

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ СТАРЕНИЯ У ЖИТЕЛЕЙ ПРИБРЕЖНЫХ СЕЛ РЕКИ ТЕЧА

Ю. Р. Ахмадуллина^{1,2}✉, А. В. Возилова¹, Я. В. Кривошапова¹

¹ Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства, Челябинск, Россия

² Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

Исследование влияния хронического низкоинтенсивного облучения на старение клеток иммунной системы имеет важное значение для понимания последствий воздействия облучения на здоровье человека и разработки мер минимизации негативных эффектов. Целью работы было исследовать влияние хронического низкоинтенсивного облучения человека на старение клеток иммунной системы с использованием цитогенетических маркеров. В работе оценили маркеры старения — нестабильность генома и истощение теломер в Т-лимфоцитах у облученных людей на Южном Урале (дозы облучения от 0,001 до 4,7 Гр, возраст — от 40 лет до 89 лет). Анализ данных показал, что хроническое воздействие повлияло на старение Т-клеток опосредованно. Частота нестабильных хромосомных aberrаций у облученных лиц была статистически выше в 40–59 лет ($p = 0,012$). Частота лимфоцитов с микроядрами у облученных лиц наиболее различалась у мужчин и женщин ($p = 0,001$). Выявили статистически значимое снижение показателей длины теломер у облученных лиц (для хромосомных плеч 1q, 3p, 3q, 20p, 20q, 13q, 15p, 22q ($p < 0,05$); 19p, 21q ($p < 0,01$)).

Ключевые слова: маркеры клеточного старения, ионизирующая радиация, нестабильные хромосомные aberrации, микроядра, река Теча, теломерные районы хромосом

Финансирование: государственное задание ФМБА РФ на выполнение прикладной научно-исследовательской работы по теме: «Изучение влияния хронического низкоинтенсивного облучения на преждевременное старение клеток иммунной системы человека».

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

Вклад авторов: Ю. Р. Ахмадуллина — разработка критериев анализа, окраска и анализ стекол для раздела про микроядра, статистика, анализ литературы, написание статьи; А. В. Возилова — идея исследования, постановка научных задач, анализ литературы, окраска и анализ цитогенетических препаратов для раздела про НХА, статистика, написание статьи; Я. В. Кривошапова — разработка критериев анализа, окраска и анализ стекол для раздела про теломерные участки хромосом, статистика, анализ литературы, написание статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом УНПЦ РМ (протокол № 1 от 22 января 2024 г.). У лиц, участвующих в цитогенетических исследованиях, было получено информированное согласие на забор образцов крови и дальнейшие исследования.

✉ Для корреспонденции: Юлия Рафисовна Ахмадуллина
ул. Воровского, д. 68А, г. Челябинск, 454141, Россия; akhmadullina.yul@yandex.ru

Статья получена: 02.04.2024 Статья принята к печати: 31.05.2024 Опубликована онлайн: 19.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.018

THE EFFECT OF CHRONIC EXPOSURE ON THE PARAMETERS OF CYTOGENETIC MARKERS OF SENESCENCE IN THE RESIDENTS OF THE TECHA RIVERSIDE SETTLEMENTS

Akhmadullina YuR^{1,2}✉, Vozilova AV¹, Krivoshchapova YV¹

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

² Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

The understanding of the exposure effects on the human health could be improved by analyzing the influence of the chronic low dose rate exposure on the senescence of the immune system cells. It will also help to develop the measures aimed at the mitigation of the adverse effects. The objective of the study is to investigate the influence of the chronic low dose rate exposure on the senescence of the immune system cells using the cytogenetic markers. In the course of the research the authors evaluated the cellular senescence markers — genome instability and telomere depletion — in T-lymphocytes of the individuals exposed in the Southern Urals (exposure doses were 0.001 Gy — 4.7 Gy, the age of examined people was 40–89 years). The data analysis has demonstrated that the effect of chronic exposure on the T-cell senescence was indirect. Unstable chromosome aberrations occurred statistically significantly more frequently in exposed people aged 40–59 years ($p = 0.012$). Frequency of lymphocytes with micronuclei in exposed individuals differed in men and women ($p = 0.001$). Statistically significant decrease in the telomere length was revealed (for the chromosome arms 1q, 3p, 3q, 20p, 20q, 13q, 15p, 22q ($p < 0.05$); 19p, 21q ($p < 0.01$)).

Keywords: markers of cellular senescence, ionizing radiation, unstable chromosome aberrations, micronuclei, the Techa River, telomeres

Funding: the study was supported by the RSF grant (project № 22-25-20145 “Exploring the Mechanisms Underlying the Effects of Tolerance to Food Antigens on the Glucose Utilization”).

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

Author contributions: Akhmadullina YR — developing the criteria of the analysis, slide staining and assessment for the manuscript section on micronuclei, statistical analysis, literature review, manuscript writing; Vozilova AV — study conception and design, research priority setting, literature review, staining and analysis of cytogenetic slides for the manuscript section on unstable chromosome aberration, statistical analysis, manuscript writing; Krivoshchapova YaV — developing the criteria of the analysis, slide staining and assessment for the manuscript section on the telomere regions of the chromosomes, statistical analysis, literature review, manuscript writing.

Compliance with the ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Urals Research Center for Radiation Medicine (protocol No. 1 dated 22 January 2024); individuals who underwent cytogenetic examinations gave the informed consent to blood sampling and further assessment.

✉ Correspondence should be addressed: Yulia Rafisovna Akhmadullina
Vorovskogo, 68A, Chelyabinsk, 454141, Russia; akhmadullina.yul@yandex.ru

Received: 02.04.2024 Accepted: 31.05.2024 Published online: 19.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.018

В УНПЦ РМ ФМБА России более 60 лет обследуют людей, которые подверглись хроническому облучению в результате сброса жидких радиоактивных отходов (ЖРО) в реку Течу на Южном Урале. Особенность воздействия состояла в том, что облучение было сочетанным — как внутренним за счет поступления и накопления в организме радионуклидов $^{89,90}\text{Sr}$, так и внешним за счет γ -облучения от речной воды. Критическим органом был красный костный мозг (ККМ), где клетки-предшественники гемопоэза подвергались воздействию в широком диапазоне доз. Поскольку сбросы ЖРО в реку Течу начались с 1948 г., а максимальные мощности наблюдали в 1951–1952 гг., то дозы облучения были сформированы к 1960 г., но хроническое внутреннее облучение в малых дозах продолжается и в настоящее время. Следовательно, самые младшие из облученных лиц старше 60 лет, что делает возможным исследовать влияние ионизирующего облучения на старение человека [1].

Организм человека — сложная многоуровневая система, имеющая свою программу онтогенеза, за реализацию которой отвечают группы генов и многочисленные пути взаимодействия и взаимовлияния их продуктов. Важный этап онтогенеза — старение организма. В силу существенного нарастания среди населения планеты доли людей старшего возраста (более 60 лет) большой интерес ученых и медиков состоит в изучении механизмов естественного старения человека, факторов, вызывающих преждевременное старение, и механизмов, способных отложить или замедлить во времени его реализацию [2].

