

ЧАСТОТА ИНВЕРСИЙ В ХРОМОСОМАХ Т-ЛИМФОЦИТОВ У ОБЛУЧЕННЫХ ЖИТЕЛЕЙ ЮЖНОГО УРАЛА

Я. В. Кривошчапова , А. В. Возилова

Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства, Челябинск, Россия

Известно, что ионизирующее излучение — это один из факторов, повышающих частоту хромосомных перестроек. Распространенность инверсий была мало изучена из-за сложности их выявления общепринятым методом дифференциальной окраски. Комплексное изучение хроматина, его сложных перестроек стало возможно с применением высокотехнологичного молекулярно-генетического метода — флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH). Целью исследования было изучить частоту инверсий с вовлечением теломерных участков хромосом у 36 жителей Южного Урала, почти все из которых подверглись сочетанному хроническому облучению. Рассчитанные индивидуализированные суммарные дозы от внешнего и внутреннего облучения — от 0,0001 до 4,7 Гр. Инверсии выявляли методом флуоресцентной окраски теломерного участка хромосом. В результате обнаружили, что распространены преимущественно хроматидные инверсии по сравнению с хромосомными вариантами (9 : 0,3 на 100 клеток ($p < 0,001$)). Не выявлено зависимости исследованных показателей от дозы облучения, пола и возраста на момент обследования.

Ключевые слова: хромосомные aberrации, инверсии, теломерные районы хромосом, ионизирующее излучение, FISH, река Теча

Финансирование: работа была частично поддержана грантом Российского Фонда Фундаментальных исследований (РФФИ) совместно с Правительством Челябинской области, договор № 20-44-740007\20 от 28.01.2021, а также ФМБА РФ ФЦП «Модернизация высокотехнологичных методов, направленных на выявление медицинских последствий радиационных воздействий на персонал ПО «Маяк» и население Уральского региона» (шифр «Медицинские последствия-21»).

Благодарности: авторы выражают благодарность старшему лаборанту Н. Ф. Савковой за техническую и лабораторную поддержку.

Вклад авторов: А. В. Возилова — идея исследования, постановка научных задач, анализ литературы, написание статьи; Я. В. Кривошчапова — разработка критериев анализа, окраска и анализ стекол, статистика, анализ литературы, написание статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом УНПЦ РМ (протокол № 7 от 20 октября 2023 г.), у лиц, участвующих в цитогенетических исследованиях, было получено информированное согласие на забор образцов крови и дальнейшие исследования.

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

Статья получена: 08.08.2023 **Статья принята к печати:** 15.10.2023 **Опубликована онлайн:** 21.11.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.047

FREQUENCY OF INVERSIONS IN THE T-LYMPHOCYTE CHROMOSOMES OF EXPOSED RESIDENTS OF THE SOUTHERN URALS

Krivoshchapova YaV , Vozilova AV

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

It is well-known that ionizing radiation is among factors increasing the rate of chromosomal rearrangements. The inversion rate was poorly understood due to difficulty of inversion identification by the conventional differential staining method. A comprehensive study of chromatin and its complex rearrangements has become possible with the use of the high-tech molecular genetic method, fluorescence *in situ* hybridization (FISH). The study was aimed to assess frequency of inversions involving the chromosome telomeric regions in 36 residents of the South Urals, almost all of them were affected by combined chronic exposure. The calculated individualized cumulative external and internal doses were 0.0001–4.7 Gy. Inversions were identified by fluorescence staining of the chromosome telomeric region. It was found that chromatid inversions were more abundant than chromosomal variants (9 : 0.3 per 100 cells ($p < 0.001$)). No relationship between the studied parameters and the absorbed dose, sex and age at the time of the examination was revealed.

Keywords: chromosomal aberrations, inversions, telomeric regions of chromosomes, ionizing radiation, FISH, Techa River

Funding: the study was supported in part by the Russian Foundation for Basic Research (RFBR) grant together with the Government of the Chelyabinsk Region (Contract № 20-44-740007\20 of 28.01.2021), as well as by the Federal Target Program of FMBA of Russia “Modernization of Hightech Methods Aimed at Identifying Medical Consequences of Radiation Exposure in Personnel of the Mayak PA and the Population of the Ural Region” (code “Medical Consequences-21”).

Acknowledgments: the authors would like to express their gratitude to Savkova N.F., senior laboratory assistant, for technical and laboratory support.

Author contribution: Vozilova AV — study concept, research priority setting, literature review, manuscript writing; Krivoshchapova YaV — developing criteria for analysis, staining and slide assessment, statistics, manuscript writing.

Compliance with the ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Urals Research Center for Radiation Medicine (protocol № 7 dated 20 October 2023); individuals, who were through cytogenetic testing, submitted the informed consent to blood sampling and further assessment.

