

УДК 577.2:575.224.23:612.112.94:539.1.047

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГИПЕРМЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ У ОБЛУЧЕННЫХ ЛИЦ: ИТОГИ ИССЛЕДОВАНИЙ

© 2024 г. Н. С. Кузьмина^{1,2*}, Н. Ш. Лаптева¹, А. В. Рубанович¹

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия

²Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук, Москва, Россия

*E-mail: nin-kuzmin@yandex.ru

Поступила в редакцию 29.08.2023 г.

После доработки 25.12.2023 г.

Принята к публикации 29.05.2024 г.

Подытожены результаты изучения гиперметиличивания промоторов совокупности генов клеточного цикла (*RASSF1A*, *p16/INK4A*, *p14/ARF*, *p53*, *ATM*), антиоксидантной защиты (*GSTP1*, *SOD3*), эстрогенового рецептора (*ESR1*) у лиц, подвергшихся хроническому или фракционированному облучению в диапазоне малых и средних доз (101 чел., 24–78 лет: ликвидаторы аварии на Чернобыльской АЭС и взрослые жители территорий, загрязненных радионуклидами, 135–688 кБк/м²), в аспекте связи этих эпигенетических модификаций с цитогенетическим статусом индивида. Множественный регрессионный анализ показал, что частота как простых, так и сложных обменных аберраций хромосомного типа ассоциирована со статусом метилирования совокупности изученных генов ($\beta = 0.504$, $p = 1.9E-7$ и $\beta = 0.349$, $p = 3.6E-4$ соответственно), но не с возрастом ($\beta = -0.122$, $p = 0.178$ и $\beta = 0.153$, $p = 0.109$). В целом продемонстрированы высокосзначимые различия между группами облученных лиц, имеющих разный эпигенетический статус (число гиперметиличиванных генов), по всем рассмотренным цитогенетическим показателям, за исключением аберраций хроматидного типа (Н-критерий Краскелла–Уоллиса: $p = 2E-4$ и $p = 5E-8$ для суммарной частоты цитогенетических нарушений и перестроек хромосомного типа соответственно). Уровень цитогенетических нарушений хромосомного типа возрастает с увеличением количества метилированных генов у облученных индивидов. Полученные данные могут указывать на общие закономерности в механизмах индукции и сохранении на протяжении многих лет рассмотренных генетических и эпигенетических эффектов радиации.

Ключевые слова: радиация, гиперметиличивание, промотор гена, CpG-островок, лейкоциты человека, аберрации хромосом

DOI: 10.31857/S0869803124040014, EDN: LONKJR

Совокупность данных мировой литературы позволяет говорить о широком спектре последствий для структурно-функционального статуса клетки, которые имеют место при индукции таких эпигенетических модификаций как изменения метилирования ДНК. Это зависит как от расположения анализируемого CpG-сайта, так и от направленности процесса модификации (гипо-/гиперметиличивание). В экспериментальных исследованиях установлено, что гиперметиличивание CpG-островков, как правило, приводит

к супрессии активно работающих генов [1]. Такие локус-специфические изменения эпигенома могут быть индуцированы генотоксическими факторами, в том числе радиацией, ассоциированы с преждевременным старением организма и возраст-ассоциированными заболеваниями [1–5]. Поэтому рассмотрение гиперметиличивания промоторов генов как отдаленных биомаркеров облучения, имеющих прогностическую ценность в отношении здоровья человека, представляется важным и актуальным.

Как было изложено в наших предыдущих работах [6–8], итоговые результаты многолетнего пилотного изучения гиперметилирования промоторов совокупности генов *RASSF1A*, *p14/ARF*, *p16/INKA*, *GSTP1*, *p53*, *ATM*, *ESR1*, *SOD3* в различных когортах облученных лиц свидетельствуют о значимости радиационного фактора в индукции рассматриваемых эпигенетических изменений. Это в целом верифицировано на независимых выборках облученных индивидов. Показана дифференциальная значимость возраста и радиационного воздействия в метилировании CpG-островков промоторов разных генов. Последнее согласуется с данными, полученными позднее некоторыми коллективами в исследованиях эпигенетического статуса других локусов (обследование работников Сибирского химического комбината, жителей прибрежных сел р. Теча) [9–11].