Безусловно, кроме естественных процессов на старение организма влияют условия окружающей среды. В результате активного использования источников ИИ для медицинских и диагностических процедур возник вопрос о возможном влиянии радиации на преждевременное старение [3, 4].

Изучение любого процесса основано на выявлении маркеров, которые обладают качественными или количественными признаками. К общепринятым маркерам старения относят: геномную нестабильность, истощение теломерных районов, эпигенетические повреждения генома, изменения протеостатуса клеток, нарушение контроля за питательными веществами, митохондриальные дисфункции, истощение пула стволовых клеток, нарушение внутриклеточных взаимодействий [3, 5].

В нашей работе мы оценили состояние хроматина ядерной ДНК в стимулированных фитогемагглютинином (ФГА) Т-лимфоцитах периферической крови облученных людей. Отобранные нами показатели отражают два вышеперечисленных маркера старения — нестабильность генома (частота нестабильных хромосомных aberrаций и частота клеток с микроядрами) и истощение теломер (оценка длины теломерных районов хромосом).

К нестабильным хромосомным aberrациям (НХА) относят перестройки в виде дицентрических и кольцевых хромосом, ацентрических колец. Многочисленные исследования подтвердили зависимость НХА от возраста человека, поскольку с возрастом увеличивается число ошибок репарации и клеток с НХА соответственно [6–9].

Анализ частоты цитокинез-блокированных Т-лимфоцитов с микроядрами (МЯ) служит дополнительным инструментом для косвенной оценки хромосомных аномалий и применяется в условиях воздействия разных генотоксических факторов окружающей среды. Микроядро — это структура, содержащая хроматин, который образуется либо из нерепарируемых разрывов

ДНК, либо в результате неправильной сегрегации сестринских хроматид одной или нескольких хромосом. Как показывают исследования, частота спонтанных МЯ увеличивается с возрастом [10].

Показатель длины теломерных районов хромосом или «биологические часы» клетки также является маркером клеточного старения. Постепенное истощение теломер хромосом при делении клеточной линии приводит к тому, что дочерние клетки утрачивают способность делиться и погибают (лимит Хейфлика). Феномен укорочения длины теломерных районов в клетках организма с возрастом человека составил основу методики определения его биологического возраста [11, 12].

Таким образом, для оценки влияния хронического облучения на старение ДНК стимулированных ФГА Т-лимфоцитов человека нами были выбраны цитогенетические методики, которые позволяют оценить состояние хромосомной ДНК клеток иммунной системы, предшественники которых начали облучаться еще в ККМ более 50 лет назад, и это облучение продолжается в настоящее время.

Цель работы — исследование влияния хронического низкоинтенсивного облучения человека на старение клеток иммунной системы с использованием цитогенетических маркеров.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования: сформировать одинаковые разновозрастные подгруппы среди облученных и необлученных лиц, проанализировать показатели нестабильности генома в каждой возрастной подгруппе и сравнить эти показатели между собой. Оценить возрастную динамику хромосомных aberrаций в возрастных подгруппах у облученных и необлученных лиц (оценка нестабильности ядерной ДНК).

Характеристика обследованных лиц

Объектом исследования были люди, подвергшиеся хроническому сочетанному облучению на Южном Урале (далее «доноры»). Предметом исследования был ядерный хроматин ФГА стимулированных Т-лимфоцитов периферической крови.

В исследование включали лиц с суммарными дозами от внешнего и внутреннего облучения от 0,001 до 4,7 Гр на красный костный мозг (ККМ), рассчитанными по TRDS-2016, до 1959 г. рождения включительно [13]. Это были лица обоих полов, в основном трех национальностей — русские, татары и башкиры.

Для обследования также были включены лица, проживавшие в сходных социально-экономических условиях на Южном Урале, но аварийному облучению не подвергавшиеся («группа сравнения»). Для исследования длины теломерных районов хромосом группу сравнения составили лица из когорты р. Течи, у которых дозы на ККМ не превышали 0,01 Гр.

Согласно цитогенетическим критериям выбора доноров, из исследования исключали лиц, у которых имелись в анамнезе аутоиммунные и онкологические заболевания, а также хронические воспалительные заболевания в фазе обострения. Исключали также лиц, принимающих цитостатики и антибиотики.

Информация о состоянии здоровья облученных лиц была предоставлена отделом «База данных “Человек”»,

Таблица 1. Характеристика обследованных и результаты оценки частоты (%) нестабильных хромосомных aberrаций в обследуемых группах (медиана, 25% и 75%)

Возрастные подгруппы, лет	Группа сравнения	Облученные лица		
		0,001–4 Гр	0,001–0,2 Гр	0,3–4 Гр
40–59	0 $n = 17$	0 0–0,27 $p = 0,012$ $n = 100$	0 0–0,4 $p = 0,002$ $n = 39$	0 $p = 0,04$ $n = 61$
60–69	0 $p_1 = 0,064$ $n = 44$	0 0–0,26 $n = 285$	0 0–0,133 $n = 58$	0 0–0,2 $n = 227$
70–89	0 0–0,62 $p_2 = 0,023$ $n = 22$	0 0–0,22 $n = 185$	0 0–0,18 $n = 43$	0 0–0,255 $n = 142$
Все обследуемые	0 $n = 83$	0 0–0,20 $p = 0,04$ $n = 570$		

Примечание: n — число обследованных лиц; p — статистические отличия показателей с группой сравнения в одной возрастной группе; p_1 — статистические отличия показателей между возрастными группами «40–59 лет» и «60–69 лет»; p_2 — статистические отличия показателей между возрастными группами «40–59 лет» и «70–89 лет».

индивидуальные дозы облучения были рассчитаны в биофизической лаборатории, информация о наличии онкопатологии в анамнезе обследуемых лиц была предоставлена эпидемиологической лабораторией (УНПЦ РМ).

Изучение частоты НХА

Для выполнения исследований по оценке частоты НХА сформировали две группы доноров: группу сравнения составили 83 человека, в группу облученных лиц вошло 570 человек с дозами на ККМ от 0,001 до 4 Гр. Возраст людей, которых обследовали, располагался в ряду от 40 до 89 лет. Группу облученных лиц разбили на две подгруппы: первую составили лица с дозами от 0,001 до 0,2 Гр включительно, а вторая подгруппа включала лиц с дозами от 0,3 до 4 Гр. Группы облученных и необлученных лиц были ранжированы по возрасту на момент обследования. Было выделено три возрастных периода — в группе сравнения от 40 до 59 лет, от 60 до 69 лет, и старшая группа — от 70 до 89 лет (табл. 1). Зависимости частоты НХА от пола в наших ранних исследованиях не было выявлено, поэтому группы были смешанные, большинство обследованных были женщины (до 70%).