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

Received: 08.08.2023 **Accepted:** 15.10.2023 **Published online:** 21.11.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.047

В Уральском научно-практическом центре радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства России более 60 лет обследуются люди, которые подверглись хроническому облучению в результате сброса жидких радиоактивных отходов ПО «Маяк» в реку Течу на Южном Урале. Длительное наблюдение за когортами

облученных людей приводит исследователей к пониманию сложного взаимодействия факторов радиационной и нерадиационной природы и последующему их влиянию на здоровье человека. Изучение эффектов от воздействия хронического облучения на организм человека остается важной задачей для ученых и медиков, поскольку помогает

выявить механизмы действия радиации и предотвратить неблагоприятные последствия облучения [1].

Большой пласт научных работ посвящен изучению механизмов формирования хромосомных мутаций и установлению их роли в эволюции видов, реализации программ онтогенеза, влиянии на состояние органов и тканей в организме человека [2, 3]. Воздействие ионизирующего излучения может быть причиной реализации разных биологических эффектов, к которым относятся также и хромосомные aberrации [4, 5]. Наиболее изученные хромосомные aberrации — транслокации (стабильные aberrации), а также кольцевые и дицентрические хромосомы (нестабильные aberrации). При наблюдении за когортой облученных лиц, подвергшихся сочетанному хроническому облучению (далее — облучению) на Южном Урале, даже через 70 лет после начала воздействия обнаруживают повышенный фон транслокаций и нестабильных хромосомных aberrаций по отношению к фоновым значениям [6]. В настоящее время имеются единичные работы, которые указывают на прямую корреляцию между повышенной частотой хромосомных перестроек и наличием заболеваний у человека. В качестве эффекта в части работ рассматривают онкологические заболевания. Исследования показали, что до 70% опухолевых клеток содержат разные типы хромосомных перестроек [7].

В последние годы внимание исследователей направлено на изучение упаковки и поведения хроматина в ядре, так как расширился спектр методов для такого рода работ. На основе данных о частоте разных типов хромосомных перестроек и дифференцированном расположении хроматина внутри ядра клетки в 3D-формате ученые создают модели и прогнозируют влияние различных факторов и генетических мутаций на архитектуру хроматина [8].

Хроматин состоит из гетерохроматиновых и эухроматиновых участков, имеет сложную структуру и компактизацию. Известно, что хромосомные перестройки приводят к перераспределению этих структур по плечам хромосом или между разными хромосомами в ядре, либо к элиминации каких-то участков, что неминуемо сказывается на экспрессии онкогенов, генов-супрессоров и т. д. и на жизнедеятельности клеток.

Из стабильных хромосомных aberrаций наименее изучены инверсии вследствие трудоемкости их выявления. Инверсии представляют собой хромосомные перестройки, при которых изменение структуры хромосомы вызвано поворотом на 180° одного из ее участков, и делятся на два класса: перичентрические и парацентрические. Перичентрические инверсии включают центромеру и изменяют структуру хромосом, что позволяет легко их верифицировать при кариотипировании. Парацентрические инверсии обнаружить труднее, так как они не меняют соотношение хромосомных плеч. В основе образования инверсий лежит механизм «разрыв-слияние ДНК» [9].

Биологическая роль инверсий существенна. По данным литературы, инверсии в хромосомах чаще отмечают в клетках опухолевой трансформации, при генетических синдромах у человека, связанных с задержкой развития, аутизмом и эпилепсией [10, 11]. Известно, что инверсии влияют на возникновение кроссинговера между сестринскими хроматидами и сегрегацию хромосом в дочерние клетки, что может приводить к анеупloidии или гибели клеток [12].

Для выявления инверсий в хромосомах существуют различные методы. Среди цитогенетических подходов наиболее распространено и доступно дифференциальное G-окрашивание (метод GTG). Однако сложность и длительность анализа по времени не позволили широко использовать этот подход для оценки распространенности разных типов инверсий в клетках человека. Современный высокотехнологичный метод определения инверсий в хромосомах — это флуоресцентная *in situ* гибридизация, в частности, дифференциальное флуоресцентное многоцветное окрашивание хромосомных плеч M-Band [13–15]. Метод надежный, но весьма дорогой, чтобы изучать популяционные частоты распространенности инверсий в клетках человека. Для этих целей мы опробовали метод FISH с локуспецифичными теломерными зондами [16]. В ходе анализа длины теломерных районов метафазных хромосом периодически внутри хромосомных плеч обнаруживали флуоресцентные сигналы теломер, что свидетельствует об инверсии хроматина с вовлечением концевых районов хромосом. Пилотные результаты исследования частоты инверсий с вовлечением теломерных районов были представлены нами в предыдущей работе [16], однако для уверенности в полученных данных необходимо было расширить выборку, а затем оценить зависимость показателей от факторов радиационной и нерадиационной природы.

