

<https://doi.org/10.47183/mes.2025-384>

УДК 614.876:539.1.04:575.224.232



ОЦЕНКА ЧАСТОТЫ СВЕРХКОРОТКИХ И СВЕРХДЛИННЫХ ТЕЛОМЕР У ХРОНИЧЕСКИ ОБЛУЧЕННЫХ ЖЕНЩИН

Я.В. Кривошапова[✉], Ю.Р. Ахмадуллина

Южно-Уральский федеральный научно-клинический центр медицинской биофизики, Озерск, Россия

Введение. Длина теломер рассматривается как потенциальный биомаркер индивидуальной радиочувствительности и радиорезистентности человека. Радиационное облучение может как увеличивать, так и уменьшать среднюю длину теломер в клетках, при этом показатели длин отдельных теломер варьируют в широком диапазоне. Оценка частоты сверхкоротких и сверхдлинных теломер может указывать на изменения репликативного потенциала клеток и на радиационно-индуцированные нарушения генома.

Цель. Изучить относительную длину теломер методом Q-FISH у облученных лиц, а также выявить у них долю сверхкоротких и сверхдлинных теломерных участков хромосом.

Материалы и методы. Исследование проведено с участием 43 доноров-добровольцев (женщин) различных возрастных групп (21–28, 60–67, 71–83 года). На первом этапе в контрольной группе проведено исследование зависимости относительной длины теломер от возраста. Доноры были разделены на группы: младшая ($n = 4$) — не подвергавшиеся облучению женщины в возрасте 21–28 лет; средняя ($n = 12$) — женщины в возрасте 60–67 лет; старшая ($n = 5$) — женщины в возрасте 71–83 года. На II этапе у доноров ($n = 5$) старшей возрастной группы был определен референс средней длины теломер. На III этапе, учитывая установленные референсные значения, изучали длину теломер у облученных лиц ($n = 22$), в том числе в зависимости от возраста и дозы облучения красного костного мозга (ККМ). Цитогенетические препараты получали согласно протоколу, который включает культивирование клеток до стадии метафазы, гипотоническую обработку, фиксацию метафазных пластинок и получение препаратов хромосом. Флуоресцентная окраска теломер проводилась зондами (DAKO, Дания) в соответствии с протоколом производителя. В работе использовали стандартные методы описательной и сравнительной статистики.

Результаты. У облученных лиц медианная длина теломер статистически значимо выше, чем в группе сравнения (10,3% против 5,8%, $p = 0,0001$), при этом у них снижена частота сверхкоротких теломер (1,6% против 5%) и повышена частота сверхдлинных (19,5% против 5%, $p < 0,0001$). Исследование методом «случай — контроль» подтвердило данную закономерность для лиц со средней и высокой дозой облучения ККМ. Наблюдалось статистически значимое снижение медианной длины теломер в группе доноров с высокой дозой облучения ККМ относительно лиц со средними дозами (11,9% против 10,6%, $p = 0,0001$). С увеличением дозы облучения ККМ частота сверхкоротких теломер экспоненциально уменьшалась ($R^2 = 0,23$, $p = 0,0036$).

Выводы. Отмечено снижение относительной длины теломер у необлученных лиц с увеличением возраста, в группе молодых доноров 20–28 лет медианное значение длины теломер составило 31,0%, в группе 60–67 лет — 13,0%, в группе 71–83 года — 5,8% ($p = 0,0001$). Референсное значение сверхкоротких теломер для возрастной группы 71–83 года составило 0–0,7%, а сверхдлинных — от 25,6% и выше. У облученных лиц медианная длина теломер статистически значимо выше, чем в группе сравнения ($p = 0,0001$). У облученных лиц снижена частота сверхкоротких теломер и выше частота сверхдлинных теломер относительно группы сравнения ($p = 0,004$). Отмечена нелинейная регрессионная зависимость частоты сверхкоротких теломер от дозы облучения ККМ: с увеличением дозы облучения частота экспоненциально уменьшается.

Ключевые слова: теломеры; длина теломер; короткие теломеры; длинные теломеры; женщины; хроническое радиационное воздействие; река Теча

Для цитирования: Кривошапова Я.В., Ахмадуллина Ю.Р. Оценка частоты сверхкоротких и сверхдлинных теломер у хронически облученных женщин. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2025. <https://doi.org/10.47183/mes.2025-384>

Финансирование: работа выполнена в рамках государственного задания Федерального медико-биологического агентства «Отдаленные цитогенетические эффекты хронического облучения у жителей Южного Урала» (№ 388-03-2025-085, шифр: «Цитогенетические эффекты»).

Соответствие принципам этики: исследование одобрено комитетом по этике ФГБУН ЮУрФНЦ МБ ФМБА России (протокол № 6 от 19.12.2022). Всеми участниками подписано добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Потенциальный конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

✉ Кривошапова Яна Владимировна Yana_ho@mail.ru

Статья поступила: 28.08.2025 **После доработки:** 01.11.2025 **Принята к публикации:** 12.11.2025 **Online first:** 27.12.2025

EVALUATION OF THE FREQUENCY OF ULTRA-SHORT AND ULTRA-LONG TELOMERES IN CHRONICALLY EXPOSED WOMEN

Yana V. Krivoshchapova[✉], Yulia R. Akhmadullina

Southern Urals Federal Research and Clinical Center for Medical Biophysics, Ozersk, Russia

Introduction. Telomere length is considered a potential biomarker for individual human radiosensitivity and radioresistance. Radiation exposure can both increase and decrease the average telomere length in cells, while the lengths of individual telomeres vary widely. The assessment of ultra-short and ultra-long telomere frequency may indicate alterations in the replicative potential of cells and radiation-induced genomic instability.

Objective. To investigate the relative telomere length using the Q-FISH method in exposed individuals and to identify the proportion of ultra-short and ultra-long chromosomal telomeric regions in this cohort.

