитных локусов.

L – ДНК-ладдер
F - отец
C - ребенок
M – мать
Стрелками обозначены неродительские полосы (мутации) у потомков.

возраст-ассоциированных патологий (в первую очередь, сердечно-сосудистые и онкологические заболевания).

Анализ метилирования отдельных CpG–динуклеотидов CpG–островков был выполнен с использованием метилчувствительной ПЦР (МЧ-ПЦР). Метод основан на способности метилчувствительных рестриктаз гидролизовать только неметилированные участки узнавания, а участки узнавания, содержащие 5-метилцитозин, остаются нерасщепленными. Нами была использована рестриктаза AciI (5'…C↓C GC…3'). На предварительном этапе были отработаны и оптимизированы условия рестрикции и PCR-амплификации ДНК по каждому локусу. При отработке экспериментальных условий основное внимание отводилось получению воспроизводимых результатов, посредством стандартизации каждого этапа эксперимента.

Реакцию рестрикции проводили с использованием стандартного протокола фирмы “Fermentas” (Литва), который был нами модифицирован и адаптирован для работы с малыми количествами ДНК. Геномную ДНК (15 нг) обрабатывали 1 ед. акт. фермента AciI в 10xBuffer O в течение 1 часа при 37^0C. Общий объем реакционной смеси составлял 20 мкл. На следующем этапе для амплификации брали 3,3 мкл этой смеси, содержащей 2,5 нг гидролизованной ДНК. Такой подход, с одной стороны, позволил создать оптимальные условия для максимальной полноты гидролиза (при наличии сохранности ДНК, то есть отсутствия “star activity”), а, с другой, использовать в исследовании минимальное количество биологического материала.

Образцы ДНК до и после гидролиза использовали в качестве матрицы для амплификации фрагментов промоторов вышеперечисленных генов. На рис. 6, в качестве примера, показана нуклеотидная последовательность проанализированного участка промотора гена *p16/INK4A*, содержащего 23 CpG–пары, (C+G) = 242 (242/367 = 0,66), $CG_{наблюдаемое}/CG_{ожидаемое}$ = 0,64 (23/36). Таким образом, анализируемый фрагмент соответствует CpG – островку. В табл. 6 представлено общее количество AciI – сайтов в исследованных

F →

GGATTTCTTTTTAACAGAGTGAACGCACTCAAACACGCCTTTGCTGGCAGGCGGG
GGAGCGCGGCTGGGAGCAGGGA

GGCCGGAGGGCGGTGTGGGGGGCAGGTGGGGAGGAGCCCAGTCCTCCTTCCTTGC
CAACGCTGGCTCTGGCGAGGGC

TGCTTCCGGCTGGTGCCCCCGGGGGAGACCCAACCTGGGGCGACTTCAGGGGTGC
CACATTCGCTAAGTGCTCGGAG

TTAATAGCACCTCCTCCGAGCACTCGCTCACGGCGTCCCCTTGCCTGGAAAGATA
*CCGC*GGTCCCTCCAGAGGATTT
*

GAGGGACAGGGTCGGAGGGGGCTCTT*CCGC*CAGCACCGGAGGAAGAAAGAGGAGG
GGCTGGCTGGTCACCAGAGGGT
*
← R

GGGGCGGACCGCGTGCGCTCGGCGGCTGCGGAGAGGGGGAGAGCAGGCAGCGGGC
GGCGGGGAGCAGC**ATG**

Рис. 6. Нуклеотидная последовательность проанализированного участка промотора гена *p16/INK4A.* CG-динуклеотиды подчеркнуты. Два участка узнавания рестриктазы AciI (SsiI) и соответственно проанализированные CpG-пары выделены курсивом и отмечены *. Позиции прямого (F→) и обратного (←R) праймеров подчеркнуты двумя линиями. ATG кодон – сайт начала транскрипции. Стрелка – направление транскрипции.

фрагментах вышеперечисленных локусов, которое составило от 2 до 7, а доля проанализированных CpG – динуклеотидов от 8,7 до 21,9% в зависимости от изучаемого гена. В табл. 7 указаны последовательности использованных праймеров и условия МЧ – ПЦР. Для ПЦР - амплификации исследуемых локусов использовались готовые реакционные наборы Genepack (ООО «Лаборатория Изоген»), рассчитанные на проведение одной реакции в объеме 20 мкл и представляющие собой лиофилизованные в отдельной реакционной пробирке сухие смеси.

Таблица 6. Проанализированные CpG – динуклеотиды в промоторах генов

Gene	Общее число AciI сайтов в изученных фрагментах промоторов	Общее число CpG – динуклеотидов в проанализированных рестрикционных сайтах	Общее число CpG – динуклеотидов в проанализированных фрагментах промоторов	Проанализированные CpG - динуклеотиды (%)
p16/INK4A	2	2	23	8,7 %
p14/ARF	3	3	35	8,6 %
RASSF1A	7	7	32	21,9 %
GSTP1	4	4	31	12,9%
TP53	3	3	12	25%
ATM	6	6	49	12,2%
SOD3	6	6	35	17,1%
ESR1	2	2	24	8,3%

Таблица 7. Последовательности праймеров и условия метилчувствительной ПЦР

ген	Последовательности праймеров		Размер фрагмента, п.н.	Температура отжига, ^{0}C
	F (прямой)	R (обратный)		
p16/INK4A	TTTAACAGAGTGAACGCAC	TGACCAGCCAGCCCCTCCT	367	68,8
p14/ARF	AGGAGCGGCAGAAAGGAGG	AGTCCCGAATCCTCTGGCACA	289	62,7
RASSF1A	GTAAAGCTGGCCTCCAGAAACACGG	GCAGCTCAATGAGCTCAGGCTCCCC	357	68,8
GSTP1	ACCTGGGAAAGAGGGAAAGGCTT	GAAGACTGCGGCGGCGAAACT	246	62,3
TP53	TCGTGGCTGCTGGGAGTTG	GAATGAGGGAGACAGGTCTGAA	188	60
*ATM (1)**	CCACAGCAGGAACCACAA	GGACGGAAGTGACGACAG	218	60
*ATM (2)**	CTGTCGTCACTTCCGTCC	CCTACTCCCGCTTCCGGTTC	325	60
SOD3	CCTGCCAGGTGCAGCCGT	CGCGAAGTTGCCGAAGTC	266	60
ESR1	TGTGCCTGGAGTGATGTTTA	CAGGGCAGAAGGCTCAGAA	320	60
RAR β2	AGAGTTTGATGGAGTTGGGT	CATTCGGTTTGGGTCAATCC	229	60,5
Ing1-2	AGATCCTGAAGGAGCTAGAC	TGGTTGCTGGACGCGTTCTCA	361	60,5

*Анализируемый участок промотора гена *ATM* был разделен на 2 отдельных фрагмента

Амплификацию проводили с применением программируемого термостата “GeneAmp^{R} PCR System 9700” (США).

Аналитический электрофорез амплифицированных фрагментов ДНК проводили в 2,0%-ном агарозном геле, при этом в карманы вносили одинаковый объем (20 мкл) продуктов ПЦР нативной и гидролизованной ДНК. Положительным контролем амплификации служила негидролизованная (нативная) ДНК этих же людей. В качестве отрицательного контроля использовали амплификационную смесь, состоящую из всех ПЦР-компонентов, кроме ДНК. В качестве контроля сохранности ДНК после гидролиза (исключение ложноотрицательного результата) проводили амплификацию гена *RAR-β2*, не содержащего участков узнавания используемой рестриктазы. Положительным контролем метилирования служили продукты ПЦР гидролизованной ДНК второго экзона гена *ING1* (CpG - островок). Как видно из рис. 7, в этом случае сигнал амплификации негидролизованной и гидролизованной ДНК имеет одинаковую интенсивность, что указывает на метилирование этого CpG - островка во всех матрицах. Метилированная по всем генам ДНК человека (“Fermentas”, Литва) также была использована как позитивный контроль на полноту метилирования всех аллелей в образце ДНК (на рис. 6 не показано). Если при амплификации изучаемых фрагментов промоторов генов соответствующие продукты ПЦР выявлялись только в случае амплификации нативной ДНК, делался вывод об отсутствии метилирования анализируемых CpG-динуклеотидов. Присутствие на электрофореграмме полосы со слабым сигналом указывало на малое количество метилированных аллелей в образце ДНК, то есть на аномальное метилирование, имеющее место в незначительном количестве клеток (рис. 7). При этом, отсутствие сигнала амплификации других локусов, проведенной с использованием этой же гидролизованной ДНК, свидетельствовало о том, что положительный сигнал ПЦР, наблюдаемый для одного (или двух) анализируемых фрагментов, действительно является результатом метилирования отдельных матриц

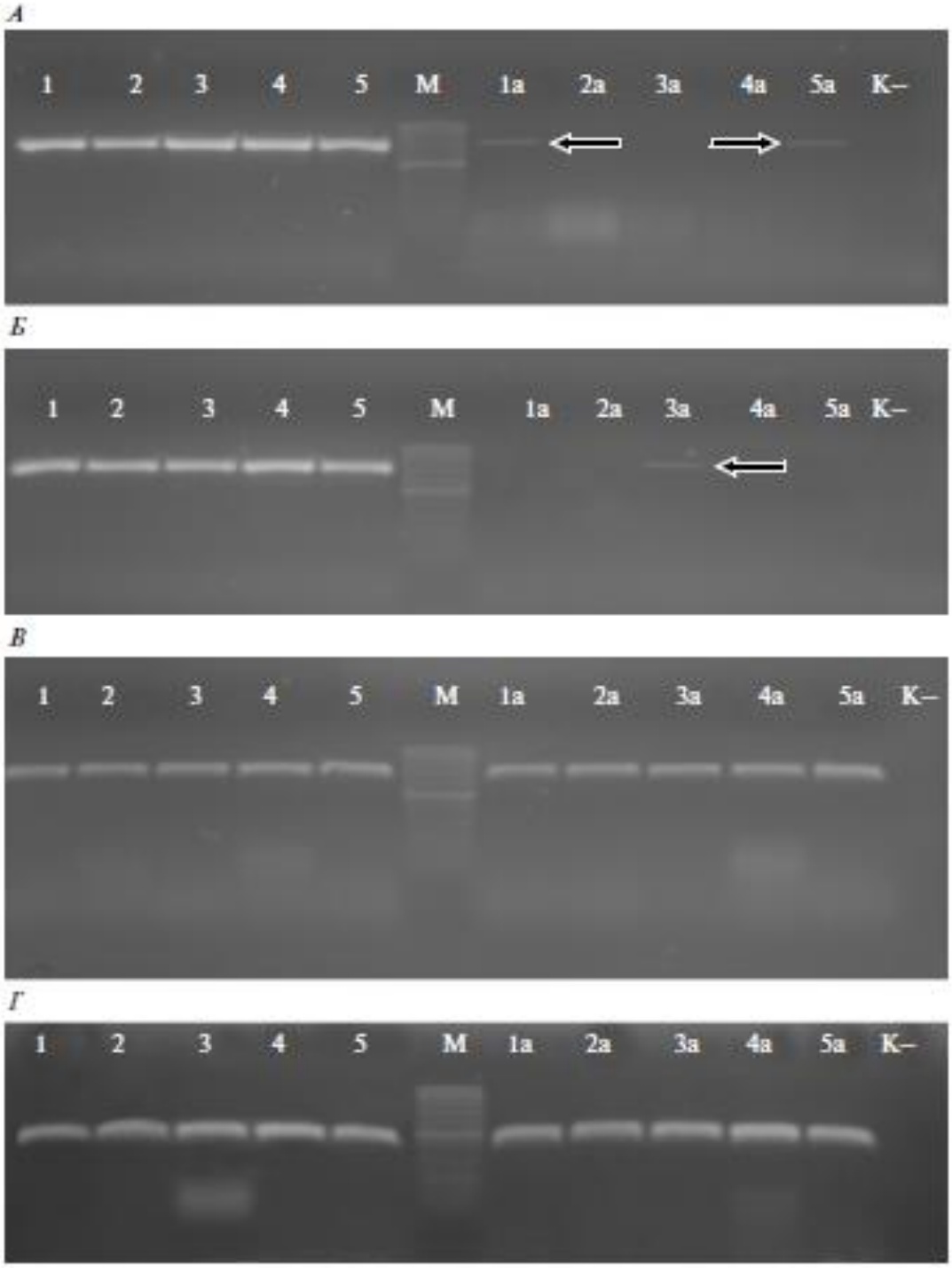


Рис. 7. Анализ метилирования CpG-островков промоторов генов *RASSF1A* и *p16/INK4A* у 5 ликвидаторов (пример).

1–5 – нативные образцы ДНК; 1а, 2а, 3а, 4а – AciI-гидролизованные образцы ДНК. *А* – фрагмент гена *RASSF1A*, *Б* – фрагмент гена *p16/INK4A*,
В – фрагмент 2-го экзона гена *ING1* (положительный контроль метилирования), *Г* – фрагмент гена *RARβ2* (контроль сохранности ДНК),
М – маркер с шагом 50 п.н., К – отрицательный контроль (отсутствие ДНК).
Стрелками показаны выявленные случаи метилирования.

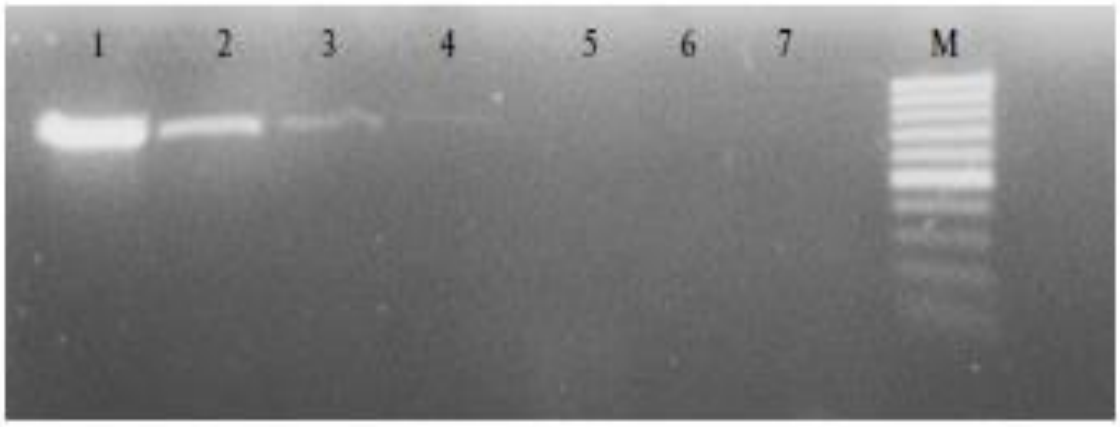


Рис. 8. Определение чувствительности метилчувствительной полимеразной цепной реакции (амплификация гена *p16/INK4A*).

Доля метилированных матриц среди неметилированных: 1 – 100%, 2 – 10%, 3 – 1%, 4 – 0.1%, 5 – 0.01%, 6 – 0.001%, 7– 0%.

образца, а не результатом неполного гидролиза ДНК. Таким образом, исключался ложноположительный результат. Результаты каждого анализа были воспроизведены в трех независимых экспериментах по постановке рестрикции с последующей амплификацией образцов ДНК.

Чувствительность МЧ-ПЦР определялась в эксперименте с серией амплификаций образцов ДНК, полученных разведением полностью метилированной человеческой ДНК (модификация метилтрансферазой SssI в условиях in vitro, “Fermentas”, Литва) в заранее исследованной неметилированной по изученным генам ДНК одного донора. Чувствительность МЧ-ПЦР, определенная этим методом, составляет 0,1 – 1 % метилированных матриц в образце ДНК (рис. 8). Выбор метода изучения гиперметилирования генов продиктован относительной дешевизной, высокой чувствительностью и воспроизводимостью в серии независимых экспериментов.

2.6. Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью программ WINPEPI (PEPI-for-Windows) (Abramson J.H., 2011), WinStat для Excel, SPSS 20.0.0. общепринятыми статистическими методами. Значимость различий между группами оценивалась с помощью точного критерия Фишера, критерия Манна-Уитни, непараметрического ANOVA теста (критерий Краскала–Уоллиса) и теста Вальда (для логистической регрессии). Для анализа многомерной изменчивости всей совокупности данных была использована программа кластеризации из пакета «STATISTICA 6». Корреляционный и регрессионный (множественная регрессия, логистическая регрессия) анализы были использованы с целью анализа зависимости между исследуемыми показателями.

Прогностическая эффективность генетических/эпигенетических тестов оценивалась с помощью ROC-анализа (анализ характеристической кривой).

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Цитогенетические эффекты у лиц, проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями после аварии на ЧАЭС

В данном разделе представлены результаты исследований, которые изложены в публикациях автора по теме диссертации (Сусков И.И., **Кузьмина Н.С.,** Балева Л.С., Сипягина А.Е. Проблема индуцированной геномной нестабильности как основы повышенной заболеваемости у детей, подвергающихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах. Радиобиология. Радиоэкология. 2006.Т.46. № 2. С. 167-177; Сусков И.И., Агаджанян А.В., **Кузьмина Н.С.,** Елисова Т.В., Иофа Э.Л., Нилова И.Н., Акаева Э.А., Кузнецова Г.И., Рубанович А.В., Цховребова Л.В., Балева Л.С., Сипягина А.Е. Проблема трансгенерационного феномена геномной нестабильности у больных детей разных возрастных групп после аварии на ЧАЭС. Радиобиология. Радиоэкология. 2006. Т.46. № 4. С.466-474; **Н.С. Кузьмина**, И.И. Сусков, В.А. Шевченко. Феномен геномной нестабильности в организме детей, подвергающихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах. Материалы 6-ой Междунар. конф. «Экология человека и природа». Москва-Плес. 5-11 июля 2004. С. 112 – 117; **Н.С. Кузьмина**, И.И. Сусков, В.А. Шевченко. Дисгеномные эффекты в организме детей, подвергающихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах. Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии. Под ред. Н.Н. Ильинских. Томск. Сибирский госуд. мед. университет. 2004. С. 9-14; Suskov I.I., **Kuzmina N.S.** , Baleva L.S. , Sipyagina A.E. The problem of induced genome instability as the basis for elevated morbidity among children exposed by low-rate radiation at small doses. In book: 20 Years After the Chernobyl Accident: Past, Present and Future. 2007. New-York, Nova Science Publishers, Inc. C. 39-54; **Nina S. Kuz'mina**, Victoriya S. Suskova, Anna V. Aghajanyan, Igor I. Suskov. The problem of induced genomic instability in children born from irradiated parents: individual peculiarities of expression, significance of genotype, role in biological resistance of an organism. In book: Seminar of Ecology. 2012, Sofia. P. 93-106

На рис. 9-12 представлены частоты обследованных детей и их родителей - носителей различных видов цитогенетических нарушений. В табл. 8 – 10 представлены типы и частоты структурных аберраций хромосом у детей этих же групп. Следует сразу отметить, что у необлученных детей

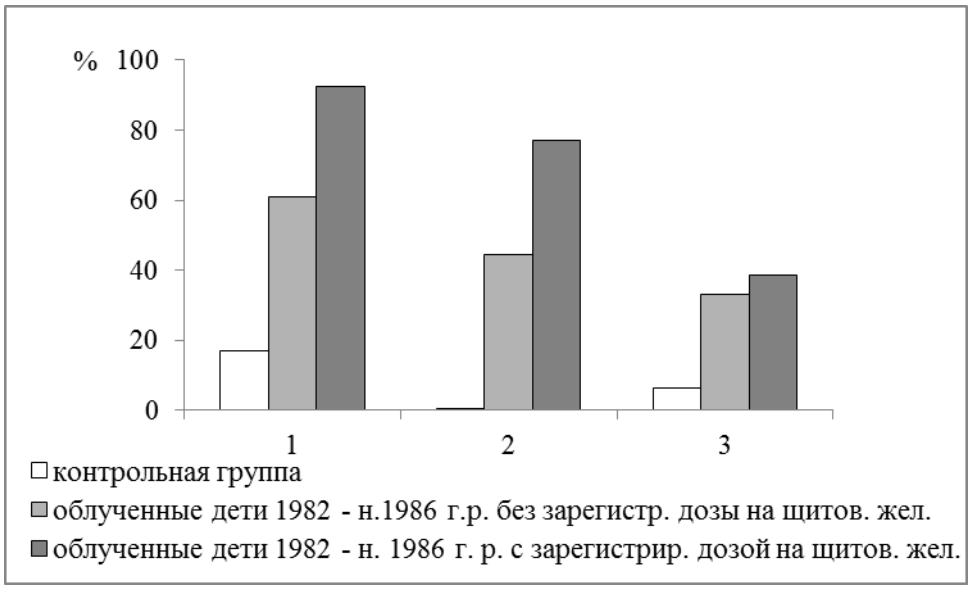
(контрольная группа) преобладали одиночные хроматидные фрагменты, редко встречались парные хромосомные фрагменты и отсутствовали сложные обменные хромосомные перестройки-маркеры радиационного воздействия (дицентрики, кольца, транслокации, инверсии).

3.1.1. Цитогенетические показатели у детей, подвергшихся радиационному воздействию во время аварии в 1986 году

В данном разделе представлены результаты изучения спектра и частоты хромосомных нарушений у детей, родившихся до аварии (1982-1986 гг.), то есть подвергшихся облучению во время Чернобыльской катастрофы, как правило, в период раннего детства, и продолжающие проживать в условиях пролонгированного воздействия радиации. Вторую группу составили дети, подвергшиеся максимальной дозовой нагрузке в антенатальный период своего развития (12-37 недели беременности). В связи с малочисленностью выборки и отсутствием зависимости уровней хромосомных нарушений от гестационного периода развития организма (триместра беременности), приводятся обобщенные результаты цитогенетических исследований.

Максимальные средние частоты аберраций как хроматидного, так и хромосомного типа выявлены в подгруппе детей, облученных во время аварии в постнатальный период развития и характеризующихся зарегистрированной дозовой нагрузкой на щитовидную железу, достигающую 2000 мЗв и выше. Частота лиц – носителей аберраций хромосомного типа также была максимальной в этой подгруппе, в частности почти 80 % обследованных детей имели такие сложные обменные хромосомные перестройки как дицентрики, кольца, транслокации, инверсии (рис. 9, табл. 8). Более чем у одной трети детей встречались анеуплоидные и полиплоидные клетки. В целом, общая частота разрывов хроматид почти в 5 раз превышала таковой показатель в контрольной группе. Поэтому, в дальнейшем при сравнительной оценке цитогенетического статуса детей

разных групп, проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями, из анализа были исключены дети этой подгруппы.



1. простые аберрации хромосомного типа
2. обменные перестройки хромосомного типа
3. анеуплоидии и полиплоидии

Рис. 9. Дети, родившихся до аварии и постоянно проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями – носители различных видов хромосомных и геномных нарушений.

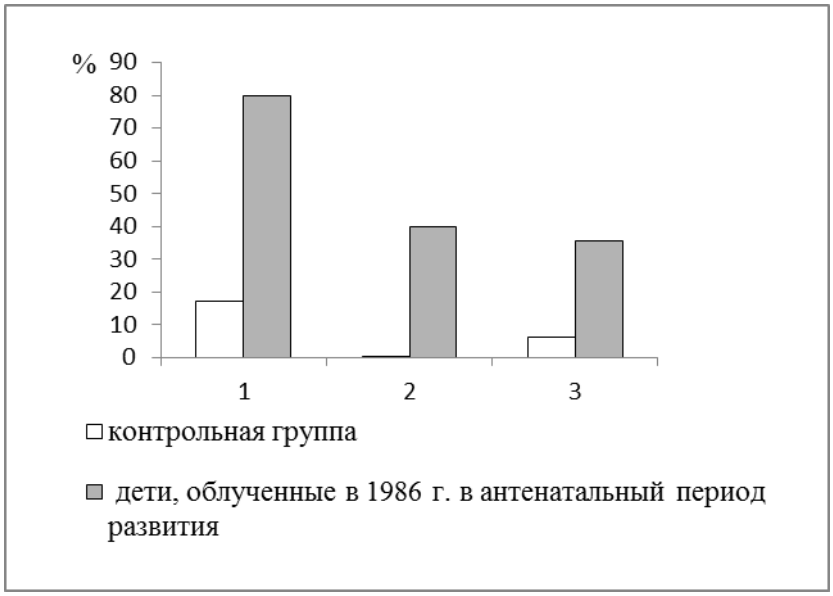
В другой подгруппе детей, подвергшихся облучению во время аварии на ЧАЭС будучи в постнатальном периоде онтогенеза, более чем половина индивидов характеризовалась наличием простых аберраций хромосомного типа, а у более 40 % выявлены сложные обменные хромосомные перестройки. Почти треть детей являлась носителями спорадических анеуплоидных и полиплоидных клеток (рис. 9). У постнатально облученных детей все цитогенетические показатели, кроме частоты хроматидных фрагментов статистически значимо превышали контрольный уровень. Уровень аберрантных клеток и разрывов хроматид в 1,5 – 2 и более раза были выше таковых показателей в контроле (табл. 8).

Таблица 8. Частоты и типы структурных аберраций хромосом у детей, родившихся до аварии и постоянно проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями

Обследованные дети		Количество проанализирован-ных метафаз	аберрантные клетки, %	аберрации хроматидного типа, частота на 100 клеток	аберрации хромосомного типа, частота на 100 клеток		Разрывы хроматид, всего/частота на 100 клеток
					парные фрагменты+ центромерные разрывы+ делеции	дицентрики + кольца + реципрокные транслокации + инверсии	
дети-жители территорий с радионуклидными загрязнениями	с зарегистр. дозой на щитов. железу (13 чел.)	3672	3,21±0,37[c] (1,33 ÷ 6,0)	1,87 ±0,30 (0,33 ÷ 3,67)	0,87±0,20 [c] (0 ÷ 2,22)	0,57±0,13 [c] (0 ÷1,33)	5,99±0,86 [c] (2,33 ÷12,0)
	с незарегистр. дозой на щитов. железу (19 чел.)	5440	1,67±0,22[a] (0,33 ÷ 4,0)	1,10 ±0,22 (0,33 ÷ 3,57)	0,40±0,09[b] (0 ÷ 1)	0,21±0,06 [a] (0 ÷ 0,67)	2,74 ±0,35[c] (0,33 ÷5,67)
Контроль (24 чел.)		6720	1,15±0,12 (0,33÷2,0)	1,06±0,21 (0,33÷2,0)	0,09±0,02 (0÷0,5)	0	1,24±0,14 (0,33 ÷2,5)

Примечание. В скобках показан размах варьирования индивидуальных показателей. Статистически значимые различия по сравнению с контролем: *a, b, c* - $p<0,05$; $p<0,01$; $p<0,001$, соответственно.

На рис. 10 и в табл. 9 представлены результаты цитогенетического обследования 15 детей, подвергшиеся внутриутробному облучению во время аварии на ЧАЭС в 1986 г. и продолжающих подвергаться постнатальному воздействию радиации в малых дозах. У большинства этих детей, как практически у всех детей обследованных групп, выявлены хроматидные



1. простые аберрации хромосомного типа
2. обменные аберрации хромосомного типа
3. анеуплоидии и полиплоидии

Рис. 10. Дети, подвергшиеся внутриутробному облучению во время аварии на ЧАЭС в 1986 г. и постоянно проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями – носители различных видов хромосомных и геномных нарушений.

фрагменты. Носителями простых аберраций хромосомного типа являлись 80% детей этой группы, а у 40 % выявлены сложные обменные хромосомные перестройки. Чуть более трети детей характеризовались наличием спорадических анеуплоидных и полиплоидных клеток (рис.10).

У детей, подвергшихся облучению во время аварии будучи в антенатальном периоде развития, все цитогенетические показатели, включая частоту хроматидных фрагментов, статистически значимо превышали

Таблица 9. Частоты и типы структурных аберраций хромосом у детей, подвергшиеся облучению во время аварии на ЧАЭС в 1986 г. в антенатальный период развития и постоянно проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями

Обследованные дети	Количество проанализированных метафаз	Аберрантные клетки, %	аберрации хроматидного типа, частота на 100 клеток	аберрации хромосомного типа, частота на 100 клеток		Разрывы хроматид, всего/частота на 100 клеток
				парные фрагменты+ центромерные разрывы+ делеции	дицентрики + кольца + реципрокные транслокации + инверсии	
дети, облученныев антенатальный период онтогенеза во время аварии на ЧАЭС (15 чел.)	4385	2,21±0,22[b] (0,5 ÷ 3,6)	1,57±0,19[a] (0,5 ÷ 3,33)	0,39±0,09 [b] (0 ÷ 1,2)	0,25±0,07[a] (0 ÷ 0,83)	3,52±0,43[c] (2,33 ÷12,0)
Контроль (24 чел.)	6720	1,15±0,12 (0,33÷2,0)	1,06±0,21 (0,33÷2,0)	0,09±0,02 (0÷0,5)	-	1,24±0,14 (0,33 ÷2,5)

Примечание. В скобках показан размах варьирования индивидуальных показателей. Статистически значимые различия по сравнению с контролем: *a, b, c* - $p<0,05$; $p<0,01$; $p<0,001$, соответственно.

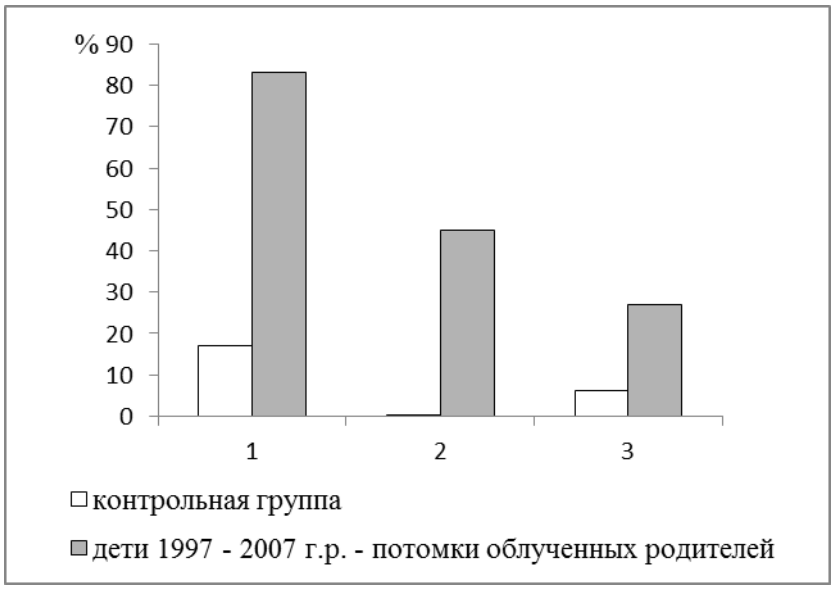
контрольный уровень. Уровени аберрантных клеток и разрывов хроматид, были, соответственно, в 2 и 3 раза выше, чем таковые показатели в контроле (табл. 9).

Таким образом, в данном разделе были рассмотрены цитогенетические эффекты у детей, подвергшихся облучению во время аварии на ЧАЭС в антенатальный или постнатальный период онтогенеза и продолжающих проживать в условиях пролонгированного облучения в малых дозах. Следовательно, эти дети накопили наибольшую среднюю эффективную дозу облучения к моменту обследования, которая на основании справочных данных приблизительно составляет 30-35 мЗв. В дальнейшем, частоты аберраций хромосом у детей этих двух групп будут использованы для сравнения с таковыми у детей – потомков облученных родителей, родившихся после аварии, в том числе спустя почти 20 лет, то есть характеризующихся многократно меньшими дозами облучения.

3.1.2. Цитогенетические показатели в семьях с детьми, рожденными после аварии в 1987 - 2007 гг.

На рис. 11 и табл. 10 представлены обобщенные результаты цитогенетического обследования 80 детей 1987-2007 гг.р. (потомки облученных отцов и матерей) и их родителей (75 чел.), постоянно проживающих в условиях низкоинтенсивного действия радиации в малых дозах.

У большинства обследованных детей (98%), родившихся после аварии на ЧАЭС от облученных родителей выявлены одиночные хроматидные фрагменты, однако доля детей-носителей аберраций хромосомного типа оказалась иной, чем в контрольной группе (рис. 10). В группе детей, родившихся после аварии в 1987-2007 гг. от облученных родителей, 66 из 80 человек (83%) являлись носителями простых аберраций хромосомного типа, а у 36 детей (45 %) выявлены сложные обменные хромосомные перестройки.



1. парные фрагменты, делеции, разрывы по центромере
1. дицентрики, реципрокные транслокации, кольца, инверсии
2. анеуплоидии и полиплоидии

Рис. 11. Дети, родившихся после аварии на ЧАЭС от облученных родителей, и постоянно проживающие на территориях с радионуклидными загрязнениями – носители различных видов хромосомных и геномных нарушений.

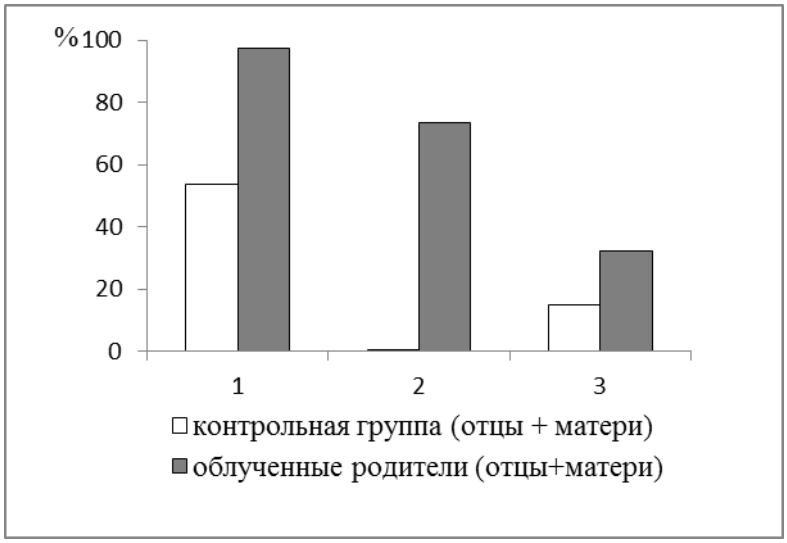
Дети-носители спорадических анеуплоидных и полиплоидных клеток составили 28 % (22 человека) (рис. 11).У большинства родителей (отцов и матерей) - жителей территорий с радионуклидными загрязнениями (99%) выявлены аберрации хроматидного типа: одиночные хроматидные фрагменты и изохроматидные фрагменты, однако доля носителей аберраций хромосомного типа оказалась иной, чем в контрольной группе (рис. 12). Так, у 97 % взрослых облученных индивидов выявлены простые аберраций хромосомного типа, а 73 % индивидов являлись носителями сложных обменных хромосомных перестроек. Матери и отцы - носители спорадических анеуплоидных и полиплоидных клеток составили 32 % (24 человека) (рис. 12).

Табл. 10. Цитогенетические эффекты в геномах лимфоцитов детей 1987-2007 г. р. и их родителей, постоянно проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами

Обследованные лица		Число проанализированных метафаз	Аберрантные метафазы (всего, %)	Аберрации хроматидного типа (всего, частота на 100 клеток)			Аберрации хромосомного типа (всего, частота на 100 клеток)							Разрывы хроматид (всего, частота на 100 клеток)
							простые			обменные				
				одиночные фрагменты	хроматидные обмены	изохроматидные фрагменты	парные фрагменты	центромерные разрывы	делеции	дицентрики	кольца	транслокации	инверсии	
Жители территорий с радионуклидными загрязнениями	дети (n=80)	21620	495 2,22±0,15[b]	334 1,57±0,12	5 0,02±0,01	8 0,04±0,01	75 0,38±0,04[b]	6 0,03±0,02	24 0,13±0,03	15 0,08±0,01	4 0,02±0,02	21 0,11±0,02	2 0,01±0,01	740 3,64±0,16[c]
	отцы (n=25)	5910	164 2,77±0,36[b]	95 1,61±0,26	3 0,05±0,04	5 0,08±0,02	29 0,49±0,12	6 0,10±0,04	8 0,13±0,05	9 0,15±0,05	3 0,05±0,04	5 0,08±0,05	1 0,02±0,01	269 4,55±0,64[c]
	матери (n=50)	12672	326 2,57±0,19[b]	187 1,47±0,12	3 0,05±0,01	5 0,04±0,02	59 0,46±0,07	14 0,11±0,03	19 0,15±0,04	18 0,14±0,04	1 0,01±0,01	16 0,13±0,04	4 0,03±0,02	535 4,22±0,4[c]
Жители «чистых» территорий	дети (n=24)	6720	77 1,15±0,12	71 1,06±0,21	0	0	6 0,09±0,02	0	0	0	0	0	0	83 1,24±0,14
	отцы (n=12)	3100	41 1,32±0,25	32 1,03±0,18	0	0	9 0,29±0,03	0	0	0	0	0	0	50 1,61±0,24
	матери (n=14)	3230	39 1,21±0,22	29 0,90±0,14	0	0	10 0,31±0,03	0	0	0	0	0	0	49 1,52±0,19

[a, b] значимые различия с контролем ([a]$p<0,05$, [b]$p<0,01$)

В таблице 10 представлены спектр и частота аберраций хромосом в клетках родителей (отцов и матерей) и их детей, родившихся после аварии на ЧАЭС в 1987-2007 гг и проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями. В лимфоцитах периферической крови детей – потомков облученных родителей, средние частоты аберрантных клеток составляли 2,22 ± 0,15 %, что значимо превышает контрольный уровень ($p<0.01$). Частота хроматидных аберраций (1,63±0,15 на 100 геномов) в этой группе детей также значимо выше такового показателя в контрольной группе ($p=0,042$). Уровни простых и сложных обменных аберраций хромосомного типа составили 0,54±0,07 и 0,18±0,07 на 100 геномов, соответственно, и значимо превышали ($p<0,001$ и $p=0,012$, соответственно) таковые показатели в контроле. Общая частота разрывов хроматид составила 3,64±0,16 на 100 геномов и существенно превышала ($p<0,01$) контрольный уровень (1,24±0,14



1. парные фрагменты, делеции, разрывы по центромере
2. дицентрики, реципрокные транслокации, кольца, инверсии
3. анеуплоидии и полиплоидии

Рис. 12. Родители обследованных детей, родившихся после аварии на ЧАЭС, постоянно проживающие на территориях с радионуклидными загрязнениями, – носители различных видов хромосомных и геномных нарушений

на 100 геномов) в 3 раза (табл. 10). Средние частоты аберрантных геномов существенно превышают контрольный уровень ($p<0,01$) и составляют у отцов 2,77±0,22 на 100 клеток, у матерей 2,57±0,19 на 100 клеток. Частоты хроматидных аберраций (1,74±0,29 на 100 геномов и 1,56±0,15 на 100 геномов у отцов и матерей, соответственно) у родителей также значимо отличаются ($p<0,05$) от соответствующих контрольных уровней (1,03±0,18 на 100 геномов и 0,90±0,14 на 100 геномов у отцов и матерей, соответственно). Как видно, выявлены все типы простых и обменных аберраций хромосомного типа. У отцов и матерей средние частоты простых аберраций хромосомного типа (парных фрагментов+центромерных разрывов+делеций) составили 0,72±0,06 и 0,72±0,05 на 100 клеток, соответственно, что существенно превышает контрольный уровень ($p<0,001$). Уровни сложных обменных аберраций хромосомного типа составили 0,28±0,07 и 0,31±0,06 на 100 геномов у отцов и матерей, соответственно, и значимо превышали ($p<0,01$) таковые показатели в контроле. Средние частоты разрывов хроматид у отцов и матерей значительно превышают контрольный уровень ($p<0,01$) и составляют 4,55±0,18 и 4,22±0,15 соответственно (табл. 10).

На рис. 13, 14 представлено распределение родителей и их детей по индивидуальным частотам аберрантных клеток и другим цитогенетическим показателям.

Выявлены существенные различия в распределении детей – потомков облученных родителей и детей контрольной группы по частоте аберрантных клеток, аберраций хромосомного типа и разрывам хроматид. По частоте хроматидных фрагментов различия между детьми этих групп не выявлены ($p=0.213$). Как видно из рис. 13, доля детей – потомков облученных родителей с частотой аберрантных клеток 2 % и более (≥ 2%) составляет 55% и значительно превышает такой показатель в контрольной группе (22%): $p=5\cdot10^{-3}$, OR = 4,56, 95% CI: 1,56 – 13,30. Доля индивидуумов – носителей аберраций хромосомного типа также значительно выше, чем в контрольной группе ($p=1,9\cdot10^{-7}$, OR = 14,78, 95% CI: 4,86 – 44,98). Среди

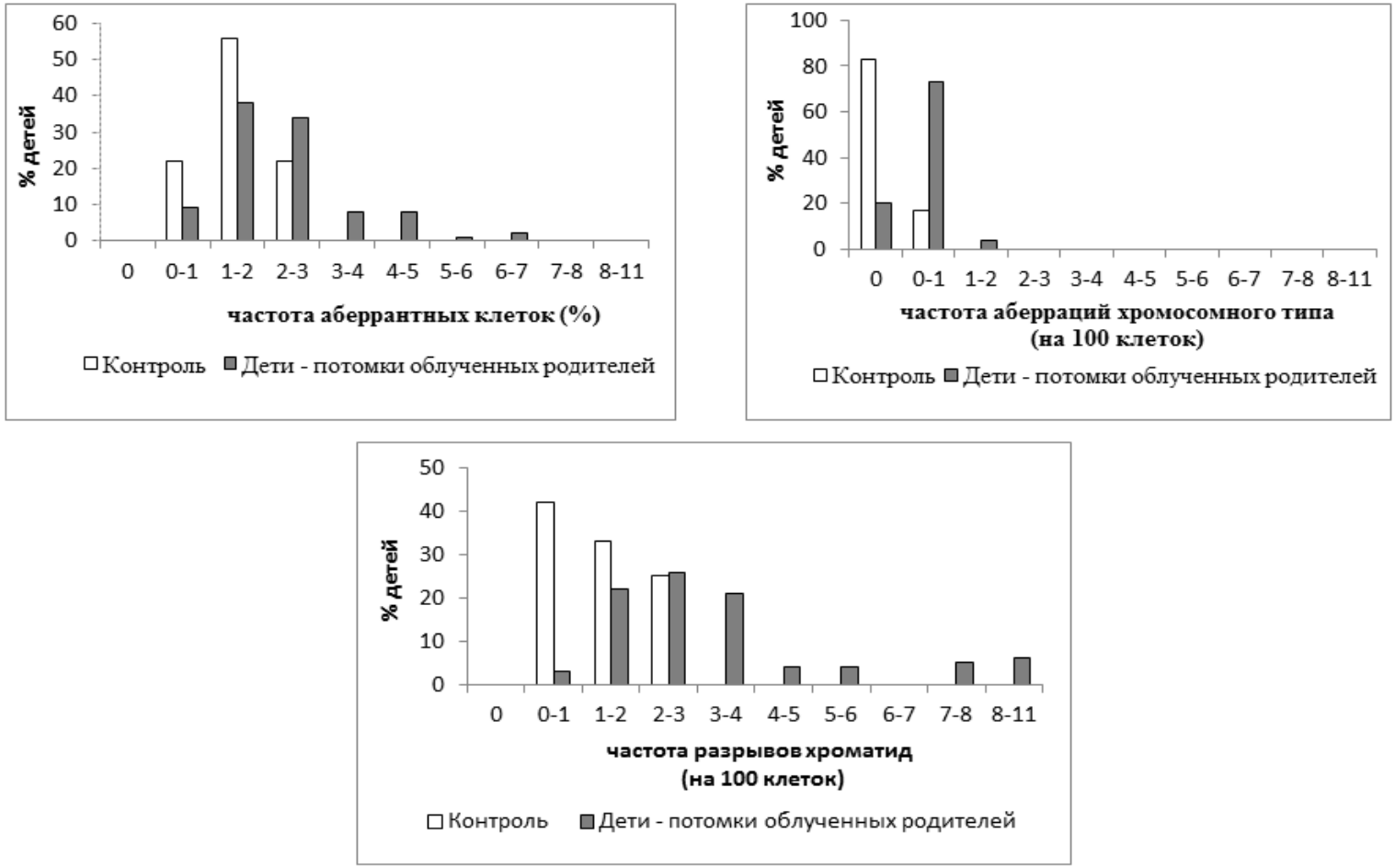


Рис. 13. Распределение детей-жителей территорий с радионуклидными загрязнениями 1987-2007 гг.р. и детей контрольной группы по индивидуальным частотам аберрантных клеток, аберраций хромосомного типа и разрывов хроматид.

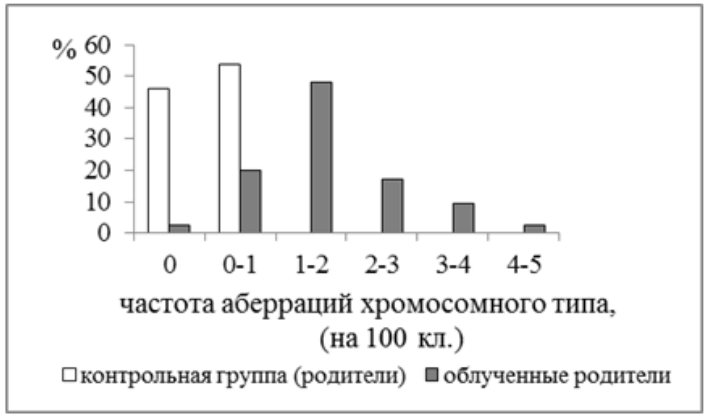


Рис. 14. Распределение родителей - жителей территорий с радионуклидными загрязнениями и родителей контрольной группы по индивидуальным частотам аберрантных клеток, аберраций хромосомного типа и разрывов хроматид.

детей основной группы преобладают индивидуумы (77%) с частотой разрывов хроматид 2 на 100 клеток и более по сравнению с контрольной группой (25 %): $p=4\cdot10^{-6}$, OR=10,20, 95% CI: 3,57–29,14 (рис. 13).

Как видно**,** выявлены существенные различия в распределении родителей контрольной группы и облученных родителей по частоте аберрантных клеток, аберраций хромосомного типа, разрывов хроматид. Доля родителей с частотой аберрантных клеток 2 % и более составляет 68 % и значительно превышает такой показатель в контрольной группе (15,4 %) ($p=6\cdot10^{-6}$, OR = 11,69, 95% CI: 3,63 – 37,68). Частота индивидов – носителей аберраций хромосомного типа также значительно выше, чем в контрольной группе ($p=2,8\cdot10^{-9}$, OR = 12,69, 95% CI: 5,22 – 30,87). Среди родителей основной группы преобладают индивидуумы (91%) с частотой разрывов хроматид более 2 на 100 клеток, тогда как рассматриваемый показатель в контрольной группе составляет 2-4 на 100 клеток у 46% индивидов ($p=8,1\cdot10^{-6}$, OR = 11,3, 95% CI: 3,79 – 33,89). По частоте хроматидных фрагментов различия между родителями двух групп не выявлены (p=0,189) (рис. 14).

Следует отметить, что доля облученных родителей с частотой аберрантных клеток 2 % и более (≥ 2%) составляет 68% и значимо не превышает таковой показатель у их детей (55%): p=0,107, OR = 1,77, 95% CI: 0,93 – 3,36. Тем не менее, доля облученных взрослых лиц – носителей аберраций хромосомного типа (97 %) существенно выше, чем в группе их потомков (80%: p=0,001, OR=9,39, 95% CI: 2,1 – 41,95. Среди родителей основной группы частота индивидов с уровнем разрывов хроматид 2 на 100 клеток и более составляет 91 %, что статистически значимо превышает таковой показатель в группе их потомков (77 %): p=0,033, OR =2,86, 95% CI: 1,13 – 7,20.

С целью более детального анализа спектра и частоты аберраций хромосом у детей – потомков облученных родителей, они были подразделены на три подгруппы (табл. 11) в зависимости от уровней

Таблица 11. Типы и частоты аберраций хромосом в лимфоцитах детей-потомков облученных родителей с различными уровнями аберрантных клеток.

Обследованные дети	Подгруппы детей (число)	Частота аберрантных клеток (%)	Частота аберраций на 100 клеток ± SEM		
			Аберрации хроматидного типа	Аберрации хромосомного типа	
			одиночные фрагменты, хроматидные обмены, изохроматидные фрагменты	ацентрические фрагменты, делеции, центромерные разрывы	дицентрики, кольца, транслокации, инверсии
Дети - жители загрязненных территорий (n=80)	Частоты АК≥2,5% (n=28)	3,90 ± 0,18*, **	2,68 ± 0,20*, **	0,80 ± 0,08*, **	0,36 ± 0,07*, **
	Частоты АК 1,5-2,5% (n=32)	2,01 ± 0,26*, **	1,48 ± 0,07*	0,40 ± 0,05*	0,13 ± 0,04
	Частоты АК<1,5% (n=20)	1,04 ± 0,06	0,48 ± 0,06*	0,34 ± 0,04*	0,10 ± 0,03
Дети контрольной группы (n=24)		1,15±0,12	1,06±0,21	0,09±0,02	0

*Значимые различия с контролем (p<0,05)

**Значимые различия между подгруппами детей с частотами аберрантных клеток АК≥2,5% и с частотами АК <1,5% (p<0,05)

аберрантных метафаз: дети (28 чел.) со значительно повышенными частотами аберрантных клеток **(≥2,5%)**, дети (32 чел.) с умеренно повышенными частотами аберрантных клеток **(1,5-2,5%)** и дети (20 чел.) с частотами аберранетных клеток в пределах спонтанного уровня **(<1,5%)** (табл. 11).

У детей-жителей загрязненных территорий с частотами аберрантных клеток **≥2,5%** наблюдаются существенно повышенные уровни аберраций хроматидного и хромосомного типов как по сравнению с контролем, так и с детьми с частотами аберрантных клеток **<1,5%.**

В лимфоцитах детей-жителей загрязненных территорий с частотами аберрантных клеток **1,5-2,5%** также наблюдаются повышенные по сравнению с контролем частоты аберраций хроматидного и хромосомного типов. Значимые различия выявлены по уровням хроматидных фрагментов и простых аберраций хромосомного типа ($p<0,05$).

В лимфоцитах детей облученных родителей с частотами аберрантных клеток, находящихся в пределах спонтанного уровня (**<1,5%),** средние частоты аберраций хроматидного типа значимо ниже такового показателя у детей контрольной группы. Однако у этих детей также выявлены существенные различия с контролем по уровням простых аберраций хромосомного типа, которые у потомков облученных родителей были существенно повышены ($p<0,05$). У ряда индивидуумов обнаружены сложные обменные перестройки хромосомного типа.

Таким образом, хотя среди детей, родившихся от облученных родителей и постоянно проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями, 25% индивидуумов имели частоту аберрантных клеток, находящихся в пределах спонтанного уровня (или в пределах аналогичного показателя в контроле), частота простых аберраций хромосомного типа у них значимо превышает аналогичный показатель в контроле, а у ряда детей выявлены и сложные обменные хромосомные перестройки. Именно такие цитогенетические нарушения характерны для радиационного воздействия. У

детей этой подгруппы уровень хроматидных фрагментов значительно снижен как по сравнению с детьми – потомками облученных родителей с более высокими частотамит аберрантных клеток, так и по сравнению с детьми контрольной группы. Это можно, вероятно, объяснить наименьшим возрастом этих детей на момент обследования.

Таким образом, в обоих поколениях (родители и их дети) выявлен весь спектр аберраций хроматидного и хромосомного типа, средние частоты которых существенно превышают аналогичные показатели в контроле. При этом не выявлено значимых различий в средних частотах цитогенетических нарушений у родителей и их детей, хотя имеет место тенденция к более высоким уровням аберрантных клеток, аберраций хромосомного типа и разрывов хроматид у облученных родителей. Выявлены и отличия в распределении взрослых облученных индивидов по этим цитогенетическим показателям, по сравнению с их детьми, что связано с существенно больщим количеством лиц в группе родителей с высокими частотами цитогенетических нарушений.

С целью изучения зависимости дисгеномных эффектов в обоих поколениях от возрастного онтогенетического периода родителей, на который пришлось максимальное воздействие радиационного фактора во время аварии в 1986 году, родители и соответственно их дети были поделены на 3 группы, как уже подробно изложено в предыдущей главе (табл.1):

I. Дети 1987-1992 гг.р. Средний возраст родителей на момент аварии находился в диапазоне 19-40 лет, а срок их проживания на радиационно-загрязненных территориях до зачатия ребенка составлял от 2 мес. до 6 лет.

II. Дети 1994-1995 гг.р. Средний возраст родителей на момент аварии находился в диапазоне 13-17 лет, а срок их проживания на радиационно-загрязненных территориях до зачатия ребенка составлял от 8 до 10 лет.

III. Дети 1997-2007 гг.р. Средний возраст родителей на момент аварии

находился в диапазоне 6-11 лет, а срок их проживания на радиационно-загрязненных территориях до зачатия ребенка составлял от 11 до 20 лет.

Таким образом, родители детей второй и третьей группы подверглись максимальному воздействию радиационного фактора в пубертатный и преддошкольный/препубертатный периоды.

В табл. 12 представлены результаты сравнительного изучения цитогенетических эффектов у родителей, подвергшихся облучению в различные возрастные периоды.

Как видно, средние частоты аберрантных геномов у родителей всех групп существенно выше контрольного уровня ($p<0,01$) и составляют 2,87±0,44, 2,77±0,51, 2,39±0,23 на 100 клеток в I, II, III группах, соответственно. Средние частоты хроматидных аберраций составляют 1,71±0,44 на 100 клеток в I группе, 1,84±0,31 на 100 клеток во II группе и 1,32±0,17 на 100 клеток в III группе и также значимо отличаются от аналогичного показателя в контроле. Средние частоты одноразрывных аберраций хромосомного типа во всех группах родителей значительно выше контрольного уровня ($p<0,01$) и равны 1,22±0,12 на 100 клеток в I, 0,65±0,16 на 100 клеток во II, 0,72±0,07 на 100 клеток в III группах. Суммарные средние частоты двуразрывных аберраций хромосомного типа (дицентрики, кольца, реципрокные транслокации, инверсии) в I, II, III группах облученных родителей составляют 0,33±0,06, 0,28±0,08 и 0,35±0,08 на 100 клеток, соответственно, что существенно превышает аналогичный показатель в контроле ($p<0,05$). Средние частоты разрывов хроматид в I, II, III группах родителей составляют 4,90±0,45 на 100 клеток, 4,33±0,48 на 100 клеток, 4,19±0,24 на 100 клеток, соответственно, и значимо превышают контрольный уровень ($p<0,01$).

Таким образом, во всех обследованных группах облученных родителей выявлены существенно повышенные частоты аберрантных клеток, одноразрывных и двуразрывных аберраций хромосомного типа, общей

Таблица 12. Спектр и частота аберраций хромосом в геномах родителей разных возрастных групп

Группы родителей (n=75)	Число проанали-зированных метафаз	Аберрантные метафазы (всего, %)	Аберрации хроматидного типа (всего, частота на 100 клеток)	Аберрации хромосомного типа (всего, частота на 100 клеток)			Разрывы хроматид (всего, частота на 100 клеток)
				парные фрагменты, центромерные разрывы, делеции	дицентрики + кольца	транслокации + инверсии	
I (n=32)	8522	245 2,87±0,24[b]	146 1,71±0,21[a]	71 1,22±0,15[b]	13 0,15±0,03	15 0,18±0,04	418 4,90±0,49[b]
II (n=22)	5060	140 2,77±0,38[b]	93 1,84±0,27[a]	33 0,65±0,11[a]	8 0,16±0,09	6 0,12±0,06	220 4,33±0,70[b]
III (n=21)	4300	105 2,39±0,31[b]	59 1,32±0,16	31 0,72±0,15[a]	10 0,23±0,07	5 0,12±0,04	183 4,19±0,67[b]
контроль* (n=26)	6330	80 1,26±0,24	61 0,96±0,17	19 0,30±0,04	0	0	99 1,56±0,23

*представлена объединенная выборка, так как не выявлены различия по цитогенетическим показателям между взрослыми индивидами разного возраста.

[a, b] значимые различия с контролем ([a]$p<0,05$, [b]$p<0,01$)

частоты разрывов хроматид. Значимых межгрупповых различий по средним частотам аберрантных геномов, аберраций хроматидного типа, сложных обменных аберраций хромосомного типа, разрывов хроматид у облученных родителей, подвергшихся радиационному воздействию в различные периоды своего онтогенетического развития не выявлено. Однако уровень простых аберраций хромосомного типа существенно выше у родителей старшей возрастной группы, чем у взрослых индивидов других групп ($p = 0,032$).

Чтобы приступить к дальнейшему анализу зависимости частот цитогенетических нарушений у обследованных детей от периода онтогенеза родителей, на который пришлось максимальное облучение во время аварии в 1986 г, мы рассматрели частоты аберрантных клеток и аберраций хромосом с учетом степени радионуклидного загрязнения территорий проживания (табл. 13). Как видно, значимые различия показателей хромосомного мутагенеза у детей – жителей территорий I (135-402 кБк/м^2, т.е 3,7-10,9 Ки/км^2, ^{137}Cs) и II зоны (627-688 кБк/м^2, т.е 17-18,6 Ки/км^2, ^{137}Cs) радиационного контроля отсутствовали. Это позволило нам объединить вышеприведенные данные для каждой возрастной группы.

В табл. 14 представлены результаты сравнительного изучения цитогенетических эффектов у детей разных возрастных групп – потомков родителей, подвергшихся облучению в различные онтогенетические периоды развития. Как видно, средние частоты аберрантных геномов у детей I и II групп составляют 2,49±0,54% и 2,39±0,31%, соответственно, что существенно выше контрольного уровня ($p<0,01$). У детей младшей (III) группы этот показатель (1,77±0,34%) хотя и превышает таковой в контроле, однако статистически значимых отличий при данных объемах выборок не выявлено ($p=0,097$). Средние частоты аберраций хроматидного типа составляют 1,64±0,21 на 100 клеток в I группе и 1,79±0,34 на 100 клеток во II группе и 1,23±0,37 на 100 клеток в III группе и превышают (на уровне тенденции) аналогичный показатель в контроле (1,06±0,21 на 100 клеток). Средние уровни простых аберраций хромосомного типа во всех группах

Таблица 13. Цитогенетические показатели у детей, проживающих в зонах с различной плотностью радиоактивного загрязнения.

Зоны проживания	Годы рождения детей	Длительность проживания к моменту обследования	Частота аберрантных клеток, %	Частота аберраций (на 100 геномов)			
				хроматидного типа	хромосомного типа		
				одиночные фрагменты, изохроматид-ные фрагменты, обмены	парные фрагменты, центромерные разрывы, делеции	дицентрики + кольца	транслокации + инверсии
I-зона (Новозыбковский р-он Брянской обл., 627 - 688 кБк/м^2, ^{137}Cs)	1987-1992	10-12	2,08±0,39	1,62±0,48	0,31±0,16	0	0,15±0,10
	1994-1995	5-8	1,97±0,41	1,42±0,32	0,43±0,10	0,03±0,04	0,09±0,07
	1997-2002	2-5	1,73±0,43	1,36±0,19	0,27±0,10	0,09±0,08	0
II-зона (Новозыбковский р-он Брянской обл., 135-402 кБк/м^2, ^{137}Cs)	1987-1992	10-12	2,20±0,40	1,37±0,31	0,59±0,12	0,11±0,05	0,11±0,06
	1994-1995	5-8	1,88±0,16	1,35±0,23	0,35±0,16	0,11±0,07	0,07±0,05
	1997-2002	2-5	1,79±0,40	1,57±0,47	0,21±0,10	0	0

Таблица 14. Спектр и частота аберраций хромосом у детей разных возрастных групп, родившихся после аварии на ЧАЭС от облученных родителей

Группы детей (n=80)	Годы рождения	Число проанализи-рованных метафаз	Аберрантные метафазы (всего, %)	Аберрации хроматидного типа (всего, частота на 100 клеток)	Аберрации хромосомного типа (всего, частота на 100 клеток)			Частота разрывов хроматид (на 100 клеток)
					парные фрагменты, центромерные разрывы, делеции	дицентрики + кольца	транслокации + инверсии	
I (n=44)	1987-1992	12070	291 2,49±0,54[b]	198 1,64±0,21	66 0,55±±0,05[a]	12 0,10±±0,02	14 0,12±±0,03	440 3,64±0,20[c]
II (n=21)	1994-1995	5650	135 2,39±0,31[b]	101 1,79±0,34	23 0,71±0,06[a]	5 0,09±0,04	6 0,11±0,05	201 3,56±0,22[c]
III (n=15)	1997-2007	3900	69 1,77±0,34	48 1,23±0,37	16 0,41±0,06[a]	2 0,05±0,04	3 0,08±0,07	99 2,54±0,21[b]
Контроль (n=24)	1987 – 2003	6720	77 1,15±0,12	71 1,06±0,21	6 0,09±0,02	0	0	83 1,24±0,24

[a, b, c] значимые различия с контролем ([a]p<0,05, [b] p<0,01,[c] p<0,001)

детей значительно выше контроля ($p<0,01$) и равны 0,55±0,05 на 100 клеток в I, 0,77±0,06 на 100 клеток во II, 0,41±0,06 на 100 клеток в III группах. Суммарные средние частоты сложных обменных хромосомных перестроек (дицентрики, кольца, транслокации, инверсии) в I, II, III группах детей составляют 0,22±0,04 на 100 клеток, 0,20±0,05 на 100 клеток и 0,13±0,06 на 100 клеток, соответственно. Значимые отличия по сравнению с контролем по этому показателю выявлены для детей более старшего возраста, то есть индивидов I и II групп ($p=0,048$). Средние частоты разрывов хроматид в I, II, III группах детей составляют 3,64±0,20 на 100 клеток, 3,56±0,22 на 100 клеток и 2,54±0,24 на 100 клеток, соответственно, и существенно превышают контрольный уровень ($p=0,0007$, $p=0,0009$ и $p=0,006$, соответственно).

Наблюдались положительные средней силы корреляции между цитогенетическими показателями у детей 1987-2007 г.р и их матерей – жителей территорий с радионуклидными загрязнениями, которые для уровней клеток с аберрациями хромосом и частот разрывов хроматид составили, соответственно, $r=0,385$, $p=0,026$ и $r=0,354$, $p=0,042$. Значимые ассоциативные связи между рассматриваемыми показателями у отцов и их детей отсутствовали.

Таким образом, у обследованных детей 1987-1992 гг.р и 1994-1995 гг.р – жителей территорий с радионуклидными загрязнениями и потомков облученных родителей, выявлены существенно повышенные частоты аберрантных клеток, простых и обменных аберраций хромосомного типа, общей частоты разрывов хроматид. У детей самой младшей возрастной группы все цитогенетические показатели также повышены по сравнению с контролем. Однако значимые различия наблюдаются только для уровней простых аберраций хромосомного типа и общей частоты разрывов хроматид. Существенных межгрупповых различий по средним частотам аберрантных геномов и другим цитогенетическим показателям у детей, являющихся потомками родителей, подвергшихся радиационному воздействию в различные периоды своего онтогенетического развития не выявлено.

3.2. Цитогенетические эффекты в семьях ликвидаторов аварии на ЧАЭС

В данном разделе представлены результаты исследований, которые изложены в публикациях автора по теме диссертации (Anna Aghajanyan, **Nina Kuzmina,** Alla Sipyagina, Larisa Baleva, Igor Suskov. Analysis of the genomic instability in offspring of fathers exposed to low doses of ionizing radiation. Environmental and Molecular Mutagenesis. Vol. 52. Issue 7. 2011. P. 538-546; **Nina S. Kuz'mina**, Victoriya S. Suskova, Anna V. Aghajanyan, Igor I. Suskov. The problem of induced genomic instability in children born from irradiated parents: individual peculiarities of expression, significance of genotype, role in biological resistance of an organism. In book: Seminar of Ecology. 2012, Sofia. P. 93-106).

В таблице 15 представлены результаты цитогенетических исследований в семьях ликвидаторов аварии на ЧАЭС. Видно, что как у облученных отцов, так и у их необлученных детей частота аберрантных клеток существенно превышала таковые показатели у необлученных отцов и их детей (p=0,0007 и p=0,015, соответственно). У необлученных жен ликвидаторов рассматриваемый показатель не превышал контрольный уровень. Среди аберраций хроматидного типа, выявленных у всех ликвидаторов и их потомков, преобладали одиночные фрагменты. Одноразрывные аберрации хромосомного типа (ацентрические фрагменты, делеции, центромерные разрывы) с преобладанием ацентрических фрагментов выявлены у 74% облученных отцов, у 69% их необлученных детей, а также у 52% матерей. Частота последних существенно превышала контрольный уровень как у ликвидаторов, так и у их детей (p=0,0004 и p= 0009, соответственно). Дицентрики и кольца выявлены у 45% облученных отцов и у 21 % их потомков. Носителями атипичных моноцентриков являлись 28% ликвидаторов и 26 % их детей. Суммарная частота обменных перестроек хромосомного типа составила 0,46±0,15 и 0,26±0,06 на 100 клеток у облученных отцов и их необлученных детей, соответственно, и существенно превышали таковые показатели в контрольной группе (p=0,0009 и p=0,027, соответственно).

Таблица 15. Спектр и средние частоты аберраций хромосом у детей и их родителей (семьи ликвидаторов аварии на ЧАЭС)

Цитогенетические показатели				Обследованные лица					
				семьи ликвидаторов (n=31)			семьи контрольной группы (n=9)		
				отцы	дети	матери	отцы	дети	матери
Число проанализированных метафаз				6910	9721	5862	2250	3400	2450
Частота аберрантных клеток (%)				3,57±0,44[c]	2,67±0,26[a]	1,61±0.21	1,35±0,24	1,13±0,12	1,28±0,22
Частота аберраций хромосом (на 100 клеток)	хроматидные	одиночные фрагменты		1,95±0,38	1,67±0,26	1,20±0,16	1,07±0,14	1,03±0,12	1,05±0,08
		хроматидные обмены + изохроматидные фрагменты		0,08±0,01	0,14±0,03	0,02±0,01	0	0	0
	хромосомные	простые	ацентрические фрагменты	0,90±0,11[c]	0,44±0,08[a]	0,39±0,09	0,28±0,02	0,10±0,02	0,23±0,08
			делеции	0,13±0,05	0,10±0,03	0	0	0	0
			центромерные разрывы	0,04±0,03	0,05±0,02	0	0	0	0
		обменные	дицентрики+кольца	0,28±0,18	0,13±0,05	0	0	0	0
			атипичные моноцентрики (транслокации + инверсии)	0,18±0,04	0,13±0,03	0	0	0	0
Суммарная частота разрывов хроматид (на 100 клеток)				5,85±0,63[c]	4,23 ±0,45[b]	2,02±0,32	1,63±0,22	1,23±0,12	1,51±0,20

*Частоты аберрантных клеток и аберраций хромосом у детей, отцов и матерей из семей ликвидаторов аварии на ЧАЭС сравнивались с рассматриваемыми показателями у соответствующих членов семей контрольной группы. *a, b, c* - $p<0,05$; $p<0,01$; $p<0,001$, соответственно.

