

## МЕТИЛИРОВАНИЕ ГЕНОВ *BCL-2*, *CDKN1A* И *ATM* У ЛИЦ, ПОДВЕРГШИХСЯ ХРОНИЧЕСКОМУ ОБЛУЧЕНИЮ

Е. А. Блинова<sup>1,2</sup>✉, В. С. Никифоров<sup>1,2</sup>, М. А. Янишевская<sup>1</sup>, А. В. Аклев<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства, Челябинск, Россия

<sup>2</sup> Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

Метилирование ДНК является наиболее распространенной эпигенетической модификацией, вызываемой ионизирующим излучением. При этом можно наблюдать как гиперметилирование, которое подавляет транскрипцию промоторных областей генов, так и гипометилирование, приводящее к активации генов. Оба указанных механизма могут принимать участие в канцерогенезе. Целью настоящего исследования было оценить статус метилирования CpG-островков промоторов генов защитных систем *BCL-2*, *CDKN1A* и *ATM* в клетках периферической крови у хронически облученных жителей прибрежных сел р. Течи (Челябинская область) в отдаленные сроки. Оценку метилирования промоторных регионов генов *BCL-2*, *CDKN1A* и *ATM* у 68 человек, проживающих в селах, расположенных по берегам р. Течи, проводили методом метилспецифичной ПЦР в реальном времени. В группу облученных лиц вошли 54 человека, у которых кумулятивные дозы красного костного мозга находились в диапазоне от 0,09 до 3,51 Гр. Группа сравнения состояла из 14 человек, проживающих в схожих социально-экономических условиях с накопленной дозой облучения красного костного мозга менее 70 мГр за весь период своей жизни. В результате проведенного пилотного исследования у облученных лиц в отдаленном периоде после хронического низкоинтенсивного радиационного воздействия не были выявлены значимые изменения в уровне метилирования CpG-островков промоторных регионов генов *CDKN1A*, *BCL-2*, *ATM* относительно группы сравнения, также не были отмечены изменения в дозовых подгруппах «от 87 до 994 мГр» и «более 1000 мГр».

**Ключевые слова:** метилирование ДНК, CpG-островки, отдаленные эффекты облучения, хроническое облучение, метилспецифичная ПЦР

**Финансирование:** исследование в рамках государственного задания Федерального медико-биологического агентства России «Состояние клеточного иммунитета человека в период реализации отдаленных эффектов хронического радиационного воздействия» (27.002.20.800).

**Вклад авторов:** Е. А. Блинова — анализ литературы, экспериментальная часть, обработка данных, написание текста статьи; В. С. Никифоров — анализ литературы, экспериментальная часть, написание текста статьи; М. А. Янишевская — экспериментальная часть, редактирование текста статьи; А. В. Аклев — общее руководство, написание текста статьи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России (протокол № 2 от 20 июля 2021 г.). Все обследованные лица подписали информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Евгения Андреевна Блинова  
ул. Воровского, д. 68, корп. 1, г. Челябинск, 454141; blinova@urcrm.ru

**Статья получена:** 27.07.2021 **Статья принята к печати:** 29.08.2021 **Опубликована онлайн:** 21.09.2021

**DOI:** 10.47183/mes.2021.028

## *BCL-2*, *CDKN1A* AND *ATM* GENE METHYLATION IN CHRONICALLY EXPOSED INDIVIDUALS

Blinova EA<sup>1,2</sup>✉, Nikiforov VS<sup>1,2</sup>, Yanishevskaya MA<sup>1</sup>, Akleyev AV<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Urals Research Center for Radiation Medicine of the Federal Medical Biological Agency, Chelyabinsk, Russia

