

ИССЛЕДОВАНИЕ ЧАСТОТЫ ИНВЕРСИЙ И КОМПЛЕКСНЫХ ТРАНСЛОКАЦИЙ В Т-ЛИМФОЦИТАХ У ОБЛУЧЕННЫХ ЖИТЕЛЕЙ ЮЖНОГО УРАЛА

© 2022 г. А. В. Возилова^{1,*}, Я. В. Кривошапова¹

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

*E-mail: vozilova@urcrm.ru

Поступила в редакцию 22.11.2021 г.

После доработки 25.04.2022 г.

Принята к публикации 27.04.2022 г.

Хромосомные aberrации являются примером мутационного процесса, который происходит на хромосомном уровне упаковки ДНК. Распространенность инверсий и комплексных транслокаций была мало изучена из-за сложности их выявления общепринятым методом дифференциальной окраски. Известно, что ионизирующее излучение – это один из факторов, повышающих частоту хромосомных перестроек. Цель пилотного исследования состояла в изучении частоты инверсий с вовлечением теломерных районов хромосом и комплексных транслокаций в Т-клетках у 25 жителей Южного Урала, подвергшихся хроническому облучению. Инверсии изучали методом Q-FISH у 12 облученных лиц (дозы облучения от 0.001 Гр до 2.9 Гр), из них один мужчина. Комплексные транслокации оценивали с применением метода M-FISH у 13 человек (0.5–3.1 Гр), из них четверо мужчин. Обследованные разными методами не пересекались. В результате выявили, что комплексные транслокации встречались в 6 раз реже, чем простые транслокации ($p < 0.001$). Среди инверсий были распространены преимущественно хроматидные варианты по сравнению с хромосомными (9:0.17 на 100 клеток, $p < 0.001$). Не отметили зависимости исследованных показателей от дозы облучения красного костного мозга.

Ключевые слова: хромосомные aberrации, комплексные транслокации, инверсии, теломеры, ионизирующее излучение, флуоресцентная *in situ* гибридизация, FISH, река Теча

DOI: 10.31857/S0869803122040105

Начало XXI века в науке ассоциируется с активным изучением генома живых организмов, и человека в частности. Развитие молекулярных технологий позволило секвенировать геномы больших групп организмов, что открыло новую эру в биологии. Вдохновившись большим количеством получаемой информации, ученые поставили амбициозные задачи – максимально продлить жизнь человека за счет изучения механизмов и преодоления основных заболеваний, приводящих к смерти (сердечно-сосудистая патология, онкология, деменция и др.) [1]. Известно, что в основе вышеперечисленных заболеваний лежит увеличение скорости мутаций в ДНК хромосом [2].

Некоторые перестройки хромосом – хромосомные aberrации (ХА) не влияют на жизнедеятельность клеток, какие-то способны приводить к летальному исходу или давать начало малигнизированному клону клеток. На скорость или частоту образования ХА влияют разные факторы – возраст, пол, вредные привычки и др. К факто-

рам, ускоряющим образование хромосомных перестроек, относится ионизирующее излучение (ИИ), способное вызывать двойные разрывы ДНК [3].

Изучение структуры ХА, их распространенности в разных популяциях человека началось с конца 1950-х годов прошлого века. С тех пор были выявлены ассоциации структурных и числовых аномалий хромосом с различными заболеваниями у человека, накоплены данные о сложной динамике хромосомных повреждений, которая наблюдается в условиях опухолевой прогрессии [4].

Большинство aberrаций в хромосомах образуются по механизму “разрыв–слияние” ДНК нескольких хромосом или одной хромосомы, что приводит зачастую к дисбалансу генетического материала [5]. Подобные изменения могут способствовать развитию таких заболеваний у человека, как онкопатология и другие. Тем более, что наблюдения за когортами профессионалов, контактирующих на производстве с ионизирующей ра-

диацией, рентгенлаборантов, облученного населения и т.д., регистрируют увеличение рисков развития злокачественных новообразований [6].

Комплексное изучение хроматина, его сложных перестроек стало возможно с применением высокотехнологичного молекулярно-генетического метода — флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH). В частности, 24-цветное окрашивание хромосом, применение локуспецифичных зондов (например, теломерных) позволяют выявлять такие аберрации хромосом, которые оценить другими методами было затруднительно [7–9].

Челябинская область — территория, на которой расположены объекты, связанные с атомным производством, где более 60 лет назад произошло несколько радиационных инцидентов. В результате аварийному облучению в широком диапазоне мощностей доз подверглось население численностью более 100 тыс. человек. Длительные наблюдения за облученными на Южном Урале людьми, проводимые специалистами ФГБУН УНПЦ радиационной медицины, выявили повышенные риски по заболеваемости лейкозами и солидными опухолями. В разные периоды наблюдений были отмечены изменения в состоянии гемопоэза, иммунитета и др. систем организма [10].