Анализ сопряженности между изученными цитогенетическими показателями у отцов-ликвидаторов и их необлученных детей выявил следующее. Отмечена положительная корреляционная связь между суммарной частотой разрывов хроматид у отцов и их детей (r = 0,454; p = 0,009) (рис. 15). Коэффициент корреляции для частот аберрантных клеток был несколько ниже и составил r = 0,323 (p = 0,031).

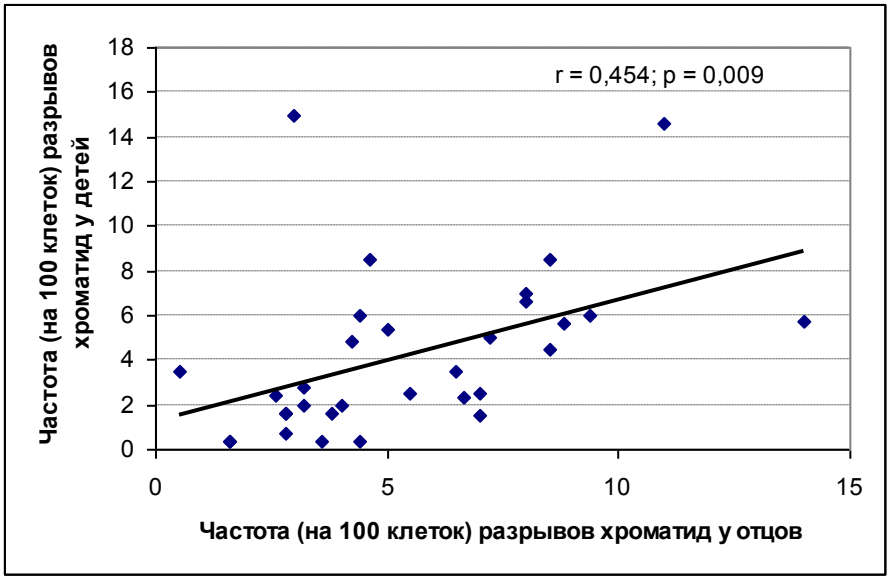


Рис. 15. Корреляционная связь между уровнем разрывов хроматид у ликвидаторов аварии на ЧАЭС и их необлученных детей.

Распределение детей и их отцов (семьи ликвидаторов аварии на ЧАЭС и семьи контроля) по частоте аберрантных клеток, аберраций хромосом и суммарному уровню разрывов хроматид представлено на рис. 16. Индивидуальные цитогенетические показатели у необлученных матерей (семьи контрольной группы) и у жен ликвидаторов примерно одинаковые. Частоты аберрантных клеток находились в диапазоне 0÷3% и 0÷4% у матерей из контрольных семей и у матерей из семей ликвидаторов, соответственно. Преобладающий уровень аберрантных клеток – 1-2%. Диапазон индивидуальных частот аберраций хромосомного типа составлял

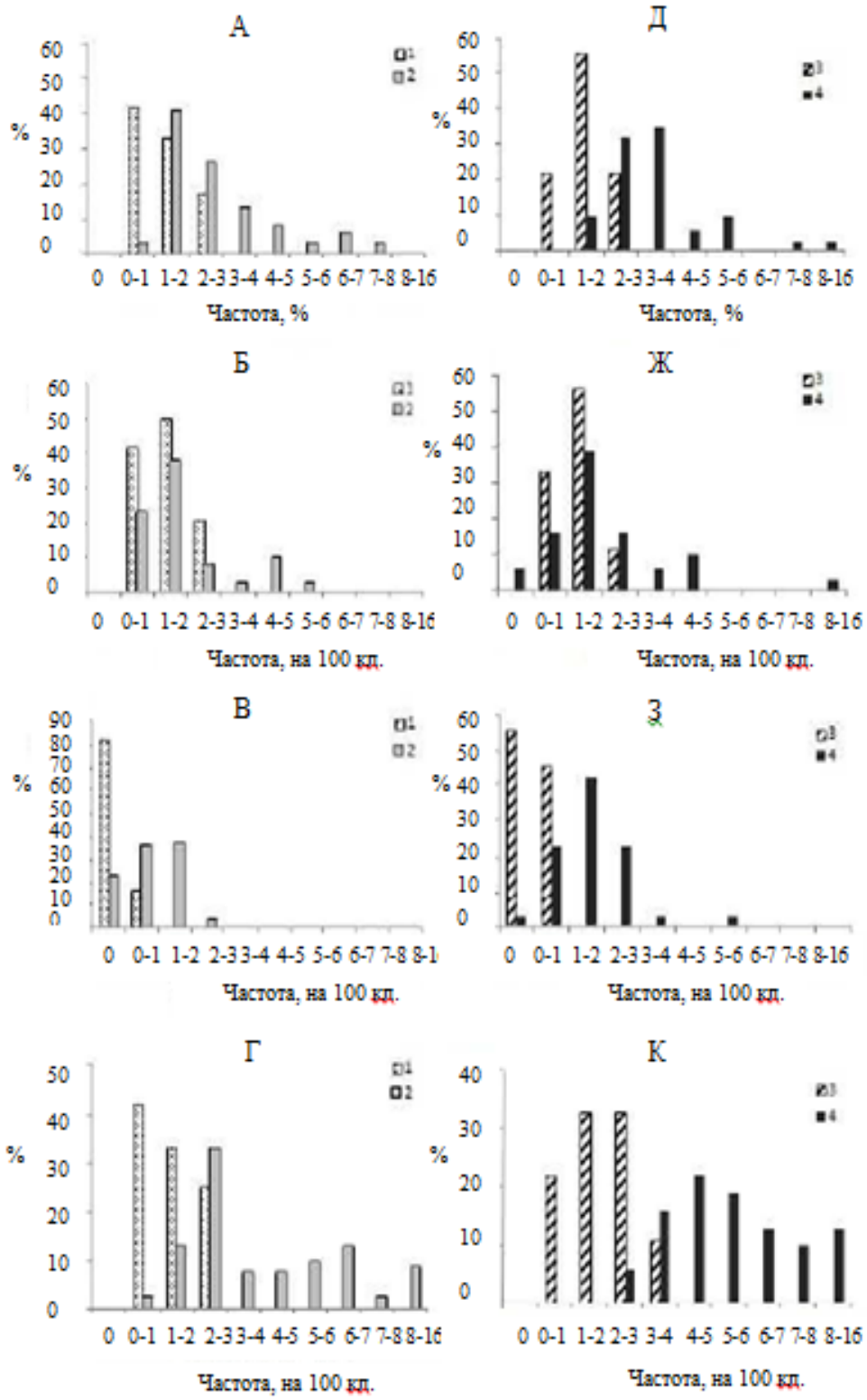


Рис. 16. Распределение детей и их отцов (семьи ликвидаторов и семьи контрольной группы) по частоте аберрантных клеток, аберраций хромосом и разрывов хроматид.

А, Б, В, Г – дети контрольной группы (1) и дети ликвидаторов (2); Д, Ж, З, К – необлученные отцы (3) и отцы-ликвидаторы (4); А, Д –аберрантные клетки; Б, Ж –аберрации хроматидного типа; В, З –аберрации хромосомного типа; Г, К- разрывы хроматид.

0÷0,67 на 100 клеток (преобладающий уровень – 0,33 на 100 клеток) (на рис. 16 не продемонстрировано).

Статистически значимые различия выявлены между распределением детей контрольной группы и детей - потомков облученных отцов по частоте аберрантных метафаз (χ^2 = 15,54; df = 7; p<0,05), аберраций хромосомного типа (χ^2 = 14,04; df = 5; p < 0,025), разрывов хроматид (χ^2 = 24,29; df = 6; p < 0,001) (рис. 16. А, В, Г). Значимые отличия между рассматриваемыми группами по уровню аберраций хроматидного типа отсутствовали (χ^2 = 4,01; df = 5; p > 0,05) (Рис. 16. Б). Существенные различия выявлены в распределении ликвидаторов и отцов из контрольных семей по частоте аберрантных клеток (χ^2 = 17,4; df = 4; p < 0,005), аберраций хромосомного типа (χ^2 = 15,64; df = 4; p< 0,005) и разрывов хроматид (χ^2 = 25,33; df = 5; p < 0,001) (Рис. 16. Д, З, К). Отсутствовали значимые различия между этими группами по уровню аберраций хроматидного типа (χ^2 = 2,75; df = 4; p > 0,05) (Рис. 16. Ж).

В семьях ликвидаторов наблюдались значимые различия в распределении облученных отцов и их необлученных детей по уровню аберраций хромосомного типа (χ^2 = 11,02; df = 4; p < 0,05). Существенные различия выявлены между женами ликвидаторов и их детьми по индивидуальным уровням аберраций хромосомного типа (χ^2 = 11,5; df = 5; p<0,05) и разрывам хроматид (χ^2 = 15,03; df = 6; p < 0,025). Отсутствовали значимые различия между этими группами по уровням аберрантных метафаз и аберраций хроматидного типа (χ^2 = 9,68; df = 5; p > 0,05 и χ^2 = 8,02; df = 5; p > 0,05, соответственно).

Вышеприведенные выводы о повышенном уровне цитогенетических нарушений у детей-потомков облученных отцов (анализ семей ликвидаторов), подтверждаются результатами анализа данных, полученных впоследствии при изучении спектра и частоты аберраций хромосом в существенно пополненной выборке детей ликвидаторов аварии на ЧАЭС численностью 79 человек.

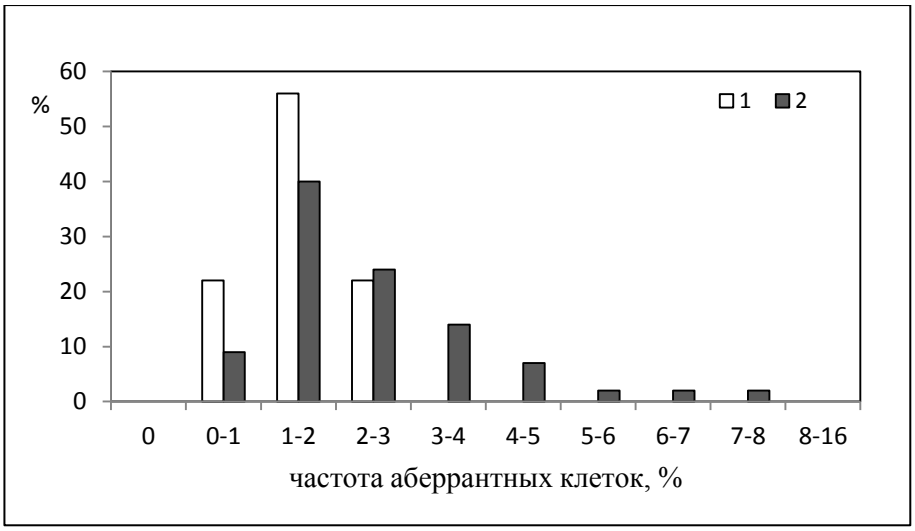
Как видно из табл. 16, дети, родившихся от облученных отцов-ликвидаторов, характеризуются существенно выраженным соматическим мутагенезом, о чем свидетельствуют значимо повышенные по сравнению с контролем уровни аберрантных лимфоцитов (2,28±0,17 на 100 клеток), суммарные частоты хроматидных аберраций (1,62±0,14 на 100 клеток), простых (0,47±0,08 на 100 клеток) и обменных (0,17±0,04 на 100 клеток) аберраций хромосомного типа, разрывов хроматид (3,31±0,31 на 100 клеток): p=0,012, p=0,041, p=0,007, p=0,049, p=0,004, соответственно. В целом, уровни аберрантных клеток и разрывов хроматид превышают соответствующие показатели в контрольной группе в 2 – 3 раза.

Следует отметить, что доля детей – потомков облученных отцов с частотой аберрантных клеток 2 % и более (≥ 2%) составляет 49% и значимо превышает таковой показатель у детей контрольной группы (21%): p=0,018, OR = 3,71, 95% CI: 1,26 – 10,90 (рис. 17). По частоте носителей хроматидных аберраций (уровень ≥ 2 на 100 клеток) различия между двумя группами детей близки к значимости: 8% в контрольной группе и 29% в основной группе, p=0,055, OR = 4,52, 95% CI: 0,98 – 20,80). Частота детей ликвидаторов – носителей аберраций хромосомного типа (59 %) существенно выше, чем в группе сравнения (контроль) – 17 % ($p=3,3\cdot10^{-4}$, OR=7,34, 95% CI: 2,29 – 23,51). Среди детей основной группы частота индивидов с суммарной частотой разрывов хроматид 2 на 100 клеток и более (≥ 2%) составляет 80 %, что статистически значимо превышает таковой показатель в контрольной группе (25 %):$1,6\cdot10^{-6}$, OR=11,81, 95% CI: 4,03 – 34,60.

Таблица 16. Спектр и частота аберраций хромосом у детей – потомков ликвидаторов аварии на ЧАЭС (расширенная выборка)

Группы	Число проанализированных метафаз	Аберрантные метафазы (всего, %)	Аберрации хроматидного типа (всего, частота на 100 клеток)			Аберрации хромосомного типа (всего, частота на100 клеток)							Частота разрывов хроматид на 100 клеток
						простые			обменные				
			одиночные фрагменты	хроматидные обмены	изороматид-ные фрагменты	парные фрагменты	центромерные разрывы	делеции	дицентрики	кольца	транслокации	инверсии	
Дети ликвида-торов (n=79)	20257	461 2,28±0,17[a]	310 1,54±0,13	6 0,03±0,02	11 0,05±0,04	79 0,39±0,06 [b]	5 0,02±0,01	12 0,06±0,01	15 0,07±0,03	5 0,02±0,01	13 0,06±0,03	5 0,02±0,01	671 3,31±0,31[b]
Дети контроль-ной группы (n=24)	6720	77 1,15±0,12	71 1,06±0,21	0	0	6 0,09±0,02	0	0	0	0	0	0	83 1,24±0,14

a, b - $p<0,05$; $p<0,01$, соответственно.



1 - дети контрольной группы
2 - дети ликвидаторов

Рис. 17. Распределение детей, рожденных от отцов - ликвидаторов аварии на ЧАЭС и детей контрольной группы по частоте аберрантных клеток (расширенные выборки)

На рис. 18 показаны уровни цитогенетических нарушений в трех группах детей, родившихся в разные сроки после аварии на ЧАЭС. Как видно, не выявлены значимые различия в уровнях аберрантных клеток, аберраций хроматидного и хромосомного типа у детей, зачатых в первые два года, через 4-9 и 11-19 лет после окончания работы их отцов в зоне Чернобыльской катастрофы. Полученные данные подтверждаются и результатами регрессионного анализа. Показано отсутствие зависимости частот аберрантных клеток (r=-0,18, p=0.24) у детей ликвидаторов от промежутка времени между облучением отцов и зачатием детей (рис. 19). Аналогичные результаты получены для аберраций хроматидного (r=-0,14, p=0.38) и хромосомного типа (r=-0,15, p=0.37), а также суммарного уровня разрывов хроматид (r=-0,23, p=0.17). Таким образом, группа детей, рожденных от облученных отцов - ликвидаторов как в первые годы после аварии, так и спустя десятилетия, характеризовалась существенно повышенными уровнями цитогенетических нарушений в лимфоцитах крови,

при этом выраженность хромосомного мутагенеза отличалась высокой индивидуальной вариабельностью.

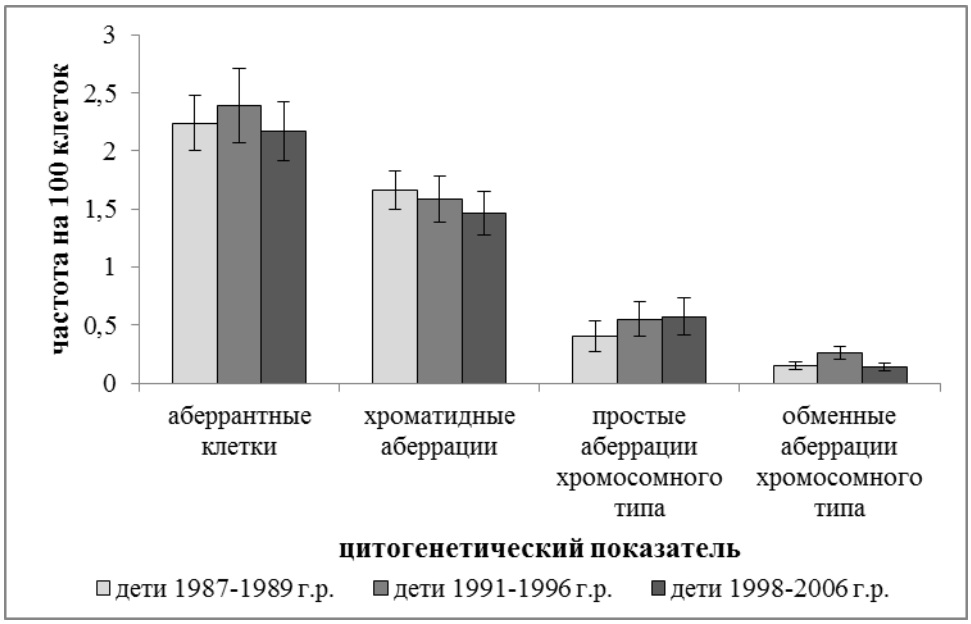


Рис. 18. Цитогенетические показатели у детей, рожденных от отцов-ликвидаторов в разные сроки после аварии на ЧАЭС.

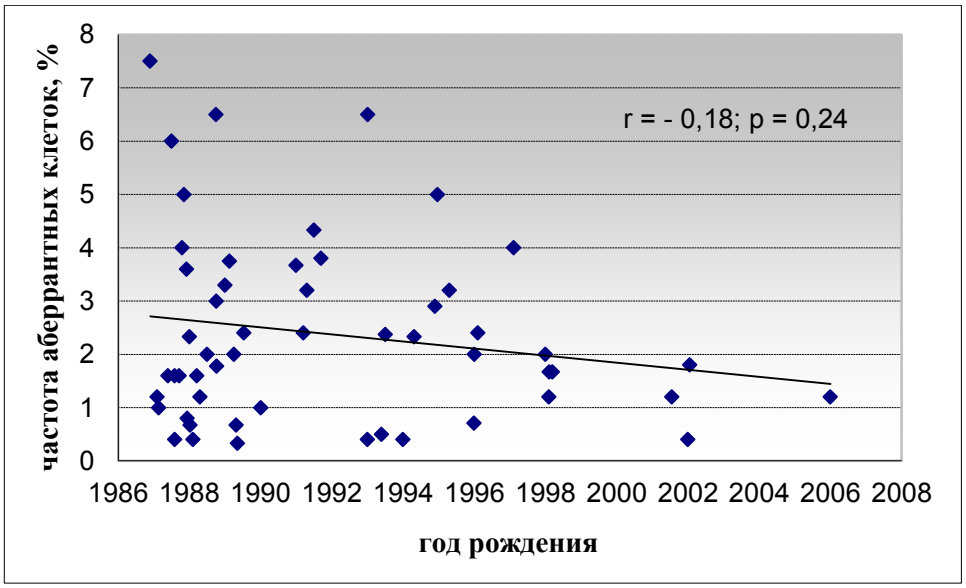


Рис. 19. Зависимость частоты аберрантных лимфоцитов от года рождения (срока зачатия после аварии) детей отцов ликвидаторов.

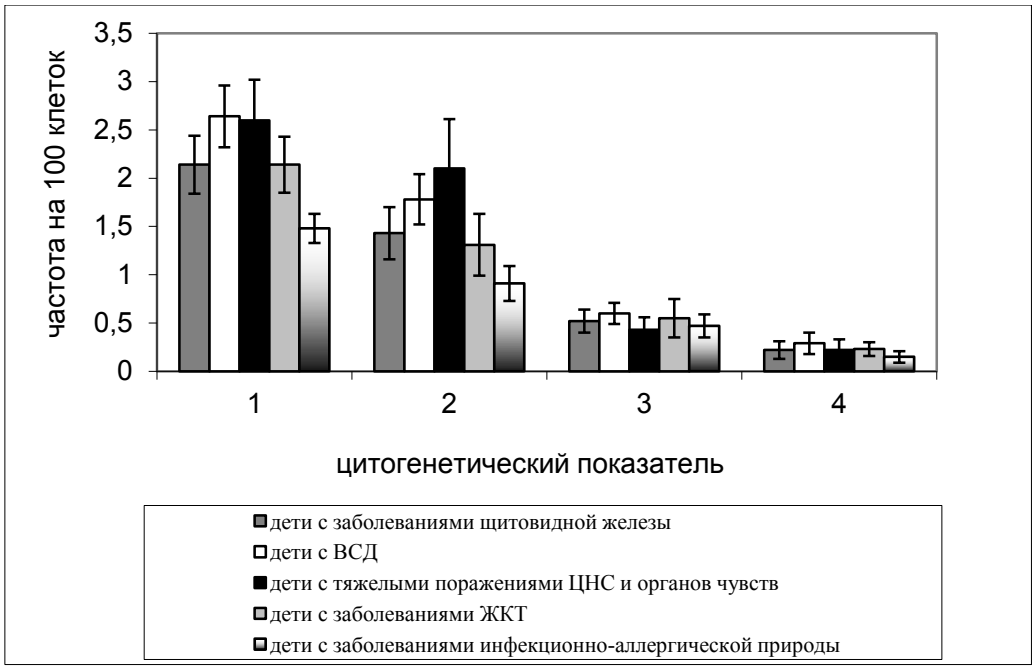
3.3.Сравнительный анализ цитогенетических показателей у лиц обследованных групп

Чтобы исключить влияние той или иной патологии на состояние генома обследованных детей, проживающих в условиях низкоинтенсивного облучения в малых дозах, был проведен анализ цитогенетического статуса в зависимости от наличия различных патологий у индивидов. Значимых различий в уровнях аберраций хромосомного типа в зависимости от структуры заболеваемости не выявлено. У детей с патологиями нервной системы (вегето-сосудистая дистония, астено-невротические расстройства), включая тяжелые поражениями ЦНС (энцефалопатии, гипертензионно-гидроцефальный синдром, эпилепсия.) только частота хроматидных фрагментов превышала соответствующий показатель в группе детей с заболеваниями, имеющими инфекционно-аллергическую природу ($p<0,02$) (рис. 20). Аналогичные выводы сделаны и при исследовании выборки детей – потомков ликвидаторов аварии на ЧАЭС (Кузьмина Н.С. и др., 2006).

Зависимость уровня аберрантных метафаз от года рождения детей, то есть продолжительности их проживания в условиях хронического действия радиации в малых дозах, отсутствовала (рис. 21).

При том, что средние частоты аберрантных метафаз и аберраций хроматидного типа у детей и их родителей значимо не отличались, частоты аберраций хромосомного типа явно преобладали у родителей. В частности, у родителей, дети которых родились в первые годы после аварии на ЧАЭС (1987-1992 гг.), уровни простых аберраций хромосомного типа статистически значимо превышали аналогичные показатели у их потомков ($p=0.008$). У детей 1997-2007 г.р., частоты аберраций хромосомного типа существенно были ниже таковых у их родителей ($p=0.009$ и $p=0.0007$ для простых и обменных аберраций, соответственно) (рис. 22).

Частоты аберраций хромосом у детей 1994-1995 и 1997-2007 г.р. (средняя эффективная доза ~ 4-6 мЗв) не отличаются значимо от таковых у детей, непосредственно облученных во время аварии на ЧАЭС



1. Аберрантные клетки
2. Одиночные хроматидные фрагменты
3. Парные фрагменты+центромерные разрывы
4. Дицентрики+кольца+реципрокные транслокации+инверсии

Рис. 20. Уровень цитогенетических нарушений в зависимости от структуры заболеваемости детей, проживающих в условиях низкоинтенсивного облучения.

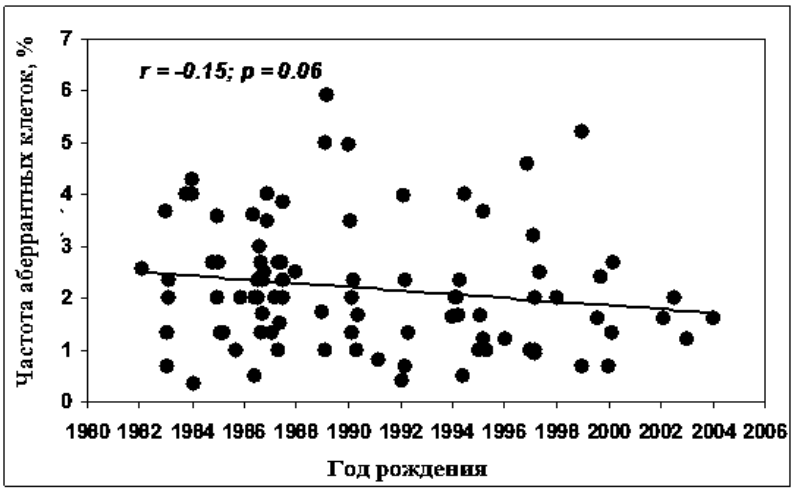


Рис. 21. Зависимость уровня аберрантных метафаз от года рождения детей, проживающих в условиях низкоинтенсивного облучения.

*в анализ включена выборка детей, родиашихся до аварии на ЧАЭС без зарегистрированной дозы на щитовидную железу.

(в постнатальный или антенатальный период онтогенеза) и продолжавщих проживать (в течение 10-15 лет обследования) на территориях с радионуклидными загрязнениями (средняя эффективная доза 30-25 мЗв) (рис. 22).

Частоты всех цитогенетических показателей у облученных ликвидаторов были значительно выше, чем у их потомков, что в первую очередь, касается аберраций хромосомного типа (p=0.006 и p=0.0005 для простых и обменных аберраций, соответственно). При этом, уровни обменных перестроек у ликвидаторов и у жителей радиационно-загрязненных территорий значимо не отличались. Частоты простых аберраций хромосомного типа были только ниже у индивидов, проживающих в условиях низкоинтенсивного облучения и подвергшихся максимальному радиационному воздействию во время аварии будучи детьми и подростками. Уровни аберрантных клеток и аберраций хроматидного типа только у родителей детей 1997-2007 г.р были пониженными по сравнению с таковыми показателями у ликвидаторов Чернобыльской катастрофы (рис. 22).

Рассматриваемые цитогенетические показатели у детей, родившихся от облученных отцов-ликвидаторов, не отличались значимо от аналогичных показателей у детей, проживающих в условиях хронического действия малых доз радиации и родившихся после аварии на ЧАЭС в 1986-1995 гг. Уровни аберрантных клеток, хроматидных фрагментов и простых аберраций хромосомного типа у детей ликвидаторов оказались существенно выше, чем у детей самой младшей возрастной группы 1997-2007 г.р. (p=0,048; p=0,027 и p=0,035, соответственно), подвергшихся наименьшему непосредственному воздействию радиационного фактора, но родившихся от облученных родителей. Кроме того, частоты аберрантных клеток и хроматидных фрагментов у детей ликвидаторов значимо превышали таковые показатели у облученных детей, родившихся до аварии (p=0,048 и p=0,028, соответственно) (рис. 22).

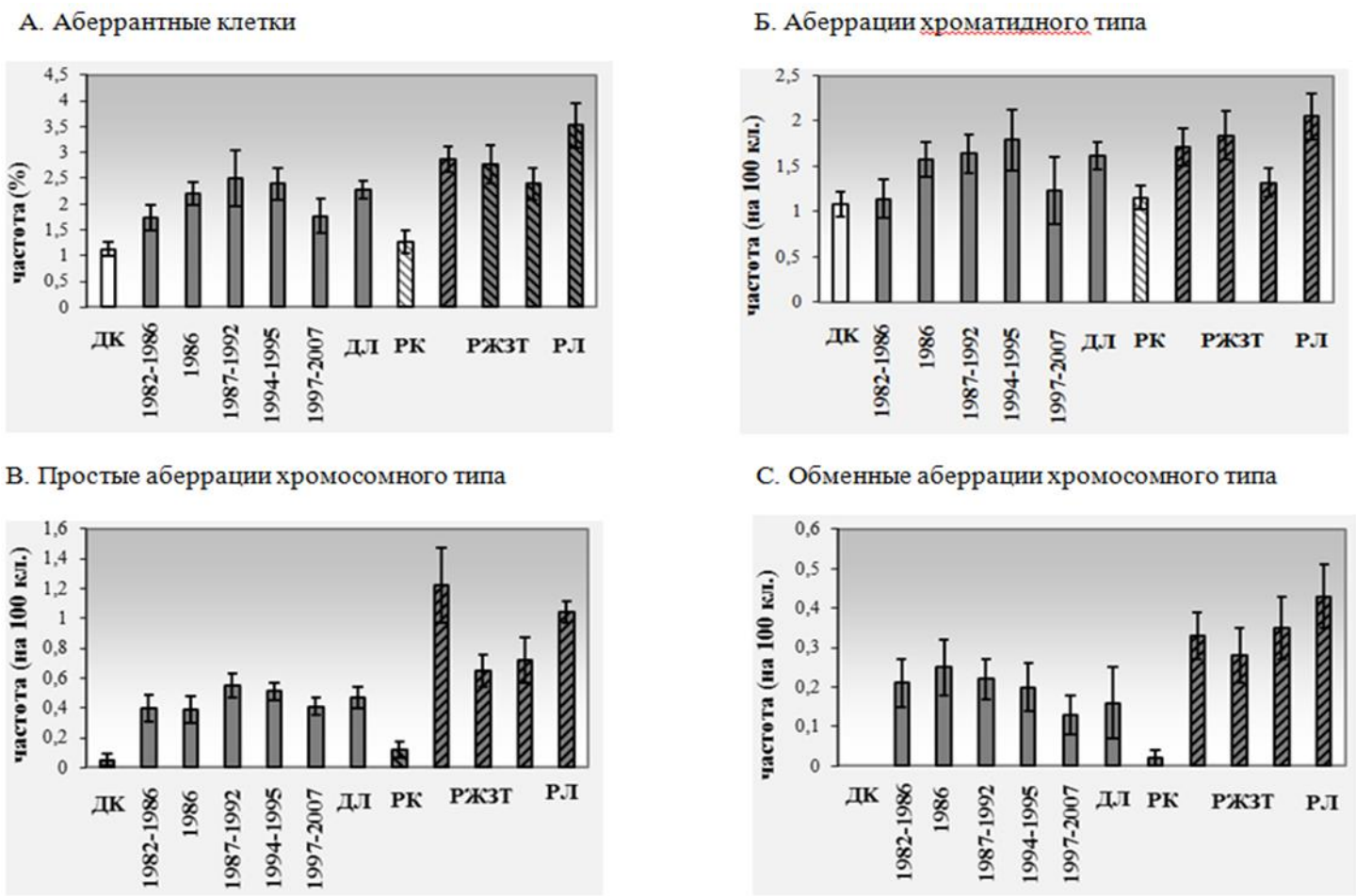


Рис. 22. Цитогенетические показатели у детей и родителей обследованных групп. ДК и РК – дети и родители контрольной группы, соответственно. ДЛ и РЛ– дети ликвидаторов и отцы-ликвидаторы, соответственно. РЖЗТ – родители, проживающие на территориях с радионуклидными загрязнениями (слева направо: родители детей 1987-1992, 1994-1995 и 1997-2007 гг.р., соответственно). По оси абсцисс указан год рождения детей.

3.4. Иммуногенетические эффекты у ликвидаторов аварии на ЧАЭС и их детей

В данном разделе представлены результаты исследований, которые изложены в публикации автора по теме диссертации (Сусков И.И., **Кузьмина Н.С.,** Сускова В.С., Агаджанян А.В., Рубанович А.В. Индивидуальные особенности трансгенерационной геномной нестабильности у детей ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС (цитогенетические и иммуногенетические показатели). Радиац. биол. Радиоэкол. 2008. Т. 48. № 2. С. 278-286

3.4.1. Частота TCR – мутаций у обследованных лиц

В контрольной группе детей средняя частота TCR – мутантных клеток составила (1,50 ± 0,29)×10^{-4}. Размах индивидуальной вариабельности лимфоцитов, мутантных по локусу Т-клеточного рецептора составил от 0 до 3,0 ×10^{-4}. В контрольной группе взрослых мужчин средняя частота TCR – мутантных клеток составила (1,82 ± 0,45)×10^{-4}. Размах индивидуальной вариабельности лимфоцитов, мутантных по локусу Т-клеточного рецептора составил от 0,5 до 3,5×10^{-4} (табл. 17).

Как у облученных отцов, так и у их необлученных детей выявлены существенно повышенные уровни TCR - мутантных лимфоцитов. Так средние частоты лимфоцитов, мутантных по локусу Т-клеточного рецептора, у отцов-ликвидаторов и их детей составили, соответственно, (4,86±1,13)×10^{-4} и (4,01±0,69)×10^{-4}, что значимо превышает соответствующий показатель в контроле (p=0,013 и p=0,003, соответственно) (табл. 17). В обоих поколениях выявлен высокий размах индивидуальной вариабельности частоты этих мутантных лимфоцитов, значительно превышающий контрольный уровень: от 0 до 16,4 ×10^{-4} и от 0 до 20,5 ×10^{-4} у отцов и детей, соответственно.

Зависимость частот TCR – мутантных лимфоцитов от года рождения детей отцов ликвидаторов, то есть срока их зачатия после аварии, отсутствовала (рис. 23). Таким образом, несмотря на давность перенесенного

ликвидаторами облучения, спустя многие годы после аварии у них рождаются дети, в организме которых наблюдаются повышенные частоты клеток не только с аберрациями хромосом (п. 1), но и мутациями генов.

Таблица 17. Средние частоты изученных цитогенетических и иммуногенетических показателей в обследованных группах отцов-ликвидаторов и их детей

Показатель	Средняя частота (M ± SE), %			
	отцы - ликвидаторы (n=17)	дети ликвидаторов (n=34)	контроль дети (n=10)	контроль взрослые (n=10)
TCR – мутантные лимфоциты ($CD3^-CD4^+$)	0,049 ± 0,011* (0 ÷ 0,165)	0,040 ± 0,007** (0 ÷ 0,205)	0,015 ± 0,003 (0 ÷ 0,030)	0,018 ± 0,005 (0,005 ÷ 0,035)
$CD95^+$ - лимфоциты (предикторы апоптоза)	26,49 ± 4,73* (2,9 ÷ 62)	20,24 ± 3,66** (0 ÷ 75,3)	10,15 ± 2,10 (0 ÷ 19)	11,52 ± 2,75 (0 ÷ 25)

Примечание. В скобках показан размах варьирования индивидуальных показателей. Значимость различий по сравнению с контролем: *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001

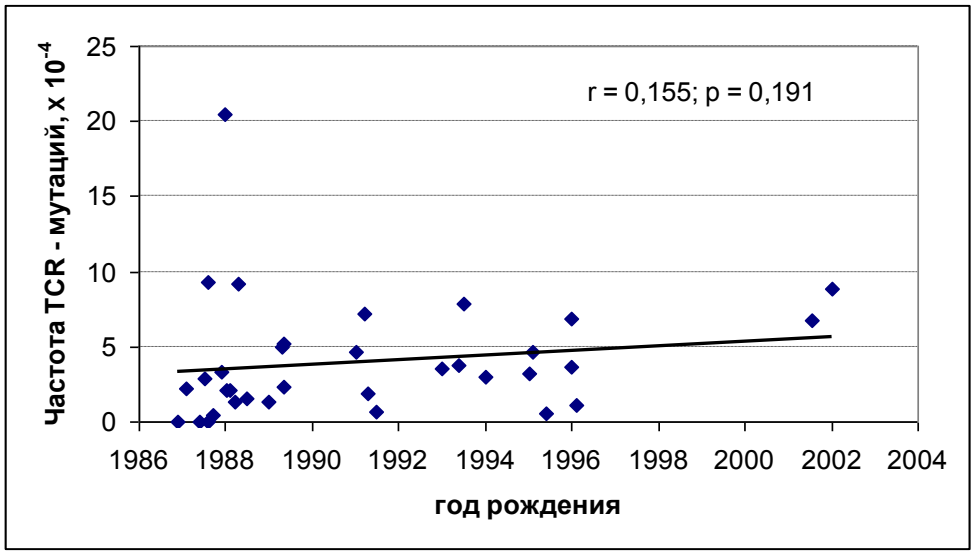


Рис. 23. Зависимость частоты TCR – мутантных лимфоцитов от года рождения (срока зачатия после аварии) детей отцов ликвидаторов.

3.4.2. Частота $CD95^+$ лимфоцитов - предикторов апоптоза у обследованных лиц

В контрольной группе детей средняя частота клеток с иммунофенотипом $CD95^+$, экспрессирующих маркер апоптоза, составила 10,15 ± 2,10 %. Размах индивидуальной вариабельности $CD95^+$ - клеток составил от 0 до 19 % (табл. 17).

В контрольной группе взрослых мужчин средняя частота $CD95^+$ - клеток составила 11,52 ± 2,75 %. Размах индивидуальной вариабельности клеток – предикторов апоптоза составил от 0 до 25 % (табл. 17).

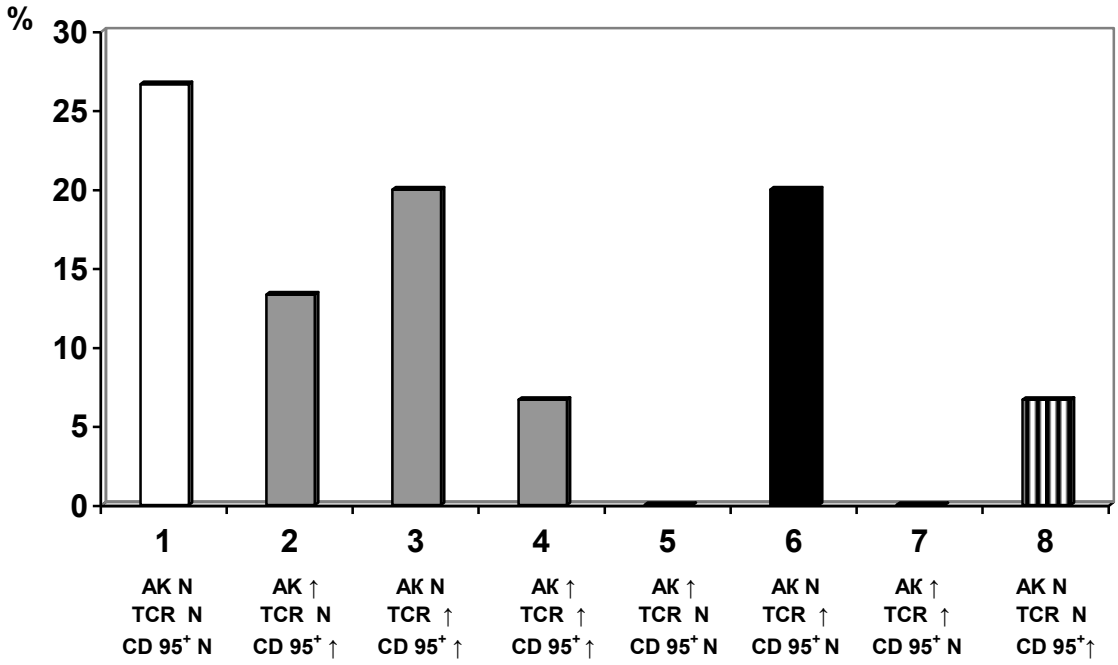
Как у облученных отцов, так и у их необлученных детей уровни $CD95^+$ - клеток оказались существенно повышенными. Средние частоты клеток с иммунофенотипом $CD95^+$ у отцов-ликвидаторов и их детей составили, соответственно, 26,49 ± 4,73 % и 20,24 ± 3,66 %, что достоверно превышает соответствующий показатель в контроле (p=0,009 и p= 0,043, соответственно) (табл. 17). В обоих поколениях выявлен высокий размах индивидуальной вариабельности уровня клеток, экспрессирующих FAS - маркер апоптоза, значительно превышающий контрольный уровень: от 2,9 до 62 % и от 0 до 75,3 % у отцов и детей, соответственно.

3.4.3. Кластеризация совокупности результатов иммуногенетических и цитогенетических исследований. Анализ сопряженности между изученными показателями

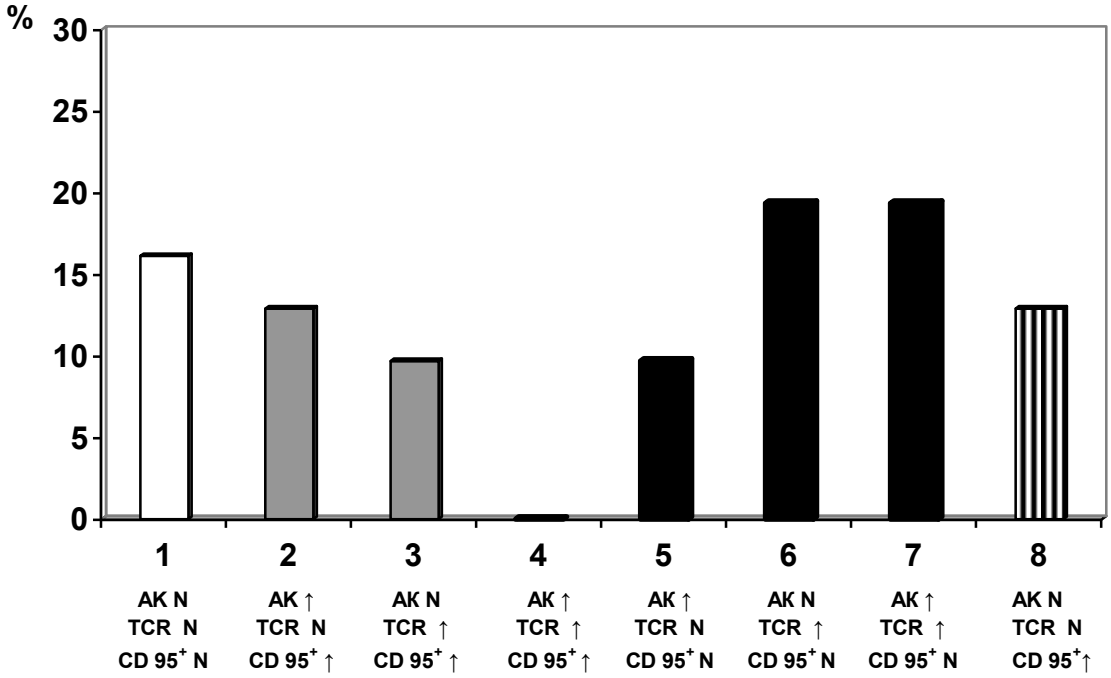
Из рис. 24 видно, что в обоих поколениях можно выделить 4 группы по показателям состояния геномов клеток крови (аберрантные клетки, TCR – мутации, готовность клеток к апоптозу): 1. индивидуумы, у которых все 3 исследованных показателя были в пределах контрольных значений (26,67 % отцов и 16,13 % детей) (рис. 24А и 24Б, 1 столбец); 2. индивидуумы, у которых повышенный уровень предикторов апоптоза сочетался с уровнями аберрантных клеток и (или) TCR – мутаций, превышающими максимальное значение в контроле (40 % отцов и 22,6 % детей) (рис. 24А и 24Б, 2 - 4

столбцы); 3. индивидуумы, у которых уровень предикторов апоптоза не отличался от контрольных значений, а частоты аберрантных клеток и (или) TCR – мутаций превышали максимальные значения в контроле (20 % отцов и 48,4 % детей) (рис. 24А и 24Б, 5 - 7 столбцы); 4. индивидуумы, у которых повышенный уровень предикторов апоптоза сочетался с нормальными частотами аберрантных и TCR – мутантных клеток (6,7 % отцов и 12,9 % детей) (рис. 24А и 24Б, 8 столбец). Следует отметить что у 73 % детей (11 из 15 чел.), относящихся к 3-ей группе, уровень $CD95^+$ клеток был значительно ниже среднего значения в контроле (10, 52 %) и составлял от 0 до 6,7 %. Только у двух ликвидаторов (13%), относящихся к 3-ей группе, частоты $CD95^+$ клеток были низкими и составили 2,9 и 6,4 %.

Вышеприведенные отличительные особенности состояния геномов клеток организма у отцов-ликвидаторов и их необлученных детей подтверждаются результатами кластеризации совокупности полученных данных (табл. 18, рис. 25). Наиболее оптимальным оказалось разбиение обследованных лиц на 4 кластера, характеристики которых приведены в табл. 18. На рис. 25 показана гистограмма частот попадания в кластеры для отцов-ликвидаторов и их детей. Видно, что по сравнению с детьми в группе ликвидаторов преобладают лица с высоким уровнем предикторов апоптоза в сочетании с повышенной частотой аберрантных/TCR – мутантных клеток. Напротив, в группе детей преобладали индивидуумы с низкими уровнями $CD95^+$ клеток в сочетании с повышенной частотой TCR – мутантных/аберрантных клеток (рис. 24, 25). Кроме того, следует отметить, что у 6 из 8 отцов-ликвидаторов с повышенной частотой TCR – мутантных лимфоцитов выявлены такие маркеры радиационного воздействия как дицентрики, кольца, реципрокные транслокации, инверсии.



А.



Б.

Рис. 24. Распределение отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС (А) и их необлученных детей (Б) по показателям состояния геномов лимфоцитов крови.

N – нормальный уровень; ↑ - уровень, превышающий максимальное значение в контроле
АК – аберрантные клетки; TCR – лимфоциты, мутантные по локусу Т-клеточного рецептора; $CD95^+$ - лимфоциты, экспрессирующие маркер апоптоза

Таблица 18. Характеристика полученных кластеров

Номер кластера (число индивидумов)	Средняя частота, %			Характеристика кластера
	клетки с аберрациями хромосом	TCR – мутантные лимфоциты	$CD95^+$ - лимфоциты	
1 (12)	2,2	4,4	36,9	Все изученные показатели повышены по сравнению с контролем
2 (6)	3,3	1,8	60,8	Значительно повышены частота клеток с аберрациями хромосом и уровень предикторов апоптоза. Уровень TCR-мутаций- норма.
3 (13)	2,0	2,5	12,3	Несколько повышены частоты клеток с аберрациями хромосом и TCR – мутациями. Уровень предикторов апоптоза – норма.
4 (14)	1,9	6,6	4,0	Несколько повышена частота клеток с аберрациями хромосом, значительно повышен уровень TCR-мутаций, очень низкий уровень апоптоза
Контрольная выборка (дети + взрослые)	1,41 ± 0,13	1,60 ± 0,37	10,52 ± 2,85	

Примечание. Данные, полученные для контрольной выборки, кластеризации не подвергались.

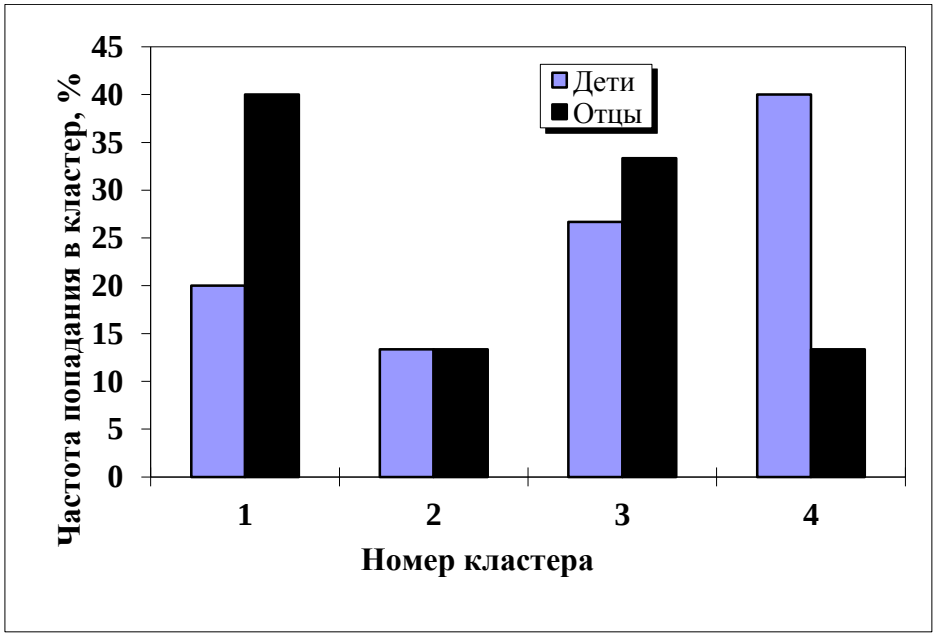


Рис. 25. Гистограмма частот попадания в кластеры для отцов-ликвидаторов и их необлученных детей.

У двух человек эти сложные перестройки хромосомного типа отсутствовали, но уровень простых аберраций хромосомного типа (делеции, разрывы по центромере, парные фрагменты) в 4-4,5 раза превышал максимальное значение в контроле. Аберрации хроматидного типа были существенно повышены у 2-х человек.

Напротив, у 8 из 13 детей облученных отцов-ликвидаторов с повышенной частотой TCR – мутантных лимфоцитов частоты аберраций хроматидного и хромосомного типа были в норме. У трех детей наблюдались повышенные уровни хроматидных и (или) простых хромосомных аберраций (парные фрагменты, делеции). У двух человек выявлены реципрокные транслокации.

Анализ сопряженности между изученными цитогенетическими и иммуногенетическими показателями у отцов-ликвидаторов выявил следующее. Отмечена положительная корреляционная связь между частотой аберрантных клеток и уровнем TCR – мутантных лимфоцитов ($r = 0,723$; $p = 0,0005$), частотой аберраций хромосом и уровнем лимфоцитов, мутантных по Т-клеточному рецептору ($r = 0,678$; $p = 0,003$ и $r = 0,542$; $p = 0,012$, для аберраций хроматидного и хромосомного типа, соответственно) (рис.26). Коэффициент корреляции между суммарной частотой разрывов хроматид и уровнем TCR – мутаций составил $r = 0,763$ ($p = 0,0002$). Положительная корреляционная связь наблюдалась между уровнями аберрантных клеток и предикторов апоптоза ($r = 0,618$; $p = 0,007$) (рис. 27). Корреляция же между частотой TCR – мутаций и уровнем $CD95^+$ клеток отсутствовала ($r = 0,054$; $p = 0,424$).

Напротив, у необлученных детей, родившихся от облученных отцов-ликвидаторов, корреляции между уровнем TCR – мутантных лимфоцитов и частотой аберрантных клеток (а также других цитогенетических показателей) отсутствовали ($|r| \leq 0,34$; $p \geq 0,2$). Также не выявлена корреляционная связь между частотами аберрантных клеток и предикторов апоптоза ($r = 0,237$;

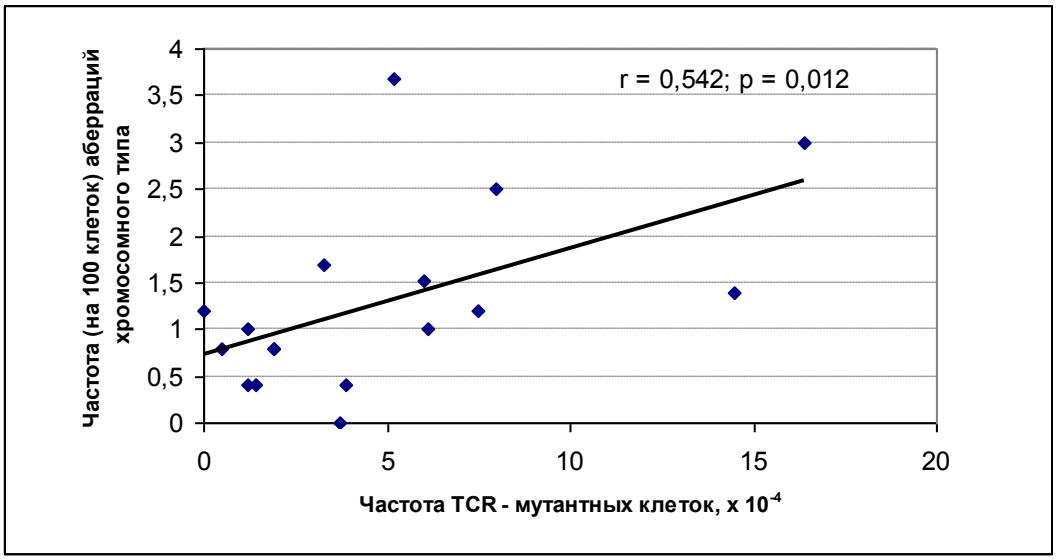


Рис. 26. Корреляционная связь между частотой TCR – мутантных лимфоцитов и уровнем аберраций хромосомного типа у ликвидаторов аварии на ЧАЭС.

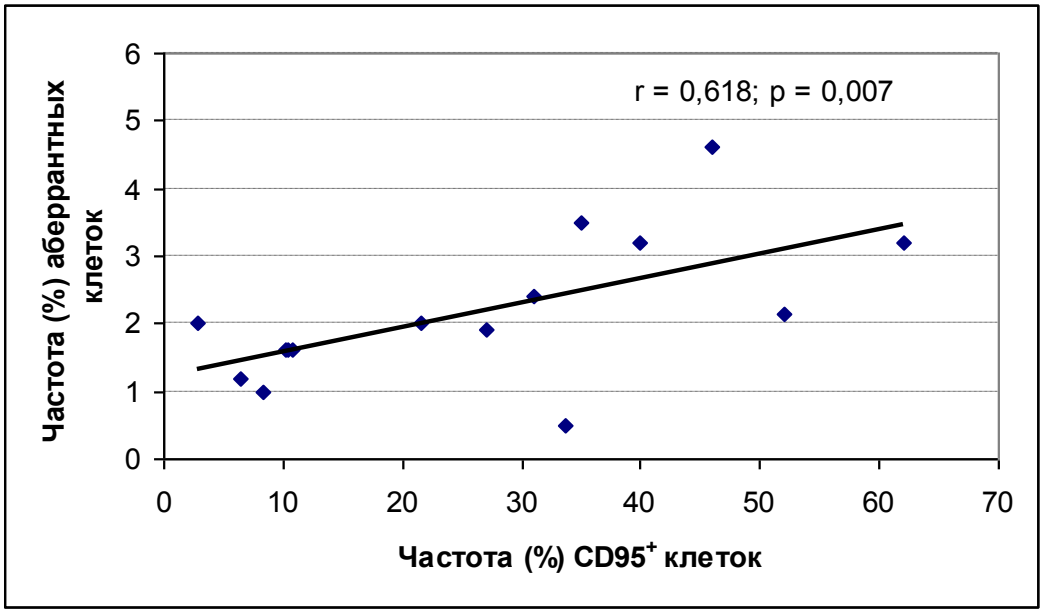


Рис.27. Корреляционная связь между частотой аберрантных клеток и уровнем предикторов апоптоза у ликвидаторов аварии на ЧАЭС.

p = 0,099). Отмечена слабая обратная корреляция между частотой TCR – мутаций и уровнем $CD95^+$ клеток (r = -0,348; p = 0,024).Анализ сопряженности между изученными цитогенетическими (и

иммуногенетическими) показателями у отцов-ликвидаторов и их необлученных детей выявил следующее. Отмечена положительная корреляционная связь между суммарной частотой разрывов хроматид у отцов и их детей (r = 0,454; p = 0,009) (рис. 28). Коэффициент корреляции для частот аберрантных клеток был несколько ниже и составил r = 0,323 (p = 0,031).

Положительная корреляционная связь наблюдалась между уровнями предикторов апоптоза у отцов - ликвидаторов и их необлученных детей (r = 0,735; p = 0,001) (рис. 29). Выявлена положительная корреляция между уровнем предикторов апоптоза у ликвидаторов и частотой аберрантных клеток у их детей (r = 0,745; p = 1,3 x 10^{-4}) (рис. 30). Коэффициент корреляции между уровнем $CD95^{+}$ клеток у облученных отцов и суммарной частотой разрывов хроматид у их детей составил r = 0,755 (p = 9 x 10^{-5}). Корреляция между частотами лимфоцитов, мутантных по локусу Т – клеточного рецептора, у отцов-ликвидаторов и их детей была незначительной и незначимой (r = 0,267; p = 0,15).

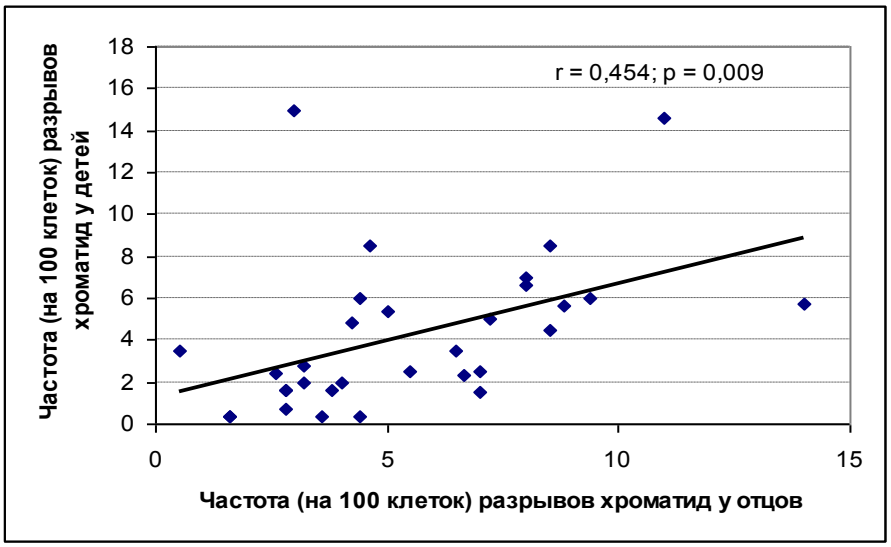


Рис. 28. Корреляционная связь между уровнем разрывов хроматид у ликвидаторов аварии на ЧАЭС и их необлученных детей.

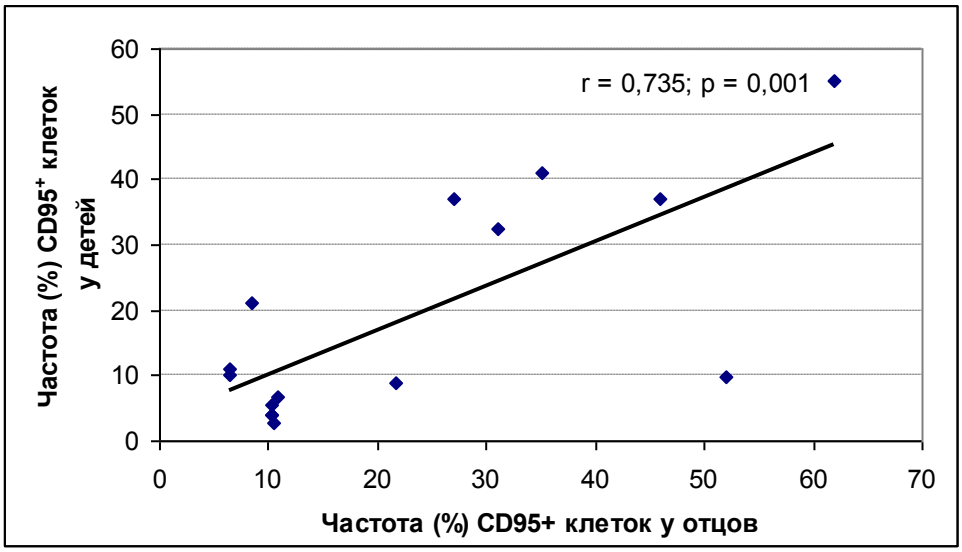


Рис. 29. Корреляционная связь между уровнем предикторов апоптоза у отцов - ликвидаторов аварии на ЧАЭС и их необлученных детей.

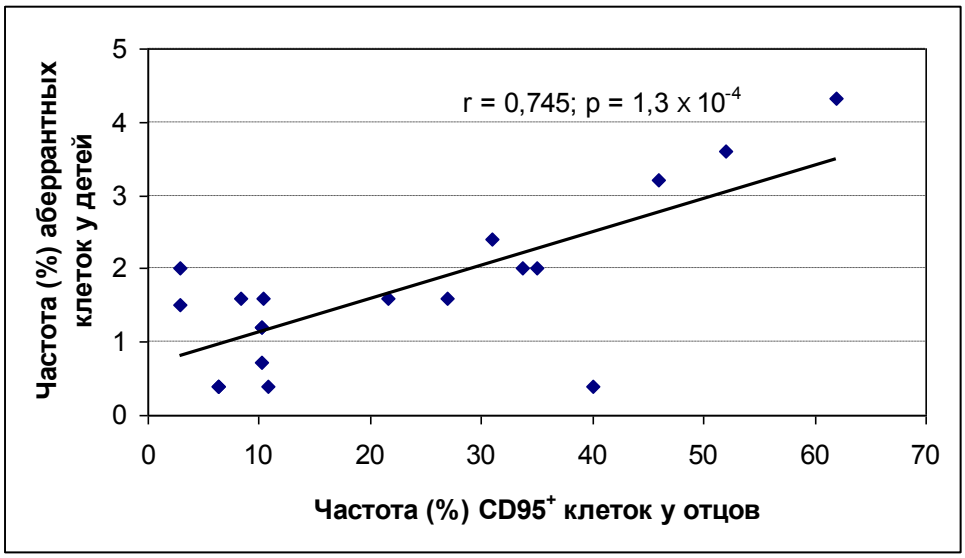


Рис. 30. Корреляционная связь между уровнем предикторов апоптоза у отцов – ликвидаторов аварии на ЧАЭС и частотой аберрантных клеток у их необлученных детей.

3. 5. Анализ мутаций в гипервариабельных тандемных повторах ДНК у профессионалов-атомщиков, работавших с тритием и его окисью

В данном разделе представлены результаты исследований, которые изложены в публикации автора по теме диссертации (Шайхаев Г.О., **Кузьмина Н.С.**, Мязин А.Е., Панушкина О.Г., Рубанович А.В., Хаймович Т.И., Снигирева Г.П. Изучение частоты мутаций в мини- и микросателлитных локусах ДНК в клетках членов семей работников атомной промышленности, работавших с тритием и его окисью. Радиац. биол. Радиоэкол. 2008. Т. 48. № 6. С. 690-697).

3.5.1. Анализ мутаций в минисателлитных локусах

Результаты анализа МНС локусов представлены в таблице 19. В группе детей профессионалов-атомщиков все проанализированные аллели локусов *D1S80, ApoB, D1S111* являлись унаследованными от родителей. Только у двух человек (сибсы) выявлены неродительские аллели локуса *D17S5* и неродительские аллели локуса *IgH*. Нуль-мутации по всем исследованным локусам отсутствовали.

В контрольной группе детей все проанализированные аллели локусов *D1S80, D17S5, ApoB* являлись унаследованными от родителей. У одного человека был обнаружен неродительский аллель локуса *D1S111*. Выявлена 1 нуль-мутация (потеря родительского аллеля) по локусу *IgH*.

Таблица 19. Результаты анализа мутаций в минисателлитных локусах у детей профессионалов – атомщиков.

Локус	Количество выявленных мутаций	
	Контроль	Дети атомщиков
D1S80	0	0
ApoB	0	0
D17S5	0	2
IgH	1	2
D1S111	1	0
Всего	***2 (1,5%)***	***4 (3,0%)***

Таким образом, в сумме, по всем 5 исследованным полиморфным минисателлитным локусам выявлены мутации у 2-х детей контрольной группы и у 2-х детей – потомков облученных родителей. Средняя частота МНС мутации в группе профессионалов-атомщиков составила 3% (0,03 на локус на чел.), а в контрольной группе в 2 раза меньше – 1,5%, однако эти различия не значимы (p=0,68).

3.5.2. Анализ мутаций в микросателлитных локусах

Результаты анализа МКС локусов представлены в таблице 20. В группе профессионалов-атомщиков у двух детей были обнаружены мутации по четырем локусам: *D5S818, VWA, SE33 и Penta E.* У 2-х человек было выявлено по одной мутации - по локусу *Penta E* и по локусу *CSF1PO*, а у одного обследованного две мутации - по локусам *D19S433* и *Penta E*. Нуль-мутация выявлена у 1 человека по локусу *LPL* и у него же обнаружена неродительская полоса по локусу *D18S51*. Все проанализированные аллели локусов *D3S1358, FGA, Penta D* являлись унаследованными от родителей.

В контрольной группе детей все проанализированные аллели локусов *D5S818, VWA, LPL, D19S433, FGA, SE33, D18S51, Penta D, Penta E, CSF1PO* являлись унаследованными от родителей. Только у двух человек обнаружены неродительские аллели по локусу *D3S1358*.

Таким образом, в сумме по 11-ти микросателлитным локусам выявлены мутации у 2-х детей контрольной группы и у 6-ти детей – потомков облученных родителей. Средняя частота МКС мутаций в группе профессионалов-атомщиков составила 4,7% и превысила аналогичный показатель в контрольной группе (0,7%) почти в 9 раз. Различия между группами статистически значимы (p=0,004).

Однако, следует отметить, что у двух детей из одной семьи обнаружены мутации по 4 МКС локусам. У этих же детей были выявлены и неродительские полосы по МНС локусам *D1S111* и *IgH*. Суммарная доза облучения, полученная отцом – около 1000 мЗв, т.е. в несколько раз выше,

чем величина средней дозы для всей обследованной группы профессионалов-атомщиков. Если эту семью не включать в статистический анализ, то частота МКС мутаций у детей профессионалов-атомщиков составит 2, 18%, что в 3 раза превышает аналогичный показатель в контрольной группе. Однако, различия между группами не значимы (p = 0,101).

Таблица 20. Результаты анализа мутаций в микросателлитных локусах у детей профессионалов – атомщиков.

Локус	Количество выявленных мутаций	
	Контроль	Дети атомщиков
D3S1358	2	0
LPL	0	1
VWA	0	2
D5S818	0	2
D19S433	0	1
FGA	0	0
SE33	0	2
D18S51	0	1
Penta E	0	4
Penta D	0	0
CSF1PO	0	1
Всего	***2 (0,7%)***	***14 (4,7%)***

3.5.3. Характеристики семей с выявленными мутациями в мини-/микросателлитных локусах

В таблице 21 представлены характеристики семей контрольной группы и группы профессионалов с выявленными мутациями в мини/микросателлитных локусах. Мутации обнаружены у детей, отцы которых подверглись облучению в небольших дозах (до 100 мЗв). В то же время у детей, рожденных от отцов, облученных в более высоких дозах (см. таблицу 2) – 200-480 мЗв, мутации выявлены не были.

