

ТРАНСКРИПЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ГЕНОВ ДНК-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗ У ЖИТЕЛЕЙ УРАЛЬСКОГО РЕГИОНА, ПОДВЕРГШИХСЯ ХРОНИЧЕСКОМУ РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ

В. С. Никифоров^{1,2} ✉, Е. А. Блинова^{1,2}, А. В. Аклеев^{1,2}

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

² Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

Помимо повреждения генетического аппарата клетки, ионизирующее излучение способно приводить к эпигенетическим изменениям. Распространенной эпигенетической модификацией является метилирование ДНК, играющее важную роль в регуляции клеточных процессов. Метилирование ДНК происходит в последовательностях, богатых CpG-динуклеотидами, и осуществляется при помощи ферментов ДНК-метилтрансфераз. Целью работы было изучить экспрессию мРНК генов ДНК-метилтрансфераз (*DNMT1*, *DNMT3A*, *DNMT3B*) в отдаленные сроки у лиц, подвергшихся хроническому радиационному облучению на р. Теча. Обследование 112 человек было проведено спустя более чем 65 лет после начала хронического облучения. Средняя накопленная доза облучения красного костного мозга составляла $782,0 \pm 82,3$ мГр, а средняя накопленная доза облучения тимуса и периферических лимфоидных органов — $93,2 \pm 13,6$ мГр. Возраст людей на время проведения обследования составил $67,9 \pm 0,8$ лет (54–83 года). Оценку относительного содержания мРНК исследуемых генов проводили с использованием метода полимеразной цепной реакции в реальном времени. Установлена прямая корреляция между экспрессией мРНК гена *DNMT1* и дозой облучения красного костного мозга ($p = 0,04$), тимуса и периферических лимфоидных органов ($p = 0,02$), а также мощностью дозы облучения этих органов ($p = 0,05$, $p = 0,04$ соответственно) в период максимального радиационного воздействия. У облученных лиц в диапазоне больших доз (более 1000 мГр) наблюдается значимое увеличение экспрессии мРНК гена *DNMT1* относительно группы сравнения ($p = 0,02$). Полученные результаты могут свидетельствовать о вовлеченности гена *DNMT1* в изменение эпигенетического статуса у людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию в отдаленные сроки.

Ключевые слова: экспрессия генов, хроническое облучение, метилирование ДНК, река Теча, малые дозы

Финансирование: работа выполнена при финансовой поддержке Федерального медико-биологического агентства России (Государственный контракт № 27.501.21.2 от 11 июня 2021 г.).

Вклад авторов: В. С. Никифоров — выполнение лабораторных исследований, статистическая обработка результатов, написание статьи; Е. А. Блинова, А. В. Аклеев — планирование исследования, редактирование и подготовка окончательного варианта статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом УНПЦ РМ ФМБА России (протокол №3 от 28 июня 2022 г.). Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Владислав Сергеевич Никифоров
ул. Воровского, д. 68, корп. А, г. Челябинск, 454141, Россия; nikiforovx@mail.ru

Статья получена: 29.06.2022 **Статья принята к печати:** 17.07.2022 **Опубликована онлайн:** 09.08.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.027

TRANSCRIPTIONAL ACTIVITY OF DNA-METHYLTRANSFERASE GENES IN THE CHRONICALLY EXPOSED RESIDENTS OF THE URAL REGION

Nikiforov VS^{1,2} ✉, Blinova EA^{1,2}, Akleyev AV^{1,2}

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

² Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

In addition to damaging the genetic apparatus of the cell, ionizing radiation can cause epigenetic alterations. DNA methylation that plays a vital part in regulation of cellular processes is a common epigenetic modification. DNA methylation ensured by DNA methyltransferases occurs in the CpG-rich sequences. The study was aimed to assess mRNA expression of genes encoding DNA methyltransferases (*DNMT1*, *DNMT3A*, *DNMT3B*) in the chronically exposed individuals who live along the River Techa over a long-term period. A total of 112 people were examined more than 65 years after the beginning of chronic exposure. The average accumulated dose to red bone marrow (RBM) was 782.0 ± 82.3 mGy, and the average accumulated dose to thymus and peripheral lymphoid organs was 93.2 ± 13.6 mGy. The subjects' age at the time of examination was 67.9 ± 0.8 years (54–83 years). The relative mRNA levels for the studied genes were assessed by real-time polymerase chain reaction (real-time PCR). mRNA expression of *DNMT1* correlated positively with the dose to RBM ($p = 0.04$), thymus and peripheral lymphoid organs ($p = 0.02$), as well as with the dose rate in these organs ($p = 0.05$, $p = 0.04$, respectively) during the period of the highest levels of radiation exposure. In individuals exposed in the high dose range (over 1000 mGy) there was a significant increase in the expression of *DNMT1* mRNA compared to the comparison group ($p = 0.02$). The findings may indicate the *DNMT1* gene involvement in epigenetic alterations that occur in the chronically exposed people in the long term.