<sup>2</sup> Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

DNA methylation is the most common epigenetic modification, caused by ionizing radiation. There may be both hypermethylation, which suppresses transcription of gene promoter regions, and hypomethylation, resulting in gene activation. Both mechanisms may be involved in carcinogenesis. The study was aimed to assess methylation status of CpG islands in the protective system *BCL-2*, *CDKN1A* and *ATM* gene promoters in the peripheral blood cells of the chronically exposed individuals, living in the villages, located along the Techa River, over a long-term period. Methylation of *BCL-2*, *CDKN1A* and *ATM* gene promoter regions in 68 residents of the villages, located along the Techa River (Chelyabinsk region), was assessed by the real-time methylation-specific PCR. The group of exposed individuals included 54 people with accumulated dose to red bone marrow within the range of 0.09–3.51 Gy. The comparison group included 14 people, living in similar economic and social environment, with the dose to red bone marrow, accumulated during the whole life, not exceeding 70 mGy. The pilot study of exposed individuals over a long period of time after chronic low-dose radiation exposure revealed no significant changes in methylation levels of CpG islands in the *CDKN1A*, *BCL-2*, *ATM* gene promoter regions compared to the comparison group. None were revealed in the dose subgroups “87–994 mGy” and “over 1000 mGy”.

**Keywords:** DNA methylation, CpG islands, long-term effects of exposure, chronic exposure, methylation-specific PCR

**Funding:** the study was carried out within the framework of the State assignment of Russian Federal Medical Biological Agency “Human Cell-Mediated Immunity During Realization of Chronic Radiation Exposure Late Effects” (code 27.002.20.800).

**Author contribution:** Blinova EA — literature analysis, experimental procedure, data processing, manuscript writing; Nikiforov VS — literature analysis, experimental procedure, manuscript writing; Yanishevskaya MA — experimental procedure, manuscript editing; Akleyev AV — general management, manuscript writing.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of Ural Research Center for Radiation Medicine of Russian Federal Medical Biological Agency (protocol № 2 dated July 20, 2021). The informed consent was submitted by all examined individuals.

✉ **Correspondence should be addressed:** Evgeniya A. Blinova  
Vorovskogo, 68, korp. 1, Chelyabinsk, 454141; blinova@urcrm.ru

**Received:** 27.07.2021 **Accepted:** 29.08.2021 **Published online:** 21.09.2021

**DOI:** 10.47183/mes.2021.028

Метилирование ДНК является наиболее распространенной эпигенетической модификацией, играющей важную роль в регуляции клеточных процессов, прежде всего экспрессии генов и геномной нестабильности [1]. Из всех эпигенетических модификаций наиболее широко изучено гиперметилирование, которое подавляет транскрипцию промоторных областей генов, приводя к уменьшению экспрессии генов или полному их выключению [2]. Однако в последнее время все больше появляется информация о глобальном гипометилировании генов как факторе развития онкогенеза [3].

Являясь достаточно лабильной системой, статус метилирования ДНК в значительной степени зависит от эндогенных факторов (аберрантная активность метилтрансфераз, нарушение работы систем репарации клетки) [4] и экзогенных факторов, в том числе от факторов радиационной природы. Так, в экспериментальных исследованиях на мышах показано выраженное аномальное метилирование промотора гена опухолевого супрессора *p16(INKa)* при хроническом низкодозовом воздействии (50 сГр). При этом авторы указывают, 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 [5].

Однако, несмотря на активное изучение статуса метилирования у человека при воздействии различных неблагоприятных факторов, в настоящее время существуют единичные работы, свидетельствующие об индукции и сохранении в течение длительного времени эпигенетических модификаций в лейкоцитах периферической крови человека после облучения. Имеющиеся результаты ряда исследований демонстрируют, что ионизирующее излучение опосредует стойкое изменение статуса метилирования ДНК в широком диапазоне доз. Так, в исследовании [6] описано радиационно-индуцированное аберрантное метилирование генов *GSTP1*, *CDKN2A*, *ARF* и *RASSF1A* в отдаленные сроки после облучения у ликвидаторов аварии на ЧАЭС. У рентгенологов, подвергшихся радиационному воздействию в диапазоне малых доз, уровень метилирования генома был достоверно ниже, чем у людей, не подвергавшихся облучению [7]. Гипометилирование было выявлено в исследовании [8]: с увеличением дозы облучения в лимфоцитах крови работников, подвергавшихся профессиональному внешнему облучению, наблюдалось снижение степени метилирования генов апоптоза (*BAD*, *BID*, *HRK*). Подобный эффект может свидетельствовать о дифференциальном характере ответа эпигенома на радиационное воздействие в низких и высоких дозах.