Видно, что мутации выявлены как у детей, рожденных в течение первого года работы отцов в условиях производственной вредности, так и спустя 4-17 лет.

Из 14 выявленных микросателлитных мутаций для 7 было установлено происхождение, причем 6 из них возникали в гаметах отца. К сожалению, еще для 7 мутаций не удалось установить происхождение (одинаковое положение отцовской и материнской полосы на электрофореграмме). В семьях контрольной группы обе мутации, выявленные в минисателлитных локусах, возникли в гаметах отца, 1 микросателлитная мутация унаследована от матери, а происхождение второй мутации не установлено.

Таблица 21. Характеристики семей профессионалов-атомщиков с выявленными мутациями в мини- /микросателлитных локусах.

Суммарная реконструированная доза у отца, cSv (Код)	Возраст родителей на момент зачатия ребенка, г.		Пол и год рождения ребенка	Год начала-конца работы отца в условиях проф. вредности	Количество мутаций	
	мать	отец			Минисателлиты	Микросателлиты
Дети профессионалов-атомщиков						
1,1 ± 0,4 (S227)	21	26	ж, 1959	1959-1975	0	2
99,4 ± 22,0 (S208)	20 28	20 28	м, 1955 м, 1963	1955-1967	2 2	4 4
10,2 ± 2,1 (S266)	27 23	30 26	ж,1962 м, 1966	1962-1997	0 0	0 1
3,7 ± 0,3 (S232)	38	36	ж,1987	1974-2002	0	2
7,6 ± 1,2 (S225)	40	37	ж,1970	1953-1993	0	1
Дети контрольной группы						
0	22 25	24 27	ж, 1961 ж, 1964	-	0	1
0	38	38	ж, 1975	-	1	1
0	32	28	ж, 1984	-	1	0

Как видно, в двух семьях с выявленными микросателлитными мутациями как мать, так и облученный отец на момент зачатия ребенка

находились в возрасте старше 35 лет. В остальных 3-х семьях профессионалов-атомщиков возраст родителей не превышал 30 лет. С другой стороны, в контрольной группе в одной из семей, где возраст обоих родителей на момент зачатия составлял 38 лет, у ребенка выявлены 2 мутации в мини- и микросателлитных локусах.

3.6. Эпигенетические эффекты в двух независимых выборках облученных лиц

3.6.1. Гиперметилирование промоторов генов у облученных лиц и их потомков (смешанная выборка № 1)

В данном разделе представлены результаты исследований, которые изложены в публикациях автора по теме диссертации (**Кузьмина Н.С.,** Мязин А.Е., Лаптева Н.Ш., Рубанович А.В. Изучение аберрантного метилирования в лейкоцитах крови ликвидаторов аварии на ЧАЭС. Радиационная биология. Радиоэкология. 2014. Т.54. № 2. С. 127-139; **Nina S. Kuzmina**, Andrey E.Myazin, Nellya Sh. Lapteva, Alexander B. Rubanovich, The study of hypermethylation in irradiated parents and their children blood leukocytes. Central European Journal of Biology. 2014. V. 9. № 10. P. 941-950; **Nina S. Kuzmina,** Nellya Sh. Lapteva, Alexander B. Rubanovich, Hypermethylation of gene promoters in peripheral blood leukocytes in humans long term after radiation exposure. Environmental Research. 2016. V. 146. P. 10-17).

В таблицах 22-24 и рис. 31 суммированы результаты анализа метилирования у облученных индивидов этой гетерогенной выборки и необлученных лиц контрольной группы. В целом, как видно из рис. 31, доля лиц, подвергшихся радиационному воздействию, с выявленными случаями метилирования промоторов 1-го и/или 2-х локусов была существенно выше ($p = 3{,}9 \cdot 10^{-7}$), чем в контроле. Частота случаев метилирования изученных локусов у необлученных детей, родившихся от облученных родителей, не отличается от таковой в контрольной группе (мощность теста около 90%). В

этой связи в дальнейшем анализе потомки облученных лиц были отнесены к контрольной группе.

Выявленные случаи гиперметилирования у обследованных индивидов (облученных и необлученных) двух возрастных категорий (≤ 45 и > 45 лет) представлены в таблице 22. Частота необлученных лиц младшей возрастной категории (≤ 45 лет) с выявленным гиперметилированием варьировала от 0 % до 1 % в зависимости от анализируемого локуса. У лиц старшего возраста этот показатель составил от 1,4 % до 8,2 % в зависимости от локуса. Только один индивид (0,97 %) из младшей контрольной группы характеризовался наличием метилирования в двух генах (*RASSF1A* и *p14/ARF*). Частота облученных лиц молодого возраста с выявленным метилированием составила 2,9%, 11,8%, 2,9% и 8,8% для *RASSF1A*, *p16/INK4A*, *p14/ARF* и *GSTP1* локусов, соответственно. В группе облученных лиц старшего возраста этот показатель составил 10%, 5,6%, 8,9% и 8,9%, соответственно, для тех же

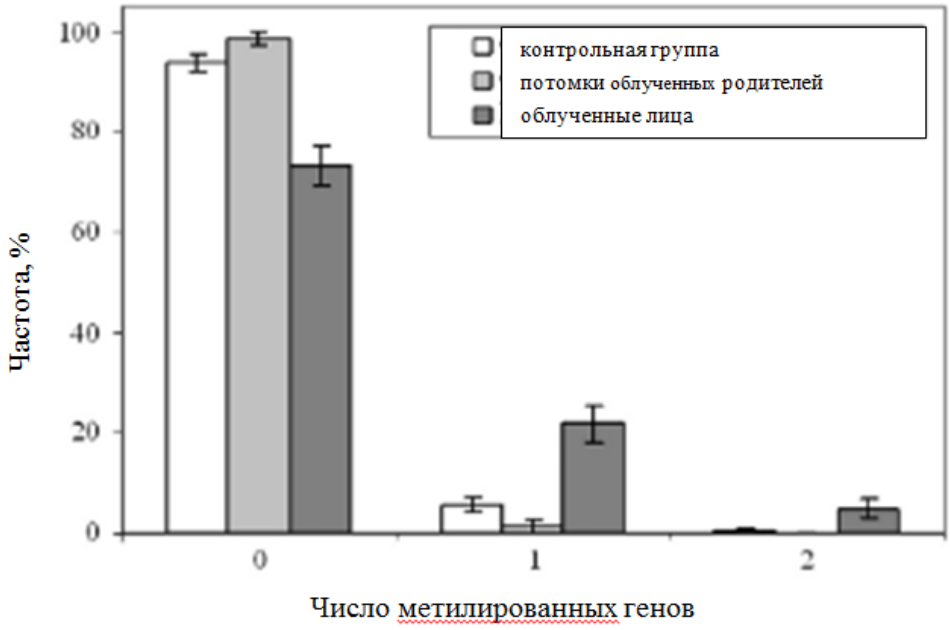


Рис. 31. Распределение суммарного числа метилированых локусов у лиц обследованных групп.

Таблица 22. Число случаев метилирования промоторов изученных генов у облученных и необлученных лиц двух возрастных категорий.

Локус	Моложе 45 лет			Старше 45 лет		
	Контроль (209)	Облученные (34)	Эффект облучения	Контроль (73)	Облученные (90)	Эффект облучения
RASSF1	2 (1,0)	1 (2,9)	OR = 3,1 95%CI = 0,05-61,4 p = 0,365	6 (8,2)	9 (10,0)	OR = 1,2 95%CI = 0,37-4,5 p = 0,789
p14	0 (0,0)	1 (2,9)	OR = 18,7 95%CI = 0,75-470 p = 0,140	4 (5,5)	5 (5,6)	OR = 1,0 95%CI = 0,21-5,3 p = 1,0
p16	0 (0,0)	4 (11,8)	OR = 61,8 95%CI = 3,2-1177 **p = $3,3\cdot10^{-4}$**	1 (1,4)	8 (8,9)	OR = 7,0 95%CI = 0,90-315 **p = 0,043**
GSTP1	1 (0,5)	3 (8,8)	OR = 20,1 95%CI = 1,5-1061 **p =$9,2\cdot10^{-3}$**	1 (1,4)	8 (8,9)	OR = 7,0 95%CI = 0,90-315 **p = 0,043**
Хотя бы один локус	3 (1,4)	9 (26,5)	OR = 24,7 95%CI = 5,6-147 **p =$1,2\cdot10^{-6}$**	11 (15,1)	24 (26,7)	OR = 2,1 95%CI = 0,88-5.0 p = 0,086
p16* либо *GSTP1	1 (0,5)	7 (20,6)	OR = 53,9 95%CI = 6,4-2441 **p =$4,3\cdot10^{-6}$**	2 (2,7)	15 (16,7)	OR = 7,1 95%CI = 1,6-65.6 **p =$3,9\cdot10^{-3}$**
p14* либо *RASSF1	2 (1,0)	2 (5,9)	OR = 6,5 95%CI = 0,45-91 p = 0,095	9 (12,3)	14 (15,6)	OR = 1,3 95%CI = 0,49-3,7 p = 0,653

генов. Шесть лиц, подвергшихся радиационному воздействию, характеризовались промоторным метилированием двух генов.

Как видно из табл. 22, метилирование хотя бы одного из проанализированных генов наблюдалось у 26,5 % облученных индивидов из младшей возрастной группы, что значительно превышало ($p = 1,2\cdot10^{-6}$) соответствующий показатель в контрольной группе соответствующего возраста (1,4 %). Наблюдалась тенденция к более высокой частоте гиперметилирования по крайней мере 1 гена у облученных индивидов старшей возрастной группы (26,7 %) по сравнению с необлученными лицами из контрольной группы (15,1 %): p = 0,086. Таким образом, эффект радиационного воздействия был наиболее выражен у наиболее молодых лиц.

Как видно из табл. 22, частота случаев гиперметилирования генов *RASSF1A* и *p14/ARF* увеличивается с возрастом как у облученных пациентов,

так и у лиц контрольной группы. Не выявлено существенных различий по частоте индивидов с гиперметилированием *RASSF1A* и *p14/ARF* генов между облученной и соответствующей по возрасту контрольной группой. Напротив, доля лиц с выявленным аберрантным эпигенетическим маркированием промоторов локусов *p16/INK4A* и *GSTP1* значительно выше у облученных лиц, чем в контроле, что касается обеих возрастных категорий.

Проведенный корреляционный (общие и частные корреляции) и множественный регрессионный анализы подтверждают дифференциальную роль возраста и фактора облучения в метилировании различных генов. Так общие корреляции «гиперметилирование ~ воздействие радиации» и «гиперметилирование ~ возраст» были значимы для всех генов. Чтобы проверить обусловленность этих корреляций влиянием третьего фактора, были рассчитаны частные корреляции. Корреляции облучения с метилированием генов *RASSF1A* и *p14* исчезают при фиксированном возрасте, но остаются значимыми для генов *p16* и *GSTP1*. Напротив, при фиксированном статусе облучения, корреляции с возрастом исчезают для генов *p16* и *GSTP1* (табл. 23). В то же время, как общие, так и частные корреляции «гиперметилирование ~ воздействие радиации» и «гиперметилирование ~ возраст» были значимы для метилирования хотя бы одного из анализируемых генов и для эпигенетического маркирования общего количества изученных локусов.

Дифференциальную значимость возраста и перенесенного радиационного воздействия в гиперметилировании разных генов подтверждают параметры моделей множественной регрессии, описывающих зависимость числа метилированных локусов от возраста и статуса индивида (табл. 24). А именно, продемонстрировано, что рост числа метилированных локусов из совокупности генов *p16* и *GSTP1* обусловлен исключительно фактом экспонирования. Напротив, метилирование генов *RASSF1A* и *p14* определяется возрастом.

Таблица 23. Общие и частные корреляции метилирования с возрастом и облучением.

	RASSF1	*p14*	*p16*	*GSTP1*
Статус	0,117 **(0,018)**	0,102 **(0,041)**	0,244 **($6{,}5\cdot10^{-7}$)**	0,214 **($1{,}4\cdot10^{-5}$)**
Статус (возраст фиксирован)	0,011 (0,825)	0,032 (0,523)	0,186 **($1{,}7\cdot10^{-4}$)**	0,182 **($2{,}4\cdot10^{-4}$)**
Возраст	0,216 **($1{,}1\cdot10^{-5}$)**	0,149 **($2{,}5\cdot10^{-3}$)**	0,171 **($5{,}4\cdot10^{-4}$)**	0,115 **(0,021)**
Возраст (статус фиксирован)	0,183 **($2{,}0\cdot10^{-4}$)**	0,114 **(0,021)**	0,059 (0,238)	0,010 (0,844)

Примечание. В скобках показано значение p-value.

Таблица 24. Множественный регрессионный анализ зависимости числа метилированных локусов от возраста и статуса испытуемого (контроль/облучение).

	B*	Бета**	p-value
1. Метилирование (*RASSF1 + p14*) ~ Статус + Возраст			
Константа	-0,066±0,029		0,024
Облучение	0,018±0,032	0,031	0,576
Возраст	0,003±0,001	0,242	**$1{,}7\cdot10^{-5}$**
Коэффициент детерминации R^2 = 0,067			**$8{,}6\cdot10^{-7}$**
2. Метилирование (*p16 + GSTP1*) ~ Статус + Возраст			
Константа	-0,012±0,028		0,655
Облучение	0,160±0,030	0,290	**$1{,}7\cdot10^{-7}$**
Возраст	0,001±0,001	0,053	0,330
Коэффициент детерминации R^2 = 0,102			**$3{,}7\cdot10^{-10}$**

* - угловой коэффициент линейной регрессии;
** - стандартизированный угловой коэффициент линейной регрессии (в единицах стандартных отклонений).

3.6.2. Гиперметилирование промоторов генов у облученных работников ПО «Маяк» (выборка № 2)

В данном разделе представлены результаты исследований, которые изложены в публикациях автора по теме диссертации (**Кузьмина Н.С.,** Лаптева Н.Ш., Русинова Г.Г., Азизова Т.В., Вязовская Н.С., Рубанович А.В. Гиперметилирование промоторов генов в лейкоцитах крови человека в отдаленный период после перенесенного радиационного воздействия. Радиационная биология. Радиоэкология. 2017. Т.57. № 4. С. 341 – 356; **Nina S. Kuzmina**, Nellya Sh. Lapteva, Galina G. Rusinova, Tamara V. Azizova, Natalya S. Vyazovskaya, Alexander B. Rubanovich, Gene hypermethylation in blood leukocytes in humans long term after radiation exposure – validation set. Environmental Pollution. 2018. V.234. P. 935-942;**Кузьмина Н.С.,** Лаптева Н.Ш., Русинова Г.Г., Азизова Т.В., Вязовская Н.С., Рубанович А.В. Дозовая зависимость гиперметилирования промоторов генов в лейкоцитах крови лиц, подвергшихся сочетанному воздействию гамма- и альфа-излучений. Генетика. 2018. Т. 54. Приложение. С. S22-S26; **Kuzmina N. S.,** Lapteva N. Sh., Rusinova G. G., Azizova T.V., Vyazovskaya N. S., Rubanovich A. V. Dose dependence of hypermethylation of gene promoters in blood leukocytes in humans occupationally exposed to external gamma radiation. Biology Bulletin. 2019. V. 46. № 11. P. 1563-1569).

3.6.2.1. Гиперметилирование промоторов генов у работников реакторного производства, подвергшихся внешнему воздействию γ – излучения

С целью подтверждения выше изложенных результатов о возрастной зависимости метилирования генов *p14/ARF* и *RASSFA1*, полученных при изучении рассматриваемых эпигенетических нарушений в первой выборке облученных лиц, построены логистические регрессии вида: *Logit (частота метилирований) ~ возраст + статус «облученные - контроль»*. Из табл. 25 видно, что рассматриваемые эпигенетические модификации этих генов обусловлены исключительно возрастом (на уровне тенденции: p=0,072), но не перенесенным радиационным воздействием (p=0,694). Возрастная зависимость метилирования оказалось незначимой, по видимому, из-за узкого диапазона возрастов обследованных лиц. Для остальных 6 изученных генов (*p16/INK4A, GSTP1, p53, ATM, SOD3, ESR1)* возрастная зависимость

Таблица 25. Логистический регрессионный анализ зависимости метилирования промоторов генов от возраста и перенесенного радиационного воздействия у работников реакторного производства ПО «Маяк».

	Возраст		Облучение	
Гены	B*	p**	B*	p**
Хотя бы один из генов *p14* и *RASSFA1*	0,076 ± 0,042	0,072	-0,188 ± 0,478	0,694
Хотя бы один из генов *p16, GSTP1, p53, ATM, SOD3, ESR1*	-0,006 ± 0,030	0,848	1,181± 0,373	0,002

* - коэффициент в логистической регрессии
** - тест Вальда

метилирования отсутствует (p=0,848), но обнаруживается значимая сопряженность с воздействием радиации (p=0,002) (табл. 25). Поэтому, в дальнейшем, для оценки эффектов радиационного воздействия мы будем рассматривать статус метилирования только этих 6 локусов.

Частота необлученных лиц с выявленным аномальным эпиенетическим маркированием этих локусов варьировала от 0 до 18%, а у облученных работников от 12,5 до 37,5 % в зависимости от рассматриваемого гена. В группе работников ПО “Маяк” доля лиц с гиперметилированием CpG-островков промоторов генов *GSTP1* и *SOD3* статистически значимо превышала аналогичные показатели в контрольной группе (p = 0,014 и p = 0,021, соответственно). Для остальных четырех локусов (*p16, p53, ATM, ESR1)* выявлена тенденция к более высокой частоте встречаемости облученных индивидов с аберрантным метилированием по сравнению с

лицами контрольной группы, что особенно характерно для генов *p16/INK4A* и *ATM* (p = 0,071 и p = 0,057, соответственно) (табл. 26).

Проведен анализ распределения общего количества гиперметилированных локусов в обследованных группах лиц (рис. 31). Частота облученных лиц с выявленными случаями метилирования промоторов хотя бы одного из 6 изученных генов (62,5 %) существенно превышала таковой показатель в контрольной группе (34%):p = 0,001, OR=3,24, 95% CI 1,56–6,69. Встречаемость работников реакторного производства с аберрантным метилированием двух и более генов (25 %) значительно превышала таковую в группе необлученных индивидов (6%): p = 0,005, OR = 5,22, 95 % CI 1,48–18,46) (рис.32).

Результаты ROC-анализа свидетельствуют о значимой сопряженности статуса «облученный» с метилированием хотя бы одного из 6 этих генов: AUC = 0,669±0,046, p = 0,001, 95% CI 0,579 – 0,660.

3.6.2.2. Гиперметилирование промоторов генов у работников радиохимического производства, подвергшихся сочетанному внешнему (γ-лучи)/внутреннему (α-частицы) облучению

В табл. 27 суммированы результаты изучения CpG-островков промоторов 8 изученных генов у лиц, подвергшихся сочетанному внешнему (γ-лучи)/ внутреннему (α-частицы) облучению в результате профессиональной деятельности. Частота индивидов с выявленным гиперметилированием промоторов варьировала в зависимости от рассматриваемого локуса от 0 до 18% и от 8,2 до 44,3% в контрольной и экспонированной группах, соответственно. Так как ранее, на большей выборке лиц нами показана исключительно возрастная зависимость метилирования генов *RASSF1A* и *p14/ARF*, для оценки эффектов радиационного воздействия мы будем рассматривать статус метилирования остальных 6 локусов. Как видно, в группе работников ПО “Маяк” доля лиц с гиперметилированием CpG-островков промоторов генов *p16/INK4A, GSTP1,*

p53 и *SOD3* существенно выше, чем аналогичные показатели в контрольной группе (табл. 27).

Таблица 26. Выявленные случаи гиперметилирования промоторов генов у работников реакторного производства ПО «Маяк», подвергшихся внешнему воздействию γ – излучения, и у лиц контрольной группы.

Ген	Число случаев метилирования промотора (%)		Эффект радиационного воздействия	
	контроль (n = 50)	облученные работники (n = 88)	OR (95% CI)	p – value*
RASSFA1	2 (4,0)	7 (8,0)	2,07 (0,41-10,39)	0,487 (0,349)
p16/INK4A	3 (6,0)	15 (17,1)	3,22 (0,88-11,73)	0,071 (0,051)
p14/ARF	7 (14,0)	9 (10,2)	0,70 (0,24-2,01)	0,583 (0,510)
GSTP1	0 (0,0)	10 (11,4)	5,36** (1,41- 20,34)	**0,014 (0,002)**
p53	3 (6,0)	12 (13,6)	2,47 (0,66-9,23)	0,255 (0,149)
ATM	1 (2,0)	10 (11,4)	6,28 (0,78-50,61)	0,057 (0,031)
SOD3	9 (18,0)	33 (37,5)	2,73 (1,18-6,34)	**0,021 (0,014)**
ESR1	4 (8,0)	11 (12,5)	1,64 (0,49-5,46)	0,572 (0,405)

*Двусторонний точный тест Фишера (тест Вальда для логистической регрессии).
** Отношение шансов Пето

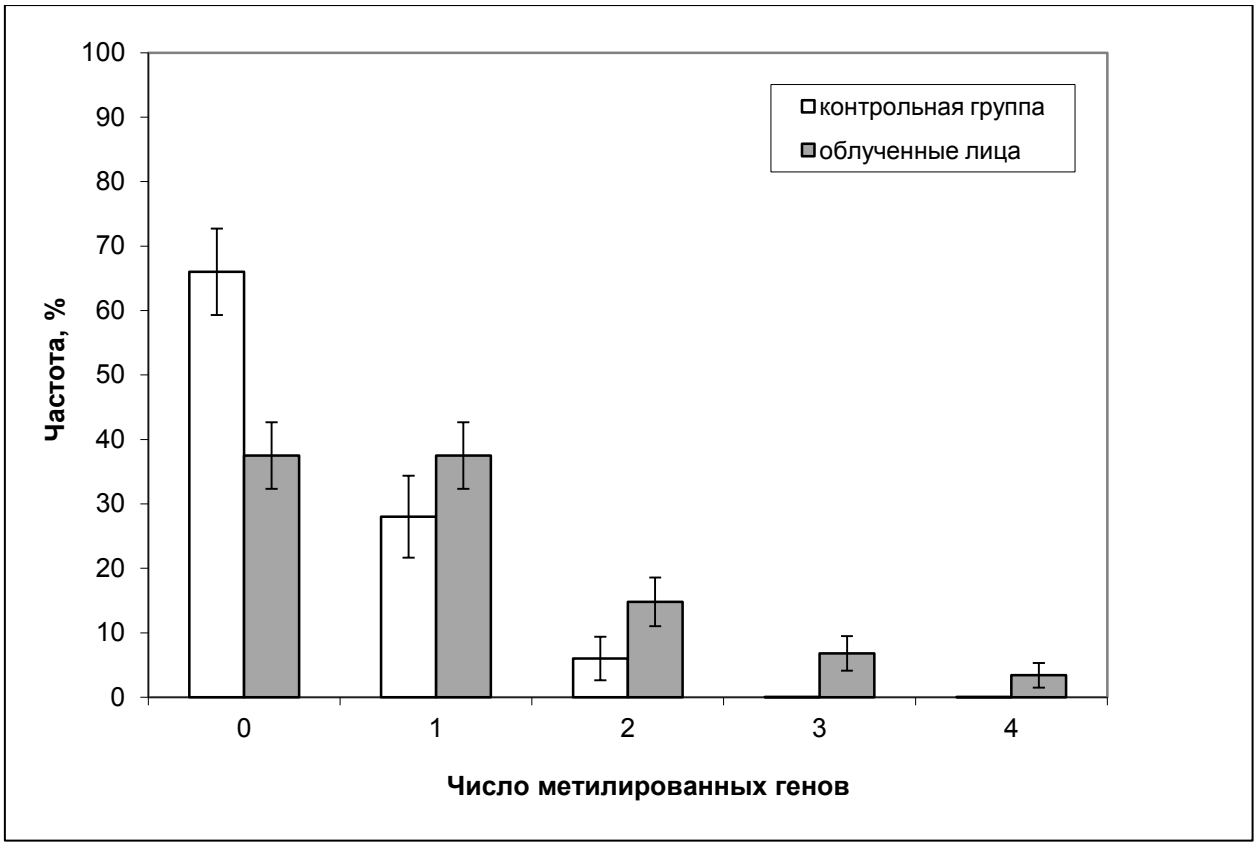


Рис. 32. Распределение суммарного числа метилированых промоторов (из числа *p16/INK4A, GSTP1, p53, ATM, SOD3, ESR1*) у работников реакторного производства ПО «Маяк», подвергшихся внешнему воздействию γ–излучения, и у лиц контрольной группы.

Проведен анализ распределения общего количества гиперметилированных локусов в обследованных группах лиц (рис. 33). Частота облученных лиц с выявленными случаями метилирования промоторов хотя бы одного из этих 6 изученных генов (65,6%) существенно превышала таковой показатель в контрольной группе (34%): p=0,001, OR=3,7, 95%CI 1,68 – 8,13. Встречаемость работников радиохимического производства с аберрантным метилированием двух и более генов (37,7%) также значительно превышала таковую в группе необлученных индивидов (6%): $p = 8{,}1E\cdot10^{-5}$, OR = 9,48, 95 % CI 2,64 – 34,00) (рис.33). Результаты ROC-анализа свидетельствуют о значимой сопряженности статуса

«облученный» с метилированием хотя бы одного из этих генов: AUC = 0,706±0,049, $p = 5{,}2 \cdot 10^{-4}$, 95% CI 0,611 – 0,802.

Таблица 27. Выявленные случаи гиперметилирования промоторов генов у работников радиохимического производства ПО «Маяк», подвергшихся сочетанному внешнему (γ-лучи)/внутреннему (α-частицы) облучению, и у лиц контрольной группы.

Ген	Число случаев метилирования промотора (%)		Эффект радиационного воздействия	
	контроль (n = 50)	облученные работники (n = 61)	OR (95% CI)	p – value*
RASSFA1	2 (4,0)	6 (9,8)	2,62 (0,50-13,58)	0,291 (0,224)
p16/INK4A	3 (6,0)	12 (19,7)	3,84 (1,02-14,46)	0,050 **(0,030)**
p14/ARF	7 (14,0)	9 (14,8)	1,06 (0,37-3,09)	1,00 (0,874)
GSTP1	0 (0,0)	9 (14,8)	7,12** (1,82- 27,83)	**0,004 (0,001)**
p53	3 (6,0)	12 (19,7)	3,84 (1,02-14,46)	0,050 **(0,030)**
ATM	1 (2,0)	5 (8,2)	4,38 (0,49-38,74)	0,220 (0,131)
SOD3	9 (18,0)	27 (44,26)	3,62 (1,50-8,73)	**0,004 (0,003)**
ESR1	4 (8,0)	8 (13,1)	1,58 (0,16-2,04)	0,542 (0,382)

*Двусторонний точный тест Фишера (тест Вальда для логистической регрессии)
** Отношение шансов Пето

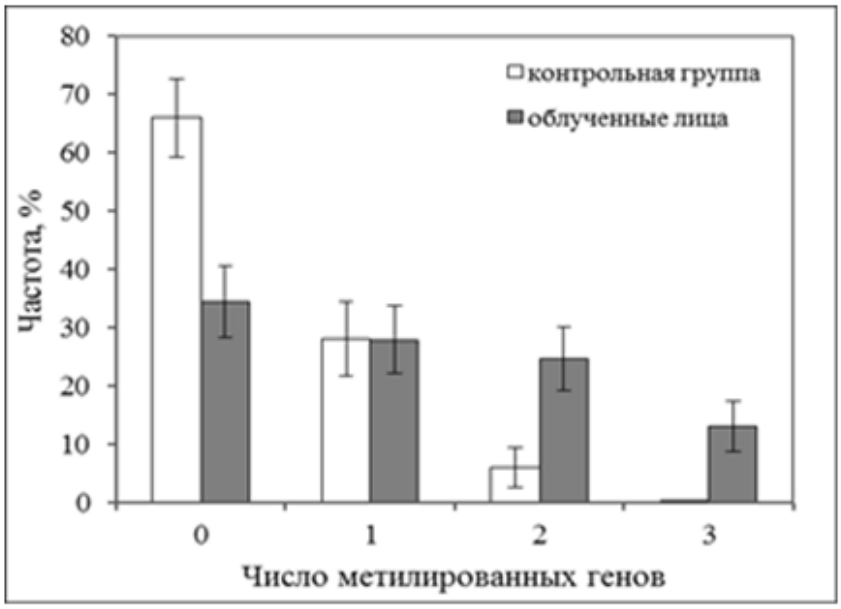


Рис. 33. Распределение суммарного числа метилированых промоторов (из числа *p16/INK4A, GSTP1, p53, ATM, SOD3, ESR1*) у работников радиохимического производства ПО «Маяк», подвергшихся сочетанному внешнему (γ-лучи)/внутреннему (α-частицы) облучению, и у лиц контрольной группы.

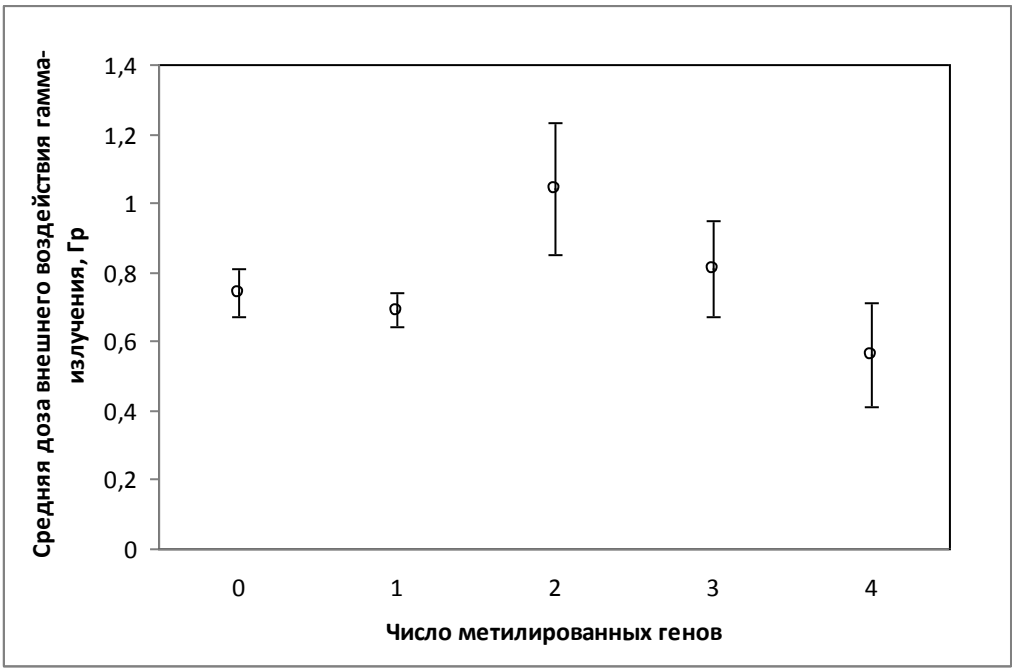
3.6.2.3. Зависимость гиперметилирования промоторов генов от суммарной накопленной дозы хронического воздействия γ- и α-излучений

При рассмотрении исключительно группы облученных лиц, подвергшихся внешнему воздействию γ-излучения, сопряженность между числом метилированных генов и дозой облучения, оказывается не значимой (корреляция по Спирмену: r = 0,092 при p = 0,395). На рис. 34А показаны средние дозы облучения лиц с различным числом метилированных промоторов (контрольная выборка в анализ не включалась). Видно, что радиационная нагрузка у работников, имеющих два метилированных локуса, существенно выше, чем таковая у лиц, характеризующихся одним метилированным геном или отсутствием эпигенетических нарушений

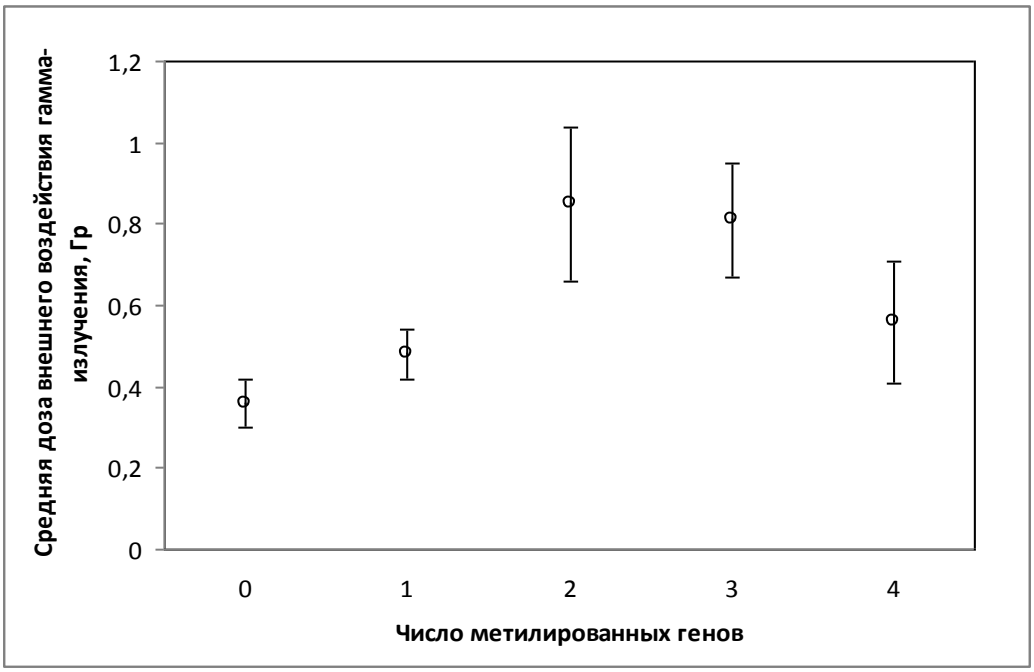
вообще. Однако, в обследованной выборке выявлена небольшая подгруппа индивидов (9 человек, 10,2 %) с числом метилированных генов больше двух, но средняя поглощенная доза ККМ у них существенно не отличалась от таковой для лиц, имеющих количество метилированных локусов 0-1. При рассмотрении же объединенной выборки необлученных лиц и лиц, подвергшихся внешнему воздействию γ-излучения, обнаруживается статистически значимая корреляция дозы облучения и числа метилированных промоторов (корреляция по Спирмену:
r = 0,304; p=3,2·10^{-4}).

Однако, радиационная нагрузка у работников с наиболее выраженными изменениями эпигенетического статуса (4 гиперметилированных промотора) значимо не отличалась от средней поглощенной дозы ККМ у лиц, характеризующихся отсутствием эпигенетических нарушений или имеющих один метилированный ген. Однако, в целом, непараметрический ANOVA тест (критерий Краскала–Уоллиса) показал высоко значимые различия по суммарным накопленным дозам облучения между группами индивидов с разным числом метилированных локусов (p=0,005), что подтверждает дозовую зависимость выраженности рассматриваемых изменений паттерна метилирования у индивидов, подвергшихся внешнему воздействию γ - излучения (рис. 34Б).

При рассмотрении группы облученных лиц - работников радиохимического производства, подвергшихся сочетанному внешнему/внутреннему облучению, выявлена статистически значимая сопряженность накопленных доз облучения и числа метилированных промоторов (r = 0,415 при p = 5,9·10^{-6} и r = 0,362 при p = 9,4·10^{-5} для воздействия γ- и α-излучений, соответственно; контрольная выборка включена в анализ). Из рис. 35, 36 видно, что радиационная нагрузка у работников, имеющих 2-3 и 3 гиперметилированных локуса (для γ- и α-излучений, соответственно) существенно выше таковой у индивидов, характеризующихся изменениями паттерна метилирования в меньшем числе



А.

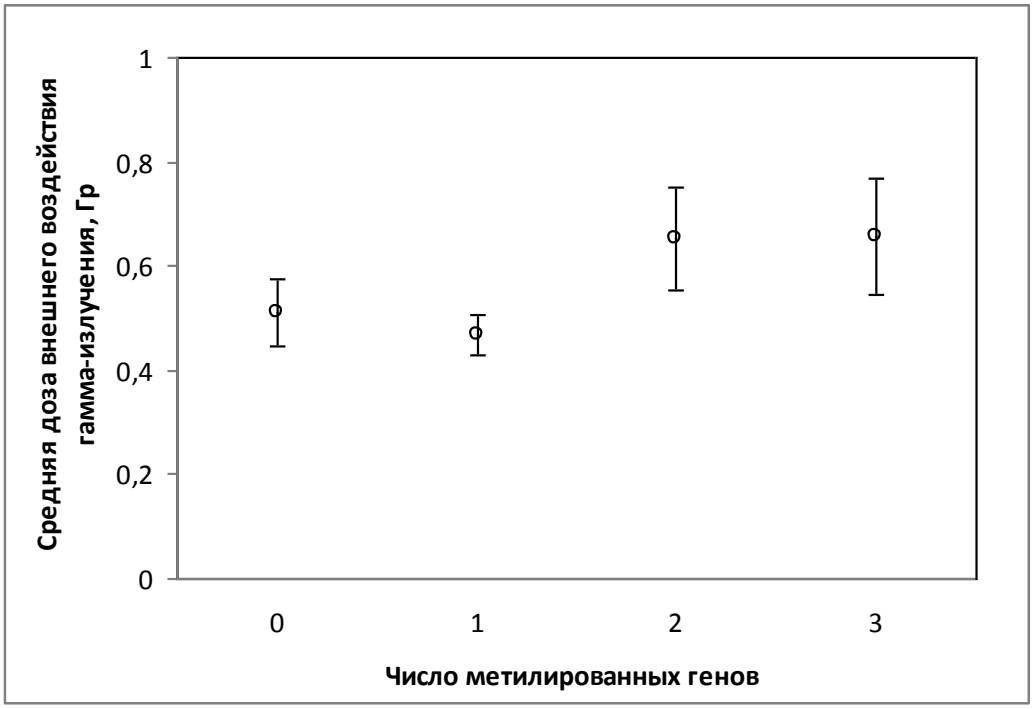


Б.

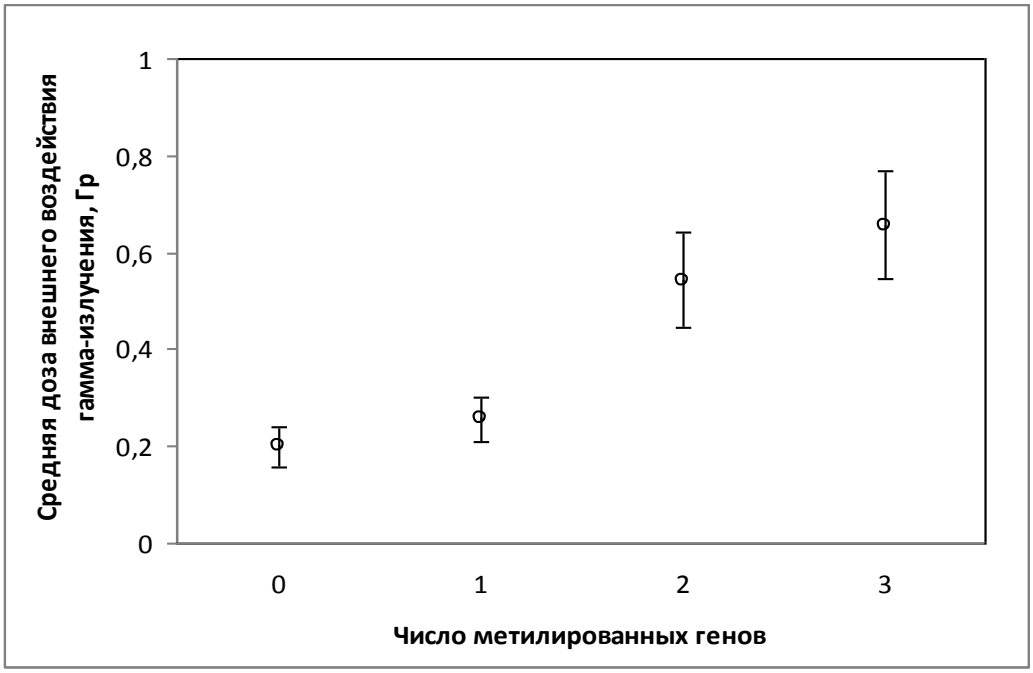
Рис. 34. Средние дозы внешнего воздействия γ-излучения у работников реакторного производства ПО «Маяк» с различным числом метилированных генов.

А. контрольная выборка в анализ не включена.

Б. контрольная выборка включена в анализ.



А.

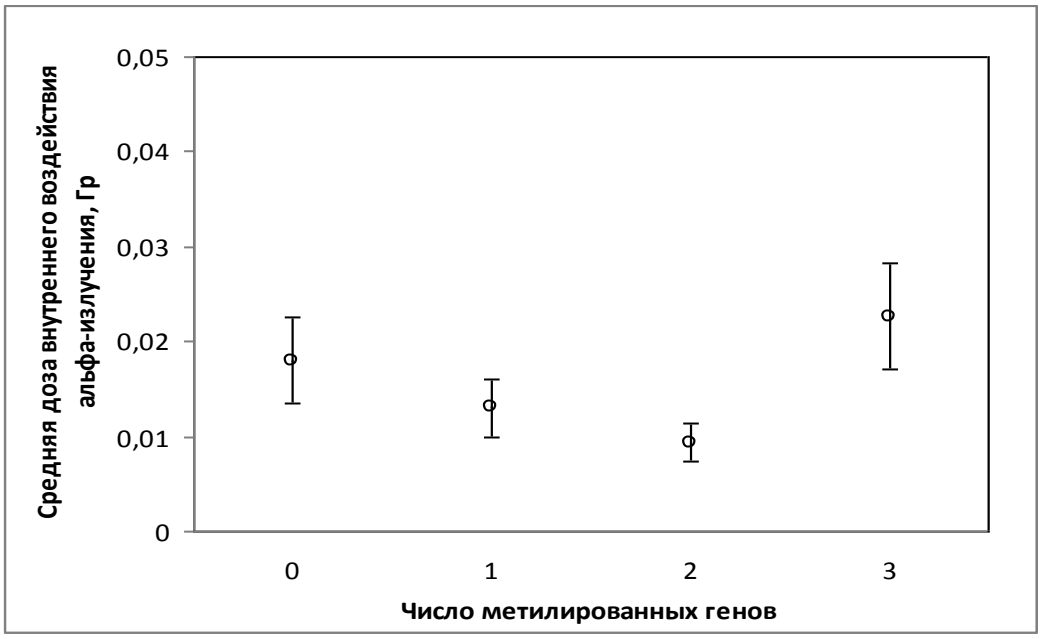


Б.

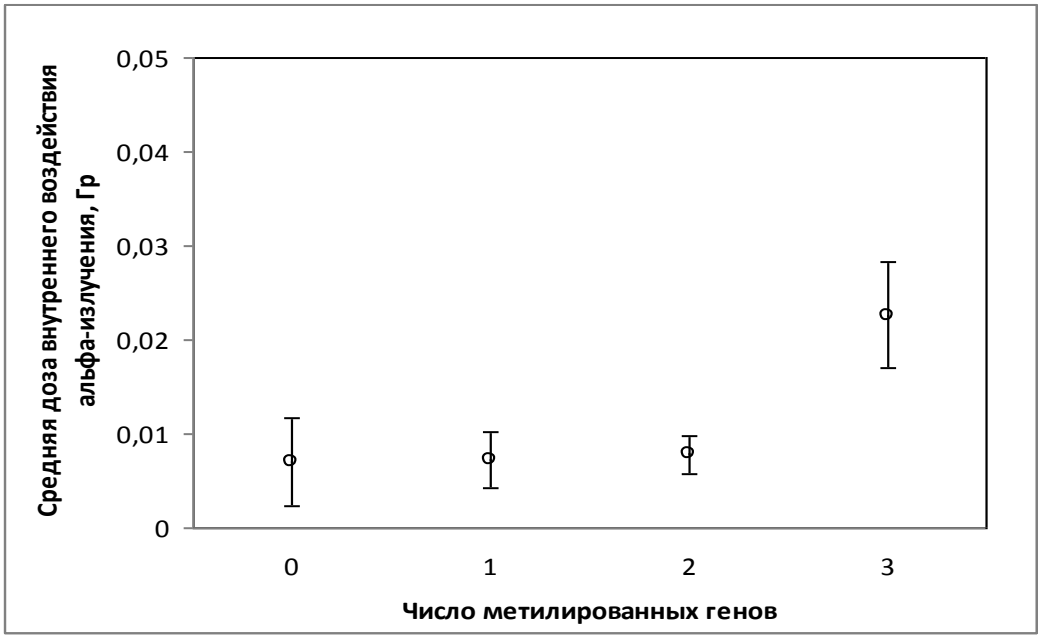
Рис. 35. Средние дозы внешнего воздействия γ – излучения у работников радиохимического производства ПО «Маяк» с различным числом метилированных генов.

А. контрольная выборка в анализ не включена.

Б. контрольная выборка включена в анализ.



А.



Б.

Рис. 36. Средние дозы внутреннего воздействия α–излучения у работников радиохимического производства ПО «Маяк» с различным числом метилированных генов.

А. контрольная выборка в анализ не включена.

Б. контрольная выборка включена в анализ

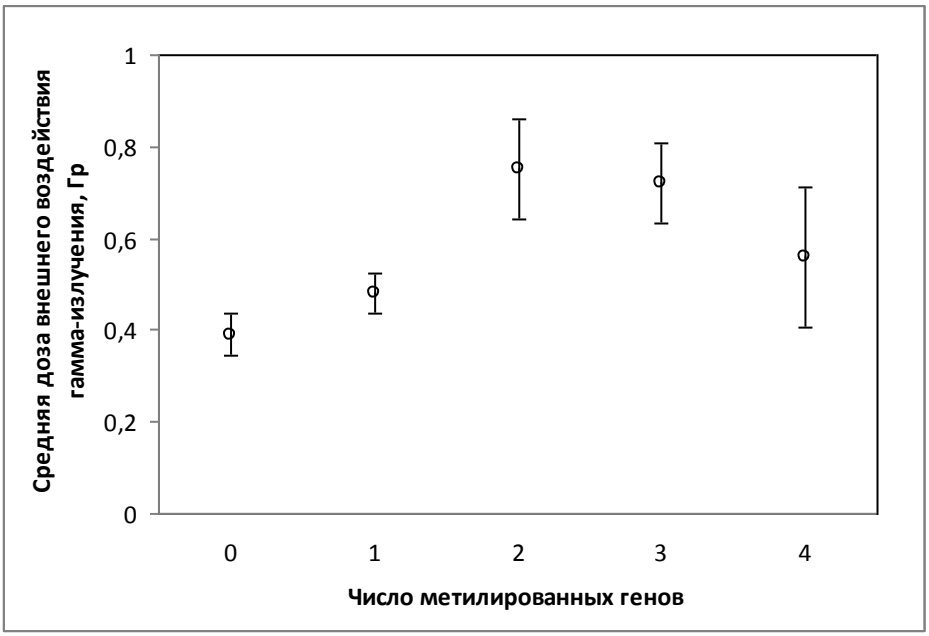
генов. Непараметрический ANOVA тест (критерий Краскала–Уоллиса) показал высоко значимые различия между рассматриваемыми группами ($p = 5{,}71 \cdot 10^{-5}$ и $p = 3{,}47 \cdot 10^{-4}$).

При рассмотрении объединенной группы облученных лиц – работников реакторного и радиохимического производства выявлена статистически значимая сопряженность накопленной дозы облучения и числа метилированных промоторов ($r = 0{,}289$, $p = 3{,}4 \cdot 10^{-5}$ и $r = 0{,}179$, $p = 0{,}011$ для воздействия γ- и α-излучений, соответственно). Непараметрический ANOVA тест (критерий Краскала – Уоллиса) также показал существенные различия между группами лиц, имеющих разное число метилированных генов, по величине накопленных доз облучения ($p = 0{,}001$ и $p = 0{,}009$ для воздействия γ и α-излучений, соответственно; контрольная группа включена в анализ) (рис. 37).

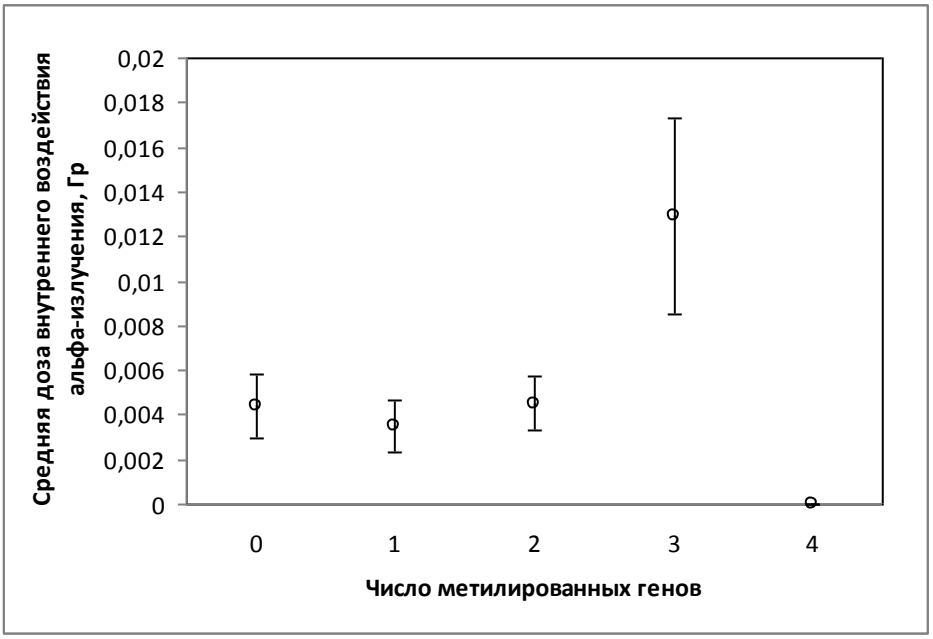
Таким образом, выявлена зависимость доза-эффект для гиперметилирования совокупности генов (*p16/INK4A, GSTP1, p53, ATM, SOD3, ESR1*, которое выявляются в лейкоцитах крови спустя годы и десятилетия после перенесенного пролонгированного внешнего воздействия γ – излучения или комбинированного действия внешнего γ-/внутреннего α-излучений.

3.6.3. Верификация результатов исследований, полученных на двух независимых выборках облученных лиц

Проведенные эпигенетические исследования независимой выборки облученных лиц с рассчитанной и документированной дозой облучения (выборка № 2 - объединенная выборка работников реакторного и радиохимического производств) верифицируют данные о дифференциальных эффектах возраста и радиационного воздействия в метилировании CpG-островков промоторов разных генов, полученные на первой выборке



А.



Б.

Рис. 37. Средние дозы внешнего воздействия (А) γ-излучения и (Б) внутреннего воздействия α-излучения у обследованных работников ПО «Маяк» (объединенная выборка) с различным числом метилированных генов (в анализ включена контрольная выборка).

Так в табл. 28 представлены результаты верификации данных по метилированию генов *RASSF1A, p16/INK4A, p14/ARF, GSTP1* на независимых выборках облученных людей: смешанная выборка № 1 (ликвидаторы аварии на ЧАЭС, профессионалы-атомщики, жители территорий с радионуклидными загрязнениями) и выборка № 2 (работники ПО «Маяк»), а также на независимых выборках лиц контрольных групп. Как видно, частота случаев гиперметилирования промоторов локусов *p16/INK4A* и *GSTP1* у облученных лиц двух рассматриваемых выборок статистически значимо превышала аналогичный показатель в соответствующей контрольной группе. Статистически значимых различий в частоте пациентов с метилированием генов *RASSF1A* и *p14/ARF* между экспонированной и соответствующей контрольной группой в обоих исследованиях не обнаружено. Таким образом, в обеих выборках наблюдались **однонаправленные эффекты**. Объединение двух независимых выборок облученных индивидов, а также лиц контрольных групп, позволило подтвердить выявленные закономерности (табл. 28).

Расширение спектра анализируемых генов при изучении гиперметилирования ДНК у работников ПО «Маяк» позволило выявить совокупность *p16/INKA, p53, GSTP1, SOD3, ATM, ESR1* локусов, гиперметилирование которых ассоциировано с радиационным воздействием (табл. 29, 30). Показано, что метилирование генов *p14/ARF* и *RASSFA1* обусловлено исключительно возрастом (логистическая регрессия: p=0,010), но не перенесенным радиационным воздействием (p=0,846) (табл. 29). Для остальных 6 генов (*p16/INK4A, GSTP1, p53, ATM, SOD3, ESR1*) возрастная зависимость метилирования отсутствует (p=0,541), но обнаруживается существенная сопряженность с воздействием ионизирующей радиации ($p=1{,}9\cdot10^{-4}$) (табл. 29).

Среди облученных лиц выявлена существенно повышенная частота индивидов с метилированием промоторов хотя бы одного из этих 6 генов в лейкоцитах крови по сравнению с таковым показателем у лиц контрольной

Таблица 28. Выявленные случаи гиперметилирования промоторов генов при анализе двух независимых выборок облученных и необлученных лиц

Ген	Выборка № 1				Выборка № 2				Объединенная выборка			
	Контроль (n=105)	Облученные лица (n=117)	Эффект радиационного воздействия		Контроль (n=50)	Облученные лица (n=149)	Эффект радиационного воздействия		Контроль (n=155)	Облученные лица (n=266)	Эффект радиационного воздействия	
	Число случаев метилирования (%)		OR (95% CI)	p-value*	Число случаев метилирования (%)		OR (95% CI)	p-value*	Число случаев метилирования (%)		OR (95% CI)	p-value*
RASSFA1	6 (5,7)	10 (8,5)	1,54 (0,54 – 4,40)	0,449 (0,418)	2 (4,0)	13 (8,72)	2,29 (0,50-10,54)	0,365 (0,286)	8 (5,2)	23 (8,7)	1,74 (0,76 – 3,99)	0,246 (0,191)
p16/INK4A	1 (1,0)	11 (9,4)	10,79 (1,37 – 85,09)	**0,006 (0,024)**	3 (6,0)	27 (18,1)	3,47 (1,00-11,97)	**0,041** (0,049)	4 (2,6)	38 (14,3)	6,29 (2,20 – 17,99)	**6,6E-5 (6,0E-4)**
p14/ARF	4 (3,8)	6 (5,1)	1,36 (0,37 – 4,98)	0,752 (0,637)	7 (14,0)	18 (12,1)	0,84 (0,33-2,16)	0,806 (0,723)	11 (7,1)	24 (9,02)	1,30 (0,62 – 2,73)	0,585 (0,491)
GSTP1	1 (1,0)	11 (9,4)	10,79 (1,37 – 85,09)	**0,006 (0,024)**	0 (0,0)	19 (12,8)	8,41** (1,63- 43,46)	**0,004** (0,006)	1 (0,65)	30 (11,28)	19,58 (2,64 – 145,04)	**9,1E-6 (3,6E-3)**

*Двусторонний точный тест Фишера (тест Вальда для логистической регрессии)
** Отношение шансов Пето

Таблица 29. Оценка зависимости метилирования разных генов от возраста и радиационного воздействия (логистическая регрессия).

	Возраст		Облучение	
Гены	B*	p**	B*	p**
p14	0,064 ± 0,039	0,095	-0,214 ± 0,484	0,659
RASSFA11	0,095 ± 0,049	0,052	0,765 ± 0,784	0,808
Хотя бы один из генов *p14* и *RASSFA1*	0,085 ± 0,033	0,010	0,083 ± 0,429	0,846
Хотя бы один из генов *p16, GSTP1, p53, ATM, SOD3, ESR1*	0,015 ± 0,025	0,541	1,285± 0,345	1,9E-4

* - коэффициент в логистической регрессии
** - тест Вальда

группы ($p=2,31\cdot10^{-4}$) (табл. 30).

В группе работников ПО “Маяк” доля индивидов с гиперметилированием CpG-островков промоторов генов *p16/INK4A, GSTP1* и *SOD3* статистически значимо превышала аналогичные показатели в контрольной группе (p = 0,041, p = 0,004 и p = 0,006, соответственно). Для остальных трех локусов (*p53, ATM, ESR1*) выявлена тенденция к более высокой частоте встречаемости облученных индивидов с аберрантным метилированием по сравнению с лицами контрольной группы, что особенно характерно для генов *p53* и *ATM* (p = 0,094 и p = 0,078, соответственно) (табл. 30). Наибольшая доля индивидов – носителей эпигенетических нарушений 2-х и 3-х локусов наблюдалась в группе работников радиохимического производства, подвергшихся комбинированному действию внешнего γ-/внутренего α- излучений (рис. 38)

Результаты ROC-анализа свидетельствуют о значимой сопряженности статуса «облученный» с метилированием хотя бы одного из этих генов:
AUC = 0,69±0,04, $p = 5,9\cdot10^{-5}$, 95% CI 0,606 – 0,763 (рис. 39).

Отсутствует значимая зависимость количества метилированных генов (из числа *p16/INK4A, GSTP1, p53, ATM, SOD3, ESR1*) от промежутка времени

между окончанием работ в условиях облучения и взятием образцов крови, однако отмечена тенденция к обратной сопряженности между рассматриваемыми показателями (r = - 0,105, p = 0,203 по Пирсону; r = - 0,126, p = 0,125 по Спирмену).

Анализ зависимости аберрантного эпигенетического маркирования от эпидемиологических показателей показал следующие. Частота облученных индивидов с онкологическими заболеваниями, диагностированными к моменту взятия крови и в течение пяти лет после этой даты, имевших

Таблица 30. Выявленные случаи гиперметилирования промоторов генов у работников ПО «Маяк» (объединенная выборка) и лиц контрольной группы.

Ген	Число случаев метилирования промотора (%)		Эффект радиационного воздействия	
	контроль (n = 50)	облученные работники (n = 149)	OR (95% CI)	p – value*
p16/INK4A	3 (6,0)	27 (18,1)	3,47 (1,09-14,92)	**0,041**
GSTP1	0 (0,0)	19 (12,8)	4,35 (1,46-12,89)	**0,004**
p53	3 (6,0)	24 (16,1)	3,01 (0,87-10,46)	0,094
ATM	1 (2,0)	15 (10,1)	5,49 (0,80-235,55)	0,078
SOD3	9 (18,0)	60 (40,3)	3,07 (1,40-6,73)	**0,006**
ESR1	4 (8,0)	19 (12,8)	1,68 (0,52-7,59)	0,451
Хотя бы один ген	17 (34,0)	96 (64,9)	3,62 (1,76-7,46)	**$2{,}3\cdot10^{-4}$**
*Мета-анализ всех генов***			3,38 (2,05-5,56)	**$1{,}7\cdot10^{-7}$**

*Двусторонний точный тест Фишера
** Тест Мантеля -Хензеля

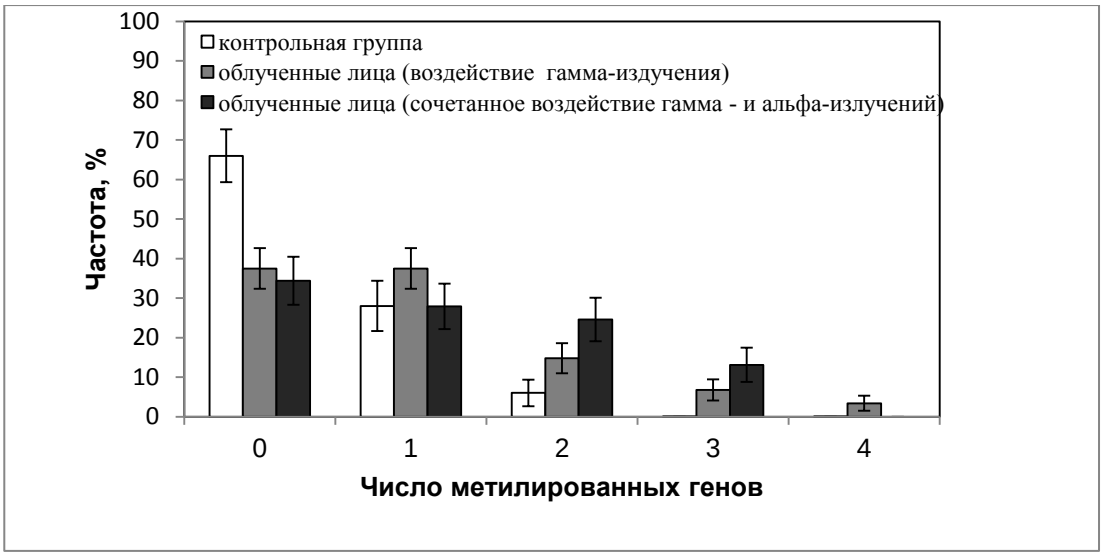


Рис. 38. Распределение суммарного числа метилированых промоторов (из числа *p16/INK4A, GSTP1, p53, ATM, SOD3, ESR1*) у облученных работников ПО «Маяк и лиц контрольной группы.

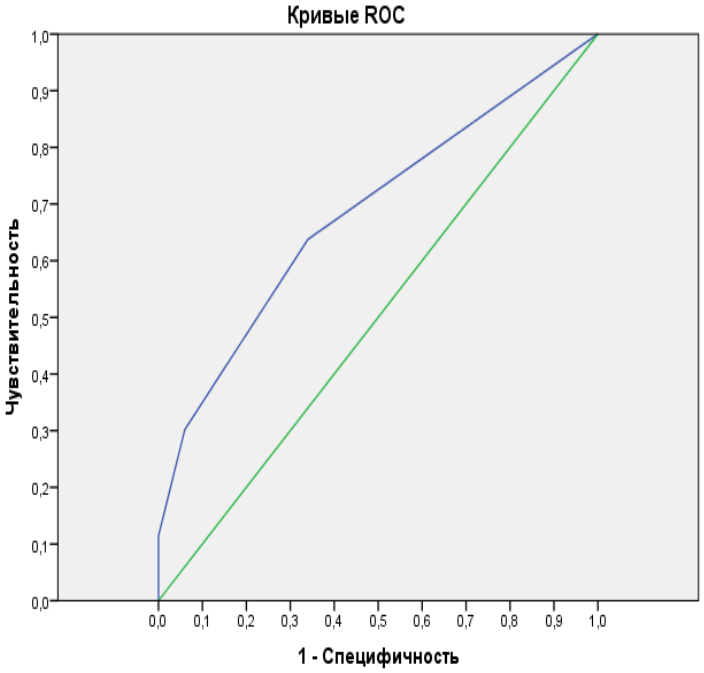


Рис. 39. Оценка информативности рассмотрения выявленных эпигенетических нарушений в качестве биомаркеров радиационного воздействия (ROC-анализ)

метилирование хотя бы одного из 8 изученных генов составила 79 %, что превышало таковой показатель в подгруппе «здоровых» работников ПО «Маяк» (68 %), однако при таких объемах выборок различия были не значимы (OR = 1,74, p = 0,239, 95% CI 0,69 – 4,37), что требует дальнейших исследований.

3.6.4. Оценка сопряженности между эпигенетическими и цитогенетическими показателями

Следует отметить, что предикативность полученных эпигенетических показателей (п. 3.6.3) сопоставима с таковой, рассчитанной при анализе частот дицентриков+колец – аберраций хромосом, всегда считавшихся в радиационной генетике как объективные маркеры радиационного воздействия: AUC = 0,699±0,038, p = $1{,}4 \cdot 10^{-6}$, 95% CI 0,625 – 0,773 (данные, полученные в лаборатории ранее на выборке ликвидаторов аварии на ЧАЭС).

Поэтому, проведен анализ сопряженности между цитогенетическим статусом (спектр и частота аберраций хромосом) и гиперметилированием промоторов генов клеточного цикла (*RASSF1A, p16/INK4A, p14/ARF)* и детоксикации (*GSTP1*) в лейкоцитах крови облученных лиц (выборка № 1: 98 чел, ликвидаторы аварии на ЧАЭС и жители территорий с радионуклидными загрязнениями). В табл. 31, 32 приведены параметрические и непараметрические корреляции между суммарным числом метилированных локусов и цитогенетическими показателями у облученных лиц.

Как видно из табл. 31, 32 метилирование генов *p16/INK4A, GSTP1* сопряжено с теми или иными цитогенетическими показателями. Так, наблюдались невысокие, но значимые корреляции (по Пирсону) метилирования промотора гена *GSTP1* с суммарной частотой всех аберраций хромосом (и частотой аберраций хромосомного типа), а также ассоциативная связь (тенденция:p=0,063) рассматриваемой эпигенетической модификации локуса *p16/INK4A* с общим уровнем аберраций хромосом. Выявлены также значимые коррелятивные связи суммарного количества метилированных

генов с суммарной частотой всех аберраций хромосом (и частотой аберраций хромосомного типа).

Невысокие, но значимые непараметрические корреляции (по Спирмену) наблюдались между метилированием *p16/INK4A* локуса и общей частотой аберраций хромосомного типа, а также выявлена тенденция к сопряженности (p=0,091) метилирования гена *GSTP1* с суммарной частотой всех аберраций хромосом.

Таблица 31. Корреляции* по Пирсону между метилированием промоторов исследованных локусов и цитогенетическими показателями у облученных лиц.

Ген	Цитогенетические показатели			
	Суммарная частота аберраций хромосом	Суммарная частота аберраций хромосомного типа	Суммарная частота аберраций хроматидного типа	Частота дицентриков + колец
RASSF1A	-0,066 (0,512)	0,034 (0,736)	-0,102 (0,311)	0,041 (0,686)
p16/INK4A	0,185 (0,063)	0,125 (0,213)	0,136 (0,177)	0,016 (0,875)
p14/ARF	0,091 (0,367)	0,144 (0,152)	0,014 (0,887)	0,113 (0,261)
GSTP1	0,225 (0,024)	0,119 (0,237)	0,208 (0,037)	0,051 (0,610)
суммарное количество метилированных генов	0,232 (0,019)	0,208 (0,037)	0,148 (0,139)	0,102 (0,312)

*Под коэффициентом корреляции в скобках указаны двусторонние уровни значимости.

Наличие значимых коррелятивных связей суммарного количества метилированных генов с общим уровнем всех аберраций хромосом (и частотой аберраций хромосомного типа) подтверждается и результатами непараметрического корреляционного анализа. Следует отметить, что единственная корреляция (незначительная, но значимая), проходящая через коррекцию на множественность сравнений, наблюдалась между общей частотой аберраций хромосомного типа и суммарным числом метилированных локусов (по Спирмену r = 0,26; p = 0,009). Эта сопряженность в основном обусловлена генами, проявившими зависимость эпигенетического статуса от перенесенного организмом радиационного воздействия (*p16/INK4A, GSTP1*).