© Я.В. Кривошапова, Ю.Р. Ахмадуллина, 2025

Materials and methods. The study involved 43 volunteer donors (women) from different age groups (21–28; 60–67; and 71–83 years). At stage I, an investigation of the dose-dependence of relative telomere length was performed in the control group. The donors were divided into groups: younger ($n = 4$) — non-exposed women aged 21–28 years; middle-aged ($n = 12$) — women aged 60–67 years; older ($n = 5$) — women aged 71–83 years. At stage II, the reference for average telomere length was established using donors ($n = 5$) from the older age group. At stage III, considering the established reference values, telomere length was studied in exposed individuals ($n = 22$), including analysis based on age and bone marrow dose. Cytogenetic preparations were obtained according to a protocol that includes cell culturing to the metaphase stage, hypotonic treatment, fixation of metaphase plates, and chromosome slide preparation. Telomeres were fluorescently stained using probes (DAKO, Denmark) in accordance with the manufacturer's protocol. Standard methods of descriptive and comparative statistics were used.

Results. In exposed individuals, the median telomere length was statistically significantly higher than that in the comparison group (10.3% vs. 5.8%, $p = 0.0001$). Concurrently, this group exhibited a reduced frequency of ultra-short telomeres (1.6% vs. 5%) and an increased frequency of ultra-long telomeres (19.5% vs. 5%, $p < 0.0001$). A case-control study confirmed this pattern for the individuals with medium and high bone marrow doses. A statistically significant decrease in median telomere length was observed in donors with a high bone marrow dose compared to those with medium doses (11.9% vs. 10.6%, $p = 0.0001$). An increase in the bone marrow dose led to an exponential decrease in the frequency of ultra-short telomeres ($R^2 = 0.23$, $p = 0.0036$).

Conclusions. A decrease in relative telomere length was observed in non-exposed individuals with an increase in age. In the group of young donors aged 20–28 years, the median telomere length was 31.0%, comprising 13.0% and 5.8% ($p = 0.0001$) in the 60–67 and 71–83 age groups, respectively. The reference range for ultra-short telomeres in the 71–83 year group was 0–0.7%, being 25.6% and above for ultra-long telomeres. In exposed individuals, the median telomere length was statistically significantly higher than in the comparison group ($p = 0.0001$). Exposed individuals exhibited a reduced frequency of ultra-short telomeres and an increased frequency of ultra-long telomeres with respect to the comparison group ($p = 0.004$). A non-linear regression dependence of the frequency of ultra-short telomeres on bone marrow dose manifested in an exponential decrease in frequency with an increase in dose was noted.

Keywords: telomeres; telomere length; short telomeres; long telomeres; women; chronic radiation exposure; the Techa River

For citation: Krivoshchapova Ya.V., Akhmadullina Yu.R. Evaluation of the frequency of ultra-short and ultra-long telomeres in chronically exposed women. *Extreme Medicine*. 2025. <https://doi.org/10.47183/mes.2025-384>

Funding: the study was conducted within the framework of the state assignment of the Federal Medical and Biological Agency "Long-term cytogenetic effects of chronic radiation exposure in residents of the Southern Urals" (No. 388-03-2025-085, code: Cytogenetic Effects).

Compliance with ethical principles: the study was approved by the Ethics Committee of the Southern Urals Federal Research and Clinical Center for Medical Biophysics (Minutes No. 6, of 19.12.2022). Written informed consent was obtained from all participants prior to their inclusion in the study.

Potential conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

✉ Yana V. Krivoshchapova Yana_ho@mail.ru

Received: 28 Aug. 2025 **Revised:** 1 Nov. 2025 **Accepted:** 12 Nov. 2025 **Online first:** 27 Dec. 2025

ВВЕДЕНИЕ

Согласно современным представлениям теломеры — это важнейшие концевые участки хромосом, которые выполняют большое количество функций, основная из которых — сохранение целостности генома. Отмечено, что длина теломер у каждого человека варьирует в широком диапазоне даже в пределах одной клетки и каждой хромосомной пары, что можно объяснить неравномерным укорочением теломер [1, 2]. Такой феномен распределения длины теломер на отдельных плечах индивидуальных хромосом называется «теломерным профилем хромосомы» [3]. Теломерный профиль может являться потенциальным биомаркером для прогнозирования рисков развития некоторых заболеваний, а также для оценки воздействия внешних неблагоприятных факторов, в том числе ионизирующего излучения [4]. В связи с этим исследования, направленные на изучение влияния радиационного воздействия на длину теломер, являются актуальными. Облучение людей при атомных взрывах в Хиросиме и Нагасаки в дозах, условно разделенных на низкие (5–700 мЗв) и высокие (>700 мЗв), приводило к укорочению теломер, и эти изменения сохранялись даже в отдаленные сроки (через 50–68 лет) после воздействия в высоких дозах [5]. В некоторых исследованиях, напротив, у облученных людей установлено увеличение длины теломер, что связывали с повышенной экспрессией теломеразы [6].

При оценке относительной длины теломер у работников атомной отрасли, подвергавшихся внутреннему α - (0,05 Гр; 0,05–0,1 Гр; >0,1 Гр) и внешнему γ - (1 Гр; 0,1–1,5 Гр; >1,5 Гр) облучению, было установлено, что снижение этого показателя обнаруживалось лишь после облучения в низких дозах как при внешнем гамма-облучении (при дозах <1 Гр), так и при внутреннем альфа-облучении (при дозах <0,05–0,1 Гр). При более высоких дозах этот показатель не отличался от значений у необлученного контроля [7]. Исследование, проведенное с участием лиц, подвергавшихся хроническому облучению в широком диапазоне доз (0–4,7 Гр), выявило снижение показателя относительной длины теломер при хроническом облучении (0,6–4,7 Гр) относительно группы сравнения для отдельных хромосомных плеч мета- и акроцентрических хромосом. Не было отмечено монотонного снижения длины теломер на хромосомах одной клетки или в разных плечах одной хромосомы [1]. Это свидетельствует о том, что длина теломер является динамической структурой и определяется не просто хронологическим возрастом, а совместным влиянием множества факторов эндогенной и экзогенной природы.