Keywords: gene expression, chronic radiation exposure, DNA methylation, Techa River, low doses

Funding: the study was supported by the Federal Medical Biological Agency of Russia (Government contract № 27.501.21.2 of June, 11 2021).

Author contribution: Nikiforov VS — laboratory tests, statistical analysis, manuscript writing; Blinova EA, Akleyev AV — study planning, manuscript editing and preparing the final version of the article.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Urals Research Center for Radiation Medicine of FMBA of Russia (protocol № 3 dated June 28, 2022). The informed consent was submitted by all patients.

✉ **Correspondence should be addressed:** Vladislav S. Nikiforov
Vorovskogo, 68, korp. 1, Chelyabinsk, 454141, Russia; nikiforovx@mail.ru

Received: 29.06.2022 **Accepted:** 17.07.2022 **Published online:** 09.08.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.027

Профиль метилирования генома — это динамическая характеристика, способная меняться в процессе онтогенеза, а также под действием факторов окружающей среды. Метилирование происходит в последовательностях, богатых CpG-динуклеотидами, и осуществляется при участии ферментов ДНК-метилтрансфераз (DNMT1, DNMT3A, DNMT3B, DNMT3L) [1]. Метилтрансферазы DNMT3A и DNMT3B обладают *de novo* метилирующей активностью, а метилтрансфераза DNMT1 обеспечивает восстановление и поддержание ранее установленных метильных меток. При этом уровень метилирования каждого участка ДНК определяется двумя противоположно направленными процессами — метилированием и деметилированием, которые в целом зависят от активности ДНК-метилтрансфераз и ферментов с ДНК-диметилирующими свойствами [2].

Изменения экспрессии метилтрансфераз под действием ионизирующего излучения изучены в исследованиях *in vitro* на культурах клеток: в некоторых случаях эти изменения коррелируют с уровнем метилирования ДНК [3]. В экспериментах на мышах и тимидитах человека, предполагавших воздействие комбинированным облучением (низкие начальные дозы, с последующим облучением в высоких дозах), было выявлено снижение экспрессии генов *DNMT2*, *DNMT3B*, *DNMT3L* в тимидитах мышей и *DNMT2*, *DNMT3A* в облученных *in vitro* тимидитах человека [4]. У врачей-хирургов, проводивших интервенционные вмешательства более трех лет, наблюдалось увеличение экспрессии ДНК-метилтрансфераз [5]. Одним из регуляторов изменения экспрессии метилтрансфераз в ответ на действие ионизирующего излучения является белок p53, который непосредственно связывается с ДНК. При облучении уменьшается его прямое связывание, что приводит к увеличению транскрипционной активности гена *DNMT1* [6].

Показано, что на радиочувствительность клеток, в том числе стволовых клеток, влияют уровень метилирования генома и активность метилтрансфераз. Это обусловлено тем, что активность метилтрансфераз и метилирование отдельных участков ДНК потенциально могут изменять секрецию таких факторов, как TNF α , NO и TGF β [7]. Кроме того, метилирование и изменение экспрессии генов метилтрансфераз под действием ионизирующего излучения способствует индукции нестабильности генома [8].

В связи с этим целью настоящего исследования было изучить экспрессию мРНК генов ДНК-метилтрансфераз (*DNMT1*, *DNMT3A*, *DNMT3B*) в отдаленные сроки у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию (преимущественно с низкой мощностью дозы).

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили образцы периферической крови, полученные от 112 жителей прибрежных сел р. Течи, подвергшихся хроническому радиационному воздействию вследствие сбросов жидких радиоактивных отходов ПО «Маяк». Внутреннее облучение было сформировано за счет радионуклидов, поступивших в организм с речной водой и продуктами местного производства, а внешнее γ -излучение — за счет загрязнения радионуклидами донных отложений и пойменных почв.

Массированные сбросы радиоактивных отходов начались в 1950 г. В первые годы основными источниками облучения были короткоживущие радионуклиды.