Изучение частоты клеток с МЯ

Характеристика обследованных групп представлена в табл. 2. Всего в группу сравнения вошли 113 женщин

Таблица 2. Характеристика людей, обследованных с применением МЯ теста

Возрастные группы, лет	Женщины		Мужчины	
	Группа сравнения	Облученные	Группа сравнения	Облученные
	Возраст, лет число человек	Возраст, лет число человек. доза на ККМ, Гр	Возраст, лет число человек	Возраст, лет число человек. доза на ККМ, Гр
50–59	57 $n = 23$	57 $n = 45$ 0,002–2,9	56 $n = 8$	56 $n = 22$ 0,007–1,0
60–69	65 $n = 45$	65 $n = 177$ 0,004–3,7	65 $n = 20$	65 $n = 125$ 0,004–2,2
70–89	74 $n = 45$	75 $n = 132$ 0,001–4,0	75 $n = 16$	73 $n = 72$ 0,02–2,1

и 44 мужчины. Возраст обследованных лиц располагался в ряду от 52 до 82 лет. Во всех возрастных периодах в группах преобладали женщины. Группа облученных лиц состояла из 573 человек, из них было 354 женщины и 219 мужчин. Возраст обследованных располагался в ряду от 50 до 89 лет. Кумулятивные дозы облучения ККМ находились в диапазоне от 0,001 до 4 Гр.

Было также проведено пилотное исследование на предмет включения в состав микроядра хроматина X-хромосомы. Это исследование проводили у 6 облученных женщин в возрасте от 73 до 82 лет, с дозами на ККМ от 0,73 до 1,93 Гр. В группу сравнения вошли две необлученные женщины в возрасте 63 и 65 лет.

Оценка длины теломерных районов хромосом

Для выполнения исследований по оценке длины теломерных районов сформировали две группы доноров: группу сравнения составили 27 человек с дозами на ККМ от 0 до 0,01 Гр, из них 23 человека имели дозы от 0,0001 до 0,01 Гр, а 4 человека аварийному облучению вообще не подвергались. В группу облученных лиц вошло 26 человек с дозами на ККМ от 0,6 до 4,7 Гр. Возраст обследованных лиц составил от 61 до 84 лет. Характеристика обследованных доноров представлена в табл. 3.

Для анализа влияния пола на длину теломер группы были выравнены по количеству обследованных лиц и их возрасту. В группу «Женщины» вошли 11 доноров в

Таблица 3. Характеристика доноров, у которых исследовали длину теломерных районов

Возраст, лет	Женщины		Мужчины	
	Группа сравнения	Облученные	Группа сравнения	Облученные
	Возраст, лет число человек, доза на ККМ, Гр	Возраст, лет число человек, доза на ККМ, Гр	Возраст, лет число человек, доза на ККМ, Гр	Возраст, лет число человек, доза на ККМ, Гр
61–84	62–80 n = 20 0–0,01	70–84 n = 22 0,6–4,7	61–72 n = 7 0–0,01	71–76 n = 4 0,6–1,35

возрасте от 61 до 73 лет с дозой облучения на ККМ от 0 до 1,4 Гр. Группа «Мужчины» состояла из 11 доноров, возраст от 61 до 72 лет, доза облучения на ККМ от 0 до 1,4 Гр.

Исходя из того что нерадиационный фактор «пол» может оказывать влияние на показатель относительной длины теломер, для выполнения исследований по оценке влияния облучения на показатель относительной длины теломерных районов сформировали две группы доноров женского пола: группу сравнения составили 20 человек с дозами на ККМ от 0 до 0,01 Гр, из них 18 женщин имели дозы от 0,0001 до 0,01 Гр, а двое аварийному облучению вообще не подвергались. Возраст доноров — от 62 до 80 лет. В группу подвергшихся облучению лиц вошло 22 женщины с дозами на ККМ от 0,6 до 4,7 Гр. Возраст на момент обследования — от 70 до 84 лет.

Получение препаратов метафазных хромосом

Приготовление и окрашивание препаратов хромосом

Цитогенетические препараты из ФГА стимулированных Т-лимфоцитов периферической крови доноров получали согласно протоколу, который включает четыре последовательных этапа: культивирование клеток до стадии метафазы (52 ч, за 3 ч вводили колcemид в итоговой концентрации 0,1 мг/мл), гипотоническую обработку метафазных клеток (за 1 ч до фиксации), фиксацию метафазных пластинок (3 части этанол медицинский, 95%:1 часть — ледяная уксусная кислота) и получение препаратов хромосом. Метафазные хромосомы окрашивали 2% раствором Гимза в течение 10 мин, затем краску смывали и стекла сушили при комнатной температуре [14].

Анализ препаратов осуществляли при световой микроскопии, без кариотипирования на микроскопах Axiolmager A2, Z2. В анализ включали клетки с 46 хромосомами, без наложений или максимум с 1–2 наложениями, отмечали дицентрические и кольцевые хромосомы, ацентрические кольца. На каждого обследуемого человека анализировали от 100 до 500 клеток.

Получение препаратов двуядерных лимфоцитов для обнаружения микроядер

Протокол методики МЯ теста включал несколько этапов: культивирование ФГА-стимулированных Т-лимфоцитов периферической крови, блокирование цитокинеза, гипотоническую обработку, фиксацию суспензии клеток, приготовление цитогенетических препаратов [15]. Окрашивали препараты 1%-м раствором Гимза в течение 20 мин. Анализ препаратов осуществляли при световой микроскопии на микроскопе Axiolmager A2. На каждого донора анализировали по 1000 двуядерных клеток.

Изучение хромосомного состава микроядер производили методом локуссpezifичной флуоресцентной *in situ*

гибридизации. Использовали флуоресцентные зонды для центромерного района X-хромосомы (cenX) (Metasystems; Германия). Флуоресцентное окрашивание проводили в соответствии с протоколом производителя, который обязательно включает денатурацию ДНК препарата и зонда, гибридизацию в течение суток при 37 °C, постгибридизационную отмывку несвязанных зондов. Для контр-окрашивания хроматина на препарат наносили 15 мкл DAPI antifade (Metasystems; Германия). Накрывали покровным стеклом и хранили при –20 °C. Анализ флуоресцентно окрашенных препаратов проводили с помощью флуоресцентного микроскопа Axiolmager Z2 (Zeiss; Германия) с фильтрами для распознавания флуоресцентной окраски, а также с программным модулем Isis Metasystems для обработки флуоресцентных изображений. При анализе центромерных сигналов X-хромосомы (cen X) отмечали их наличие и количество в микроядре. Микроядра с одним и более центромерными сигналами считали центромеро-положительными (cen X+), микроядра без центромерных сигналов считали центромеро-отрицательными (cen X–).

Выявление теломерных районов метафазных хромосом

Препараты с метафазными пластинками получали по протоколу, описанному для оценки НХА. Для флуоресцентного окрашивания методом Q-FISH стекла очищали от цитоплазмы RNA-азой (100 нг/мл в 2xSSC) и пепсином, затем 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 (DAKO; Дания), реперным сигналом служил центромерный район хромосомы #2 (Metasystems; Германия).

Анализ флуоресцентно окрашенных препаратов проводили на флуоресцентном микроскопе Axiolmager Z2 (Zeiss; Германия) с фильтрами DAPI и SpO (spectrum orange). Анализировали 30 полных клеток на одного обследуемого. Измерения теломер проводили с использованием теломерного модуля программы Isis. Результат выражали в процентах отношения длины теломерного (T) сигнала к длине центромерного (C) — (%T/C). Подробно метод оценки длины теломерных районов описан в работе [16].