В научном сообществе обсуждаются вопросы, касающиеся изучения связи длины теломер с радиочувствительностью клеток и организма [8]. Так, исследования показывают, что некоторые заболевания, для которых характерна клиническая

повышенная радиочувствительность (атаксия-телеангиэктазия, синдром ломкой X-хромосомы, анемия Фанкони), отличаются нарушениями в поддержании структуры теломер [9].

Изучение радиочувствительности фибробластов человека при облучении рентгеновским *in vitro* излучением показало, что клоны клеток, сохранившие жизнеспособность после воздействия облучением в дозе 4 Гр, характеризовались увеличенной длиной теломер по сравнению с необлученными клонами. Авторами была выдвинута гипотеза о том, что клетки с более длинными теломерами являются более радиорезистентными, а радиочувствительность коррелирует с потерей теломер, а не с их средней длиной [4].

В ряде исследований показано, что количество сверхкоротких теломер, а не их средняя длина является наиболее информативным прогностическим маркером развития некоторых заболеваний [10]. Например, установлена взаимосвязь количества сверхкоротких теломер с различными заболеваниями человека, такими как хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и идиопатический легочный фиброз [11].

Все существующие методы исследования теломер хромосом подразделяются на две группы: молекулярные и молекулярно-цитогенетические. Наиболее подходящим для индивидуальной оценки теломерных участков является молекулярно-цитогенетический метод количественной флуоресцентной гибридизации *in situ* (Q-FISH) в метафазных хромосомах. Q-FISH — метод, в ходе которого используют флуоресцентно меченные пептидные нуклеиновые кислоты, которые специфически гибридизуются с денатурированной ДНК теломер. С помощью метода Q-FISH можно исследовать теломерные участки в каждой хромосоме каждой клетки, так как в процессе анализа проводится кариотипирование хромосом [1].

Настоящее исследование посвящено изучению длины теломер у облученных лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию в широком диапазоне доз вследствие проживания на загрязненных радионуклидами территориях, в отдаленные сроки наблюдения (через 60–65 лет). Облучение людей было сочетанным: внутренним — за счет поступления и накопления в организме радионуклидов $^{89,90}\text{Sr}$ и внешним — за счет γ -облучения. Критическим органом при воздействии излучения был красный костный мозг (ККМ). Дозы облучения на ККМ в основном были сформированы до 1960 г. [12].

Цель работы — изучение длины теломер методом Q-FISH у облученных лиц, а также выявление доли сверхкоротких и сверхдлинных теломерных участков хромосом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Исследование проведено с участием 43 доноров (женщин) различных возрастных групп (21–28, 60–67, 71–83 года). В него включали лиц, у которых не было в анамнезе аутоиммунных и онкологических заболеваний, хронических воспалительных заболеваний в фазе обострения. Исключали лиц, принимающих цитостатики и антибиотики. Информация о состоянии здоровья облученных лиц была получена из базы данных «Человек», индивидуальные дозы облучения были рассчитаны по TRDS-2016 в биофизической лаборатории, информация о наличии онкопатологии в анамнезе обследуемых лиц была предоставлена эпидемиологической лабораторией [13].

На первом этапе было проведено исследование зависимости относительной длины теломер от возраста в контрольной группе лиц (характеристика доноров представлена в таблице 1). Были сформированы три возрастные группы доноров:

- младшая возрастная группа — 4 женщины, не подвергавшиеся облучению, в возрасте 21–28 лет (средний возраст $24,0 \pm 2,9$ года);
- средняя возрастная группа — 12 доноров в возрасте 60–67 лет (средний возраст $63,8 \pm 1,8$ года);
- старшая возрастная группа — 5 доноров в возрасте 71–83 года (средний возраст $76,4 \pm 5,0$ года).

Доноры старшей возрастной группы проживали на загрязненных радионуклидами территориях, но их накопленная доза облучения ККМ не превышала 0,05 Гр за период жизни, в связи с чем далее (на II и III этапах исследования) этих доноров мы будем называть необлученными лицами или группой сравнения.

На II этапе в группе сравнения был определен референс средней длины теломер.

На III этапе, учитывая установленные референсные значения, изучали длину теломер у облученных лиц, в том числе в зависимости от возраста и дозы облучения ККМ.

Для оценки влияния ионизирующего излучения на длину теломер были сформированы две группы

Таблица 1. Характеристика доноров первого этапа исследования

Параметр	Возрастная группа доноров		
	младшая	средняя	старшая
Число доноров, N	4	12	5
Возраст, лет, M (min–max)	24 (21–28)	63,8 (60–67)	76,4 (71–83)
Доза на ККМ, Гр	0	0–0,05	0–0,05
Количество измерений теломерных участков, абс. ч.	4331	22 311	9732

Таблица составлена авторами по собственным данным

Примечание: возраст представлен в виде среднего значения и максимального и минимального значений; ККМ — красный костный мозг.

облученных доноров: подвергшиеся облучению в диапазоне доз 0,14–0,86 Гр (10 человек в возрасте 69–80 лет) составили группу облученных в средних дозах; группу облученных в высоких дозах составили 12 человек в возрасте 71–84 лет с дозами облучения ККМ 1,04–3,10 Гр (табл. 2).

Также для исключения влияния возрастного фактора был проведен анализ методом «случай — контроль». Для этого проводили отбор возможных контролей для каждого донора («случая») из группы облученных в средних дозах по критерию соответствия возраста на момент обследования. В качестве влияющего фактора рассматривалась доза облучения ККМ. Были сформированы 4 пары доноров близкого возраста. В каждой паре один из доноров имел установленную накопленную дозу облучения ККМ в диапазоне 0,61–0,86 Гр, второй донор из пары либо не подвергался аварийному облучению, либо имел дозу $\leq 0,05$ Гр (табл. 3).

Для исследования «случай — контроль» в диапазоне высоких доз на ККМ было отобрано 5 пар доноров близкого возраста. Один из доноров в паре имел дозу свыше 1 Гр, второй донор либо не подвергался аварийному облучению, либо имел дозу $\leq 0,05$ Гр (табл. 3).