Для того чтобы сделать надежные выводы о влиянии метилирования ДНК на фенотип, изменения в статусе метилирования промоторных участков генов необходимо представить в контексте изменения паттернов экспрессии генов. Ранее нами было показано, что в отдаленные сроки в клетках периферической крови облученных лиц наблюдается изменение со стороны экспрессии мРНК генов системы гомеостаза и иммунного ответа клеток. В частности, в отдаленные сроки у хронически облученных людей отмечали низкие показатели относительного содержания мРНК генов *BCL-2* и *NFKB1* и высокие уровни мРНК генов *BAX* и *PADI4*. Было показано снижение экспрессии мРНК генов *CDKN1A* и *ATM* у лиц с дозами облучения красного костного мозга (ККМ), превышающими 1000 мГр [9].

Целью настоящего исследования было оценить статус метилирования CpG-островков промоторов генов *BCL-2*, *CDKN1A* и *ATM* в клетках периферической крови у хронически облученных жителей сел, расположенных по берегам р. Течи, в отдаленные сроки.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Оценку метилирования промоторных регионов генов осуществляли у лиц, проживающих в селах, расположенных по берегам р. Течи (Челябинская область). Отбор обследованных лиц проводили с использованием медико-дозиметрической базы данных «Человек», разработанной отделом «База данных — «Человек» ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России. Критерии включения: год рождения обследуемого до 1960 включительно, постоянное проживание на прибрежных территориях р. Течи в период 1950–1960 гг., наличие реконструированной индивидуальной поглощенной дозы облучения ККМ, рассчитанной по дозиметрической системе TRDS (Techa River Dosimetry System, версия 2016) специалистами биофизической лаборатории ФГБУН УНПЦ РМ [10]. Критерии исключения: наличие хронических воспалительных, онкологических и аутоиммунных заболеваний, прием антибиотиков, гормональных и цитостатических препаратов, диагностическое облучение в течение 6 месяцев до момента взятия образца крови, наличие контакта с химическими (генотоксичными) агентами в связи с профессиональной деятельностью.

В группу облученных лиц вошли 54 человека, у которых кумулятивные дозы облучения красного костного мозга (ККМ) находились в диапазоне от 87 до 3510 мГр (среднее значение —  $960 \pm 100$  мГр). Суммарные дозы облучения ККМ большинства облученных людей (36 человек (66,7%)) находились в диапазоне промежуточных значений от 100 до 994 мГр. Дозы, превышающие 1000 мГр, получили 18 человек (33,3%). Группа сравнения состояла из 14 человек, проживающих в сходных социально-экономических и хозяйственно-бытовых условиях (сельское население), но с интенсивностью облучения ККМ, не превышавшей 1 мГр/год, и накопленной дозой менее 70 мГр за весь период жизни. Обследуемые группы включали лиц обоего пола, принадлежавших к следующим этническим группам: тюрки (в основном татары, башкиры) и славяне, представленные преимущественно русскими. Характеристика исследуемых групп представлена в табл. 1.

Исследование уровня метилирования ДНК проводили в лейкоцитах периферической крови. Забор материала осуществляли утром натощак в стерильные вакуумные пробирки с ЭДТА-КЗ. ДНК из цельной крови экстрагировали с использованием набора GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific; CUSA) в соответствии с протоколом производителя.

Метод определения метилирования ДНК был основан на специфической детекции 5-метилцитозина или продуктов его превращения в результате бисульфитной конверсии. Проводили полную денатурацию геномной ДНК и обработку бисульфитом в условиях, при которых цитозин стехиометрически конвертировался в урацил, тогда как 5-метилцитозин модификациям не подвергался. Бисульфитная конверсия была выполнена с использованием набора реагентов EpiJET Bisulfite Conversion Kit (Thermo Scientific; CUSA) в соответствии с протоколом производителя.