Таблица 32. Непараметрические корреляции* по Спирмену между метилированием промоторов исследованных локусов и цитогенетическими показателями у облученных лиц.

Ген	Цитогенетические показатели			
	Суммарная частота аберраций хромосом	Суммарная частота аберраций хромосомного типа	Суммарная частота аберраций хроматидного типа	Частота дицентриков + колец
RASSF1A	-0,067 (0,506)	0,098 (0,329)	-0,089 (0,376)	0,127 (0,207)
p16/INK4A	0,121 (0,230)	0,217 (0,029)	0,017 (0,867)	0,033 (0,743)
p14/ARF	0,150 (0,135)	0,110 (0,275)	0,037 (0,715)	0,132 (0,190)
GSTP1	0,169 (0,091)	0,113 (0,261)	0,140 (0,163)	0,073 (0,467)
суммарное количество метилированных генов	0,206 (0,039)	0,259 (0,009)	0,090 (0,371)	0,144 (0,151)

*Под корреляциями в скобках указаны двусторонние уровни значимости.

Результаты множественного регрессионного анализа («Частота аберраций ~ возраст + количество гиперметилированных генов»), свидетельствуют о сопряженности суммарного уровня аберраций хромосомного типа с рассмотренными эпигенетическими показателями (β =0,256; p = 0,011), но не с возрастом (β = -0,138; p = 0,165) (табл. 33). Непараметрический ANOVA тест (критерий Краскала – Уоллиса) также показал существенные различия между группами лиц, имеющих разное число метилированных генов, по суммарной частоте аберраций хромосомного типа (*p* = 0,008). Таким образом, частота аберраций хромосомного типа возрастает с увеличением количества метилированных локусов (рис. 40).

Таблица 33. Множественный регрессионный анализ зависимости частоты аберраций хромосомного типа от возраста и количества метилированных локусов у облученных индивидов.

Модель	B*	SE (B)	β **	t	p
Константа	0,022	0,004			
Возраст	-1,1E-4	7,7E-5	-0,138	-1,400	0,165
Суммарное метилирование	0,004	0,002	0,256	2,593	0,011

*коэффициент линейной регрессии

**стандартизованный коэффициент линейной регрессии

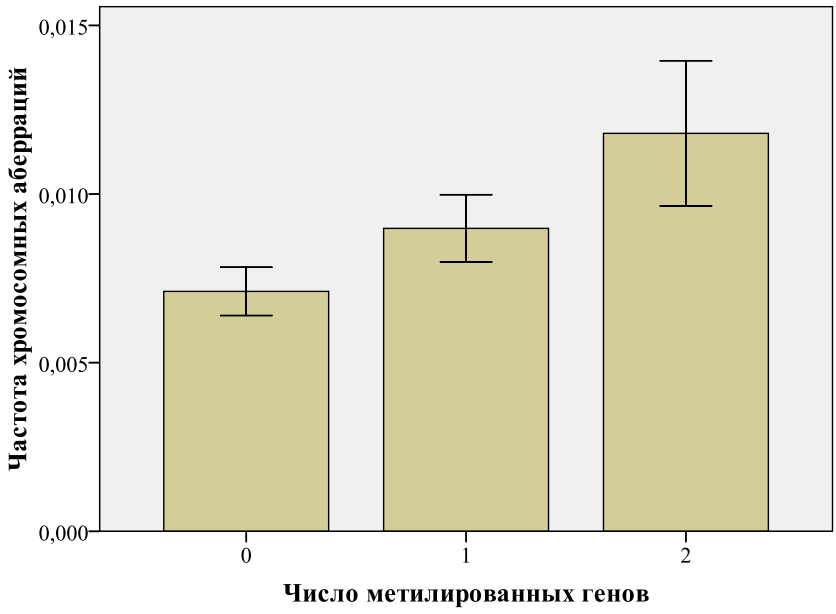


Рис. 40. Частоты хромосомных аберраций (на 1 клетку) у облученных лиц с различным количеством метилированных промоторов. Приведенные разбросы соответствуют стандартным ошибкам (SE).

Таким образом, выявлена положительная ассоциативная связь между поврежденностью генома, индуцированной перенесенным десятилетия назад радиационным воздействием в диапазоне малых и средних доз, и гиперметилированием промоторов генов основных защитных систем клеток.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

4.1. Краткие итоги результатов исследований

Во всех обследованных группах детей – постоянных жителей территорий с радионуклидными загрязнениями (135 – 688 кБк/м^2), родившихся как в ближайшие годы (1-5 лет), так и в более отдаленный период после аварии на ЧАЭС, выявлены повышенные частоты тех или иных цитогенетических нарушений по сравнению с таковыми показателями у детей контрольной группы. Частоты аберраций хромосом у детей, родившихся спустя 9 – 19 лет после начала воздействия радиационного фактора на их родителей, находящихся на тот момент (1986 г.) в детском или препубертатном/пубертатном периоде онтогенеза, не отличаются значимо от таковых у детей, непосредственно облученных во время аварии на ЧАЭС (то есть в постнатальный или антенатальный период онтогенеза) и продолжавщих проживать (в течение 10 - 15 лет до обследования) на территориях с радионуклидными загрязнениями. При этом, средние эффективные дозы, накопленные детьми сравниваемых групп, отличались многократно. Хотя средние уровни аберрантных клеток и аберраций хроматидного типа у детей и их родителей значимо не отличались, частоты аберрации хромосомного типа явно преобладали у родителей. В частности, у родителей, дети которых родились в первые годы после аварии на ЧАЭС (1987-1992 гг.), уровни простых аберраций хромосомного типа статистически значимо превышали таковые у их потомков (p=0,008). У детей, родившихся от матерей и отцов спустя десятилетия после Чернобыльской катастрофы (1997-2007 гг.), частоты простых и обменных аберраций хромосомного типа существенно были ниже таковых у их родителей (p=0,009 и p=0,0007, соответственно), подвергшихся максимальному воздействию радиационного фактора (во время аварии) будучи в дошкольном и препубертатном периоде

онтогенеза и длительное время проживавших на территориях с радионуклидными загрязнениями до зачатия детей.

Существенно повышенные уровни (по сравнению с соответствующим контролем) аберрантных клеток, аберраций хроматидного и хромосомного типа выявлены как у отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС, так и у их необлученных детей. Как и следовало ожидать, частоты всех этих цитогенетических показателей у облученных ликвидаторов были значительно выше, чем у их потомков, что в первую очередь, относится к простым и обменным аберрациям хромосомного типа (p=0,006 и p=0,0005, соответственно). При этом, уровни обменных аберраций хромосомного типа у ликвидаторов аварии на ЧАЭС и у жителей радиационно-загрязненных территорий (все обследованные группы) значимо не отличались. Частоты простых аберраций хромосомного типа были только ниже у индивидов, проживающих в условиях низкоинтенсивного воздействия радиации и подвергшихся облучению во время аварии будучи детьми и подростками. Уровни аберрантных клеток и аберраций хроматидного типа только у родителей детей 1997-2007 г. р были пониженными по сравнению с таковыми показателями у ликвидаторов Чернобыльской катастрофы. Следует подчеркнуть, что дозы облучения ликвидаторов аварии на ЧАЭС были существенно выше, чем у жителей территорий с радионуклидными загрязнениями.

Рассматриваемые цитогенетические показатели у необлученных детей – потомков ликвидаторов аварии на ЧАЭС не отличались значимо от таковых у детей, проживающих в условиях пролонгированного действия радиации в низких дозах и родившихся после аварии на ЧАЭС в 1986-1995 гг. Уровни аберрантных клеток, хроматидных фрагментов и простых аберраций хромосомного типа у детей ликвидаторов оказались значимо выше, чем у детей самой младшей возрастной группы 1997-2007 г.р. (p=0,048; p=0,027 и p=0,035, соответственно), характеризующихся наименьшим сроком непосредственного действия радиации на их организм, но являющихся

потомками облученных родителей. Кроме того, частоты аберрантных клеток и хроматидных фрагментов у детей ликвидаторов значимо превышали таковые показатели у облученных детей, родившихся до аварии: p=0,048 и p=0,028, соответственно.

С целью выявления особенностей проявления дисгеномных эффектов у необлученных детей по сравнению с их облученными родителями, проведено комплексное изучение по цитогенетическим и иммуногенетическим критериям состояния генетического аппарата лимфоцитов у отцов-ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС и их потомков. Как у ликвидаторов аварии на ЧАЭС, так и их необлученных детей выявлены повышенные частоты аберраций хромосом, генных мутаций (TCR – мутации) и предикторов апоптоза (клетки с иммунофенотипом $CD95^+$, экспрессирующие FAS/APO1 – маркер апоптоза). В результате анализа сопряженности между изученными показателями выявлены отличительные особенности, характерные для индукции геномной нестабильности в организме необлученных детей, по сравнению с отцами-ликвидаторами, перенесшими непосредственное радиационное воздействие. Если у большинства облученных отцов высокие уровни TCR – мутаций сопровождалось повышенной частотой аберраций хромосомного типа, то у их необлученных детей корреляции между уровнем TCR – мутантных лимфоцитов и частотой аберрантных клеток (а также других цитогенетических показателей) отсутствовали ($|r| \leq 0,34$; $p \geq 0,2$). По сравнению с детьми, в группе ликвидаторов преобладают лица с высоким уровнем предикторов апоптоза в сочетании с повышенной частотой аберрантных/TCR–мутантных клеток. Напротив, в группе детей преобладали индивидуумы с низкими уровнями $CD95^+$ клеток в сочетании с повышенной частотой TCR – мутантных/аберрантных клеток.

Наблюдается достаточно высокая значимая положительная корреляционная связь между уровнями предикторов апоптоза у

ликвидаторов и их детей, а также между частотой $CD95^+$ клеток у облученных отцов и уровнем аберрантных клеток у их потомков.

По всем изученным критериям наблюдались индивидуальная вариабельность дестабилизации генома, которая проявлялась как разнообразием спектра трансгенерационных мутационных эффектов, так и различной степенью их выраженности.

Результаты проведенного молекулярно-генетического обследования семей профессионалов-атомщиков, подвергшихся хроническому воздействию β-излучением трития, свидетельствуют о тенденции к повышенной частоте МКС мутаций в гаметах облученных людей по сравнению с контролем. Хотя мини-/микросателлиты являются некодирующими последовательностями ДНК, повышенная частота мутаций в этих локусах, выявленная у потомков облученных родителей, может являться биоиндикатором генотоксических эффектов радиационного воздействия.

На двух независимых выборках облученных лиц (discovery set: ликвидаторы аварии на ЧАЭС, профессионалы-атомщики г. Сарова, жители территорий с радионуклидными загрязнениями и validation set:работники ПО «Маяк») показана реальность гиперметилирования CpG–островков промоторов некоторых генов (в частности, *p16/INKA* и *GSTP1)*, выявляемого в нормальных лейкоцитах крови в отдаленный период после радиационного воздействия. Наблюдались дифференциальные эффекты возраста и радиационного воздействия в метилировании CpG-островков промоторов разных генов. Для обеих выборок выявлены **однонаправленные эффекты**: рассматриваемые эпигенетическии модификации *RASSF1A* и *p14/ARF* локусов обусловлены возрастом, а генов *p16/INKA* и *GSTP1*− перенесенным облучением.

Дальнейшие исследования работников реакторного и радиохимического производств ПО «Маяк» с индивидуальными рассчитанными накопленными дозами внешнего воздействия γ-излучения

или комбинированного действия внешнего γ-/внутреннего α-излучений, выполненные с расширением спектра анализируемых локусов, выявили совокупность *p16/INKA, p53, GSTP1, SOD3, ATM, ESR1* локусов, гиперметилирование которых ассоциировано с радиационным воздействием. Результаты ROC-анализа свидетельствуют о значимой сопряженности статуса «облученный» с метилированием хотя бы одного из этих 6 локусов: AUC = 0,69±0,04, $p = 5{,}9 \cdot 10^{-5}$. Следует отметить, что предикативность полученных эпигенетических показателей сопоставима с таковой, рассчитанной при анализе частот дицентриков+колец – аберраций хромосом, всегда считавшихся в радиационной генетике как объективные маркеры радиационного воздействия: AUC = 0,699±0,038, $p = 1{,}4 \cdot 10^{-6}$, 95% CI 0,625 – 0,773 (данные, полученные в лаборатории ранее на выборке ликвидаторов аварии на ЧАЭС). Выявлена зависимость доза-эффект для гиперметилирования рассматриваемых генов, то есть наблюдалась статистически значимая сопряженность накопленной дозы облучения и числа метилированных промоторов ($r = 0{,}289$, $p = 3{,}4 \cdot 10^{-5}$ и $r = 0{,}179$, $p = 0{,}011$ для воздействия γ- и α-излучений, соответственно).

4.2. Обсуждение

Для обсуждения полученных результатов, помимо работ, процитированных в ниже изложенном тексте, используются материалы из ряда публикаций автора по теме диссертации (Сусков И.И., **Кузьмина Н.С.,** Балева Л.С., Сипягина А.Е. Проблема индуцированной геномной нестабильности как основы повышенной заболеваемости у детей, подвергающихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах. Радиобиология. Радиоэкология. 2006.Т.46. № 2. С. 167-177; Сусков И.И., **Кузьмина Н.С.,** Сускова В.С., Агаджанян А.В., Рубанович А.В. Индивидуальные особенности трансгенерационной геномной нестабильности у детей ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС (цитогенетические и иммуногенетические показатели). Радиац. биол. Радиоэкол. 2008. Т. 48. № 2. С. 278-286; Шайхаев Г.О., **Кузьмина Н.С.**, Мязин А.Е., Панушкина О.Г., Рубанович А.В., Хаймович Т.И., Снигирева Г.П. Изучение частоты мутаций в мини- и микросателлитных локусах ДНК в клетках членов семей работников атомной

промышленности, работавших с тритием и его окисью. Радиац. биол. Радиоэкол. 2008. Т. 48. № 6. С. 690-697; **Кузьмина Н.С.,** Мязин А.Е., Лаптева Н.Ш., Рубанович А.В. Изучение аберрантного метилирования в лейкоцитах крови ликвидаторов аварии на ЧАЭС. Радиационная биология. Радиоэкология. 2014. Т.54. № 2. С. 127-139; **Nina S. Kuzmina**, Andrey E. Myazin, Nellya Sh. Lapteva, Alexander B. Rubanovich, The study of hypermethylation in irradiated parents and their children blood leukocytes. Central European Journal of Biology. 2014. V. 9. № 10. P. 941-950; **Кузьмина Н.С.**, Лаптева Н.Ш., Русинова Г.Г., Азизова Т.В., Вязовская Н.С., Рубанович А.В. Гиперметилирование промоторов генов в лейкоцитах крови человека в отдаленный период после перенесенного радиационного воздействия. Радиационная биология. Радиоэкология. 2017. Т.57. № 4. С. 341 – 356.; **Кузьмина Н.С.,** Лаптева Н.Ш., Русинова Г.Г., Азизова Т.В., Вязовская Н.С., Рубанович А.В. Дозовая зависимость гиперметилирования промоторов генов в лейкоцитах крови лиц, подвергшихся сочетанному воздействию гамма- и альфа-излучений. Генетика. 2018. Т. 54. Приложение. С. S22-S26; **Kuzmina N. S.,** Lapteva N. Sh., Rusinova G. G., Azizova T.V., Vyazovskaya N. S., Rubanovich A. V. Dose dependence of hypermethylation of gene promoters in blood leukocytes in humans occupationally exposed to external gamma radiation. Biology Bulletin. 2019. V. 46. № 11. P. 1563-1569).

Предпринятое нами посемейное изучение дисгеномных эффектов у детей вышерассмотренных групп и родителей, позволило охватить все основные периоды онтогенетического развития, на которое пришлось радиационное воздействие, в том числе оценить последствия облучения родителей в разные критические периоды детства для их потомков.

Результаты проведенного нами цитогенетического обследования свидетельствуют о значимо повышенных уровнях тех или иных цитогенетических нарушений в обоих поколениях обследованных людей, постоянно проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами, то есть как у родителей, подвергшихся облучению в 1986 г. в разные периоды онтогенеза, так и у их детей, родившихся после аварии в 1987-2007 гг. Частоты аберрантных геномов у детей и взрослых в 1,5-3 раза превышают контрольный уровень. Как уже обсуждалось, повышенные уровни цитогенетических нарушений у детей, подвергшихся воздействию радиации

во время аварии на ЧАЭС в 1986 г. будучи в антенатальном периоде своего развития, грудном возрасте и последующих периодах детства и постоянно проживающих на территориях России, Украины, Белоруссии, загрязненных радионуклидами, выявлены и другими исследователями (Елисеева И.М. и др., 1994; Scarpato R. et al., 1997; Roberto B. et al., 1998; Пилинская М.А. и др., 1992, 1995, 2001; Севанькаев и др., 1995, 2005, 2006; Хандогина Е.К., 1995; Padovani L. et al., 1997; Степанова Е.И., 2007; Nastyukova V.V. et al., 2002; Михайлова Г.Ф., 2007; Мельнов С.Б. и др., 2002; Иванова Т.И. и др., 2018). Аналогичные дисгеномные эффекты наблюдаются и у взрослого населения (Бездробная Л.К. и др., 2002; Тарасенко Л.В. и др., 2004; Шевченко В.А. и др., 2006; Snigireva G.P. et al., 2011; Aghajanyan A.V., Suskov I.I., 2009).

Перейдем к объяснению полученных результатов. Если даже исключить повреждающее действие низкоинтенсивной радиации на генетические структуры организма, современные поколения детей и взрослых постоянно подвергаются воздействию других генотоксических факторов (химические загрязнители окружающей среды, продукты бытовой химии, пищевые красители и консерванты и т.д). Это приводит к потенцированию повреждений генома, которые лежат в основе «истинной» спонтанной геномной нестабильности, обусловленной генотоксическими эффектами от продуктов нормального метаболизма клеток, вероятность и выраженность которой возрастает с **возрастом** (Виленчик, 1987) и, конечно, определяется индивидуальными генотипическими особенностями организма. Такой синергетический механизм действия приводит к накоплению в организме клеток с потенциальными и реализованными повреждениями генома, результатом чего является повышение выраженности «спонтанной» геномной нестабильности. Это и обусловливает повышенную чувствительность организма к низкоинтенсивному действию радиации в малых дозах. Именно последним, по-видимому, и объясняются следующие результаты наших исследований:

1. Повышенные частоты аберраций хромосомного типа у родителей самой старшей возрастной группы по сравнению с родителями двух других групп и обследованными детьми.

2. Повышенные те или иные цитогенетические показатели у родителей, которые подверглись облучению во время аварии в 1986 г. будучи в детском возрасте, по сравнению с обследованными детьми 1982 – 1986 г.р, облученными в другой критический период детства.

3. Повышенные частоты аберраций хромосомного типа и разрывов хроматид у родителей, по сравнению с их детьми самой младшей группы (возраст 2-5 лет на момент обследования).

Однако, встают следующие вопросы:

1. Почему, в целом, у обследованных родителей, подвергшихся облучению в различные периоды их онтогенеза, уровни аберрантных геномов существенно не отличались от аналогичного показателя у их детей, родившихся уже после аварии на ЧАЭС?

2. Почему не выявлены значимые межгрупповые различия по всем рассмотренным выше цитогенетическим показателям у обследованных детей-жителей территорий с радионуклидными загрязнениями, получивших различные дозовые нагрузки?

Второй вопрос особенно заостряет полученные результаты, свидетельствующие об отсутствии отличий в уровнях аберрантных геномов и аберраций хромосом у детей 1982-1986 г.р., подвергшихся максимальному воздействию радиационного фактора во время аварии и в первые годы после нее, и продолжающих проживать в течение 10-15 на территориях с радионуклидными загрязнениями, и у детей самой младшей возрастной группы 1998-2007 гг. р., родившихся спустя многие годы (12-19 лет) после Чернобыльской катастрофы от облученных родителей.

Если учесть, что все дети были подобраны клиницистами для обследования с учетом тщательного анализа данных анкетирования (загрязненность территории проживания, социальное положение и условия

быта семьи, отсутствие профессиональной вредности и вредных привычек у родителей, особенности питания, фармакотерапия и т.д), будем считать, что выборка детей в этом отношении была однородной и строго стратифицированной. Следовательно, выраженность дисгеномных эффектов у обследованных детей должна определяться продолжительностью проживания в условиях низкоинтенсивного воздействия радиации, индивидуальными поглощенными дозами, онтогенетическим периодом развития организма, на который пришлось максимальное воздействие радиационного фактора, генотипическими особенностями организма, а также радиобиологическими особенностями низкоинтенсивного действия радиации в малых дозах.

С учетом современных представлений о «мишенных» и «немишенных» эффектах радиации, выявленные нами цитогенетические нарушения в лимфоцитах периферической крови обследованных лиц (два поколения), проживающих в условиях пролонгированного облучения, могут быть ассоциированы с несколькими процессами:

- индукция повреждений генома как следствие попадания кванта излучения или ионизирующей частицы в ядро лимфоцита крови, находящегося в Go – фазе клеточного цикла.
- индукция повреждений генома в стволовых клетках, которые являются постоянным источником лимфоцитов с аберрациями хромосом в течение всей жизни индивида (результат процессов пролиферации в связи с обновлением циркулирующих клеток крови).
- индукция геномной нестабильности в потомках многократно поделившихся облученных клеток организма, в том числе ее трансгенерационная передача от облученных родителей к их детям.

Очевидно, что спектр цитогенетических нарушений, индуцирующихся de novo в циркулирующих лимфоцитах крови, представлен в метафазах первого митотического деления всеми типами аберраций хромосомного типа, характерных для радиационного мутагенеза, а именно, стабильными

(реципрокные транслокации, инверсии) и нестабильными (дицентрики/полицентрики с сопутствующими парными фрагментами, парные ацентрические фрагменты, ацентрические кольца) аберрациями хромосом. Хромосомные нарушения, которые передаются от стволовых клеток их потомкам, имеют вид вышеперечисленных стабильных обменных перестроек хромосом, нестабильных дицентриков и колец без сопутствующих парных фрагментов, а также делеций. Если же говорить о таком отдаленном эффекте радиации как индуцированная нестабильность генома в потомках облученных стволовых клеток - предшественников зрелых лимфоцитов, преобладающими цитогенетическими нарушениями будут одиночные хроматидные и парные хромосомные фрагменты.

Сложность же ситуации заключается в том, что как у обследованных взрослых лиц, так и у детей, подвергшихся облучению во время аварии на ЧАЭС будучи в антенатальном периоде развития или в критических периодах детства и продолжающих проживать в условиях низкоинтенсивного воздействия радиации в малых дозах, в той или иной комбинации могут встречаться аберрации хромосом всех типов, возникающие как при непосредственном действии ионизирующих излучений на хромосомный аппарат клеток, так и являющиеся результатом индукции нестабильности генома в облученном организме. Аналогичные цитогенетические нарушения наблюдаются и у детей, родившихся после аварии от облученных родителей.

Очевидно, что внутриутробно развивающийся организм является наиболее радиочувствительным и должен характеризоваться наибольшей выраженностью индуцированной геномной нестабильности в силу активной пролиферации клеток в ходе процессов органо- и тканегенеза. У всех обследованных детей, родившихся в 1986-2007 гг. антенатальное развитие проходило в условиях воздействия радиации в малых дозах.

Известно, что организм в процессе своего внутриутробного развития подвергается облучению за счет реализации трех путей воздействия

радиации на плод:

1. воздействие радиации из внешней среды;

2. инкорпорированные органами матери радионуклиды (кости, печень, кишечник, яичники, матка и др.);

3. инкорпорирование плодом, плацентой, оболочками и околоплодными водами радионуклидов, накопившихся в организме матери (Нейфах Е.А., 2003). Как известно, плацента является мощным барьером, защищающим развивающийся организм от воздействия чужеродных веществ. Но, как показано, она не является органом, полностью защищающим плод от облучения. Часть радионуклидов способна переходить трансплацентарный барьер, например, ^{131}I, ^{32}P, ^{90}Sr (Федорова М.В., 2001). При этом, разумеется, что доза радиационного воздействия на плод на порядок ниже, чем поглощенная доза у матери.

Дети, родившиеся после аварии в 1986 году, подверглись максимальному воздействию радиационного фактора за счет преобладания первого и третьего путей облучения внутриутробно развивающегося организма. Антенатальное развитие детей 1994-2007 г.р. проходило в условиях облучения, обусловленного инкорпорацией организмом матери к моменту наступления беременности (спустя 8 и более лет после аварии) долгоживущих радиоактивных изотопов цезия, стронция, плутония, америция, то есть имеет место опосредованное действие радиации через организм матери (второй путь облучения). Однако, отмечено, что потомство, родившиеся через длительный срок после облучения матери, страдает меньше, чем при поступлении радионуклидов в организм беременной женщины во время беременности, так как в первом случае радионуклид практически не переходит к плоду (Федорова М.В., 2001).

Таким образом, можно однозначно сказать, что дети, родившиеся спустя 8-20 лет после аварии на ЧАЭС в 1994-2007 гг., за пренатальный и тем более постнатальный периоды их онтогенеза подверглись наименьшему непосредственному воздействию низкоинтенсивной радиации в малых дозах

(дозас учетом справочных данных, среднегодовые эффективные дозы за первые 10 лет после аварии снизились в 10 раз). Отсутствие значимых отличий в частотах цитогенетических нарушений у детей самых младших возрастных групп (1994-1995 и 1997-2007 гг.р), родившихся спустя многие годы после аварии, и у детей, подвергшихся максимальному воздействию радиационного фактора во время аварии и продолжающих проживать в течение 10-15 на территориях с радионуклидными загрязнениями, может иметь три объяснения.

Во-первых, нельзя исключать такие радиобиологические особенности низкоинтенсивного действия радиации в малых дозах, как феномен гиперчувствительности (Marples, 1997; Martin L.M. et al., 2013), имеющий место у детей, родившихся спустя много лет после аварии на ЧАЭС. Этот феномен, по-видимому, связан с наличием пороговой дозы радиации для активизации защитных механизмов клеток. Так, уже давно говорится о бимодальном, двухфазном характере радиобиологических эффектов, регистрируемых по биофизическим, биохимическим, функциональным показателям при остром воздействии ионизирующих излучений в низкодозовом диапазоне (Бурлакова Е.Б. и др., 1999).

Во-вторых, может иметь место индуцированная геномная нестабильность как результат внутриутробного облучения организма за счет накопившихся в организме матери радионуклидов.

В-третьих, дети 1987-1992 г.р. и 1994-2007 г.р. являются потомками обоих облученных родителей. Причем родители детей 1994-2007 г.р. подверглись максимальному облучению во время аварии на ЧАЭС в 1986 г. в преддошкольный и препубертатный/пубертатный периоды детства, которые рассматриваются как одни из наиболее уязвимых периодов онтогенеза (Сипягина А.Е. и др., 2017, 2018; Балева Л.С. и др., 2015, 2016, 2019). Таким образом становление репродуктивных функций будущих родителей и их последующий период жизни проходили в условиях действия радиации в малых дозах и до момента зачатия детей они десятки лет проживали на

территориях с радионуклидными загрязнениями. Следовательно, дозовая нагрузка на гонады обусловлена не только внешним, но внутренним облучением за счет аккумулированных в организме радиоактивных изотопов (^{134}Cs, ^{137}Cs, ^{90}Sr, ^{238}Pu, ^{239}Pu, ^{240}Pu, ^{241}Pu, ^{241}Am), большинство которых, как показано, может накапливаться в самих яичниках и семенниках (Моисеев А.А., Иванов В.И., 1984). Таким образом, при рассмотрении механизмов реализации генотоксических эффектов низкоинтенсивной радиации в малых дозах в растущем организме детей, рожденных спустя многие годы после аварии на ЧАЭС, необходимо учитывать индуцированные облучением изменения в клетках генеративных систем обоих родителей.

Вероятно, у части обследованных детей, помимо мутагенных эффектов, индуцированных в результате непосредственного действия радиации на геном клеток, имеет место нестабильность генома, которая передается трансгенерационно через гаметы облученных родителей и реализуется в активно пролиферирующих клетках организма их детей.

Статистически значимая корреляционная связь между частотами аберрантных геномов у детей 1987-2000 г.р и их матерей ($r=0,41$, $p=0,028$) является одним из косвенных подтверждений реальности индукции геномной нестабильности в организме этих детей, которая может быть как результатом внутриутробного облучения организма за счет накопившихся в организме матери радионуклидов, так и иметь трансгенерационный характер. Индивидуальный характер рассматриваемого феномена подтверждается относительно невысокой силой ассоциативной связи и большой индивидуальной вариабельностью цитогенетических показателей у детей - потомков облученных родителей.

По-видимому, в данном случае имеют место все три выше приведенных объяснения высокой частоты дисгеномных эффектов у детей – потомков облученных родителей. Ранее нами были приведены экспериментальные доказательства (эксперименты с долговременным культивированием лимфоцитов крови с применением тестирующего

облучения in vitro) пострадиационной индукции геномной нестабильности в растущем организме 15 детей – жителей территорий с радионуклидными загрязнениями, как подвергшихся внутриутробному облучению в 1986 году, так и являющихся потомками облученных родителей (1987 – 1991 гг. р. и 1994-1998 гг.р.) (Кузьмина Н.С., 2003). Позже аналогичные выводы были сделаны и в других исследованиях (Aghajanyan A.V., Suskov I.I., 2009; Пилинская М.А. и др., 2011). Во всех этих работах отмечается высокая индивидуальная вариабельность выраженности данного феномена. Так мы наблюдали, что некоторые дети, характеризующиеся выраженной экспрессией нестабильности генома in vitro, имели уровни аберраций хромосом в интактных лимфоцитах первого митоза в пределах контрольных значений, что было отмечено и другими исследователями (Пилинская М.А. и др., 2011). Это может указывать на скрытый характер нереализованных in vivo повреждений ДНК. Вероятно, в основе индукции нестабильности генома лежат эти «сверхдлительно живущие локальные потенциальные изменения ДНК», проходящие через множество репликационных синтезов ДНК и в конечном итоге реализующиеся в аберрации хромосом. Реальность таких повреждений ДНК показана в экспериментах, проведенных еще в 60-ые годы прошлого века Н.П. Дубининым и его коллегами (Дубинин Н.П., 1978).

Результаты наших исследований свидетельствуют о реальности индукции геномной нестабильности и ее трансгенерационной компоненты в организме человека, подвергшегося низкоинтенсивному облучению в суммарных дозах, в среднем, превышающих в 2-2,5 раза таковые от естественного радиационного фона. Между тем, в экспериментальных исследованиях in vivo при воздействии редкоионизирующей радиации в малых дозах (до 100 мГр) на лабораторных животных, характеризующихся отсутствием дефектов репарации и аномальной радиочувствительности, этот феномен не выявлен (Котеров А.Н., 2014). С чем это связано? Во-первых, в случае хронически облучаемых популяций людей, речь идет не только о внешнем, но и о внутреннем облучении. Такое низкоинтенсивное сочетанное

воздействие воссоздать в эксперименте крайне сложно. Во-вторых, нельзя исключать описанный выше феномен гиперчувствительности. В-третьих, нестабильность генома характерна только для части популяции, что, скорее всего, обусловлено генотипическими особенностями организма. И наконец, нельзя исключить особенности человека как вида с его низкой скоростью репродукции.

Выявленные повышенные уровни всех рассматриваемых цитогенетических показателей у необлученных детей, родившихся от ликвидаторов аварии на ЧАЭС, являются проявлением «чистого» трансгенерационного феномена геномной нестабильности у потомков облученных родителей. Полученные нами данные согласуются с выводами, сделанными другими исследователями (Воробцова И. Е. и др., 1995; Воробьева М. В., 1995; Vorobtsova I.E., Semenov A.V., 2006; Степанова Е.И., Ванюрихина Е.А., 1993; Степанова Е.И. и др., 1996, 2004; Пилинская М.А. и др., 2011).

Однако, заслуживает внимание факт, что в наших исследованиях у детей ликвидаторов выявлен более широкий спектр аберраций, частоты которых существенно превышают контрольный уровень, а именно, речь идет не только об ацентрических фрагментах (хроматидных и хромосомных), но и о сложных обменных перестройках хромосомного типа. Вероятнее всего, это объясняется селективным характером обследованной группы индивидов с отклонениями в состоянии здоровья и находящихся под постоянным наблюдением клиницистов. Например, нельзя исключить повышенную чувствительность нестабильного генома этих детей к действию ионизирующего излучения в результате диагностических процедур или даже к естественному радиационному фону. Тем не менее, невысокая сила ассоциативной связи между уровнями клеток с аберрациями хромосом у детей и их отцов-ликвидаторов и большая индивидуальная вариабельность цитогенетических показателей у детей облученных отцов указывают на индивидуальный характер трансгенерационной нестабильности генома.

Вероятно, скрытая геномная нестабильность, индуцированная низкоинтенсивной радиацией в малых дозах, может быть модулирована факторами экзогенной/эндогенной природы в зависимости от генотипических особенностей организма, то есть полиморфизма целого комплекса генов основных защитных систем клеток (детоксификация ксенобиотиков, антиоксидантная защита, синтез и метилирование ДНК, репарация ДНК, клеточный цикл и апоптоз и др.), а также эпигенетических механизмов регуляции экспрессии этих генов. Зависимость экспрессии геномной нестабильности и ее трансгенерационной передачи от генотипических особенностей организма показана и в работах на экспериментальных животных (Watson G.E. et al., 1997; Nomura T. et al., 2017).

Человеческая популяция характеризуется большой гетерогенностью по индивидуальной радиочувствительности, обусловленной генетическим полиморфизмом, а одним из ее крайних проявлений являются генетические болезни, сопровождающиеся нестабильностью генома. В рамках сотрудничества с группой мутагенеза и репарации ИОГен РАН (рук. – проф. Г.Д. Засухина) на модели клеток таких пациентов (синдромы Элерса-Данлоса и Дауна) получены результаты, свидетельствующие о значимом вкладе полиморфизма ряда генов (в частности гены GST – семейства и др.) в защитные механизмы клеток детского организма, характеризующегося такими патологиями (Кузьмина Н.С. и др., 2006, 2007, 2009; Семячкина А.Н. и др., 2007; Васильева И.М. и др., 2009; Шагирова Ж.М. и др., 2010; Засухина Г.Д., Кузьмина Н.С., 2007).

В последние годы, в радиобиологических исследованиях большое внимание уделяется пострадиационной индукции хронического окислительного стресса (Szumiel I., 2015). В процессе нормального функционирования постоянная метаболическая продукция АФК в основных клеточных компартментах: митохондриях, эндоплазматическом ретикулуме, цитозоле (10^{10} свободных радикалов на клетку в сутки) (Szumiel I., 2015;

Turrens J.F., 2003; Ferrer-Sueta G., Rady R., 2009; Malhotra J.D., Kaufman R.J., 2007) не предоставляет опасности для ее жизнедеятельности, что обеспечивается мощным антиоксидантным барьером и другими защитными системами клетки (репарация, апоптоз и др.) (Кудряшов Ю.Б., 2004). Существует мнение, что первичной причиной устойчивого оксидативного стресса и немишенных эффектов радиации, которые могут иметь место в потомках облученных клеток, а, следовательно, в организме, в отдаленный период после облучения, является индуцированное радиацией повреждение компонентов дыхательной цепи митохондрий. Известно, что мтДНК является более чувствительной мишенью к окислительным повреждениям, чем геномная ДНК. Аккумуляция мутаций в мтДНК приводит к дисфункциям дыхательной цепи митохондрий, а, следовательно, к повышенному уровню генерации в них АФК, которые в свою очередь, приводят к индукции повреждений в мтДНК. Этот порочный круг истощает эффективность функционирования митохондрий. В свою очередь, изменяются редокс-условия в ЭПР, приводя к нарушениям фолдинга протеинов, UPR стрессу, повышенной генерации АФК и входа ионов кальция в цитозоль, а, следовательно, дизрупции цепи переноса электронов и дальнейшему увеличению продукции АФК (Szumiel I., 2015).

Кроме того, имеются экспериментальные доказательства, что облучение организма индуцирует устойчивый оксидативный стресс через сверхрегуляцию NOX4, однако это зависит от типа клеток и существенно выражено в гемопоэтических стволовых клетках (Wang Y. et al., 2010).

Таким образом, в результате перенесенного радиационного воздействия, в результате функционирования всех трех АФК-продуцирующих систем и дополнительной индукции АФК как следствия радиолиза воды и перекисного окисления липидов, формируется единый порочный круг, что приводит к «амплификации» свободных радикалов в клетке и ее митотических потомках. Отмечено, что дети, проживающие на территориях, загрязненных радионуклидами, находятся в состоянии

глубокого пероксидного стресса. Накапливающиеся в клетке свободные радикалы потенциируют прямое действие радиации, оказывая повреждающее действие как на наследственный аппарат, так и на мембраные структуры клетки (Дурнов Л.А. и сотр., 2001; Нейфах Е.А., 2003; Иваненко Г.Ф., Бурлакова Е.Б., 2017; Иваненко Г.Ф., 2019).

Ядра/геномы клеток активно пролиферирующих систем организма в условиях постоянного низкоинтенсивного облучения в малых дозах не только претерпевают структурно-функциональные изменения в ходе основных молекулярно-генетических процессов, но подвергаются воздействию квантов радиации, индуцированных свободных радикалов, эндогенных продуктов клеточного метаболизма. Ранее нами была сформулирована концепция полигеномной реализации мутагенных эффектов в организме человека, подвергающегося хроническому воздействию техногенной радиации в малых дозах (2-10 мЗв/год). Она основана на том, что облучение в низких дозах не снижает способность клеток к многократному делению, а следовательно, имеет место клеточное тиражирование нерепарированных первично-индуцированных и отсроченных дисгеномных эффектов (результат индукции геномной нестабильности в потомках поделившихся облученных клеток) (Кузьмина Н.С., 2003).

Выше сказанным, вероятно, объясняются следующие факты. Во-первых, наблюдается повышенная на единицу накопленной дозы (условия in vivo) генетическая эффективность (индукция хромосомных повреждений) хронического облучения по сравнению с кратковременным воздействием в средних/больших дозах (условия in vitro). Это характерно, в первую очередь для детей, подвергшихся воздействию радиации во время аварии на ЧАЭС в антенатальный период развития или родившихся от облученных родителей и продолжающих проживать в условиях низкоинтенсивного воздействия радиации в малых дозах (Кузьмина Н.С., 2003). Во-вторых, уровни цитогенетических нарушений у ликвидаторов аварии на ЧАЭС и у взрослых

жителей радиационно-загрязненных территорий, как правило, значимо не отличались. Между тем, доза, накопленная ликвидаторами при фракционированном облучении на протяжении нескольких недель – месяцев, в основном, многократно превышает таковую, накопленную к моменту обследования жителями территорий с радионуклидными загрязнениями. Следует учитывать и возможный феномен гиперчувствительности, наблюдающийся у лиц, подвергающихся низкоинтенсивному облучению.

С целью углубленного анализа спектра проявлений трансгенерационной нестабильности генома и ее индивидуального характера у детей облученных родителей нами предпринято одновременное изучение нескольких генетических показателей у ликвидаторов аварии на ЧАЭС и их потомков. Как облученных отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС, так и у их необлученных детей вывлены существенно повышенные уровни не только аберраций хроматидного и хромосомного (простых и обменных) типов, но и TCR – мутантных лимфоцитов, предикторов апоптоза ($CD95^+$ клеток). У ликвидаторов эти частоты несколько превышали (но незначимо) соответствующие параметры у их детей.

Повышенные уровни хромосомных перестроек как стабильных (реципрокные транслокации и инверсии), так и нестабильных (дицентрики, кольца) у людей спустя многие годы после перенесенного радиационного воздействия отмечались и другими исследователями (Шевченко В.А.и др., 1995; Пилинская М.А. и др., 2011; Шевченко В.А., Снигирева Г.П., 2006; Снигирева Г.П. и др., 2011; Nugis V. Iu., Dudochkina N.E., 2006; Севанькаев А.В., 2005; Neronova E. at al., 2003; Nugis V. Iu., Dudochkina N.E., 2006; Maznik N.A., Vinnikov V.A., 1997, 2004; Montoro A. et al., 2013; и др.). Повышенный уровень лимфоцитов, мутантных по локусу Т-клеточного рецептора, наблюдался у ликвидаторов аварии на ЧАЭС и у работников ядерно-химических предприятий через десятки лет после прекращения контакта с радиоактивными веществами (Saenko A.S. et al., 2000; Замулаева И.А. и др., 2006; Орлова Н.В. и др., 2019).

Наличие маркеров радиационного воздействия (дицентриков, колец, реципрокных транслокаций, инверсий) наряду с повышенной частотой TCR – мутантных лимфоцитов спустя 15-20 лет после перенесенного облучения может быть, во-первых, результатом поступления определенной доли аберрантных клеток в периферическую кровь из облученных стволовых предшественников. Не исключено, что в геноме последних имело место радиационно-индуцированное повреждение ДНК, которое после комбинаторных и соединительных перестроек сегментов генов трансформировалось в TCR-мутацию.

Во-вторых, генотоксические эффекты у ликвидаторов являются причиной как внешнего, так внутреннего облучения в результате поступления в организм (во время работ на аварийном блоке) долгоживущих радионуклидов. В-третьих, с учетом данных современной литературы, вероятно, имеет место индукция геномной нестабильности в потомках многократно поделившихся гемопоэтических стволовых клеток – предшественников зрелых лимфоцитов, что обсуждалось в работах других исследователей (Замулаева И.А. и др., 2006; Смирнова С.Г. и др., 2012; Орлова Н.В. и др., 2019). В этом случае должны превалировать одиночные и парные хромосомные фрагменты, а также генные мутации. У ликвидаторов же наблюдается весь спектр рассмотренных геномных нарушений. Причем, как было показано выше, у большинства ликвидаторов с высокими уровнями TCR-мутантных лимфоцитов обнаружены и объективные маркеры радиационного воздействия. Выявленная корреляционная связь между суммарной частотой аберраций хромосомного (и хроматидного) типа и уровнем TCR – мутаций свидетельствует преимущественно в пользу первых двух объяснений.

Как уже обсуждалось, у необлученных детей, также как и у облученных отцов, выявлен весь спектр изученных геномных нарушений, частоты которых значимо превышают контрольный уровень. При этом выявлены невысокие, но значимые положительные корреляционные связи

между цитогенетическими показателями поврежденности генома у отцов-ликвидаторов и их детей. Отсутствие корреляции между частотой TCR-мутаций у отцов-ликвидаторов и их потомков требует дальнейших исследований с расширением количества анализируемых генов. Следует подчеркнуть, что изучение мутаций в локусе Т-клеточного рецептора, с одной стороны, позволяет в целом судить об уровне мутагенеза в клетках организма, а, с другой стороны, выявить конкретные мутационные изменения в иммунокомпетентных клетках. У обследованных детей ликвидаторов корреляции между уровнем TCR – мутантных лимфоцитов и частотой аберрантных клеток (а также других цитогенетических показателей) отсутствовали. У большинства детей (62 %) повышенный уровень TCR – мутантных лимфоцитов сопровождался частотами структурных аберраций хромосом, находящихся в пределах контрольных значений. Полученные данные, во-первых, подтверждают реальность трансгенерационного феномена геномной нестабильности в организме детей – потомков облученных родителей. Во-вторых, свидетельствуют об индивидуальном характере выраженности трансгенерационных эффектов, заключающемся как в разнообразии их спектра, так и степени повреждений генома клеток организма. Это означает, что при комплексном подходе к оценке состояния генетического аппарата, геномная нестабильность может быть выявлена по какому-либо одному исследуемому показателю при других тестируемых параметрах, находящихся в пределах нормальных значений.

Показано, что как у ликвидаторов, так и у их необлученных детей частоты клеток с иммунофенотипом $CD95^{+}$ значимо превышали контрольный уровень. По-видимому, высокие показатели активации механизмов апоптоза (экспрессия FAS/APO1) в сочетании с повышенной частотой аберрантных/TCR – мутантных клеток могут указывать на активную элиминацию клеток с повреждениями ДНК, индуцированными либо непосредственным воздействием радиации на организм, либо являющихся результатом индукции геномной нестабильности. Нельзя

исключать и нарушение механизмов регуляции апоптотической гибели клеток вследствии дестабилизации их генома. Можно полагать, что апоптоз, с одной стороны, является системой защиты организма от мутантных клеток, а с другой - показателем поврежденности геномов клеток. По-видимому, в связи с этим наблюдается значимая высокая положительная корреляционная связь между уровнями предикторов апоптоза у ликвидаторов и их детей, а также между частотой $CD95^+$ клеток у облученных отцов и уровнем аберрантных клеток у их потомков.

Присутствие в группе детей индивидуумов с низкими уровнями $CD95^+$ клеток в сочетании с повышенной частотой аберрантных/TCR – мутантных клеток также может указывать на нестабильность генома клеток организма, приводящую к нарушению реализации программы апоптотической гибели клеток с поврежденным геномом. Как известно, в ряде радиобиологических работ индукция апоптоза в клональных потомках облученных клеток рассматривается как одно из проявлений радиационно-индуцированной нестабильности генома (Harms-Ringdahl M., 1998; Belyakov O.V. et al., 1999; Литтл Д.Б., 2007). Следует учитывать, что в данной работе нами изучен только один показатель индукции механизма апоптоза – экспрессия на поверхности клетки FAS – антигена. Однако, существует сложная система регуляции апоптотической гибели, в частности белок p53 является интегратором стрессовых и генотоксических сигналов, одним из основных регулятором апоптоза и стабильности генома (Vousden K.H., Lane D.P., 2007; Sengupta S., Harris C.C., 2005; Чумаков П.М., 2007). Известно, что белок p53 изменяет экспрессию ряда генов, регулирующих апоптоз, в частности проапоптотического белка FAS – рецептора (Чумаков П.М., 2007). Анализ генной сети *p53* в двух поколения здоровых людей (матери и их дети), постоянно проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями (от 556 кБк/м^2 до 1665 кБк/м^2), демонстрирует значимые изменения экспрессии ряда функционально важных локусов, в первую очередь это касается *ST13, IER3, BRCA1, LRDD, MRAS,* участвующих в

процессах онкогенеза, причем для самого гена *p53* не выявлено отличий рассматриваемого показателя от контроля (Baleva L.S. et al., 2017).

Таким образом, хотя в целом спектр дисгеномных эффектов у отцов-ликвидаторов и их детей был одинаков, выявлены отличительные особенности, характерные для индукции геномной нестабильности в организме необлученных детей, по сравнению с отцами-ликвидаторами, перенесшими непосредственное радиационное воздействие. По всем изученным критериям наблюдались индивидуальные особенности дестабилизации генома, что проявляется как разнообразием спектра трансгенерационных мутационных эффектов, так и различной степенью их выраженности. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости интегральной оценки состояния генома с использованием нескольких генетических показателей для выявления трансгенерационной геномной нестабильности у детей особой категории наблюдения – потомков облученных родителей.

В данной работе было впервые проведено обследование детей профессионалов-атомщиков – уникальной группы людей, подвергшихся хроническому воздействию β-излучения трития, радиобиологические особенности действия которого на организм человека окончательно не изучены. Причем почти половина отцов подвергались радиационному воздействию до зачатия ребенка на протяжении более чем 10 лет.

У детей, являющихся потомками профессионалов-атомщиков, выявлена тенденция к повышенной частоте МКС мутаций по сравнению с контролем. Различия по частоте мутаций в МНС между контрольной и облученной группами отсутствуют. Очевидно, что для оценки зависимости частоты этих генетических нарушений от дозы радиационного воздействия, необходимо дальнейшее увеличение объема выборки людей обследуемой группы. Пока заслуживает внимание факт, что мутации в мини/микросателлитных локусах были выявлены у детей, отцы которых получили дозы до 100 мЗв, и не выявлены у потомков отцов, получивших

гораздо большие дозы 200-480 мЗв. К сожалению, невозможна реконструкция индивидуальных доз облучения, накопленных профессионалами к моменту зачатия ребенка.

Для части выявленных мутаций не удалось установить происхождение, поэтому требуется применение дополнительных методов, в частности, определения нуклеотидного состава отцовских/материнских аллелей методом секвенирования.

Известно, что с возрастом в организме происходит накопление частоты мутантных клеток, в том числе и в гаметах. В первую очередь это касается повышенной мутабильности мужского генома, что объясняется увеличением количества клеточных делений, а следовательно, циклов репликации ДНК, претерпеваемых сперматогониями, и возрастанием вероятности возникновения мутаций в ходе мужского гаметогенеза. Максимальная же активность женского гаметогенеза приходится на период внутриутробного развития. К сожалению. на данном этапе в связи с малочисленностью обследованной выборки, нельзя сделать вывод о возрастной зависимости частоты мутаций в гипервариабельных участков генома гаметических клеток.

Помимо того, что повышенная частота мутаций в мини-/микросателлитах может являться биоиндикатором генотоксических эффектов, имеются данные о возрастании частоты МКС мутаций в опухолях различной локализации (Nikiforov Y.E., 1998; Thibodeau S.N. et al., 1998; Zhang P. et al., 2018; Huang X. et al., 2016), а также сведения, подтверждающие предположение о том, что гипервариабельные участки генома могут иметь особое значение в развитии мультифакториальных заболеваний (Никитина Т.В., Назаренко С.А., 2004). Не являясь специфичными для какого-либо определенного вида опухолей, изменения частоты мутаций в МКС локусах, вероятно, являются характерным признаком повышенного риска онкологических заболеваний.

Все работы по изучению влияния радиационного воздействия на частоту мутаций в мини-/микросателлитных локусах, выполнены другими

исследователями в следующих группах людей, подвергшихся облучению в широком диапазоне доз (Шайхаев Г.О. и др., 2008):

- лиц, пострадавших в результате ядерных бомбардировок Хиросимы и Нагасаки (Kodaira M. et al., 1995, 2004, 2010; Satoh C. et al., 1996; Neel J.V., 1998; Nakamura N. et al., 2013; Ozasa K. et al., 2019);
- жителей загрязненных радионуклидами территорий (Dubrova Y.E. et al., 1996, 1997, 2002, 2006; Dubrova Y.E., 2006, 2016, 2019; Аклеев, 2007);
- участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС (Furitsu K. et al., 2005; Kiuru A. et al., 2003; Livshits L.A. et al., 1999, 2001; Slebos R.J. et al., 2004; Weinberg H.-S. et al., 1997, 1999);
- людей, подвергающихся радиационному воздействию в процессе производственной деятельности (Назаренко С.А. и др., 2004; Русинова Г. Г. и др., 2014; Tawn E.J. et al, 2015; Безлепкин В. Г. и др., 2011);
- пациентов, перенесших курс лучевой терапии (Rees G.S. et al., 2006; Tawn E.J. et al., 2011; May C.A. et al., 2000).

У людей, подвергшихся воздействию острого внешнего однократного облучения в высоких дозах в результате атомных бомбардировок, повышение частоты мини-/микросателлитных мутаций не выявлено (Kodaira M. et al., 1995, 2004, 2010; Satoh C. et al., 1996). В некоторых исследованиях (Livshits L.A. и др., 1999, 2001; Kiuru A. и др., 2003) отмечена тенденция к возрастанию частоты мутаций в минисателлитах у детей ликвидаторов аварии на ЧАЭС, зачатых в двухмесячный период после окончания работы их отцов на атомной станции. Значимое повышение уровня полиморфизма микросателлит-ассоциированных повторов ДНК выявлено только при облучении в дозе более 2 Гр у работников атомной промышленности (Безлепкин В. Г. и др., 2011). Другие исследователи не выявили статистически значимых отличий от контрольного уровня этих генетических нарушений в семьях участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС (Slebos R.J. et al., 2004; Furitsu K. et al., 2005), лиц, подвергшихся радиационному воздействию в результате производственной деятельности

(Назаренко С.А. с соавт., 2004; Русинова Г.Г.с соавт., 2014; Tawn E.J. et al., 2015), а также больных онкозаболеваниями, подвергшихся терапевтическому воздействию радиации (Rees G.S. et al., 2006; Tawn E.J. et al., 2011; May C.A. et al., 2000).

Однако у людей, проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами в результате аварии на ЧАЭС, ядерных взрывах на Семипалатинском полигоне, сбросов радиоактивных отходов в реку Теча средние частоты мутаций в минисателлитных локусах в 1,5-2 раза превышали контрольный уровень (Dubrova Y.E. et al., 1996, 1997, 2002, 2006; Dubrova Y.E., 2006, 2016, 2019; Аклеев, 2007; UNSCEAR, 2001). В данных случаях имеет место хроническое многолетнее облучение. При этом следует отметить, что жители территорий, прилегающих к Семипалатинскому полигону, подверглись облучению в относительно высоких дозах (более 1 Зв) (UNSCEAR, 2001; Bersimbaev R.I. et al., 2002).

Таким образом, в свете данных современной литературы отмеченная тенденция к повышенной частоте МКС мутаций у детей профессионалов-атомщиков по сравнению с контролем, может указывать на радиобиологические особенности хронического действия β-излучения трития на организм. Мутации, выявленные в МКС локусах у потомков профессионалов-атомщиков, могут быть как результатом мутационных событий, возникших в клетках зародышевой линии отца в результате непосредственно действия радиации, так индукции нестабильности генома в ходе активной пролиферации предшественников зрелых гамет - сперматогоний. Этот вопрос требует дальнейшего изучения.

Следует отметить, что в нашей работе мутации по 4 локусам были выявлены у двух детей из одной семьи. У этих же детей были выявлены и неродительские полосы по МНС локусам *D1S111* и *IgH*. Суммарная доза облучения у отца – около 1000 мЗв, т.е. в несколько раз выше, чем величина средней дозы для обследованной группы профессионалов-атомщиков. Учитывая большую дозовую нагрузку, полученную отцом в процессе

профессиональной деятельности, можно предположить, что наблюдаемые генетические изменения у детей обусловлены радиационным воздействием. Однако окончательное решение вопроса о происхождении наблюдаемых изменений требует проведения дополнительного обследования. Как было сказано, для получения однородной выборки эта семья не была включена в статистический анализ, в связи с чем различия по частоте МКС мутаций у детей профессионалов-атомщиков и контрольной группы оказались не значимыми. Это можно было ожидать, учитывая следующее. Половина профессионалов из обследованных семей имеет суммарные дозы облучения до 100 мЗв, остальные – до 500 мЗв. По данным НКДАР удваивающая доза для индукции мутаций в половых клетках человека при хроническом облучении составляет 1 Зв. Чтобы выявить изменения при меньших дозах (<1 Зв) необходимо обследовать б**о**льшую по численности группу (UNSCEAR, 2001, 2010; Котеров А.Н., Бирюков А.П., 2012). Действительно, следует отметить, что значимо повышенные частоты мутаций в гипервариабельных локусах как результат хронического воздействия радиации, были выявлены при обследовании семей, численность которых составила 40 и выше.

Современные достижения в области разработки методов молекулярного кариотипирования (использование гибридизационных чипов) и секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS), и их будущее применение при изучении генетических эффектов в популяциях дают надежду на высокоразрешающий анализ и реальную оценку наследственных эффектов облучения человека (Averbeck D. et al., 2018; Bazyka D. et al., 2020). Результаты проведенных за последние годы исследований показывают, что частота вариаций копийности фрагментов ДНК (Copy number variations – CNVs), индуцированных de novo в гаметах родителей и затрагивающих 100 кб и более (≥100 кб), составляет $1{,}2 \times 10^{-2}$ мутации на поколение. Показано, что 5-10 % обследованных индивидов являлись носителями крупных CNVs (более 500 kb), а 1%–2%. – еще более протяженных мутаций (более 1 Mb) (Itsara A. et al., 2009). Более высокая

частота de novo CNVs, составляющая 3,6 × 10^{-2} на поколение, наблюдалась у детей с умственной отсталостью. Причем, большая их часть (76 %) имела отцовское происхождение, а носительство мутаций находилось в прямой коррелятивной связи с возрастом отца (Hehir-Kwa J.Y. et al., 2011). Значимость возраста отца, но не матери, в выраженности мутационного процесса (индуцированные de novo CNVs, а также SNPs) отмечена и в других исследованиях (Kong A. et al., 2012; Campbell C.D., Eichler E.E., 2013).

Результаты обследования 12 семей (16 потомков), в которых хотя бы один из родителей подвергся острому воздействию γ-излучения (≤ 20 сГр) в результате инцидента в Гояни (Бразилия, 1987) свидетельствуют о повышенном уровне CNVs (≤500 kb), индуцированных de novo в гаметах облученных родителей, по сравнению с таковым показателем в контрольной группе. Эффекты были статистически значимые, если в сравнительном анализе учитывать не частоту рассматриваемых мутаций, а их суммарную протяженность в kb (6,0 в облученной группе vs 2,07 в контроле) (Costa E.O.A. et al., 2018).

Результаты полногеномного секвенирования нескольких семей (3 семьи, в которых отцы – жертвы атомных бомбардировок Хиросимы и Нагасаки, подвергшиеся облучению в дозе 2 Гр и более, и 1 семья из контрольной группы) демонстрируют отсутствие статистически значимых различий по уровню индуцированных de novo SNVs (single nucleotide variants) и CNVs (крупные делеции ~ 10 kb) в гаметах облученных и необлученных лиц. Так количество выявленных SNVs составило у 3 детей, родившихся от отцов, подвергшихся радиационному воздействию, 62, 81 и 42, а у потомка контрольной группы этот показатель равнялся 48. Оценка инсерций/делеций (indels), меньших по размеру (1 bp - несколько kb), в данном исследовании отсутствовала (Horai M. et al., 2018).

В другом исследовании проведена оценка (полногеномное секвенирование) в потомстве (19 чел.) военных, служивших в радиолокационных подразделениях на системах вооружения, излучавших

высокочастотное излучение). Частота кластерных мутаций (multisite de novo mutations - MSDNs) на потомка составила 0,68 (13/19), и существенно превышала аналогичный показатель в контроле – 0,18 (5/28) (Holtgrewe M. et al., 2018). У двух детей – носителей кластерных SNVs выявлены сбалансированные транслокации t (2;4)(q36.2;q28.2) и t (5;22)(p15.3;q13.31), спонтанная частота которых составляет 1 на 1000 беременностей. Анализ SNP (single nucleotide polymorphism), сопряженных с сайтами разрывов, выявил, что обе мутации индуцированы de novo в зародышевых клетках облученных отцов.

В общем, в последние годы в исследованиях с применением полногеномного секвенирования показано, что частота de novo мутаций на потомка у человека составляет более 60 (Jónsson H. et al., 2017; An J.Y. et al., 2018). Очевидно, этот дорогостоящий метод анализа генома, даст возможность выявить радиационно-индуцированные эффекты при обследовании незначительных по численности выборок облученных лиц, в том числе дать реальную оценку генетическиого риска облучения в диапазоне малых доз.

Изучение изменений в метилировании ДНК – новый аспект оценки генотоксических эффектов радиационного воздействия. С помощью вышеописанной методики, характеризующейся оптимизацией и стандартизацией условий рестрикции и амплификации, в амплифицированных гидролизованных образцах ДНК как облученных, так и необлученных индивидов, выявлено метилирование тех или иных проанализированных CpG – островков, имеющее место в малой доле матриц, а значит и лейкоцитов. Общая масса всех молекул ДНК 46 хромосом одной соматической клетки составляет $6 \cdot 10^{-9}$ мг или $6 \cdot 10^{-3}$ нг. В реакцию амплификации мы берем 2,5 нг ДНК, а значит генетический материал нескольких сотен клеток (порядка 1000 матриц ДНК). Если учесть, что чувствительность метода МЧ – ПЦР составляет 0,1-1,0 %, можно сделать вывод о том, что в образце ДНК, взятом для амплификации, присутствует

несколько или даже одна метилированная матрица. Таким образом, во всем объеме крови этих людей присутствуют миллионы клеток с рассматриваемыми эпигенетическими нарушениями.

Для обеих выборок облученных лиц выявлены однонаправленные эффекты в изменениях метилирования тех или иных генов. А именно, подтверждена реальность гиперметилирования CpG–островков промоторов генов (*p16/INKA и GSTP1),* участвующих в основных защитных функциях клетки, в организме человека в отдаленный период после облучения.

Кроме того, при обследовании работников реакторов ПО «Маяк» и лиц соответствующего одновозрастного контроля, спектр анализируемых генов был расширен и включал не только *RASSF1A, p16, p14* и *GSTP1* гены, но и следующие локусы: *p53, ATM, SOD3, ESR1*. Гиперметилирование последних в той или иной степени показало сопряженность с радиационным воздействием. Показано, что метилирование генов *p14/ARF* и *RASSFA1* обусловлено исключительно возрастом.

Повышенная частота индивидов с гиперметилированием гена *p14/ARF* в выборке № 2, по сравнению с таковым показателем в ранее обследованной выборке № 1, по-видимому, объясняется пожилым возрастом большинства работников ПО «Маяк» (более 85 % обследованных лиц- старше 70 лет). Частота носителей метилированного *p16/INKA* гена была несколько выше в группе облученных работников ПО «Маяк» по сравнению с первой выборкой облученных лиц более молодого возраста. Следует также отметить, что в первом нашем исследовании (выборка № 1) отмечалась тенденция к повышению частоты метилирования генов *p16/INKA* и *GSTP1* с увеличением возраста индивида. Но так как рассматриваемые эпигенетические нарушения в группе облученных лиц были наиболее выражены у индивидов молодого возраста (моложе 45 лет), значимых возрастных эффектов мы не обнаружили. И наоборот, возраст-ассоциированное гиперметилирование локусов *RASSF1A* и *p14/ARF* показало тенденцию к сопряженности с перенесенным радиационным воздействием, что в большей степени проявлялось также у

лиц молодого возраста (моложе 45 лет). Таким образом, сопряженное с возрастом гиперметилирование в той или иной степени характерно для всех четырех изученных генов, так же как и различен вклад радиационной компоненты в индукцию этих эпигенетических нарушений. Однако, молекулярные механизмы, которые объясняют дифференциальную значимость возраста и радиационного фактора в метилировании различных генов, остаются неясными.

В исследовании образцов ДНК, выделенной из тканей простаты здоровых доноров (17-68 лет), выявлена значимая корреляция с возрастом уровня метилированияи CpG - островка промотора генов *RASSF1A* ($r = 0,27$; $p = 0,01$), *GSTP1* ($r = 0,59$; $p < 0,0001$) и ряда других генов (Kwabi-Addo B. et al., 2007). Однако, в уже упомянутой работе (Brait M. et al., 2009), выполненной на образцах внеклеточной ДНК плазмы крови, зависимость встречаемости метилирования регуляторных участков от возраста не выявлена ни для гена *GSTP1*, ни для локуса *p16*.

Возраст-ассоциированные изменения метилирования (тотальное гипометилирование и ген-специфическое гипо-/гиперметилирование) показано для многих тканей и типов клеток, в том числе лейкоцитов крови, как у лабораторных животных, так и человека, что указывает на закономерность этого феномена, имеющего место в ходе естественного старения организма (Bell J.T. et al., 2012; Johansson A. et al., 2013; Horvath S., 2013; Hannum G. et al., 2013; Day K. et al., 2013; Yuan T. et al., 2015; Reid S.A. al., 2012; Taiwo O. et al. 2013). Выявлено, что CpG-сайты, локализованые в CpG – островках, более часто гиперметилируются с возрастом, чем таковые, находящиеся за их пределами. Гиперметилирование характеризуется большей сайт-специфичностью, чем гипометилирование. Если тканеспецифичные эпигенетические изменения, как правило, сопряжены со снижением метилирования и локализуются за пределами CpG – островков, то общие (характерные для клеток всех тканей) изменения паттерна

метилирования характерны для этих участков генома и проявляются гиперметилированием (Horvath S., 2013).

Так как возраст-ассоциированные изменения эпигенетического статуса генов характерны и для детской популяции (Reid S.A. al., 2012; Horvath S., 2013), можно предположить, что отчасти речь идет о биомаркерах календарного возраста, отражающих нормальные закономерности развития и «здоровое старение» организма. Некоторые исследователи полагают, что кластер следующих друг за другом CpG – сайтов, некоторые из которых уже являются метилированными в течение раннего развития, со временем становится гиперметилированным. Есть мнение, что эти динуклеотиды более склонны к метилированию или клетки, несущие эти эпигенетические изменения, активно пролиферируют (Bell J.T. et al., 2012). По-видимому, как раз эти нарушения ассоциированы с биологическими механизмами старения и долголетия. Поэтому, маловероятно, что такие эпигенетические модификации являются стохастическими событиями. Показано, что метиломы новорожденных являются практически идентичными, но рассматриваемые различия возрастают с увеличением возраста индивидов («эпигенетический дрифт»). Наследуемость темпов старения составляет только 39 %. Таким образом, вклад негенетических факторов в эпигенетический статус возрастает с увеличением возраста индивида (Horvath S., 2013; Fraga M.F. et al., 2005). С одной стороны, очевидно, что существуют стохастические изменения метилома, возникающие в результате воздействия экзо-/эндогенных факторов. На настоящий момент имеется достаточно доказательств о передаче статуса метилирования ДНК от делящейся клетке к ее митотическим потомкам. Однако, копирование паттерна метилирования сопровождается ошибками (Song J. et al., 2012; Ushijima T. et al., 2003; Vijg J., Campisi J., 2008). Кроме того, эти стохастические (спонтанные и индуцированные) изменения паттерна метилирования аккумулируются с течением жизни. Кроме того, имеются предположения, что экзогенные воздействия могут активировать клеточные

программы, ассоциированные с изменением эпигенетического паттерна со временем (Fraga M.F. et al., 2005; Hannum G. et al., 2013; Vijg J., Campisi J., 2008). Например, перенесенный стресс в начале жизни у мышей приводит к изменениям метилирования важных регуляторных участков генома в постмитотических нейронах, что приводит к изменениям экспрессии аргинин-вазопрессина и запуску длительных нейроэндокринных и поведенческих изменений (Murgatroyd C. et al., 2009).