Методика получения метафазных хромосом

Предметом исследования был ядерный хроматин стимулированных фитогемагглютинином (ФГА) Т-лимфоцитов периферической крови. Выбор Т-лимфоцитов обусловлен простотой получения исходного материала и достаточно высокой концентрацией клеток. Т-лимфоциты не делятся в периферической крови и находятся в G₀-фазе клеточного цикла, являясь синхронизированной в организме популяцией клеток. Клетки-предшественники лимфоцитов подвергались облучению непосредственно в ККМ.

Забор крови производился в вакуумные пластиковые пробирки для взятия крови с гепарином лития.

Культуральную смесь готовили из следующих компонентов: 2 мл цельной гепаринизированной крови, 5 мл среды RPMI-1640 («Панэко», Россия), 0,5 мл отборной эмбриональной телячьей сыворотки (РАА Laboratories, Австрия), ФГА добавляли в итоговой концентрации 20 мг/мл («Панэко», Россия). Клетки культивировали в CO₂-инкубаторе (SANYO MCO-18AIC, Япония) при 37,5 °C в течение 54 ч. За 3 ч до окончания культивирования вводили колхицин в итоговой

Таблица 2. Характеристика облученных доноров

Параметр	Все облученные	Средние дозы 0,14–0,86 Гр	Высокие дозы 1,04–3,10 Гр
Возраст, лет, М (min–max)	74,6 (69–84)	73,4 (69–80)	75,7 (71–84)
Число доноров, N	22	10	12
Доза на ККМ, Гр	0,14–3,10	0,14–0,86	1,04–3,10
Количество измерений теломерных участков, абс. ч.	38 416	18 852	19 564

Таблица составлена авторами по собственным данным

Примечание: возраст представлен в виде среднего значения и максимального и минимального значений; ККМ — красный костный мозг.

Таблица 3. Характеристика доноров в исследовании «случай — контроль»

№ пары «случай–контроль»	Возраст доноров, лет		Доза на ККМ, Гр		Количество измерений, абс. ч.	
	Случай	Контроль	Случай	Контроль	Случай	Контроль
Облученные в средних дозах (0,14–0,86 Гр)						
1	80	80	0,64	0,003	1748	1456
2	74	75	0,8	0,05	3810	1458
3	72	73	0,86	0,008	3208	2630
4	71	71	0,61	0	1918	2744
Облученные в высоких дозах (1,04–3,10 Гр)						
1	84	83	1,04	0,03	1610	1444
2	81	80	1,25	0,003	1850	1456
3	71	71	1,57	0	1836	2744
4	73	73	1,93	0,008	1922	2630
5	74	75	2,73	0,05	1840	1458

Таблица составлена авторами по собственным данным

Примечание: ККМ — красный костный мозг.

концентрации 0,1 мг/мл («Панэко», Россия). Далее проводили гипотоническую обработку метафазных клеток, фиксацию метафазных пластинок (в соотношении 3:1 части этанола медицинского 95% и ледяной уксусной кислоты) и получение препаратов хромосом. Для флуоресцентного окрашивания методом Q-FISH стекла обрабатывали растворами РНК-азы (100 нг/мл) и пепсина, после чего проводили денатурацию ДНК зонда и препарата. Гибридизация проходила в соответствии с протоколом производителя, к которому прилагались оригинальные растворы.

Для оценки длины теломерных районов хромосом использовали зонды производства DAKO (Дания), для окраски центромерного района второй хромосомы, являющегося реперным сигналом, применяли центромерные зонды (Metasystems, Германия). Анализ флуоресцентно окрашенных препаратов проводили на флуоресцентном микроскопе Axiolmager Z2 (Zeiss; Германия) с фильтрами DAPI и SpO (spectrum orange).

Флуоресцентный сигнал регистрировали и измеряли его интенсивность с помощью специального программного обеспечения для анализа изображения Isis. Анализировали 20–30 клеток на одного обследуемого. Результат получали отдельно для коротких (p-) и длинных (q-) плеч каждой из 46 хромосом. Длина теломер являлась относительной, поскольку выражалась в процентах отношения длины теломерного (Т) сигнала к длине центромерного (С) — (Т/С%). Подробно метод оценки длины теломерных районов описан в работе [14].

Для описания результатов использовали стандартные методы описательной статистики с вычислением медианы, ее 95% доверительного интервала (95% ДИ) и 5-го и 95-го процентилей (%). Доверительные интервалы рассчитывали процедурой бустрепа при $n = 1000$. Сравнение значений в группах осуществляли с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни.

В качестве порога для сверхкоротких теломер было принято значение, ниже которого расположены 5% всех измерений длины теломерного участка в группе необлученных лиц. Аналогичным образом был рассчитан референсный показатель для сверхдлинных теломер: это все значения, превышающие 95% распределения измерений. Полученные референсные показатели были использованы для сравнительного анализа с данными относительной длины теломер у лиц, подвергшихся радиационному воздействию в разных диапазонах доз. При сравнении частоты встречаемости

сверхкоротких и сверхдлинных теломер в исследовании «случай — контроль» и при сравнении с референсным значением использовали метод χ^2 . Для определения связи длины теломер с возрастом и дозой был проведен многофакторный анализ. Для определения связи дозы облучения и количества сверхкоротких и сверхдлинных теломер у человека использовали коэффициент корреляции по Спирмену, а также регрессионный анализ. Статистический анализ выполнен с помощью программного обеспечения Past 4.01 (Oyvind Hammer; Великобритания), Statistica 10 (StatSoft, США), Sigmaplot (SYSTAT Software, USA).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе работы получены данные измерений длины теломер для трех возрастных групп необлученных доноров (табл. 4).

В группе доноров 20–28 лет было выполнено 4331 измерение длины теломерных участков, минимальная длина теломер зафиксирована на уровне 0%, максимальная — 900,0%, а медианное значение длины теломер составляло 31,0%.

В то же время в группе доноров средней возрастной группы (60–67 лет) было проведено 22 311 измерений теломерных участков, значение (min–max) длины теломер составило 0–967,9%, а медианное значение — 13,0%.