Результаты ROC-анализа и наблюдаемый нами дозозависимый характер рассматриваемых изменений метилирования демонстрируют существенную эффективность выявления облученных лиц с помощью этих эпигенетических маркеров [8]. Очевидно, что рассмотрение гиперметилирования генов как отдаленных биомаркеров облучения подразумевает также оценку их связи с такими цитогенетическими нарушениями, как абберрации хромосомного типа, характерными преимущественно для радиационного воздействия. Отметим, что для последних отсутствуют явные доказательства сопряженности с заболеваемостью [1].

В нашей предыдущей публикации показано увеличение частоты хромосомных нарушений у облученных лиц с возрастанием количества метилированных генов из числа *RASSF1A*, *p14/ARF*, *p16/INKA*, *GSTP1* [12]. Цель настоящей работы заключалась в анализе совокупности полученных на протяжении нескольких лет данных, направленном на оценку сопряженности статуса метилирования промоторов восьми генов *RASSF1A*, *p14/ARF*, *p16/INKA*, *GSTP1*, *p53*, *ATM*, *ESR1*, *SOD3* с уровнем цитогенетических повреждений у облученных лиц в отдаленный период после перенесенного радиационного воздействия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

В настоящей работе проводится анализ сопряженности гиперметилирования промоторов восьми генов с цитогенетическим статусом облученных лиц, представляющих собой гетерогенную выборку индивидов, пострадавших в результате

аварии на ЧАЭС (101 чел., 24–78 лет: ликвидаторы аварии на Чернобыльской АЭС и взрослые жители территорий, загрязненных радионуклидами 135–688 кБк/м²). Характеристика обследованных индивидов уже подробно приводилась в публикациях [6, 12]. Зарегистрированные дозы облучения у ликвидаторов (если такие сведения имелись) находились в диапазоне от 35 до 480 мЗв. Промежуток времени между окончанием работ в зоне ликвидации и взятием образцов крови составлял более 15 лет. Цитогенетические и эпигенетические исследования проводились на протяжении многих лет в лаборатории экологической генетики ИОГен РАН, их методические подробности и полученные результаты опубликованы в наших предыдущих работах [6–8, 12–14]. Полученная совокупность данных позволила провести итоговый анализ сопряженности между изученными показателями.

Вкратце, анализ хромосомных аббераций лимфоцитов периферической крови включал микроскопирование монохромно окрашенных метафазных пластинок с целью выявления аббераций хроматидного и хромосомного типа. К первым относили одиночные и изохроматидные фрагменты, межхромосомные хроматидные обмены. Вторые включали простые (ацентрические парные фрагменты, центромерные разрывы, делеции, не сопровождающиеся ацентрическими фрагментами) и сложные обменные (дидентрики, центрические и ацентрические кольца, атипичные моноцентрики — симметричные транслокации, инверсии) хромосомные перестройки. Частичный кариотипический анализ с идентификацией гомологичных хромосом/групп гомологичных хромосом проводился с целью выявления делеций, реципрокных транслокаций, инверсий.

Анализ гиперметилирования CpG-островков промоторов генов клеточного цикла (*RASSF1A*, *p16/INK4A*, *p14/ARF*, *p53*, *ATM*), антиоксидантной защиты (*GSTP1*, *SOD3*), эстрогенового рецептора (*ESR1*) выполнен с применением детально описанной ранее оптимизированной и стандартизированной в лаборатории метилчувствительной полимеразной цепной реакции (МЧ-ПЦР), позволяющей диагностировать 0.1–1% метилированных аллелей в образце ДНК лейкоцитов крови [6, 7]. С помощью эндонуклеазы AclI (“Fermentas”, Литва), гидролизующей только неметилированные участки узнавания (5’...C↓C GC...3’), в общей сложности проанализирован статус метилирования 34 CpG-динуклеотидов генома: для промото-

ров генов *RASSF1A*, *p16/INK4A*, *p14/ARF*, *p53*, *ATM*, *GSTP1*, *SOD3*, *ESR1* количество рассматриваемых сайтов составило 7, 2, 3, 4, 6, 4, 6, 2 соответственно. У 80 облученных индивидов изучено гиперметилование промоторов всех восьми генов, а у 21 человека — только четырех (*RASSF1A*, *p16/INK4A*, *p14/ARF*, *GSTP1*) локусов.