Снижение интенсивности сигнала на электрофореграмме, соответствующего продукту амплификации небольшой доли метилированных аллелей в образце ДНК, отмечалось и другими исследователями (Землякова В. В. и др., 2004; Roman-Gomez J. et al., 2005; Sato H. et al., 2010) как при применении метода МЧ-ПЦР, так и МС-ПЦР (метилспецифическая ПЦР), основанной на бисульфитной конверсии неметилированных цитозинов в урацил (реакция дезаминирования) и отсутствии таковых превращений для 5-метилцитозина. Это указывает на достаточно высокую чувствительность использованного метода МЧ – ПЦР, что отмечается исследователями в работах по молекулярной онкологии. В частности, при изучении аберрантного метилирования первого экзона гена *p16* у больных В-клеточным острым лимфобластным лейкозом в двух из 64 проанализированных образцах ДНК выявлено аберрантное метилирование методом МЧ-ПЦР, но не МС-ПЦР. Снижение интенсивности амплифицированного фрагмента – продукта амплификации гидролизованной ДНК, по сравнению с нативной ДНК, свидетельствовало о гетерогенном характере метилирования матриц в образце, а факт выявленного метилирования был подтвержден методом пиросеквенирования (Землякова В. В. и др., 2004). В работе (Sato H. et al., 2010) обнаружено аберрантное гиперметилирование генов *p15* (3 из 16 человек) и *HCAD* (6 из 16 человек) в незначительной доли амплифицированных матриц у здоровых людей, в том числе в возрасте до 40 лет, методом МС-ПЦР. Как уже было изложено,

чувствительность МЧ-ПЦР, осуществленной в наших условиях находилось в диапазоне 0.1 – 1 %.

Аналогичная чувствительность была оценена для метода МС-ПЦР в работе (Roman-Gomez J. et al., 2005). В другом исследовании (Sato H. et al., 2010) этот показатель имел большее значение и составил 0.01%. Результаты последних лет других исследователей, полученные на образцах внеклеточной ДНК, выделенной из плазмы крови, а также на образцах ДНК лейкоцитов крови (методы МС-ПЦР, бисульфитного секвенирования), подтверждают случаи метилирования CpG – островков промоторов ряда генов у здоровых людей (Sato H. et al., 2010; Valenzuela M.T. et al., 2002; Brait M. et al., 2009; и др.). Так, например, при изучении аберрантного метилирования (МС-ПЦР) 6 генов с использованием образцов внеклеточной ДНК плазмы крови у 157 здоровых доноров (возраст 40-89 лет), выявлено, что частота встречаемости индивидуумов с этими эпигенетическими нарушениями в разных генах была следующей: *APC* (7%), *CCND2* (22%), *GSTP1* (2%), *MGMT* (9%), *RARβ2* (29%), и *p16* (3%). При этом, метилирование промотора хотя бы одного гена выявлено у 46 % обследованных лиц, а двух генов у 17% (Brait M. et al., 2009).

В настоящей работе, мы выявили метилирование CpG-динуклеотидов промоторов ряда генов, имеющее место в малом количестве ДНК-матриц (0,1 – 1, 0 %), у облученных и необлученных индивидов. В целом, для 7 из 8 изученных генов, случаи метилирования встречались относительно редко как у облученных (от 2,9 до 18,1 % лиц – носителей этих эпигенетических нарушений в зависимости от локуса), так и необлученных индивидов (от 0 до 8,2%), что, по-видимому, указывает на стохастический характер метилирования и подтверждает дифференциальную «уязвимость» разных генов к индукции рассматриваемых модификаций.

В настоящей работе впервые предпринято исследование, направленное на оценку реальности наличия гиперметилирования CpG – островков промоторов генов, активно экспрессирующихся в нормальных клетках, в

частности, в лейкоцитах человека, в отдаленный период после перенесенного фракционированного/хронического воздействия радиации в широком диапазоне доз. Результаты проведенных исследований свидетельствуют, в первую очередь, о значимости радиационного фактора в индукции рассматриваемых эпигенетических нарушений в ядросодержащих клетках крови. В целом, полученные результаты согласуются с выводами, сделанными в других исследованиях. Индукция гиперметилирования генов и реальность сохранения этих эпигенетических эффектов в отдаленный период после воздействия ионизирующих излучений как с низкой, так и высокой LET, показана в нескольких работах на животных (Wang J. et al., 2014; Lima F. et al., 2014; Nzabarushimana E. et al., 2014). Так, гиперметилирование промоторов двух генов *Rad23b* и *Ddit3* выявлялось в клетках крови через 1 месяц после хронического воздействия X-лучей на мышей BALB/c (50 сГр, 10 дней) (Wang J. et al., 2014). Показано гиперметилирование ряда генов в ткани легкого мышей в отдаленные периоды (от 1 до 22 недель) после воздействия на животных ионов ^{56}Fe (10-40 сГр), причем, в целом, эффект зависел не только от анализируемого локуса и дозы облучения, но и от периода времени, прошедшего после воздействия (Lima F. et al., 2014; Nzabarushimana E. et al., 2014). В нашем исследовании также отмечена тенденция к снижению выраженности этих эпигенетических изменений со временем, прошедшем после окончания работ в условиях внешнего воздействия γ – излучения.

Остается неясным механизм индукции рассматриваемых эпигенетических нарушений под действием радиации. Нельзя исключать, что активные формы кислорода приводят к сверхрегуляции активности ДНК метилтрансфераз. Кроме того, индуцированные облучением разрывы ДНК могут приводить к рекрутированию ДНК метилтрансфераз к специфическим сайтам репарации ДНК, индуцируя метилирование CpG – динуклеотидов, находящихся вблизи повреждений ДНК (Cuozzo C. et al., 2007; Morano A. et al., 2014).

Следует подчеркнуть, что объектом наших исследований являлась ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови, продолжительность жизни которых составляет от нескольких дней (гранулоциты) до десятилетий (лимфоциты памяти). Эпигенетические модификации, выявляемые в зрелых лейкоцитах периферической крови спустя многие годы после перенесенного радиационного воздействия могут быть результатом непосредственного действия радиации на клетки крови и их предшественники – гемопоэтические стволовые клетки или возникать вследствие немишенных и отсроченных эффектов облучения, которое имело место многие годы тому назад. Поэтому, скорее всего имеет место передача измененного в результате непосредственного облучения паттерна метилирования стволовых гемопоэтических клеток их митотическим потомкам. Следует помнить и об аккумуляции долгоживущих радионуклидов в организме части обследованного контингента облученных лиц.

С учетом данных современной литературы (Merrifield M., Kovalchuk O., 2013), существует взаимосвязь между эпигенетическими нарушениями, нестабильностью генома и эффектом «свидетеля». Сделан вывод о существовании в сыворотке крови облученных лиц «байстэндер» факторов даже спустя десятилетия после радиационного воздействия (Морозик П.М. и др., 2011; Lindholm C. et al, 2010). Это, вероятно, в первую очередь, ассоциировано с механизмами хронического оксидативного стресса. Выраженность гиперметилирования IAP промотора (часть инсерции IAP элемента в псевдоэкзоне PS1A, расположенном перед промотором дикого типа), индуцированного в результате низкодозового радиационного воздействия (0,7 – 3 сГр, MicroCT scanner) на мышей-самцов A^{vy} агути, находящихся на стадии внутриутробного развития, статистически значимо снижалась при добавлением в пищу беременной мыши антиоксидантов, что указывает на существенную роль оксидативного стресса в индукции этой эпигенетической модификации (Bernal A.J. et al., 2013).

О пострадиационной индукции хронического окислительного стресса, имеющем в организме место в отдаленный период после облучения, уже говорилось ранее в этом разделе работы. Следует учитывать, что окислительный гомеостаз клетки в существенной степени определяется АФК – p53 взаимодействиями. С одной стороны, p53 контролирует генерацию АФК митохондриями путем трансактивации *SOD2* гена. Инактивация транскрипции *TP53* вызывает понижение экспрессии ряда других генов-мишеней, продукты которых осуществляют антиоксидантную защиту: глютатионпероксидаза 1 (*GPX1*), альдегид-дегидрогеназа 4A1 (*ALDH4A1*) и сестрины 1/PA26 и 2/Hi95 (*SESN1* и *SESN2*), регенерирующие активность пероксиредоксинов. С, другой стороны, мутированная мтДНК может влиять на уровень экспрессии белка p53, а, следовательно, на транскрипцию генов, находящуюся под контролем p53 (Szumiel I., 2015; Копнин Б.П., 2007; Olovnikov I.A. et al., 2009). Это очевидно, что выявленное нами гиперметилирование гена *p53* приводит к нарушению стабильности генома, в том числе путем потенцирования хронического окислительного стресса в клетках организма, перенесшего радиационное воздействие.

С одной стороны, само по себе гиперметилирование регуляторных районов изученных генов приводит к снижению экспрессии генов, ответственных за сохранение целостности генома (контроля клеточного цикла и апоптоза, детоксикации ксенобиотиков). С другой стороны, нельзя исключать и саму нестабильность генома как причину нарушения скоординированности процессов метилирования, в том числе индукции аберрантного эпигенетического маркирования. Как известно, основной функцией ДНК-метилтрансферазы DNMT1 является воспроизведение родительского характера метилирования в дочерних цепях ДНК после каждого раунда репликации (Sharif J., Muto M., Takebayashi S. et al., 2007; Song J. et al., 2012). Уже показан рост ошибок ДНК метилирования с возрастом, ассоциированных с гиперметилированием, главным образом, в активно пролиферирующих клетках организма (Chu M.W., 2007). Так,

например, в клетках-предшественниках эпидермиса, выявлена активная экспрессия этого фермента, которая теряется по мере клеточной дифференциации. По мнению авторов работы (Sen G.L. et al., 2010), DNMT1 требуется для поддержания репрессии дифференциации. Выявлено, что гены *CDKN2A/B (p16/p15)* являются основными сайтами возраст-зависимого гиперметилирования, которое наблюдается во многих тканях (Levi B.P., Morrison S.J., 2008). По-видимому, эта эпигенетическая модификация требуется для репрессии этих генов - ингибиторов циклинзависимых протеинкиназ, а следовательно, являющихся своего рода “тормозящим механизмом” самообновления популяции стволовых клеток “стареющего” организма (Sen G.L., 2010; Levi B.P., Morrison S.J., 2008). Нельзя исключать, что выявленные нами эпигенетические модификации регуляторных участков изученных генов у облученных лиц связаны с “аберрантным” компенсаторным механизмом, поскольку, как уже было изложено выше, у ликвидаторов аварии на ЧАЭС выявлен повышенный уровень предикторов апоптоза – лимфоцитов с иммунофенотипом $CD95^{+}$, экспрессирующих FAS/APO1.

Однако, нельзя исключать, что метилирование отдельных CpG – динуклеотидов анализируемых промоторов генов представляет собой «остаточные явления» от индуцированного многие годы назад тотального гиперметилирования генома, представляющего собой защитную реакцию клетки на имевшее место хроническое радиационное воздействие. Повышение общего уровня метилирования генома в результате хронического воздействием радиации в малых дозах показано в исследованиях in vivo и in vitro другими авторами. В частности, такой результат получен при исследовании сосны и сои, произрастающей на территориях, загрязненных радионуклидами в результате аварии на ЧАЭС (территории вблизи Чернобыльской АЭС, Брянская и Гомельская обл.) (Kovalchuk O. et al., 2003; Georgieva M. et al., 2017; Volkova P.Yu. et al., 2018). Показано, что индукция гиперметилирования генома, индуцированная

пролонгированным облучением в малых дозах, играет существенную роль в индукции адаптивного ответа. Так, обработка В-лимфобластных клеток линии HMy2.CIR деметилирующим агентом 5-aza-dC приводило к отмене этого феномена в эксперименте с адаптирующим низкоинсивным пролонгированным (4 недели, воздействие 3 раза в неделю, 0,78 Гр/мин) воздействием γ-излучения в суммарной дозе 0,032 Гр и последующим повреждающим воздействием в дозе 2 Гр. По мнению авторов, глобальное гиперметилирование генома приводит к формированию конденсированного гетехроматина, более резистентного к индукции повреждений ДНК, индуцированных радиацией, а значит, направлено на сохранение стабильности генома (Ye S., Yuan D., Xie Y. et al., 2013; Lee Y. et al., 2015). В другом исследовании показано, что у работников атомной промышленности с суммарной накопленной дозой свыше 103,14 мЗв общий уровень метилирования ДНК был выше, чем таковой у лиц, подвергшихся облучению в более низких дозах. По мнению авторов, возрастание рассматриваемого эпигенетического показателя при радиационных нагрузках, превышающих определенные пороговые значения, имеет защитный механизм (Lee Y. et al., 2015).

Большая часть обследованных индивидов в первой выборке (ликвидаторы аварии на ЧАЭС, жители территорий с радионуклидными загрязнениями) подверглась не только внешнему, но и внутреннему воздействию радиации за счет инкорпорированных в организме радионуклидов, а информация об индивидуальных суммарных дозах облучения у этого гетерогенного контингента лиц не достаточная. Самым подходящим для оценки дозовой зависимости индукции рассматриваемых эпигенетических нарушений является использование однородной выборки облученных лиц, подвергшихся воздействию радиации в результате профессиональной деятельности и имеющих продолжительный стаж работы в условиях одного завода. Поэтому, нами проведено изучение гиперметилирования промоторов генов в лейкоцитах крови 149 работников

(от 52 до 86 лет) реакторного и радиохимического производств ПО «Маяк», подвергшихся, соответственно, пролонгированному внешнему воздействию γ-излучения и сочетанному внешнего (γ–лучи)/внутреннему (α–частицы, инкорпорированный ^{239}Pu) облучению; у всех этих лиц проведена физическая дозиметрия, дозы рассчитаны и документированы.

В целом, результаты настоящей работы, свидетельствующие о статистически значимой корреляции дозы облучения и числа метилированных промоторов, согласуются с результатами исследований других авторов, также наблюдавших дозовую зависимость индукции гиперметилирования. Так, например, в уже упомянутой работе (Bernal A.J. et al., 2013) показано, что внутриутробное облучение (0,4 – 7,6 сГр) мышей-самцов A^{vy} агути (но не самок) приводило к зависимому от дозы гиперметилированию IAP промотора в клетках хвоста и печени с максимально выраженными эффектами при воздействии в дозах 1,4 и 3 сГр, но не 7,6 сГр. В экспериментах по воздействию на мышей ионов ^{56}Fe, показано, что облучение в более низких дозах ассоциировалось с наибольшими эффектами (Lima F. et al., 2014; Nzabarushimana E. et al., 2014). Так, например, через 30 дней после облучения животных в дозах 10 и 30 сГр, выявлено гиперметилирование 5 изученных генов *DAPK1, EVL, 14.3.3, p16, MGMT,* но эти эпигенетические эффекты не наблюдались при воздействии в дозе 100 сГр (Lima F. et al., 2014). Результаты изучения локус-специфических изменений метилирования (Mouse Lung Cancer DNA Methylation PCR Array) через 22 недели после воздействия свидетельствуют о наличии значимых эффектов облучения преимущественно при воздействии самой низкой дозы – 10 сГр: 5 (*Cadm1, Cdh13, Cdkn1c, Mthfr and Sfrp1*) из 22 исследованных генов, потенциально ассоциированных с развитием рака легкого, были гиперметилированы, при том, что воздействие в более высоких дозах приводило к аберрантному метилированию только 1 гена - *Cdkn1c* (Nzabarushimana E. et al., 2014). Таким образом, в данных исследованиях,

максимальная выраженность эпигенетических эффектов не была сопряжена с наибольшей дозой радиационного воздействия.

Полученные в настоящей работе результаты согласуются с вышеприведенными, полученными в экспериментах in vivo на лабораторных животных. А именно, радиационная нагрузка у работников, характеризующихся отсутствием эпигенетических нарушений или имеющих один метилированный ген, была существенно ниже таковой у лиц с двумя и тремя метилированными локусами, но в то же время значимо не отличалась от средней поглощенной дозы внешнего воздействия γ – излучения ККМ у лиц с наиболее выраженными изменениями эпигенетического статуса (4 гиперметилированных промотора). Это может быть связано с повышенной радиочувствительностью индивида, индивидуальными особенностями индукции эпигенетических нарушений и выхода в кровеносное русло долгоживущих лимфоцитов из депо, характером элиминации клеток с поврежденным геномом/эпигеномом со временем, промежутком времени, прошедшем после облучения и т.д.

Следует подчеркнуть, что при рассмотрении объединенной выборки необлученных лиц и лиц, подвергшихся исключительно сочетанному воздействию внешнего γ-/внутренего α-излучений, обнаруживается еще большая корреляция накопленной дозы воздействия γ-излучения и числа метилированных промоторов. Не исключено, что выраженность дозовой зависимости метилированияв этом случае связана с более тщательной дозиметрией лиц, подвергшихся подобным воздействиям. Наибольшая доля индивидов – носителей рассматриваемых эпигенетических нарушений выявлена в группе работников радиохимического производства, подвергшихся комбинированному действию внешнего редкоионизирующего (γ)/внутренего плотноионизирующего (α) излучений. По-видимому, гиперметилирование промоторов ряда генов, которое выявляется в лейкоцитах крови спустя годы и десятилетия после перенесенного

пролонгированного облучения, характеризуется зависимостью не только от дозы, но и от типа радиации.

Имеются единичные работы, свидетельствующие о дозовой зависимости гиперметилирования, выявленного в нормальных и опухолевых клетках человека, подвергшихся внутреннему облучению за счет поступления в организм радионуклидов – источников α–излучения (Su S.B. et al., 2006; Belinsky S.A. et al., 2004). Так, результаты анализа ДНК, выделенной из образцов слюны работников урановых рудников, подвергшихся пролонгированному воздействию α–излучения радона, свидетельствуют о дозозависимом гиперметилировании генов *p16/INK4A* и *MGMT* (Su S.B. et al., 2006). Выявлена зависимость метилирования локуса *p16/INK4A* в клетках аденокарциномы легкого у работников ПО «Маяк» от суммарной накопленной дозы α-излучения ^{239}Pu, воздействие которого сопряжено с повышенным риском канцерогенеза (Belinsky S.A. et al., 2004). В настоящей работе впервые показано зависимое от дозы гиперметилирование CpG – островков промоторов ряда генов, которое выявляется в нормальных лейкоцитах крови в отдаленный период после перенесенного пролонгированного внешнего воздействия γ-излучения в диапазоне средних и высоких доз.

Зависимость выраженности локус-специфических изменений метилирования от дозы облучения, которое выявляется не только сразу после воздействия, но и в отдаленный период после него, наблюдалась и в экспериментах in vitro с опухолевыми клетками (Antwih D.A. et al., 2013; Kuhmann C. et al., 2011). Так, в широкогеномном исследовании (ДНК-микрочип метод, Infinium Human Methylation 450 BeadChip, Illumina) на раковых клетках молочной железы (линия MDA-MB-231), подвергшихся воздействию Х-лучей в дозах 4 и 6 Гр и проанализированных через 1 – 72 часа после облучения, выявлены сотни дифференциально-метилированных генов, которые ассоциированы с клеточным циклом, ДНК репарацией, апоптозом. Измененный эпигенетический статус на протяжении всего

эксперимента при облучении в дозах 2 Гр и 6 Гр, выявлен для 15 и 23 локусов, соответственно. Авторы отмечают, что в целом, динамика метилирования согласуется с биологическим ответом клеток на повреждающее действие радиации и имеет не беспорядочный характер (Antwih D.A. et al., 2013). В другом исследовании с фракционированным воздействием γ-излучения ^{137}Cs в суммарной дозе 10 и 20 Гр (1-2 недели, 5 фракций в неделю по 2 Гр) на клетки рака молочной железы (линия MCF7), показано, что спустя 14 дней после облучения, то есть время, за которое происходило восстановление клоногенной активности клеток при дозе 10 Гр, но не 20 Гр, уровни метилирования генов *FOXC1*и *TRAPPC9* были значительно снижены по сравнению с таковыми, имевшими место сразу после радиационного воздействия, но существенно превышали рассматриваемые показатели в необлученных клетках. По мнению авторов, возобновление роста клеток после фракционированного облучения в дозе 10 Гр ассоциировано с локус-специфическими изменениями ДНК-метилирования, связанными с апоптотическим сигналингом (Kuhmann C. et al., 2018). Выявлено незначительное количество изменений в метилировании генома нормальных клеток человека (фибробластов HFBs и клеток бронхиального эпителия NHBEC) через 7 ней после острого воздействия γ – излучения ^{137}Cs в дозах 0.1 – 4 Гр (метил-ЦГ-иммунопреципитация + ДНК-микрочип методы) (Lahtz C. et al., 2012).

Таким образом, в свете данных современной мировой литературы, следует различать индукцию генерализованных изменений метилирования ДНК, связанных с механизмами ответа клетки на облучение (активация клеточных программ, связанная с инициацией сигнальных каскадов) и стохастических нарушений, ассоциированных с повреждающим действием радиации на молекулы клетки (генерация свободных радикалов кислорода, индукция повреждений ДНК и процессы их репарации и др.). Последние имеют место на уровне отдельных CpG – динуклеотидов анализируемого участка генома и/или затрагивать только малую фракцию клеточной

популяции. Нельзя исключать, что десятки лет назад, когда организм работников реакторного производства ПО «Маяк» подвергался хроническому воздействию радиации, могли быть задействованы обе группы механизмов. Наблюдаемое же нами дозозависимое гиперметилирование отдельных CpG – динуклеотидов CpG –островков промоторов ряда генов в лейкоцитах крови по прошествии десятков лет после облучения преимущественно является результатом мишенных и немишенных повреждающих эффектов облучения.

Гиперметилирование CpG - островков промоторов генов, изученное нами в лейкоцитах облученных людей, уже твердо установлено в клетках многих опухолей (Землякова В. В. и др., 2004; Roman-Gomez J. et al., 2005; Sato H. et al., 2010; Sharif J. et al., 2007; Малюкова А.В. и др., 2004). Продукт гена *p16/CDKN2A* является ингибитором циклинзависимой киназы cdk4 и играет ключевую роль в контроле клеточного цикла, блокируя сигнальный путь Cdk-Rb-E2F (Землякова В. В. и др., 2004; Wang W. et al., 2001). Ядерный белок p14 обладает способностью стабилизировать и активизировать белок p53 за счет инактивации белка MDM2, который вызывает деградацию p53 (Землякова В. В. и др., 2004; Robertson K.D., Jones P.A., 1998). Ген *RASSF1A* принимает участие в инициации апоптоза и ингибирует накопление циклина D1, необходимого для продвижения по клеточнуму циклу (Vos M.D. et al., 2000). Ген *GSTP1*- один из ключевых генов фазы II детоксикации ксенобиотиков. Результаты работ последних лет свидетельствуют о том, что некоторые эпигенетические изменения, наблюдаемые в клетках опухолей (как тотальное гипометилирование генома, так и аберрантное маркирование CpG - островков промоторов отдельных генов), выявляются и в лимфоцитах периферической крови этих же пациентов (Yuasa Y. et al., 2012; Al-Moundhri et al., 2010; Flanagan et al., 2009; Tahara et al., 2013). Это, вероятно, указывает на системный характер аберрантного метилирования некоторых генов в организме.

В нашем исследовании, хотя и отмечена некоторая тенденция к повышенной частоте случаев гиперметилирования изученных генов у облученных лиц с диагнозом злокачественного новообразования (на момент взятия крови и в течение пяти лет после этого), однако при таких небольших размерах выборок, статистически значимых отличий частоты встречаемости эпигенетических нарушений между подгруппами больных и «здоровых» индивидов не выявлено, что требует дальнейших исследований У одного индивида с самой высокой суммарной дозой внутреннего воздействия α–излучения от инкорпорированного плутония (0,02 Гр) и метилированием промоторов генов *p16/INK4A* и *p53* уже после взятия крови было выявлено злокачественное новообразование органов дыхания (код 162 по МКБ-9). Следует отметить, что сотрудниками клинического отдела Южно-уральского института биофизики ФМБА России (ЮУрИБФ, г. Озерск) совместно с Ловлейским Институтом респираторных исследований (г. Альбукерке, штат Нью-Мексико, США) показана повышенная частота гиперметилирования гена *p16/INK4A* в аденокарциноме легкого у облученных работников ПО «Маяк» по сравнению с таковыми показателями в опухолях необлученных лиц. По мнению авторов, это указывает на связь рассматриваемой эпигенетической модификации с повышенным риском радиационно-индуцированного рака легких (Lyon C.M. et al., 2007). Хотя не исключено, что в данном случае имеет место сложение эффектов облучения и злокачественной трансформации клеток.

Гиперметилирование промоторов ряда генов обнаружено в лейкоцитах крови у пациентов, имеющих различную патологию неопухолевой природы. Следует отметить данные, указывающие на сопряженность эпигенетических модификаций регуляторных районов других генов с развитием ряда мультифакториальных заболеваний неопухолевой природы (Johansson A. et al., 2013; Huang Y.S. et al., 2009; и др.). Так, например, выявлено аберрантное гиперметилирование промоторного региона гена эстрогенового рецептора *ERα* у 70,4 % больных атеросклерозом по сравнению с 28,6 % в контрольной

группе. Выявлена положительная корреляция между уровнем метилирования этого промотора и концентрацией гомоцистеина в плазме крови, а также тяжестью атеросклеротического поражения (Huang Y.S. et al., 2009). Известно, что многие неопухолевые заболевания, ассоциированные с оксидативным стрессом, преобладают у лиц пожилого возраста (кардиоваскулярные, цереброваскулярные, нейродегенеративные, легочные, ревматоидные заболевания). Так, например, выявлено гиперметилирование промоторного региона гена экстраклеточной супероксиддисмутазы *SOD3 (Ec-SOD)* у больных атеросклерозом (Lakshmi Sana V.V. et al., 2013). Повышенная частота этих эпигенетических нарушений выявлена и в нашем исследовании у облученных индивидов, по сравнению, с контрольной группой. Однако, учитывая то, что все обследованные лица были пожилого возраста и имели кардиоваскулярные и цереброваскулярные заболевания, для выяснения связи выявленного гиперметилирования с риском развития радиационно-индуцированной рассматриваемой патологии требуются дальнейшие исследования с расширенным анализом клинических и лабораторных показателей. Следует подчеркнуть, что рассматриваемые эпигенетические модификации *SOD3* встречались достаточно часто и у пожилых необлученных лиц (18 %), что существенно превышало аналогичный показатель для других исследованных генов (от 0,6 до 7,1 %). EC-SOD – антиоксидантный фермент, локализованный в экстраклеточном матриксе тканей и клеточной поверхности, нарушение активности которого в последние годы связывают со многими возрастными патологиями. Так, например, помимо регуляции васкулярного тонуса (сохранение биоактивности оксида азота NO), этому энзиму отводится большая роль в предотвращении атерогенного окисления ЛПНП и воспалительной реакции в месте атеросклеротической бляшки за счет скопления большого количества макрофагов и моноцитов (Fattman C. L. et al., 2003).

Одной из первостепенных задач изучения отдаленных эффектов радиации является поиск маркеров перенесенного облучения, которые могут

дать интегральную оценку состояния здоровья индивида. Таким показателем является биологический возраст. Еще совсем недавно укорочение длины теломер, которое в свою очередь тесно связано с дисфункциями митохондрий, могло рассматриваться как надежный биоиндикатор радиационно-индуцированного преждевременного старения организма, о чем свидетельствуют следующие факты. Установлено, что за год жизни длина теломер в гранулоцитах крови, в среднем, уменьшается на 39 bp (Rufer N. Et al., 1999).

В то же время, с возрастом в митохондриях накапливаются мутации, что приводит к дисфункциям этих органелл. Основной возраст-ассоциированной мутацией мтДНК является делеция 4977пн (мтДНК^{4977}), которая рассматривается как биомаркер старения и митохондриальных дисфункций. Кроме того, считается, что это мутационное изменение является чувствительным маркером окислительного повреждения мтДНК, в том числе под действием радиации (Prithivirajsingh S. et al., 2004). Радиационные повреждения митохондрий приводят к повышенной генерации АФК, к укорочению теломер и старению (Sabatino L. et al., 2012). Во-первых, из-за высокого содержания гуанина (TTAGGG последовательность) теломеры являются критической мишенью для индукции оксидативных повреждений ДНК (8-гидрокси-2$^{/}$ - дезоксигуанозин, 8-OHdG и 2,6 – диамино-4-гидрокси-5-формамидопиримидин, FapyG). Если повреждения гуанина остаются нерепарированными, они становятся высокомутагенными, так как в результате неправильного спаривания с аденином в ходе репликации приводят к трансверсии G:C→T:A. Так, показано, что мыши, накаутированные по гену 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы *OGG1*, характеризуются снижением целостности теломер как результата неспособности ДНК к эксцизионной репарационной активности (Wang Z. et al., 2010). Кроме того, активные формы кислорода могут вызывать однонитевые разрывы, которые, как было установлено, теломерная ДНК репарировать неспособна. Также существует гипотеза, что идуцированные

повреждения ДНК могут интерферировать с репликативной вилкой, что увеличивает теломерную эрозию (von Zglinicki T., 2002).

Сопряженность укорочения теломер с окислительным стрессом доказана также в экспериментах по культивированию клеток в присутствии антиоксидантов. Результаты экспериментов по переносу культуральной среды от G0 облученных (in vitro) лимфоцитов человека к интактным лимфоцитам здоровых индивидов, свидетельствуют о первостепенной роли индуцированного оксидативного стресса в реализации «байстэндер» эффекта. В «байстэндер» лимфоцитах наблюдались изменения в митохондриальном мембранном потенциале, укорочение теломер, повышенные уровни перекиси водорода и супероксидного радикала, истощение уровня глутатиона GSH, повышение частоты микроядер. Эти эффекты выявлены при воздействии рентгеновского излучения в дозе 0,5 Гр, но не 0,1 Гр (Belloni P. et al., 2011). Показано значительное снижение длины теломер в лимфоцитах периферической крови у ликвидаторов аварии на ЧАЭС через 20 лет после перенесенного радиационного воздействия. Отмечена обратная корреляционная связь между длиной теломер и апоптотической гибелью клеток (Ilyenko I. et al., 2011).

В ряде работ показана положительная ассоциативная связь длины теломер лейкоцитов крови с продолжительностью «здоровой» жизни индивидов. Установлена связь длины теломер с риском развития злокачественных новообразований и ряда неопухолевых заболеваний (артериальная гипертензия, атеросклероз, сердечная недостаточность, сахарный диабет 2-го типа, прогрессирующие нейродегенеративные заболевания, то есть болезни Альцгеймера и Паркинсона). Между тем, результаты других исследований не подтверждают наличие этих ассоциаций (Zhu H. et al., 2011; Brooks-Wilson A.R., 2013). Кроме того, показано, что несмотря на значимую обратную корреляцию между длиной теломер и хронологическим возрастом, точность предсказания возраста индивида на основе этого генетического показателя, относительно низкая: MAD, mean

absolute deviation, среднее абсолютное отклонение, 18,2 года; RMSE, root mean square error, среднеквадратическая ошибка регрессии, 23,1 года) (Vidal-Bralo L. et al., 2016).

Ситуацию резко изменили эпигенетические исследования, посвященные широкогеномному исследованию метилома. К настоящему моменту уже проведены пионерские исследования, в результате которых получена предсказательная модель биологического старения человека (353 CpG – часы, построенные на основе регрессионного анализа сопряженности календарного возраста с изменениями уровней метилирования 353 CpG-сайтов), отличающаяся высокой точностью (корреляция между календарным и эпигенетическим возрастом составляет 0.96; ошибка прогноза составляет ±3.6 года) и способная идентифицировать индивидов с замедленным и ускоренным старением, биологический возраст которых существенно отличается от хронологического (Horvath S., 2013).

Эти данные неоднократно воспроизводились, а исходная панель эпигенетических маркеров была существенно упрощена: 73 CpG-часы (Hannum G. et al., 2013), 3 CpG-часы (Weidner C. I. et al., 2014), 8 CpG-часы (Vidal-Bralo L., 2016).

Показана связь ускоренного старения, выявленного по показателю Δ возраст (разность между эпигенетическим и хронологическим возрастом), с антенатальными (состояние матери во время беременности: курение, индекс массы тела, содержание селена, уровень холестерина) и ранними постнатальными факторами (вес при рождении, родоразрешение кесаревым сечением) (Simpkin A.J. et al., 2016). Имеются данные о повышении эпигенетического возраста, определенного при исследовании лейкоцитов крови, при ВИЧ-инфицировании, синдроме Дауна, болезни Паркинсона, ранней менопаузе, а также снижении общих показателей когнитивных функций и физического здоровья (скорость ходьбы, функции легких и др.) у пожилых людей (70 лет и выше) (Horvath S., Levin A. J., 2015; Horvath S. et al., 2015; Horvath S., Ritz B.R.,2015; Levine M.E. et al., 2016; Marioni R.E. et al.,

2015). Отмечено, что «биологический возраст» клеток раковых опухолей, определенный по гиперметилированию, в среднем превышает календарный возраст больного на 36 лет (Horvath S., 2013). Показана сопряженность повышенного эпигенетического возраста с риском раннего ишемического инсульта (57 лет и моложе), причем коррелятивная связь этого заболеваниями с артериальной гипертензией, сахарным диабетом, дислипидемией наблюдается также у лиц этой более молодой группы (Soriano-Tárraga K. et al., 2016).

Кроме того, проведены исследования, свидетельствующие о сопряженности Δ (разность между календарным и эпигенетическим возрастом) с риском смертности. Так, показано, что для индивидуумов, характеризующиеся преждевременным старением (Δ больше 5 лет), риск смертности увеличен на 16 % (независимо от состояния здоровья и образа жизни). Наследуемость (h^2) Δ составляет 0,43 (Marioni R.E. et al., 2015). В другом исследовании показано, что превышение эпигенетического возраста по сравнению с календарным на один год, что выявлено при исследовании лейкоцитов крови, сопряжено с повышенным риском заболеваемости раком и смертности от этой патологии в течение последующих 3-5 лет (Hazard ratio, коэффициент риска HR = 1,06, 95 % CI 1,02 – 1,10 и HR = 1,17, 95 % CI 1,07 – 1,28, соответственно) (Zheng Y. et al., 2016).

Кроме того, множество исследований возраст-ассоциированных изменений метилирования посвящено локусам, отобранным на основе их патогенетической значимости в индукции рака и других заболеваний, сопряженных с возрастом. Так, отмечена возрастная зависимость гиперметилирования CpG – островков генов, вовлеченных в опухолевую супрессию, антиоксидантную защиту, детоксикацию ксенобиотиков, репарацию ДНК, регуляцию иммунного ответа, системы коагуляции, выявленного в клетках нормальных тканей (Kwabi-Addo B. et al., 2007; Madrigano J. et al., 2012; Matsubayashi H. et al., 2005; So K. et al., 2006; Waki T. et al., 2003). Это подтверждают и результаты широкогеномных исследований

метилирования (EWAS) (Bell J.T. et al., 2012; Hannum G. et al., 2013; Zampieri, M. et al., 2015; Van Otterdijk S.D. et al., 2013). Однако, патогенетическая роль гиперметилирования промоторов этих генов в развитии тех или иных заболеваний остается неясной. В любом случае, эти эпигенетические нарушения могут рассматриваться как биомаркеры повышенного риска развития тех или иных заболеваний у здоровых индивидов.

Сложность проблемы понимания связи нарушений метилирования с возраст-ассоциированными болезнями заключается в установлении временного промежутка между индукцией рассматриваемого эпигенетического нарушения и клинической манифестацией болезни (и ее прогрессии). Отмечено, что у здоровых «возрастных» индивидов гиперметилирование CpG – островка не является протяженным, а затрагивает лишь отдельные CpG сайты. Однако, последующее увеличение плотности метилирования этих участков промоторов характерно для индуцированной патологии (Wong D.J. et al., 1999; Siegmund K.D. et al., 2007).

В настоящем исследовании не выявлены статистически значимые отличия в гиперметилировании рассматриваемых генов у детей – потомков облученных родителей по сравнению с индивидами контрольной группы. С одной стороны, это и следовало ожидать, так как метилирование, даже если оно имеет место, «стирается» в результате репрограммирования генома в ходе эмбриогенеза. С другой стороны, возраст обследованных индивидов этой группы не превышал 40 лет. Следовательно, ускорение «эпигенетических часов» (как результат геномной нестабильности или др. механизмов) не наблюдается (Carlson B.M., 2009; Feng S. et al., 2010; Hajkova P., 2011).

Наше исследование было сфокусировано на генах, потенциально сопряженных с возраст-ассоциированной патологией (рак и сердечно-сосудистая патология). Эпигенетические модификации, обнаруженные в лейкоцитах крови облученных лиц в отдаленный период после перенесенного радиационного воздействия, аналогичны таковым,

выявляемым при выше указанных возрастных заболеваниях, в том числе в клетках самих злокачественных опухолей. В настоящей работе выявлена тенденция к повышенной частоте гиперметилирования промоторов проанализированных генов у облученных индивидов со злокачественными опухолями, однако существенных различий в частоте эпигенетических модификаций между группами работников ПО «Маяк» с онкологической патологией и «здоровых» лиц не выявлены. Требуются дальнейшие исследования с охватом большей выборки обследуемых индивидов.

В целом, полученные нами данные и результаты других исследований показывают, что старение, последствия радиационного воздействия и возраст-ассоциированные заболевания сопровождаются общими эпигенетическими нарушениями, а именно, гиперметилированием CpG – островков промоторов ряда генов.

Закономерным остается вопрос о том, насколько выявляемые эпигенетические модификации сохранны и необратимы с течением времени. Как уже отмечалось, экспериментальные работы на животных свидетельствуют о реальности сохранения гиперметилирования промоторов генов в клетках крови в течение длительного времени. Возможно, в будущем, долговременный мониторинг эпигенетических нарушений у облученных лиц даст ответ на этот вопрос. Вторая нерешенная проблема заключается в выяснении того, насколько гиперметилирование определенных генов является специфичным для радиационного воздействия. Решение этого вопроса позволит дать более точную оценку эпигенетических последствий на индивидуальном уровне. К настоящему моменту, полученные нами результаты ограничиваются выявлением статистически значимых, по сравнению с контрольной группой, «усредненных» эффектов облучения.

Результаты ROC-анализа свидетельствуют о приемлемой прогностической эффективности рассмотренных эпигенетических показателей. Другими словами, имеет место средняя степень вероятности того, что анализ гиперметилирования 6 выше приведенных локусов в

лейкоцитах периферической крови облученного индивида выявит рассматриваемые модификации хотя бы в одном локусе. Полученные результаты дают надежду на то, что расширение количества тестируемых локусов может привести к созданию высокоточной прогностической системы биоиндикации радиационного воздействия. Тем более, выявлена положительная ассоциативная связь между частотой аберраций хромосомного типа – маркеров радиационного воздействия и гиперметилированием промоторов генов основных защитных систем клеток.

С целью конкретизации концепции полигеномной реализации мутагенных эффектов, о которой уже шла речь в этом разделе (Кузьмина Н.С., 2003), учитывая полученные нами и другими исследователями данные, следует иметь в виду, что в облученном организме помимо повреждений ДНК имеет место и накопление клеток с эпигенетическими модификациями, в частности, с гиперметилированием отдельных CpG - динуклеотидов CpG-островков промоторов генов.

Таким образом, несмотря на апоптотические процессы, приводящие к элиминации определенной доли клеток, несущих повреждения ДНК, в условиях постоянного действия радиации в низких дозах в организме персистирует огромный спектр клеток с разнообразными дисгеномными эффектами: мутациями и внеплановой супрессией/экспрессией генов, структурными мутациями хромосом (делециями, инверсиями, транслокациями) и моно-/трисомиями, что приводит к переходу унаследованных вредных рецессивных мутаций из гетеро- в геми-/гомозигтное состояние. Следствием этого является изменение пенетрантности/экспрессивности клеточных гено-/фенотипов (Кузьмина Н.С., 2003). Уже экспериментально с использованием нескольких биологических объектов доказано, что генотоксиканты являются мощными индукторами ошибок транскрипции, количество которых существенно превышает уровень регистрируемых реализованных в мутации повреждений ДНК. Речь идет об изменениях транскриптома, затрагивающих все классы

РНК-молекул (мРНК, а также рРНК, тРНК и др. нкРНК). Причем для генерации таких РНК-молекул не требуется фиксация первичных повреждений ДНК в конечные эффекты – мутации (Fritsch C. et al., 2021). Поэтому, выявленный нами спектр нарушений генома/эпигенома является не только биоиндикатором генотоксического воздействия радиации, но и может свидетельствовать о развитии функционального дисбаланса клеток организма.

Следовательно, в результате полигеномной реализации мутагенных эффектов на основе клеточного "тиражирования", по крайней мере, на порядок возрастает частота поврежденных геномов в организме человека, что в целом, обуславливает развитие полигеномной недостаточности в организме и увеличивает риск возникновения мультифакториальных заболеваний. Особенно это касается наиболее радиочувствительного детского организма, подвергающегося облучению, начиная с периода эмбриогенеза, т.е с периода активной пролиферации и дифференцировки предшественников зрелых специализированных клеток. Аналогичные процессы происходят в клетках лимфоидных и миелоидных ростков кроветворения, а также других пролиферирующих систем организма, подвергающегося как антенатальному, так и постнатальному облучению. Здесь необходимо учитывать, что в пролиферирующих тканях организма клетки находятся преимущественно в S- и G_2- фазах клеточного цикла, когда сестринские структуры каждой хромосомы реагируют на воздействующую радиацию независимо друг от друга, а значит, возрастает число критических мишеней, и как следствие - число клеток организма, несущих повреждения генома (Кузьмина Н.С., 2003).

Действительно, в ряде работ рассчитаны риски развития радиационно-индуцированной патологии (онкологические и неонкологические заболевания) у облученных лиц, в частности у ликвидаторов аварии на ЧАЭС. В целом, некоторые из них (заболеваемость солидными опухолями и смертность от них, смертность от болезней системы кровообращения)

остаются значимы не только в первое десятилетие после окончания работ в условиях воздействия ионизирующих излучений (как лейкозы), но и спустя почти 30 лет и более (Иванов В.К. и др., 2017, 2018, 2019; Чекин С.Ю. и др., 2017; Ivanov V.K. et al., 2017; Кащеев В.В. и др., 2015; Kashcheev V.V. et al., 2016). Однако динамика показателей заболеваемости (вегетативные дисфункции и психическая дезадаптация, заболевания органов пищеварения, дыхания, мочевыделения, снижение компенсаторных возможностей сердечно-сосудистой системы, эндокринопатии, нарушения становления репродуктивных функций и др.) у детей, родившихся в семьях ликвидаторов Чернобыльской катастрофы, характеризуется ростом на протяжении взросления индивидов и достигает максимальных значений в подростковом возрасте. Для этой категории детей характерны нарастание с течением времени функциональных отклонений органов и систем организма, их трансформация в патологические состояния, ранняя манифестация и хроническое течение болезней (Коренев Н.М. и др., 2012). Итоги многолетнего наблюдения Детского научно-практического центра противорадиационной защиты за состоянием здоровья детей ликвидаторов аварии на ЧАЭС свидетельствуют о том, что в структуре их заболеваемости преобладают заболевания нервной системы, пищеварения и врожденных аномалий костно-мышечной системы и зрительного анализатора. Отмечается дискоординация клеточного и гуморального звеньев иммунитета, развитие вторичной иммунной недостаточности, наличие пролиферативного типа иммунного ответа (Балева Л.С. и др., 2015; Прошина Е.В. и др., 2001).

В большей или меньшей степени, но практически все вышеперечисленные клинико-иммунологические отклонения характерны и для жителей территорий с радионуклидными загрязнениями (Балева Л.С. и др., 2003, 2015, 2019; Сипягина А.Е. и др., 2018; Коренев Н.М. и др., 2012). Кроме того, как известно, для детского организма, подвергшегося максимальному радиационному воздействию в 1986 году во время аварии, наиболее уязвимым органом является щитовидная железа (в первую очередь,

это касается внутриутробного периода онтогенеза или периода раннего детства), что и объясняет высокую частоту онкологической и неонкологической патологии этого органа у этого контингента (Балева Л.С. и др., 2016). Известно, что дети в 2–3 раза более радиочувствительны, чем взрослые, а риск стохастических эффектов у детей выше, чем у взрослых (Алексахин Р.М., 2014). В свою очередь, по прошествии двух-трех десятилетий дети, облученные во время аварии в критические периоды онтогенеза, стали родителями и встает проблема здоровья их потомства. В нашем исследовании – это дети 1994-1995 и 1997-2007 гг.р. При этом, отмечается, что ранний анамнез и первые этапы постанатального онтогенеза таких детей характеризовались более значительной частотой патологического течения беременности и родов, несостоятельностью иммунной системы (раннее формирование группы часто болеющих, высокая аллергическая настроенность организма) (Балева Л.С. и др., 2003; Коренев Н.М. и др., 2012).

Следует подчеркнуть, что феномен радиационно-индуцированной дезадаптации плода является не только следствием индукции и тиражирования дисгеномных эффектов в развивающемся организме, трансгенерационной нестабильности генома, но и опосредовано через организм матери, подвергшейся воздействию радиации в уязвимый период онтогенеза. Это очевидно, что накопление в организме матери клеток с дисгеномными эффектами в конечном счете может приводить к развитию экстрагенитальной патологии и гестозам. Как известно, существует много предположений о патогенетических механизмах таких заболеваний матери при беременности, как поздние токсикозы (гестозы). В последнее время появились данные о патогенетической роли повышенного апоптоза в клетках трофобласта в индукции этой патологии (Щербаков В.И., 2011). Учитывая, что одним из других проявлений дестабилизации генома (помимо аберраций хромосом) являются нарушения процессов апоптотической гибели клеток, можно предполагать, что низкоинтенсивное воздействие малых доз радиации

приводит к увеличению риска развития гестозов у беременных женщин. Состояние новорожденных, в свою очередь, должно определяться преобладанием тех или иных изменений в плаценте: отставание в формировании ворсинчатого дерева, компенсаторные изменения в виде очагового ангиоматоза, признаки преждевременной инволюции, выраженный кальциноз, воспалительные изменения в материнской части плаценты (Дубова Е.А. и др., 2013). Может иметь место и первичная плацентарная недостаточность, а следовательно нарушения в выработки плацентарных гормонов, отвечающих за рост и развитие плода.

Структурно-функциональные нарушения генома иммунокомпетентных клеток обоих организмов могут привести к мембранно-рецепторным дисфункциям, апоптозу, дисбалансу иммунорегуляции, развитию иммунодефицитных и аутоиммунных процессов. Изменения иммунитета матери приводят к изменению микробиоциноза. и трансплацентарному переходу микрофлоры к плоду. Следует отметить, что «усиление» тех или иных функциональных расстройств в организме, подвергшегося воздействию радиации или других генотоксических воздействий, происходит не только за счет развития полигеномного дисбаланса (клеточное тиражирование дисгеномных эффектов), но и за счет существующей системы тесной взаимосвязи между различными системами организма.

Показана согласованность действия иммунной, эндокринной и нервной систем в нормальных условиях и в ответ на патологические воздействия (Karavanaki K. et al., 2011; Учакин П.Н. и др., 2007). Так, например, цитокины регулируют активность гормональной оси гипоталамус-гипофиз-нарпочичники (IL1, IL6, TNF, семейство цитокинов gp130 и др.), в частности, интерлейкин-1, воздействуя на гипоталамус, усиливает синтез кортиколиберина, что, в свою очередь, повышает выработку АКТГ. Таким образом, накопление дисгеномных эффектов в иммунокомпитентных клетках приводит к искажению медиаторного контроля иммунной системы за функцией других систем организма.

По-видимому, у рассматриваемого контингента имели место не только развитие фетоплацентарной недостаточности, гипоксии плода, но и специфика радиационно-индуцированного стресс-ответа. Очевидно, что все это в конечном итоге приводит к пренатальной гипотрофии. Действительно, педиатрами отмечается существенно повышенная частота этой патологии, в первую очередь, в анамнезе детей, матери которых подверглись максимальному воздействию радиации во время аварии в 1986 году будучи подростками (Балева Л.С. и др., 2003). С одной стороны, клетки внутриутробно развивающегося организма характеризуются максимальными темпами энергозависимых процессов пролиферации и роста, что сопровождается недостаточно эффективными процессами репарации ДНК в условиях мутагенной нагрузки. Нельзя исключать, что недостаток энергии на осуществление этих защитных функций компенсируется активными процессами апоптоза, направленного на элиминацию клеток с дисгеномными эффектами и таким образом, предотвращающих формирование пороков развития органов (Сипягина А.Е., 2017). Однако, нельзя исключать, что в ряде случаев имеет место и радиационно-индуцированное снижение экспрессии генов, кодирующих структурные белки и активаторы клеточного деления. Очевидно, что преобладание тех или иных рассмотренных механизмов определяются не только дозой облучения, феноменом «гиперчувствительности» в малом диапазоне доз, но и индивидуальными генотипическими особенностями организма.

Таким образом, как у родителей, подвергшихся облучению в различных ситуациях (как правило, диапазон малых и средних доз), так и у их облученных и необлученных детей, выявлен комплекс генетических и эпигенетических (у родителей) нарушений, что сопровождается выше перечисленными отклонениями в состоянии здоровья. Все это свидетельствует о системном характере дестабилизации генома у облученных лиц и является критерием для выявления индивидов с риском развития радиационно-индуцированной патологии. Дальнейшее изучение

радиационно-индуцированного эпимутагенеза в организме облученного человека и его детей представляет собой одну из основных задач современной радиобиологии и радиационной генетики, и необходимо для идентификации эпигенетических предикторов радиационно-индуцированного преждевременного старения организма и развития возраст-ассоциированных онкологических и неонкологических заболеваний. Наряду с этими исследованиями, изучение дозовой зависимости гиперметилирования и создание панели эпигенетических маркеров перенесенного радиационного воздействия, в конечном итоге, внесут существенный вклад в реальную оценку риска облучения человека. Кроме того, нельзя исключать, что в будущем, биологический возраст, оцененный на основе рассматриваемых эпигенетических показателей, заменит хронологический возраст индивида и будет более информативной характеристикой при обследовании и лечении пациентов в отдаленный период после перенесенного радиационного воздействия.

В целом, расширение, по возможности, выборок обследуемых людей, использование современных молекулярно-генетических методов, основанных на секвенировании нуклеотидных последовательностей и выявлении CNVs (делеции, инверсии, дупликации), кластерных SNVs, метилированных/деметилированных CpG-динуклеотидов в различных участках генома, а также анализ коррелятивных связей между показателями поврежденности генома, эпигенетическим статусом и заболеваемостью, даст возможность продолжить исследование закономерностей соматического и гаметического мутагенеза в организме людей, подвергшихся облучению при различных радиационных ситуациях и разработать систему высоко прогностических превентивных маркеров развития отдаленной радиационно-индуцированной патологии.

ВЫВОДЫ

1. Во всех обследованных группах детей – жителей территорий с радионуклидными загрязнениями (135 – 688 кБк/м^2), родившихся как в ближайшие сроки (несколько месяцев - 5 лет; средние эффективные дозы ~ 15-35 мЗв), так и в более отдаленный период после аварии на ЧАЭС (средние эффективные дозы ~ 4-6 мЗв), выявлены существенно повышенные частоты радиационно-индуцированных цитогенетических нарушений. У облученных родителей рассматриваемые показатели превышали таковые у их потомков.
2. Не выявлена зависимость частоты аберраций хромосом у детей обследованных групп от средней эффективной дозы облучения, что может указывать на индуцированную геномную нестабильность и реальность ее трансгенерационной компоненты у индивидов, родившихся спустя 8 – 19 лет после облучения их родителей в 1986 году в критические периоды онтогенеза.
3. Как у отцов-ликвидаторов аварии на ЧАЭС (35 – 480 мЗв), так и у их необлученных детей выявлены значимо повышенные частоты аберраций хромосом, TCR – мутаций и предикторов апоптоза (CD95$^+$ - лимфоциты). У детей, в отличии от их облученных отцов, не выявлены корреляционные связи между уровнями TCR – мутаций и аберраций хромосом, частотами аберрантных клеток и предикторов апоптоза.
4. У потомков облученных отцов-ликвидаторов по всем изученным критериям наблюдались индивидуальная вариабельность дестабилизации генома, которая проявлялась как разнообразием спектра трансгенерационных мутационных эффектов, так и различной степенью их выраженности. Зависимость частот аберрантных/мутантных лимфоцитов от срока зачатия детей после аварии отсутствовала.

5. У детей – потомков профессионалов-атомщиков, подвергшихся хроническому воздействию β – излучения трития и его окиси (11–994 мЗв), выявлена тенденция к повышенной средней частоте мутаций в микросателлитных локусах, что свидетельствует об индуцированных генотоксических эффектах в гаметах облученного организма.
6. На двух независимых выборках облученных лиц (дозы от 35 до 2000 мЗв и более) показана значимость радиационного фактора в индукции гиперметилировании CpG-островков промоторов ряда генов в лейкоцитах крови, выявляемого в отдаленные сроки после перенесенного облучения.
7. Показана дифференциальная значимость возраста и радиационного воздействия в метилировании CpG-островков промоторов разных генов, что демонстрируют однонаправленные эффекты, наблюдаемые в двух независимых выборках облученных лиц.
8. Выявлена совокупность *p16/INKA, p53, GSTP1, SOD3, ATM, ESR1* локусов, гиперметилирование которых ассоциировано с радиационным воздействием. ROC-анализ показал приемлемую информативность рассмотрения выявленных эпигенетических нарушений как биомаркеров перенесенного облучения, сопоставимую с таковой для цитогенетических перестроек – дицентриков и колец.
9. Выявлена зависимость доза-эффект для гиперметилирования вышеперечисленных генов, которое выявляются в лейкоцитах крови спустя годы и десятилетия после перенесенного пролонгированного внешнего воздействия γ – излучения или комбинированного действия внешнего γ-/внутреннего α-излучений.
10. Выявлена положительная ассоциативная связь между поврежденностью генома, индуцированной перенесенным десятилетия назад радиационным воздействием, и гиперметилированием промоторов генов основных защитных систем клеток.

11. В целом, выявлен системный характер генетических/эпигенетических нарушений, сопряженность между изученными показателями в клетках организма в отдаленный период после облучения и разнообразие спектра трансгенерационных эффектов у детей – потомков родителей, подвергшихся радиационному воздействию на разных этапах онтогенеза, в том числе в критические периоды детства.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Азизова Т.В., Тепляков И.И., Григортева Е.С., Власенко Е.В., Сумина М.В., Дружинина М.Б., Беляева З.Д., Крупенина Л.Н. Медико-дозиметрическая база данных «Клиника» работников ПО «Маяк» и их семей. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2009. №5. С. 26-35.

2. Акаева Э.А.., Афанасьев К.И., Дубровина Т.Б., Елисова Т.В., Иофа Э.Л., Кузнецова Г.И., Нилова И.Н., Новицкая Н.Н., Семов А.Б., Сидорова В.Ф., Снигирева Г.П., Сусков И.И., Шевченко В.А. Дисгеномные эффекты у жителей с. Муслюмово Челябинской области в результате радионуклидного загрязнения р. Теча. Тез. докл. Междунар. конф. Проблемы радиационной генетики на рубеже веков. М. РУДН. 2000. С. 226.

3. Аклеев А.В., Дуброва Ю.Е., Площанская О.Г., Козионова О.С. Влияние хронического воздействия ионизирующего излучения на частоту возникновения мутаций в минисателлитных локусах ДНК лиц, проживающих в прибрежных селах реки Теча. Радиац. биология. Радиоэкология. 2007. Т. 47. № 5. С. 558–566.

4. Алексахин Р.М. 61-я сессия научного комитета оон по действию атомной радиации. Радиационная биология. Радиоэкология. 2014. Т. 54. № 6. С. 657-658.

5. Бактон К., Эванс Г. Методы анализа хромосомных аберраций у человека. Женева: ВОЗ. 1975. 64 с.

6. Балева Л. С., Карахан Н. М., Данилычева Л. И., Якушева Е. Н. Риски возникновения онкологических заболеваний в поколениях детей, подвергшихся воздействию радиационного фактора в результате аварии на ЧАЭС. В сборнике: Морские биологические исследования: достижения и перспективы. сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, приуроченной к 145-летию Севастопольской биологической станции: в 3 томах. 2016. С. 21-24.

7. Балева Л. С., Яковлева И. Н., Сипягина А. Е., Карахан Н. М., Карпеева Е. Е., Буянкин В. М., Сускова В. С.. Клинико_иммунологические нарушения у детей различных когорт наблюдения, подвергшихся действию радиационного фактора на различных этапах онтогенеза. Радиационная биология. Радиоэкология. 2011. Т. 51. № 1. С. 7–19.

8. Балева Л.С., Кузьмина Т.Б., Лаврентьева Е.Б., Сипягина А.Е. Здоровье детей, чьи родители подверглись в подростковом возрасте воздействию малых доз радиации. Вопросы современной педиатрии. 2003. Т.2. № 6. С. 7-9.

9. Балева Л.С., Кузьмина Т.Б., Сипягина А.Е., Засимова И.В. Состояние здоровья детей, облученных внутриутробно. Здоровье детей и радиация: актуальные проблемы и решения. Под ред. Балевой Л.С., Царегородцева А.Д. М. Медиа Сфера. 2001. С. 76-79.

10. Балева Л.С., Кузьмина Т.Б., Сипягина А.Е., Лаврентьева Е.Б., Сусков И.И. Состояние здоровья первого поколения детей, родившихся от родителей, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения в подростковом возрасте и продолжающих проживать на территориях, загрязненных радионуклидами. Экологическая антропология. Ежегодник. Матер. IX Междунар. научно-практич. конф. «Экология человека в постчернобыльский период ». Минск. 2001. С.90-93.

11. Балева Л.С., Сипягина А.Е., Карахан Н.М. Состояние здоровья детского населения России, подвергшегося радиационному воздействию вследствие аварии на чаэс. итоги 29-летнего наблюдения детского научно-практического центра противорадиационной защиты. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2015. Т. 60. № 4. С. 6-10.

12. Балева Л.С., Сипягина А.Е., Карахан Н.М. Состояние здоровья детского населения России, подвергшегося радиационному воздействию вследствие аварии на ЧАЭС. Итоги 29-летнего наблюдения Детского научно-практического центра противорадиационной защиты. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2015. № 4. Р. 6 – 10.

13. Балева Л.С., Сипягина А.Е., Карахан Н.М., Егорова Н.И. Медико-биологический мониторинг состояния здоровья поколений населения из регионов радионуклидного загрязнения. В сборнике: Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность - 2019. Сборник статей по материалам международной научно-практической конференции. Под редакцией Л.И. Лукиной, Н.В. Ляминой. 2019. С. 215-221.

14. Балева Л.С., Сипягина А.Е., Карахан Н.М., Колосова Л.К., Якушева Е.Н. Состояние здоровья детей, проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами в результате аварии на Чернобыльской атомной электростанции. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2015. Т. 60. № 4. С. 246.

15. Балева Л.С., Сипягина А.Е., Юров И.Ю., Сухоруков В.С., Карахан Н.М. Особенности задержки психического развития (ЗПР) детей, рожденных от облученных родителей. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2017. Т. 62. № 4. С. 223-224.

16. Балева Л.С., Сипягина А.Е., Яковлева И.Н., Карахан Н.М., Егорова Н.И., Землянская З.К. Иммунологические особенности нарушений у детей, проживающих в регионах с различным уровнем радионуклидного загрязнения после аварии на чернобыльской АЭС. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2015. Т. 60. № 3. С. 81-88.

17. Балева Л.С., Сухоруков В.С., Сипягина А.Е., Карахан Н.М., Воронкова А.С., Садыков А.Р. Роль геномной нестабильности и экспрессии генной сети белка p53 в процессах онкогенеза в 1-2-м поколениях детей, проживающих на радиационно загрязненных территориях. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2017. Т. 62. № 1. С. 81-86.

18. Балева Л.С., Яковлева И.Н., Карахан Н.М., Данилычева Л.И. Радиоиндуцированная патология щитовидной железы у лиц, подвергшихся воздействию радиации в результате аварии на ЧАЭС во внутриутробном, детском и подростковом возрасте. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2013. Т. 58. № 5. С.82-86.

19. Безлепкин В. Г., Кириллова Е. Н., Захарова М. Л., Павлова О. С., Ломаева М. Г., Фоменко Л. А., Антипова В. Н., Газиев А. И.. Отдаленные и трансгенерационные молекулярно-генетические эффекты пролонгированного воздействия ионизирующей радиации у работников предприятия ядерной промышленности. Радиационная биология. Радиоэкология. 2011. Т. 51. № 1. С. 20–32.

20. Блинова Е.А., Аклеев А.В. Апоптоз лимфоцитов периферической крови у жителей прибрежной территории реки теча, подвергшихся хроническому радиационному воздействию. Радиационная биология. Радиоэкология. 2016. Т. 56. № 1. С. 26–34.

21. Бочков Н.П., Дурнев А.Д. Мутационный процесс у человека: наследственные болезни. М.: Геотар – Медиа. 2012. С. 176-198.

22. Бочков Н.П., Катосова Л.Д., Новиков П.В., Сапачева В.А., Платонова В.И., Дышева Н.М., Бедельбаева К.А., Николаева Е.А., Унжаков С.В., Соляева М.В., Аксенов А.Н. Бошакин Н.Ф. Цитогенетическое обследование детей, проживающих в зонах с различной степенью радиоактивного загрязнения Мед. радиология. Радиац. безопасность. 1994. Т. 39. № 5. С. 35-38.

23. Брук Г.Я., Базюкин А.Б., Братилова А.А., Власов А.Ю., Громов А.В., Жеско Т.В., Кадука М.В., Кравцова О.С., Сапрыкин К.А., Степанов В.С., Титов Н.В., Яковлев В.А. Средние годовые эффективные дозы облучения в 2017 году жителей населенных пунктов Российской Федерации, отнесенных к зонам радиоактивного загрязнения вследствие катастрофы на Чернобыльской АЭС (для целей зонирования населенных пунктов). Радиационная гигиена. 2017. Т. 10. № 4. С. 73-152.

24. Бурлакова Е.Б. Особенности действия сверхмалых доз биологически активных веществ и физических факторов низкой интенсивности. Российский химический журнал. Т. XLIII. № 5. С. 3-11.

25. Бурлакова Е.Б., Михайлов В.Ф., Мазурик В.К. Система окислительно-восстановительного гомеостаза при радиационно-индуцируемой нестабильности генома. Радиац. биология. Радиоэкология. 2001. Т. 41. № 5. С. 489-499.

26. Васильев С.А., Толмачёва Е.Н., Кашеварова А.А., Саженова Е.А., Лебедев И.Н. Статус метилирования ретротранспозона LINE-1 при хромосомном мозаицизме на ранних стадиях эмбрионального развития человека. Молекулярная биология. 2015. Т. 49. № 1. С. 165.

27. Васильева И.М., Шагирова Ж.М., Синельщикова Т.А.,.Мавлетова Д.А, Кузьмина Н.С., Засухина Г.Д. Защита радиочувствительных клеток человека от воздействия тяжелых металлов антимутагенами и адаптирующими факторами. Связь с генетическим и белковым полиморфизмом. Генетика. 2009. Т.45. № 6. С. 753-757.

28. Виленчик М.М. Нестабильность ДНК и отдаленные последствия воздействия излучений. М.:Энергоатомиздат, 1987. 192 с.

29. Возилова А.В., Аклеев А.В., Бочков Н.П., Катосова Л.Д. Отдаленные цитогенетические эффекты хронического облучения населения Южного Урала. Радиац. биология. Радиоэкология. 1998. Т.38. № 4. С. 586-590.

30. Воробцова И.Е. Трансгенерационная передача радиационно-индуцированной нестабильности генома. Радиац. биология. Радиоэкология. 2006. Т.46. № 4. С. 441-446.

31. Воробцова И.Е., Воробьева М.В., Богомазова А.Н., Пюккенен А.Ю., Архангельская Т.Б. Цитогенетическое обследование детей Санкт-Петербургского региона, пострадавших в результате аварии на ЧАЭС. Частота нестабильных хромосомных аберраций в лимфоцитах периферической крови. Радиац. Радиоэкология. 1995. Т. 5. № 35. С. 630-635.

32. Воробцова И.Е., Семёнов А.В. Комплексная цитогенетическая характеристика лиц, пострадавших в результате аварии на Чернобыльской АЭС. Радиац. биология. Радиоэкология. 2006. Т.46. №2. С.140-152.

33. Воробьева М.В. Исследование радиочувствительности хромосом детей облученных родителей: Автореф. дис. канд. биол. Санкт-Петербург: ЦНИРРИ МЗ РФ. 1995. 16 с.

34. Голуб Е.В. Оценка отдаленных цитогенетических эффектов у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС. Радиац. биология. Радиоэкология. 2009. Т.49. № 5. С. 563-567.

35. Горбунова В.Н., Баранов В.С. Введение в молекулярную диагностику .генотерапию наследственных заболеваний. Санкт-Петербург."Специальная литература". 1997. 287 с.

36. Домрачева Е.В., Асеева Е.А., Удовиченко А.И., Обухова Т.Н., Ольшанская Ю.В., Захарова А.В., Водинская Л.А. Индуцированные лейкозы, их связь с воздействием радиации. Радиационная биология. Радиоэкология. 2002. Т. 42. № 6. С. 715-719.

37. Домрачева Е.В., Кузнецов С.А., Шкловский-Корди Н.Е., Воробьев А.И. Клетки с многочисленными хромосомными аберрациями, обнаруженные у жителей чернобыльского региона. Гематология и трансфузиология. 1991. Т. 36. № 11. С. 36-37.

38. Дубинин Н.П. Потенциальные изменения в ДНК и мутации. М.: Наука. 1978. 246 с.

39. Дубова Е.А., Буранова Ф.Б., Федорова Т.А., Щеголев А.И., Сухих Г.Т. Морфологическая характеристика терминальных ворсин при плацентарной недостаточности. Бюл.экспер. биол. и медиц. 2013. Т. 155. № 4. Р. 505-509.

40. Дуброва Ю.Е. Радиация и индукция мутаций в половых клетках человека. Радиац. биология. Радиоэкология, 2006. Т. 46. № 5. Р. 537-546.

41. Дурнев А.Д. Анализ и значение мутаций в зародышевых клетках. Медицинская генетика. 2011. Т. 10. № 2 (104). С. 3-11.

42. Дурнев А.Д., Жанатаев А.К., Шредер О.В., Середенина В.С Генотоксические поражения и болезни. Молекулярная медицина. 2013. № 3. С. 3-19.

43. Дурнов Л.А., Байкова В.Н., Маякова С.А. Особенности пероксидного стресса у детей, проживающих на территории длительного низкоинтенсивного радиационного воздействия. Здоровье детей и радиация: актуальные проблемы и решения. Под редакцией Балевой Л.С., Царегородцева А.Д. М. Медиа Сфера. 2001. С. 65-68.