Цель исследования — оценить частоту инверсий с вовлечением теломерных районов метафазных хромосом Т-лимфоцитов у лиц, подвергшихся хроническому сочетанному облучению на реке Теча. Для этого была поставлена задача оценить зависимость частоты инверсий от суммарной дозы от внешнего и внутреннего облучения, а также от возраста на момент обследования и пола.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Характеристика обследованных лиц

В настоящее исследование включали жителей Южного Урала до 1960 года рождения, большинство из которых подверглось облучению в суммарной дозе на ККМ (красный костный мозг) в диапазоне от 0,0001 до 4,7 Гр (рассчитаны по системе TRDS-2016). Эти люди входят в когорту реки Течи либо в когорту внутриутробно облученных лиц. Информация о выборке и состоянии здоровья облученных лиц была предоставлена отделом «База данных «Человек»», индивидуализированные суммарные дозы от внешнего и внутреннего облучения (далее — дозы облучения) на ККМ были рассчитаны по системе TRDS-2016 в биофизической лаборатории, данные о наличии онкопатологии в анамнезе обследуемых лиц были предоставлены эпидемиологической лабораторией ФГБУН УНПЦ РМ [1].

Особенность хронического облучения жителей прибрежных сел реки Течи заключалась в том, что облучение было сочетанным — внутреннее β -облучение и внешнее γ -облучение в широком диапазоне доз. В ходе выполнения исследования было обследовано 29 женщин и 7 мужчин. Критерии включения: возраст от 61 до 81 года. 10 доноров имели высокие дозы на ККМ (от 1 до 4,7 Гр), 12 человек имели дозы на ККМ в диапазоне от 0,3 до 0,9 Гр. Группа сравнения включала двух необлученных человек и 12 облученных с дозами на ККМ от 0,0001 до 0,01 Гр.

Критерии исключения: дата рождения после 1961 г.; наличие в анамнезе аутоиммунных, онкологических,

Таблица 1. Характеристика обследованных групп

Дозовая группа, Гр	Число доноров (общее) Возраст, лет		Женщины		Мужчины	
	Число, <i>n</i>	Возраст, лет	Число, <i>n</i>	Возраст, лет	Число, <i>n</i>	Возраст, лет
0–0,01	14	62–72	10	62–72	4	62–70
0,3–0,9	12	69–81	11	69–81	1	72
1–4,7	10	70–76	8	70–76	2	71–72
Вся группа	36	62–81	29	62–81	7	62–72

хронических воспалительных заболеваний в фазе обострения; прием в анамнезе цитостатиков, антибиотиков. Характеристика обследованных групп представлена в табл. 1.

Получение препаратов метафазных хромосом Т-лимфоцитов периферической крови

Цитогенетическое исследование проводили на метафазах, стимулированных фитогемагглютинином (ФГА) Т-лимфоцитов периферической крови. Препараты хромосом получали согласно протоколу, который включает четыре последовательных этапа: культивирование клеток до стадии метафазы, гипотоническую обработку клеток, фиксацию метафазных пластинок и приготовление препаратов хромосом [17]. После раскапывания клеточной суспензии предметные стекла сушили при температуре 42 °С на термоплате, затем хранили в морозильной камере при температуре –20 °С до флуоресцентного окрашивания.

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

Инверсии хромосом с вовлечением теломерных районов были оценены с применением теломерных зондов Telomere FISH Kit/Су3 (Dako; Дания). Су3-конъюгированная пептидная нуклеиновая кислота, использованная при изготовлении зонда, представляет собой синтетический аналог ДНК, способный связываться с ДНК хромосом по правилам спаривания оснований. В пептидной нуклеиновой кислоте сахарофосфатный остов заменен нейтральным пептидно-полиамидным остовом, при этом расстояние

между основаниями остается точно таким же, как в ДНК. Важно отметить, что зонд этого комплекта не распознает субтеломерные последовательности хроматина и, следовательно, позволяет окрасить только теломерные районы хромосом [18]. Окрашивали хромосомы в соответствии с протоколом производителя зондов. Анализ флуоресцентно окрашенных препаратов проводили на микроскопе Axio Imager Z2 (Zeiss; Германия) с фильтрами DAPI и SpO (Spectrum Orange) с использованием ПО Isis. В анализ включали метафазы, содержащие 46 хромосом без наложений и артефактов. В каждой клетке на предмет поиска инверсий анализировали все хромосомы. Считали по 100 клеток на одного донора, в ходе исследования всего проанализировали 3600 клеток. Оценивали суммарный показатель инверсий по типам и в сумме в 100 клетках, а также среднюю величину по группе. Поскольку в предыдущей работе подробно представлены критерии деления инверсий на хроматидные и хромосомные [16], кратко напомним примеры механизма образования инверсий и их разные типы (рис. 1, 2).