Затем в результате защитных мероприятий и распада короткоживущих радионуклидов мощность дозы внешнего облучения, а также внутреннего облучения мягких тканей существенно снизилась: после 1960 г. она не превышала 10^{-5} Гр/год для всех, кто проживал на прибрежных территориях. Несколько иной была картина облучения красного костного мозга (ККМ), поскольку главный вклад в формирование дозы вносил долгоживущий остеотропный ^{90}Sr , обеспечивающий хроническое облучение с монотонно снижающейся мощностью дозы, которая к 1985 г. стала ниже 10^{-5} Гр/год у всех облученных людей [9].

Критерии включения людей в исследуемые группы: постоянное проживание в одном из 41 села, расположенных на побережье р. Течи, в период с 1 января 1950 г. по 31 декабря 1960 г.; наличие рассчитанных индивидуальных накопленных поглощенных доз облучения ККМ, тимуса и периферических лимфоидных органов на основе дозиметрической системы Techa River Dosimetry System-2016 (TRDS-2016) [10]. Критерии исключения: наличие аутоиммунных, острых или хронических (период обострения) воспалительных заболеваний, прием антибиотиков, глюкокортикоидов и цитостатических препаратов в течение последних шести месяцев до момента взятия образца крови.

В зависимости от величины накопленной дозы облучения ККМ участников исследования условно разделили на группу сравнения (67 человек), в которой значения доз облучения ККМ не превышали 70 мГр за весь период жизни, и группу хронически облученных лиц (45 человек), чьи дозы превышали 70 мГр.

Средняя накопленная доза облучения ККМ у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, составила $782,0 \pm 82,3$ мГр (диапазон доз 77,8–3179,7 мГр), а среднее значение мощности дозы облучения ККМ в период максимального радиационного воздействия (1950–1951 гг.) составило $145,7 \pm 16,3$ мГр/год (диапазон мощностей доз 0,1–542,6 мГр/год). Средняя накопленная доза облучения тимуса и периферических лимфоидных органов была равна $93,2 \pm 13,6$ мГр (диапазон доз 2,8–644,8 мГр), при этом средняя мощность дозы облучения в период максимального радиационного воздействия составила $42,8 \pm 6,8$ мГр/год (диапазон мощностей доз 0,1–320,9 мГр/год). Средняя накопленная доза облучения ККМ в группе сравнения была равна $20,7 \pm 2,7$ мГр (диапазон доз 1,3–63,2 мГр), а средняя накопленная доза облучения тимуса и периферических лимфоидных органов составила $8,8 \pm 1,6$ мГр (диапазон доз 0,2–33,5 мГр).

Средний возраст хронически облученных лиц составил $72,2 \pm 0,7$ года (63–83 года), а возраст лиц из группы сравнения — $63,7 \pm 1,0$ года (54–79 лет). В двух группах подавляющее большинство образцов было получено от женщин. Так, в группе хронически облученных людей доля женщин составила 70,1% (47 человек); в группе сравнения — 68,9% (31 человек).

Кровь для оценки относительного содержания мРНК метилтрансфераз отбирали из локтевой вены в стерильные вакуумные пробирки Tempus Blood RNA Tubes (Thermo Scientific; США) в объеме 3 мл. Выделение РНК осуществляли колоночным методом при помощи коммерческого набора GeneJET Stabilized and Fresh Whole Blood RNA Kit (Thermo Scientific; США). Качественные и количественные характеристики выделенных образцов общей РНК оценивали при помощи спектрофотометра NanoDrop 2000C (Thermo Scientific; США). Чистоту препарата определяли по значениям поглощения на длинах волн

Таблица 1. Используемые последовательности праймеров и зондов

Ген	Олигонуклеотидные последовательности
<i>DNMT1</i>	Forward: 5'-CCTTCACGTTCAACATCAAGC-3' Reverse: 5'-GCTCTGGGTACAGGTCCTCATC-3' Probe: FAM-BHQ1 - 5'-CCAGTCCCCTGAAACGCCA-3'
<i>DNMT3A</i>	Forward: 5'-GGCTCCAGATGTTCTTCGTA-3' Reverse: 5'-GGATGGGCTTCCTTCTCA-3' Probe: FAM-BHQ1 - 5'-CACGACCAGGAATTTGACCCTCCA-3'
<i>DNMT3B</i>	Forward: 5'-GAATCAAGGAAATACGAGAACAAGAC-3' Reverse: 5'-CTTCATCCCCTCGGTCTTTG-3' Probe: FAM-BHQ1 - 5'-CGACTCAGCCACCTCTGACTACTGCC-3'

260 и 280 нм (A260/280). Реакцию обратной транскрипции проводили отдельным этапом с использованием коммерческого набора реактивов MMLV RT Kit («Евроген»; Россия). Относительное содержание мРНК определяли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием амплификатора Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad Laboratories; USA). Олигонуклеотидные последовательности праймеров и зондов был разработаны компанией ООО «ДНК-СИНТЕЗ» (Россия) (табл. 1).