В группе доноров в возрасте 71–83 года было получено 9732 измерения, минимальное значение длины теломер 0%, максимальное — 141,2%, медиана — 5,8%.

Значения длин сверхкоротких теломер для доноров младшей возрастной группы находились в диапазоне 0–6,3%, для доноров 60–67 лет — в диапазоне 0–1,8%, для доноров 71–83 лет — в диапазоне 0–0,7%. При этом диапазоны значений сверхдлинных теломер у доноров 20–28 лет составили 221,2–900,0%, у доноров 60–67 лет — 105,9–967,9%, у доноров 71–83 лет — 25,6–141,2%.

Было установлено, что медианные значения длины теломер снижались с увеличением возраста доноров. Попарное сравнение значений в исследуемых контрольных группах лиц показало статистически значимые ($p = 0,0001$) различия. С помощью проведенного регрессионного анализа показано наличие достоверной ($p < 0,001$; $R^2 = 0,07$), но крайне слабой линейной зависимости между относительной длиной теломер и возрастом доноров:

Таблица 4. Длина теломерных участков хромосом в зависимости от возраста необлученных доноров (Т/С%)

Относительная длина теломерных участков хромосом, Т/С%	Возрастные группы доноров		
	младшая (21–28 лет)	средняя (60–67 лет)	старшая (71–83 года)
min–max значения	0–900,0	0–967,9	0–141,2
Медиана [95% ДИ] 5–95% процентили	31,0* [28,5–32,6] 6,3–221,2	13,0* [12,8–13,3] 1,8–105,9	5,8* [5,6–5,9] 0,7–25,6

Таблица составлена авторами по собственным данным

Примечание: * статистически значимые различия между группами (U-критерий Манна – Уитни), $p = 0,0001$.

$y = 86,1 - 26,7 \times x,$ (1)

где y — относительная длина теломер, x — возраст облучаемых лиц.

Для дальнейшего анализа длины теломер у облученных лиц за референсную длину сверхкоротких теломер принято значение 0,7%, что соответствовало нижней границе 90% диапазона длины теломер у необлученных доноров возрастом 71–83 года. А сверхдлинные теломеры оценивали по верхней границе 90% диапазона длины теломер — 25,6%

В таблице 5 представлены данные измерений длины теломер для облученных доноров. Группой сравнения являются необлученные доноры в возрасте 71–83 года.

Как видно, медианное значение длины теломер у всех облученных составило 10,3%, что статистически значимо выше, чем в группе сравнения (5,8%; $p = 0,0001$). Вместе с тем 90% интервал длины теломер находился в диапазоне 1,4–56,5%.

Учитывая референсное значение длины сверхкоротких теломер, в группе облученных доноров (0,14–3,10 Гр) сверхкороткими были 616 измерений теломер, что составило 1,6% от числа всех измерений. В референсном диапазоне для сверхдлинных теломер у облученных доноров было 7491 измерение, что составило 19,5%. Таким образом, у облученных лиц наблюдали меньшее количество сверхкоротких теломер ($\chi^2 = 397,03$; $p < 0,0001$) и большее количество сверхдлинных теломер ($\chi^2 = 1184$; $p < 0,0001$) относительно группы сравнения.

В группе облученных на уровне средних доз (0,14–0,86 Гр) медиана длины теломер составила 11,9% (min–max: 0–643,4%). У доноров, облученных в высоких дозах, медиана составила 10,6%, (min–max: 0–332,1%), что статистически значимо ниже, чем у облученных в средних дозах ($p = 0,0001$).

Относительно референсных значений частота сверхкоротких теломер у доноров, облученных в средних дозах, составила 1,3%, а при высоких дозах облучения — 1,4%. Частота сверхдлинных теломер у доноров, облученных в средних дозах, составила 24%, в высоких дозах — 19,5%, что статистически

значимо отличалось от значений в группе сравнения, $p = 0,0001$. Таким образом, у облученных лиц с высокой накопленной дозой на ККМ частота сверхкоротких теломер такая же, как и в группе со средними дозами, но количество сверхдлинных теломер выше.

Для установления связи длины теломер с возрастом и дозой облучения ККМ был проведен двухфакторный анализ (общая линейная модель). Была получена статистически незначимая модель: длина теломер во всей выборке облученных лиц не зависела от возраста и дозы облучения ККМ.

В таблице 6 представлены данные попарного сравнения для анализа «случай — контроль», когда «случаи» представлены лицами со средними (0,14–0,86 Гр) и высокими (1,04–3,10 Гр) накопленными дозами на ККМ.

У всех исследуемых пар из группы «средние дозы облучения» было выявлено статистически значимое повышение длины теломер у облученных доноров относительно их контроля.

В группе лиц, облученных в высоких дозах, у четырех пар из пяти было выявлено статистически значимое повышение длины теломер у облученных доноров относительно их контроля. В паре № 1 обнаружено статистически значимое снижение длины теломер у облученного донора относительно его контроля. Но при этом в данной паре «случай — контроль» частота сверхкоротких теломер не отличалась от контрольных значений (0,8% против 0,7%; $\chi^2 = 0,03$; $p = 0,86$), а частота сверхдлинных теломер была значимо ниже (1,4% против 2,9% $\chi^2 = 8$; $p = 0,005$) (табл. 7).

В таблице 7 представлены частоты сверхкоротких и сверхдлинных теломер для каждой пары «случай — контроль» (на основе референсных значений) среди лиц со средней и высокой дозой облучения на ККМ.