В УНПЦ РМ цитогенетические исследования ФГА-стимулированных Т-клеток периферической крови у жителей прибрежных сел р. Теча начались в 1970-х годах прошлого века. В результате оценили частоту хромосомных нестабильных (дицентрических и кольцевых хромосом) и стабильных аберраций (реципрокных и нереципрокных транслокаций), частоту клеток с микроядрами, оценили динамику клеток с нестабильными хромосомными аберрациями в течение нескольких десятилетий [11–13]. В радиобиологических исследованиях была отмечена зависимость частоты простых транслокаций от дозы облучения красного костного мозга (ККМ) в отдаленные (более 50 лет) сроки после начала облучения, что послужило основой для верификации доз внешнего облучения населения [14]. Однако до недавнего времени не было информации о том, с какой частотой встречаются клетки с комплексными хромосомными перестройками и совсем не исследовались хромосомные инверсии. По данным литературы, именно эти аберрации хромосом играют существенную роль в онкопрогрессии клетки, которая дает начало опухолевому процессу в организме человека [15, 16].

Таким образом, цель проведенного пилотного исследования состояла в изучении частоты инверсий с вовлечением теломерных районов хромосом и комплексных транслокаций в Т-лимфоцитах периферической крови у жителей Южного

Урала, подвергшихся хроническому радиационному воздействию.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Описание обследованных лиц

В исследование было включено 25 человек, которые подверглись хроническому облучению на Южном Урале, с дозами от внешнего и внутреннего облучения на ККМ от 0.001 до 3.1 Гр, до 1960 г. рождения включительно. В соответствии с действующими международными нормами (Хельсинкская декларация 1964 г.) и с разрешения этического комитета УНПЦ РМ у всех доноров, участвующих в цитогенетических исследованиях, было получено информированное согласие на забор образцов крови и на дальнейшие исследования.

Препараты хромосом от 13 человек были исследованы методом M-FISH на предмет выявления комплексных транслокаций, а препараты от 12 человек исследовали с целью оценки частоты инверсий методом Q-FISH. Люди, обследованные разными методами, не пересекались. Индивидуальные характеристики обследованных лиц представлены в табл. 1 и 2.

Информация о выборке, состоянии здоровья облученных лиц была предоставлена отделом “База данных” “Человек” ФГБУН УНПЦ РМ. Данные об отсутствии онкопатологии в анамнезе обследуемых лиц были предоставлены эпидемиологической лабораторией Центра. Дозы облучения на ККМ были рассчитаны по дозиметрической системе TRDS-2016 в биофизической лаборатории УНПЦ РМ [17].

Получение препаратов метафазных хромосом Т-лимфоцитов периферической крови

Препараты метафазных хромосом получили в соответствии с протоколом, принятым в лаборатории, который включает четыре последовательных этапа: культивирование клеток до стадии метафазы, гипотоническую обработку метафазных клеток, фиксацию метафазных пластинок и приготовление препаратов хромосом [11]. После раскапывания клеточной суспензии стекла сушили при комнатной температуре, затем хранили до флуоресцентного окрашивания в морозильной камере при температуре -20°C [12].

Методика 24-цветного флуоресцентного окрашивания метафазных хромосом (M-FISH)

Комплексные транслокации, включающие три и более хромосом, оценивали методом 24-цветного окрашивания (M-FISH) с использованием мультицветных зондов производства компании MetaSystems (Германия). В процессе флуорес-

Таблица 1. Частота транслокаций, оцененная методом M-FISH, в Т-лимфоцитах у жителей Южного Урала, подвергшихся хроническому облучению**Table 1.** Frequency of translocations evaluated using M-FISH in T-lymphocytes of the chronically exposed residents of the Southern Urals

| № Донора | Пол | Возраст | Доза на ККМ, Гр | Клетки, число | Простые транслокации на 100 клеток | Комплексные транслокации на 100 клеток |
|-------------|-----|---------|-----------------|---------------|------------------------------------------|----------------------------------------------|
| 1 | м | 70 | 0.5 | 100 | 1.00 | 0 |
| 2 | ж | 68 | 0.7 | 94 | 1.06 | 2.13 |
| 3 | ж | 66 | 0.8 | 127 | 1.57 | 0 |
| 4 | ж | 83 | 0.9 | 92 | 5.43 | 1.09 |
| 5 | ж | 73 | 1.0 | 69 | 2.90 | 0 |
| 6 | ж | 75 | 1.3 | 100 | 4.00 | 0 |
| 7 | м | 67 | 1.3 | 52 | 3.85 | 0 |
| 8 | ж | 74 | 1.4 | 100 | 6.00 | 0 |
| 9 | м | 70 | 1.8 | 59 | 1.69 | 1.69 |
| 10 | ж | 73 | 1.9 | 99 | 7.07 | 1.01 |
| 11 | ж | 57 | 2.1 | 104 | 5.77 | 0 |
| 12 | ж | 78 | 2.9 | 100 | 12.00 | 1.00 |
| 13 | м | 74 | 3.1 | 100 | 3.00 | 1.00 |