Реакцию ПЦР-РВ проводили в следующем временном режиме: предварительная денатурация при температуре 95 °С в течение 5 мин, циклическая денатурация при 95 °С в течение 20 с, отжиг праймеров и элонгация при 65 °С в течение 60 с (50 циклов). Для каждого образца ставили по три реплики.

Относительную продукцию генов рассчитывали по методу $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [11]. В качестве эндогенного контроля использовали ген «домашнего хозяйства» *ACTB*. Расчет проводили с помощью программного обеспечения прибора Real-Time CFX96 Touch (BioRad; США).

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием программного комплекса SPSS Statistics 17.0 (IBM; США) и Graph Pad Prism 8.4.3 (GraphPad Software Inc.; США). Проверку нормальности распределения количественных показателей проводили с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. При описании выборок для данных, подчиняющихся закону нормального распределения, использовали среднее арифметическое значение (M), с указанием ошибки среднего ($\pm SE$) и диапазона значений ($min-max$). При описании показателей, распределение которых отличалось от нормального, использовали медиану (Me) и 25–75-й процентиля (Q_1-Q_3). Сравнение выборок данных проводили с использованием U -критерия Манна–Уитни, поскольку распределение большинства значений было отличным от нормального. Корреляционный анализ для оценки влияния дозовых характеристик на количественные показатели относительного содержания мРНК генов метилтрансфераз проводили путем расчета коэффициентов ранговой корреляции (R) по Спирмену. Для всех критериев и тестов различия признавали значимыми при $p < 0,05$. При $0,05 < p < 0,1$ различие считали тенденцией к значимому различию.

Таблица 2. Содержание (Me) мРНК (отн. ед.) генов ДНК-метилтрансфераз в клетках периферической крови у хронически облученных людей в отдаленные сроки

Группа	n	<i>DNMT1</i>	<i>DNMT3A</i>	<i>DNMT3B</i>
Группа сравнения	45	1,18 (0,78–1,67)	0,71 (0,58–0,82)	0,78 (0,18–1,37)
Хронически облученные лица	67	1,43 (0,99–1,67)	0,71 (0,55–0,83)	0,46 (0,20–1,18)

Примечание: в скобках указаны 25–75-й процентиля; n — величина выборки.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При сравнении двух выборок не были выявлены статистически значимые различия относительного содержания мРНК генов метилтрансфераз *DNMT1*, *DNMT3A*, *DNMT3B* (табл. 2).

В результате корреляционного анализа в объединенной выборке были обнаружены слабые положительные связи между относительным содержанием мРНК гена *DNMT1* и величиной накопленной дозы облучения ККМ ($R = 0,19$; $p = 0,04$), тимуса и периферических лимфоидных органов ($R = 0,19$; $p = 0,05$), а также величиной мощности дозы облучения ККМ ($R = 0,21$; $p = 0,02$), тимуса и периферических лимфоидных органов ($R = 0,20$; $p = 0,04$) в период максимального радиационного воздействия (табл. 2).

Зависимость относительного содержания мРНК гена *DNMT1* от дозовых характеристик была исследована методом регрессионного анализа в объединенной выборке. Анализ подтвердил наличие закономерности изменения экспрессии мРНК гена *DNMT1* в зависимости от величины мощности доз облучения ККМ ($R = 0,20$; $p = 0,03$), тимуса и периферических лимфоидных органов ($R = 0,19$; $p = 0,04$) в период максимального радиационного воздействия. Не обнаружена зависимость относительного содержания мРНК генов *DNMT3A* и *DNMT3B* от дозовых параметров (табл. 3).

У лиц с накопленными дозами облучения ККМ более 1000 мГр (1044,8–3179,7 мГр) наблюдается значимое увеличение экспрессии мРНК гена *DNMT1* (среднее значение — $1659,0 \pm 155,7$; $p = 0,02$) относительно группы сравнения (рис. А).