В работе получены статистически значимые данные об изменении частоты сверхкоротких теломер у трех из четырех пар ($p < 0,0001$), за исключением пары № 3 ($p = 0,19$). При этом у всех исследуемых пар частота встречаемости сверхкоротких теломер у облученных доноров статистически значимо ниже, чем в контроле. В то же время частота сверхдлинных теломер во всех парах облученных доноров в дозах (0,14–0,86 Гр)

Таблица 5. Длина теломерных участков хромосом у облученных доноров (Т/С %)

Относительная длина теломерных участков хромосом, Т/С%	Группы облученных доноров		
	Все облученные	Облученные в средних дозах (0,14–0,86 Гр)	Облученные в высоких дозах (1,04–3,10 Гр)
Min-max значение	0–643,4	0–643,4	0–332,1
Медиана [95% ДИ]	10,3 [10,2–10,4]	11,9 [11,7–12,1]*	10,6 [10,4–10,8]
5–95% процентиля	1,4–56,5	1,6–61,7	1,4–57,7
% сверхкоротких теломер	1,6	1,3	1,4
% сверхдлинных теломер	19,5	24*	19,5

Таблица составлена авторами по собственным данным

Примечание: * статистически значимое отличие от группы облученных в высоких дозах, $p \leq 0,0001$.

Таблица 6. Попарное сравнение длины теломерных участков в группе «случай — контроль» для средних (0,14–0,86 Гр) и высоких доз (1,04–3,10 Гр) (Т/С%)

№ пары «случай– контроль»	Относительная длина теломерных участков хромосом, Т/С%								U-критерий Манна – Уитни
	Min–max		Медиана		5%		95%		
	Случай	Контроль	Случай	Контроль	Случай	Контроль	Случай	Контроль	
Средние дозы облучения (0,14–0,86 Гр)									
1	0–143,3	0–66,2	17,0	3,5	3,4	0,1	54,5	17,9	$p = 0,0001$
2	0–267,1	0–119,1	16,9	6,6	3,7	0,06	68,6	32,6	$p = 0,0001$
3	0,13–71,7	0–65,8	3,9	3,6	0,8	0,8	16,8	10,7	$p = 0,0001$
4	0–643,4	0–141,2	20,1	9,9	4,6	1,5	110,5	32,4	$p = 0,0001$
Высокие дозы облучения (1,04–3,10 Гр)									
1	0,3–50,5	0–61,2	4,1	8,1	1,3	1,9	15,1	23,5	$p = 0,0001$
2	0–121,6	0–66,2	12,4	3,5	3,3	0,1	36,8	17,9	$p = 0,0001$
3	0–248	0–141,2	27,1	9,9	5,9	1,5	98,8	32,4	$p = 0,0001$
4	0–227,7	0–65,8	8,7	3,6	2,4	0,8	35,1	10,7	$p = 0,0001$
5	0–174,3	0–119,1	11,3	6,6	2,3	0,06	41,7	32,6	$p = 0,0001$

Таблица составлена авторами по собственным данным

Таблица 7. Частота сверхкоротких и сверхдлинных теломер в исследовании «случай — контроль»

Номер пары	Сверхкороткие теломеры, %		χ^2	p-значение	Сверхдлинные теломеры, %		χ^2	p-значение
	Случай	Контроль			Случай	Контроль		
Средние дозы облучения								
1	0,8	1,1	147,0	<<<0,0001	31	2,0	460	<<<0,0001
2	0,5	11	351	<<<0,0001	33	9,7	294	<<<0,0001
3	3,3	4	1,7	0,19	1,8	0,2	32,3	<<<0,0001
4	0,47	1,9	17,8	<<<0,0001	39	9,7	566,2	<<<0,0001
Высокие дозы облучения								
1	0,8	0,7	0,03	0,86	1,4	2,9	8,0	0,005
2	1	11	150	<<<0,0001	3,2	2	135	<<<0,0001
3	0,38	1,9	20	<<<0,0001	14	9,7	20,7	<<<0,0001
4	0,4	4	57,2	<<<0,0001	9	0,2	227,7	<<<0,0001
5	0,5	11	179,6	<<<0,0001	13,5	9,7	11,2	0,0008

Таблица составлена авторами по собственным данным

Примечание: p-значение — уровень статистической значимости различий; χ^2 — критерий согласия Пирсона.

статистически значимо выше по сравнению с группой контроля ($p < 0,0001$).

Как видно, у лиц, облученных в диапазоне доз 1,04–3,10 Гр, частота сверхкоротких теломер статистически значимо ниже относительно контроля для четырех пар

из пяти. В первой паре не отмечено статистически значимых различий в частоте сверхкоротких теломер. Также в этой же паре у облученного донора более низкое значение частоты сверхдлинных теломер по сравнению с контролем. У остальных исследуемых четырех

пар наблюдали увеличение частоты сверхдлинных теломер у облученных лиц относительно контроля.

Далее для доноров, отобранных в исследование «случай — контроль» по методу ранговой корреляции Спирмена, оценили взаимосвязь между долями сверхкоротких теломер и дозой облучения. Результаты показали, что корреляционной зависимости сверхдлинных теломер от дозы на ККМ отмечено не было, но имеется тенденция уменьшения частоты сверхкоротких теломер с увеличением дозы облучения ККМ. Установлена статистически значимая обратная корреляционная зависимость умеренной степени выраженности между частотой сверхкоротких и сверхдлинных теломер у облученных доноров ($r_s = -0,654$, $p = 0,004$).

Далее была подобрана наиболее подходящая регрессионная зависимость частоты сверхкоротких теломер от дозы на ККМ (рис.).

На рисунке показано, что с увеличением дозы облучения количество сверхкоротких теломер экспоненциально уменьшается.

$$y = 4,3 e^{-1,5D} [R^2 = 0,23, p = 0,0036], \quad (2)$$

где y — частота сверхкоротких теломер, D — доза облучения ККМ, Гр.

Таким образом, было показано, что у облученных лиц снижена частота сверхкоротких теломер и увеличена частота сверхдлинных теломер относительно группы сравнения. Отмечено экспоненциальное снижение частоты сверхкоротких теломер с увеличением дозы облучения ККМ.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Настоящая статья продолжает проект по изучению влияния хронического радиационного воздействия на теломерные участки хромосом. В рамках многолетнего исследования была изучена длина теломерных участков отдельных хромосомных пар у хронически облученных лиц, оценивалась частота инверсий

с захватом теломерного участка и частота потерь теломерных участков метафазных хромосом в культивированных Т-клетках периферической крови у облученных жителей Южного Урала [14]. Для этих целей был предложен и апробирован метод флуоресцентной окраски теломерных районов хромосом. Использование метода Q-FISH обосновано тем, что он дает возможность исследовать теломерные участки в каждой хромосоме клетки донора. Это позволяет получить представление о теломерном профиле.