Так как большинство современных исследований в области эпигенетики старения и возраст-ассоциированных заболеваний человека выполнено с помощью технологии микрочипирования (Illumina), мы предприняли попытку сопоставить проанализированные нами CpG-сайты генома с таковыми, аннотированными Illumina к Infinium Methylation EPIC 850k chip. Для этого были определены координаты проанализированных нами участков генома/позиции проанализированных CpG-сайтов с помощью программы BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) и сопоставлены с таковыми, аннотированными Illumina. К сожалению, большинство исследованных CpG-сайтов характеризуются расположением на расстоянии от нескольких килобаз (1kb = 1000 нуклеотидов) до сотен килобаз до ближайшего иллюминоовского CpG. Следует отметить, что значимая корреляция между уровнями метилирования CpG-сайтов генома отмечается на расстояниях менее 1 kb, а по по-

следним оценкам не более 500 b [15]. Только лишь два CpG-сайта, аннотированные Illumina, расположены в проанализированных нами фрагментах промоторов генов *p16/INK4A* и *SOD3*: cg14430974 и cg05706652 соответственно. Сопоставив позиции этих сайтов с таковыми для исследованных нами CpG-динуклеотидов в соответствующих участках генома, получаем, что наименьший интервал между проанализированным и аннотированным Illumina CpG-сайтом составляет 57 b и 4 b для гена *p16/INK4A* и *SOD3* соответственно, что детально показано в табл. 1.

Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью программ SPSS 20.0.0. общепринятыми статистическими методами. Непараметрический корреляционный (по Спирмену) и множественный регрессионный анализы были использованы с целью выяснения зависимости между исследуемыми показателями (метилование промоторов генов, возраст, уровни цитогенетических нарушений). С помощью Н-критерия Краскела–Уоллиса (непараметрический аналог ANOVA теста) были оценены различия между группами облученных лиц, имеющих разный эпигенетический статус, по рассмотренным цитогенетическим показателям.

Таблица 1. Проанализированные CpG-динуклеотиды, локализованные в геноме вблизи (менее 100 kb) CpG-сайтов, аннотированных Illumina к Infinium Methylation EPIC 850k chip

Table 1. Analyzed CpG-dinucleotides localized in the genome near (less than 100 kb) CpG sites annotated by Illumina to the Infinium Methylation EPIC 850k chip

Показатель		Локус (хромосома)	
		<i>p16/CDKN2A</i> (chr9)	<i>SOD3</i> (chr4)
Позиция проанализированного фрагмента генома (интервал между праймерами)		21995680 — 21995928	24799424 — 24800253
CpG-сайты, аннотированные Illumina	общее число	41	19
	позиция в геноме (интервал)	21966564 — 21995735	24795830 — 24802387
	CpG-сайты, локализованные в проанализированном фрагменте генома (позиция)	cg10848754 (21995733), cg14430974 (21995735)	cg05706652 (24799557)
Проанализированные CpG-сайты (позиция)		21995793, 21995821, 21995907	24799440, 24799489, 24799552, 24799620, 24799634, 24799713
Наименьший интервал (b) между проанализированным и аннотированным Illumina CpG-сайтами		57 b	4 b

РЕЗУЛЬТАТЫ

Наша предыдущая публикация посвящена итогам проводимого в течение нескольких лет изучения гиперметилирования промоторов восьми генов *RASSF1A*, *p14/ARF*, *p16/INKA*, *GSTP1*, *p53*, *ATM*, *ESR1*, *SOD3* у 605 человек, 273 из которых были облучены. Результаты свидетельствуют о значимой сопряженности фактора радиационного воздействия с метилированием совокупности проанализированных генов. Кроме того, результаты мониторинга лиц, подвергшихся радиационному воздействию, свидетельствуют о выраженной поврежденности генома соматических клеток облученных индивидов спустя годы и десятки лет после экспонирования. В первую очередь это проявляется значимо повышенными уровнями aberrаций хромосомного типа, как простых, так и сложных обменных, что уже было детально изложено [6–8, 13, 14]. В настоящей работе приводятся итоговые результаты анализа ассоциативной связи между изученными эпигенетическими и цитогенетическими показателями.