Таблица 1. Характеристика обследованной группы лиц

Характеристика групп		Группа облученных <i>n</i> = 54	Группа сравнения <i>n</i> = 14
Возраст, лет, mean $\pm$ SD (min–max)		73,5 $\pm$ 0,57 (65–83)	74,0 $\pm$ 0,97 (68–79)
Пол, N, (%)	Мужчины	15 (27,8)	4 (28,6)
	Женщины	39 (72,2)	10 (79,0)
Этническая группа, N, (%)	Славяне	29 (46,3)	7 (50,0)
	Тюрки	31 (53,7)	7 (50,0)
Средняя доза ККМ, мГр mean $\pm$ SD (min–max)		960 $\pm$ 100 (87–3510)	22 $\pm$ 4 (3–49)

После обработки ДНК бисульфитом проводили амплификацию с праймерами, специфичными для метилированных и неметилированных участков ДНК. Поиск праймеров для ПЦР фрагментов промоторных регионов генов системы клеточного гомеостаза (*ATM*, *BCL-2*, *CDKN1A*) был проведен на основании имеющихся литературных данных. Олигонуклеотиды были синтезированы фирмой ДНК-Синтез (Россия). Характеристика праймеров представлена в табл. 2.

Определение статуса метилирования интересующих нас последовательностей генов осуществляли методом метилспецифической ПЦР в реальном времени (МС-ПЦР РВ) на амплификаторе StepOnePlus Real-Time PCR System (Applied Biosystems; США). Для проведения МС-ПЦР РВ использовали готовую реакцию смесь *qPCRmix-HS SYBR* (Евроген; Россия), состоящую из высокопроцессивной *Taq* ДНК-полимеразы со специфическими моноклональными антителами, красителя *SYBR Green I*, смеси дНТФ,  $Mg^{2+}$  и ПЦР буфера. Объемы компонентов ПЦР смеси и условия амплификации соответствовали протоколу и инструкции производителя.

Наличие целевого продукта в ПЦР смеси после проведения реакции амплификации оценивали методом электрофореза в 2%-м агарозном геле. Основываясь на результатах данного анализа, качественно оценивали наличие или отсутствие aberrантного метилирования в исследуемых пробах.

В качестве положительного контроля метилирования для всех генов была использована геномная ДНК человека *CpG Methylated Human Genomic DNA* (Thermo Scientific; США) с известным уровнем метилирования ( $\geq 98\%$ ).

Для каждой пробы проводили ПЦР с праймерами для метилированных и неметилированных последовательностей генов. Визуализацию результатов

гель-электрофореза проводили с использованием системы гель-документирования Gel Doc XR+ (BioRad; США). Присутствие ампликатов на гель-электрофорезе, наработанных в процессе МС-ПЦР РВ с праймерами для метилированных участков генов, указывало на наличие aberrантного метилирования, а наличие ампликатов с праймерами для неметилированных участков генов свидетельствовало об отсутствии метилирования.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного комплекса Statistica (StatSoft; США). Для сравнения данных использовали точный критерий Фишера. Различия считали значимыми при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Число случаев метилирования *CpG*-островков промоторов генов *BCL-2*, *CDKN1A* и *ATM* в клетках периферической крови у хронически облученных лиц представлено в табл. 3.

Частота случаев метилирования *CpG*-островков промоторных регионов генов *CDKN1A*, *BCL-2*, *ATM* в группе облученных лиц значимо не отличалась от группы сравнения. При оценке случаев метилирования *CpG* островков у обследованных лиц в дозовых подгруппах «от 87 до 994 мГр» и «более > 1000 мГр» также не выявлено значимых различий с группой сравнения.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Эпигенетическая регуляция, в том числе метилирование ДНК, играет важную роль в клеточных процессах, обеспечивая правильную регуляцию экспрессии генов. Однако aberrантное метилирование может приводить