Таблица 2. Частота инверсий с вовлечением теломерных районов (метод Q-FISH) в Т-клетках у жителей Южного Урала, подвергшихся хроническому облучению**Table 2.** Frequency of inversions involving telomere regions (Q-FISH method) in T-cells of the chronically exposed residents of the Southern Urals

| № донора | Пол | Возраст | Доза на ККМ, Гр | Клетки, число | Инверсии хрмтдн на 100 клеток | Инверсии хрмсм на 100 клеток | Инверсии сумма на 100 клеток |
|-------------|-----|---------|--------------------|------------------|-------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 1 | ж | 63 | 0.001 | 100 | 9.0 | 1.0 | 10.0 |
| 2 | ж | 70 | 0.008 | 100 | 6.0 | 0 | 6.0 |
| 3 | ж | 75 | 0.003 | 100 | 5.0 | 0 | 5.0 |
| 4 | ж | 62 | 0.01 | 100 | 3.0 | 0 | 3.0 |
| 5 | ж | 74 | 0.40 | 100 | 9.0 | 0 | 9.0 |
| 6 | ж | 69 | 0.47 | 100 | 4.0 | 0 | 4.0 |
| 7 | ж | 69 | 0.48 | 100 | 26.0 | 0 | 26.0 |
| 8 | ж | 75 | 0.80 | 100 | 8.0 | 0 | 8.0 |
| 9 | м | 71 | 1.10 | 100 | 10.0 | 0 | 10.0 |
| 10 | ж | 74 | 1.41 | 100 | 7.0 | 0 | 7.0 |
| 11 | ж | 70 | 1.70 | 100 | 6.0 | 0 | 6.0 |
| 12 | ж | 71 | 2.90 | 100 | 15.0 | 1.0 | 16.0 |

Примечание. хрмтд – хроматидные инверсии; хрмсм – хромосомные инверсии.

центного окрашивания следовали протоколу, предложенному в работе [18]. Для формирования архива окрашенных изображений использовали автоматический поиск метафаз и оцифровку, которую выполняли на Метафере (Германия). Анализ хромосом осуществляли на микроскопе Axio Imager Z2 с применением программного обеспе-

чения Isis (MetaSystems, Германия), которое оснащено специальными модулями для анализа окрашенных хромосом, позволяющее присвоить псевдоцвета каждой паре и отдельно половым хромосомам. Было обследовано 13 человек, из них четверо мужчин, в возрастном диапазоне от 57 до 83 лет, диапазон доз на ККМ составил от 0.5

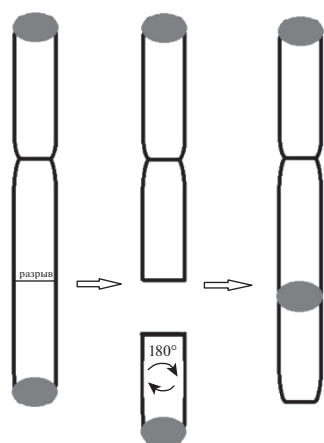


Рис. 1. Механизм образования инверсий с захватом теломерного участка хромосом (теломерный участок обозначен серым цветом).

Fig. 1. Mechanism of inversion development with the involvement of the telomere region of the chromosomes (Q-FISH). Telomere region is highlighted in grey.

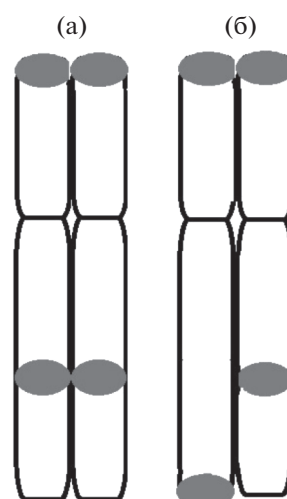


Рис. 2. Хромосомная (а) и хроматидная (б) инверсия (теломерный участок обозначен серым цветом).

Fig. 2. Chromosome (a) and chromatid (b) inversion (Q-FISH). Telomere region is highlighted in grey.