44. Засухина Г.Д., Кузьмина Н.С. Генетический полиморфизм в защите клеток человека от мутагенов. В кн. «Молекулярный полиморфизм человека». 2007. М., изд-во РУДН. Т.2. 583-600.

45. Елисеева И.М., Иофа Э.Л., Стоян Е.Ф., Шевченко В.А. Анализ аберраций хромосом и СХО у детей из радиационно-загрязненных районов Украины. Радиац. биология. Радиоэкология. 1994. Т. 34 Вып.2. С. 163-171.

46. Елисова Т.В. Стабильные и нестабильные аберрации хромосом у человека и других млекопитающих в связи с вопросами биологической дозиметрии. Радиационная биология. Радиоэкология. 2008. Т. 48. № 1. С. 14-27.

47. Ефимова О.А., Пендина А.А., Тихонов А.В. Кузнецова Т.В., Баранов В.С. Метилирование ДНК - основной механизм репрограммирования и регуляции генома человека. Медицинская генетика. 2012. Т. 11. № 4. С. 10-18.

48. Животовский Л.А. Микросателлитная изменчивость в популяциях человека и методы ее изучения. Информационный вестник ВОГиС. 2006. Т. 10. № 1. С. 74-96.

49. Замулаева И.А., Орлова Н.В., Смирнова С.Г., Проскуряков С.Я., Саенко А.С. Корреляция между внутриклеточным содержанием оксида азота и частотой мутантных лимфоцитов после радиационного воздействия в малых дозах. Радиационная биология. Радиоэкология. 2007. Т.47. № 1. С. 86-92.

50. Замулаева И.А., Орлова Н.В., Смирнова С.Г., Селиванова Е.И., Ткаченко Н.П., Саенко А.С. Закономерности соматического мутагенеза у

ликвидаторов аварии на ЧАЭС в отдаленные сроки после радиационного воздействия. Радиация и риск. 2006. Т.15. № 1-2. С. 68-76.

51. Замулаева И.А., Сальникова Л.Е., Иванова Т.И., Орлова Н.В., Смирнова С.Г., Лаптева Н.Ш. и др. Сопряженность TCR-мутаций с полиморфизмом ДНК у женщин, проживающих в загрязненных радионуклидами районах РФ. Радиационная биология. Радиоэкология. 2009. Т.49. № 4. С. 389-396.

52. Замулаева И.А., Смирнова С.Г., Орлова Н.В. и др. Соматический мутагенез по локусу Т-клеточного рецептора у жителей загрязненных радионуклидами территорий в результате аварии на Чернобыльской АЭС // Радиац. биология. Радиоэкология. 2006. Т. 46. № 3. С. 308–315.

53. Землякова В. В., Стрельников В. В., Зборовская И. Б., Балукова О. В., Майорова О. А., Васильев Е. В., Залетаев Д. В., Нва М. В. Сравнительный анализ аномального метилирования CPG-островков, расположенных в промоторных областях генов p16/CDKN2A и p14/ARF, при немелкоклеточном раке легкого и остром лимфобластном лейкозе. Молекулярная биология. Т. 38 № 6. 2004. С. 966-972.

54. Иваненко Г.Ф. Отдаленные биохимико-цитогенетические изменения в плазме и лимфоцитах периферической крови у людей при действии радиации низкой интенсивности в результате аварии на чернобыльской АЭС. Биофизика. 2019. Т. 64. № 6. С. 1124-1133.

55. Иваненко Г.Ф., Бурлакова Е.Б. Влияние ионизирующего излучения с низкой мощностью дозы на состояние тиолдисульфидной системы и липидных антиоксидантов в плазме крови. Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). 2017. Т. 26. № 4. С. 111-123.

56. Иваненко Г.Ф., Сусков И.И., Бурлакова Е.Б. Возможные связи между уровнем глутатиона плазмы и цитогенетическими показателями в лимфоцитах периферической крови у детей при действии малых доз радиации. Известия АН. Серия биологическая. 2004. № 4. С. 410-415.

57. Иванов В.К., Замулаева И.А., Кащеева П.В., Саенко А.С., Орлова Н.В., Смирнова С.Г., Корело А.М., Горский А.И., Максютов М.А., Вайзер В.И. Формирование групп потенциального онкологического риска при профессиональном облучении на основе технологий молекулярной и радиационной эпидемиологии. Радиация и риск. 2009. Т.18. № 2. С. 7-20.

58. Иванов В.К., Карпенко С.В., Кащеев В.В., Чекин С.Ю., Максютов М.А., Туманов К.А., Щукина Н.В., Кочергина Е.В., Зеленская Н.С., Лашкова О.Е. Радиационные риски российских участников ликвидации последствий аварии на чернобыльской аэс за период 1992-2017 гг. Часть I: заболеваемость солидными раками. Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). 2019. Т. 28. № 4. С. 16-30.

59. Иванов В.К., Кащеев В.В., Карпенко С.В., Глебова С.Е., Туманов К.А., Чекин С.Ю., Максютов М.А., Корело А.М., Ловачев С.С., Иванов С.А., Каприн А.Д. Заболеваемость и смертность от лейкозов участников ликвидации последствий аварии на чернобыльской АЭС: оценка радиационных рисков за период наблюдения с 1986 по 2014 г. Радиационная гигиена. 2018. Т. 11. № 4. С. 7-17.

60. Иванов В.К., Чекин С.Ю., Максютов М.А., Кащеев В.В., Карпенко С.В., Туманов К.А., Корело А.М., Кочергина Е.В., Власов О.К., Щукина Н.В., Ловачев С.С. Радиационный риск заболеваемости гипертензиями среди российских участников ликвидации аварии на чернобыльской АЭС. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2017. Т. 62. № 1. С. 32-37.

61. Иванова Т.И., Мкртчян Л.С., Антощина М.М., Фесенко Э.В., Хорохорина В.А., Овсянникова Н.С., Паршин В.С., Сыченкова Н.И., Рагулин Ю.А., Жарикова И.А., Рябченко Н.И., Крикунова Л.И. Цитогенетические показатели у больных и здоровых жительниц загрязненных радионуклидами районов Брянской и Калужской областей. Радиационная биология. Радиоэкология. 2018. Т. 58. № 2. С. 117-125.

62. Карпеева Е.Е., Балева Л.С.. Состояние щитовидной железы у детей, получивших разные поглощенные дозы радиойода на щитовидную железу, в результате аварии на Чернобыльской АЭС. В кн.: Здоровье детей и радиация. Москва. Медиа Сфера. 2001. С. 42-45.

63. Кащеев В.В., Чекин С.Ю., Максютов М.А., Туманов К.А., Корело А.М., Кочергина Е.В., Власов О.К., Щукина Н.В., Иванов В.К. Оценка радиационных рисков и эффекта скрининга рака щитовидной железы среди населения брянской и орловской областей российской федерации. Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). 2015. Т. 24. №1. С. 8-22.

64. Кириллова Е. Н., Лукьянова Т. В., Урядницкая Т. И., Тельнов В. И. Оценка состояния эффекторного и регуляторного звеньев иммунитета у жителей Челябинской области, подвергшихся облучению в связи с проживанием на загрязненной территории вследствие аварии на ПО “Маяк”, и у их потомков. Радиационная биология. Радиоэкология. 2017. Т. 57. № 1. С. 42–52

65. Ковалева В.И., Багацкая Н.В. Цитогенетические эффекты в лимфоцитах периферической крови детей участников ликвидации Чернобыльской аварии под воздействием митомицина С *in vitro* и фолиевой кислоты *in vivo*. Цитология и генетикаю 2013. № 1. Р. 68 -73.

66. Копнин Б.П. Нестабильность генома и онкогенез. Молек. биология. 2007. Т. 41. № 2. С. 369-380.

67. Коренев Н.М., Бориско Г.А., Кашина-Ярмак В.Л. Состояние здоровья детей, рожденных в семьях родителей, облученных вследствие аварии на ЧАЭС. Клінічна педіатрия. 2012. Т.6. № 41. С. 66-70.

68. Костюк С.В., Замулаева И.А., Агапова Р.К., Ермаков А.В., Саенко А.С., Орлова Н.В., Смирнова С.Г., Вейко Н.Н., Спитковский Д.М. Изменение свойств внеклеточной ДНК периферической крови и частоты TCR-мутантных клеток при действии на организм человека ионизирующей радиации. Радиационная биология. Радиоэкология. 2008. Т.48. № 1. С. 5-13.

69. Котеров А.Н., Бирюков А.П. Дети участников ликвидации последствий аварии на чернобыльской атомной электростанции. сообщение 1. Оценка принципиальной возможности зарегистрировать радиационные эффекты. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2012. Т. 57. № 1. С. 58-79.

70. Котеров А.Н. Новые факты об отсутствии индукции нестабильности генома при малых дозах радиации с низкой ЛПЭ и соответствующие выводы о пороге эффекта в сообщении НКДАР-2012. Радиационная биология. Радиоэкология. 2014. Т.54. № 3. С. 309-312.

71. Кудряшов Ю.Б. Радиационная биофизика (ионизирующие излучения) / Под ред. В.К. Мазурика, М.Ф. Ломанова. М.: Физматлит. 2004. 448 с.

72. Кузьмина Н.С. Изучение геномной нестабильности у детей, проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями. Дис. канд. мед. наук. Москва: Институт Общей Генетики им. Н.И. Вавилова РАН. 2003. 138 с.

73. Кузьмина Н.С., Васильева И.М., Синельщикова Т.А., Семячкина А.Н., Шевченко В.А., Засухина Г.Д. Полиморфизм генов глютатион-s-трансфераз и нарушения репарации ДНК. Радиобиология. Радиоэкология. 2006. Т.46. № 4. С. 424-428.

74. Кузьмина Н.С., Шипаева Е.В., Семячкина А.Н., Васильева И.М., Коваленко Л.П., Дурнев А.Д., Засухина Т.Д. Полиморфизм генов детоксикации и устойчивость клеток к воздействию мутагенов у пациентов с синдромом Элерса-Данлоса. Бюлл. экспер. биол. и мед. 2007. № 11. С. 560-564.

75. Кузьмина Н.С., Ушенкова Л.И., Шагирова Ж.М., Шайхаев Г.О., Михайлов В.Ф., Курбатова Л.А., Мазурик В.К., Рубанович А.В., Засухина Г.Д. Генный полиморфизм у пациентов с синдромом Дауна. Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсокова, 2009. Т.109. № 4. С. 50-54.

76. Кузьмина Н.С., Мязин А.Е., Лаптева Н.Ш., Рубанович А.В. Изучение аберрантного метилирования в лейкоцитах крови ликвидаторов аварии на ЧАЭС. Радиационная биология. Радиоэкология. 2014. Т.54. № 2. С. 127-139.

77. Кузьмина Н.С., Лаптева Н.Ш., Русинова Г.Г., Азизова Т.В., Вязовская Н.С., Рубанович А.В. Гиперметилирование промоторов генов в лейкоцитах крови человека в отдаленный период после перенесенного радиационного воздействия. Радиационная биология. Радиоэкология. 2017. Т.57. № 4. С. 341 – 356.

78. Кузьмина Н.С., Лаптева Н.Ш., Русинова Г.Г., Азизова Т.В., Вязовская Н.С., Рубанович А.В. Дозовая зависимость гиперметилирования промоторов генов в лейкоцитах крови лиц, подвергшихся сочетанному воздействию гамма- и альфа-излучений. Генетика. 2018. Т. 54. Приложение. С. S22-S26.

79. Кузьмина Н. С.. Радиационно-индуцированные нарушения метилирования ДНК: исследования in vitro и in vivo. Радиационная биология. Радиоэкология. 2020. Т.60. № 5. С. 481-506.

80. Кузьмина Н.С., Сусков И.И., Шевченко В.А.. Феномен геномной нестабильности в организме детей, подвергающихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах. Материалы 6-ой Междунар. конф. «Экология человека и природа». Москва-Плес. 5-11 июля 2004. С. 112 – 117.

81. Кузьмина Н.С., Сусков И.И., Шевченко В.А.. Дисгеномные эффекты в организме детей, подвергающихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах. Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии. Под ред. Н.Н. Ильинских. Томск. Сибирский госуд. мед. университет. 2004. С. 9-14.

82. Лаврик И. Н.. Регуляция апоптоза, индуцируемого через CD95/FAS и другие «рецепторы смерти». Молекулярная биология. 2011. Т. 45. № 1. С. 173–179.

83. Лебедев И.Н. Эпигенетические аспекты нарушений эмбрионального развития человека. Экологическая генетика. 2011. Т.9. № 3. С. 15-19.

84. Ли Д.Е. Действие радиации на живые клетки. М.: Атомиздат, 1963.

85. Литтл Д.Б. Немишенные эффекты ионизирующих излучений: выводы применительно к низкодозовым воздействиям. Радиац. биология. Радиоэкология. 2007. Т. 47. № 3. С. 262-272.

86. Лория С.С., Румянцев А.Г., Черныш С.А. К вопросу о состоянии здоровья детей, подвергшихся внешнему и внутреннему облучению внутриутробно и в первые два года жизни. Здоровье детей и радиация: актуальные проблемы и решения. Под ред. Балевой Л.С., Царегородцева А.Д. М. Медиа Сфера. 2001. С. 100-103.

87. Любимова Н.Е., Воробцова И.Е. Влияние возраста и низкодозового облучения на частоту хромосомных аберраций в лимфоцитах человека. Радиационная биология. Радиоэкология. 2008. Т. 48. № 2. С. 153-159.

88. Мазник Н.А, Винников В.А. Зависимость «время–эффект» для уровня нестабильных хромосомных обменов у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС. Цитология и генетика. 2004. Т. 38. № 4. С. 14-22.

89. Мазник Н.А. Результаты динамического цитогенетического обследования и биологической дозиметрии у лиц, эвакуированных из 30-километровой зоны ЧАЭС. Радиационная биология. Радиоэкология. 2004. Т. 44. № 5. С. 566-573

90. Мазник Н.А., Винников В.А. Уровень аберраций хромосом в лимфоцитах периферической крови у эвакуантов из 30-км зоны ЧАЭС, у жителей радиоактивно-загрязненных территорий в отдаленные сроки после Чернобыльской аварии. Радиационная биология. Радиоэкология. 2002. Т. 42. № 6. С. 704-710

91. Малюкова А.В., Логинов В.И., Ходырев Д.С., Кадырова Е. Л., Пронина И. В., Иванова Т.А., Киселев Ф. Л., Забаровский Е. Р., Киселева Н. П., Брага Э. А. Метилирование предполагаемого гена-супрессора RASSF1 в

опухолях шейки матки. Молекулярная биология. 2004. Т.38. № 6. С. 1005-1013.

92. Медик В.А., Токмачев М.С., Фишман Б.Б. Статистика в медицине и биологии. М. Медицина. 2000.

93. Методические указания МУ 2.6.1.2003-05. Оценка средних годовых эффективных доз облучения критических групп жителей населенных пунктов российской федерации, подвергшихся радиоактивному загрязнению вследствие аварии на чернобыльской АЭС. Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской ФедерацииМосква. 2005. 20 с.

94. Михайлова Г.Ф., Потетня О.И., Цепенко В.В., Поздышкина О.В., Пятенко В.С., Севанькаев А.В. Результаты двукратного цитогенетического обследования внутриутробно облучившихся детей, проживающих на радиоактивно-загрязненных территориях Брянской области. Материалы международной научной конференции «Экология человека и природы». Москва-Плёс. 5-11 июля 2004 г. Москва. 2004. С.217-218.

95. Михайлова Г.Ф. Сравнительный анализ нестабильных и стабильных хромосомных аберраций в группах лиц, облучившихся внутриутробно во время аварии на ЧАЭС в различные периоды пренатального развития. Радиация и Риск. Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра. 2006. Т.15. № 3-4. С.157-163.

96. Михайлова Г.Ф. Анализ результатов цитогенетических исследований населения, проживающего на радиоактивно-загрязненных территориях после Чернобыльской аварии. Автореф. дис. докт. биол. наук. Обнинск: Медицинский радиологический научный центр» РАМН. 2007. 32 с.

97. Моисеев А.А., В.И. Иванов. Справочник по дозиметрии и радиационной гигиене. М. Энергоатомиздат. 1984. 291 с.

98. Морозик П.М., Моссэ И.Б., Мельнов С.Б. Морозик М.С., Сеймур К.Б., Мазерсилл К.Е. Генетические эффекты "байстэндер" факторов из

сыворотки крови людей, облученных в результате аварии на ЧАЭС. Радиац. биология. Радиоэкология. 2011. Том 51. № 1. С. 76-80.

99. Назаренко С.А., Попова Н.А., Назаренко Л.П., Пузырев В.П. Ядерное химическое производство и генетическое здоровье. Томск. Печатная мануфактура. 2004. 272 с.

100. Нейфах Е.А. Большие радиопатогенные нагрузки детей от "малых доз" техногенной хронической радиации. Радиационная биология. Радиоэкология. 2003. Т. 43. № 2. С. 193-196.

101. Никитина Т.В., Назаренко С.А. Микросателлитные последовательности ДНК человека: мутационный процесс и эволюция. Генетика. 2004. V. 40. № 10. P. 1301-1318.

102. Новик А.А., Камилова Т.А., Цыган В.Н. Генетика в клинической медицине. Санкт-Петербург. ВМА, 2001, 219 с.

103. Нугис В.Ю., Дудочкина Н.Е. Закономерности элиминации аберраций хромосом у людей после острого облучения по данным культивирования лимфоцитов периферической крови в отдаленные сроки. Радиационная биология. Радиоэкология. 2006. Т. 46. № 1. С. 5-15.

104. Нугис В.Ю., Козлова М.Г.. Проблема связи частоты аберраций хромосом в лимфоцитах периферической крови с риском развития заболеваний, в том числе после действия радиации. Радиационная биология. Радиоэкология. 2017. Т. 57. № 1. С. 18–29.

105. Орадовская И.В. 30 лет трагедии в чернобыле. клинические и иммунологические эффекты у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС. Основные итоги многолетнего мониторинга. Радиационная биология. Радиоэкология. 2016. Т. 56. № 3. С. 251-273.

106. Орлова Н.В., Смирнова С.Г., Ткаенко Н.П., Каплан М.А., Замулаева И.А. Радиационно-индуцированная нестабильность генома у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АС в отдаленные сроки после воздействия. Материалы российской конференции с международным

участием «Современные вопросы радиационной генетики». Дубна, 27-28 июня 2019. Дубна: ОИЯИ. С. 85-88.

107. Паткин Е.Л., Квинн Д. Эпигенетические механизмы предрасположенности к комплексным патологиям человека. Экологическая генетика. Т. VIII. № 4. 2010. С. 44-56.

108. Пелевина И.И., Алещенко А.В., Антощина М.М., Бирюков В.А., Рева Е.В., Минаева Н.Г. Изменение радиочувствительности после облучения в малых дозах, возможные механизмы и закономерности. Радиац. биология. Радиоэкология. 2015. Т. 55. № 1. С. 57-62.

109. Пелевина И.И., Алещенко А.В., Антощина М.М., Готлиб В.Я., Кудрящова О.В., Семенова Л.П., Серебряный А.М. Реакция популяции клеток на облучение в малых дозах. Радиац. биология. Радиоэкология. 2003. Т. 43. № 2. С. 161-166.

110. Пелевина И.И., Афанасьев Г.Г., Алещенко А.В., Антощина М.М., Готлиб В.Я., Конрадов А.А., Кудряшова О.В., Лизунова Е.Ю., Осипов А.Н., Рябченко Н.И., Серебряный А.М. Молекулярные и клеточные последствия аварии на ЧАЭС. Радиационная биология. Радиоэкология. 2011. Т. 51. № 1. С. 154-161.

111. Пелевина И.И., Афанасьев Г.Г., Алещенко А.В., Готлиб В.Я., Курнешова Л.Е., Носкин В.А., Носкин Л.А., Семенова Л.П., Серебряный А.М. Радиоиндуцированный адаптивный ответ у детей и влияние на него внешних и внутренних факторов. Радиац. биология. Радиоэкология. 1999. Т.39. № 1. С.106-112.

112. Пелевина И.И., Петушкова В.В., Бирюков В.А. Аклеев А.В., Нейфах Е.А., Минаева Н.Г., Ктиторова О.В., Алещенко А.В., Плешакова Р.И. Роль «немишенных эффектов» в реакции клеток человека на радиационное воздействие. Радиационная биология. Радиоэкология. 2019. Т. 59. № 3. С. 261–273.

113. Пилинская М.А., Дыбский С.С. Частота хромосомных аберраций в лимфоцитах периферической крови детей, проживающих в районах с

различной радиоэкологической обстановкой. Цитология и генетика. 1992. Т. 26. № 2. С.11-17.

114. Пилинская М.А., Дыбский С.С. Частота хромосомных обменов в критических группах жертв Чернобыльской аварии по данным традиционного цитогенетического анализа и метода FISH. Межд. Журн. Радиац. Мед. 2000. № 5. Р. 83-95.

115. Пилинская М.А., Дыбский С.С., Знаевская И.А., Дыбская Е.Б. Динамика протекания мутационного процесса в лимфоцитах периферической крови человека в условиях постоянного воздействия малых уровней ионизирующей радиации. Цитология и генетика. 1995. Т.29. № 3. С. 56-61.

116. Пилинская М.А., Шеметун А.М., Дыбский С.С., Дыбская Е.Б., Педан Л.Р., Шеметун Е.В. Результаты 14-летнего цитогенетического мониторинга контингентов приоритетного наблюдения, пострадавших от действия факторов аварии на Чернобыльской АЭС. Вестн. РАМН. 2001. № 10. С. 80-84.

117. Пилинская М.А., Дыбский С.С., Шеметун Е.В., Дыбская Е.Б. Соматический хромосомный мутагенез у жителей украины, пострадавших от действия ионизирующего излучения, в разные сроки после аварии на чернобыльской АЭС. Вестник Российской АМН. 2011. № 9. С. 63-68.

118. Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Применение проточной цитометрии для оценки функциональной активности иммунной системы человека: Пособие для врачей – лаборантов. М. 2001. 53 с.

119. Прошина Е.В., Сускова В.С., Виноградова Т.В. Клинико-иммунологические особенности у детей из семей участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС. Здоровье детей и радиация: актуальные проблемы и решения. Под ред. Балевой Л.С., Царегородцева А.Д.: М.: Медиа Сфера. 2001. С. 158-161.

120. Пяткин Е.К., Нугис В.Ю. Использование методики дифференциального окрашивания сестринских хроматид для изучения пролиферативной активности лимфоцитов периферической крови человека в

культуре в норме и после γ- облучения in vitro. Радиобиология. 1980. Т. XX. Вып. 6. С. 871-876.

121. Русинова Г.Г., Глазкова И.В., Азизова Т.В., Осовец С.В., Вязовская Н.С. Изучение нестабильности генома потомков в семьях работников ПО “Маяк”:минисателлит CEB1. Генетика. 2014. Т. 50. № 11. С. 1354–1362.

122. Русинова Г.Г., Глазкова И.В., Гурианов М.Я., Азизова Т.В. Банк ДНК работников ПО «Маяк» и их семей // Медицина экстремальных ситуаций. 2010. № 1. Р. 93-99.

123. Саенко А.С., Замулаева И.А., Смирнова С.Г., Орлова Н.В., Селиванова Е.И., Верещагина А.О. Частота соматических клеток с генными мутациями у лиц, проживающих в загрязненных радионуклидами районах Брянской области. Радиация и риск. 2003. № S1. С. 75-86.

124. Сальникова Л.Е., Фомин Д.К., Елисова Т.В., Акаева Э.А., Кузьмина Н.С., Лаптева Н.Ш., Нилова И.Н., Иофа Э.Л., Костина Л.Н., Кузнецова Г.И., Куликова Т.А., Панушкина О.Г., Рубанович А.В. Изучение связи цитогенетических и эпидемиологических показателей с генотипами у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС. Радиационная биология. Радиоэкология. 2008. Т.48. № 3. С. 303-312.

125. Севанькаев А.В., Жлоба А.А., Потетня О.И., Анкина М.А., Голуб Е.В., Епифанова Н.В., Завитаева Т.А., Козлов В.М., Михайлова Г.Ф., Моисеенко В.В., Поздышкина О.В., Пятенко В.С. Результаты цитогенетического обследования детей и подростков, проживающих в загрязненных радионуклидами районах Брянской области. Радиац. биология. Радиоэкология. 1995. Т. 35. Вып.5. С. 607-611.

126. Севанькаев А.В., Михайлова Г.Ф., Потетня О.И., Цепенко В.В., Хвостунов И.К., Голуб Е.В., Пятенко В.С., Поздышкина О.В., Шепель Н.Н., Матвеенко Е.Г., Боровикова М.П., Омарасхабов Н.О. Результаты динамического цитогенетического наблюдения за детьми и подростками, проживающими на радиоактивно-загрязненных территориях после

Чернобыльской аварии. Радиационная биология. Радиоэкология. 2005. Т. 45. № 1. С. 5-15.

127. Севанькаев А.В. , Михайлова Г.Ф. , Хвостунов И.К. , Потетня О.И., Цепенко В.В., Пятенко В.С., Омарасхабов Н.О. Изучение структурных мутаций в соматических клетках детей, проживающих на радиоактивно-загрязненных территориях Калужской области и подвергшихся внутриутробному облучению в результате Чернбыльской аварии. Актуальные проблемы дозиметрии. Конференция «20 лет Чернобыля» 20-21 окт, 2005. Минск, 2005. С. 48-51.

128. Севанькаев А.В., Паршин В.С., Михайлова Г.Ф., Хвостунов И.К., Цепенко В.В., Потетня О.И., Голуб Е.В., Пятенко В.С., Поздышкина О.В., Омарасхабов Н.О. Сравнительный анализ цитогенетических показателей с морфо-функциональным состоянием щитовидной железы у детей и подростков, проживающих с момента аварии на Чернобыльской АЭС на загрязненных радионуклидами территориях Орловской и Калужской областей. Радиация и риск. 2006. Т. 15. № 1-2. С. 134-145

129. Севанькаев А.В., Потетня О.И., Жлоба А.А., Моисеенко В.В., Потетня В.И., Анкина М.А., Голуб Е.В., Епифанова Н.И., Завитаева Т.А., Козлов В.М., Михайлова Г.Ф., Поздышкина О.В., Пятенко В.С. Результаты цитогенетического обследования детей и подростков, проживающих в загрязненных радионуклидами районах Калужской области. Радиа Радиоэкология. 1995. Т. 35. Вып.5. С. 581-588.

130. Семячкина А.Н., Новиков П.В., Воинова В.Ю., Курбатов М.Б., Синельщикова Т.А., Кузьмина Н.С., Засухина Г.Д. Синдром Протея у детей: диагностика, лечение и профилактика. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2007. №.1. 45-49.

131. Сергеева К.М. Педиатрия: Учебник. – СПб: Питер, 2007. 544 с.

132. Сипягина А.Е., Балева Л.С., Карахан Н.М., Шарыгин В.Л. Формирование болезней системы кровообращения у детей, подвергшихся действию радиационного фактора. В сборнике: Экологическая,

промышленная и энергетическая безопасность - 2018. Сборник статей по материалам международной научно-практической конференции. под ред. Л. И. Лукиной, Н. А. Бежина, Н. В. Ляминой. 2018. С. 1085-1088.

133. Сипягина А.Е., Балева Л.С., Карахан Н.М., Яблонская М.И., Шарыгин В.Л. Характеристика и роль изменения нуклеотидов в I-II поколениях детей, проживающих в загрязненных радионуклидами регионах. В сборнике: Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность - 2017. Сборник статей по материалам научно-практической конференции с международным участием. Под редакцией Ю.А. Омельчук, Н.В. Ляминой, Г.В. Кучерик. 2017. С. 1229-1233.

134. Сипягина А.Е., Балева Л.С., Малышев В.С., Карахан Н.М., Егорова Н.И. Изменение течения хронических обструктивных бронхолегочных заболеваний у детей как проявление тканевых реакций радиационного воздействия. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2019. Т. 64. № 4.С. 322-323.

135. Сипягина А.Е., Балева Л.С., Юров И.Ю., Сухоруков В.С., Карахан Н.М. Варианты фетального радиационного синдрома у детей, рожденных от облученных родителей. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2018. Т. 63. № 4. С. 283-284.

136. Смирнихина С. А., Воронина Е. С., Стрельников В. В., Танас А. С., Лавров А. В. Влияние мутагенов с разными механизмами действия на глобальное метилирование днк в лимфоцитах периферической крови человека *in vitro*. Генетика. Т. 49. № 7. 2013. С. 877.

137. Смирнова С.Г., Замулаева И.А., Орлова Н.В., Саенко А.С., Севанькаев А.В., Гастева Г.Н., Нугис В.Ю., Молоканов А.А. Сравнительное исследование структурных и генных соматических мутаций у работников ядерно-химических предприятий. II. Частота лимфоцитов, мутантных по генам Т-клеточного рецептора. Радиационная биология. Радиоэкология. 2005. Т.45. № 2. С. 162-167.

138. Смирнова С. Г,. Орлова Н. В *, Л. И. Крикунова, Л. С. Мкртчян, И. А. Замулаева. Частота лимфоцитов с мутациями по локусу Т-клеточного рецептора у жителей радиационно загрязненных районов Брянской областиспустя 28 лет после аварии на Чернобыльской АЭС. Радиац. биология. Радиоэкология. 2016. Т. 56. № 3. С. 285–292.

139. Смирнова С.Г., Орлова Н.В., Замулаева И.А., Ткаченко Н.П., Лазебной Н.И., Каплан М.А., Туманов К.А., Кащеев В.В., Иванов В.К., Саенко А.С. Мониторинг частоты лимфоцитов, мутантных по генам Т-клеточного рецептора, у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС в отдаленный пострадиационный период. Радиация и риск. 2012. Т.21. № 1. С. 20-29.

140. Снигирёва Г.П., Новицкая Н.Н., Попова Г.М. Значение цитогенетического обследования для прогноза отдаленных последствий облучения. Радиационная биология. Радиоэкология. 2011. Т. 51. № 1. С. 162-167.

141. Соснина С.Ф., Сокольников М.Э. Наследуемые эффекты у потомков, связанные с вредным воздействием на родителей (Обзор литературы). Радиационная гигиена. 2019. Т.12. № 3. С. 84-95.

142. Справочник по радиационной обстановке и дозам облучения в 1991 г. вследствие аварии на Чернобыльской АЭС. Под ред. Балонова М.И. Институт радиационной гигиены ГКСЭН РФ. СПб. Ариадна-Аркадия. 1993. С. 4-7.

143. Степанова Е. И., Мишарина З. А., Вдовенко В. Ю. Отдаленные генетические последствия у детей облученныех в ходе эмбрионального развития в результате Чернобыльской катастрофы. Радиац. биология. Радиоэкология. 2002. Т. 42. № 6. С. 705–709.

144. Степанова Е. И., Скварская Е. А., Вдовенко В. Ю., Кондрашова В. Г. Генетические последствия Чернобыльской катастрофы у детей, рожденных от облученных родителей. Сб. «Проблемы экологической и

медицинской генетики и клинической иммунологии». 2004. Вып. 7. № 60. С. 312–320.

145. Степанова Е., Кондрашова В., Вдовенко В. Результаты 14 лет наблюдений детей, облученных в пренатальный период после Чернобыльской катастрофы. Междун. журн. радиац. медицины. 2002. V. 4. № 1–4. P. 250–259.

146. Степанова Е.И., Ванюрихина Е.А., Кондрашова В.Г., Щеплягина Л.А. Клиническая и цитогенетическая характеристика детей, родившихся от отцов- участников ликвидации Чернобыльской аварии, перенесших острую лучевую болезнь. Педиатрия. 1996. № 1. С. 63-64.

147. Степанова Е.И., Ванюрихина Е.А.. Клиническая и цитогенетическая характеристика детей, рожденных от лиц, перенесших острую лучевую болезнь 1 и 2 степени в результате аварии на Чернобыльской АЭС. Цитология и генетика. 1993. Т.27. № 4. С.10-13.

148. Степанова Е.И., Вдовенко В.Ю., Мишарина Ж.А. Постнатальные эффекты у детей, облученных в период внутриутробного развития, в результате аварии на Чернобыльской АЭС. Радиационная биология. Радиоэкология. 2007. Т. 47. № 5. С. 523-529.

149. Сусков И.И., Акаева Э.А.., Дубровина Т.Б., Елисова Т.В., Иофа Э.Л., Кузнецова Г.И., Малинина Т.В., Нилова И.Н., Новицкая Н.Н., Семов А.Б., Снигирева Г.П., Шевченко В.А. Генетические последствия ядерных взрывов на Семипалатинском полигоне в локальных популяциях жителей Алтайского края. Тез. докл. Междунар. конф. Проблемы радиационной генетики на рубеже веков. М. РУДН. 2000. С. 337.

150. Сусков И.И., Дубровина Т.Б., Сафонова Н.В., Шевченко В.А. Семейный анализ аберрантных хромосом у сельских жителей Алтайского края после ядерных взрывов на семипалатинском полигоне. Тез. докл. Третий съезд по радиационным исследованиям. Т.II. Пущино. 1997. С. 84-85.

151. Сусков И.И., Кузьмина Н.С., Балева Л.С., Сипягина А.Е. Проблема индуцированной геномной нестабильности как основы повышенной

заболеваемости у детей, подвергающихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах. Радиобиология. Радиоэкология. 2006.Т.46. № 2. С. 167-177.

152. Сусков И.И., Агаджанян А.В., Кузьмина Н.С., Елисова Т.В., Иофа Э.Л., Нилова И.Н., Акаева Э.А., Кузнецова Г.И., Рубанович А.В., Цховребова Л.В., Балева Л.С., Сипягина А.Е. Проблема трансгенерационного феномена геномной нестабильности у больных детей разных возрастных групп после аварии на ЧАЭС. Радиобиология. Радиоэкология. 2006. Т.46. № 4. С.466-474.

153. Сусков И.И., Кузьмина Н.С., Сускова В.С., Агаджанян А.В., Рубанович А.В. Индивидуальные особенности трансгенерационной геномной нестабильности у детей ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС (цитогенетические и иммуногенетические показатели). Радиац. биол. Радиоэкол. 2008. Т. 48. № 2. С. 278-286

154. Тарасенко Л.В., Бездробная Л.К., Бухал А.В., Цыганюк Т.В., Романова Е.П., Тришин В.В. Цитогенетические эффекты в лимфоцитах периферической крови жителей г. Славутич, не имеющих профессионального контакта с ионизирующим излучением. Радиац. биология. Радиоэкология. 2004. Т. 44. № 6. С. 632-636.

155. Тимофеев-Ресовский Н.В., Иванов В.И., Корогодин В.И. Применение принципа попадания в радиобиологии. М.:Атомиздат, 1968. С. 3-228.

156. Толмачева Е.Н., Кашеварова А.А., Суханова Н.Н., Саженова Е.А., Лебедев И.Н. Эпигенетическая инактивация гена RB1 как фактор нестабильности генома: возможный вклад в этиологию хромосомного мозаицизма в эмбриональном периоде развития человека. Генетика. 2008. Т. 44. № 11. С. 1461-1467.

157. Урбах В.Ю. Биометрические методы. М. Наука. 1964. 415 с.

158. Учакин П.Н., Учакина О.Н., Тобин Б.В., Ершов Ф.И. Нейроэндокринная регуляция иммунитета. Вестн. Российской АМН. 2007. № 9. С. 26–32.

159. Федорова М.В. Пути воздействия радиоактивных веществ на плод. Здоровье детей и радиация: актуальные проблемы и решения. Под ред. Балевой Л.С., Царегородцева А.Д. М. Медиа Сфера. 2001. С. 18-20.

160. Хандогина Е.К., Агейкин В.А., Зверева С.В., Марченко Л.Ф., Мутовин Г.Р., Снигирева Г.П., Ленская Р.В., Буянкин В.М., Шахтарин В.В., Акифьев А.П. Цитогенетическое обследование различных групп детей, проживающих в районах Брянской области, загрязненных в результате Чернобыльской аварии. Радиац. биология. Радиоэкология. 1995. Т.35. Вып. 5. С.618-625.

161. Чекин С.Ю., Кащеев В.В., Карпенко С.В., Ловачёв С.С., Щукина Н.В., Иванов В.К. Группы риска по классу болезней "Психические расстройства и расстройства поведения" среди участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС, проживающих в калужской области. Радиация и риск. Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра. 2017. Т. 26. № 1. С. 23-34.

162. Чумаков П.М. Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме. Успехи биологической химии. 2007. Т. 47. С. 3-52.

163. Шагирова Ж.М., Ушенкова Л.И., Михайлов В.Ф., Курбатова Л.А., Кузьмина Н.С., Семячкина А.Н., Васильева И.М., Мазурик В.К., Засухина Г.Д. Особенности полиморфизма генов детоксикации, метилентетрагидрофолат – редуктазы (MTHFR) и P53 в радиочувствительных клетках человека. Радиац. биол. Радиоэкол. 2010. Т. 50. № 2. С. 128-133.

164. Шайхаев Г.О., Кузьмина Н.С., Мязин А.Е., Панушкина О.Г., Рубанович А.В., Хаймович Т.И., Снигирева Г.П. Изучение частоты мутаций в мини- и микросателлитных локусах ДНК в клетках членов семей работников атомной промышленности, работавших с тритием и его окисью. Радиац. биол. Радиоэкол. 2008. Т. 48. № 6. С. 690-697.

165. Шевченко В. А., Снигирева Г.П., Сусков И.И., Акаева Э.А., Елисова Т.Н., Иофа Э.Л., Нилова И.Н., Костина Л.Н., Новицкая Н.Н., Сидорова В.Ф., Хазинс Б.Д. Цитогенетические эффекты у населения Алтайского края, подвергшегося воздействию ионизирующих излучений в результате ядерных взрывов на Семипалатинском полигоне. Радиац. биология. Радиоэкология. 1995. Т. 35. Вып. 5. С. 588-596.

166. Шевченко В.А., Сусков И.И., Снигирева Г.П., Елисова Т.Н., Семов А.Б. Генетический статус населения, подвергшегося воздействию ядерных испытаний. Вестник научной программы «Семипалатинский полигон-Алтай». 1994. №3. С.5-32.

167. Шевченко В.А., Семов А.Б., Акаева Э.А. Цитогенетические эффекты у лиц, пострадавших в результате аварии на Чернобыльской АЭС. Радиац. биология. Радиоэкология. 1995. Т. 35. № 5. С. 646.

168. Шевченко В.А., Снигирева Г.П. Значимость цитогенетического обследования для оценки последствий чернобыльской катастрофы. Радиационная биология. Радиоэкология. 2006. Т. 46. № 2. С. 133-139.

169. Щербаков В.И. Апоптоз в трофобласте и его роль при патологии беременности. Успехи современной биологии. 2011. Т. 131. № 2. С. 145-158.

170. Abaneze V., Biguet N.F., Kiefer H. Bayard E., Mallet J., Meloni R. Quantitative effects on gene silencing by allelic variation at a tetra-nucleotide microsatellite. Hum. Mol. Genet. 2001. V. 10. № 17. P. 1785-1792.

171. Abramson J.H. WINPEPI updated: computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. Epidemiol. Perspect. Innov. V. 8. № 1. P. 1.

172. Adewoye A.B., Lindsay S.J., Dubrova Y.E., Hurles M.E. The genome-wide effects of ionising radiation on mutation induction in the mammalian germline. Nat. Commun. 2015. V.6. P. 6684.

173. Aghajanyan A., Suskov I. Transgenerational genomic instability in children of irradiated parents as a result of the Chernobyl Nuclear Accident. Mutat Res. 2009. V. 671. № 1-2. P. 52-57.

174. Aghajanyan Anna, Kuzmina Nina, Sipyagina Alla, Baleva Larisa, Suskov Igor. Analysis of the genomic instability in offspring of fathers exposed to low doses of ionizing radiation. Environmental and Molecular Mutagenesis. Vol. 52. Issue 7. 2011. P. 538-546.

175. Akleyev A.A., Blinova E.A., Dolgushin I.I. Immunological status of chronically exposed persons with increased level of TCR mutations. Radiat Environ Biophys. 2019. V.58. № 1. P. 81-88.

176. Alexanin S.S., Slozina N.M., Neronova E.G., Makarova N.V. Chromosomal aberrations and sickness rates in Chernobyl clean-up workers in the years following the accident. Health Phys. 2010. V. 98. № 2. P. 258-260.

177. Ali H.E.A., Barber R.C., Dubrova Y.E. The effects of maternal irradiation during adulthood on mutation induction and transgenerational instability in mice. Mutat. Res. 2012. V. 732. P. 21–25.

178. Al-Moundhri M. S., Al-Nabhani M., Tarantini L., Baccarelli A., Rusiecki J.A. The Prognostic Significance of Whole Blood Global and Specific DNA Methylation Levels in Gastric Adenocarcinoma. PLoS One. 2010. V. 5. № 12. e. 15585.

179. An J.Y., Lin K., Zhu L., Werling D.M., Dong S., Brand H., Wang H.Z., Zhao X., Schwartz G.B., Collins R.L., et al. Genome-wide de novo risk score implicates promoter variation in autism spectrum disorder. Science. 2018;V. 362. № 6420. eaat6576.

180. Anmarkrud J. A., Kleven O., Augustin J., Bentz K. H., Blomqvist D., Fernie K. J., Magrath M. J., Pärn H., Quinn J. S., Robertson R. J., Szép T., Tarof S., Wagner R. H., Lifjeld J. T. Factors Affecting Germline Mutations in a Hypervariable Microsatellite: A Comparative Analysis of Six Species of Swallows (Aves: Hirundinidae). Mutat Res. 2011. V. 708. № 1-2. P. 37-43.

181. Antwih D.A., Gabbara K.M., Lancaster W.D., Ruden D.M., Zielske S.P. Radiation-induced epigenetic DNA methylation modification of radiation-response pathways. Epigenetics. 2013. V.8. № 8. P. 839–848.

182. Aporntewan C., Phokaew C., Piriyapongsa J., Ngamphiw C., Ittiwut C., Tongsima S., Mutirangura A. Hypomethylation of Intragenic LINE-1 Represses Transcription in Cancer Cells through AGO2. PLoS ONE. 2011. V. 6. № 3. e 17934.

183. Armitage P., Doll R. The age distribution of cancer and a multi-stage theory of carcinogenesis. Br. J. Cancer. 1954. № 8. P. 1–12.

184. Armstrong C.A, Jones G.D, Anderson R., Iyer P., Narayanan D., Sandhu J., Singh R., Talbot C.J., Tufarelli C. DNMTs are required for delayed genome instability caused by radiation. Epigenetics. 2012. V. 7. № 8. P. 892–902.

185. Arstila T.P., Casrouge A., Baron V., Even J., Kanellopoulos J., Kourilsky P. A direct estimate of the human alphabeta T cell receptor diversity. Science. 1999. V. 286. № 5441. P. 958-961.

186. Aseeva E.A., Neverova A.L., Domracheva E.V. Snigireva G.P., Novitskaia N.N., Khazins E.D., The multiabberant cells in groups of people exposed to radiation due to different situations and their possible biological part. Biophysics. 2010. V. 55. № 3. P. 496-503.

187. Aseeva E.A., Snigiryova G.P., Neverova A.L., Bogomazova A.N., Novitskaya N.N., Khazins E.D., Domracheva E.V. New type of cells with multiple chromosome rearrangements. Appl Radiat Isot. 2010. V. 68. P. 4-5. P. 844-7.

188. Averbeck D, Salomaa S, Bouffler S, Ottolenghi A, Smyth V, Sabatier L. Progress in Low Dose Health Risk Research: Novel Effects and New Concepts in Low Dose Radiobiology. Mutat Res. 2018. V. 776. P. 46-69.

189. Aypar U., Morgan W.F., Baulch J.E. Radiation-induced epigenetic alterations after low and high LET irradiations. Mutat. Res. 2011. V. 707. № 1-2. P. 24-33.

190. Aypar U., Morgan W.F., Baulch J.E. Radiation-induced genomic instability: are epigenetic mechanisms the missing link? Int. J. Radiat. Biol. 2011. V. 87. № 2. P. 179-91.

191. Babushkina N.P., Kucher A.N. Functional role of VNTR polymorphism of human genes. Russian Journal of Genetics. 2011. V. 47. № 6. C. 637-645.

192. Baleva L.S., Sukhorukov Vs., Marshall T., Sipyagina Ae., Abe H., Voronkova As., Karakhan Nm., Barach P., Sadykov Ar., Egorova Ni., Suchkov Sv. Higher risk for carcinogenesis for residents populating the isotope-contaminated territories as assessed by nanostring gene expression profiling. Journal of Translational Science. 2017. T. 3. № 3. C. 1-6.

193. Barber R., Plumb M.A., Boulton E., Roux I., Dubrova Y.E. Elevated Mutation Rates in the Germ Line of First- And Second-Generation Offspring of Irradiated Male Mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002. V.99. № 10. P. 6877-82.

194. Barber R., Plumb M.A., Smith A.G., Cesar C.E., Boulton E., Jeffreys A.J., Dubrova Y.E. No correlation between germline mutation at repeat DNA and meiotic crossover in male mice exposed to X-rays or cisplatin. Mutat. Res. 2000. V. 457. P. 79–91.

195. Barber R.C., Hardwick R.J., Shanks M.E., Glen C.D., Mughal S.K., Voutounou M., Dubrova Y.E. The effects of in utero irradiation on mutation induction and transgenerational instability in mice. Mutat. Res. 2009. V. 664. P. 6–12.

196. Barber R.C., Hickenbotham P., Hatch T., Kelly D., Topchiy N., Almeida G.M., Jones G.D., Johnson G.E., Parry J.M., Rothkamm K., Dubrova Y.E. Radiation-induced Transgenerational Alterations in Genome Stability and DNA Damage**.** Oncogene. 2006. V. 25. № 56. P. 7336-42.

197. Barber R.C., Miccoli L., van Buul P.P.W., Burr K.L.-A., van Duyn-Goedhart A., Angulo J.F., Dubrova Y.E. Germline mutation rates at tandem repeat loci in DNA-repair deficient mice. Mutat. Res. 2004. V. 554. P. 287–295.

198. Barquinero JF, Barrios L, Caballín MR, Miró R, Ribas M, Egozcue J. Biological dosimetry in simulated in vitro partial irradiations. Int J Radiat Biol. 1997. V.71. № 4. P. 435-440.

199. Bazyka D., Finch S.C., Ilienko I.M., Lyaskivska O., Dyagil I., Trotsiuk N., Gudzenko N., Chumak V.V., Walsh K.M., Wiemels J., Little M.P., Zablotska L.B. Buccal mucosa micronuclei counts in relation to exposure to low dose-rate

radiation from the Chernobyl nuclear accident and other medical and occupational radiation exposures. Environ Health. 2017. V. 16. № 1. P.70.

200. Bazyka D., Hatch M., Gudzenko N., Cahoon E.K., Drozdovitch V., Little M.P., Chumak V., Bakhanova E., Belyi D., Kryuchkov V., Golovanov I., Mabuchi K., Illienko I., Belayev Y., Bodelon C., Machiela M.J., Hutchinson A., Yeager M., Gonzalez A.B., Chanock S.J. Field Study of the Possible Effect of Parental Irradiation on the Germline of Children Born to Cleanup Workers and Evacuees of the Chornobyl Accident. Am J Epidemiol. 2020.kwaa095.

201. Beal M. A., Glenn T. C., Lance S. L., Somers C. M. Characterization of Unstable Microsatellites in Mice: No Evidence for Germline Mutation Induction Following Gamma-Radiation Exposure. Environ Mol Mutagen. 2012. V. 53. № 8. P.599-607.

202. Beal M.A., Rowan-Carroll A., Campbell C., Williams A., Somers C.M., Marchetti F., Yauk C.L. Single-molecule PCR Analysis of an Unstable Microsatellite for Detecting Mutations in Sperm of Mice Exposed to Chemical Mutagens Mutat Res. 2015. V. 775. P. 26-32.

203. Becker B. V., Kaatsch L., Obermair R., Schrock G, Port M, Ullmann R. X- ray irradiation induces subtle changes in the genome-wide distribution of DNA hydroxymethylation with opposing trends in genic and intergenic regions. Epigenetics. 2019. V. 14. № 1. P. 1–13.

204. Belinsky S.A., Klinge D.M., Liechty K.C., March T.H., Kang T., Gilliland F.D., Sotnic N., Adamova G., Rusinova G., Telnov V. Plutonium targets the p16 gene for inactivation by promoter hypermethylation in human lung adenocarcinoma Carcinogenesis. 2004. V.25. № 6. P. 1063–1067.

205. Bell J.T, Tsai P., Yang T,. Pidsley R., Nisbet J., Glass D., Mangino M., Zhai G., Zhang F., Valdes A., Shin S.Y., Dempster E.L., Murray R.M., Grundberg E., Hedman A.K., Nica A., Small K.S., MuTHER Consortium, Dermitzakis E.T., McCarthy M.I., Mill J., Spector T.D., Deloukas P. Epigenome-Wide Scans Identify Differentially Methylated Regions for Age and Age-Related Phenotypes in a Healthy Ageing Population. PLoS Genetics. 2012. V. 8. № 4. e1002629.

206. Belloni P., Latini P., Palitti F. Radiation-induced bystander effect in healthy G(o) human lymphocytes: biological and clinical significance. Mutat Res. 2011. V. 713. № 1-2. P. 32-38.

207. Belyakov O.V., Prise K.M., Trott K. R., Michael B.D. Delayed lethality apoptosis and micronucleus formation in human fibroblasts irradiated with X-rays or α-particles. Int. J. Radiat. Biol. 1999. V. 75. P. 985-993.

208. Benayoun B.A., Pollina E.A., Brunet A. Epigenetic regulation of ageing:linking environmental inputs to genomic stability. Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2015. V. 16. № 10. P. 593-610.

209. Bernal A.J., Dolinoy D.C., Huang D., Huang D., Skaar D.A., Weinhouse C., Jirtle RL. Adaptive radiation-induced epigenetic alterations mitigated by antioxidants. FASEB J. 2013. V. 27. № 2. P. 665-671.

209. Bersimbaev R.I., Lindholm C., Tankimanova M.K., Djansugurova L.B. Three-generation study of population living in the vicinity of the Semipalatinsk nuclear test-site—biosample database and population characteristics. STUK. A 191. (Helsinki, Finland). 2002. P. 32

210. Bezdrobnaia L.K., Tsyganok T.V., Romanova E.P., Tarasenko L.V., Fedorchenko V.I. Dynamic study of the cytogenetic effects in blood lymphocytes from humans living in the Chernobyl Atomic Energy Station exclusion zone without permission. Radiats Biol Radioecol. 2002. V. 42. № 6. P. 727-730.

211. Bigbee W.L., Jensen R.H., Veidebaum T., Tekkel M., Rahu M., Stengrevics A., Auvinen A., Hakulinen T., Servomaa K., Rytomaa T., Obrams G.I., BoiceJr. J.D. Biodosimetry of Chernobyl cleanup workers from Estoni and Latvia using glycophorin A in vivo somatic cell mutationassay. Rad. Res. 1997. V. 147. P. 215–224.

212. Biological dosimetry: chromosomal aberration analysis for dose assessment/Technical reports series № 260. Vienna: Int. Atomic Energy Agency. 1986. 69 p.

213. Bird A.P. DNA methylation and the frequency of CpG in animal DNA. Nucleic Acids Res. 1980. V.8. № 7. P. 1499–504.

214. Biscotti M. A., Olmo E., Heslop-Harrison J. S. Pat. Repetitive DNA in Eukaryotic Genomes.Chromosome Res. 2015. V.23. **№** 3. P. 415-20.

215. Blasco M.A. The epigenetic regulation of mammalian telomeres. Nat. Rev. 2007. V. 8. № 4. P. 299–309.

216. Blinova E. A., Veremyeva G. A., Akleyev A. V. Apoptosis of peripheral blood lymphocytes and mutations in the gene of the T-cell receptor in survivors of chronic radiation exposure. Health Physics. 2012. V. 3. No. 1. P. 58-60.

217. Bocker M.T., Hellwig I., Breiling A., Eckstein V., Ho A.D., Lyko F. Genome-wide promoter DNA methylation dynamics of human hematopoietic progenitor cells during differentiation and aging. Blood. 2011. V.117. № 19. P. 182–190.

218. Bois P., Jeffreys A.J. Minisatellite Instability and Germline Mutation. Cell Mol Life Sci. 1999. V.55. № 12. P. 1636-48.

219. Bois P., Williamson J., Brown J., Dubrova Y.E., Jeffreys A.J. A novel unstable mouse VNTR family expanded from SINE B1 element. Genomics. 1998**.** V**.** 49**.** P**.** 122–128.

220. Bois P.R. Hypermutable Minisatellites, a Human Affair? Genomics. 2003. V. 81. № 4. P. 349-55.193. Bois P.R., Grant G.R., Jeffreys A.J. Minisatellites Show Rare and Simple Intra-Allelic Instability in the Mouse Germ Line. Genomics. 2002. **V.**80. № 1. P. 2-4.

221. Bolegenova N.K., Bekmanov B.O., Djansugurova L.B., Bersimbaev R.I., Salama S.A., Au W.W. Genetic polymorphisms and expression of minisatellite mutations in a 3-generation population around the Semipalatinsk nuclear explosion test-site, Kazakhstan. Int J Hyg Environ Health. 2009. V. 212. P. 654–660.

222. Bollati V., Baccarelli A., Hou L., Bonzini M., Fustinoni S., Cavallo D., Byun H.M., Jiang J., Marinelli B., Pesatori A.C., Bertazzi P.A, Yang A.S. Changes in DNA methylation patterns in subjects exposed to low-dose benzene. Cancer Res. 2007. V. 67 № 3. P. 876-80.

223. Bolton K. A., Ross J. P., Grice D. M., Bowden N. A., Holliday E. G., Avery- Kiejda K. A., Scott R. J. STaRRRT: a table of short tandem repeats in regulatory regions of the human genome. BMC Genomics. 2013. V. 14. P. 795.

224. Booth L., Brunet A. The aging epigenome. Mol Cell. 2016. V. 62. № 5. P. 728–744.

225. Bouffler S.D., Bridges B.A., Cooper D.N., Dubrova Y., McMillan T.J., Thacer J., Wright E.G., Waters R. Assessing radiation-associated mutation risk to the germline: repetitive DNA sequences as mutational targets and biomarkers. Rad. Res. 2006. V. 165. P. 249-268.

226. Bouffler S.D., Bridges B.A., Cooper D.N., Dubrova Y., McMillan T.J., Thacer J., Wright E.G., Waters R. Assessing radiation-associated mutation risk to the germline: repetitive DNA sequences as mutational targets and biomarkers. Rad. Res. 2006. V. 165. P. 249-268.

227. Bouville A., Likhtarev I.A., Kovgan L.N., Minenko V.F., Shinkarev S.M., Drozdovitch V.V. Radiation dosimetry for highly contaminated Belarusian, Russian and Ukrainian populations, and for less contaminated populations in Europe. Health Phys. 2007. V. 93. № 5. P. 487-501.

228. Brait M., Ford J. G., Papaiahgari S., Garza M.A., Lee J.I., Loyo M., Maldonado L., Begum S., McCaffrey L., Howerton M., Sidransky D., Emerson M.R., Ahmed S., Williams C.D., Hoque M.O. Association between Lifestyle Factors and CpG Island Methylation in a Cancer-Free Population. Cancer Epidemiol. Biomarkers. Prev. 2009. V.18. P. 2984-2991.

229. Brinkmann B., Klintschar M., Neuhuber F., Hühne J., Rolf B. Mutation rate in human microsatellites: influence of the structure and length of the tandem repeat. Am. J. Hum. Genet. 1998. V. 62. P.1408-1415.

230. Britanova O.V., Putintseva E.V., Shugay M., et al. Age-related decrease in TCR repertoire diversity measured with deep and normalized sequence profiling. J Immunol. 2014. V. 192. № 6. P. 2689-2698.

231. Brookes K.J. The VNTR in Complex Disorders: The Forgotten Polymorphisms? A Functional Way Forward? Genomics. 2013. V.101. № 5. P. 273-81.

232. Brooks-Wilson A.R. Genetics of healthy aging and longevity. Hum Genet. 2013. V. 132. P. 1323-1338.

233. Buard J, Vergnaud G. Complex Recombination Events at the Hypermutable Minisatellite CEB1 (D2S90). EMBO J. 1994. V.13. № 13. P. 3203-10.

234. Burr K.L.-A., Smith A.G., Dubrova Y.E. p53 deficiency does not affect mutation rate in the mouse germline. Oncogene. 2005. V. 24. P. 4315–4318.

235. Burr K.L.-A., van Duyn-Goedhart A., Hickenbotham P., Monger K., van Buul P.P.W., Dubrova Y.E. The effects of MSH2 deficiency on spontaneous and radiation-induced mutation rates in the mouse germline. Mutat. Res. 2007. V. 617. P.147–151.

236. Cacan E., Susanna F. Greer S.F., Garnett-Benson C. Radiation-induced modulation of immunogenic genes in tumor cells is regulated by both histone deacetylases and DNA methyltransferases. Int. J. Oncol. 2015. V. 47. № 6. P. 2264-2275.

237. Call M.E., Pyrdol J., Wiedmann M., Wucherpfennig K.W. The organizing principle in the formation of the T cell receptor-CD3 complex. Cell. 2002. V. 111. № 7. P. 967-979.

238. Calvanese V., Horrillo A., Hmadcha A., Suarez-Alvarez B., Fernandez A.F., Lara E., Casado S., Menendez P., Bueno C., Garcia-Castro J., Rubio R., Lapunzina P., Alaminos M., Borghese L., Terstegge S., Harrison N.J., Moore H.D., Brüstle O., Lopez-Larrea C., Andrews P.W., Soria B., Esteller M., Fraga MF. Cancer genes hypermethylated in human embryonic stem cells. PLoS One. 2008. V. 3. № 9. e3294.

239. Campbell C.D., Eichler E.E. Properties and rates of germline mutations in humans. Trends Genet. 2013. V. 29. № 10. P. 575-584.

240. Cardis E., Kesminiene A., Ivanov V., Malakhova I., Shibata Y., Khrouch V., Drozdovitch V., Maceika E., Zvonova I., Vlassov O., Bouville A., Goulko G., Hoshi M., Abrosimov A., Anoshko J., Astakhova L., Chekin S., Demidchik E., Galanti R., Ito M., Korobova E., Lushnikov E., Maksioutov M., Masyakin V., Nerovnia A., Parshin V., Parshkov E., Piliptsevich N., Pinchera A., Polyakov S., Shabeka N., Suonio E., Tenet V., Tsyb A., Yamashita S., Williams D. Risk of thyroid cancer after exposure to 131I in childhood. J Natl Cancer Inst. 2005. V. 97. № 10. P. 724-32.

241. Carlson B.M. Human Embryology and Developmental Biology. 4th Ed. USA. Mosby. 2009.

242. Cederberg H., Rannug U. Mechanisms of Human Minisatellite Mutation in Yeast. Mutat Res. 2006. V. 598. № 1-2. P.132-43.

243. Hogart A., Lichtenberg J., Ajay S.S., Anderson S., NIH Intramural Sequencing Center, Margulies E.H., Bodine D.M. Genome-wide DNA methylation profiles in hematopoietic stem and progenitor cells reveal overrepresentation of ETS transcription factor binding sites. Genome Res. 2012. V. 22. № 8. P. 1407-18.

244. Chaudhry M. A., Omaruddin R.A. Differential DNA Methylation Alterations in Radiation-Sensitive and -Resistant Cells. DNA and Cell Biology. 2012. V. 31. № 6. P. 908-916.

245. Cherubinit R., Canova S., Favaretto S., Bruna V., Battivelli P., Celotti L. Minisatellite and Hprt Mutations in V79 Cells Irradiated With Helium Ions and Gamma Rays. Int J Radiat Biol. 2002. V.78. № 9. P. 791-7.

246. Cho Y. H., Jang Y., Woo H. D., Kim Y.J., Kim S.Y., Christensen S., Cole E., Choi S.Y., Chung H.W. LINE-1 Hypomethylation is Associated With Radiation-Induced Genomic Instability in Industrial Radiographers. Environ. Mol. Mutagen. 2018. V. 60. № 2. P. 174-184.

247. Chu M.W., Siegmund K.D., Eckstam C.L. Kim J.Y., Yang A.S., Kanel G.C., Tavaré S., Shibata D. Lack of increases in methylation at three CpG-rich genomic loci in non-mitotic adult tissues during aging. BMC Med. Genet. 2007. V. 8. P. 50.

248. Contente A., Dittmer A., Koch M.C., Roth J., Dobbelstein M. A polymorphic microsatellite that mediates induction of PIG3 by p53//Nat. Genet. 2002. V. 30. № 3. P. 315-320.

249. Costa E.O., de Melo e Silva D., de Melo A.V., Godoy F.R., Nunes H.F., Pedrosa E.R., Flores B.C., Rodovalho R.G., da Silva C.C., da Cruz A.D. The Effect of Low-Dose Exposure on Germline Microsatellite Mutation Rates in Humans Accidentally Exposed to caesium-137 in Goiânia. Mutagenesis. 2011. V. 26. № 5. P. 651-5.

250. Costa E.O.A., Pinto I.P., Gonçalves M.W., da Silva J.F., Oliveira L.G., da Cruz A.S., Silva D.M.E., da Silva C.C., Pereira R.W., da Cruz A.D. Small de novo CNVs as biomarkers of parental exposure to low doses of ionizing radiation of caesium-137. Sci Rep. 2018. V. 8. № 1. P. 5914.

251. Costa E.O.A., Pinto I.P., Gonçalves M.W., da Silva J.F., Oliveira L.G., da Cruz A.S., Silva D.M.E., da Silva C.C., Pereira R.W., da Cruz A.D. Small de novo CNVs as biomarkers of parental exposure to low doses of ionizing radiation of caesium-137. Sci Rep. 2018. V. 8. № 1. P. 5914.

252. Cuozzo C., Porcellini A., Angrisano T., Morano A., Lee B., Pardo A.D., Messina S., Iuliano R., Fusco A., Santillo M.R., Muller M.T., Chiariotti L., Gottesman M.E. Avvedimento E.V. DNA damage, homology-directed repair, and DNA methylation. PLoS Genet. 2007. V. 3. № 7. e110.

253. da Cruz A. D., Silva D.M., da Silva C.C., Nelson R.J., Ribeiro L.M., Pedrosa E.R., Jaime J. C., Curado M.P. Microsattelite mutations in the offspring of irradiated parents nineteen years after the caesium-137 accident. Mutat. Res. 2008. V. 652. P. 175-179.

254. Day K., Lindsay L. W., Thalacker-Mercer A. Differential DNA methylation with age displays both common and dynamic features across human tissues that are influenced by CpG landscape. Genome Biology. 2013. V. 14. R102.

255. de Vocht F., Suderman M., Ruano-Ravina A., Thomas R., Wakeford R., Relton C., Tilling K., Boyd A. Residential exposure to radon and DN

methylation across the lifecourse: an exploratory study in the ALSPAC birth cohort. Wellcome Open Res. 2019. V.4. P. 3.

256. Ding N., Bonham E.M., Hannon B.E., Amick T.R., Baylin S.B., O'Hagan H.M. Mismatch repair proteins recruit DNA methyltransferase 1 to sites of oxidative DNA damage. J. Mol. Cell Biol. 2016. V. 8. № 3. P. 244–254.

257. Domracheva E.V., Rivkind N.B., Aseeva E.A., Obukhova T.N., D'achenko L.V., Vorobiov A.I. Stable and unstable aberrations in lymphocytes of Chernobyl accident clearance workers carrying rogue cells. Appl Radiat Isot. 2000. V. 52. № 5. P. 1153-9.

258. Druzhinin V., Bakanova M., Fucic A., Golovina T., Savchenko Y., Sinitsky M., Volobaev V. Lymphocytes with multiple chromosomal damages in a large cohort of West Siberia residents: Results of long-term monitoring. Mutat Res. 2016. V. 784-785. P. 1-7.

259. Dubrova Y.E., Jeffreys A.J., Malashenko A.M. Mouse minisatellite mutations induced by ionizing radiation. Nat. Genet. 1993. V. 5. P. 92–94.

260. Dubrova Y.E., Nesterov V.N., Krouchinsky N.G. et al. Human minisatellite mutation rate after the Chernobyl accident. 1996. Nature. V. 380. P. 683-686.

261. Dubrova Y.E., Nesterov V.N., Krouchinsky N.G. et al. Further evidence for elevated human minisatellite mutation rate in Belarus eight years after the Chernobyl accident. 1997. Mutat. Res. V. 381. P. 267-278.

262. Dubrova Y.E., Plumb M., Brown J., Fennelly J., Bois P., Goodhead D., Jeffreys A.J. Stage specificity, dose response, and doubling dose for mouse minisatellite germ-line mutation induced by acute radiation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 6251–6255.

263. Dubrova Y.E., Plumb M., Brown J., Jeffreys A.J. Radiation-induced mutations in mammalian minisatellite loci. Int.J.Radiat.Med. 1999. V. 1. № 1. P. 90-100.

264. Dubrova Y.E., Plumb M., Brown J., Boulton E., Goodhead D., Jeffreys A.J. Induction of minisatellite mutations in the mouse germline by low-dose

chronic exposure to γ-radiation and fission neutrons. Mutat. Res. 2000. V. 453. P. 17–24.

265. Dubrova Y.E., Bersimbaev R.I., Djansugurova L.B., Tankimanova M.K., Mamyrbaeva Z.Zh., Mustonen R., Lindholm C., Hulten M., Salomaa S. Nuclear weapons test and human germline mutation rate. Science 2002. V. 295. P.1037.

266. Dubrova Y.E., Plumb M.A. Ionising Radiation and Mutation Induction at Mouse Minisatellite Loci. The Story of the Two Generations. Mutat Res. 2002. V. 499. № 2. P. 143-50.

267. Dubrova Y.E., Grant G., Chumak A.A., Stezhka V.A., Karakasian A.N. Elevated human minisatellite mutation rate in the post-Chernobyl families from Ukraine. 2002. Am. J. Hum. Genet. V. 71. № 4. P. 801-809.

268. Dubrova Y.E., Plumb M.A. Ionising radiation and mutation induction at mouse minisatellite loci. The story of two generations. Mut.Res. 2002. V. 499. № 2. P. 143-150.