В нашей предыдущей публикации приводились соответствующие результаты для первых четырех изученных генов *RASSF1A*, *p14/ARF*, *p16/INKA*, *GSTP1* [12]. Позднее проанализированный статус метилирования *p53*, *ATM*, *ESR1*, *SOD3* локусов

позволяет в настоящей работе рассмотреть его в аспекте связи с поврежденностью генома клеток крови и привести итоговые результаты изучения сопряженности эпигенетических изменений совокупности восьми генов с уровнем цитогенетических повреждений.

В табл. 2 продемонстрированы результаты непараметрического корреляционного анализа между изученными показателями. Так как распределения обследованных лиц по частотам метилированных генов и aberrаций хромосом не имели нормального характера, были вычислены соответствующие ранговые корреляции по Спирмену.

Как видно, для всех четырех генов выявлены невысокие, но значимые корреляции гиперметилирования промоторов с суммарной частотой хромосомных повреждений. Эта сопряженность обусловлена именно aberrациями хромосомного типа. Действительно, уровни как простых, так и сложных обменных хромосомных перестроек проявили значимую ассоциативную связь с эпигенетическими нарушениями. Исключение составил ген *SOD3* в смысле отсутствия связи гиперметилирования его промотора с частотой обменных aberrаций хромосомного типа. В то же время для aberrаций хроматидного типа рассматриваемые ассоциации не выявлены (табл. 2).

Таблица 2. Непараметрические корреляции* по Спирмену между метилированием CpG-островков промоторов генов и частотами aberrаций хромосом у облученных индивидов

Table 2. Spearman nonparametric correlations between methylation of CpG-islands of gene promoters and frequencies of chromosome aberrations in exposed individuals

Цитогенетические показатели	Гены				Общая частота метилированных генов**
	<i>p53</i>	<i>ATM</i>	<i>ESR1</i>	<i>SOD3</i>	
Суммарная частота aberrаций хромосом	0.248 (0.026)*	0.240 (0.032)	0.242 (0.030)	0.373 (0.001)	0.434 (5.8E-6)
Суммарная частота aberrаций хромосомного типа	0.331 (0.003)	0.413 (1.4E-4)	0.451 (2.7E-5)	0.369 (0.001)	0.614 (8.2E-12)
частота обменных aberrаций хромосомного типа	0.336 (0.002)	0.343 (0.002)	0.322 (0.004)	0.276 (0.130)	0.437 (4.8E-6)
частота простых aberrаций хромосомного типа	0.223 (0.047)	0.326 (0.003)	0.367 (0.001)	0.298 (0.007)	0.500 (1.0E-7)
Суммарная частота aberrаций хроматидного типа	0.018 (0.873)	–0.112 (0.323)	–0.047 (0.680)	0.132 (0.243)	0.071 (0.479)

* Под коэффициентами корреляций в скобках указаны двусторонние уровни значимости (*p*-value).
** Рассчитана как отношение выявленного количества метилированных генов к общему числу проанализированных локусов (с учетом проанализированных ранее локусов их общее число восемь, т. е. *RASSF1A*, *p14/ARF*, *p16/INKA*, *GSTP1*, *p53*, *ATM*, *ESR1*, *SOD3*).

Показана высокосignificant ассоциативная связь частоты метилированных генов (отношение выявленного количества метилированных генов к общему числу проанализированных локусов) с суммарной частотой aberrаций хромосом, цитогенетических нарушений хромосомного типа (как

простых, так и обменных), но не с уровнем хроматидных aberrаций (табл. 2).