до 3.1 Гр. Кариотипировали от 52 до 127 клеток на каждого обследуемого [19]. Всего было проанализировано 1196 клеток.

Методика флуоресцентной окраски теломер (Q-FISH) и критерии оценки инверсий с участием теломерных участков хромосом

Инверсии хромосом с вовлечением теломерных районов были оценены с применением теломерных зондов Telomere FISH Kit/Cy3 (ДАКО, Дания). Используемая при изготовлении зонда Cy3-конъюгированная пептидная нуклеиновая кислота (ПНК) представляет собой синтетический аналог ДНК, способный связываться с ДНК хромосом по правилам спаривания оснований. В ПНК сахарофосфатный остов заменен нейтральным пептидно-полиамидным остовом, при этом расстояние между основаниями остается точно таким же, как в ДНК. Зонд этого комплекта не распознает субтеломерные последовательности хроматина и, следовательно, позволяет окрасить только теломерные районы хромосом [20]. Подробный протокол Q-FISH окрашивания хромосомных препаратов представлен в работе [21].

Анализ флуоресцентно окрашенных препаратов проводили на микроскопе Axio Imager Z2 (Zeiss, Германия) с фильтрами DAPI и SpO (Spectrum Orange) с использованием программы Isis.

Методом окрашивания теломерных районов хромосом было обследовано 12 человек (один мужчина), в возрасте от 62 до 75 лет, в диапазоне доз на ККМ от 0.001 до 2.9 Гр. Для исследования выбирали метафазы, содержащие 45–46 хромосом без наложений и артефактов, с хорошим раз-

бросом. Изображения оцифровывали, очищали фон. Считали по 100 клеток на одного донора, в ходе исследования всего проанализировали 1200 клеток [22].

В ходе анализа оценивали инверсии хромосом, которые образовались с захватом теломерного участка. Поскольку исследование выполнялось нами впервые, подробно остановимся на критериях выявления инверсий, с применением теломерных зондов. Как известно, инверсии хромосом – стабильные хромосомные aberrации, вызванные поворотом на 180° одного из ее внутренних участков [23]. Если инверсия происходит с захватом теломерного участка, то флуоресцентный сигнал от теломерного зонда смещается по плечу в сторону центромеры, т.е. он становится виден в самом плече хромосомы, а теломерный сигнал на конце хромосомы отсутствует (рис. 1). Aberrации в ходе анализа разделяли на два вида – хроматидные и хромосомные. Хроматидные инверсии определялись, если теломерный сигнал обнаруживался в одной из сестринских хроматид, а вторая выглядела без изменений. В случае обнаружения смещенных теломерных сигналов в двух сестринских хроматидах на одном уровне инверсия считалась хромосомной (рис. 2). Можно соответственно предположить, что хроматидная инверсия образуется в одной из сестринских хроматид после синтетической стадии деления клетки, а хромосомная инверсия – это результат образования инверсии до синтетической стадии, а после – удвоения инвертированной хроматиды в синтетической стадии.

Таблица 3. Частота транслокаций ($M \pm SD$) в Т-лимфоцитах облученных лиц (по дозовым группам)
Table 3. Frequency of translocations ($M \pm SD$) in T-lymphocytes of the exposed individuals (by dose groups)

| Дозовые группы | Возраст, лет | Клетки, число | Простые транслокации на 100 клеток $M \pm SD$ | Комплексные транслокации на 100 клеток $M \pm SD$ |
|------------------------|---------------|---------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 0.5–1.0 Гр ($n = 5$) | 72 (66–83) | 482 | 2.39 ± 1.86 | 0.64 ± 0.95 |
| 1.3–3.1 Гр ($n = 8$) | 71 (57–78) | 714 | 5.42 ± 3.18 $p = 0.03$ $p1 < 0.001$ | 0.59 ± 0.67 |

Примечание. p – достоверное отличие простых транслокаций в дозовых подгруппах; $p1$ – достоверное отличие показателей простых и комплексных транслокаций в подгруппе; $M \pm SD$ – среднее значение \pm стандартное отклонение.

В результатах исследования представлен суммарный показатель частоты инверсий, рассчитанный на 100 клеток.

Статистический анализ

Анализ результатов проводили с использованием пакета программ STATISTICA 10. Для сравнения двух выборок использовали непараметрический тест Манна–Уитни. Для оценки зависимости транслокаций от дозы облучения на ККМ использовали модель простой парной линейной регрессии.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования частоты комплексных транслокаций в Т-лимфоцитах периферической крови облученных на Южном Урале лиц представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, у всех обследованных были обнаружены простые транслокации от 1 до 13 на 100 клеток. Только у шести человек из 13 отметили комплексные транслокации, причем у пяти человек было по одной комплексной транслокации, и один человек имел 2 клетки с комплексными перестройками. При сравнении полученных показателей в группе отметили, что простые транслокации встречались достоверно чаще в 6 раз, чем комплексные перестройки хромосом (медианы 3.85 и 0 соответственно, $p < 0.001$).