269. Dubrova Y.E. Long-term genetic effects of radiation exposure. 2003. Mutat.Res. V.544. P. 433-439.

270. Dubrova Y.E. Radiation-induced Transgenerational Instability. Oncogene. 2003. V. 22. № 45. P. 7087-93.

271. Dubrova Y.E. Germline mutation induction at human minisatellite loci. Swiss Med. Wkly. 2003. V.133. P. 474–478.

272. Dubrova Y.E., Ploshchanskaya O.G., Kozionova O.S., Akleyev A.V. Minisatellite germline mutation rate in the Techa River population. Mutat. Res. 2006. V. 602. P. 74–82.

273. Dubrova Yu.E. Mutation induction in the mouse and human germline. Russian Journal of Genetics. 2016. V. 52. № 1. P. 17-28.

274. Dubrova Yu**.** Mutation Induction in Humans and Mice: Where Are We Now? Cancers (Basel). 2019. V. 11. № 11. P. 1708

275. Edwards A., Voisin P., Sorokine-Durm I., Maznik N., Vinnikov V., Mikhalevich L., Moquet J., Lloyd D., Delbos M., Durand V. Biological estimates

of dose to inhabitants of Belarus and Ukraine following the Chernobyl accident. Radiat Prot Dosimetry. 2004. V. 111. № 2. P. 211-9.

276. Elmhiri G., Gloaguen C., Grison S., Kereselidze D., Elie C., Tack K., Benderitter M., Lestaevel P., Legendre A., Souidi M. DNA methylation and potential multigenerational epigenetic effects linked to uranium chronic low-dose exposure in gonads of males and females rats. Toxicol. Letters. 2018. V. 282. P. 64–70.

277. Farkash E.A., Kao G.D., Horman S. R., Luning Prak E.T. Gamma radiation increases endonuclease-dependent L1 retrotransposition in a cultured cell assay. Nucleic Acids Research. 2006. V. 34. № 4. P. 1196–1204.

278. Fattman C. L., Schaefer L. M., Oury T. D. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. Free Radical Biology and Medicine. 2003. V.35. № 3. P. 236–256.

279. Feng J., Zhou Y., Campbell S.L., Le T., Li E., Sweatt J.D., Silva A.J., Fan G. Dnmt1 and Dnmt3a maintain DNA methylation and regulate synaptic function in adult forebrain neurons. Nat Neurosci. 2010. V. 13. № 4. P. 423-30.

280. Feng S., Jacobsen S.E., Reik W. Epigenetic reprogramming in plant and animal development. Science. 2010. V. 330. P. 622–27.

281. Ferrer-Sueta G., Rady R. Chemical Biology of Peroxynitrite: Kinetics, Diffusion, and Radicals. ACS Chem. Biol. 2009. V. 4. № 3. P. 161–177.

282. Flanagan J. M., Munoz-Alegre M., Henderson S., Tang T., Sun P., Johnson N., Fletcher O., Dos Santos Silva I., Peto J., Boshoff C., Narod S., Petronis A. Gene-body hypermethylation of ATM in peripheral blood DNA of bilateral breast cancer patients. Human Molecular Genetics. 2009. V. 18. № 7. P. 1332 – 1342.

283. Fotsing S.F., Margoliash J., Wang C., Saini S., Yanicky R., Shleizer-Burko S., Goren A., Gymrek M. The Impact of Short Tandem Repeat Variation on Gene Expression. Nat Genet. 2019. V. 51. № 11. P. 1652-1659.

284. Fouqué A., Debure L., Legembre P. The CD95/CD95L signaling pathway: a role in carcinogenesis. Biochim Biophys Acta. 2014. V. 1846. № 1. P. 130-141.

285. Fraga M.F., Ballestar E., Paz M.F., Ropero S., Setien F., Ballestar M.L., Heine-Suñer D., Cigudosa J.C., Urioste M., Benitez J., Boix-Chornet M., Sanchez-Aguilera A., Ling C., Carlsson E., Poulsen P., Vaag A., Stephan Z., Spector T.D., Wu Y.Z., Plass C., Esteller M. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. **V.** 102. № 30. P. 10604-10609.

286. Frenzilli G., Bosco E., Antonelli A., Panasiuk G., Barale R. DNA damage evaluated by alkaline single cell gel electrophoresis (SCGE) in children of Chernobyl, 10 years after the disaster. 2001. V.491. № 1-2. P.139-49.

287. Fritsch C., Gout J.-F., Haroon S., Towheed A., Chung C., LaGosh J., McGann E., Zhang X., Song Y., Simpson S., Danthi P. S., Benayoun B. A., Wallace D., Thomas K., Lynch M., Vermulst M. Genome-wide surveillance of transcription errors in response to genotoxic stress. PNAS. 2021. V. 118. № 1. e2004077118.

288. Fucic A., Brunborg G., Lasan R., Jezek D., Knudsen L.E., Merlo D.F. Genomic damage in children accidentally exposed to ionizing radiation: a review of the literature. Mutat Res. 2008. V. 658. № 1-2. P.111-123.

289. Fucic A., Aghajanyan A., Druzhinin V., Minina V., Neronova E. Follow-up studies on genome damage in children after Chernobyl nuclear power plant accident. Arch Toxicol. 2016. V. 90. № 9. P. 2147-2159.

290. Furitsu K., Ryo H., Yeliseeva K.G., Thuy le T.T., Kawabata H., Krupnova E.V., Trusova V.D., Rzheutsky V.A., Nakajima H., Kartel N., Nomura T. Microsatellite mutations show no increases in the children of Chernobyl liquidators. Mutat. Res. 2005. V. 81. № 1-2. P. 69-82.

291. Gemignani F., Ballardin M., Maggiani F., Rossi AM., Antonelli A., Barale R. Chromosome aberrations in lymphocytes and clastogenic factors in

plasma detected in Btlarus children 10 years after Chernobyl accident. Mutat. Res. 1999. V. 446. P. 245-253.

292. Georgakillas A.G., O'Neill P., Stewart R. Induction and repair of clustered DNA lesions: What do we know so far? Radiat. Res. 2013. V.180. P. 100–109.

293. Georgieva M., Rashydov N.M., Hajduch M. DNA damage, repair monitoring and epigenetic DNA methylation changes in seedlings of Chernobyl soybeans. DNA repair. 2017. V. 50. P. 14-21.

294. Gilliland F.D., Adamova G., Rusinova G., Telnov V., Belinsky S.A. Radiation-induced lung adenocarcinoma is associated with increased frequency of genes inactivated by promoter hypermethylation. Radiat. Res. 2007. V.168. № 4. P. 409-414.

295. Gim J., Ha H., Ahn K. et al. Genome-wide identification and dassification of micro RNAs derived from repetitive elements. Genomics Inform. 2014. V. 12. № 4. P. 261-267.

296. Giotopoulos G., McCormick C., Cole C., Zanker A., Jawad M., Brown R., Plumb M. DNA methylation during mouse hemopoietic differentiation and radiation-induced leukemia. Exp. Hematol. 2006. V. 34. № 11. P. 1462–1470.

297. Glen C.D., Smith A.G., Dubrova Y.E. Single-molecule PCR analysis of germ line mutation induction by anticancer drugs in mice. Cancer Res. 2008. V. 68. P. 3630–3636.

298. Goetz W., Morgan M.N., Baulch J.E. The effect of radiation quality on genomic DNA methylation profiles in irradiated human cell lines. Radiat. Res. 2011. V. 175. № 5. P. 575-87.

299. Golalipour M., Maleki Z., Farazmandfar T., Shahbazi M. PER3 VNTR Polymorphism in Multiple Sclerosis: A New Insight to Impact of Sleep Disturbances in MS. Mult Scler Relat Disord. 2017. V. 17. P. 84-86.

300. Gomes M.V., Toffoli L.V., Arruda D.W., Soldera L.M., Pelosi G.G., Neves-Souza R.D., Freitas E.R., Castro D.T., Marquez A.S. Age-Related Changes in the Global DNA Methylation Profile of Leukocytes Are Linked to Nutrition but

Are Not Associated with the MTHFR C677T Genotype or to Functional Capacities. PLoS One. 2012. V. 7. № 12. e.52570.

301. Guégan J.P., Legembre P. Nonapoptotic functions of Fas/CD95 in the immune response. *FEBS J*. 2018. V. 285. № 5. P. 809-827.

302. Gymrek M. A Genomic View of Short Tandem Repeats. Curr Opin Genet Dev. 2017. V. 44. P. 9-16.

303. Ha M., Yoo K.-Y., Cho S.-H. Glycophorin A mutant frequency in radiation workers at the nuclear power plants and a hospital. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. 2002. V. 501. № 1-2. P. 45–56.

304. Haaf T. Analysis of global DNA methylation changes in primary human fibroblasts in the early phase following X-ray irradiat 2017. V.12. № 5. e0177.

305. Hajkova P. Epigenetic reprogramming in the germline: towards the groundstate of the epigenome. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2011. V. 366. № 1575. P. 2266–73.

306. Hannum G., Guinney J., Zhao L., Zhang L., Hughes G., Sadda S., Klotzle B., Bibikova M., Fan J.B., Gao Y., Deconde R., Chen M., Rajapakse I., Friend S., Ideker T., Zhang K. Genome-wide methylation profiles reveal quantitative views of human aging rates. Mol. Cell. 2013. V. 49. № 2. P. 359-367.

307. Harms-Ringdahl M. Some aspects on radiation induced transmissible genomic instability. Mutat. Res. 1998. V.404. P.27-33.

308. Hehir-Kwa J.Y., Rodríguez-Santiago B., Vissers L. E., de Leeuw N., Pfundt R., Buitelaar J. K., Pérez-Jurado L. A., Veltman J. A. De novo copy number variants associated with intellectual disability have a paternal origin and age bias. J. Med. Genet. 2011. V.48. P. 776–778.

309. Holtgrewe M., Knaus A., Hildebrand G., Pantel J.T., Santos M.R.L, Neveling K., Goldmann J., Schubach M., Jäger M., Coutelier M., Mundlos S., Beule D., Sperling K., Krawitz P.M. Multisite *de novo* mutations in human

offspring after paternal exposure to ionizing radiation. Sci Rep. 2018. V. 8. № 1. P. 14611.

310. Horai M., Mishima H., Hayashida C., Kinoshita A., Nakane Y., Matsuo T., Tsuruda K., Yanagihara K., Sato S., Imanishi D., Imaizumi Y., Hata T., Miyazaki Y., Yoshiura K.I. Detection of De Novo Single Nucleotide Variants in Offspring of Atomic-Bomb Survivors Close to the Hypocenter by Whole-Genome Sequencing. J Hum Genet. 2018. **V.** 63. № 3. P. 357-363.

311. Horvath S., Garagnani P., Bacalini M. G., Pirazzini C., Salvioli S., Gentilini D., Di Blasio A.M., Giuliani C., Tung S., Vinters H.V., Franceschi C. Accelerated epigenetic aging in Down syndrome. Aging Cell. 2015. V. 14. P. 491–495.

312. Horvath S. DNA methylation age of human tissues and cell types. Genome Biol. 2013. V. 14. № 10. R115.

313. Horvath S., Levin A. J. HIV-1 Infection Accelerates Age According to the Epigenetic Clock. The Journal of Infectious Disease. 2015. V. 212. P. 1563 - 1573.

314. Horvath S., Ritz B.R. Increased epigenetic age and granulocyte counts in the blood of Parkinson's disease patients. AGING. 2015. V.7. № 12. P. 1130-1142.

315. Hossain M.B., Vahter M., Concha G., Broberg K. Low-level environmental cadmium exposure is associated with DNA hypomethylation in Argentinean women. Environ. Health. Perspect. 2012. V. 120. № 6. P. 879-84.

316. Hou L., Zhang X., Wang D., Baccarelli A. Environmental chemical exposures and human epigenetics. Int J Epidemiol. 2012. V. 41. № 1. P. 79-105.

317. Huang X., Weimer J., von Wurmb-Schwark N., Fredrik R., Arnold N., Schem C. Alteration of STR Profiles in Ovarian Carcinoma Cells During Primary Culture**.** Arch Gynecol Obstet. 2016. V. 294. № 2. P. 369-76.

318. Huang Y.S., Zhi Y.F., Wang S.R. Hypermethylation of estrogen receptor-α gene in atheromatosis patients and its correlation with homocysteine. Pathophysiology. 2009. V.16. № 4. P. 259-265.

319. Illingworth RS, Bird AP. CpG islands--'a rough guide'. FEBS Lett. 2009. V. 583. № 11. P.1713-20.

320. Ilnytskyy Y., Koturbash I., Kovalchuk O. Radiation-induced bystander effects in vivo are epigenetically regulated in a tissue-specific manner. Environ. Mol. Mutagen. 2009. V. 50. № 2. P.105-13.

321. Ilyenko I., Lyaskivska O., Bazyka D. Analysis of relative telomere length and apoptosis in humans exposed to ionizing radiation. Exp. Oncol. 2011. V. 33. № 4. P. 235-238.

322. Impey S., Jopson T., Pelz C., Tafessu A., Fareh F., Zuloaga D., Marzulla T., Riparip L.K., Stewart B., Rosi S., Turker M.S., Raber J. Short- and long-term effects of 56Fe irradiation on cognition and hippocampal DNA methylation and gene expression. BMC Genomics. 2016. V. 17. № 1. P. 825.

323. Impey S., Jopson T., Pelz C., Tafessu A., Fareh F., Zuloaga D., Marzulla T., Riparip L.K., Stewart B., Rosi S., Turker M.S., Raber J. Bi-directional and shared epigenomic signatures following proton and 56Fe irradiation. Sci. Rep. 2017. V. 7. № 1. P. 10227.

324. Impey S., Pelz C., Tafessu A., Marzulla T., Turker M.S., Raber J. Proton irradiation induces persistent and tissue-specific DNA methylation changes in the left ventricle and hippocampus. BMC genomics. 2016. V. 17. P. 273.

325. International Atomic Energy Agency (IAEA). Biological dosimetry: Chromosomal aberration analysis for dose assessment. Technical Reports Series 260. Vienna. Austria. 2011.

326. Itsara A., Cooper G. M., Baker C., Girirajan S., Li J., Absher D., Krauss R. M., Myers R. M., Ridker P. M., Chasman D. I., Mefford H., Ying Ph., Nickerson D. A., Eichler E. E.. Population Analysis of Large Copy Number Variants and Hotspots of Human Genetic Disease. Am J Hum Genet. 2009. V.84. P. 148–161.

327. Ivanov V.K., Gorski A.I., Tsyb A.F., Maksioutov M.A., Tumanov K.A., Vlasov O.K. Radiation-epidemiological studies of thyroid cancer incidence among children and adolescents in the Bryansk oblast of Russia after the

Chernobyl accident (1991-2001 follow-up period). Radiat Environ Biophys. 2006. V. 45. № 1. P. 9-16.

328. Ivanov V.K., Kashcheev V.V., Chekin S.Yu., Karpenko S.V., Maksioutov M.A., Menyaylo A.N., Tumanov K.A., Kochergina E.V., Kashcheeva P.V., Gorsky A.I., Shchukina N.V., Lovachev S.S., Vlasov O.K. Radiation Risk of Cardiovascular Diseases in the Cohort of Russian Emergency Workers of the Chernobyl Accident. Health Physics. 2017. T. 113. № 1. C. 23-29.

329. Iyer R.R., Pluciennik A., Napierala M., Wells R.D. DNA Triplet Repeat Expansion and Mismatch Repair. Annu Rev Biochem. 2015. V.84. P. 199-226.

330. Jaco I., Canela A., Vera E., Blasco M.A. Centromere mitotic recombination in Mammalian cells. J. Cell Biol. 2008. V.181. № 6. P. 885–892.

331. Jangiam W., Tungjai M., Rithidech K.N. Induction of chronic oxidative stress, chronic inflammation and aberrant patterns of DNA methylation in the liver of titanium-exposed CBA/CaJ mice. Int. J. Radiat. Biol. 2015. V. 91. № 5. P. 389-398.

332. Jeffreys A.J. Spontaneous and Induced Minisatellite Instability in the Human Genome. Clin Sci (Lond). 1997. V. 93. № 5. P. 383-90.

333. Jeffreys A.J., Neil D.L., Neumann R. Repeat instability at human minisatellites arising from meiotic recombination. EMBO J. 1998. V. 17. P. 4147–4157.

334. Jeffreys A.J., Royle N.J., Wilson V., Wong Z. Spontaneous mutation rates to new length alleles at tandem-repetitive hypervariable loci in human DNA. Nature. 1988. V.332. P. 278–281.

335. Jeffreys A.J., Tamaki K., MacLeod A., Monckton D.G., Neil D.L., Armour J.A. Complex gene conversion events in germline mutation at human minisatellites. Nat Genet. 1994. V. 6. № 2. P. 136-45.

336. Jeffreys AJ, Neumann R. Somatic Mutation Processes at a Human Minisatellite. Hum Mol Genet. 1997. V.6. № 1. P. 129-32; 134-6.

337. Jensen R.H., Langlois R.G., Bigbee W.L., Grant S.G., Moore D.,Pilinskaya M., Vorobtsova I., Pleshanov P. Elevated frequency of glycophorin

A mutations in erythrocytes from Chernobyl accident victims. Radiat Res. 1995. V. 141. № 2. P.129-35.

338. Johansson A., Enroth S., Gyllensten U. Continuous Aging of the Human DNA Methylome Throughout the Human Lifespan. PLoS One. 2013. V. 8. № 6. e.67378.

339. Jones I.M., Galick H., Kato P., Langlois R.G., Mendelsohn M.L., Murphy G.A., Pleshanov P., Ramsey M.J., Thomas C.B., Tucker J.D. et al. Three somatic genetic biomarkers and covariates in radiation-exposed Russian cleanup workers of the chernobyl nuclear reactor 6-13 years after exposure. Radiat Res. 2002. V. 158. № 4. P. 424-42.

340. Jones P.A. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. Nat. Rev. 2012. V. 13. № 7. P. 484–92.

341. Jones P.A., Takai D. The role of DNA methylation in mammalian epigenetics. Science. 2001. V. 293. № 5532. P. 1068–1070 (New York, N.Y.).

342. Jónsson H., Sulem P., Kehr B., Kristmundsdottir S., Zink F., Hjartarson E., Hardarson M.T., Hjorleifsson K.E., Eggertsson H.P., Gudjonsson S.A., et al. Parental influence on human germline de novo mutations in 1548 trios from Iceland. Nature. 2017. V. 549. № 7673. P. 519–522.

343. Kalinich J. F., Catravas G. N., Snyder S. L. The Effect of γ Radiation on DNA Methylation. Radiat. Res. 1989. V. 117. №. 2. P.185-197.

344. Kane A. E., Sinclair D. A. Epigenetic changes during aging and their reprogramming potential. Crit. Rev.Biochem. Mol. Biol. 2019. V. 54. № 1. P. 61–68.

345. Kapusta A., Kronenberg Z., Lynch V. J., Zhuo X., Ramsay L., Bourque G., Yandell M., Feschotte C. Transposable Elements Are Major Contributors to the Origin, Diversification, and Regulation of Vertebrate Long Noncoding RNAs. PLOS Genetics. 2013. V. 9. № 4. e1003470.

346. Karavanaki K., Karanika E., Georga S., Bartzeliotou A., Tsouvalas M., Konstantopoulos I. et al. Cytokine response to diabetic ketoacidosis (DKA) in children with type 1 diabetes (T1DM). Endocr. J. 2011. V. 58. 12. P. 1045-1053.

347. Kashcheev V.V., Chekin S.Y., Maksioutov M.A., Tumanov K.A., Menyaylo A.N., Kochergina E.V., Kashcheeva P.V., Gorsky A.I., Shchukina N.V., Karpenko S.V., Ivanov V.K. Radiation-epidemiological Study of Cerebrovascular Diseases in the Cohort of Russian Recovery Operation Workers of the Chernobyl Accident. Health Phys. 2016. V. 111. № 2. P. 192-7.

348. Kaup S., Grandjean V., Mukherjee R. Kapoor A., Keyes E., Seymour C.B., Mothersill C.E., Schofield P.N. Radiation-induced genomic instability is associated with DNA methylation changes in cultured human keratinocytes. Mutat. Res. 2006. V. 597. № 1-2. P. 87-97.

349. Kennedy E. M., Powell D. R., Li Z., Bell J.S.K, Barwick B.G., Feng H., McCrary M.R., Dwivedi B., Kowalski J., Dynan W.S., Conneely K.N., Vertino P.M. Galactic Cosmic Radiation Induces Persistent Epigenome Alterations Relevant to Human Lung Cancer. Scientific Reports. 2018. V. 8. № 1. P. 6709.

350. Kim G.H., Ryan J.J., Archer S.L. The Role of Redox Signaling in Epigenetics and Cardiovascular Disease. Antioxid. Redox Signal. 2013. V. 18. № 15. P. 1920-1936.

351. Kiuru A., Auvinen A., Luokkamaki M., Makkonen K., Veidebaum T., Tekkel M., Rahu M., Hakulinen T., Servomaa K., Rytomaa T., Mustonen R. Hereditary minisatellite mutations among the offspring of Estonian Chernobyl cleanup workers. Radiat. Res. 2003. V.159. № 5. P. 651-655.

352. Kleinerman R. A., Romanyukha A. A., Schauer D. A. and Tucker J. D. Retrospective Assessment of Radiation Exposure Using Biological Dosimetry: Chromosome Painting, Electron Paramagnetic Resonance and the Glycophorin A Mutation Assay. Radiat. Res. 2006. № 166. P. 287–302.

353. Kodaira M., Satoh C., Hiyama K. and Toyama K. Lack of effects of atomic bomb radiation on genetic instability of tandem-repetitive elements in human germ cells. Am. J. Hum. Genet. 1995. V. 57. № 6. P. 1275-1283.

354. Kodaira M., Izumi S., Takahashi N. and Nakamura N. No evidence of radiation effect on mutation rates at hypervariable minisatellite loci in the germ cells of atomic bomb survivors. 2004. Radiat. Res.V.162. P. 350-356.

355. Kodaira M., Ryo H., Kamada N., Furukawa K., Takahashi N., Nakajima H., Nomura T., Nakamura N. No Evidence of Increased Mutation Rates at Microsatellite Loci in Offspring of A-bomb Survivors**.** Radiat Res. 2010. V. 173. № 2. P. 205-213.

356. Kong A., Frigge M.L., Masson G., Besenbacher S., Sulem P., Magnusson G. et al. Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk. Nature. 2012. V. 488. P. 471-475.

357. Kongruttanachok N., Phuangphairoj C., Thongnak A., Ponyeam W., Rattanatanyong P., Pornthanakasem W., Mutirangura A. Replication independent DNA double-strand break retention may prevent genomic instability. Mol. Cancer. 2010. V. 9. P. 70.

358. Koturbash I., Baker M., Loree J., Kutanzi K., Hudson D., Pogribny I., Sedelnikova O., Bonner W., Kovalchuk O. Epigenetic dysregulation underlies radiation-induced transgenerational genome instability in vivo. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2006. V. 66. № 2. P. 327-30.

359. Koturbash I., Boyko A., Rodriguez-Juarez R. Role of epigenetic effectors in maintenance of the long-term persistent bystander effect in spleen in vivo. Carcinogenesis. 2007. V. 28. № 8. P. 1831-8.

360. Koturbash I., Kutanzi K., Hendrickson K., Rodriguez-Juarez R., Kogosov D., Kovalchuk O. Radiation-induced bystander effects in vivo are sex specific. Mutat. Res. 2008. V. 642. № 1-2. P. 28-36.

361. Koturbash I., Loree J., Kutanzi K., Koganow C., Pogribny I., Kovalchuk O. In vivo bystander effect: cranial X-irradiation leads to elevated DNA damage, altered cellular proliferation and apoptosis, and increased p53 levels in shielded spleen. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2008. V.70. № 2. P. 554-62.

362. Koturbash I., Miousse I.R., Sridharan V., Nzabarushimana E., Skinner C.M., Melnyk S.B., Pavliv O., Hauer-Jensen M., Nelson G.A., Boerma M. Radiation- induced changes in DNA methylation of repetitive elementsin the mouse heart. Mutat. Res. 2016. V. 787. P. 43–53.

363. Koturbash I., Rugo R.E., Hendricks C.A., Loree J., Thibault B., Kutanzi K., Pogribny I., Yanch J.C., Engelward B.P., Kovalchuk O. Irradiation induces DNA damage and modulates epigenetic effectors in distant bystander tissue in vivo. Oncogene. 2006. V. 25. № 31. P. 4267-75.

364. Koturbash I., Zemp F., Kolb B., Kovalchuk O. Sex-specific radiation-induced microRNAome responses in the hippocampus, cerebellum and frontal cortex in a mouse model. Mutat. Res. 2011. V.722. № 2. P.114-8.

365. Kovalchuk O., Burke P., Arkhipov A., Kuchma N., James S.J., Kovalchuk I., Pogribny I. Genome hypermethylation in *Pinus sylvestris* of Chernobyl – a mechanism for radiation adaptation? Mutat. Res. 2003. V. 529. № 1-2. P.13-20.

366. Kovalchuk O., Burke P., Besplug J., Slovack M., Filkowski J., Pogribny I. Methylation changes in muscle and liver tissues of male and female mice exposed to acute and chronic low-dose X-ray-irradiation . Mut. Res. 2004. V. 548. № 1-2. P. 75-84.

367. Krangel M.S. Mechanics of T cell receptor gene rearrangement. Curr Opin Immunol. 2009. V. 21. № 2. P. 133-139.

368. Kraus-Perrotta C., Lagalwar S. Expansion, Mosaicism and Interruption: Mechanisms of the CAG Repeat Mutation in Spinocerebellar Ataxia Type 1. Cerebellum Ataxias. 2016. V.3. P. 20.

369. Kuhmann C., Weichenhan D., Rehli M., Plass C., Schmezer P., Popanda O. et al. DNA methylation changes in cells regrowing after fractioned ionizing radiation. Radiother. Oncol. 2011. V. 101. № 1. P. 116-121.

370. Kulis M., Queirós A.C., Beekman R., Martín-Subero J.I. Intragenic DNA methylation in transcriptional regulation, normal differentiation and cancer. Biochim. Biophys. Acta. 2013. V. 1829. № 11. P. 1161-74.

371. Kuz’mina Nina S.,. Suskova Victoriya S, Aghajanyan Anna V., Suskov Igor I. The problem of induced genomic instability in children born from irradiated parents: individual peculiarities of expression, significance of genotype, role in

biological resistance of an organism. In book: Seminar of Ecology (ISBN 978-954-397-031-5). 2012. Sofia. P. 93-106.

372. Kuzmina Nina S., Myazin Andrey E., Lapteva Nellya Sh., Rubanovich Alexander B., The study of hypermethylation in irradiated parents and their children blood leukocytes. Central European Journal of Biology. 2014. V. 9. № 10. P. 941-950.

373. Kuzmina Nina S., Lapteva Nellya Sh., Rubanovich Alexander B., Hypermethylation of gene promoters in peripheral blood leukocytes in humans long term after radiation exposure. Environmental Research. 2016. V. 146. P. 10-17.

374. Kuzmina Nina S., Lapteva Nellya Sh., Rusinova Galina G., Azizova Tamara V., Vyazovskaya Natalya S., Rubanovich Alexander B., Gene hypermethylation in blood leukocytes in humans long term after radiation exposure – validation set. Environmental Pollution. 2018. V. 234. P. 935-942.

375. Kuzmina N. S., Lapteva N. Sh., Rusinova G. G., Azizova T.V., Vyazovskaya N. S., Rubanovich A. V. Dose dependence of hypermethylation of gene promoters in blood leukocytes in humans occupationally exposed to external gamma radiation. Biology Bulletin. 2019. V. 46. № 11. P. 1563-1569.

376. Kuzmina N. S., Luong T. M., and. Rubanovich A. V. Changes in DNA Methylation Induced by Dioxins and Dioxin-Like Compounds as Potential Predictor of Disease Risk. Russian Journal of Genetics. 2020. V. 56. № 10. P. 1180-1192.

377. Kwabi-Addo B., Chung W., Shen L., Ittmann M., Wheeler T., Jelinek J., Issa J.P. Agerelated DNA methylation changes in normal human prostate tissues. Clin. Cancer. Res. 2007. V. 13. № 13. P. 3796–3802.

378. Kyoizumi S., Nakamura N., Hakoda M., Awa A.A., Bean M.A., Jensen R.H., Akiyama M. Detection of somatic mutations at the glycophorin A locus in erythrocytes of atomic bomb survivors using a single beam flow sorter. Cancer Res.1989. V. 49. № 3. P.581-8.

379. Kyoizumi, S., Umeki, S., and Akiyama, M., Hirai, Y.,Kusunoki, Y., Nakamura, N., Endoh, K., Konishi, J., Sasaki,M., Mori, T., Fujita, S., Cologne, J. B. Frequency ofmutant T lymphocytes defective in the expression of the T-cell antigen receptor gene among radiation-exposed people. Mutat. Res. 1992. V. 265. P. 173–180.

380. Kyoizumi S, Akiyama M, Cologne JB, Tanabe K, Nakamura N, Awa AA, Hirai Y, Kusunoki Y, Umeki S. Somatic cell mutations at the glycophorin A locus in erythrocytes of atomic bomb survivors: implications for radiation carcinogenesis. Radiat Res. 1996. V. 146. № 1. P. 43-52.

381. Lahtz C., Bates S. E., Jiang Y., Li A.X., Wu X., Hahn M.A., Pfeifer G.P. Gamma Irradiation Does Not Induce Detectable Changes in DNA Methylation Directly following Exposure of Human Cells. PLoS One. 2012. V.7. № 9. e44858.

382. Lakshmi Sana V.V., Naushad S.M., Reddy C.A., Saumya K., Rao D.S., Kotamraju S., Kutala V.K. Oxidative stress in coronary artery disease: epigenetic perspective. Mol. Cell. Biochem. 2013. V. 374. № 1-2. P. 203-211.

383. Langevin S.M., Houseman E.A., Accomando W.P., Koestler D.C., Christensen B.C., Nelson H.H. Leukocyte-adjusted epigenome-wide association studies of blood from solid tumor patients. Epigenetics. 2014. V. 9. № 6.
P. 884-895.

384. Langlois R.G., Bigbee W.L., Kyoizumi S., Nakamura N., Bean M.A., Akiyama M., Jensen RH. Evidence for increased somatic cell mutations at the glycophorin A locus in atomic bomb survivors. Science. 1987. V. 236. № 4800. P. 445-8.

385. Langlois R.G., Nisbet B.A., Bigbee W.L., Ridinger D.N., Jensen R.H. An improved flow cytometric assay for somatic mutations at the glycophorin A locus in humans. Cytometry. 1990. V.11. № 4. P. 513-21.

386. Langlois R.G., Akiyama M., Kusunoki Y., DuPont B.R., Moore D.H 2nd, Bigbee W.L., Grant S.G., Jensen R.H. Analysis of somatic cell mutations at

the glycophorin A locus in atomic bomb survivors: a comparative study of assay methods. Radiat Res. 1993. V. 136. № 1. P. 111-7.

387. Le Gallo M., Poissonnier A., Blanco P., Legembre P. CD95/Fas, Non-Apoptotic Signaling Pathways, and Kinases. *Front Immunol*. 2017. V. 8. P. 1216.

388. Lee Y., Kim Y.J., Choi Y.J., Lee J.W., Lee S., Cho Y.H., Chung H.W. Radiation-induced changes in DNA methylation and their relationship to chromosome aberrations in nuclear power plant workers. Int. J. Radiat. Biol. 2015. V. 91. № 2. P. 142–9.

389. Levi B.P., Morrison S.J. Stem cells use distinct self-renewal programs at different ages. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 2008. V. 73. P. 539–553.

390. Levine M.E., Lu A.T., Chen B.H., Hernandez D.G., Singleton A.B., Ferrucci L., Bandinelli S., Salfati E., Manson J.E., Quach A., Kusters C.D., Kuh D., Wong A., Teschendorff A.E., Widschwendter M., Ritz B.R., Absher D., Assimes T.L., Horvath S. Menopause accelerates biological aging. PNAS. 2016. V. 113. № 33. P. 9327-9332.

391. Lima F., Ding D., Goetz W., Yang A.J., Baulch J.E. High LET ^{56}Fe Ion Irradiation Induces Tissue-Specific Changes in DNA Methylation in the Mouse. Environ. Mol. Mutagen. 2014. V. 55. № 3. P. 266-277.

392. Lin R.K., Wu C.Y., Chang J.W., Juan L.J., Hsu H.S., Chen C.Y., Lu Y.Y., Tang Y.A., Yang Y.C., Yang P.C., Wang Y.C. Dysregulation of p53/Sp1 control leads to DNA methyltransferase-1 overexpression in lung cancer. Cancer Res. 2010. V 70. № 14. P. 5807–5817.

393. Lindholm C., Murphy B.P., Bigbee W.L., Bersimbaev R.I., Hultén M.A., Dubrova Y.E., Salomaa S. Glycophorin A somatic cell mutations in a population living in the proximity of the Semipalatinsk nuclear test site. Radiat Res. 2004. V. 162. № 2. P. 164-70.

394. Lipkova J., Bienertova-Vasku J.A., Spinarova L., Bienert P., Hlavna M., Pavkova Goldbergova M., Parenica J., Spinar J., Vasku A. Per3 VNTR Polymorphism and Chronic Heart Failure. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2014. V.158. № 1. P. 80-3.

395. Little M.P. Germline Minisatellite Mutations in the Offspring of Irradiated Parents. J Radiol Prot. 2015. V. 35. № 1. P. 21-36.

396. Livingston G.K., Jensen R.H., Silberstein E.B., Hinnefeld J.D., Pratt G., Bigbee W.L., Langlois R.G., Grant S.G., Shukla R. Radiobiological evaluation of immigrants from the vicinity of Chernobyl. Int J Radiat Biol. V. 72. № 6. 1997. P. 703-713.

397. Livshits L.A., Malyarchuk S.G., Luk`yanova E.M., Antipkin Y.G., Arabskaya L.P., Kravchenko S.A., Matsuka G.N., Petit E., Giraudeau F., Le Guen B., Vergnaud G. Hereditable mutations at some minisatellite loci analysis in children of liquidators of Chernobyl accident consequences. Int. J. Radiat. Med. 1999. V. 1. № 1. P. 101-106.

398. Livshits L.A., Malyarchuk S.G., Lukyanova E.M. Children of Chernobyl cleanup workers do not show elevated rates of mutations in minisatellite alleles. 2001. Radiat. Res. V. 155. P. 74-80.

399. Lorat Y., Timm S., Jakob B., Taucher-Scholz G., Rübe C.E. Clustered double-strand breaks in heterochromatin perturb DNA repair after high linear energy transfer irradiation. Radiother. Oncol. 2016. V. 121. № 1. P. 154–161.

400. Loree J., Koturbash I., Kutanzi K. Baker M, Pogribny I, Kovalchuk O. Radiation-induced molecular changes in rat mammary tissue: possible implications for radiation-induced carcinogenesis . Int. J. Radiat. Biol. 2006. V.82. № 11. P. 805-15.

401. Lund J. B., Li S., Baumbach J., Svane A.M., Hjelmborg J., Christiansen L., Christensen K., Redmond P., Marioni R.E., Deary I.J., Tan Q. DNA methylome profiling of all-cause mortality in comparison with age-associated methylation patterns. Clin. Epigenet. 2019. V. 11. P. 23.

402. Luzhna L., Ilnytskyy Ya., Kovalchuk O. Mobilization of LINE-1 in irradiated mammary gland tissue may potentially contribute to low dose radiation-induced genomic instability. Genes Cancer. 2015. V. 6. № 1-2. P. 71-81.

403. Lyon C.M., Klinge D.M., Liechty K.C., Gentry F.D., March T.H., Kang T., Madrigano J., Baccarelli A., Mittleman M.A., Sparrow D., Vokonas P.S.,

Tarantini L., Schwartz J. Aging and epigenetics: longitudinal changes in gene-specific DNA methylation. Epigenetics. 2012. V. 7. № 1. P. 63-70.

404. Maegawa S., Hinkal G., Kim H. S., Shen L., Zhang L., Zhang J., Zhang N., Liang S., Donehower L.A., Issa J.P. Widespread and tissue specific age-related DNA methylation changes in mice. Genome Res. 2010. V. 20. P. 332-340.

405. Maegawa S., Hinkal G., Kim H.S., Shen L., Zhang L., Zhang J., Zhang N., Liang S., Donehower L.A., Issa J.P. Widespread and tissue specific age-related DNA methylation changes in mice. Genome Res. 2010. V. 20. № 3. P. 332–340.

406. Maierhofer A., Flunkert J., Dittrich M., Müller T., Schindler D., Nanda I., Malhotra J.D., Kaufman R.J. The Endoplasmic Reticulum and the Unfolded Protein Response. Semin. Cell Dev. Biol. 2007. V. 18. № 6. P. 716–731.

407. Maltseva D.V, Gromova E.S. Interaction of murine dnmt3a with DNA containing O6-methylguanine. Biochemistry. 2010. V. 75. № 2. P. 173-81.

408. Manolio T.A, Collins F.S., Cox N.J. et al. Finding the missing heritability of complex diseases. Nature. 2009. V. 461. № 7265. P. 747-53.

409. Marioni R.E., Shah S., McRae A.F. Ritchie S.J., Muniz-Terrera G., Harris S.E., Gibson J., Redmond P., Cox S.R., Pattie A., Corley J., Taylor A., Murphy L., Starr J.M., Horvath S., Visscher P.M., Wray N.R., Deary I.J. The epigenetic clock is correlated with physical and cognitive fitness in the Lothian Birth Cohort 1936. Int. J. Epidemiol. 2015. V.44. № 4. P. 1388–1396.

410. Marioni R.E., Shah S., McRae A.F., Chen B.H, Colicino E., Harris S.E., Gibson J., Henders A.K., Redmond P., Cox S.R., Pattie A., Corley J., Murphy L., Martin N.G., Montgomery G.W., Feinberg A.P., Fallin M.D., Multhaup M.L., Jaffe A.E., Joehanes R., Schwartz J., Just A.C., Lunetta K.L., Murabito J.M., Starr J.M., Horvath S., Baccarelli A.A., Levy D., Visscher P.M., Wray N.R., Deary I.J. DNA methylation age of blood predicts all-cause mortality in later life. Genome Biology. 2015. V. 16. № 1. P. 25.

411. Marples B, Collis SJ. Low-dose hyper-radiosensitivity: past, present, and future. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2008. V. 70. № 5. P. 1310-8.

412. Martin E. M., Fry R. C. Environmental influences on the epigenome: exposure-associated DNA methylation in human populations. Annu. Rev. Public Health. 2018. V. 39. P. 309-333.

413. Martin L.M., Marples B., Lynch T.H., Hollywood D., Marignol L. Exposure to low dose ionising radiation: molecular and clinical consequences. Cancer Lett. 2013. V. 338. № 2. P. 209-18.

414. Matsubayashi H., Sato N., Brune K., Blackford A.L., Hruban R.H., Canto M., Yeo C.J., Goggins M. Age- and disease-related methylation of multiple genes in nonneoplastic duodenum and in duodenal juice. Clin. Cancer Res. 2005. V. 11. № 2. P. 573-583.

415. Maunakea A.K, Nagarajan R.P., Bilenky M., Ballinger T.J., D'Souza C., Fouse S.D., Johnson B.E., Hong C., Nielsen C., Zhao Y., Turecki G., Delaney A., Varhol R., Thiessen N., Shchors K., Heine V.M., Rowitch D.H., Xing X., Fiore C., Schillebeeckx M., Jones S.J., Haussler D., Marra M.A., Hirst M., Wang T., Costello J.F. Conserved role of intragenic DNA methylation in regulating alternative promoters. Nature. 2010. V. 466. № 7303. P. 253-7.

416. May C.A., Tamaki K., Neumann R., Wilson G., Zagas G., Pollack A., Dubrova Y.E., Jeffreys A.J., Meistrich M.L. Minisatellite mutation frequency in human sperm following radiotherapy. 2000. Mutat. Res. V. 44. P. 73-80.

417. Maznik N.A., Vinnikov V.A. The dynamics of the cytogenetic effects in the peripheral blood lymphocytes of those who worked in the cleanup of the aftermath of the accident at Chernobyl Atomic Electric Power Station. Tsitol Genet. 1997. V. 31. № 6. P. 41-7.

418. Mcclay J.L., Aberg K.A., Clark S.L., Nerella S., Kumar G., Xie L.Y., Hudson A.D., Harada A., Hultman C.M., Magnusson P.K., Sullivan P.F., Van Den Oord E. J. A methylome-wide study of aging using massively parallel sequencing of the methyl-CpG-enriched genomic fraction from blood in over 700 subjects. Hum. Mol. Genet. 2014. V. 23. № 5. P. 1175–1185.

419. Merrifield M., Kovalchuk O. Epigenetics in radiation biology: a new research frontier. Frontiers in Genetics. 2013. V. 4. № 40. P. 1-16.

420. Miccoli L., Burr K.L.-A., Hickenbotham P., Friedberg E.C., Angulo J.F., Dubrova Y.E. The combined effects of xeroderma pigmentosum C deficiency and mutagens on mutation rates in the mouse germline. Cancer Res. 2007. V.67. P. 4695–4699.

421. Mikhalevich L. S., De Zwart F. A., Perepetskaya G. A., Chebotareva N. V., Mikhalevich E. A., Tates A. D. Radiation effects in lymphocytes of children living in a Chernobyl contaminated region of Belarus. Int J Radiat Biol. V. 76. № 10. 2000. P. 1377-1385.

422. Miles E.F., Tatsukawa Y., Funamoto S., Kamada N., Nakashima E., Kodama Y., Seed T., Kusonoki Y., Nakachi K., Fujiwara S., Akahoshi M., Neriishi K. Biomarkers of Radiosensitivity in A-Bomb Survivors Pregnant at the Time of Bombings in Hiroshima and Nagasaki. ISRN Obstet Gynecol. 2011. V. 2011. P. 264978.

423. Miousse I.R., Chang J., Shao L., Pathak R., Nzabarushimana É., Kutanzi K.R., Landes R.D., Tackett A.J., Hauer-Jensen M., Zhou D., Koturbash I. Inter-Strain Differences in LINE-1 DNA Methylation in the Mouse Hematopoietic System in Response to Exposure to Ionizing Radiation. Int. J. Mol. Sci. 2017. V. 18. № 7. E. 1430.

424. Miousse I.R., Shao L., Chang J., Feng W., Wang Y., Allen A.R., Turner J., Stewart B., Raber J., Zhou D., Koturbash I. Exposure to low-dose 56Fe-ion radiation induces long- term epigenetic alterations in mouse bone marrow hematopoietic progenitor and stem cells. Radiat. Res. 2014. V. 182. № 1. P. 92–101.

425. Mirkin S.M. Expandable DNA Repeats and Human Disease. Nature. 2007. V. 447. № 7147. P. 932-40.

426. Mistry H., Tamblyn L., Butt H., Sisgoreo D., Gracias A., Larin M., Gopalakrishnan K., Hande M.P., McPherson J.P. UHRF1 is a genome caretaker that facilitates the DNA damage response to gamma-irradiation. Genome Integr. 2010. V. 1. № 1. P.7.

427. Montoro A., Rodríguez P., Almonacid M., Villaescusa J.I., Verdú G., Caballín M.R., Barrios L., Barquinero J.F. Biological dosimetry in a group of radiologists by the analysis of dicentrics and translocations. Radiat Res. 2005. V. 164. № 5. P. 612-617.

428. Montoro A., Sebastià N., Candela-Juan C., Barquinero J. F., Soriano J. M., Almonacid M., Alonso O., Guasp M., Marques-Sule E., J., Such E., Arnal C., J. I. Villaescusa. Frequency of dicentrics and contamination levels in Ukrainian children and adolescents from areas near Chernobyl 20 years after the nuclear plant accident. Int J Radiat Biol. 2013. V. 89. № 11. P. 944-949.

429. Morano A., Angrisano T., Russo G., Landi R., Pezone A., Bartollino S., Zuchegna C., Babbio F., Bonapace I.M., Allen B., Muller M.T., Chiariotti L., Gottesman M.E., Porcellini A., Avvedimento E.V. Targeted DNA methylation byhomology-directed repair in mammalian cells. Transcription reshapes methylation on the repaired gene. Nucleic Acids Res. 2014. V. 42. № 2. P. 804-821.

430. Morgan W.F. Non-targeted and Delayed Effects of Exposure to Ionizing Radiation: I. Radiation-Induced Genomic Instability and Bystander Effects In Vitro. Radiat. Res. 2003. V. 159. Issue 5. P. 567-580.

431. 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. Radiat. Res. 2003. V. 159. Issue 5. P. 581-596.

432. Morse B., Rotherg P.G., South V.J. Spandorfer JM, Astrin SM. Insertional mutagenesis of the myc locus by a LINE- 1 sequence in a human breast carcinoma. Nature. 1988. V.333. № 6168. P.87-90.

433. Mortusewicz O., Schermelleh L., Walter J. Recruitment of DNA methyltransferase I to DNA repair sites. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2005. V. 102. № 25. P.8905-9.

434. Mothersill C., Rusin A., Fernandez-Palomo C., Seymour C. History of bystander effects research 1905-present; what is in a name? Int. J. Radiat. Biol. 2018 V. 94, N. 8. P 696–707.

435. Mudbhary R., Hoshida Y., Chernyavskaya Y., Jacob V., Villanueva A., Fiel M.I., Chen X., Kojima K., Thung S., Bronson R.T., Lachenmayer A., Revill K., Alsinet C., Sachidanandam R., Desai A., SenBanerjee S., Ukomadu C., Llovet J.M., Sadler K.C. UHRF1 overexpression drives DNA hypomethylation and hepatocellular carcinoma. Cancer Cell. 2014. V. 25. № 2. P. 196–209.

436. Mughal S.K., Myazin A.E., Zhavoronkov L.P., Rubanovich A.V., Dubrova Y.E. The dose and dose-rate effects of paternal irradiation on transgenerational instability in mice. A radiotherapy connection. PLoS ONE. 2012. V.7. e41300.

437. Muka T., Koromani F., Portilla E., O'Connor A., Bramer W.M., Troup J. The role of epigenetic modifications in cardiovascular disease: A systematic review. Int. J. Cardiol. 2016. V. 212. P. 174.

438. Murgatroyd C., Patchev A.V., Wu Y., Micale V., Bockmühl Y., Fischer D., Holsboer F., Wotjak C.T., Almeida O.F., Spengler D. Dynamic DNA methylation programs persistent adverse effects of early-life stress. Nature Neuroscience. 2009. V. 12. P. 1559-1566.

439. Nakamura N, Umeki S, Hirai Y, Kyoizumi S, Kushiro J, Kusunoki Y, Akiyama M. Evaluation of four somatic mutation assays for biological dosimetry of radiation-exposed people including atomic bomb survivors. Prog Clin Biol Res. 1991. V. 372. P. 341-50.

440. Nakamura N., Suyama A., Noda A., Kodama Y. Radiation Effects on Human Heredity. Annu Rev Genet. 2013. V. 47. P. 33-50.

441. Nandakumar V., Vaid M., Tollefsbol T.O., Katiyar S.K. Aberrant DNA hypermethylation patterns lead to transcriptional silencing of tumor suppressor genes in UVB-exposed skin and UVB-induced skin tumors of mice. Carcinogenesis. 2011. V. 32. № 4. P. 597–604.

442. Näslund K., Saetre P., Salomé J., Bergström T. F., Jareborg N., Jazin E.Genome-wide prediction of human VNTRs. Genomics. 2005. V. 85. № 1. P. 24-35.

443. Nastiukova V.V., Stepanova E.I., Glazko V.I. Cytogenetic effects in children exposed to low doses of ionizing radiation. Tsitol Genet. 2002. V. 36. № 6. P. 38-45.

444. Neel J.V., Satoh C., Goriki K., Asakawa J., Fujita M., Takahashi N., Kageoka T., Hazama R. Search for mutations altering protein charge and/or function in children of atomic bomb survivors: final report. Am. J. Hum. Genet. 1988. V. 42. № 5. P. 663-676.

445. Neel J.V., Schull W.J., Awa A.A., Satoh C., Kato H., Otake M., Yoshimoto Y. The children of parents exposed of the genetic doubling dose of radiation for humans. Am.J.Hum.Genet. 1990. V. 46. № 6. P. 1053-72.

446. Neel J.V. Genetic studies at the atomic bomb casualty commission-radiation effects research foundation: 1946-1997. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V.95. P. 5432-5436.

447. Neronova E, Slozina N., Nikiforov A. Chromosome alterations in cleanup workers sampled years after the Chernobyl accident. Radiat Res. 2003. V. 160. № 1. P. 46-51.

448. Newman M. R., Sykes P. J., Blyth B. J., Bezak E., Lawrence M.D., Morel K.L., Ormsby R.J. The Methylation of DNA Repeat Elements is Sex-Dependent and Temporally Different in Response to X Radiation in Radiosensitive and Radioresistant Mouse Strains. Radiat. Res. 2014. V. 181. № 1. P. 65-75.

449. Nikiforov Y.E., Nikiforova M., Fagin J.A. Prevalence of Minisatellite and Microsatellite Instability in Radiation-Induced post-Chernobyl Pediatric Thyroid Carcinomas. Oncogene. 1998. V. 17. № 15. P. 1983-8.

450. Nomura T., Baleva L.S., Ryo H., Adachi Sh., Sipyagina A.E., Karakhan N.M. Transgenerational effects of radiation on cancer and other disorders in mice and humans. Journal of Radiation and Cancer Research. 2017. T. 8. № 3. C. 123-134.

451. Nugis V.Y., Nadejina N.M., Galstyan I.A., Dubochkina N.E., Kozlova M.G., Sevan'kaev A.V., Khvostunov I.K., Golub E.V. The results of 25 years of cytogenetic investigation of survivors who were exposed to different doses of irradiation during the chernobyl accident. Biophysics. 2011. T. 56. № 3. C. 537-545.

452. Nzabarushimana E., Miousse I.R., Shao L., Chang J., Allen A.R., Turner J., Stewart B., Raber J., Koturbash I. Long-term epigenetic effects of exposure to low doses of 56Fe in the mouse lung. Journal of Radiation Research. 2014. V. 55. № 4. P. 823–828.

453. O'Hagan H. M. Chromatin modifcations during repair of environmental exposure-induced DNA damage: a potential mechanism for stable epigenetic alterations. Environ. Mol. Mutagen. 2014. V. 55. № 3. P. 278–291.

454. O'Hagan H. M., Mohammad H. P., Baylin S. B. Double strand breaks can initiate gene silencing and SIRT1-dependent onset of DNA methylation in an exogenous promoter CpG island. PLoS Genet. 2008. V. 4. № 8. e1000155.

455. O'Hagan H. M., Wang W., Sen S., Destefano Shields C., Lee S.S., Zhang Y.W., Clements E.G., Cai Y., Van Neste L., Easwaran H., Casero R.A., Sears C.L., Baylin S.B. Oxidative damage targets complexes containing DNA methyltransferases, SIRT1, and polycomb members to promoter CpG Islands Cancer Cell. 2011. V. 20. № 5. P. 606–619.

456. Olovnikov I.A., Kravchenko J.E., Chumakov P.M. Homeostatic functions of the p53 tumor suppressor: regulation of energy metabolism and antioxidant defense. Semin Cancer Biol. 2009. № 19. P. 32-41.

457. Ozasa K., Cullings H.M., Ohishi W., Hida A., Grant E.J. Epidemiological studies of atomic bomb radiation at the Radiation Effects Research Foundation. Int J Radiat Biol. 2019. V. 95. № 7. P. 879-891.

458. Pacheco A., Berger R., Freedman R., Law A.J. A VNTR Regulates miR-137 Expression Through Novel Alternative Splicing and Contributes to Risk for Schizophrenia. Sci Rep. 2019. V. 9. № 1. P. 11793.

459. Padovani L., Stronati L., Mauro F., Testa A., Appolloni M., Anzidei P., Caporossi D., Tedeschi B., Vernole P. Cytogenetic effects in lymphocytes from children exposed to radiation fall-out after the Chernobyl accident. Mutat. Res. 1997. V. 395. P. 249-254.

460. Peterson E.J., Bogler O., Taylor S.M. p53-mediated repression of DNA methyltransferase 1 expression by specific DNA binding. Cancer Res 2003. V. 63. № 20. P. 6579–6582.

461. Petronis A., Gottesman I.I., Kan P., Kennedy J.L., Basile V.S., Paterson A.D., Popendikyte V. Monozygotic twins exhibit numerous epigenetic differences: clues to twin discordance? Schizophr Bull. 2003. V.29. № 1. P. 169-78.

462. Pfeifer G.P. Mutagenesis at methylated CpG sequences. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 2006. V. 301. P. 259–81.

463. Pilinskaia M.A., Shemetun A.M., Dybskiĭ S.S., Red'ko D.V., Znaevskaia I.A. The detection of multiaberrant lymphocytes in the cytogenetic examination of different groups of people in contact with mutagenic factors. Tsitol Genet. 1994. V. 28. № 1. P. 27-32.

464. Pilinskaya M.A. The results of selective cytogenetic monitoring of Chernobyl accident victims in the Ukraine. Health Phys. 1996. V. 71. № 1. P. 29-33.

465. Pilinskaya M.A., Dybskiy S.S., Dybskaya Ye.B., Pedan L.R. Radiation induced modification of human somatic cells chromosomes sensitivity to the testing mutagenic exposure of bleomycin. Tsitol Genet. 2010. V. 44. № 2. P. 58-64.

466. Pogribny I., Koturbash I., Tryndyak V., Hudson D., Stevenson S.M., Sedelnikova O., Bonner W., Kovalchuk O. Fractionated low-dose radiation exposure leads to accumulation of DNA damage and profound alterations in DNA and histone methylation in the murine thymus. Mol. Cancer Res. 2005. V. 3. № 10. P. 553-61.

467. Pogribny I., Raiche J., Slovack M., Kovalchuk O. Dose-dependence, sex-and tissue-specificity, and persistence of radiation-induced genomic DNA

methylation changes. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2004. V. 320. № 4. P. 1253-61.

468. Pogribny I.P., Tryndyak V.P., Bagnyukova T.V., Melnyk S., Montgomery B., Ross S.A., Latendresse J.R., Rusyn I., Beland F.A. Hepatic epigenetic phenotype predetermines individual susceptibility to hepatic steatosis in mice fed a lipogenic methyl-deficient diet. J. Hepatol. 2009. V. 51. № 1. P. 176–86.

469. Popova N.A., Nazarenko L.P., Nazarenko S.A. Multiaberrant cell formation caused by exposure to internal densely-ionizing irradiation. Genetika. 2004. V. 40. № 12. P. 1709-13.

470. Pornthanakasem W., Kongruttanachok N., Phuangphairoj C., Suyarnsestakorn C., Sanghangthum T., Oonsiri S., Ponyeam W., Thanasupawat T. Matangkasombut O., Mutirangura A. LINE-1 methylation status of endogenous DNA double-strand breaks. Nucleic Acids Research. 2008. V.36. № 11. P. 3667–3675.

471. Prior S., Miousse I. R., Nzabarushimana E., Pathak R., Skinner C., Kutanzi K.R., Allen A.R., Raber J., Tackett A.J., Hauer-Jensen M., Nelson G.A., Koturbash I. Densely ionizing radiation affects DNA methylation of selective LINE-1 elements. Environ. Res. 2016. V. 150. P. 470–481.

472. Prithivirajsingh S., Story M.D., Bergh S.A., Geara F.B., Ang K.K., Ismail S.M., Stevens C.W., Buchholz T.A., Brock W.A. Accumulation of the common mitochondrial DNA deletion induced by ionizing radiation. FEBS Lett. 2004. V. 571. № 1-3. P. 227-232.

473. Raddatz G., Hagemann S., Aran D., Söhle J., Kulkarni P.P., Kaderali L., Hellman A., Winnefeld M., Lyko F. Aging is associated with highly defined epigenetic changes in the human epidermis. Epigenet. Chromatin. 2013. V. 6. № 1. P. 36.

474. Raiche J., Rodriguez-Juarez R., Pogribny I., Kovalchuk O. Sex- and tissue-specific expression of maintenance and de novo DNA methyltransferases

upon low dose X- irradiation in mice. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2004. V. 325. № 1. P. 39-47.

475. Rakova I.A. Methylation of newly synthesized DNA in rat bone marrow and thymus after Irradiation. Radiobiologiia. 1979. V.19. № 3. P. 413 - 416.

476. Rees G.S., Trikic M.Z., Winther J.F., Tawn E.J., Stovall M., Olsen J.H., Rechnitzer C., Schroder H., Guldberg P., Boice J.D. jr. A pilot study examining germline minisatellite mutations in the offspring of Danish childhood and adolescent cancer survivors treated with radiotherapy. Int. J. Radiat. Biol. 2006. V.82. № 3. P. 153-160.

477. Reid S.A., Benjamin G.B., Pankaj Ch., Leila K.M., Glen A.S., Karen N.C., Stephen T.W. Age-associated DNA methylation in pediatric populations. Genome Res. 2012. V. 22. P. 623-32.

478. Roberto B., Gemignani F., Morizzo C., Lori A., Rossi A., Antonelli A., Di Pretoro G., Panasiuk G., Ballardin M. Cytogenetic damage in lymphocytes of healthy and thyroid tumor-affected children from the Gomel region (Belarus). Mutat Res. 1998. V. 405. № 1. P. 89-95.

479. Robertson K.D., Wolffe A.P. DNA methylation in health and disease. Nat Rev. 2000. V. 1. № 1. P. 11–19.

480. Robertson K.D., Jones P.A. The human ARF cell cycle regulatory gene promoter is a CpG island which can be silenced by DNA methylation and down-regulated by wild-type p53. Mol. Cell. Biol. 1998. V.18. № 11. P. 6457-73.

481. Robins H. Immunosequencing: applications of immune repertoire deep sequencing. Curr Opin Immunol. 2013. V. 25. № 5. P. 646-652

482. Rodriguez C.M., Todd P.K. New Pathologic Mechanisms in Nucleotide Repeat Expansion Disorders. Neurobiol Dis. 2019. V.130. P. 104515.

483. Rohilla K.J., Gagnon K.T. RNA Biology of Disease-Associated Microsatellite Repeat Expansions. Acta Neuropathol Commun. 2017. V. 5. № 1. P. 63.

484. Roman-Gomez J., Jimenez-Velasco A., Agirre X., Cervantes F., Sanchez J.,Garate L., Barrios M., Castillejo J.A., Navarro G., Colomer D., Prosper F., Heiniger A., Torres A. Promoter hypomethylation of the LINE-1 retrotransposable elements activates sense/antisense transcription and marks the progression of chronic myeloid leukemia. Oncogene. 2005. V. 24. № 48. P. 7213-7223.

485. Roman-Gomez J., Jimenez-Velasco A., Agirre X., Prosper F., Heiniger A., Torres A. Lack of CpG island methylator phenotype defines a clinical subtype of T-cell acute lymphoblastic leukemia associated with good prognosis. J. Clin. Oncol. 2005. V. 23 № 28. P. 7043-9.

486. Ron E. Thyroid cancer incidence among people living in areas contaminated by radiation from the Chernobyl accident. Health Phys. 2007. V. 93. № 5. P. 502-11.

487. Rufer N., Brümmendorf T.H., Kolvraa S., Bischoff C., Christensen K., Wadsworth L., Schulzer M., Lansdorp P.M. Telomere Fluorescence Measurements in Granulocytes and T Lymphocyte Subsets Point to a High Turnover of Hematopoietic Stem Cells and Memory T Cells in Early Childhood. J Exp. Med. 1999. V. 190. № 2. P. 157-167.

488. Rugo R.E., Mutamba J.T., Mohan K.N. Yee T., Chaillet J.R., Greenberger J.S., Engelward B.P. Methyltransferases mediate cell memory of a genotoxic insult. Oncogene. 2011. V. 30. № 6. P. 751-6.

489. Ruiz-Hernandez A., Kuo C. C., Rentero-Garrido P., Tang W.Y., Redon J., Ordovas J.M., Navas-Acien A., Tellez-Plaza M. Environmental chemicals and DNA methylation in adults: a systematic review of the epidemiologic evidence. Clin. Epigenet. 2015. V. 7. № 1. P. 55.

490. Sabatino L., Picano E., Andreassi M.G. Telomere shortening and ionizing radiation: a possible role in vascular dysfunction. Int J Radiat Biol. 2012. V. 88. № 11. P. 830-839.

491. Saenko A. S., Zamulaeva I. A., Smirnova S. G., Orlova N. V., Selivanova E. I., Matveeva N. P. et al. Determination of somatic mutant

frequencies at glycophorin A and T-cell receptor loci for biodosimetry of acute and prolonged irradiation. Applied Radiation and Isotopes. 2000. V. 52. № 5. P. 1145–1148.

492. Sato H., Oka T., Shinnou Y., Kondo T., Washio K., Takano M., Takata K., Morito T., Huang X., Tamura M., Kitamura Y., Ohara N., Ouchida M., Ohshima K., Shimizu K., Tanimoto M., Takahashi K., Matsuoka M., Utsunomiya A., Yoshino T. Multi-step aberrant CpG island hyper-methylation is associated with the progression of adult T-cell leukemia/lymphoma. Am. J .Pathol. 2010. V. 176 №1. P. 402-15.

493. Satoh C. and Kodaira M. Effect of radiation on children. Nature. 1996. V. 383. P. 226.

494. Satoh C., Takahashi N., Jun-ichi A. et al. Genetic analysis of children of atomic bomb survivors. Enviromental Health Perspectives. 1996. V.104. P. 511-519.

495. Scarpato R, Lori A, Panasiuk G, Barale R. FISH analysis of translocations in lymphocytes of children exposed to the Chernobyl fallout: preferential involvement of chromosome 10. Cytogenet Cell Genet. 1997. V. 79. № 1-2. P. 153-156.

496. Sen G.L., Reuter J.A., Webster D.E., Zhu L., Khavari P.A. DNMT1 maintains progenitor function in self-renewing somatic tissue. Nature. 2010. V. 463. P. 563–567.

497. Sengupta S., Harris C.C. p53: traffic cop at the crossroads of DNA repair and recombination. Nature Reviews. Molecular Cell Biology. 2005. V. 6. № 1. P. 44-55.

498. Sevan'kaev A.V., Lloyd D.C., Edwards A.A., Khvostunov I.K., Mikhailova G.F., Golub E.V., Shepel N.N., Nadejina N.M., Galstian I.A., Nugis V.Y., Barrios L., Caballin M.R., Barquinero J.F. A cytogenetic follow-up of some highly irradiated victims of the Chernobyl accident. Radiat Prot Dosimetry. 2005. V.113. № 2. P. 152-61.

499. Seyrek K., Lavrik I.N. Modulation of CD95-mediated signaling by post-translational modifications: towards understanding CD95 signaling networks. Apoptosis. 2019. V. 24. № 5-6. P. 385-394.

500. Shanks M.E., May C.A., Dubrova Y.E., Balaresque P., Rosser Z.H., Adams S.M., Jobling M.A. Complex Germline and Somatic Mutation Processes at a Haploid Human Minisatellite Shown by Single-Molecule Analysis. Mutat Res. 2008. V. 648. P. 1-2. P.46-53.

501. Sharif J., Muto M., Takebayashi S., Suetake I., Iwamatsu A., Endo T.A., Shinga J., Mizutani-Koseki Y., Toyoda T., Okamura K., Tajima S., Mitsuya K., Okano M., Koseki H. The SRA protein Np95 mediates epigenetic inheritance by recruiting Dnmt1 to methylated DNA. Nature. 2007. V. 450. P. 908-912.

502. Siegmund K.D., Connor C.M., Campan M., Long T.I., Weisenberger D.J., Biniszkiewicz D., Jaenisch R., Laird P.W., Akbarian S. DNA methylation in the human cerebral cortex is dynamically regulated throughout the life span and involves differentiated neurons. PloS One. 2007. V. 2. № 9. e895.

503. Simpkin A.J., Hemani G., Suderman M., Gaunt T.R., Lyttleton O., Mcardle W.L., Ring S.M., Sharp G.C., Tilling K., Horvath S., Kunze S., Peters A., Waldenberger M., Ward-Caviness C., Nohr E.A., Sørensen T.I., Relton C.L, Smith G.D. Prenatal and early life in fluences on epigenetic age in children: a study of mother – offspring pairs from two cohort studies. Hum. Mol. Genet. 2016. V. 25. № 1. P. 191– 201.

504. Singer T.M., Lambert Ia. B., Williams A., Douglas G. R., Yauk C. L. Detection of Induced Male Germline Mutation: Correlations and Comparisons Between Traditional Germline Mutation Assays, Transgenic Rodent Assays and Expanded Simple Tandem Repeat Instability Assays. Mutat Res. 2006. V. 598. № 1-2. P. 164-93.

505. Slebos R.J., Little R.E., Umbach D.M, Antipkin Y., Zadaorozhnaya T.D, Mendel N.A., Sommer C.A., Conway K., Parrish E., Gullino S., Taylor J.A. Mini- and microsatellite mutations in children from Chernobyl accident cleanup workers. Mut. Res. 2004. V. 559. № 1-2. P. 143-151.

506. So K., Tamura G., Honda T., Homma N., Waki T., Togawa N., Nishizuka S., Motoyama T. Multiple tumor suppressor genes are increasingly methylated with age in non-neoplastic gastric epithelia. Cancer Sci. 2006. V. 97. № 11. P. 1155-1158.

507. Somers C. M. Expanded Simple Tandem Repeat (ESTR) Mutation Induction in the Male Germline: Lessons Learned From Lab Mice. Mutat Res. 2006. V. 598. № 1-2. P. 35-49.

508. Somers C. M., McCarry B.E., Malek F., Quinn J.S. Reduction of particulate air pollution lowers the risk of heritable mutations in mice. Science. 2004. V. 304. P. 1008–1010.

509. Somers C.M., Yauk C.L., White P.A., Parfett C.L., Quinn J.S. Air pollution induces heritable DNA mutations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. V. 99. P. 15904–15907.

510. Song J., Teplova M., Ishibe-Murakami S., Patel D.J. Structure-based mechanistic insights into DNMT1-mediated maintenance DNA methylation. Science. 2012. V. 335. P. 709–712.

511. Song W.G., Liu Y.Z., Liu Y., Zhang C., Yuan B., Zhang L., Sun S. Increased P16 DNA methylation in mouse thymic lymphoma induced by irradiation. PLoS One. 2014. V.9. № 4. e93850.