В результатах представлена длина теломерных районов для метацентрических (#1, #3, #19, #20) и для акроцентрических хромосом (#13, #14, #15, #21, #22).

При выполнении работы основной акцент был сделан на исследование относительной длины теломерных районов в метацентрических и акроцентрических хромосомах как наиболее различных по коэффициенту отношения хромосомных плеч и по длине хромосом в целом. Сравнивали также хромосомы разного размера внутри метацентрических и акроцентрических групп.

У метацентрических хромосом самая крупная хромосома #1 содержит примерно 8% от всего ДНК-материала клетки. Самая маленькая метацентрическая хромосома #20 содержит около 2,5% всей ДНК клетки. В группу акроцентриков входят #13, #14, #15 хромосомы — каждая из которых содержит примерно от 3,5 до 4%, и самые маленькие акроцентрики — #21 #22 хромосомы, которые содержат от 1,5 до 2% всей ДНК клетки [17].

Статистические методы исследования

Проверку нормальности распределения данных проводили с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Для обработки результатов использовали общепринятые методы вариационной статистики с вычислением медианы и 25 и 75 перцентилей. Сравнение значений в группах осуществляли с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни.

Для определения связи между частотой НХА, возрастом и дозой облучения были рассчитаны линейные регрессионные уравнения.

Для определения связи между частотой лимфоцитов с микроядрами с возрастом использовали коэффициент корреляции Спирмена. Для оценки влияния комплекса факторов на частоту лимфоцитов с МЯ у исследованных лиц была применена одномерная общая линейная модель. Частоту микроядер с центромерными сигналами Х хромосомы рассчитывали как процент от всех микроядер. Анализ проводили с помощью критерия χ^2 . Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи пакета прикладных программ Sigmaplot (SYSTAT Software; США), STATISTICA, версия 10.0 (StatSoft; США) и PAST версия 4.03 (Oyvind Hammer; Великобритания).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование частоты НХА

При сравнении показателей между облученными и необлученными лицами выявили достоверное превышение клеток с обменными нестабильными хромосомными aberrациями у облученных лиц, $p = 0,04$ (табл. 1). Была выявлена слабая линейная корреляционная зависимость исследуемых показателей от дозы облучения костного мозга в объединенной группе облученных лиц ($R = 0,125$, $p = 0,005$).

В группе сравнения с увеличением возраста происходит небольшой рост исследуемого показателя (среднее — 0, 0,18 и 0,30 на 100 клеток, соответственно). Частота хромосомных aberrаций у необлученных лиц в обеих старших возрастных подгруппах увеличена при сравнении с подгруппой «40–59 лет» ($p_1 = 0,06$, $p_2 = 0,02$). Несмотря на рост частоты обменов в старшей подгруппе «70–79 лет», различия с подгруппой «60–69 лет» статистически не значимы.

Что касается облученных лиц — с возрастом увеличения исследуемого показателя не отметили. Напротив, хромосомные нестабильные aberrации во всех трех возрастных подгруппах встречались с одинаковой частотой ($p_1 = 0,69$, $p_2 = 0,37$), что подтвердило и отсутствие линейной корреляции ($R = 0,0002$, $p = 0,76$).

При сравнении частоты обменных aberrаций в подгруппах между контролем и облученными лицами

выявлено достоверное превышение показателей у лиц, подвергшихся радиационному воздействию только в младшей возрастной подгруппе — «40–59 лет» ($p = 0,038$). Выше показатели были у облученных лиц в возрасте 60–69 лет (но статистически не значимо), а в более старшем возрасте частота клеток с хромосомными aberrациями в этих группах была одинаковой.

При построении линейной регрессии слабая тенденция зависимости частоты НХА от возраста была отмечена для группы сравнения (уравнение 1), для группы облученных лиц линейной зависимости частоты НХА от возраста не отметили (уравнение 2). Слабая зависимость была отмечена для частоты НХА от дозы облучения ККМ (уравнение 3), что также согласуется с литературными данными [1, 18].

$$\text{НХА} = 0,013\text{В} - 0,670 \quad (R = 0,242 \quad p = 0,04) \quad (1)$$

$$\text{НХА} = 1,56 \times 10^{-6}\text{В} + 0,241 \quad (R = 0,0002 \quad p = 0,76) \quad (2)$$

$$\text{НХА} = 0,109\text{Д} + 0,152 \quad (R = 0,126 \quad P = 0,005), \quad (3)$$

где НХА — частота % обменных aberrаций; В — возраст, полных лет; Д — доза на ККМ, Гр.

Изучение частоты клеток с микроядрами

По данным, представленным в табл. 4, видно, что у облученных женщин в возрасте 50–59 лет частота лимфоцитов с МЯ составила 15%, в 60–69 лет — 16%, в 70–79 лет — 18%, а в возрасте 80–89 лет — 20%. Статистически значимых различий с группой сравнения обнаружено не было.

При изучении частоты лимфоцитов с МЯ в дозовых группах облученных женщин не было отмечено значимых различий с группой сравнения и между собой.

По данным, представленным в табл. 5, видно, что у облученных мужчин в возрасте 50–59 лет частота лимфоцитов с МЯ составила 11%, в 60–69 лет — 12% и в 70–79 лет частота лимфоцитов с МЯ составляет 15%, что не отличается от группы необлученных лиц. При рассмотрении частоты лимфоцитов с МЯ в дозовых группах облученных мужчин не было отмечено значимых различий с группой сравнения и между собой.

При изучении частоты лимфоцитов с МЯ в зависимости от пола в группах облученных лиц у женщин исследуемый показатель был статистически значимо выше, чем у мужчин. Так, в группе облученных лиц частота лимфоцитов с МЯ у женщин составила 18% (13–25%), а у мужчин 13% (10–19%), $p = 0,001$.

При оценке различий в частоте лимфоцитов с микроядрами между женщинами и мужчинами в разных возрастных периодах было отмечено, что у облученных лиц значимые отличия наблюдали в группе 60–69 и 70–79 лет ($p = 0,0001$ и $p = 0,033$ соответственно). В возрастном периоде 50–59 лет различия между женщинами и мужчинами были на уровне тенденции ($p = 0,119$).

Для изучения влияния совокупности факторов радиационной и нерадиационной природы был использован многофакторный анализ, результаты которого отражены в табл. 6. Как видно, наибольший вклад в частоту лимфоцитов с МЯ вносит пол исследуемых лиц. Зависимости частоты лимфоцитов с МЯ от дозы облучения ККМ обнаружено не было, $p = 0,599$. Зависимость частоты лимфоцитов с МЯ от возраста была на уровне тенденции, $p = 0,053$.