При анализе зависимости частоты транслокаций от дозы облучения ККМ таковая была отмечена для простых транслокаций (уравнения 1 и 2 соответственно, $p < 0.01$).

$$T_{\text{пр}} = 0.882 + 2.21D \quad (R = 0.6), \quad (1)$$

$$T_{\text{комп}} = 0.334 + 0.18D \quad (R = 0.2), \quad (2)$$

где D – доза облучения на ККМ, $T_{\text{пр}}$ – простые транслокации на 100 клеток, $T_{\text{комп}}$ – комплексные транслокации на 100 клеток.

В табл. 3 представлены результаты оценки частот разных типов транслокаций в двух дозовых подгруппах от 0.5 до 1 Гр и от 1.3 до 3.1 Гр.

Сравнение показателей позволяет отметить, что простые транслокации достоверно чаще встречались с увеличением дозы на ККМ ($p = 0.03$). Комплексные транслокации в разных дозовых подгруппах отмечались с одинаковой частотой, причем в первой дозовой подгруппе они встречались реже в 4 раза, а с увеличением дозы их частота была еще ниже (почти в 10 раз), чем частота простых транслокаций. Достоверное отличие между простыми и комплексными транслокациями было отмечено в дозовой подгруппе от 1.3 до 3.1 Гр ($p < 0.001$).

Результаты оценки частоты инверсий с вовлечением теломерных районов хромосом представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, у всех обследованных облученных лиц были обнаружены инверсии с вовлечением теломерных районов хромосом. Диапазон их встречаемости был довольно широким: от 3 до 26 на 100 проанализированных клеток. Обращает на себя внимание тот факт, что достоверно чаще встречались инверсии хроматидные. Хромосомные инверсии отметили только по одной у двух человек: с самой низкой дозой – 0.001 Гр и с максимальной дозой 2.9 Гр. Таким образом, соотношение средних показателей частот хроматидных и хромосомных инверсий составляет, соответственно, 9 : 0.17 на 100 клеток ($p < 0.001$).

Всех обследованных лиц разделили на две дозовые подгруппы – от 0.001 Гр до 0.48 Гр и от 0.8 Гр до 2.9 Гр. Результаты анализа данных по подгруппам представлены в табл. 4.

Анализ частоты инверсий в дозовых подгруппах не выявил зависимости показателей от дозы облучения ККМ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые в ходе исследования с применением методов молекулярной цитогенетики оценили

Таблица 4. Частота инверсий ($M \pm SD$) в дозовых подгруппах среди обследованных
Table 4. Frequency of inversions ($M \pm SD$) in the examined people (by dose subgroups)

| Дозовые Группы, (N=) | Возраст, лет | Инверсии хрмтд на 100 клеток ($M \pm SD$) | Инверсии хрмсм на 100 клеток ($M \pm SD$) | Инверсии все на 100 клеток ($M \pm SD$) |
|----------------------|--------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------------------|
| 0.001–0.48 (7) | 62–75 | 8.85 \pm 7.96 | 0.14 \pm 0.38 | 9.0 \pm 7.99 |
| 0.8–2.9 (5) | 70–75 | 9.2 \pm 6.22 | 0.20 \pm 0.38 | 9.4 \pm 6.32 |

Примечание. хрмтд – хроматидные инверсии; хрмсм – хромосомные инверсии; $M \pm SD$ – среднее значение \pm стандартное отклонение.

частоту встречаемости комплексных транслокаций и инверсий в Т-клетках иммунной системы у лиц, подвергшихся хроническому облучению на Южном Урале. Интерес к таким перестройкам вызван тем, что они часто ассоциируются с малигнизацией клеток и различными вариантами болезней у человека. Также известно, что инверсии и транслокации изменяют кроссинговер и сегрегацию хромосом, что может приводить к анеуплоидии или гибели клеток [24, 25].

Некоторое время назад было возможно выявлять хромосомные перестройки с помощью дифференциального окрашивания (GTG) метафазных хромосом, что требовало много времени на анализ и не всегда аберрации можно было выявить. В настоящей работе для обнаружения комплексных хромосомных перестроек с вовлечением ДНК нескольких хромосом был использован высокотехнологичный метод молекулярной цитогенетики – M-FISH.