В табл. 3 показаны результаты множественного регрессионного анализа зависимости цитогенетических показателей от возраста индивида и частоты гиперметилированных генов. Как видно,

Таблица 3. Зависимость цитогенетических нарушений от возраста и частоты метилированных генов у облученных индивидов (множественный регрессионный анализ)

Table. 3. The dependence of cytogenetic disorders on age and frequency of methylated genes in irradiated individuals (multiple regression analysis)

Показатель	$B^* (\pm SE)$	β^{**}	t^{***}	p -value
Суммарная частота aberrаций хромосом ~ частота метилированных генов + возраст				
Константа	0.022 ± 0.004		5.658	1.5E-7
Возраст	$-1.5E-4 \pm 7.1E-5$	-0.190	-2.071	0.041
Метилирование	0.032 ± 0.007	0.457	4.97	2.8E-6
Коэффициент детерминации $R^2 = 0.208$				
Суммарная частота aberrаций хромосомного типа ~ частота метилированных генов + возраст				
Константа	0.006 ± 0.002		2.791	0.006
Возраст	$-2.2E-5 \pm 3.8E-5$	-0.047	-0.560	0.576
Метилирование	0.025 ± 0.004	0.597	7.159	1.5E-10
Коэффициент детерминации $R^2 = 0.347$				
Частота обменных aberrаций хромосомного типа ~ частота метилированных генов + возраст				
Константа	$-5.7E-4 \pm 0.001$		-0.593	0.555
Возраст	$2.9E-5 \pm 1.8E-5$	0.153	1.618	0.109
Метилирование	0.006 ± 0.002	0.349	3.698	3.6E-4
Коэффициент детерминации $R^2 = 0.167$				
Частота простых aberrаций хромосомного типа ~ частота метилированных генов + возраст				
Константа	0.006 ± 0.002		3.164	0.002
Возраст	$-5.1E-5 \pm 3.7E-5$	-0.122	-1.357	0.178
Метилирование	0.019 ± 0.003	0.504	5.603	1.9E-7
Коэффициент детерминации $R^2 = 0.243$				
Частота aberrаций хроматидного типа ~ частота метилированных генов + возраст				
Константа	0.016 ± 0.003		4.938	3.2E-6
Возраст	$-1.365 \pm 6.1E-5$	-0.225	-2.241	0.027
Метилирование	0.008 ± 0.006	0.138	1.380	0.171
Коэффициент детерминации $R^2 = 0.057$				

* Коэффициент линейной регрессии.

** Стандартизованный коэффициент линейной регрессии.

*** Отношение B/β .

общая частота aberrаций хромосом (хроматидные + хромосомные) преимущественно ассоциирована со статусом метилирования ($\beta = 0.457$, $p = 2.8E-6$), хотя с возрастом сопряженность оказалась тоже значимой ($\beta = -0.190$, $p = 0.041$). Как показывает анализ данных, последняя обусловлена вкладом aberrаций хроматидного типа: их уровень ассоциирован с возрастом ($\beta = -0.225$, $p = 0.027$), но не с эпигенетическими изменениями ($\beta = 0.138$, $p = 0.171$). Отметим, что переменная “возраст” входит в оба уравнения множественной регрессии (суммарная частота aberrаций хромосом ~ частота метилированных генов + возраст и частота aberrаций хроматидного типа ~ частота метилированных генов + возраст) с отрицательным коэффициентом.

Суммарная частота aberrаций хромосомного типа ассоциирована со статусом метилирования ($\beta = 0.597$, $p = 1.5E-10$), но не с возрастом ($\beta = -0.047$, $p = 0.576$). Высокозначимый угловой коэффициент при переменной “частота метилированных генов” имеет место в уравнениях, описывающих как уровень простых ($\beta = 0.504$, $p = 1.9E-7$), так и сложных обменных хромосомных перестроек ($\beta = 0.349$, $p = 3.6E-4$) (табл. 3).