Статистический анализ

Анализ результатов проводили с использованием пакета программ STATISTICA 10 (StatSoft; США). Для статистической обработки результатов пользовались непараметрическим критерием Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Частота встречаемости хромосомных инверсий в диапазоне от 0 до 2 — у 9 человек, а хроматидные инверсии отмечали у всех обследованных в диапазоне от 3 до 26.

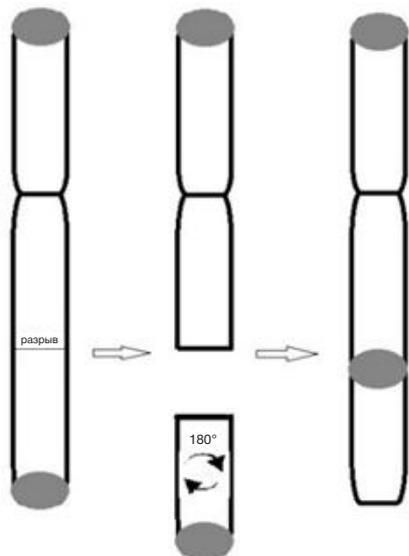


Рис. 1. Предполагаемый механизм образования инверсий с захватом теломерного участка хромосомы

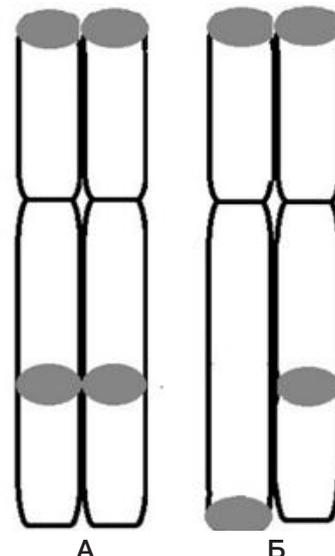


Рис. 2. Типы инверсий — хромосомная (А) и хроматидная (Б) (теломерный участок обозначен серым цветом)

Таблица 2. Частота инверсий (M ± SD) (медиана, 25 и 75%) с вовлечением теломерных районов в Т-клетках у жителей Южного Урала, подвергшихся облучению (на 100 клеток)

Дозовые группы, Гр (n)	Инверсии хроматидные M ± SD, Медиана, (25–75%)	Инверсии хромосомные M ± SD, Медиана, (25–75%)	Инверсии все M ± SD, Медиана, (25–75%)
Гр. сравнения (13)	9,2 ± 4,7 9 (6–11)	0,4 ± 0,7 0 (0–1)	9,6 ± 5,1 9,5 (6–12,5)
0,3–0,9 (11)	9,5 ± 6,0 8 (6,5–9)	0,4 ± 0,2 0 (0–0)	9,6 ± 6,0 8 (7,5–9)
1,00–4,7 (11)	8,7 ± 3,7 7 (6–10,5)	0,2 ± 0,4 0 (0–0)	8,3 ± 4,8 7 (6–10,5)
Вся группа (36)	9,1 ± 4,8 8,5 (6–11)	0,3 ± 0,5 0 (0–0,25)	9,4 ± 5,0 8,5 (6–11)

У необлученных лиц (таких было 2 человека) инверсии хроматидного типа были отмечены с частотой 6 и 19%, а хромосомные соответственно — 0 и 1%. Соотношение среднего показателя частот хроматидных и хромосомных инверсий соответственно 9:0,3 на 100 клеток ($p < 0,001$) (табл. 2).

Как видно из табл. 2, частота инверсий в исследуемых группах с ростом дозы облучения на КKM статистически не отличалась. Низкие значения наблюдали у лиц с наиболее высокими дозами от 1 до 4,7 Гр. Максимальные показатели характерны для инверсий хроматидного типа (частота 9,2, 9,5 и 8,7 соответственно). Хромосомные инверсии встречались с частотой от 0,4 в первых двух дозовых подгруппах и 0,2 в подгруппе людей, подвергшихся облучению в высоких дозах.

Зависимость частоты инверсий от возраста на момент обследования представлена на рис. 3.

Следовательно, зависимость частоты инверсий от возраста в исследуемом диапазоне от 60–80 лет не выявлена.

Не выявили также зависимости частоты инверсий от дозы облучения КKM.

Поскольку мужчин в исследуемой выборке было мало, для оценки влияния пола на изучаемый показатель сформировали группу женщин, которых отобрали по типу «случай-контроль» для каждого обследованного мужчины с учетом дозы облучения на КKM и возраста (табл. 3).

Таким образом, не было обнаружено зависимости частоты инверсий от пола обследуемых людей.