В результате исследования отметили, что сложные хромосомные перестройки образуются с более низкой частотой по сравнению с простыми транслокациями. Примерно в 6 раз реже встречались комплексные перестройки, в образование которых были вовлечены несколько хромосом. Причем такого типа аберрации были выявлены только у половины обследованных нами хронически облученных людей. Такой эффект можно объяснить, прежде всего, сложным механизмом образования этих аберраций, поскольку необходимо, чтобы процессы разрыва ДНК и репарации одновременно происходили с участием трех и более хромосом, что маловероятно. Также нельзя исключить, что комплексные транслокации могут быть летальны для клеток, если они приводят к нарушению сегрегации хромосом в дочерних клетках при делении.

Для оценки частоты инверсий мы впервые воспользовались возможностями флуоресцентного метода окраски теломерных районов хромосом с помощью локус-специфичных зондов, поскольку в настоящее время установлено, что белки восстановления двойных разрывов ДНК ассоциируются с теломерами [26]. Специалисты лаборатории радиационной генетики УНПЦ РМ сформулировали критерии для хромосомного

анализа, который позволил надежно выявлять инверсии с вовлечением теломер, поскольку при таких перестройках визуализируется теломерный сигнал внутри хромосомного плеча. Разделение инверсий на два типа – хроматидные (теломерный сигнал есть только в одной хроматиде) и хромосомные (сигнал присутствует в обеих хроматидах на одном уровне) позволило нам предположить, что последний вариант может быть летальным для клеток, поскольку хромосомные инверсии встречались достоверно реже (в среднем с частотой 0.17 на 100 клеток). Также нельзя исключить вариант, что хромосома, в которой нет теломерных районов, будет элиминирована в ходе деления, что приведет в итоге к анеуплоидии в сторону уменьшения числа хромосом.

В ходе исследования не было отмечено зависимости частот комплексных транслокаций и инверсий от дозы облучения ККМ. Также мы пока не знаем о воспроизводимости частоты подобных аберраций для одного и того же индивидуума. Вполне вероятно, что для образования таких аберраций имеет существенное значение не только радиационный фактор, а комплекс факторов – фаза клеточного цикла, особенности репарации ДНК, динамика хроматина и многие другие. Именно эти сложные пока для нашего понимания регуляторные механизмы могут лежать в основе вариабельности радиочувствительности среди индивидуумов [27].

Таким образом, в ходе выполненного пилотного исследования нами начата работа по дополнению данных о типах хромосомных аберраций в Т-клетках человека в условиях воздействия хронического ионизирующего излучения. Из полученных результатов видно, что хромосомные аберрации, в основе образования которых лежит механизм “разрыв–слияние”, распределены в среднем примерно так: хроматидные инверсии – 9, простые транслокации – 5, комплексные транслокации – 0.6, хромосомные инверсии – 0.2 (показатели на 100 клеток). За основу мы взяли средние показатели, отмеченные в высокодозовых подгруппах обследованных людей (табл. 2 и 4). Эти показатели будут конкретизированы в будущем, при расширении выборки обследованных облученных жителей Южного Урала, и получен-

ные данные могут быть использованы в дальнейшем для подтверждения модели многоударных разрывов хромосом в реализации биологических эффектов ионизирующей радиации, для уточнения модели онкопрогрессии клеток, а также при комплексном изучении мутационного процесса у человека.

Несмотря на большую популярность исследований в области генома и структуры генов в последнее время считаем, что изучать структуру хромосом и частоту хромосомных мутаций цитогенетическими методами важно и актуально для понимания того, как гены взаимодействуют друг с другом, каковы биологические механизмы их активности (или наоборот) на хромосомном уровне [28].

ВЫВОДЫ

1. У всех обследованных лиц с дозами облучения от 0.5 до 3.1 Гр на ККМ выявили простые транслокации от 1 до 13 на 100 клеток. Только у половины обследованных людей выявили комплексные транслокации от 1 до 2 на 100 клеток.

2. У облученных лиц в диапазоне доз на ККМ от 0.001 до 2.9 Гр инверсии с вовлечением теломерных районов хромосом обнаружены в диапазоне от 1 до 26 на 100 клеток. Большинство инверсий присутствовало только в одной сестринской хроматиде. У двоих человек выявили по одной хромосомной инверсии.

3. Хромосомные инверсии либо летальны для дочерних клеток, либо в процессе деления аберрантные хромосомы элиминируются, что может приводить к анеупloidии в дочерних клетках.