В табл. 7 представлены частоты микроядер, содержащие центромеры Х-хромосом. Как видно из табл. 7, в группе облученных лиц 46,6% микроядер

Таблица 4. Частота лимфоцитов с микроядрами (%) в разновозрастных группах у облученных женщин (медиана, 25–75%, минимум–максимум)

Возрастные группы	Группа сравнения	Облученные лица		
		0,001–4Гр	0,001–0,2 Гр	0,3–4 Гр
50–59	15 9–21 (5–65)	15 11–20 (6–36)	12 10–18 (6–24)	16 14–24 (7–36)
60–69	17 12–26 (4–48)	16 12–22 (2–55)	15 11–19 (2–42)	16 12–25 (3–55)
70–79	16 10–22 (0–40)	18 13–23 (3–47)	19 15 – 25 4–42	17 12–23 (3–47)
80–89	15 11–21 (10–24)	20 17–25 (4–44)	20 18–27 (16–39)	20 15–23 (4–44)

Таблица 5. Частота лимфоцитов с микроядрами (%) в разновозрастных группах у облученных мужчин (медиана, 25–75%, минимум–максимум)

Возрастные группы	Группа сравнения	Облученные лица		
		0,001–4 Гр	0,001–0,2 Гр	0,3–4 Гр
50–59	15 8–20 (3–21)	11 9–18 (5–41)	11 8–20 (5–29)	12 10–22 (5–41)
60–69	13 11–19 (5–37)	12 8–19 (2–38)	15 11–22 (3–34)	12 8–18 (2–38)
70–79	15 10–18 (3–21)	15 11–19 (4–41)	16 11–19 (8–28)	15 11–19 (4–41)

содержали в себе центромеро-положительный хроматин X-хромосомы, что было статистически значимо выше, чем в группе сравнения — 31%, $\chi^2 = 4,78$, $p = 0,04$. Обнаружена межиндивидуальная вариация показателей у облученных женщин. Частота микроядер с центромерным сигналом X-хромосомы варьирует от 22,8% до 59%.

Индивидуальную вариабельность наблюдали и в частоте микроядер, содержащих разное количество центромер. Так, среди облученных лиц был донор, у которого центромеро-позитивные микроядра преимущественно содержали одну центромеру, три донора, у которых преимущественно в центромеро-положительных микроядрах было два сигнала. В группе сравнения у доноров центромеро-положительные микроядра содержали преимущественно только одну центромеру. Данные результаты показывают, что в исследуемых группах имеется нерасхождение или отставание X-хромосом в анафазе, вследствие чего, скорее всего, они элиминируются в микроядра.

Изучение длины теломерных районов хромосом

В табл. 8 представлена длина теломерных районов для метацентрических и акроцентрических хромосом у мужчин и женщин.

Как видно из табл. 8, у мужчин показатель относительной длины теломерных районов был достоверно выше, чем у женщин, для метацентрических (#1, #3, #19, #20) и акроцентрических хромосом (#13, #14, #15, #21, #22),

различия с уровнем значимости $p < 0,05$ наблюдали для хромосомных плеч 1q, 3p, 20q, 13q, 15q, 21q.

В табл. 9 представлена медиана длины теломерных районов для метацентрических (#1, #3, #19, #20) и акроцентрических (#13, #14, #15, #21, #22) хромосом в группе сравнения и у женщин, подвергшихся хроническому радиационному воздействию.

Как видно из табл. 9, у женщин, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, показатель длины теломерных районов метацентрических хромосом был в целом ниже, чем в клетках людей из группы сравнения, значимые различия наблюдали для хромосомных плеч метацентрических хромосом 1q, 3p, 3q, 19p, 20p, 20q и в плечах акроцентрических хромосом 13q, 15p, 21q, 22q.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате сброса ЖРО в реку Течу более 100 тыс. жителей прибрежных сел оказались под воздействием хронического сочетанного облучения.

Поскольку в настоящее время регистрируют естественную убыль когорты облученных лиц и в то же время накоплена довольно большая база цитогенетических данных, было важно оценить, повлияло ли хроническое облучение на процессы старения на клеточном уровне. Для этой цели были выбраны разные цитогенетические методы, так как все они отражают состояние хромосомной ДНК в Т-клетках периферической крови. Для поставленной нами

Таблица 6. Влияние радиационного фактора, возраста и пола на частоту лимфоцитов с микроядрами

Фактор	Параметры модели
Скорректированная модель	$F = 9,5$ $p = 0,0001$
Возраст	$F = 3,75$ $p = 0,053$
Доза ККМ	$F = 0,3$ $p = 0,599$
Пол	$F = 22,24$ $p = 0,0001$

Таблица 7. Частота микроядер с центромерными сигналами X-хромосомы, %

Номер донора	Клетки	Количество МЯ	Сеп X+, %	Один сигнал, %	Два сигнала, %	Три сигнала, %	Четыре сигнала, %	Сеп X-, %
1	2683	134	59	25,3	68,3	5,1	1,3	41
2	2234	70	40	28,6	71,4	–	–	60
3	1941	27	22,2	66,7	33,3	–	–	77,8
4	633	22	54,5	50	41,7	–	8,3	45,5
5	3191	55	49	37	55,6	7,4	–	51
6	1000	35	22,9	12,5	87,5	–	–	77,1
Итого «Облученные лица»		343	46,6	30,6	64,3	3,75	1,25	53,4
7	1667	46	32,6	73,4	13,3	–	13,3	67,4
8	3000	127	30,7	66,7	30,7	–	2,6	69,3
Итого «Группа сравнения»		173	31,2	68,5	26	–	5,5	68,8

цели важно было именно охарактеризовать состояние хроматина на разном уровне организации его структуры и поведения в клеточном цикле.

Анализ представленных в табл. 1 данных показывает, что НХА — события, достаточно редко встречающиеся в стимулированных Т-клетках жителей Южного Урала. Так, в группе сравнения в трех возрастных периодах от 40 до 89 лет около 60% обследованных лиц не имели клеток с НХА (исключение — обмены в старшей возрастной группе). Важно также отметить, что, согласно протоколам цитогенетического анализа, в основном в группе сравнения обменные aberrации были представлены дицентрическими хромосомами без парных фрагментов, и это доказывало, что клетки претерпели первый митоз *in vivo*. Только у старших доноров наблюдали вклад кольцевых хромосом и ацентрических фрагментов. Подобная ситуация для дицентриков без парных фрагментов была и у облученных лиц. Известно, что нестабильные aberrации, которые образовались при облучении гемопоэтических стволовых

клеток в костном мозге, со временем элиминируются вместе с клетками, их содержащими. Однако частота НХА у пострадавших лиц превышает таковую в группе сравнения в отдаленные сроки после начала воздействия. Очевидно, что большинство aberrантных клеток, которые мы регистрируем в отдаленные сроки от начала воздействия, облучились в костном мозге (их предшественники), вышли в кровяное русло, прошли дифференцировку в тимусе и пребывали в состоянии покоя до момента стимуляции ФГА в условиях *in vitro*.