Кроме того, отмечено, что относительное содержание мРНК гена *DNMT1* было значимо выше ($p = 0,04$) у людей с накопленными дозами облучения тимуса и периферических лимфоидных органов от 103,9 до 644,8 мГр (среднее значение — $200,9 \pm 30,3$ мГр) по сравнению с лицами, чьи дозы не превышали 10,0 мГр (среднее значение — 2,5 мГр) (рис. Б).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

DNMT1 — одна из основных ДНК-метилтрансфераз в клетках млекопитающих. Она представляет собой большой

Таблица 3. Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена (R) между относительным содержанием мРНК генов ДНК-метилтрансфераз и величинами дозы и мощности доз в период максимального радиационного воздействия

Ген	Доза облучения ККМ, мГр	Мощность дозы облучения ККМ в период максимального воздействия, мГр/год	Доза облучения тимуса и периферических лимфоидных органов, мГр/год	Мощность дозы облучения тимуса и периферических лимфоидных органов в период максимального воздействия, мГр/год
<i>DNMT1</i>	0,19 (0,04)	0,21 (0,02)	0,19 (0,05)	0,20 (0,04)
<i>DNMT3A</i>	-0,03 (0,74)	-0,07 (0,45)	-0,04 (0,65)	-0,04 (0,65)
<i>DNMT3B</i>	-0,13 (0,17)	-0,17 (0,08)	-0,14 (0,16)	-0,15 (0,11)

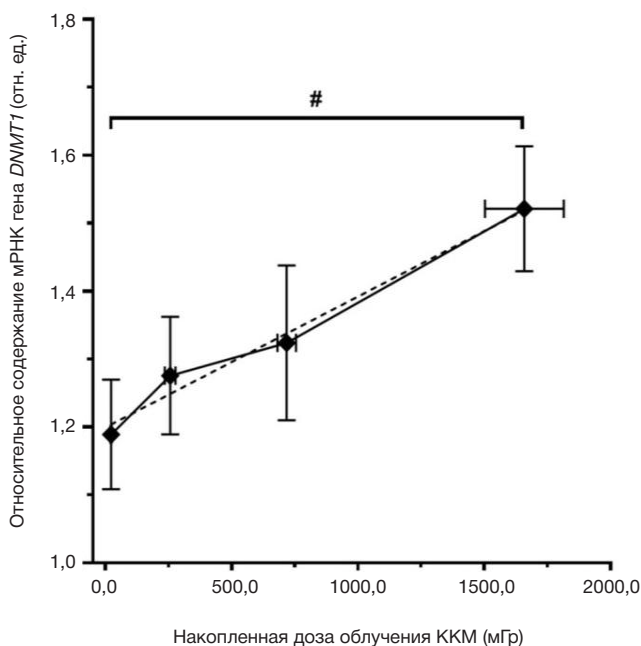
и высокодинамичный фермент с множеством регуляторных функций, которые могут контролировать метилирование ДНК. В частности, его экспрессия необходима для поддержания паттерна метилирования ДНК во время митоза. Кроме того, *DNMT1* играет непосредственную роль в восстановлении эпигенетической информации во время репарации ДНК [8].

Повышение экспрессии гена *DNMT1* часто бывает связано с тотальным гипометилированием [12]. Стоит отметить, что подобный эффект гипометилирования генома был зафиксирован у работников атомной промышленности, подвергшихся комбинированному воздействию излучений с высокой и низкой ЛПЭ. Группа исследователей [13] отметила, что у рабочих с суммарной накопленной дозой, превышающей 103,14 мЗв, уровень метилирования генома существенно выше такового при более низких уровнях облучения (менее 103,14 мЗв), что указывает на дифференциальный характер ответа эпигенома на воздействие низких и высоких доз.

В другой работе этого же коллектива авторов также показано снижение общего уровня 5-метилцитозина в лейкоцитах крови работников, подвергшихся воздействию γ -излучения и рентгеновского излучения [14].

Изменение экспрессии ДНК-метилтрансфераз зачастую бывает связано с локус-специфичным изменением метилирования генов, ответственных за поддержание клеточного гомеостаза. В работе [15] было рассмотрено гиперметилирование CpG-островков промоторов некоторых генов (в частности, *p16/INKA* и *GSTP1*) в нормальных лейкоцитах крови в отдаленный период после радиационного воздействия. Дальнейшие обследования работников ПО «Маяк» с индивидуальными рассчитанными накопленными дозами внешнего воздействия γ -излучения или комбинированного действия внешнего γ -внутриклеточного α -излучения, выполненные с расширением спектра анализируемых локусов, выявили совокупность генов *p16/INKA*, *p53*, *GSTP1*, *SOD3*, *ATM*, *ESR1*, гиперметилирование которых ассоциировано с радиационным воздействием [16].