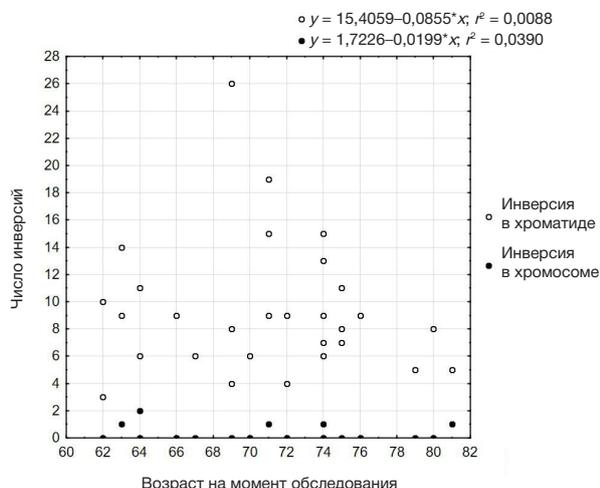


Рис. 3. График зависимости частоты инверсий от возраста

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Представленное в настоящей статье исследование продолжает пилотный проект, который начался более 2-х лет назад в лаборатории радиационной генетики УНПЦ РМ в рамках гранта РФФИ. В ходе упомянутого проекта мы оценивали частоту инверсий метафазных хромосом в культивированных Т-клетках периферической крови у облученных жителей Южного Урала [16]. Для этих целей был предложен и апробирован метод флуоресцентной окраски теломерных районов хромосом. В представленной статье была расширена выборка обследуемых лиц и проведен анализ влияния радиационных и нерадиационных факторов на хромосомные перестройки — инверсии с вовлечением теломерных районов хромосом. Оказалось, что расширение выборки подтвердило полученные ранее частоты распространенности инверсий — наиболее часто встречались инверсии хроматидного типа, и их соотношение с хромосомными инверсиями было равно 9 : 0,3.

Очевидно, что хроматидная инверсия образуется в одной из сестринских хроматид после прохождения клеткой синтетической стадии деления клетки, а хромосомная — это результат возникновения инверсии до синтетической стадии, что в итоге приводит к удвоению инвертированной хроматиды в данной стадии. При этом концы плеч сестринских хроматид остаются лишеными теломерных районов, что служит маркером гибели данной клетки. Данный тезис подтверждают более низкие частоты

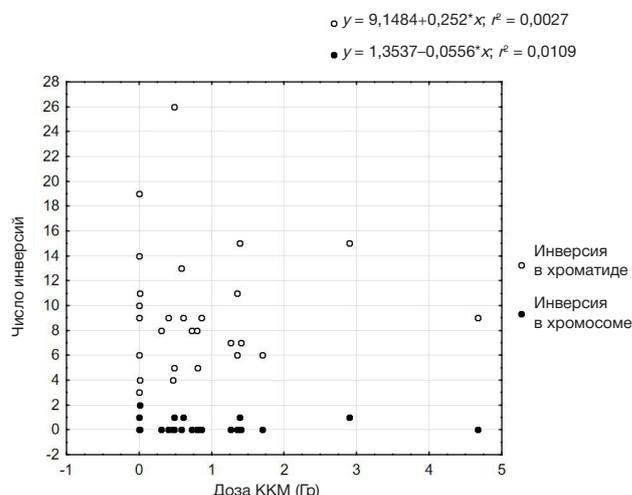


Рис. 4. Зависимость частоты инверсий от дозы облучения обследованных людей

Таблица 3. Зависимость частоты инверсий от пола ($M \pm SD$) на 100 клеток

Пол (<i>n</i>)	Возраст, лет	Доза, Гр	Инверсии хроматидные	Инверсии хромосомные	Инверсии все
М (7)	61–72	0,003–1,35	8,3 ± 4,3	0,1 ± 0,4	8,4 ± 4,6
Ж (7)	62–75	0,0001–1,35	7,7 ± 3,4	0,3 ± 0,5	8 ± 3,8

хромосомных инверсий. Если бы клетки могли выживать с такими перестройками, то мы бы видели высокие показатели частот хромосомных инверсий или других перестроек хромосом (например, транслокаций ди- или более центричных хромосом, кольцевых хромосом), чего не было отмечено при анализе препаратов.

Анализ литературы дает основание полагать, что в клетке существуют механизмы элиминации поврежденных хромосом или клеток, что позволяет сохранять целостность хромосом в клетке и генома во всех клетках организма.