Таблица 2. Характеристика используемых в работе олигонуклеотидов

Ген	Тип праймера	Последовательности праймеров (5'–3')	Tm, °C	Длина ампликона, п.н.	Ссылка
<i>BCL-2</i>	Meth	Forward GTTTTTCAGCGTTCGGTATCGG Reverse AAATCTCTATCCACGAAACCGC	60	192	[8]
	Unmeth	Forward GGGTTTTTGTGTTTGGTATTGG Reverse AAATCTCTATCCACAAACCACTTC	59	194	
<i>ATM</i>	Meth	Forward GGAGTTCGAGTCGAAGGGC Reverse CTACCTACTCCCGCTTCCGA	59	239	[9]
	Unmeth	Forward GTTTTGGAGTTTGTGTTGAAGGGT Reverse AACTACCTACTCCCACTTCCAA	56	246	
<i>CDKN1A</i>	Meth	Forward GTCGAAGTTAGTTTGTGGAGTC Reverse CGAAATCCCCTATTATCTACGC	65	230	[10]
	Unmeth	Forward TTGAAGTTAGTTTGTGGAGTTG Reverse CCAAAATCCCCTATTATCTACCAC	66	230	

Примечание: Tm — температура плавления; Meth — метилированный праймер; Unmeth — неметилированный праймер.

**Таблица 3.** Частота случаев метилирования CpG-островков промоторов генов *BCL-2*, *CDKN1A* и *ATM* в клетках периферической крови у хронически облученных лиц

Ген/ <i>n</i> <sup>1</sup>	Группа сравнения с дозами < 49 мГр		Все облученные лица с дозами от 87 до 3510 мГр		Облученные лица с дозами от 87 до 994 мГр		Облученные лица с дозами > 1000 мГр	
	МП % ( <i>n</i> )	НМП % ( <i>n</i> )	МП % ( <i>n</i> )	НМП % ( <i>n</i> )	МП % ( <i>n</i> )	НМП % ( <i>n</i> )	МП % ( <i>n</i> )	НМП % ( <i>n</i> )
<i>CDKN1A</i>	7,1 (1)	92,9 (13)	0,0 (0)	100 (53)	0 (0)	100 (36)	0 (0)	100 (17)
			F	<i>p</i>	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>
			0,21	>0,05	0,28	>0,05	0,45	>0,05
<i>BCL-2</i>	18,2 (2)	81,8 (9)	40,4 (21)	59,6 (31)	50 (17)	50 (17)	22,2 (4)	77,8 (14)
			F	<i>p</i>	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>
			0,3	>0,05	0,08	>0,05	1	>0,05
<i>ATM</i>	63,6 (7)	36,4 (4)	83,7 (41)	16,3 (8)	82,4 (28)	17,6 (6)	86,7 (13)	13,3 (2)
			F	<i>p</i>	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>
			0,2	>0,05	0,23	>0,05	>0,05	1

**Примечание:** МП — число лиц с метилированным промотором; НМП — число лиц с неметилированным промотором; F — точный критерий Фишера; *p* — уровень значимости.

к развитию различных патологических состояний, нестабильности генома и раку [11]. Известно, что будучи генотоксическим агентом, ионизирующее излучение способствует как гипер-, так и гипометилированию ДНК. В большинстве исследований *in vitro* и *in vivo*, показано, что в ранние сроки после облучения (часы, дни) эпигенетический статус генома изменяется достаточно динамично [12], при этом имеются лишь единичные исследования статуса метилирования ДНК у человека в отдаленные сроки после радиационного воздействия. Так, у ликвидаторов аварии на ЧАЭС и работников реакторного и радиохимического производств ПО «Маяк» было выявлено гиперметилирование CpG-островков промоторов генов *p16/INKA* и *GSTP1* в лейкоцитах крови в отдаленном периоде после радиационного воздействия [13]. Противоположные результаты получены при исследовании рентгенологов. Так, в работе [7] показано, что низкодозовое облучение (20 мЗв в год или 100 мЗв за 5 лет) способствует гипометилированию геномной ДНК клеток крови.

Результаты настоящего пилотного исследования свидетельствуют об отсутствии изменений в статусе метилирования CpG-островков промоторных регионов генов *CDKN1A*, *BCL-2* и *ATM* в отдаленном периоде у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию.