В представленной работе впервые проведен анализ влияния радиационного и нерадиационного фактора (возраста) на частоту сверхкоротких и сверхдлинных теломер. Частоту сверхкоротких и сверхдлинных теломер у облученных лиц оценивали исходя из референсных значений длины теломерных районов, рассчитанных для группы сравнения схожего возрастного диапазона. Референсное значение длины теломер в группе сравнения (возраст 71–83 года) составило 0,7–25,6%. Теломеры, длина которых ниже 0,7%, считались сверхкороткими, а если выше 25,6% — сверхдлинными.

В группе облученных лиц показано статистически значимое повышение медианной длины теломер относительно группы сравнения. При этом как у облученных лиц, так и в группе сравнения наблюдали широкую вариабельность длины теломер, что согласуется с ранее полученными данными [1, 15]. Эта вариабельность может свидетельствовать о циркулировании в периферической крови Т-клеток разного репродуктивного возраста.

Согласно результатам в общей выборке облученных лиц частота сверхкоротких теломер была ниже, а сверхдлинных — выше по сравнению с группой сравнения. Эти данные подтверждаются и оценкой с помощью метода «случай — контроль» с подбором сопоставимых по возрасту доноров. Более длинные теломеры у облученных лиц могут свидетельствовать как о молекулярно-генетических особенностях, связанных с повышенной теломеразной активностью [16] или эпигенетическими изменениями других ферментов, регулирующих репликацию и репарацию теломер [17, 18], так и об отборе более радиорезистентных клеток и гибели радиочувствительных [4]. Также здесь мог сыграть роль фактор отбора доноров для цитогенетического исследования, когда в выборку попадают наиболее здоровые лица относительно генеральной совокупности, что является необходимым критерием отбора, поскольку исключаемые заболевания, лечебные процедуры и лекарственные препараты могут искажать цитогенетические данные [1].

Помимо этого, интересным является статистически значимое снижение медианной длины теломер в группе доноров с высокой дозой облучения ККМ относительно группы доноров, облученных в средних дозах. Данное различие в первую очередь было связано с тем, что в группе доноров с высокой дозой облучения ККМ снижена частота сверхдлинных теломер, а частота сверхкоротких находится на том же уровне, что у лиц со средними дозами. В то же время частота сверхдлинных теломер не зависела от дозы облучения ККМ, а частота сверхкоротких теломер экспоненциально снижалась с увеличением дозы.

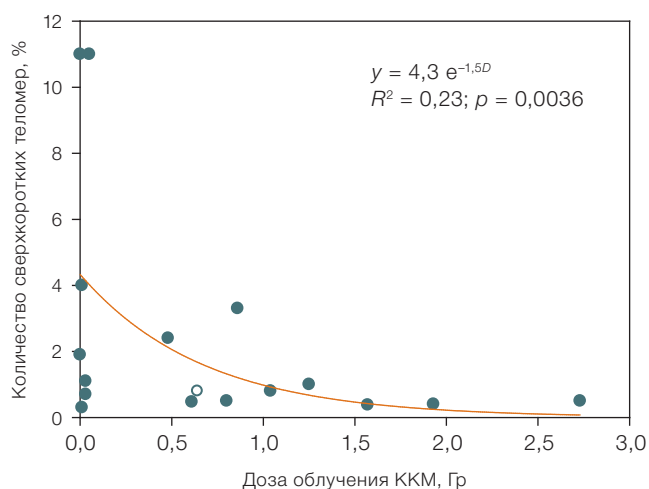


Рисунок подготовлен авторами

Рис. Регрессионная зависимость доли сверхкоротких теломер от дозы облучения красного костного мозга

Представленные закономерности требуют дальнейшего более глубокого изучения. Если в последующих исследованиях подтвердится связь частоты сверхкоротких теломер с дозой облучения, то этот показатель может использоваться как индикатор радиационного воздействия или биомаркер радиочувствительности клеток [19, 20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании представлены данные о влиянии хронического радиационного воздействия на длину теломер у женщин, полученные с использованием метода Q-FISH. Этот метод позволяет определить относительную длину теломерных участков посредством расчета отношения интенсивности флуоресценции теломерного сигнала к интенсивности флуоресценции центромерного сигнала второй хромосомы, выраженную в процентах (T/C%). Сверхкороткие и сверхдлинные теломеры

у облученных лиц выявляли относительно референсного значения длины теломер, рассчитанного в группе сравнения.

Анализ полученных результатов показал статистически значимое повышение медианной длины теломер у облученных лиц относительно группы сравнения. Повышение длины теломер связано со снижением частоты сверхкоротких теломер и повышением частоты сверхдлинных теломер у облученных лиц. Исследования, выполненные методом «случай — контроль» с подбором сопоставимых по возрасту доноров, подтвердили, что данная закономерность сохраняется независимо от возраста, подчеркивая значимость радиационного фактора. Зависимость частоты сверхкоротких теломер от дозы облучения ККМ описывается нелинейной регрессией: наблюдается экспоненциальное снижение частоты сверхкоротких теломер с увеличением дозы. Этот феномен подчеркивает важность дальнейшего изучения роли сверхкоротких теломер как потенциального маркера радиационного воздействия.