512. Soriano-Tárraga K., Giralt-Steinhauer E., Mola-Caminal M. Vivanco-Hidalgo R.M., Ois A., Rodríguez-Campello A., Cuadrado-Godia E., Sayols-Baixeras S., Elosua R., Roquer J., Jiménez-Conde J. Ischemic stroke patients are biologically older than their chronological age. Aging. 2016. V.8. № 11. P. 2655–2666.

513. Stepanova E.I., Misharina J.A., Vdovenko V.U. Remote cytogenetic effects in children exposed in prenatal period after the Chernobyl NPP accident. Intern. Conf. Genetic Consequences of Emergency Radiation Situations. RF. Moscow. June 10-13. 2002. P. 185-187.

514. Su S.B., Jin Y.L., Zhang W., Yang L., Shen Y., Cao Y., Tong J. Aberrant promoter methylation of p16(INK4a) and O(6)-methylguanine-DNA

methyltransferase genes in workers at a Chinese uranium mine. J. Occup. Health. 2006. V.48. № 4. P. 261–266.

515. Suskov I.I., Kuzmina N.S. , Baleva L.S. , Sipyagina A.E. The problem of induced genome instability as the basis for elevated morbidity among children exposed by low-rate radiation at small doses. In book: 20 Years After the Chernobyl Accident: Past, Present and Future.2007. New-York, Nova Science Publishers, Inc. C. 39-54.

516. Suzuki M.M., Bird A. DNA methylation landscapes: provocative insights from epigenomics. Nat. Rev. 2008. V. 9. № 6. P. 465–476.

517. Svirnovskiĭ A.I., Ivanov E.P., Danilov I.P., Bakun A.V., Ageĭchik V.M., Ivanov V.E. Unstable chromosome aberrations in lymphocytes of liquidators of the Chernobyl accident consequences. Ter Arkh. 1998. V. 70. № 1. P. 59-63.

518. Szumiel I. Ionizing radiation-induced oxidative stress, epigenetic changes and genomic instability: The pivotal role of mitochondria. Int. J. Radiat. Biol. 2015. V. 91. № 1. P. 1-12.

519. Tahara T., Maegawa S., Chung W. Examination of whole blood DNA methylation as a potential risk marker for gastric cancer. Cancer Prev. Res. 2013. V. 6. № 10. P. 1093–1100.

520. Taiwo O., Wilson G. A., Emmett W., Morris T., Bonnet D., Schuster E., Adejumo T., Beck S., Pearce D.J. DNA methylation analysis of murine hematopoietic side population cells during aging. Epigenetics. 2013. V. 8. № 10. P. 1114–1122.

521. Tang Q., Cheng J., Cao X., Surowy H., Burwinkel B. Blood-based DNA methylation as biomarker for breast cancer: a systematic review. Clin. Epigenetics. 2016. V. 8. P. 115.

522. Tang X., Milyavsky M., Shats I., Erez N., Goldfinger N., Rotter V. Activated p53 suppresses the histone methyltransferase EZH2 gene. Oncogene. 2004. V. 23. № 34. P. 5759–5769.

523. Taooka Y., Takeichi N., Noso Y. et al. Increased T-cell receptor mutation frequency in radiation-exposed residents living near the Semipalatinsk nuclear test site. J. Radiat. Res. 2006. V. 47. Suppl A. A 179-181.

524. Tapp H. S., Commane D.M., Bradburn D. M., Arasaradnam R., Mathers J.C., Johnson I.T., Belshaw N.J. Nutritional factors and gender influence age-related DNA methylation in the human rectal mucosa. Aging Cell. 2013. № 12. P. 148-155.

525. Tawa R., Kimura Y., Komura J., Miyamura Y., Kurishita A., Sasaki M.S., Sakurai H., Ono T. Effects of X-ray irradiation on genomic DNA methylation levels in mouse tissues. J. Radiat. Res. 1998. V.39. № 4. P. 271-278.

526. Tawn E., Whitehouse C.A., Paul Daniel C., Tarone R.E., Bothwell A.M., Fisher A. Somatic cell mutations at the glycophorin a locus in erythrocytes of radiation workers from the Sellafield nuclear facility. Radiat Res. 2003. V. 159. № 1. P. 117-22.

527. Tawn E.J., Curwen G.B., Rees G.S., Jonas P. Germline minisatellite mutations in workers occupationally exposed to radiation at the Sellafield nuclear facility. J. Radiol. Prot. 2015. V. 35. P. 21–36.

528. Tawn E.J., Rees G.S., Leith C., Winther J.F., Curwen G.B., Stovall M., Olsen J.H., Rechnitzer C., Schroeder H., Guldberg P., et al. Germline minisatellite mutations in survivors of childhood and young adult cancer treated with radiation. Int. J. Radiat. Biol. 2011. V. 87. P. 330–340.

529. Teschendorff A.E., Menon U., Gentry-maharaj A., Ramus S.J., WeisenbergerD.J., Shen H., Campan M., Noushmehr H., Bell C.G., Maxwell A.P., Savage D.A., Mueller-Holzner E., Marth C., Kocjan G., Gayther S.A., Jones A., Beck S., Wagner W., Laird P.W., Jacobs IJ, Widschwendter M. Age-dependent DNA methylation of genes that are suppressed in stem cells is a hallmark of cancer. Genome Res. 2010. V. 20. № 4. P. 440–446.

530. Tharmalingam S., Sreetharan S., Kulesza A.V., Boreham D.R., Tai T.C. Low-Dose Ionizing Radiation Exposure, Oxidative Stress and Epigenetic Programing of Health and Disease. Radiat. Res. 2017. V. 188. Issue 4. P. 525-538.

531. The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. ICRP Publication 103. Ann ICRP. 2007. V. 37(2-4). P. 1-332.

532. Thibodeau S.N., French A.J., Cunningham J.M. et al. Microsatellite instability in colorectal cancer: different mutator phenotypes and the principal involvement of hMLH1. 1998. Cancer Res. V. 58. P. 1713-1718.

533. Thompson R.F., Atzmon G., Gheorghe C., Liang H.Q., Lowes C., Greally J.M., Barzilai N. Tissue-specific dysregulation of DNA methylation in aging. Aging Cell. 2010. V. 9. № 4. P. 506–518.

534. Tomso D.J., Bell D.A. Sequence context at human single nucleotidepolymorphisms: overrepresentation of CpG dinucleotide at polymorphic sitesand suppression of variation in CpG islands. J. Mol. Biol. 2003. V. 327. № 2. P. 303–8.

535. Tong J., Hei T.K. Aging and age-related health effects of ionizing radiation. http://doi.org/10.1016/j.radmp.2020.01.005

536. Tripathy A.S., Ganu M.A., Sonam L., Alagarasu K., Walimbe A.M., Thanapati S., Gupta P., Puranik S. Association of IL1RN VNTR Polymorphism With Chikungunya Infection: A Study From Western India. J Med Virol. 2019. V.91. № 11. P. 1901-1908.

537. Tryndyak V.P., Kovalchuk O., Pogribny I.P. Loss of DNA methylation and histone H4 lysine 20 trimethylation in human breast cancer cells is associated with aberrant expression of DNA methyltransferase 1, Suv4-20h2 histone methyltransferase and methyl-binding proteins. Cancer Biol. Ther. 2006. V. 5. № 1. P. 65-70.

538. Tsumura A., Hayakawa T., Kumaki Y., Takebayashi S., Sakaue M., Matsuoka C., Shimotohno K., Ishikawa F., Li E., Ueda H.R., Nakayama J., Okano M. Maintenance of self-renewal ability of mouse embryonic stem cells in the absence of DNA methyltransferases Dnmt1, Dnmt3a and Dnmt3b. Genes Cells. 2006. V.11. № 7. P. 805-14.

539. Tsyusko O., Glenn T., Yi Y., Joice G., Jones K., Aizawa K., Coughlin D., Zimbrick J., Hinton T. Differential Genetic Responses to Ionizing Irradiation in Individual Families of Japanese Medaka, Oryzias Latipes. Mutat Res. 2011. **V.** 718. № 1-2. P.18-23.

540. Tsyusko O., Yi Y., Coughlin D., Main D., Podolsky R., Hinton T.G., Glenn T.C. Radiation-induced Untargeted Germline Mutations in Japanese Medaka. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. 2007. **V.**145. № 1. P. 103-10.

541. Turrens J.F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. J Physiol. 2003. V. 552. № 2. P. 335-44.

542. Ueyama M., Nagai Y. Repeat Expansion Disease Models. Adv Exp Med Biol. 2018. V. 1076. P. 63-78.

543. United Nations Scientific Committe of the effects of Atomic Radiation (UNSCEAR) 2010. Report of the United Nations Scientific Committe of the effects of Atomic Radiation 2010. New York: United Nations. P. 1-14.

544. UNSCEAR. Hereditary Effects of Radiation. N.Y.: United Natioons. 2001. 160 p.

545. Ushijima T., Watanabe N., Okochi E., Kaneda A., Sugimura T., Miyamoto K. Fidelity of the Methylation Pattern in the genome. Genome Res. 2003. V. 13. № 5. P. 868–874.

546. Valenzuela M.T., Galisteo R., Zuluaga A., Villalobos M., Núñez M.I., Oliver F.J., Ruiz de Almodóvar J.M. Assessing the Use of p16INK4a Promoter Gene Methylation in Serum for Detection of Bladder Cancer. European Urology. 2002. V. 42. № 6. P. 622-630.

547. Van Otterdijk S.D., Mathers J.C., Strathdee G. Do age-related changes in DNA methylation play a role in the development of age-related diseases? Biochemical Society Transactions. 2013. V. 41. № 3. P. 803-807.

548. Veremeyeva G., Akushevich I., Pochukhailova T., Blinova E., Varfolomeyeva T., Ploshchanskaya O., Khudyakova O., Vozilova A., Kozionova

O., Akleyev A. Long-term cellular effects in humans chronically exposed to ionizing radiation. Health Phys. 2010. V. 99. № 3. P. 337-346.

549. Vergnaud G., Denoeud F. Minisatellites: Mutability and genome architecture. Genome Res. 2000. V.10. P. 899–907.

550. Visscher P.M., Brown M.A., McCarthy M.I., Yang J. Five years of GWAS discovery. Am J Hum Genet. 2012. V.90. № 1. P. 7-24.

551. Volkova P.Yu., Geras'kin S.A., Horemans N., Makarenko E.S., Saenen E., Duarte G.T., Nauts R., Bondarenko V.S., Jacobs G., Voorspoels S., Kudin M. Chronic radiation exposure as an ecological factor: Hypermethylation and genetic differentiation in irradiated Scots pine populations. Environ. Pollut. 2018. V. 232. P. 105-112.

552. von Zglinicki T. Oxidative stress shortens telomeres. Trends Biochem Sci. 2002. V. 27. № 7. P. 339-344.

553. Vos M. D, Ellis C.A., Bell A., Birrer M.J., Clark G.J. Ras Uses the Novel Tumor Suppressor RASSF1 as an Effector to Mediate Apoptosis. J. Biol. Chem. 2000. V. 275. P. 35669-35672.

554. Vousden K.H., Lane D.P. p53 in health and disease. Nature Reviews. Molecular Cell Biology. 2007. V. 8. № 4. P. 275-283.

555. Vozilova A.V., Shagina N.B., Degteva M.O., Akleyev A.V. Chronic radioisotope effects on residents of the Techa River (Russia) region: cytogenetic analysis more than 50 years after onset of exposure. Mutat Res. 2013. V. 756. № 1-2. P. 115-118.

556. Waki T., Tamura G., Sato M., Motoyama T. Age-related methylation of tumor suppressor and tumor-related genes: an analysis of autopsy samples. Oncogene. 2003. V. 22. № 26. P. 4128-4133.

557. Wang J., Zhang Y., Xu K., Mao X., Xue L., Liu X., Yu H., Chen L., Chu X. Genome-wide screen of DNA methylation changes induced by low dose X-ray radiation in mice. PLoS One. 2014. V. 9. № 3. e 90804.

558. Wang W., Wu J., Zhang Z., Tong T. Characterization of regulatory elements on the promoter region of p16(INK4a) that contribute to overexpression of p16 in senescent fibroblasts. J. Biol. Chem. 2001. V. 276. № 52. P. 48655-61.

559. Wang Y., Liu L., Pazhanisamy S.K., Li H., Meng A., Zhou D. Total body irradiation causes residual bone marrow injury by induction of persistent oxidative stress in murine hematopoietic stem cells. Free Radic. Biol. Med. 2010. V. 48. № 2. P. 348–356.

560. Wang Y., Scheiber M.N., Neumann C., Calin G.A., Zhou D. MicroRNA regulation of ionizing radiation-induced premature senescence. Int, J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2011. V. 81. № 3. P. 839-48.

561. Wang Y.H. Chromatin Structure of Repeating CTG/CAG and CGG/CCG Sequences in Human Disease. Front Biosci. 2007. V. 12. P. 4731-41.

562. Wang Z., Rhee D.B., Lu J., Bohr C.T., Zhou F., Vallabhaneni H., de Souza-Pinto N.C., Liu Y. Characterization of Oxidative Guanine Damage and Repair in Mammalian Telomeres. PLOS Genet. 2010. V.6. № 5. e1000951.

563. Watson G.E., Lorimore S.A., Clutton S.M., Kadhim M.A., Wright E.G. Genetic factors influencing alpha-particle-induced chromosomal instability. Int. J. Radiat. Biol. 1997. V. 71. P. 497-503.

564. Weinberg H.-S., Nevo E., Korol A., Fahima T., Rennert G., Shapiro S. Molecular changes in the offspring of liquidators who emigrated to Israel from the Chernobyl disaster area. Envir. Health Perspect. 1997. V.105. № 6. P. 1479-1481.

565. Weinberg H. Sh., Korol A., Nevo E., Shapiro S., Rennert G. Increased mutation rate in offspring of the Chernobyl accident liquidators. Int. J. Radiat. Med. 1999. V. 2. № 2. P. 67-70.

566. Whitfield B.L., Billen D. *In vivo* methylation of *Escherichia coli* DNA following ultraviolet and X-irradiation. J. Mol. Biol. 1972. V. 63. № 3. P. 363-372.

567. Wilson J.W., Haines J., Sienkiewicz Z., Dubrova Y.E. The effects of extremely low frequency magnetic fields on mutation induction in mice. Mutat. Res. 2015. V. 773. P. 22–26.

568. Wishkerman V.Y., Quastel M.R., Douvdevani A., Goldsmith J.R. Somatic mutations at the glycophorin A (GPA) locus measured in red cells of Chernobyl liquidators who immigrated to Israel. Environ Health Perspect. 1997. V.105. Suppl 6. P. 1451-4.

569. Wong D. J., Liu H., Ridky T. W. Cassarino D., Segal E., Chang H.Y. Module Map of Stem Cell Genes Guides Creation of Epithelial Cancer Stem Cells. Cell Stem Cell. 2008. V.2. № 4. P. 333–344.

570. Wong D.J., Foster S.A., Galloway D.A., Reid B.J. Progressive region-specific de novo methylation of the p16 CpG island in primary human mammary epithelial cell strains during escape from M(0) growth arrest. Mol. Cell Biol. 1999. V. 19. № 8. P. 5642-5651.

571. Wong E.M., Southey M.C., Fox S.B., Brown M.A., Dowty J.G., Jenkins M.A. Constitutional methylation of the BRCA1 promoter is specifically associated with BRCA1 mutation-associated pathology in early-onset breast cancer. Cancer Prev. Res. (Phila). 2011. V. 4. P. 23-33.

572. Yauk C. L. Advances in the Application of Germline Tandem Repeat Instability for in Situ Monitoring. Mutat. Res. 2004. V. 566. № 2. P. 169-82.

573. Buard J, Collick A, Brown J, Jeffreys AJ. Somatic Versus Germline Mutation Processes at Minisatellite CEB1 (D2S90) in Humans and Transgenic Mice. Genomics. 2000. V. 65. № 2. P. 95-103.

574. Yauk C. Monitoring for induced heritable mutations in natural populations: application of minisatellite DNA screening. Mutat Res. 1998. V. 411. № 1. P. 1-10.

575. Yauk C.L., Dubrova Y.E., Grant G.R., Jeffreys A.J.A novel single molecule analysis of spontaneous and radiation-induced mutation at a mouse tandem repeat locus. Mutat Res. 2002. V.500. № 1-2. P. 147-56.

576. Yauk C.L. Advances in the Application of Germline Tandem Repeat Instability for in Situ Monitoring. Mutat Res. 2004. V. 566. № 2. P. 169-82.

577. Yauk C.L., Berndt M.L., Williams A., Rowan-Carroll A., Douglas G.R., Stämpfli MR. Mainstream tobacco smoke causes paternal germ-line DNA mutation. Cancer Res. 2007. V. 67. P. 5103–5106.

578. Yauk C., Polyzos A., Rowan-Carroll A., Somers C.M., Godschalk R.W., Van Schooten F.J., Berndt M.L., Pogribny I.P., Koturbash I., Williams A.Germ-line mutations, DNA damage, and global hypermethylation in mice exposed to particulate air pollution in an urban/industrial location. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. V. 105. P. 605–610.

579. Ye S., Yuan D., Xie Y., Pan Y., Shao C. Role of DNA methylation in long- term low-dose gamma-rays induced adaptive response in human B lymphoblast cells. Int. J. Radiat. Biol. 2013. V. 89. № 11. P.898–906.

580. Yuan T., Jiao Y., de Jong S., Ophoff R.A., Beck S., Teschendorff A.E.. An Integrative multi-scale analysis of the dynamic DNA methylation landscape in aging. PLOS Genetics 2015. V.11. № 2. e1004996.

581. Yuasa Y., Nagasaki H., Oze I., Akiyama Y., Yoshida S., Shitara K., Ito S., Hosono S., Watanabe M., Ito H., Tanaka H., Kang D., Pan K.F., You W.C., Matsuo K. Insulin-like growth factor 2 hypomethylation of blood leukocyte DNA is associated with gastric cancer risk. Int. J. Cancer. V. 131. № 11. P. 2596–2602.

582. Zampieri M., Ciccarone F., Calabrese R., Franceschi C., Bürkle A., Caiafa P. Reconfiguration of DNA methylation in aging. Mechanisms of Ageing and Development. 2015. V. 151. P. 60–70.

583. Zhang P., Zhu Y., Li Y., Zhu S., Ma R., Zhao M., Li J. Forensic Evaluation of STR Typing Reliability in Lung Cancer. Leg Med (Tokyo). 2018. V. 30. P. 38-41.

584. Zheng Y., Joyce B. T., Colicino E., Liu L., Zhang W., Dai Q., Shrubsole M.J., Kibbe W.A., Gao T., Zhang Z., Jafari N., Vokonas P., Schwartz J., Baccarelli A.A., Hou L. Blood epigenetic age may predict cancer incidence and mortality. EBioMedicine. 2016. № 5. P. 68-73.

585. Zheng J., Li H., Zhang Q., Sun L., Liu X., Luo C. Homologous Recombination Occurs Frequently at Innate GT Microsatellites in Normal Somatic and Germ Cells in Vivo. BMC Genomics. 2018. V.19. № 1. P. 359.

586. Zhu B., Huang X., Chen J. Lu Y, Chen Y, Zhao J. Methylation changes of H19 gene in sperms of X-irradiated mouse and maintenance in offspring. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2006. V. 340. № 1. P. 83–8.

587. Zhu H., Belcher M., Harst P. Healthy aging and disease: role for telomere biology? Clin. Sci. 2011. V. 120. № 10. P. 427-440.

588. Zoete V., Irving M., Ferber M., Cuendet M.A., Michielin O. Structure-Based, Rational Design of T Cell Receptors. Front Immunol. 2013. V. 4. P. 268.

589. Zotti-Martelli L., Migliore L., Panasiuk G., Barale R. Micronucleus frequency in Gomel (Belarus) children affected and not affected by thyroid cancer. Mutat Res. 1999. V. 440. № 1. P. 35-43.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в рецензируемых журналах
(входят в перечень ВАК и/или БД РИНЦ, Scopus, WoS)

1. Сусков И.И., **Кузьмина Н.С.,** Балева Л.С., Сипягина А.Е. Проблема индуцированной геномной нестабильности как основы повышенной заболеваемости у детей, подвергающихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах. Радиобиология. Радиоэкология. 2006.Т.46. № 2. С. 167-177.
2. **Кузьмина Н.С**., Васильева И.М., Синельщикова Т.А., Семячкина А.Н., Шевченко В.А., Засухина Г.Д. Полиморфизм генов глютатион-s-трансфераз и нарушения репарации ДНК. Радиобиология. Радиоэкология. 2006. Т.46. № 4. С. 424-428.
3. Сусков И.И., Агаджанян А.В., **Кузьмина Н.С.,** Елисова Т.В., Иофа Э.Л., Нилова И.Н., Акаева Э.А., Кузнецова Г.И., Рубанович А.В., Цховребова Л.В., Балева Л.С., Сипягина А.Е. Проблема трансгенерационного феномена геномной нестабильности у больных детей разных возрастных групп после аварии на ЧАЭС. Радиобиология. Радиоэкология. 2006. Т.46. № 4. С.466-474.
4. **Кузьмина Н.С.**, Шипаева Е.В., Семячкина А.Н., Васильева И.М., Коваленко Л.П., Дурнев А.Д., Засухина Т.Д. Полиморфизм генов детоксикации и устойчивость клеток к воздействию мутагенов у пациентов с синдромом Элерса-Данлоса. Бюлл. экспер. биол. и мед. 2007. № 11. С. 560-564.
5. Семячкина А.Н., Новиков П.В., Воинова В.Ю., Курбатов М.Б., Синельщикова Т.А., **Кузьмина Н.С.**, Засухина Г.Д. Синдром Протея у детей: диагностика, лечение и профилактика. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2007, №.1, 45-49.
6. Сусков И.И., **Кузьмина Н.С.,** Сускова В.С., Агаджанян А.В., Рубанович А.В. Индивидуальные особенности трансгенерационной геномной нестабильности у детей ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС (цитогенетические и иммуногенетические показатели). Радиац. биол. Радиоэкол. 2008. Т. 48. № 2. С. 278-286.
7. Сальникова Л.Е., Фомин Д.К., Елисова Т.В., Акаева Э.А., **Кузьмина Н.С**. Лаптева Н.Ш., Нилова И.Н., Иофа Э.Л., Костина Л.Н., Кузнецова Г.И., Куликова Т.А., Панушкина О.Г., Рубанович А.В. Изучение связи цитогенетических и эпидемиологических показателей с генотипами у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС. Радиац. биол. Радиоэкол. 2008. Т. 48. № 3. С. 303-312.
8. Шайхаев Г.О., **Кузьмина Н.С.**, Мязин А.Е., Панушкина О.Г., Рубанович А.В., Хаймович Т.И., Снигирева Г.П. Изучение частоты мутаций в мини- и микросателлитных локусах ДНК в клетках членов семей работников атомной промышленности, работавших с тритием и его окисью. Радиац. биол. Радиоэкол. 2008. Т. 48. № 6. С. 690-697.
9. Сальникова Л.Е., Акаева Э.А., Елисова Т.В., Кузнецова Г.И., **Кузьмина Н.С.,** Веснина И.Н., Лаптева Н.Ш., Чумаченко А.Г., Романчук В.А., Рубанович А.В. Влияние полиморфизма генов детоксикации ксенобиотиков на частоты спонтанных и индуцированных аберраций хромосом в лимфоцитах человека. Радиац. биол. Радиоэкол. 2009. Т. 49. № 5. С. 543-551.
10. **Кузьмина Н.С.**, Ушенкова Л.И., Шагирова Ж.М. Шайхаев Г.О., Михайлов В.Ф., Курбатова Л.А., Мазурик В.К., Рубанович А.В., Засухина Г.Д. Генный полиморфизм у пациентов с синдромом Дауна. Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова, 2009. Т.109. № 4. С. 50-54.

11. Васильева И.М., Шагирова Ж.М., Синельщикова Т.А.,.Мавлетова Д.А, **Кузьмина Н.С.**, Засухина Г.Д. Защита радиочувствительных клеток человека от воздействия тяжелых металлов антимутагенами и адаптирующими факторами. Связь с генетическим и белковым полиморфизмом. Генетика. 2009. Т.45. № 6. С. 753-757.
12. Шагирова Ж.М., Ушенкова Л.И., Михайлов В.Ф., Курбатова Л.А., **Кузьмина Н.С.,** Семячкина А.Н., Васильева И.М., Мазурик В.К., Засухина Г.Д. Особенности полиморфизма генов детоксикации, метилентетрагидрофолат – редуктазы (MTHFR) и P53 в радиочувствительных клетках человека. Радиац. биол. Радиоэкол. 2010. Т. 50. № 2. С. 128-133.
13. Anna Aghajanyan, **Nina Kuzmina,** Alla Sipyagina, Larisa Baleva, Igor Suskov. Analysis of the genomic instability in offspring of fathers exposed to low doses of ionizing radiation. Environmental and Molecular Mutagenesis. Vol. 52. Issue 7. 2011. P. 538-546.
14. **Кузьмина Н.С.,** Мязин А.Е., Лаптева Н.Ш., Рубанович А.В. Изучение аберрантного метилирования в лейкоцитах крови ликвидаторов аварии на ЧАЭС. Радиационная биология. Радиоэкология. 2014. Т.54. № 2. С. 127-139.
15. **Nina S. Kuzmina**, Andrey E.Myazin, Nellya Sh. Lapteva, Alexander B. Rubanovich, The study of hypermethylation in irradiated parents and their children blood leukocytes. Central European Journal of Biology. 2014. V. 9. № 10. P. 941-950.
16. **Nina S. Kuzmina,** Nellya Sh. Lapteva, Alexander B. Rubanovich, Hypermethylation of gene promoters in peripheral blood leukocytes in humans long term after radiation exposure. Environmental Research. 2016. V. 146. P. 10-17.
17. **Кузьмина Н.С.**, Лаптева Н.Ш., Русинова Г.Г., Азизова Т.В., Вязовская Н.С., Рубанович А.В. Гиперметилирование промоторов генов в лейкоцитах крови человека в отдаленный период после перенесенного радиационного воздействия. Радиационная биология. Радиоэкология. 2017. Т.57. № 4. С. 341 – 356.
18. **Nina S. Kuzmina**, Nellya Sh. Lapteva, Galina G. Rusinova, Tamara V. Azizova, Natalya S. Vyazovskaya, Alexander B. Rubanovich, Gene hypermethylation in blood leukocytes in humans long term after radiation exposure – validation set. Environmental Pollution. 2018. V.234. P. 935-942.
19. **Кузьмина Н.С.,** Лаптева Н.Ш., Русинова Г.Г., Азизова Т.В., Вязовская Н.С., Рубанович А.В. Дозовая зависимость гиперметилирования промоторов генов в лейкоцитах крови лиц, подвергшихся сочетанному воздействию гамма- и альфа-излучений. Генетика. 2018. Т. 54. Приложение. С. S22-S26.
20. **Kuzmina N. S.,** Lapteva N. Sh., Rusinova G. G., Azizova T.V., Vyazovskaya N. S., Rubanovich A. V. Dose dependence of hypermethylation of gene promoters in blood leukocytes in humans occupationally exposed to external gamma radiation. Biology Bulletin. 2019. V. 46. № 11. P. 1563-1569.
21. **Н. С. Кузьмина**. Радиационно-индуцированные нарушения метилирования ДНК: исследования in vitro и in vivo. Радиационная биология. Радиоэкология. 2020. Т.60. № 5. С. 481-506.
22. **N. S. Kuzmina**, T. M. Luong, and A. V. Rubanovich. Changes in DNA Methylation Induced by Dioxins and Dioxin-Like Compounds as Potential Predictor of Disease Risk. Russian Journal of Genetics. 2020. V. 56. № 10. P. 1180-1192.
23. **Кузьмина Н.С.**, Лаптева Н.Ш., Рубанович А.В. Ассоциативная связь между гиперметилированием промоторов генов и цитогенетическими показателями у облученных лиц. Радиационная биология. Радиоэкология. 2021. Т.61. № 3. С. 227-234.

Главы в книгах и монографиях, статьи в сборниках трудов конференций

1. **Н.С. Кузьмина**, И.И. Сусков, В.А. Шевченко. Феномен геномной нестабильности в организме детей, подвергающихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах. Материалы 6-ой Междунар. конф. «Экология человека и природа». Москва-Плес. 5-11 июля 2004. С. 112 – 117.
2. **Н.С. Кузьмина**, И.И. Сусков, В.А. Шевченко. Дисгеномные эффекты в организме детей, подвергающихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах. Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии. Под ред. Н.Н. Ильинских. Томск. Сибирский госуд. мед. университет. 2004. С. 9-14.
3. **Kuzmina N. S.** The phenomenon of genomic instability in the child,s body exposed to prolonged radiation at small doses and health state. Papers by Young Scientists. The Second International Conference dedicated to the 105th anniversary of the birth of N.W.Timofeeff-Ressovsky... “Modern problems of genetics, radiobiology, radioecology and evolution”, Yerevan, September 8-11, 2005, P. 281-283.
4. Suskov I.I., **Kuzmina N.S.** , Baleva L.S. , Sipyagina A.E. The problem of induced genome instability as the basis for elevated morbidity among children exposed by low-rate radiation at small doses. In book: 20 Years After the Chernobyl Accident: Past, Present and Future. 2007. New-York, Nova Science Publishers, Inc. P. 39-54.
5. Засухина Г.Д., **Кузьмина Н.С**. Генетический полиморфизм в защите клеток человека от мутагенов. В кн. «Молекулярный полиморфизм человека», 2007., М., изд-во РУДН. Т.2, 583-600.
6. Сальникова Л.Е., Фомин Д.К., Елисова Т.В., Акаева Э.А., **Кузьмина Н.С**. и др. Генетические последствия чрезвычайных радиационных ситуаций для растений, животных и человека. Зависимость цитогенетических и эпидемиологических показателей от генотипов у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС. Материалы конф. «Динамика генофондов». Москва. 2007. С. 130-132.
7. Шайхаев Г.О., **Кузьмина Н.С.**, Мязин А.Е., Панушкина О.Г., Рубанович А.В., Хаймович Т.И., Снигирева Г.П. Анализ мутаций в мини - и микросателлитных локусах ДНК в группе профессионалов-атомщиков, работавших с тритием и его окисью. Материалы II междунар. конф. «Человек и электромагнитные поля». Саров. 28 мая – 01 июня 2007г. – Саров. 2008. С. 301–314.
8. **Nina S. Kuz’mina**, Victoriya S. Suskova, Anna V. Aghajanyan, Igor I. Suskov. The problem of induced genomic instability in children born from irradiated parents: individual peculiarities of expression, significance of genotype, role in biological resistance of an organism. In book: Seminar of Ecology (ISBN 978-954-397-031-5). 2012. Sofia. P. 93-106.
9. Цыбульская И.С., Сусков И.И., **Кузьмина Н.С.** Генетические аспекты формирования здоровья детей. Глава в монографии И.С. Цыбульской: «Медико-социальные аспекты формирования здоровья детей». Тверь: Тверская городская типография. 2013. 290 с.
10. Рубанович А.В., **Кузьмина Н.С.** Эпигенетические маркеры генотоксического воздействия. Труды конференции «Современные направления в радиобиологии и астробиологии. Молекулярные, генетические, клеточные и тканевые эффекты». Дубна, 28-30 октября 2015. Дубна: ОИЯИ. С. 40-48.
11. **Кузьмина Н.С.**, Лаптева Н.Ш., Русинова Г.Г., Азизова Т.В., Вязовская Н.С., Рубанович А.В.. Дозовая зависимость гиперметилирования промоторов генов в лейкоцитах крови лиц, подвергшихся облучению в результате профессиональной деятельности. В сборнике: Современные вопросы радиационной генетики. Материалы российской конференции с международным участием. 2019. С. 76-78.

Тезисы докладов

1. **Н.С. Кузьмина**, И.И. Сусков, В.А. Шевченко. Изучение геномной нестабильности у детей, проживающих на территориях с радиоактивными загрязнениями. Тез. докл. научно-практической конф. «Парадигмы современной радиобиологии». Киев – Чернобыль, 27 сентября – 1 октября, 2004. С. 33.
2. Засухина Г.Д., Васильева И.М., Синельщикова Т.А., Громов С.П., Дурнев А.Д., **Кузьмина Н.С.** Механизмы защиты клеток человека от радиации. Тез. докл. конф. «Фундаментальные науки-медицине», 14-16 декабря 2004 г. С. 235-236.
3. **Кузьмина Н.С.,** Васильева И.М., Синельщикова Т.А., Семячкина А.Н., Шевченко В.А., Засухина Г.Д. Полиморфизм генов глютатион-S-трансфераз и нарушения репарации ДНК. Тез. докл. III Международной конференции «Генетические последствия чрезвычайных и радиационных ситуаций», Дубна, 4-7 октября, 2005. М., Издательство РУДН. С.65.
4. Сусков И.И., Агаджанян А.В., **Кузьмина Н.С.,** Иофа Э.Л., Нилова И.Н., Цховребова Л.В., Балева Л.С., Сипягина А.Е. Цитогенетические исследования детей разных возрастных групп, проживающих на территориях с радионуклидными загрязнениями. Тез. докл. III Международной конференции «Генетические последствия чрезвычайных и радиационных ситуаций», Дубна, 4-7 октября, 2005. М., Издательство РУДН. С. 110.
5. **Kuzmina N. S.** The phenomenon of genomic instability in the child,s body exposed to prolonged radiation at small doses and health state. Abstracts of the Second International Conference dedicated to the 105th anniversary of the birth of N.W.Timofeeff-Ressovsky “Modern problems of genetics, radiobiology, radioecology and evolution”, Yerevan, September 8-11, 2005, P. 128.
6. Suskov I.I., Aghajanyan A.V., **Kuzmina N.S.** et al. The problem of transgeneration genome instability in children born from fathers-liquidators and unirradiated mothers. The II Intern. Conf.” Modern problems of genetics, radiobiology, radioecology and evolution “ Abst.of the conf. Armenia, Erevan, 8-11 september 2005, p.149.
7. Сусков И.И., **Кузьмина Н.С**., Сускова В.С., Балева Л.С., Сипягина А.Е. Проблема дисгеномных эффектов и биологической устойчивости организма у детей подвергающихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах. Материалы 3-его международного симпозиума «Хроническое радиационное воздействие: медико-биологические эффекты». Челябинск, 2005. С. 18-19.
8. **Н.С. Кузьмина**, И.И. Сусков, В.А. Шевченко. Экспрессирование геномной нестабильности в организме детей, подвергающихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах, и их состояние здоровья. Тез. международной науч. конференции «Современные проблемы генетики». Белоруссия, Минск, 10-12 ноября 2005. С. 306.
9. Засухина Г.Д., **Кузьмина Н.С**., Васильева И.М., Громов С.П., Ведерников А.И., Семячкина А.Н. Индивидуальная радиочувствительность человека в аспекте генетического полиморфизма. снижение радиационно-индуцированных эффектов в клетках человека. Тез. докл. конф. «Фундаментальные науки-медицине», Москва. 14-16 декабря 2005 г. С. 194-195.
10. Шевченко В.А., Рубанович А.В., ….. **Кузьмина Н.С.** и др. Изучение цитогенетических и молекулярно-генетических эффектов у людей, подвергшихся радиационному воздействию, оценка состояния их здоровья и прогноз отдаленных генетических последствий воздействия радиации в ряду поколений. Тез. докл. конф. «Фундаментальные науки-медицине», Москва. 14-16 декабря 2005 г. С. 211-213.
11. **Кузьмина Н.С.**, Засухина Г.Д. Подходы к оценке индивидуальной радиочувствительности человека на основе генетического полиморфизма. Тез. докл. V съезд по радиационным исследованиям. Москва. 10-14 апреля 2006 г. С. 10-11.

12. Сусков И.И., Агаджанян А.В., **Кузьмина Н.С.,** Цховребова Л.В., Балева Л.С., Сипягина А.Е. Проблема трансгенерационного феномена геномной нестабильности у часто болеющих детей, рожденных от облученных отцов ликвидаторов аварии на ЧАЭС. Тез. докл. V съезд по радиационным исследованиям. Москва. 10-14 апреля 2006. Т.1. С. 73.
13. Сусков И.И., Агаджанян А.В., **Кузьмина Н.С**., Елисова Т.В., Иофа Э.Л., Нилова И.Н., Костина Л.Н., Кузнецова Г.И., Акаева Э.А., Рубанович А.В., Балева Л.С., Сипягина А.Е. Проблема нестабильных геномов в организме больных детей, рожденных и проживающих в условиях хронического действия радиации в малых дозах. Тез. докл. V съезд по радиационным исследованиям. Москва. 10-14 апреля 2006. Т.1. С. 94.
14. Igor I. Suskov, **Nina S. Kuzmina**. Transgeneration genome instability in children born from fathers-liquidators and unirradiated mothers. Proceeding of Intern. Congress “Chernobyl – 20 Years Later”. Berlin. April 3 to 5. 2006. P. 30.
15. **Nina S. Kuzmina,** I.I. Suskov. Genomic instability and health state in children exposed to prolonged radiation by Chernobyl fallout. Proceeding of Intern. Congress “Chernobyl – 20 Years Later”. Berlin. April 3 to 5. 2006. P. 30-31.
16. Рубанович А.В., Агаджанян А.В., … **Кузьмина Н.С.** и др. Комплексное изучение генетических нарушений в соматических клетках облученных людей и трансгенерационного феномена геномной нестабильности у их потомков. Связь с состоянием здоровья. Тез. докл. конф. «Фундаментальные науки-медицине», Москва. 27-29 ноября 2006.
17. Zasukhina G.D., **Kuzmina N.S.** Human cell protection and genetic polymorphism. Abstracts. 35th Annual Meeting of European Radiation Research Society. Kiev.22nd to 25th august, 2006. P. 26.
18. **Кузьмина Н.С.,** Семячкина А.Н., Засухина Г.Д. Изучение генетического полиморфизма – новый подход к оценке индивидуальных особенностей при наследственных заболеваниях детей. Материалы Российского конгресса “Современные технологии в педиатрии и детской хирургии”. 2006. С. 38.
19. Засухина Г.Д, **Кузьмина Н.С.,** Васильева И.М., Семячкина А.Н. Радиочувствительность человека, ее модификация и генетический полиморфизм. Разработка подходов к увеличению радиоустойчивости. Тез. докл. конф. «Фундаментальные науки-медицине», Москва. 27-29 ноября 2006. С.56.
20. Шайхаев Г.О., **Кузьмина Н.С**., Мязин А.Е. Панушкина О.Г., Рубанович А.В., Хаймович Т.И., Снигирева Г.П. Анализ мутаций в мини - и микросателлитных локусах ДНК в группе профессионалов-атомщиков, работавших с тритием и его окисью. Тез. докл. II междунар. конф. «Человек и электромагнитные поля». Саров. 28 мая – 01 июня 2007 г. – Саров. 2007.
21. Засухина Г.Д., **Кузьмина Н.С.** Малые дозы ионизирующей радиации как адаптирующий фактор в защите клеток человека от мутагенов. Тез. докл. II Межд. конф. « Человек и электромагнитные поля». Саров, 2007. С. 71-72.
22. Засухина Г.Д., **Кузьмина Н.С.,** Васильева И.М., Шагирова Ж.М. Комплексное изучение генетического полиморфизма как новый подход к защите клеток человека от мутагенов. Материалы конф. «Фундаментальные науки – медицине». Москва. 2007. С. 186-187.
23. Васильева И.М., **Кузьмина Н.С.,** Засухина Г.Д., Синельщикова Т.А. Индивидуальная вариабельность защитных механизмов клеток человека от радиации в аспекте генетического полиморфизма. Материалы конф. «Фундаментальные науки – медицине». Москва. 2007. С. 173.
24. Рубанович А.В., Агаджанян А.В., ….. **Кузьмина Н.С.** и др. Комплексное изучение трансгенерационных геномно-иммунных нарушений в соматических клетках детей

облученных родителей. Связь с генотипическим статусом организма. Материалы конф. «Фундаментальные науки-медицине», Москва. 2007. С. 155.

25. Шагирова Ж.М., Ушенкова Л.И., Михайлов В.Ф., Мазурик В.К., **Кузьмина Н.С.**, Васильева И.М., Засухина Г.Д. Особенности генетического полиморфизма (P53, гены детоксикации, MTHFR) в радиочувствительных клетках человека. Материалы V съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров. Москва. 2009. Т.1. С. 527.
26. Шагирова Ж.М., **Кузьмина Н.С.**, Ушенкова Л.И. и др. Генетический полиморфизм в лимфоцитах детей с синдромом Дауна и Элерса-Данло как возможный прогностический критерий для выбора эффективного лечения. Материалы Российского конгресса “Современные технологии в педиатрии и детской хирургии”. Москва. 2009. С. 95.
27. **Kuzmina N. S.** Individual peculiarities of genomic instability expression in children born from irradiated parents and genetic polymorphism. Abstracts of Third International Conference dedicated to N.W.Timofeeff-Ressovsky “Modern problems of genetics, radiobiology, radioecology and evolution”, Alushta. October 9-14. 2010. P. 92.
28. **Кузьмина Н.С**., Сусков И.И., Сускова В.С., Агаджанян А.В., Балева Л.С., Сипягина А.Е. Полиморфизм генов и индивидуальная вариабельность трансгенерационных дисгеномных эффектов у детей облученных родителей. VI съезд по радиационным исследованиям. Москва. 2010. С. 60.
29. Белопольская О.Б., Веснина И.Н., Кузнецова Г.И., **Кузьмина Н.С.**, Лаптева Н.Ш. и др. Оценка селективной значимости и прогноз динамики распространения потенциально опасных аллельных вариантов генов. Материалы конф. «Генофонды и генетическое разнообразие». Москва. 2010. С. 161-163.
30. **Nina Kuzmina**, Andrey Myazin, Nellya Lapteva, Alexandr Rubanovich. The study of hypermethylation in irradiated parents and their children blood leukocytes. Second International Conference on Radiation and Dosimetry in Vatious Fields of Research. Nis. Serbia. May 27 – 30, 2014. P. 376.
31. **Кузьмина Н.С.**, Мязин А.Е., Лаптева Н.Ш., Рубанович А.В. Изучение гиперметилирования в лейкоцитах крови человека в отдаленный период после облучения. VII Съезд по радиационным исследованиям. Москва. 21-24 октября 2014 г. С. 76.
32. **Nina S. Kuz’mina**, Nellya Sh. Lapteva, Alexander V. Rubanovich. Differential significance of age and radiation exposure factor in the hypermethylation of various genes in human blood leukocytes. Proceedings «Seminar of Ecology - 2015». 23-24 April 2015 – Sofia. Sofia:Union of Bulgarian Scientists. P. 94 - 95.
33. **Nina Kuz’mina,** Nellya Lapteva, Alexander Rubanovich. Hypermethylation in human blood leukocytes as a result of radiation exposure of the body. Book of Abstracts «Third International Conference on Radiation and Applications in Vatious Fields of Research». June 8-12 2015. Slovenska Plaza Budva/Montenegro. Nis, Serbia:University of Nis. P. 466.
34. **Nina S. Kuzmina**, Nellya Sh. Lapteva, Alexander V. Rubanovich. The epigenetic disturbances in human blood leukocytes in remote period after radiation exposure. Book of Abstracts. Fourth International Conference, dedicated to N.W. Timofeeff-Ressovsky and His Scientific School «Modern problems of genetics, radiobiology, radioecology, and evolution». St. Peterburg, 2-6 June 2015. Dubna: JINR. P. 86.
35. **Кузьмина Н.С.**, Лаптева Н.Ш., Русинова Г.Г., Азизова Т.В., Вязовская Н.С., Рубанович А.В. Изучение гиперметилирования промоторов генов в лейкоцитах крови облученных лиц. Материалы конф. "Актуальные проблемы радиобиологии и астробиологии. Генетические и эпигенетические эффекты ионизирующих излучений". Дубна, 9-11 ноября 2016. Дубна: ОИЯИ. С. 46-47.

ПРИЛОЖЕНИЕ.

Таблица 1. Радиационно-индуцированные нарушения метилирования:исследования in vitro

Показатель	Клеточная модель	Радиационное воздействие		Наблюдаемый эффект	Метод	Автор публикации
		тип радиации	доза			
Тотальный уровень метилирования ДНК	клетки четырех линий (CHO, V79A03, HeLa - S-3, C-1300N1E-115)	γ-излучение ^{60}Co	0.5 – 10 Гр	**гипометилирование** через 24, 48 и 72 часа после облучения	высокоэффективная жидкостная хроматография (HPLC)	Kalinich J. F. et al., 1989
	m5S/1M и CHO/K1клетки	рентгеновское излучение	10 Гр	**отсутствует**	высокоэффективная жидкостная хроматография (HPLC)	Tawa R. et al., 1998
	лимфобластоидные клетки человека радиочувствительной TK6 и радиорезистентной WTK1 линий	рентгеновское излучение	2 Гр	**гипометилирование** через 2-8 часов после облучения, но динамика изменений зависит от типа клеток	иммуноферментный (ELISA)	Chaudhry M. A., Omaruddin R.A., 2012
	нормальные фибробласты человека	рентгеновское излучение	2 и 4 Гр	**гипометилирование** через 24 часа после облучения (2 Гр)	иммуноферментный (ELISA)	Maierhofer A. et al., 2017
	гибридные GM10115 клетки	рентгеновское излучение ^{56}Fe	0.5 и 2 Гр 0.1 и 1Гр	**Гиперметилирование** (X-лучи в дозе 0.5 Гр), **гипометилирование** (^{56}Fe в дозе 1 Гр).	MSAP-PCR	Aypar U et al., 2011
	RKO и AGO1522D клетки (анализ 16-20 генерации облученных клеток)	рентгеновское излучение, ^{56}Fe, протоны	0.1 и 1 Гр	**Гиперметилирование** при действии протонов и ^{56}Fe, и **гипометилирование** при действии X-лучей	MSAP-PCR	Goetz W et al., 2011

Уровень метилирования повторяющихся элементов ДНК	*LINE-1*, центромерная α-сателлитная ДНК	нормальные фибробласты человека	рентгеновское излучение	2 и 4 Гр	**отсутствует**	бисульфитное пиросеквенирование	Maierhofer A. et al., 2017
	Alu повторы				**гиперметилирование** через 6 часов после облучения (4 Гр)		
	LINE-1, Alu, LTR, сателлитная ДНК	клетки рака молочной железы (линия MCF7)	γ – излучение ^{137}Cs (фракционированное)	10 и 20 Гр	**отсутствует** (через 1 и 14 дней после облучения)	масс-спектрометрия	Kuhmann C. et al., 2011
	LINE-1, Alu	гибридные GM10115 клетки (анализ 16-20 генерации облученных клеток)	рентгеновское излучение ^{56}Fe	0.5 и 2 Гр 0.1 и 1Гр	**Гипометилирование** *LINE-1* and *Alu* (X-лучи, 2 Гр и ^{56}Fe, 1 Гр); **гиперметилирование** (X-лучи, 0.5 Гр)	COBRA	Aypar U et al., 2011
	LINE-1, Alu	RKO и AGO1522D клетки (анализ 16-20 генерации облученных клеток)	рентгеновское излучение, ^{56}Fe, протоны	0.1 и 1 Гр	**Гипометилирование** LINE-1 в RKO клетках и **гиперметилирование** в AGO1522D клетках (X-лучи, 1 Гр); **гипометилированию** LINE-1 and Alu в обоих клеточных линиях при действии протонов и ^{56}Fe	COBRA	Goetz W et al., 2011
	LINE-1, Alu, LTR HERVK9B, SAT2 и MLT1A	HPV-G кератиноциты человека (анализ 20-ой генерации облученных клеток)	γ-излучение ^{60}Co	0.1-1 Гр	В основном преобладало **гиперметилирование**, в том числе в последовательностях ретротранспозонов и сателлитных последовательностях	MSAP-PCR, Саузерн-блоттинг, клонирование и бисульфитное секвенирование	Каир S. et al., 2006

					SAT2 и MLT1A.		
Локус-специфические изменения метилирования ДНК	широкогеномное исследование	фибробласты HFBs и клетки бронхиального эпителия NHBEC человека	γ – излучение ^{137}Cs	0.1 – 4 Гр	Значимый эффект **отсутствует** (7 дней после облучения)	селекция гиперметилированных последовательностей при помощи ДНК-метилсвязывающих белков + микрочип (MIRA + microarray), COBRA, бисульфитное секвенирование	Lahtz C. et al., 2012
	широкогеномное исследование	нормальные фибробласты человека	рентгеновское излучение	2 и 4 Гр	**отсутствует**	Микрочип (microarray Illumina 450 K)	Maierhofer A. et al., 2017
	широкогеномное исследование	клетки бронхиального эпителия человека	^{56}Fe	0.1-1.0 Гр	Дозозависимое **гиперметилирование** сайтов, ассоциированных с открытым хроматином (через 2 и 50 дней после облучени)	микрочип (microarray Illumina 450 K)	Kennedy E. M. et al., 2018
			^{28}Si	0.3-1.0 Гр	Как **гипер-**, так и **гипометилирование** сайтов, ассоциированных с более репрессированным хроматином (через 2 и 50 дней после облучения)		
			рентгеновское излучение	1 Гр	Преимущественно **гипометилирование** сайтов, затрагивающих транскрибируемую		

					область генов и межгенные промежутки (через 2 и 50 дней после облучения)		
	широкогеномное исследование	раковые клетки молочной железы (линия MDA-MB-231)	рентгеновское излучение	4 и 6 Гр	сотни дифференциально-метилированных генов (клеточный цикл, ДНК репарация, апоптоз (через 1-72 часа после облучения)	Микрочип (microarray Illumina 450 K)	Antwih D.A. et al., 2013
	широкогеномное исследование	клетки рака молочной железы (линия MCF7)	γ – излучение ^{137}Cs (фракционированное)	10 и 20 Гр	**Гиперметилирование** CpG – островков *ADAMTS9, FOXC1, TRAPPC9* и гипометилирование *AMIGO3* (через 1 и 14 дней после облучения)	метил-ЦГ-иммунопреципитация + ДНК-микрочип методы, масс-спектрометрия	Kuhmann C. et al., 2011
	NFkB, TSLC1, CDH1	гибридные GM10115 клетки	рентгеновское излучение ^{56}Fe	0.5 и 2 Гр 0.1 и 1Гр	**отсутствуют изменения** в промоторах генов	метод метилспецифической ПЦР, бисульфитное пиросеквенирование	Aypar U et al., 2011

Таблица 2. Радиационно-индуцированные нарушения метилирования:исследования in vivo

Показатель	Модель	Радиационное воздействие		Наблюдаемый эффект	Метод	Автор публикации
		тип радиации	доза			
ИССЛЕДОВАНИЯ НА ЖИВОТНЫХ						
Тотальный уровень метилирования ДНК	аутбредные мыши Wister	γ-излучение ^{60}Co	7 Гр	Динамический характер **гипо-/гипер**метилирования синтезируемой ДНК в клетках тимуса и ККМ	хромотографическое определение 5-метилцитозина	Rakova I., 1979

				(первые 9 дней после облучения)		
	мыши C57BL/6NJcI	рентгеновское излучение	4-7 Гр	**Гипометилирование** в клетках печени (8-72 часа после облучения). **Отсутствие** эффекта в клетках мозга и селезенки	высокоэффективная жидкостная хроматография (HPLC)	Tawa R. et al., 1998
	Мыши CBA/H и C57BL/6	рентгеновское излучение	3 Гр	**Гипометилирование** в клетках ККМ, но не селезенки, у мышей CBA/H через 4-14 дней после воздействия. Отсутствие эффекта у мышей C57BL/6	высокоэффективная жидкостная хроматография (HPLC)	Giotopoulos G. et al., 2006
	Потомки облученных мышей C57BL/6	рентгеновское излучение	2.5 Гр	**Гипометилирование** в клетках тимуса	Метил-чувствительная ПЦР в присутствии [^{3}H] dCTP (cytosine extension assay)	Koturbash et al., 2006
	Мыши C57BL/6	рентгеновское излучение (фракционированное, 10 дней)	0.5 Гр (суммарно)	**Гипометилирование** в клетках тимуса (через 4 часа после облучения)	cytosine extension assay	Pogribny et al, 2005
	Крысы	рентгеновское излучение	5 Гр	**Гипометилирование** в клетках молочной железы	cytosine extension assay	Loree J et al, 2006
	мыши C57/B16	Рентгеновское излучение острое и фракционированное (10 дней)	0.5 Гр	**Гипометилирование** ДНК в клетках селезенки и печени самок. **Гиперметилирование** в клетках селезенки, но не печени, у самцов	cytosine extension assay	Raiche et al, 2004
	мыши BALB/c	Рентгеновское излучение (фракционированное, 10 дней)	0.5 Гр (суммарно)	**Гипометилирование** в клетках крови мышей BALB/c через 2 часа после облучения; отсутствие эффекта	HPLC-метод	Wang et al., 2014

				спустя 1 месяц после облучения		
	мыши C57BL/6	^{56}Fe	0.1 , 0.2, 0.4 Гр	**Гиперметилирование** в клетках легкого при дозе 0.4 Гр через 22 недели после облучения; отсутствие эффекта при дозе 0.1 и 0.2 Гр	ELISA метод	Nzabarushimana et al., 2014
	мыши CBA/CaJ	^{48}Ti	0.1-0.5 Гр	**Гиперметилирование** в клетках печени через 1 неделю и 1 месяц после облучения; через 6 мес значимый эффект только при дозе 0.5 Гр	ELISA метод	Jangiam W. et al., 2015
	крысы Sprague-dawley	питьевая вода, содержащая природный уран UO_2 (в течение 9 мес.)	40 мг/л	**Гипометилирование** в клетках яичников и **гиперметилирование** в клетках семенников. Аналогичные изменения в этих же тканях в F1 и F2 поколениях	ELISA метод	Elmhiri G. et al., 2018
	мыши C57BL/6J	^{56}Fe	0.1, 0.2, 0.4 Гр	Тенденция к **гиперметилированию** в клетках ККМ через 4 недели после облучения; по прошествии 22 недель наблюдалось дозозависимое **гипометилирование**, значимое при дозе 0.4 Гр	иммуно-флюоресцентный метод с применением антител	Miousse I.R. et al., 2014
	Крысы Long Evans	рентгеновское излучение (воздействие на область черепа)	20 Гр	**Гипометилирование** в клетках **необлученной** селезенки через 1 день и 7 мес. после воздействия	cytosine extension assay	Koturbash et al, 2007
	мыши	рентгеновское	0.5 Гр	**Гипометилирование** в	cytosine extension assay	Ilnytskyy Y. et al,

		C57BL/6	излучение (воздействие на область черепа)	(острое или фракционированное, 5 дней)	клетках **необлученных** селезенки и кожи; только в селезенке эффект через 14 дней после облучения		2009
Уровень метилирования повторяющихся элементов ДНК	*LINE-1, SINE B1* и *IAP*	мыши C57BL/6	Рентгеновское излучение	10 мГр	**Отсутствие эффекта** в клетках периферической крови спустя 85-420 дней после воздействия; аналогичные результаты получены для клеток селезенки и печени (спустя 420 дней после облучения)	Высокочувствительное плавление (HRM), пиросеквенирование	Newman M. R. et al., 2014
	LINE-1, SINE B1 и *IAP*	мыши BALB/c, CBA и C57BL/6	Рентгеновское излучение	1 Гр	**Гиперметилирование** *LINE-1у* животных всех линий через 1 день после воздействия, сохранность эффекта у мышей BALB/c через 6 дней после облучения; гипометилирование у мышей C57BL/6 через 14 дней после экспозиции	Высокочувствительное плавление (HRM), пиросеквенирование	Newman M. R. et al., 2014
	LINE-1 (TF и A1 мономеры)	мыши C3H/HeN	^{56}Fe	0.1, 0.3, 1 Гр	**Отсутствие эффекта** в легких и печени через 1-120 сут. после облучения	бисульфитное пиросеквенирование	Lima F. et al., 2014
	LINE-1	мыши C57BL/6	^{56}Fe	0.1, 0.2, 0.4 Гр	**Гиперметилирование** в клетках легкого при дозе 0.4 Гр через 22 недели после облучения; отсутствие значимого эффекта при дозе 0.1 и 0.2 Гр	метилчувствительный qPCR анализ	Nzabarushimana et al., 2014
	LINE-1 (5'-UTRs)	мыши C57BL/6J и	γ-излучение	0.1 и 1 Гр	Дозозависимое **гипометилирования** в	метилчувствительный qPCR анализ	Miosse, 2017

		CBA/J			гемопоэтических стволовых клетках (HSCs) у CBA/J животных через 2 месяца после облучения; **гиперметилирование** (при дозе 0.1 Гр) и **гипометилирование** (при дозе 1 Гр) в клетках-предшественниках (HPCs); в мононуклеарных клетках (MNCs) **гиперметилирование**.		
	LINE-1 (ORF1), ERV1, ERV2, SINE B1, транспозоны Charlie and Mariner, центромер-ассоц. сателлиты	мыши C57BL/6J	протоны ^{56}Fe	0.1 Гр 0.5 Гр	**гипометилирование** LINE-1 в клетках сердца через 7 дней после облучения; **гиперметилирование** LINE-1, ERV2, SINE B1 и основных сателлитов через 90 дней после облучения	Пиросеквенирование, метил-чувствительный qPCR анализ	Koturbash I. et al., 2016
	LINE1 и SINE B1	мыши C57BL/6J	^{56}Fe	0.1, 0.2 и 0.4 Гр	Дозозависимое **гиперметилирование** (через 4 недели после облучения) и тенденция к **гипометилированию** (через 22 недели после облучения в клетках ККМ; зависимое от дозы **гипометилирование** в мононуклеарных клетках	метилчувствительный qPCR анализ	Miousse I.R. et al., 2014

					(MNCs) через 4 недели после облучения		
	LINE1	мыши C57BL/6J	^{56}Fe протоны или ^{56}Fe + протоны	(0.5 Гр) (0.1Гр) ^{56}Fe (0.5 Гр) + протоны (0.1 Гр)	**гипометилирование** LINE-1 ORF1 в ткани легкого через 4 недели после облучения; **гиперметилирование** 5'-UTRs области LINE-1	бисульфитное пиросеквенирование	Prior, 2016
	LINE1	Крысы Long Evans	рентгеновское излучение (воздействие на область черепа)	20 Гр	**Гипометилирование** в клетках **необлученной** селезенки через 7 месяцев после воздействия	COBRA	Koturbash et al, 2007
Локус-специфические изменения метилирования ДНК	Широкогеномное исследование	мышей BALB/c	рентгеновское излучение (фракционированное, 10 дней)	0.5 Гр (суммарно)	**Гиперметилирование** промоторов 811 генов через 2 часа после облучения; доказательство **сохранности** этих изменений в течение 1 месяца на примере двух генов (*Rad23b и Ddit3)*	MeDIP-on-chip, пиросеквенирование (2 гена)	Wang J. et al., 2014
	DAPK1, EVL, 14.3.3, p16, MGMT, IGFBP3	мыши C3H/HeN	^{56}Fe	0.1, 0.3, 1 Гр	**Гиперметилирование** в клетках легкого через 1 и 30 дней после облучения; **гипометилирование** через 7 и 120 дней после воздействия; отсутствие эффекта в клетках печени и при дозе 1 Гр	Бисульфитное пиросеквенирование	Lima F. et al., 2014
	22 гена, потенциально ассоциированных с	мыши C57BL/6	^{56}Fe	0.1, 0.2, 0.4 Гр	**Гиперметилирование** 5 (*Cadm1, Cdh13, Cdkn1c, Mthfr and Sfrp1*) генов в клетках легкого через 22 недели после облучения	метилчувствительный qPCR анализ	Nzabarushimana et al., 2014

	развитием рака легкого				(0.1 Гр); эффект менее выражен при более высоких дозах облучения		
	p16(INKa), MGMT	мыши C57BL/6	рентгеновское излучение (острое и фракционированное: 10 дней)	0.5 Гр	**Гиперметилирование** промотора гена p16(INKa) в клетках печени, но не в мышечной ткани, наибольшая выраженность изменений у самцов при хроническом воздействии; отсутствие эффекта для гена MGMT;	Метилспецифическая ПЦР	Kovalchuk O. et al., 2004
	p16	мыши BALB/c	излучение 4-MV линейного ускорителя	1.75 Гр	**Гиперметилирование** CpG-островка промотора гена p16 в радиационно-индуцированных тимических лимфомах	Комбинированный анализ:бисульфитная обработка, ПЦР, +рестрикция (COBRA)	Song W.G. et al., 2014
	IAP	Мыши A^{vy} агути	рентгеновское (MicroCT scanner)	0.4 -7.6 сГр	**Гиперметилирование** IAP промотора в клетках хвоста и печени при воздействии в дозах 0.7 – 3 сГр, но не 0.4 сГр и 7.6 сГр	Бисульфитное пиросеквенирование	Bernal A.G. et al., 2013
	p16/INK4A и RASSF1	Мыши SKH-1	УФ-В	180 mJ/cm^2 (3 раза в неделю, 24 недели)	**Гиперметилирование** промоторов генов *p16/INK4A* и *RASSF1*, в клетках кожи облученных мышей, , а также в опухолях кожи, индуцированных этим излучением	Метилспецифическая ПЦР	Nandakumar V. et al., 2011
	H19	мыши BALB/c	рентгеновское излучение	1.3 Гр	**Потеря импринтинга** (снижение	Бисульфитное пиросеквенирование	Zhu B. et al., 2006

			(хроническое)		метилирования) в сперме мышей; аналогичные изменения в печени их потомков		
	широкогено мное исследова-ние	мыши C57BL/6J	протоны	1 Гр	Устойчивые **разнонаправленные изменения (в зависимости от CpG – сайта**) уровней метилирования и гидроксиметилирования CpG – сайтов в клетках левого желудочка сердца, а также гиппокампа через 5 месяцев после воздействия	иммунопреципитация+ секвенирование:MeDIP-Seq	Impey S. et al., 2016
ИССЛЕДОВАНИЯ НА ЧЕЛОВЕКЕ							
Тотальный уровень метилирования ДНК		рабочие атомной индустрии	комбинированн ое воздействие излучений с высокой и низкой LET	157.74±85.48 мЗв	**Гипометилирование** в лейкоцитах крови	анализ с применением антител к 5-метилцитозину	Lee Y. et al., 2015
		работники промышленной радиографии	γ-/ рентгеновское излучение	60.5±49.6 мЗв	**Гипометилирование** в лейкоцитах крови	люминометрический анализ метилирования, (LUMA)	Cho Y.H. et al., 2019
Уровень метилирован ия повторяющи хся элементов ДНК	*LINE1*	рабочие атомной индустрии	комбинированн ое воздействие излучений с высокой и низкой LET	157.74±85.48 мЗв	**Гиперметилирование** в лейкоцитах крови, но уровень метилирования **уменьшается** с ростом тотальной дозы облучения	метилспецифический qPCR анализ	Lee Y. et al., 2015
	LINE1	работники промышленной радиографии	γ-/ рентгеновское излучение	60.5±49.6 мЗв	**Гипометилирование** в лейкоцитах крови	бисульфитное пиросеквенирование	Cho Y.H. et al., 2019
Локус-	*p16/INK4A*	работники	α–излучения	от 2 до 425	Дозозависимое	Метилспецифическая	Su S.B. et al., 2006

специфичес-кие изменения метилирова-ния ДНК	и *MGMT*	урановых рудников	радона	WLM	**гиперметилирование** промоторов (ДНК выделена из образцов слюны)	ПЦР	
	p16/INK4A, MGMT, DAP-K, RASSF1A	облученные работники ПО «Маяк	γ-излучение α-излучение ^{239}Pu	133 сГр (среднее) 52 сГр (среднее)	**Гиперметилирование** промотора *p16/INK4A* в аденокарциноме легкого у облученных работников по сравнению с таковым показателем в аналогичных опухолях необлученных лиц;	Метилспецифическая ПЦР	Belinsky S.A. et al., 2004
	GATA5, PAX5beta H-cadherin	облученные работники ПО «Маяк	γ-излучение α-излучения ^{239}Pu	150 сГр (среднее) 61 сГр (среднее)	**Гиперметилирование** промотора *GATA5* в аденокарциноме легкого у облученных работников по сравнению с таковым показателем в аналогичных опухолях	Метилспецифическая ПЦР	Lyon C.M. et al., 2007
	PMM2, HCG14, NDRG2, SGPL1	беременные женщины и их дети, обследованные с момента рождения до 15 лет	α-излучение ^{222}Rn	Проживание в помещениях с повышенной удельной активностью радона (>200 Бк/м^3)	**Гипометилирование и гиперметилирование** ряда CpG-сайтов (в определенные периоды онтогенеза)	Широкогеномное ис следование метилома (ДНК-микрочип, Illumina 450 K)	de Vocht F. et al., 2019

Рис. Радиационно-индуцированные изменения метилирования ДНК и структурно-функциональная дестабилизация генома клеток.
регулярные наблюдения, твердо установленные факты более редкие наблюдения и предположения

БЛАГОДАРНОСТЬ

Хочу вспомнить и поблагодарить ученых, под руководством которых с 1999 г. я делала свои первые шаги в науке. К сожалению, они уже ушли из жизни: ведущий научный сотрудник Сусков И.И. – научный руководитель еще по моей кандидатской диссертации, Шевченко В.А. – в те времена заведующий лабораторией радиационной генетики, Веснина И.Н. – научный сотрудник, помогавшая мне в освоении методик. С ними проводились цитогенетические исследования, позволившие сформулировать концепции и выводы, впоследствии указавшие на необходимость привлечения новых экспериментальных подходов для расширения наших представлений о генетических последствиях облучения человека. Не верится, что нет с нами моего коллеги и соавтора по молекулярно-генетическим исследованиям Мязина А.Е. С ним мы вместе начинали организовывать и проводить работы с применением новых для лаборатории методик. Недавно не стало Сусковой В.С., в рамках сотрудничества с которой было проведено иммунофенотипирование лимфоцитов крови. На тот момент она возглавляла лабораторию иммунодиагностики и иммунокоррекции ФГБУ НМИЦ трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова. Всем им огромная благодарность и светлая память!

После этих печальных воспоминаний я выражаю огромную благодарность и признательность коллективу лаборатории экологической генетики ИОГен РАН за помощь и моральную поддержку в ходе выполнения диссертационной работы: научному консультанту - зав. лабораторией экологической генетики А.В. Рубановичу, зав. группой мутагенеза и репарации Абилеву С.К., бывшим и настоящим сотрудникам нашей лаборатории, моим соавторам – Засухиной Г.Д., Лаптевой Н.Ш., Агаджанян А.В., Панушкиной О.Г., Кузнецовой Г.И., Костиной Л.Н. и др.