Микроядра могут быть образованы как вследствие повреждений, связанных с нерепарированными разрывами хромосомной ДНК, так и в ходе нарушения сегрегации хромосом, что обусловлено изменением метилирования цитозина в центромерных районах хромосом, нарушениями в строении кинетохорных белков и микротрубочек и некоторыми другими событиями [19]. В результате анализа зависимости частоты клеток с МЯ от возраста у необлученных жителей Южного Урала было

Таблица 8. Длина теломерных районов (%T/C) в метацентрических и акроцентрических хромосомах в зависимости от пола (Медиана, 25% и 75%)

№ хромосомы	Плечо хромосомы	Мужчины, n = 11			Женщины, n = 11		
		Медиана	Процентиль		Медиана	Процентиль	
			25%	75%		25%	75%
1	p	21,7	11,1	44,3	19,1	10,1	37,6
	q	23,1*	9,8	42	16	8,8	33,6
3	p	21,4*	10,3	46,2	16,8	9,7	30,8
	q	16,4	8,2	40,8	14,8	7,6	29,4
19	p	13,7	7,7	34,1	12,7	6,6	24,7
	q	12,8	6,7	33,2	11,3	6,4	26
20	p	18,3	8,8	33	16,3	9,5	29,2
	q	15,4*	8,5	32,9	11,9	5,9	20,1
13	p	19	9,5	43,4	18,7	10,9	33,3
	q	19,3*	8,5	40,8	14	7,7	29,1
14	p	16,1	8,9	37,6	16,1	9,3	32,6
	q	17,6	8,5	35,3	14,5	7,1	30
15	p	15,3	8,3	32,3	18,1	9,1	35,1
	q	15,5*	6,9	31	11,9	6,4	23,4
21	p	15,1	7,6	39	16,7	8,5	36,1
	q	12,5*	6,5	32,2	11	5,1	27,1
22	p	16,7	8,4	41	15	7,8	32
	q	13,3	6	32,4	12,3	5,9	26

Примечание: * — статистически значимое отличие показателей по полу, $p < 0,05$.

Таблица 9. Медиана теломерных районов (%T/C) в метацентрических и акроцентрических хромосомах у женщин, в группе сравнения и подвергшихся облучению (Медиана, 25% и 75%)

№ хромосомы	Плечо хромосомы	Группа сравнения, $n = 20$			Облученные лица, $n = 22$		
		Медиана	Процентиль		Медиана	Процентиль	
			25%	75%		25%	75%
1	p	17,3	7,2	36,6	16	7	35,7
	q	14,6**	6,3	31,2	13,3	5,9	28,8
3	p	16,0*	6,7	31,3	14	6	30,3
	q	12,7**	5,5	26,8	12,2	5,2	24,5
19	p	11,7**	4,7	24	10,5	4,4	22
	q	10,8	5	24,5	9,4	4,5	21,2
20	p	14,4*	7,6	27,6	13,6	7,6	25,8
	q	10,0*	4,7	22,7	9,9	4,5	19,9
13	p	16,7	7,9	32,5	16,6	8	31,1
	q	13,4*	5,5	30,2	12,5	5,2	27,6
14	p	17,1	8,7	32,1	15,5	8,3	30
	q	13,3	5,4	29,4	12	4,8	26,6
15	p	16,6*	7,6	31	15,7	7,5	28,9
	q	11,3	4,8	24	10,4	4,2	21
21	p	16	7,1	32,8	15,2	7	30,1
	q	10,1**	4,5	22,9	9,2	4	30,1
22	p	15	6,9	4,7	13,5	6,1	27,1
	q	10,6*	4,7	24,9	10,1	4,5	21,3

выявлено монотонное увеличение показателей у женщин и у мужчин до 69 лет [20]. После 70 лет данный показатель остается на этом же уровне или немного снижается. Подобные результаты, касающиеся частоты клеток с МЯ в возрастной группе от 60 до 69 лет, были получены и другими исследователями, которые показали, что частота МЯ достигает максимума в возрасте 50–69 лет, а затем выходит на плато [21–23].

В данной работе возраст обследованных нами облученных лиц, соответствующий достижению плато частоты МЯ, составил 50–89 лет. Поэтому, так же, как и у необлученных лиц, частота лимфоцитов с МЯ не ассоциируется с увеличением возраста в этом возрастном промежутке.

При исследовании влияния пола на частоту лимфоцитов с МЯ было показано, что у облученных женщин она статистически значимо выше, чем у мужчин, $p = 0,001$. Анализ сравнения частоты лимфоцитов с МЯ между мужчинами и женщинами в разных возрастных группах показал, что статистические отличия имеются в группе облученных лиц в возрасте 60–69 и 70–79 лет. Таким образом, мы наблюдаем, что различия в частоте МЯ у мужчин и женщин в группе облученных лиц более выражены, чем в группе необлученных. Как показывают исследования, различия в соотношении частоты МЯ между мужчинами и женщинами становятся наиболее выраженными у людей в возрасте 40 лет и старше [21]. Однако основные механизмы, приводящие к этому возрастному увеличению, не вполне ясны. В литературе имеются данные о том, что с возрастом у человека наиболее часто элиминируются в микроядра половые хромосомы. В нашей работе было отмечено, что частота микроядер с X-хромосомой довольно высокая — от 22 до 59% от общего числа микроядер. Кроме того, имеются микроядра как с одной центромерой X-хромосомы, так и с несколькими, что говорит о нерасхождении X-хромосом в анафазе митоза. Возможно, в нашем случае играет

определенную роль радиационный фактор, даже при отсутствии линейной зависимости частоты МЯ от дозы ККМ.

В одной работе исследовали хромосомный состав микроядер у облученных женщин методом mFISH [24]. Исследование также показало, что в составе микроядер часто встречается X-хромосома. В группе облученных женщин микроядра также в среднем состоят из большего количества хромосом, чем в группе сравнения. У облученных женщин на одно микроядро приходится в два раза выше хромосомных сигналов, чем в контроле ($p = 0,001$). При этом средняя частота микроядер на 1000 просчитанных двуядерных лимфоцитов у женщин двух групп не отличается. Эти результаты могут косвенно указывать на повышенную частоту хромосомных повреждений и их элиминацию из ядерного генома в микроядра. Механизмы образования микроядер были схожи в группе облученных женщин и в группе сравнения, но, тем не менее, у облученных женщин имеются особенности в образовании моно- и многоцветных микроядер. Таким образом, мы можем предполагать, что имеют место механизмы нарушения сегрегации половых хромосом и хромосом с абберациями.

В соответствии с полученными данными, относительная длина теломер у каждого донора варьирует в широком диапазоне. Теломеры по длине отличаются как в пределах одной клетки, так и в пределах одной хромосомной пары. Это соответствует результатам предыдущих исследований [16, 25] и литературным данным [26–28]. Наши результаты показали, что длина теломерного района не зависит от размера хромосомы или плеча, на котором она расположена [16]. В ходе исследования мы выявили зависимость длины теломерных участков хромосом от пола: у мужчин длина теломер в исследованных группах хромосом была достоверно выше, чем у женщин.

В данной работе при исследовании теломерных сигналов в метацентрических и акроцентрических хромосомах женщин, подвергшихся облучению, отметили достоверное

снижение показателя по сравнению с группой сравнения, значимые различия наблюдали для хромосомных плеч 1q, 3p, 3q, 20p, 20q, 13q, 15p, 22q ($p < 0,05$); 19p, 21q ($p < 0,01$). Эти результаты согласуются с литературными данными, в которых показано, что облучение в низких дозах вызывает укорочение теломер и эти изменения сохраняются даже через 20–70 лет после облучения [29, 30]. Интересно, что влияние ионизирующего излучения на длину теломер имеет двоякий эффект: в некоторых исследованиях показывают увеличение у облученных людей длины теломер, что связывают с повышенной экспрессией теломеразы (авторы связывают это с повышенным риском развития злокачественных новообразований), а если теломеры короткие, то с репликативным старением клеток [31, 32]. Кроме того, наши результаты могут свидетельствовать о том, что ионизирующее излучение в период максимального воздействия вызвало гибель иммунных клеток, что привело к компенсаторной пролиферации клеточных дифференциалов в органах гемопоэза и, соответственно, к укорочению теломер.