Следует отметить, что радиационно-индуцированные эффекты, связанные с метилированием ДНК могут зависеть от ряда факторов: типа клеток, подвергшихся облучению, физиологических особенностей обследованных лиц, вида излучения, дозы и времени после облучения.

Полученные результаты являются предварительными. Для более полного понимания влияния хронического низкоинтенсивного радиационного воздействия на уровень метилирования необходимо расширить выборку обследуемых лиц, а также провести количественный анализ с расчетом процента метилирования промоторных областей генов.

## ВЫВОДЫ

В результате проведенного исследования не выявлено различий в количестве случаев метилирования CpG островков промоторных регионов генов *CDKN1A*, *BCL-2* и *ATM* у облученных лиц относительно группы сравнения. Полученные результаты являются предварительными — в дальнейшем планируется расширение линейки изученных генов и определение процентного уровня метилирования по каждому промоторному участку гена в группе обследованных лиц.

## Литература

- Spainhour JC, Lim HS, Yi SV, Qiu P. Correlation patterns between DNA methylation and gene expression in the Cancer Genome Atlas. *Cancer Inform.* 2019; (18): 1–11. DOI: 10.1177/1176935119828776. PMID: 30792573. PMCID: PMC6376553.
- Greenberg MVC, Bourchis D. The diverse roles of DNA methylation in mammalian development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019; (20): 590–607. DOI: 10.1038/s41580-019-0159-6. PMID: 31399642.
- Van Tongelen A, Lorient A, De Smet C. Oncogenic roles of DNA hypomethylation through the activation of cancer-germline genes. *Cancer Lett.* 2017; 28 (396): 130–7. DOI: 10.1016/j.canlet.2017.03.029. PMID: 28342986.
- Edwards JR, Yarychivska O, Boulard M, Bestor TH. DNA methylation and DNA methyltransferases. *Epigenetics & Chromatin.* 2017; 10 (23): 1–10. DOI: 10.1186/s13072-017-0130-8.
- Kovalchuk O, Burke P, Besplug J, Slovack M, Filkowski J, Pogridny I. Methylation changes in muscle and liver tissues of male and female mice exposed to acute and chronic low dose X-ray irradiation. *Mutat Res.* 2004; 548 (1–2): 75–84. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2003.12.016. PMID: 15063138.
- Кузьмина Н. С. Изучение aberrантного метилирования в лейкоцитах крови ликвидаторов аварии на ЧАЭС. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2014; 54 (2): 127–39.
- Cho YH, Jang Y, Woo HD, Kim YJ, Kim SY, Christensen S, et al. LINE-1 Hypomethylation is associated with radiation-induced genomic instability in industrial radiographers. *Environ Mol Mutagen.* 2018; 60 (2): 174–84. DOI: 10.1002/em.22237.
- Исубакова Д. С., Цымбал О. С., Брониковская Е. В., Литвяков Н. В., Мильто И. В., Тахауов Р. М. Метилирование промоторов генов апоптоза в лимфоцитах крови работников, подвергавшихся в процессе профессиональной деятельности долговременному внешнему облучению. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2021; 171 (3): 339–43.
- Никифоров В. С., Блинова Е. А., Акеев А. В. Влияние комплекса факторов радиационной и нерадиационной природы на профиль транскрипционной активности генов у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию.

- Вопросы радиационной безопасности. 2019; 2 (94): 64–70.
10. Degteva MO, Napier BA, Tolstykh EI, Shiskina EA, Bougrov NG, Krestinina LYu, Akleev AV. Individual dose distribution in cohort of people exposed as a result of radioactive contamination of the Techa River. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2019; 64 (3): 46–53. DOI: 10.12737/article\_5cf2364cb49523.98590475.
  11. Kulis M, Esteller M. DNA methylation and cancer. *Adv Genet*. 2010; (70): 27–56. DOI: 10.1016/B978-0-12-380866-0.60002-2. PMID: 20920744.
  12. Jaenisch R. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet*. 2003; (33): 245–54. DOI: 10.1038/ng1089. PMID: 12610534.
  13. Kuzmina NS, Lapteva NSh, Rubanovich AB. Hypermethylation of gene promoters in peripheral blood leukocytes in humans long term after radiation exposure. *Environ Res*. 2016; (146): 10–17. DOI: 10.1016/j.envres.2015.12.008.