А



Б

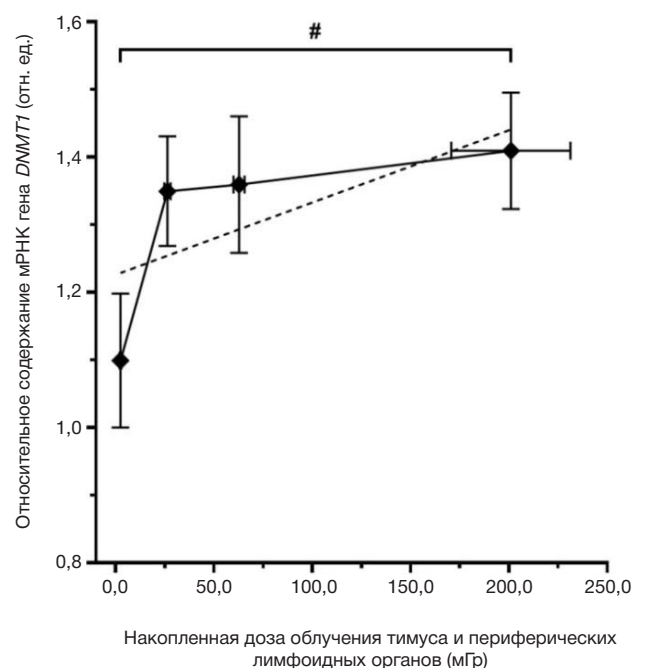


Рис. Относительное содержание мРНК гена *DNMT1* (отн. ед.) у облученных лиц в зависимости от величины дозы облучения ККМ (**А**), тимуса и периферических лимфоидных органов (**Б**): пунктирной линией обозначена линейная аппроксимация (линия тренда); # — значимые различия в экспрессии гена *DNMT1* между группой сравнения и хронически облученными лицами; вертикальная полоса погрешности соответствует ошибке среднего значения относительного содержания мРНК гена *DNMT1*; горизонтальная полоса погрешности соответствует ошибке среднего значения накопленной поглощенной дозы облучения ККМ (**А**), тимуса и периферических лимфоидных органов (**Б**)

В проведенных нами ранее исследованиях была отмечена положительная корреляционная связь между уровнем метилирования промоторного региона гена *ATM* и дозой облучения ККМ, тимуса и периферических лимфоидных органов у облученных лиц [17]. Кроме этого, экспрессия гена *ATM* была значимо снижена в группе хронически облученных людей с дозами облучения ККМ, превышающими 1000 мГр [18].

Не исключено, что в отдаленные сроки после начала хронического облучения человека при дозах облучения ККМ более 1000 мГр изменение экспрессии гена *DNMT1* может быть вовлечено в индукцию эпигенетических нарушений. Для того чтобы ответить на вопрос, действительно ли *DNMT1* принимает участие в эпигенетических механизмах, необходимо изучить влияние транскрипционной активности

гена на уровень метилирования промоторных регионов генов, регулирующих репарацию, пролиферацию и гибель клеток у лиц, подвергшихся радиационному воздействию.

Выводы

В отдаленные сроки после начала хронического низкоинтенсивного облучения человека в диапазоне доз более 1 Гр наблюдается значимое повышение экспрессии мРНК гена *DNMT1*. У хронически облученных лиц регистрируются положительные корреляционные связи экспрессии мРНК гена *DNMT1* с дозой облучения красного костного мозга, тимуса и периферических лимфоидных органов, а также мощностью дозы облучения этих органов в период максимального радиационного воздействия (1950–1951 гг.).