Н-критерий Краскела–Уоллиса также продемонстрировал высокозначимые различия между группами облученных лиц, имеющих разный эпигенетический статус, по всем рассмотренным цитогенетическим показателям, за исключением aberrаций хроматидного типа. Так, у индивидов, характеризующихся частотами метилированных генов 0, 0.125, 0.25, 0.375, 0.5, средние уровни aberrаций хромосом и aberrаций хромосомного типа (на 1 клетку) составили соответственно 0.014 ± 0.001 и 0.005 ± 0.001 , 0.017 ± 0.002 и 0.007 ± 0.001 , 0.025 ± 0.002 и 0.012 ± 0.001 , 0.022 ± 0.004 и 0.011 ± 0.002 , 0.024 ± 0.002 и 0.016 ± 0.002 . Значимость различий между этими группами характеризуется следующими статистическими показателями: $\chi^2 = 22.021$, $df = 4$, $p = 2E-4$ и $\chi^2 = 39.690$, $df = 4$, $p = 5E-8$ для суммарной частоты цитогенетических нарушений и перестроек хромосомного типа, соответственно.

Рис. 1. демонстрирует существенные различия между рассматриваемыми группами по частоте как простых, так и сложных обменных aberrаций хромосомного типа: $\chi^2 = 28.081$, $df = 4$, $p = 1.2E-5$ и $\chi^2 = 20.634$, $df = 4$, $p = 3.7E-4$. Отметим, что количество лиц с высокими частотами метилированных генов (0.375 и 0.5) является незначительным (семь и три человека соответственно). Поэтому некоторые цитогенетические показате-

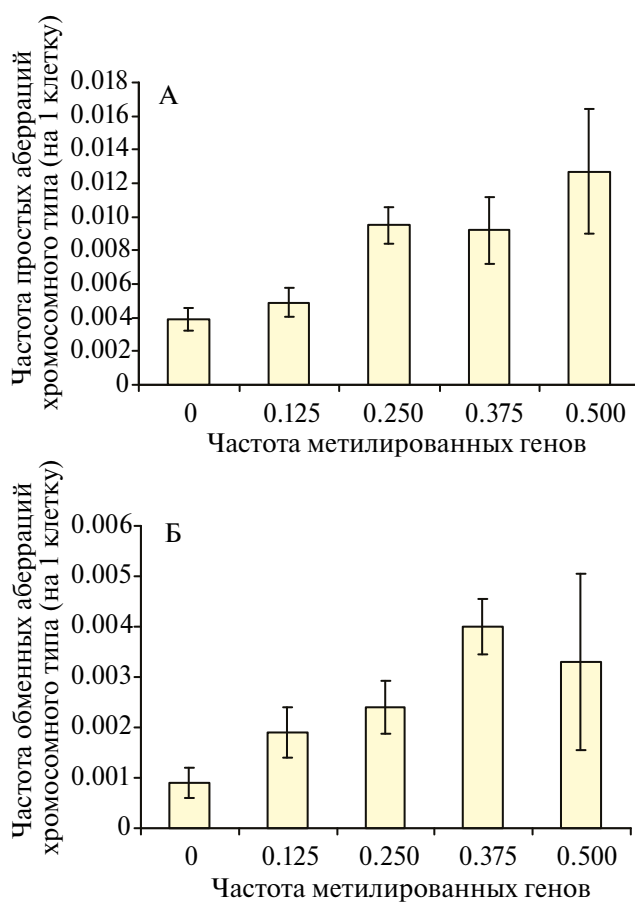


Рис. 1. Частоты aberrаций хромосом у облученных лиц в зависимости от статуса метилирования промоторов генов: А — простые aberrации хромосомного типа; Б — обменные aberrации хромосомного типа.

Приведенные разбросы соответствуют стандартным ошибкам.

Fig. 1. The frequency of chromosomal aberrations in irradiated individuals depending on the methylation status of gene promoters: А — simple aberrations of the chromosomal type; Б — exchange aberrations of the chromosomal type.

The given variations correspond to standard errors (SE).

ли не отличались от таковых у индивидов с менее измененным эпигенетическим статусом.