Анализ полученных данных позволяет нам сделать вывод о том, что хроническое радиационное воздействие, имевшее место на Южном Урале, влияет на клеточное старение Т-клеток опосредованно как один из многих факторов. Возможно, что на результаты повлияли критерии отбора доноров для цитогенетического исследования, которые могут способствовать выбору наиболее радиоустойчивых доноров в группу облученных лиц. Так, согласно критериям отбора, в исследование включают лица без онкологических, аутоиммунных заболеваний, без сахарного диабета в анамнезе. Учитывая, что вышеперечисленные заболевания чаще начинают манифестироваться в старшем и пожилом возрасте, вполне возможно, что среди облученных людей радиочувствительные лица имели больше шансов

реализовать эффекты от воздействия облучения и, следовательно, при формировании групп доноров они попали под критерии исключения [20, 33].

ВЫВОДЫ

На основании проведенного цитогенетического исследования можно констатировать, что хроническое радиационное воздействие, имевшее место на Южном Урале, влияет на клеточное старение Т-лимфоцитов периферической крови опосредованно как один из факторов.

Частота нестабильных хромосомных aberrаций у облученных лиц была статистически выше в группе «40–59 лет» ($p = 0,012$). Была выявлена слабая линейная корреляционная зависимость исследуемых показателей от дозы облучения костного мозга в объединенной группе облученных лиц ($R = 0,125$, $p = 0,005$).

Частота лимфоцитов с микроядрами у облученных лиц соответствовала группе сравнения. У облученных лиц отметили различия в частоте лимфоцитов с микроядрами у мужчин и женщин ($p = 0,001$). В составе микроядер облученных женщин от 22 до 59% была обнаружена X-хромосома. Зависимости частоты лимфоцитов с микроядрами от дозы облучения костного мозга обнаружено не было.

Выявили статистически значимое снижение показателей длины теломер у облученных лиц (для хромосомных плеч 1q, 3p, 3q, 20p, 20q, 13q, 15p, 22q ($p < 0,05$); 19p, 21q ($p < 0,01$)). В исследуемых группах у мужчин показатель относительной длины теломерных районов был достоверно выше, чем у женщин (для хромосомных плеч 1q, 3p, 20q, 13q, 15q, 21q).

Нельзя исключить, что критерии выбора возрастных доноров в отдаленные сроки от начала облучения для цитогенетического исследования способствуют включению в группу наиболее радиорезистентных облученных лиц, что может приводить к «парадоксальным» результатам.

Литература

1. Аксеев А. В., редактор. Последствия радиоактивного загрязнения реки Теча. Челябинск: Книга, 2016; 400 с.
2. Aunan J, Watson MM, Hagland HR, et al. Molecular and biological hallmarks of ageing. *British Journal of Surgery*. 2016; 103 (2): 29–46.
3. Richardson R. Ionizing radiation and aging: rejuvenating an old idea. *Aging*. 2009; 1 (11): 887–902.
4. Little MP, Brenner AV, Grant E J, et al. Age effects on radiation response: summary of a recent symposium and future perspectives. *International Journal of Radiation Biology*. 2022; 2: 1–11.
5. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013; 153 (6): 1194–217.
6. Bauchinger M. Quantification of low-level radiation exposure by conventional chromosome aberration analysis. *Mutation Research*. 1995; 339: 177–89.
7. Любимова Н. Е., Воробцова И. Е. Влияние возраста и низкодозового облучения на частоту хромосомных aberrаций в лимфоцитах человека. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2007; 47 (1): 80–5.
8. Севаньяев А. В., Хвостунов И. К., Снигирёва Г. П. и др. Сравнительный анализ результатов цитогенетических обследований контрольных групп лиц в различных отечественных лабораториях. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2013; 53 (1): 5–24.
9. Sigurdson A, Hauptmann M, Bhatti P, et al. International study of factors affecting human chromosome translocations. *Mutation Research*. 2008; 652 (2): 112–21.
10. Fenech M, Bonassi S. The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes. *Mutagenesis*. 2011; 26 (1): 43–9.
11. Оловников А. М. Старение есть результат укорочения «дифферотены» в теломере из-за концевой недорепликации и недорепарации ДНК. *Известия АН СССР, Сер. биол.* 1992; 4: 641–3.
12. Aubert G, Lansdorp PM. Telomeres and aging. *Physiological Reviews*. 2008; 88 (2): 557–79.
13. Degteva MO, Napier BA, Tolstykh EI, et al. Enhancements in the Techa River Dosimetry System: TRDS-2016 D code for reconstruction of deterministic estimates of dose from environmental exposures. *Health Physics*. 2019; 117 (4): 378–87.
14. IAEA. Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna, Austria: IAEA, 2011; p. 229.
15. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat Protoc*. 2007; 2 (5): 1084–104.
16. Кривошапова Я. В., Возилова А. В. Исследование длины теломерных районов хромосом в Т-лимфоцитах облученных лиц. *Вопросы радиационной безопасности*. 2022; 3 (107): 71–9.
17. King RC, Stansfield WD, Mulligan PK. A Dictionary of genetics. 7th ed. Oxford University Press, 2006; p. 608.
18. Пилинская М. А. Цитогенетические эффекты в соматических клетках лиц, пострадавших вследствие Чернобыльской