Согласно полученным в нашем исследовании данным, большое количество инверсий содержит теломерные повторы. Анализ литературы позволил найти работы, в которых отмечается, что теломерные последовательности встречаются внутри хромосомного хроматина у многих организмов, в том числе и у человека, и известны как «внутренние теломерные последовательности» (ITS) [19, 20]. Эти участки считаются результатом перестроек генома в эволюции карิโอтипов, что подчеркивает важность их изучения. Есть предположения, объясняющие механизмы встраивания теломерных участков при репарации. Считается, что короткие теломерные повторы могут либо быть вставлены системами репарации двунитевых разрывов, в которые вовлечена теломераза [21], либо появиться в результате репликации, индуцированной двунитевыми разрывами, и таргетного встраивания теломерных последовательностей [22], в основе которого лежит механизм альтернативного удлинения теломер с вовлечением некоторых компонентов гомологичной рекомбинации [23]. Петли, образованные теломерными последовательностями, составляют важную компоненту трехмерной укладки хроматина в ядре, которая, в свою очередь, представляет собой значимый аспект регуляции функционирования всех процессов в геноме [24]. Таким образом, ИТЛ могут опосредовать теломерную регуляцию дистанцированных от теломер областей генома.

Учитывая, что механизм образования инверсий такой же, как и транслокаций — «разрыв-слияние ДНК», — можно предположить, что под действием регуляторных механизмов происходит делеция генов белков, обеспечивающих функцию стабилизации конца хромосомы (например, TRF2), в результате чего и возникает хромосомная перестройка. Вследствие этого хромосома может либо элиминироваться, либо стать кольцевой, либо «спастись» при помощи инверсии. Одноцепочечная теломерная последовательность, оказавшись внутри хромосомы, вероятно, достраивается теломеразой, которая начинает работать за счет взаимодействия РНК-матрицы с затравкой — одиночной цепью. Теломераза добавляет к затравке нуклеотиды в порядке, диктуемом структурой матрицы [25].

Ранее мы привели частоты хромосомных aberrаций, которые оценили в группе лиц, подвергшихся облучению в высоких дозах на Южном Урале [16]. Так, в ходе анализа препаратов хромосом чаще всего отмечались хроматидные инверсии — 9%, простые транслокации — 5%, комплексные — 0,6%, и самыми редкими aberrациями были хромосомные инверсии — 0,3%. Учитывая, что в ядре каждая хромосома занимает строго определенное пространство и в норме не пересекается с хроматином других хромосом, становится объяснимым тот факт, что наиболее частые преобразования будут отмечаться в пределах одной хроматиды (хромосомы) [8]. Так, известно, что в клетке человека образуется до 55 000 однонитевых разрывов ДНК, которые в большинстве своем репарируются. Однако если есть нарушения структуры петли хроматина, то при репарации происходит хроматидная инверсия, что подтверждено нами. Понятно, что если речь идет об обмене участками разных хромосом, то более вероятно образование простых транслокаций, чем комплексных перестроек, предполагающих разрывы одновременно в разных хромосомах и их близкое расположение для репарационных систем. Согласно полученным нами данным, такие перестройки будут встречаться в 10 раз реже, чем простые транслокации. Редкое обнаружение хромосомных инверсий косвенно подтверждает наше предположение, что эти aberrации летальны для клетки либо подобные хромосомы элиминируются в ходе деления. Данный тезис требует дальнейшего подтверждения.

Таким образом, считаем, что дальнейшее изучение структуры хроматина клеточного ядра, в частности, хромосомных инверсий, важно для понимания того, как гены взаимодействуют друг с другом и каковы биологические механизмы этого взаимодействия на хромосомном уровне.

ВЫВОДЫ

В выборке жителей Южного Урала, подвергшихся сочетанному хроническому облучению в диапазоне поглощенных доз на ККМ от 0,0001 до 4,7 Гр, частота инверсий с участием теломерных районов хромосом Т-лимфоцитов составила от 1 до 26 на 100 клеток. Частота инверсий хроматидного типа соотносится с инверсиями хромосомного типа как 9 : 0,3 на 100 клеток. Не выявлено зависимости частоты инверсий хроматидного и хромосомного типа от суммарной поглощенной дозы на ККМ. Не выявлено зависимости частоты инверсий хроматидного и хромосомного типа от возраста в диапазоне от 60 до 80 лет и пола.