Литература / References

1. Ахмадуллина ЮР, Возилова АВ, Кривошапова ЯВ. Влияние хронического облучения на показатели цитогенетических маркеров старения у жителей прибрежных сел реки Теча. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2024;26(2):56–66.
Akhmadullina YuR, Vozilova AV, Krivoschapova YV. The effect of chronic exposure on the parameters of cytogenetic markers of senescence in the residents of the Techa riverside settlements. *Extreme Medicine*. 2024;26(2):56–66 (In Russ.).
<https://doi.org/10.47183/mes.2024.018>
2. Baird DM, Rowson J, Wynford-Thomas D, Kipling D. Extensive allelic variation and ultrashort telomeres in senescent human cells. *Nature Genetics*. 2003;33(2):203–7.
<https://doi.org/10.1038/ng1084>
3. Graakjaer J, Londono-Vallejo JA, Christensen K, Kølvrå S. The pattern of chromosome-specific variations in telomere length in humans shows signs of heritability and is maintained through life. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006;1067:311–6.
<https://doi.org/10.1196/annals.1354.042>
4. Berardinelli F, Nieri D, Sgura A, Tanzarella C, Antoccia A. Telomere loss, not average telomere length, confers radiosensitivity to TK6-irradiated cells. *Mutation Research*. 2012;740(1–2):13–20.
<https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2012.11.004>
5. Lustig A, Shterev I, Geyer S, Shi A, Hu Y, Morishita Y, et al. Long term effects of radiation exposure on telomere lengths of leukocytes and its associated biomarkers among atomic-bomb survivors. *Oncotarget*. 2016;7(26):38988.
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.8801>
6. Reste J, Zvigule G, Zvagule T, Kurjane N, Eglite M, Gabruseva N, et al. Telomere length in Chernobyl accident recovery workers in the late period after the disaster. *Journal of Radiation Research*. 2014;55(6):1–12.
<https://doi.org/10.1093/jrr/rru060>
7. Scherthan H, Sotnik N, Peper M, Schrock G, Azizova T, Abend M. Telomere Length in Aged Mayak PA Nuclear Workers Chronically Exposed to Internal Alpha and External Gamma Radiation. *Radiation Research*. 2016;185(6):658–67.
<https://doi.org/10.1667/RR14271.1>
8. Slijepcevic P. Is there a link between telomere maintenance and radiosensitivity? *Radiation Research*. 2004;161(1):82–6.
<https://doi.org/10.1667/rr3093>
9. Fiesco-Roa MÓ, García B, Leal-Anaya P, van 't Hek R, Wegman-Ostrosky T, Frías S, et al. Fanconi anemia and dyskeratosis congenita/telomere biology disorders: Two inherited bone marrow failure syndromes with genomic instability. *Frontiers in Oncology*. 2022;12:949435.
<https://doi.org/10.3389/fonc.2022.949435>
10. Hemann MT, Strong MA, Hao LY, Greider CW. The shortest telomere, not average telomere length, is critical for cell viability and chromosome stability. *Cell*. 2001;107(1):67–77.
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00504-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00504-9)
11. Cagsin H, Uzan A, Tosun O, Rasmussen F, Serakinci N. Tissue-Specific Ultra-Short Telomeres in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*. 2020;15:2751–7.
<https://doi.org/10.2147/COPD.S267799>
12. Аклеев АВ, ред. *Последствия радиоактивного загрязнения реки Течи*. Челябинск: Книга; 2016.
Akleev AV, ed. *The consequences of radioactive contamination of the Techa River*. Chelyabinsk: Kniga; 2016 (In Russ.).
13. Shishkina EA, Napier BA, Preston DL, Degteva MO. Dose estimates and their uncertainties for use in epidemiological studies of radiation-exposed populations in the Russian Southern Urals. *PLoS One*. 2023;18(8):e0288479.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0288479>
14. Кривошапова ЯВ. Оценка влияния хронического радиационного воздействия на потерю теломерных участков хромосом в Т-лимфоцитах у женщин. *Вестник РГМУ*. 2024;6:172–8.
Krivoschapova YV. Estimation of the impact of chronic radiation exposure on telomere loss in women's T lymphocytes. *Bulletin of RSMU*. 2024;6:172–8 (In Russ.).
<https://doi.org/10.24075/brsmu.2024.055>
15. Кривошапова ЯВ, Возилова АВ. Исследование длины теломерных районов хромосом в Т-лимфоцитах облученных лиц. *Вопросы радиационной безопасности*. 2022;3(107):71–96.
Krivoschapova YaV, Vozilova AV. The study of the telomere length of the chromosomes in T-lymphocytes of the exposed individuals. *Radiation Safety Problems*. 2022;3(107):71–96 (In Russ.).
EDN: [FPBYEY](https://doi.org/10.1667/rr3093)

16. Yasumoto S, Kunimura C, Kikuchi K, Tahara H, Ohji H, Yamamoto H, et al. Telomerase activity in normal human epithelial cells. *Oncogene*. 1996;13(2):433–9.
17. Drosopoulos WC, Deng Z, Twayana S, Kosiyatrakul ST, Vladimirova O, Lieberman PM, et al. TRF2 Mediates Replication Initiation within Human Telomeres to Prevent Telomere Dysfunction. *Cell Reports*. 2020;33(6):108379. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108379>
18. Wang C, Zhao L, Lu S. Role of TERRA in the regulation of telomere length. *International Journal of Biological Sciences*. 2015;11(3):316–23.
19. Mirjole C, Boidot R, Saliques S, Ghiringhelli F, Maingon P, Créhange G. The role of telomeres in predicting individual radiosensitivity of patients with cancer in the era of personalized radiotherapy. *Cancer Treatment Reviews*. 2015;41(4):354–60. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2015.02.005>
20. Stanley SE, Rao AD, Gable DL, McGrath-Morrow S, Armanios M. Radiation Sensitivity and Radiation Necrosis in the Short Telomere Syndromes. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. 2015;93(5):1115–7. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2015.08.048>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: Я.В. Кривошапова — идея и план исследования, проведение лабораторных исследований, получение первичных данных, статистическая обработка результатов, написание текста статьи; Ю.Р. Ахмадуллина — статистическая обработка и интерпретация результатов, написание, редактирование и подготовка итоговой версии статьи.

ОБ АВТОРАХ

Кривошапова Яна Владимировна
<https://orcid.org/0000-0002-2555-2616>
yana_ho@mail.ru

Ахмадуллина Юлия Рафисовна, канд. биол. наук
<https://orcid.org/0000-0003-4394-2228>
akhmadullina.yul@yandex.ru