4. Не выявили дозовой зависимости для комплексных транслокаций и инверсий в клетках обследованных лиц.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа была поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) совместно с Правительством Челябинской области, договор № 20-44-740007\20 от 28.01.2021.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Iourov I.Y., Yurov Y.B., Vorsanova S.G. et al.* Chromosome Instability, Aging and Brain Diseases // *Cells*. 2021. V. 10. P. 1256.
2. *Льюин Б.* Гены. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. 896 с. [*L'yuin B.* Geny. M.: BINOM. Laboratoriya znaniy, 2011. 896 s. (In Russ.)]
3. *Thompson L.H.* Recognition, signaling, and repair of DNA double-strand breaks produced by ionizing radiation in mammalian cells: The molecular choreography // *Mutat. Res.* V. 751. 2012. P. 158–246.
4. *Venkatesan S., Natarajan A.T., Hande M.P.* Chromosomal instability-mechanisms and consequences // *Mutat. Res. Gen. Toxicol. Environ. Mutagen.* 2015. V. 793. P. 176–184.
5. *Bunting S.F., Nussenzweig A.* End-joining, translocations and cancer // *Nat. Rev. Cancer.* 2013. V. 13. № 7. P. 443–454.
6. Публикация 103 Международной Комиссии по радиационной защите (МКРЗ): Пер с англ. / Под общей ред. М.Ф. Киселёва и Н.К. Шандалы. М.: Изд. ООО ПКФ “Алана”, 2009. [Publikaciya 103 Mezhdunarodnoj Komissii po radiacionnoj zashchite (MKRZ): Per s angl. / Pod obshchej red. M.F. Kiselevyova i N.K. SHandaly. M.: Izd. OOO PKF “Alana”, 2009 (In Russ.)]
7. *Ray F.A., Zimmerman E. et al.* Directional genomic hybridization for chromosomal inversion discovery and detection // *Chromosome Res.* 2013. V. 21. P. 165–174.
8. *Livingston G.K., Ryan T., Smith T.L. 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. V. 159. P. 169–181.
9. *Luxton J., McKenna M., Lewis A. et al.* Telomere Length Dynamics and DNA Damage Responses Associated with Long-Duration Spaceflight // *Cell Rep.* 2020. V. 33. Issue 10.
10. Последствия радиоактивного загрязнения реки Теча / Под ред. проф. А.В. Аклеева. Челябинск, 2016. 400 с. [Consequences of radioactive contamination of the Techa river. Chelyabinsk, 2016. 400 s. (In Russ.)]
11. *Vozilova A., Shagina N., Degteva M. et al.* Chronic radioisotope effects on residents of the Techa river (Russia) region: cytogenetic analysis more than 50 years after onset of exposure // *Mutat. Res.* 2013. V. 756. № 1–2. P. 115–118.
12. *Vozilova A., Shagina N., Degteva M. et al.* FISH analysis of translocations induced by chronic exposure to Sr radioisotopes: second set of analysis of the techa river cohort // *Radiat. Prot. Dosim.* 2014. V. 159. № 1–4. P. 34–37.
13. *Ахмадуллина Ю., Возилова А., Аклеев А.* Исследование повреждений ДНК лимфоцитов периферической крови методом микроядерного теста у жителей прибрежных сел реки Течи, подвергшихся хроническому облучению внутриутробно и постнатально // *Генетика.* 2020. Т. 56. № 4. С. 463–470. [*Akhmadullina Yu., Vozilova A., Akleev A.* Study of the DNA damage in peripheral blood lymphocytes using micronucleus test in residents of the Techa riverside villages who were chronically exposed in utero and postnatally // *Genetika.* 2020. V. 56. № 4. P. 463–470 (In Russ.)]
14. *Дёгтева М.О., Шишкина Е.А., Толстых Е.И. и др.* Использование методов ЭПР и FISH для реконструкции доз у людей, облучившихся на реке Теча // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2017. Т. 57. № 1. С. 30–41. [*Dyogteva M.O., Shishkina E.A., Tolstykh E.I. i dr.* Ispol'zovanie metodov EPR i FISH dlya rekonstrukcii doz u lyudej, obluchivshihsiya na reke Techa //