Литература

1. Аклев А. В., редактор. Последствия радиоактивного загрязнения реки Теча. Челябинск: Книга, 2016; 400 с.
2. Venkatesan S, Natarajan AT, Hande MP. Chromosomal instability-mechanisms and consequences. *Mutat Res Gen Toxicol Environ Mutagen*. 2015; 793: 176–84.
3. Bailey SM, Bedford JS. Studies on chromosome aberration induction: What can they tell us about DNA repair? *DNA repair*. 2006; 5: 1171–81.
4. Cytogenetic analysis for radiation dose assessment: a manual. International Atomic Energy Agency Technical Reports Series. 2001; 405: 30–45.
5. Возилова А. В. Оценка влияния хронического облучения на преждевременное старение Т-лимфоцитов человека на основе нестабильных хромосомных aberrаций. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2023; 2 (25): 50–5.
6. Vozilova AV, Shagina NB, Degteva MO, Akleyev AV. Chronic radioisotope effects on residents of the Techa river (Russia) region: cytogenetic analysis more than 50 years after onset of exposure *Mutation Research*. 2013; 756 (1–2): 115–8.
7. Bonassi S, Norppa H, Ceppi M, Strömberg U, Vermeulen R, Znaor A, et al. Chromosomal aberration frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a pooled cohort study of 22 358 subjects in 11 countries. *Carcinogenesis*. 2008; 29 (6): 1178–83.
8. Eidelman YA, Salnikov IV, Slanina SV, Andreev SG. Chromosome folding promotes intrachromosomal aberrations under radiation- and nuclease-induced DNA breakage. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (22): 12186. DOI: 10.3390/ijms222212186.
9. Bunting SF, Nussenzweig A. End-joining, translocations and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2013; 13 (7): 443–54.
10. Iourov IY, Vorsanova SG, et al. The Cytogenomic “Theory of Everything” chromohelikosis may underlie chromosomal instability and mosaicism in disease and aging. *Int. J. Sci*. 2020; 21: 8328.
11. Puig M, Casillas S, Villatoro S, et al. Human inversions and their functional consequences. *Briefings in Functional Genomics*. 2015; 14 (5): 369–79.
12. Hoffmann AA, Rieseberg LH. Revisiting the impact of inversions in evolution: from population genetic markers to drivers of adaptive shifts and speciation. *Annu Rev Ecol Evol Syst*. 2008; 39: 21–42.
13. Ray FA, Zimmerman E, et al. Directional genomic hybridization for chromosomal inversion discovery and detection. *Chromosome Res*. 2013; 21: 165–74.
14. Livingston GK, Ryan T, Smith TL, et al. Detection of simple, complex, and clonal chromosome translocations induced by internal radioiodine exposure: a cytogenetic follow-up case study after 25 years. *Cytogen Genome Res*. 2019; 159: 169–81.
15. Luxton J, McKenna M, Lewis A, et al. Telomere length dynamics and DNA damage responses associated with long-duration spaceflight. *Cell Rep*. 2020; 33 (10): 108457. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.108457.
16. Возилова А. В., Кривошапова Я. В. Исследование частоты инверсий и комплексных транслокаций в Т-лимфоцитах у облученных жителей Южного Урала. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2022; 62 (4): 408–15.
17. Vozilova AV, Shagina NB, Degteva MO, et al. Chronic radioisotope effects on residents of the Techa river (Russia) region: cytogenetic analysis more than 50 years after onset of exposure *Mutation Research*. 2013; 756 (1–2): 115–8.
18. Nielsen PE, Egholm M, Berg RH, Buchardt O. Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide. *Sci*. 1991; 254 (5037): 1497–500.
19. Ruiz-Herrera A, Nergadze SG, Santagostino M, Giulotto E. Telomeric repeats far from the ends: Mechanisms of origin and role in evolution. *Cytogenetic and Genome Research*. 2009; 122 (3–4): 219–28.
20. Bolzán AD. Interstitial telomeric sequences in vertebrate chromosomes: Origin, function, instability and evolution. *Mutation Research*. 2017; 773: 51–65.
21. Nergadze SG, Santagostino MA, Salzano A, Mondello C, Giulotto E. Contribution of telomerase RNA retrotranscription to DNA double-strand break repair during mammalian genome evolution. *Genome Biology*. 2007; 8 (12): R260.
22. Marzec P, Armenise C, Pérot G, Roumelioti FM, Basyuk E, Gagos S, et al. Nuclear-receptor-mediated telomere insertion leads to genome instability in ALT cancers. *Cell*. 2015; 160 (5): 913–27.
23. Muntoni A, Reddel RR. The first molecular details of ALT in human tumor cells. *Human Molecular Genetics*. 2005; 14 (2): 191–6.
24. Gonzalez-Suarez I, Gonzalo S, Crosstalk between chromatin structure, nuclear compartmentalization, and telomere biology. *Cytogenetic and Genome Research*. 2009; 122 (3–4): 202–10.
25. Льюин Б. Гены. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011; 896 с.