Литература

- Arand J, Spieler D, Karius T, Branco MR, Meilinger D, Meissner A, et al. In vivo control of CpG and non-CpG DNA methylation by DNA methyltransferases. *PLOS Genetics*. 2012; (8): 1002750. DOI:10.1371/journal.pgen.1002750.
- Jeltsch A, Jurkowska RZ. New concepts in DNA methylation. *Trends in Biochemical Sciences*. 2014; 39 (7): 310–18. DOI: 10.1016/j.tibs.2014.05.002.
- Chaudhry MA, Omaruddin RA. Differential DNA methylation alterations in radiation-sensitive and -resistant cells. *DNA and Cell Biology*. 2012; 31 (6): 908–16. DOI: 10.1089/dna.2011.1509.
- López-Nieva P, González-Vasconcellos I, González-Sánchez L, Cobos-Fernández MA, Cobos-Fernández S, Pérez RS, et al. Differential molecular response in mice and human thymocytes exposed to a combined-dose radiation regime. *Sci Rep*. 2022; (12): 3144. DOI: 10.1038/s41598-022-07166-8.
- Chen B, Dai Q, Zhang Q, Yan P, Wang A, Qu L, et al. The relationship among occupational irradiation, DNA methylation status, and oxidative damage in interventional physicians. *Medicine (Baltimore)*. 2022; 98 (39): e17373. DOI: 10.1097/MD.0000000000017373.
- Peterson EJ, Bogler O, Taylor SM. p53-mediated repression of DNA methyltransferase 1 expression by specific DNA binding. *Cancer Res*. 2003; 63 (20): 6579–82.
- Armstrong CA, Jones GD, Anderson R, Iyer P, Narayanan D, Sandhu J, et al. DNMTs are required for delayed genome instability caused by radiation. *Epigenetics*. 2012; 7 (8): P. 892–902. DOI: 10.4161/epi.21094.
- Rugo RE, Mutamba JT, Mohan KN, Yee T, Greenberger JS, Engelward BP. Methyltransferases mediate cell memory of a genotoxic insult. *Oncogene*. 2011; 30 (6): 751–6. DOI: 10.1038/onc.2010.480.
- Дегтева М. О., Напье Б. А., Толстых Е. И., Шишкина Е. А., Бугров Н. Г., Крестинина Л. Ю. и др. Распределение индивидуальных доз в когорте людей, облученных в результате радиоактивного загрязнения реки Течи. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2019; 64 (3): 46–53. DOI: 10.12737/article_5cf2364cb49523_98590475.
- Degteva MO, Napier BA, Tolstykh EI, Shishkina EA, Shagina NB, Volchkova AYU, 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; 117 (4): 378–87. DOI: 10.1097/HP.0000000000001067.
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)). *Methods*. 2001; 25 (4): 402–8. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
- Svedruzic ZM. Dnmt1 structure and function. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2011; 101: 221–54. DOI: 10.1016/B978-0-12-387685-0.00006-8.
- Lee Y, Kim YJ, Choi YJ, Lee JW, Lee S, Cho YH, et al. Radiation-induced changes in DNA methylation and their relationship to chromosome aberrations in nuclear power plant workers. *Int J Radiat Biol*. 2015; 91 (2): 142–9. DOI: 10.3109/09553002.2015.969847.
- Cho YH, Jang Y, Woo HD, Kim YJ, Kim SY, Christensen S, et al. LINE-1 hypomethylation is associated with radiation-induced genomic instability in industrial radiographers. *Environ Mol Mutagen*. 2018; 60 (2): 174–84. DOI: 10.1002/em.22237.
- Kuzmina NS, Lapteva NSh, Rubanovich AB. Hypermethylation of gene promoters in peripheral blood leukocytes in humans long term after radiation exposure. *Environ Res*. 2016; 146: 10–17. DOI: 10.1016/j.envres.2015.12.008.
- Кузьмина Н. С., Лаптева Н. Ш., Русинова Г. Г., Азизова Т. В., Вязовская Н. С., Рубанович А. В. Дозовая зависимость гиперметилирования промоторов генов в лейкоцитах крови лиц, подвергшихся сочетанному воздействию гамма- и альфаизлучений. *Генетика*. 2018; 54: S22–26. DOI: 10.1134/S0016675818130118.
- Блинова Е. А., Никифоров В. С., Котикова А. И., Янишевская М. А., Аклев А. В. Статус метилирования генов апоптоза и интенсивность апоптотической гибели лимфоцитов периферической крови у лиц, подвергшихся хроническому радиационному облучению. *Молекулярная биология*. 2022; 56 (5): 1–11.
- Никифоров В. С., Блинова Е. А., Аклев А. В. Транскрипционная активность генов клеточного цикла и апоптоза у хронически облученных лиц, имеющих повышенную частоту TCR-мутантных лимфоцитов. *Радиация и риск (Бюллетень национального радиационно-эпидемиологического регистра)*. 2020; 29 (2): 89–100. DOI: 10.21870/0131-3878-2020-29-2-89-100.

References

- Arand J, Spieler D, Karius T, Branco MR, Meilinger D, Meissner A, et al. In vivo control of CpG and non-CpG DNA methylation by DNA methyltransferases. *PLOS Genetics*. 2012; (8): 1002750. DOI:10.1371/journal.pgen.1002750.
- Jeltsch A, Jurkowska RZ. New concepts in DNA methylation. *Trends in Biochemical Sciences*. 2014; 39 (7): 310–18. DOI: 10.1016/j.tibs.2014.05.002.
- Chaudhry MA, Omaruddin RA. Differential DNA methylation alterations in radiation-sensitive and -resistant cells. *DNA and Cell Biology*. 2012; 31 (6): 908–16. DOI: 10.1089/dna.2011.1509.