- катастрофы, как биомаркер действия ионизирующих излучений в малых дозах. *Международный журнал радиационной медицины*. 1999; 2: 60–6.
19. Fenech M, Kirsch-Volders M, Natarajan A, et al. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*. 2011; 26 (1): 125–32.
 20. Ахмадуллина Ю. Р. Изучение возрастной зависимости спонтанной частоты лимфоцитов с микроядрами у жителей Южного Урала. *Социально-экологические технологии*. 2021; 11 (2): 230–45.
 21. Fenech M, Neville S, Rinaldi J. Sex is an important variable affecting spontaneous micronucleus frequency in cytokinesis-blocked lymphocytes. *Mutation Research*. 1994; 313: 203–7.
 22. Bolognesi C, Abbondandolo A, Barale R, et al. Age-related increase of baseline frequencies of sister chromatid exchanges, chromosome aberrations, and micronuclei in human lymphocytes. *Cancer Epidemiology*. 1997; 6 (4): 249–56.
 23. Jones KH, York TP, Juusola J, et al. Genetic and environmental influences on spontaneous micronuclei frequencies in children and adults: a twin study. *Mutagenesis*. 2011; 26 (6): 745–52.
 24. Ахмадуллина Ю. Р. Состав микроядер в Т-лимфоцитах у женщин, подвергшихся хроническому радиационному воздействию. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2022; 62 (6): 591–601.
 25. 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.
 26. Ning Y, Xu JF, Li Y, et al. Telomere length and the expression of natural telomeric genes in human fibroblasts. *Human Molecular Genetics*. 2003; 12 (11): 1329–36.
 27. Ferrucci L, Gonzalez-Freire M, Fabbri E, et al. Measuring biological aging in humans: A quest. *Aging Cell*. 2020; 19 (2): e13080.
 28. Shaffer LG, Tommerup N, editors. *An International System for Human Cytogenetic Nomenclature* (2005) («ISCN 2005»). Recommendations of the International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: S. Karger, 2005; p. 132.
 29. Ilyenko I, Lyaskivska O, Bazyka D. Analysis of relative telomere length and apoptosis in humans exposed to ionising radiation. *Exp Oncol*. 2011; 33 (4): 235–8.
 30. Lustig A, Shterev I, Geyer S, 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.
 31. Reste J, Zvigule G, Zvagule T, 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. DOI: 10.1093/jrr/rru060.
 32. Berardinelli F, Nierab D, et al. Telomere loss, not average telomere length, confers radiosensitivity to TK6-irradiated cells. *Mutation Research*. 2012; 740: 13–20.
 33. Возилова А. В. Оценка влияния хронического облучения на преждевременное старение Т-лимфоцитов человека на основе нестабильных хромосомных aberrаций. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2023; 2: 85–90.
 1. Akleev AV, editor. *Posledstviya radioaktivnogo zagryazneniya reki Techa*. Chelyabinsk: Kniga, 2016; p. 400. Russian.
 2. Aunan J, Watson MM, Hagland HR, et al. Molecular and biological hallmarks of ageing. *British Journal of Surgery*. 2016; 103 (2): 29–46.
 3. Richardson R. Ionizing radiation and aging: rejuvenating an old idea. *Aging*. 2009; 1 (11): 887–902.
 4. Little MP, Brenner AV, Grant E J, et al. Age effects on radiation response: summary of a recent symposium and future perspectives. *International Journal of Radiation Biology*. 2022; 2: 1–11.
 5. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013; 153 (6): 1194–217.
 6. Bauchinger M. Quantification of low-level radiation exposure by conventional chromosome aberration analysis. *Mutation Research*. 1995; 339: 177–89.
 7. Lyubimova NE, Vorobtsova IE. The Effect of Age and Low-Dose Irradiation on the Chromosomal Aberration Frequency in Human Lymphocytes. *Radiation Biology. Radioecology*. 2007; 47 (1): 80–5. Russian.
 8. Sevankaev AV, Khvostunov IK, Snigiryova GP, et al. Comparative Analysis of Cytogenetic Examination of Control Groups of Subjects Carried out in Different Russian Laboratories. *Radiation Biology. Radioecology*. 2013; 53 (1): 5–24. Russian.
 9. Sigurdson A, Hauptmann M, Bhatti P, et al. International study of factors affecting human chromosome translocations. *Mutation Research*. 2008; 652 (2): 112–21.
 10. Fenech M, Bonassi S. The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes. *Mutagenesis*. 2011; 26 (1): 43–9.
 11. Olovnikov AM. Starenie est' rezul'tat ukorocheniya «differoteny» v telomere iz-za kontsevoy nedoreplikatsii i nedoreparatsii DNK. *Izvestiya AN SSSR, Ser. biol*. 1992; 4: 641–3. Russian.
 12. Aubert G, Lansdorp PM. Telomeres and aging. *Physiological Reviews*. 2008; 88 (2): 557–79.
 13. Degteva MO, Napier BA, Tolstykh EI, et al. Enhancements in the Tcha River Dosimetry System: TRDS-2016 D code for reconstruction of deterministic estimates of dose from environmental exposures. *Health Physics*. 2019; 117 (4): 378–87.
 14. IAEA. Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna, Austria: IAEA, 2011; p. 229.
 15. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat Protoc*. 2007; 2 (5): 1084–104.
 16. Krivoshchapova 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): 71–9. Russian.
 17. King RC, Stansfield WD, Mulligan PK. *A Dictionary of genetics*. 7th ed. Oxford University Press, 2006; p. 608.
 18. Pilinskaya MA. Tsitogeneticheskie efekty v somaticheskikh kletkakh lits, postradavshikh vsledstvie Chernobyl'skoy katastrofy, kak biomarker deystviya ioniziruyushchikh izlucheni v mal'kh dozakh. *Mezhdunarodnyy zhurnal radiatsionnoy meditsiny*. 1999; 2: 60–6. Russian.
 19. Fenech M, Kirsch-Volders M, Natarajan A, et al. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*. 2011; 26 (1): 125–32.
 20. Akhmadullina YuR. Study of the age dependence of the spontaneous frequency of lymphocytes with micronuclei in residents of the South Urals. *Environment and Human: Ecological Studies*. 2021; 11 (2): 230–45. Russian.
 21. Fenech M, Neville S, Rinaldi J. Sex is an important variable affecting spontaneous micronucleus frequency in cytokinesis-blocked lymphocytes. *Mutation Research*. 1994; 313: 203–7.
 22. Bolognesi C, Abbondandolo A, Barale R, et al. Age-related increase of baseline frequencies of sister chromatid exchanges, chromosome aberrations, and micronuclei in human lymphocytes. *Cancer Epidemiology*. 1997; 6 (4): 249–56.
 23. Jones KH, York TP, Juusola J, et al. Genetic and environmental influences on spontaneous micronuclei frequencies in children and adults: a twin study. *Mutagenesis*. 2011; 26 (6): 745–52.
 24. Akhmadullina YuR. Sostav mikroyader v T-limfotsitakh u zhenshchin, podvergnutyykh khronicheskomu radiatsionnomu vozdeystviyu. *Radiation Biology. Radioecology*. 2022; 62 (6): 591–601. Russian.
 25. Vozilova AV, Krivoshchapova YaV. Investigation of the Frequency of Inversions and Complex Translocations in T-Lymphocytes in Irradiated Residents of the South Urals. *Radiation Biology. Radioecology*. 2022; 62 (4): 408–15. Russian.
 26. Ning Y, Xu JF, Li Y, et al. Telomere length and the expression of

- natural telomeric genes in human fibroblasts. *Human Molecular Genetics*. 2003; 12 (11): 1329–36.
27. Ferrucci L, Gonzalez-Freire M, Fabbri E, et al. Measuring biological aging in humans: A quest. *Aging Cell*. 2020; 19 (2): e13080.
 28. Shaffer LG, Tommerup N, editors. *An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2005) («ISCN 2005»)*. Recommendations of the International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: S. Karger, 2005; p. 132.
 29. Ilyenko I, Lyaskivska O, Bazyka D. Analysis of relative telomere length and apoptosis in humans exposed to ionising radiation. *Exp Oncol*. 2011; 33 (4): 235–8.
 30. Lustig A, Shterev I, Geyer S, 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.
 31. Reste J, Zvigule G, Zvagule T, 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. DOI: 10.1093/jrr/rru060.
 32. Berardinelli F, Neriab D, et al. Telomere loss, not average telomere length, confers radiosensitivity to TK6-irradiated cells. *Mutation Research*. 2012; 740: 13–20.
 33. 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: 85–90. Russian.