- Radiacionnaya biologiya. Radioekologiya. 2017. V. 57. № 1. P. 30–41 (In Russ.)]
15. Bailey S.M., Bedford J.S. Studies on chromosome aberration induction: What can they tell us about DNA repair? // DNA Repair. 2006. V. 5. P. 1171–1181.
 16. Jourov Ivan Y., Vorsanova S.G. et al. The Cytogenomic “Theory of Evrything” chromohelikosis may underlie chromosomal instability and mosaicism in disease and aging // Int. J. Sci. 2020. V. 21. P. 8328.
 17. Degteva M.O., Napier B.A., Tolstykh E.I. et al. Enhancements in the Techa River Dosimetry System: TRDS-2016D Code for Reconstruction of deterministic estimates of dose from environmental exposures // Health Physics. 2019. V. 117. № 4. P. 378–387.
 18. MacKinnon R.N., Chudoba I. The Use of M-FISH and M-BAND to Define Chromosome Abnormalities // Cancer Cytogen. 2011. P. 203–218.
 19. Возилова А.В. Диагностика хронических лейкозов с применением методов молекулярной цитогенетики. Особенности методологии // Мед. генетика. 2018. Т. 17. № 2. С. 24–28. [Vozilova A.V. Diagnosis of chronic lymphocytic leukemias by means of methods of molecular cytogenetics. Characteristics of the methodology // Medicinskaya genetika. 2018. V. 17. № 2. P. 24–28 (In Russ.)]
 20. Nielsen P.E., Egholm M., Berg R.H., Buchardt O. Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide // Sci. 1991. V. 254. № 5037. P. 1497–1500.
 21. Perner S., Brüderlein S., Hasel C. et al. Quantifying telomere lengths of human individual chromosome arms by centromere-calibrated fluorescence in situ hybridization and digital imaging // Am. J. Pathol. 2003. V. 163. Issue 5. P. 1751–1756.
 22. Кривошчапова Я. Изучение длины теломер в Т-лимфоцитах человека // Генетика человека и патология: Актуальные проблемы клинической и молекулярной цитогенетики. Сб. науч. тр. 2019. С. 32–33. [Krivoshchapova Ya. Izuchenie dliny telomer v T-limfocitah cheloveka // Genetika cheloveka i patologiya: Aktual'nye problemy klinicheskoy i molekulyarnoy citogenetiki. Sbornik nauchnyh trudov. 2019. S. 32–33 (In Russ.)]
 23. Puig M., Casillas S., Villatoro S. et al. Human inversions and their functional consequences // Briefings in Functional Genomics. 2015. V. 14. № 5. P. 369–379.
 24. Wilch E.S., Morton C.C. Historical and Clinical Perspectives on Chromosomal Translocations // Advanc. Experim. Med. Biol. 2018. V. 1044. P. 1–14.
 25. Бородин П., Торгашева А. Хромосомные инверсии в клетке и эволюции // Природа. 2011. № 1. С. 19–26. [Borodin P., Torgasheva A. Hromosomnye inversii v kletke i evolyucii // Priroda. 2011. № 1. P. 19–26 (In Russ.)]
 26. Bailey S.M. Telomeres and double-strand breaks – all’s well that “ends” well // Radiat. Res. 2008. V. 1. P. 1–7.
 27. Terzoudi G., Hatzi V., Donta-Bakoyianni C. et al. Chromatin dynamics during cell cycle mediate conversion of DNA damage into chromatid breaks and affect formation of chromosomal aberrations: biological and clinical significance // Mutat. Res. 2011. Jun 3. V. 711. № 1–2. P. 174–186.
 28. Little M.P., Kwon D., Doi K. et al. Association of chromosome translocation rate with low dose occupational radiation exposures in U.S. radiologic technologists // Radiat. Res. 2014. V. 182. № 1. P. 1–17.

Investigation of the Frequency of Inversions and Complex Translocations in T-Lymphocytes in Irradiated Residents of the Southern Urals

A. V. Vozilova^{a,#} and Ya.V. Krivoshchapova^a

^a Ural Scientific and Practical Center of Radiation Medicine of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Chelyabinsk, Russia

[#]E-mail: vozilova@urcrm.ru

Chromosome aberrations are the example of mutation process that happens at the chromosome level of DNA packing. The occurrence of inversions and complex translocations is not studied well enough due to the complexity of their detection methods. It is known that ionizing radiation is one of the factors that increases the frequency of CA. The objective of the pilot research was to study the frequency of inversions with involvement of telomere regions of the chromosomes and complex translocations in T-cells of 25 chronically exposed residents of the Southern Urals. The studied individuals were subdivided into two groups. In the first group consisting of 12 exposed people (11 women and 1 man) inversions were studied with Q-FISH in. Doses ranged from 0.001 Gy to 2.9 Gy. In the second group comprising 13 people (9 women, 4 men) complex translocations were analyzed with M-FISH in. Doses ranged from 0.5–3.1 Gy. The groups did not overlap. As a result of the analysis it was revealed that complex translocations occur 6 times less frequently than simple ones ($p < 0.001$). Chromatid variants of inversions predominated as compared to chromosome ones (9:0.17 per 100 cells, $p < 0.001$). No dependence of the studied parameters on exposure dose to red bone marrow was noted.

Keywords: chromosomal aberrations, complex translocations, inversions, telomeres, ionizing radiation, fluorescent in situ hybridization, FISH, Techa river