4. López-Nieva P, González-Vasconcellos I, González-Sánchez L, Cobos-Fernández MA, Cobos-Fernández S, Pérez RS, et al. Differential molecular response in mice and human thymocytes exposed to a combined-dose radiation regime. *Sci Rep.* 2022; (12): 3144. DOI: 10.1038/s41598-022-07166-8.
5. Chen B, Dai Q, Zhang Q, Yan P, Wang A, Qu L, et al. The relationship among occupational irradiation, DNA methylation status, and oxidative damage in interventional physicians. *Medicine (Baltimore).* 2022; 98 (39): e17373. DOI: 10.1097/MD.000000000017373.
6. Peterson EJ, Bogler O, Taylor SM. p53-mediated repression of DNA methyltransferase 1 expression by specific DNA binding. *Cancer Res.* 2003; 63 (20): 6579–82.
7. Armstrong CA, Jones GD, Anderson R, Iyer P, Narayanan D, Sandhu J, et al. DNMTs are required for delayed genome instability caused by radiation. *Epigenetics.* 2012; 7 (8): P. 892–902. DOI: 10.4161/epi.21094.
8. Rugo RE, Mutamba JT, Mohan KN, Yee T, Greenberger JS, Engelward BP. Methyltransferases mediate cell memory of a genotoxic insult. *Oncogene.* 2011; 30 (6): 751–6. DOI: 10.1038/onc.2010.480.
9. Degteva MO, Napier BA, Tolstykh EI, Shishkina EA, Bougrov NG, Krestinina LYu, et al. Individual dose distribution in cohort of people exposed as a result of radioactive contamination of the Techa River. *Medical Radiology and Radiation Safety.* 2019; 64 (3): 46–53. DOI: 10.12737/article_5cf2364cb49523_98590475.
10. Degteva MO, Napier BA, Tolstykh EI, Shishkina EA, Shagina NB, Volchkova AYu, 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; 117 (4): 378–87. DOI: 10.1097/HP.0000000000001067.
11. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)). *Methods.* 2001; 25 (4): 402–8. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
12. Svedruzic ZM. Dnmt1 structure and function. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2011; 101: 221–54. DOI: 10.1016/B978-0-12-387685-0.00006-8.
13. Lee Y, Kim YJ, Choi YJ, Lee JW, Lee S, Cho YH, et al. Radiation-induced changes in DNA methylation and their relationship to chromosome aberrations in nuclear power plant workers. *Int J Radiat Biol.* 2015; 91 (2): 142–9. DOI: 10.3109/09553002.2015.969847.
14. Cho YH, Jang Y, Woo HD, Kim YJ, Kim SY, Christensen S, et al. LINE-1 hypomethylation is associated with radiation-induced genomic instability in industrial radiographers. *Environ Mol Mutagen.* 2018; 60 (2): 174–84. DOI: 10.1002/em.22237.
15. Kuzmina NS, Lapteva NSh, Rubanovich AB. Hypermethylation of gene promoters in peripheral blood leukocytes in humans long term after radiation exposure. *Environ Res.* 2016; 146: 10–17. DOI: 10.1016/j.envres.2015.12.008.
16. Kuzmina NS, Lapteva NSh, Rusinova GG, Azizova TV, Vyazovskaya NS, Rubanovich AV. Dose dependence of hypermethylation of gene promoters in blood leukocytes in humans exposed to both gamma-radiation and alpha-particles. *Genetika.* 2018; 54: S22–26. DOI: 10.1134/S0016675818130118.
17. Blinova EA, Nikiforov VS, Kotikova AI, Yanishevskaya MA, Akleyev AV. Methylation status of apoptose genes and intensity of apoptotic death of peripheral blood lymphocytes in persons chronically exposed to radiation. *Molecular Biology.* 2022; 56 (5): 1–11.
18. Nikiforov VS, Blinova EA, Akleyev AV. The transcriptional activity of cell cycle and apoptosis genes in chronically exposed people with an increased frequency of TCR mutant lymphocytes. *Radiation and Risk (Bulletin of the National Radiation and Epidemiological Registry).* 2020; 29 (2): 89–100. DOI: 10.21870/0131-3878-2020-29-2-89-100.