## References

1. Spainhour JC, Lim HS, Yi SV, Qiu P. Correlation patterns between DNA methylation and gene expression in the Cancer Genome Atlas. *Cancer Inform*. 2019; (18): 1–11. DOI: 10.1177/1176935119828776. PMID: 30792573. PMCID: PMC6376553.
2. Greenberg MVC, Burchis D. The diverse roles of DNA methylation in mammalian development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2019; (20): 590–607. DOI: 10.1038/s41580-019-0159-6. PMID: 31399642.
3. Van Tongelen A, Lorient A, De Smet C. Oncogenic roles of DNA hypomethylation through the activation of cancer-germline genes. *Cancer Lett*. 2017; 28 (396): 130–7. DOI: 10.1016/j.canlet.2017.03.029. PMID: 28342986.
4. Edwards JR, Yarychivska O, Boulard M, Bestor TH. DNA methylation and DNA methyltransferases. *Epigenetics & Chromatin*. 2017; 10 (23): 1–10. DOI: 10.1186/s13072-017-0130-8.
5. Kovalchuk O, Burke P, Besplug J, Slovack M, Filkowski J, Pogridny I. Methylation changes in muscle and liver tissues of male and female mice exposed to acute and chronic low dose X-ray irradiation. *Mutat Res*. 2004; 548 (1–2): 75–84. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2003.12.016. PMID: 15063138.
6. Kuzmina NS. Izuchenie aberrantnogo metilirovaniya v lejkocitah krovi likvidatorov avarii na ChAJeS. *Radiacionnaya biologiya. Radiojekologiya*. 2014; 54 (2): 127–39. Russian.
7. Cho YH, Jang Y, Woo HD, Kim YJ, Kim SY, Christensen S, et al. LINE-1 Hypomethylation is associated with radiation-induced genomic instability in industrial radiographers. *Environ Mol Mutagen*. 2018; 60 (2): 174–84. DOI: 10.1002/em.22237.
8. Isubakova DS, Cymbal OS, Bronikovskaja EV, Litvjakov NV, Miito IV, Tahauov RM. Metilirovanie promotorov genov apoptoza v limfocitah krovi rabotnikov, podvergovshisja v processe professional'noj dejatel'nosti dolgovremennomu vneshnemu oblucheniju. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 2021; 171 (3): 339–43. Russian.
9. Nikiforov VS, Blinova EA, Akleev AV. Vlijanie kompleksa faktorov radiacionnoj i neradiacionnoj prirody na profil' transkripcionnoj aktivnosti genov u lic, podvergvshisja hronicheskomu radiacionnomu vozdejstvu. *Voprosy radiacionnoj bezopasnosti*. 2019; 2 (94): 64–70. Russian.
10. Degteva MO, Napier BA, Tolstykh EI, Shiskina EA, Bougrov NG, Krestinina LYu, Akleev AV. Individual dose distribution in cohort of people exposed as a result of radioactive contamination of the Techa River. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2019; 64 (3): 46–53. DOI: 10.12737/article\_5cf2364cb49523.98590475.
11. Kulis M, Esteller M. DNA methylation and cancer. *Adv Genet*. 2010; (70): 27–56. DOI: 10.1016/B978-0-12-380866-0.60002-2. PMID: 20920744.
12. Jaenisch R. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet*. 2003; (33): 245–54. DOI: 10.1038/ng1089. PMID: 12610534.
13. Kuzmina NS, Lapteva NSh, Rubanovich AB. Hypermethylation of gene promoters in peripheral blood leukocytes in humans long term after radiation exposure. *Environ Res*. 2016; (146): 10–17. DOI: 10.1016/j.envres.2015.12.008.