References

1. Aklev AV, editor. Consequences of radioactive contamination of the river Techa. Chelyabinsk: The Book, 2016; p. 400. Russian.
2. Venkatesan S, Natarajan AT, Hande MP. Chromosomal instability-mechanisms and consequences *Mutat. Res Gen Toxicol Environ Mutagen*. 2015; 793: 176–84.
3. Bailey SM, Bedford JS. Studies on chromosome aberration induction: What can they tell us about DNA repair? *DNA repair*. 2006; 5: 1171–81.
4. Cytogenetic analysis for radiation dose assessment: a manual. International Atomic Energy Agency Technical Reports Series. 2001; 405: 30–45.
5. Vozilova AV. Assessment of the effect of chronic exposure on premature aging of human T-lymphocytes based on unstable chromosome aberrations. *Extreme medicine*. 2023; 2 (25): 50–5. Russian.
6. Vozilova AV, Shagina NB, Degteva MO, Akleyev AV. Chronic radioisotope effects on residents of the Techa river (Russia) region: cytogenetic analysis more than 50 years after onset of exposure *Mutation Research*. 2013; 756 (1–2): 115–8.
7. Bonassi S, Norppa H, Ceppi M, Strömberg U, Vermeulen R, Znaor A, et al. Chromosomal aberration frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a pooled cohort study of 22 358 subjects in 11 countries. *Carcinogenesis*. 2008; 29 (6): 1178–83.
8. Eidelman YA, Salnikov IV, Slanina SV, Andreev SG. Chromosome folding promotes intrachromosomal aberrations under radiation- and nuclease-induced DNA breakage. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (22): 12186. DOI: 10.3390/ijms222212186.
9. Bunting SF, Nussenzweig A. End-joining, translocations and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2013; 13 (7): 443–54.
10. Iourov IY, Vorsanova SG, et al. The Cytogenomic “Theory of Everything” chromohelikosis may underlie chromosomal instability and mosaicism in disease and aging. *Int. J. Sci*. 2020; 21: 8328.
11. Puig M, Casillas S, Villatoro S, et al. Human inversions and their functional consequences. *Briefings in Functional Genomics*. 2015; 14 (5): 369–79.
12. Hoffmann AA, Rieseberg LH. Revisiting the impact of inversions in evolution: from population genetic markers to drivers of adaptive shifts and speciation. *Annu Rev Ecol Evol Syst*. 2008; 39: 21–42.
13. Ray FA, Zimmerman E, et al. Directional genomic hybridization for chromosomal inversion discovery and detection. *Chromosome Res*. 2013; 21: 165–74.
14. Livingston GK, Ryan T, Smith TL, et al. Detection of simple, complex, and clonal chromosome translocations induced by internal radioiodine exposure: a cytogenetic follow-up case study after 25 years. *Cytogen Genome Res*. 2019; 159: 169–81.
15. Luxton J, McKenna M, Lewis A, et al. Telomere length dynamics and DNA damage responses associated with long-duration spaceflight. *Cell Rep*. 2020; 33 (10): 108457. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.108457.

- celrep.2020.108457.
16. Vozilova AV, Krivoshchapova YaV. Investigation of the frequency of inversions and complex translocations in T-lymphocytes in irradiated residents of the Southern Urals. *Radiation Biology. Radioecology*. 2022; 62 (4): 408–15. Russian.
 17. Vozilova AV, Shagina NB, Degteva MO, et al. Chronic radioisotope effects on residents of the Techa river (Russia) region: cytogenetic analysis more than 50 years after onset of exposure *Mutation Research*. 2013; 756 (1–2): 115–8.
 18. Nielsen PE, Egholm M, Berg RH, Buchardt O. Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide. *Sci*. 1991; 254 (5037): 1497–500.
 19. Ruiz-Herrera A, Nergadze SG, Santagostino M, Giulotto E. Telomeric repeats far from the ends: Mechanisms of origin and role in evolution. *Cytogenetic and Genome Research*. 2009; 122 (3–4): 219–28.
 20. Bolzán AD. Interstitial telomeric sequences in vertebrate chromosomes: Origin, function, instability and evolution. *Mutation Research*. 2017; 773: 51–65.
 21. Nergadze SG, Santagostino MA, Salzano A, Mondello C, Giulotto E. Contribution of telomerase RNA retrotranscription to DNA double-strand break repair during mammalian genome evolution. *Genome Biology*. 2007; 8 (12): R260.
 22. Marzec P, Armenise C, Pérot G, Roumelioti FM, Basyuk E, Gagos S, et al. Nuclear-receptor-mediated telomere insertion leads to genome instability in ALT cancers. *Cell*. 2015; 160 (5): 913–27.
 23. Muntoni A, Reddel RR. The first molecular details of ALT in human tumor cells. *Human Molecular Genetics*. 2005; 14 (2): 191–6.
 24. Gonzalez-Suarez I, Gonzalo S. Crosstalk between chromatin structure, nuclear compartmentalization, and telomere biology. *Cytogenetic and Genome Research*. 2009; 122 (3–4): 202–10.
 25. Lewin B. *Genes*. М.: BINOM. Laboratoriya znaniy, 2011; 896 с. Russian.