Разброс индивидуальных уровней aberrаций хромосом и сопряженность этих цитогенетических нарушений с изменениями метилирования ($R^2 = 0.229$, $p = 4.3E-7$ и $R^2 = 0.145$, $p = 8.6E-5$ для простых и обменных aberrаций хромосомного типа соответственно) визуальным образом представлены на рис. 2. Таким образом, уровень цитогенетических нарушений хромосомного типа возрастает с увеличением количества метилированных генов у облученных индивидов.

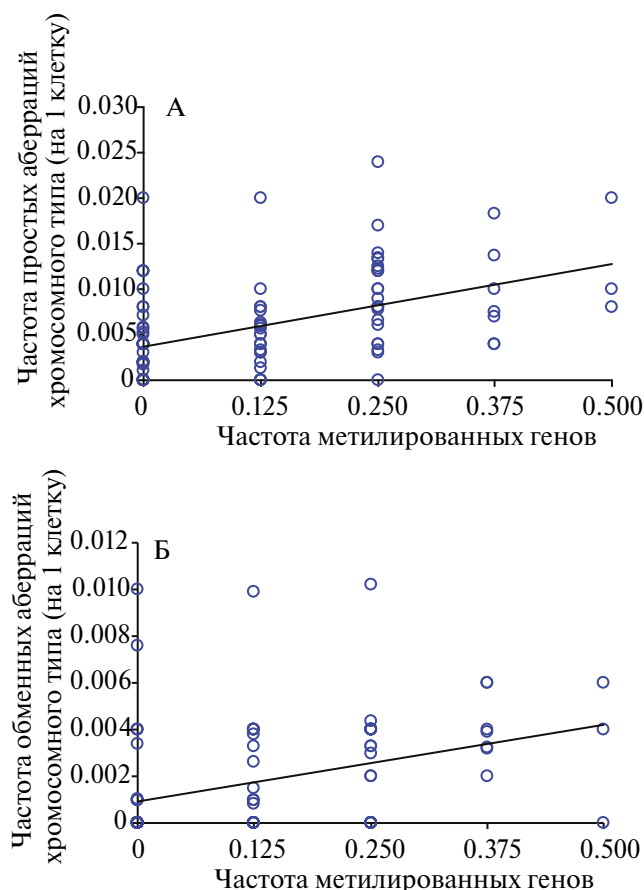


Рис. 2. Зависимость уровня aberrаций хромосомного типа от частоты метилированных генов у облученных лиц: А — простые aberrации хромосомного типа; Б — обменные aberrации хромосомного типа.
Fig. 2. Dependence of the level of chromosomal type aberrations on the frequency of methylated genes in exposed individuals: А — simple aberrations of the chromosomal type; Б — exchange aberrations of the chromosomal type.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе выявлена сопряженность между частотой генетических и эпигенетических нарушений в клетках крови, регистрируемых, как правило, в отдаленный период после перенесенного радиационного воздействия. А именно, наблюдается невысокая, но высокосignимая прямая корреляционная связь между уровнями aberrаций хромосомного типа (как простых, так и сложных обменных) и частотой метилированных генов у облученных индивидов.

Следует подчеркнуть, что нами для исследований были выявлены активно работающие гены основных защитных систем клетки, в большинстве случаев характеризующиеся крайне низким уровнем метилирования CpG-островков промоторов.

Примененный рутинный метод простой метил-чувствительной ПЦР является качественным, а не количественным. Другими словами, на электрофореграмме может визуализироваться полоса, интенсивность которой соответствует определенному количеству метилированных матриц в образце ДНК (больше 0.1–1%). Причем, чтобы сигнал был положительный, все CpG-динуклеотиды в участках узнавания использованной нами рестриктазы должны быть метилированы. Поэтому при заданных нами условиях амплификации даже в группе облученных индивидов частота лиц с выявляемым метилированием невысока и находится в диапазоне 10–20% в зависимости от гена. Лишь для локуса *SOD3* этот показатель составлял более 40% [7, 8].

Как уже было изложено в разделе “Материалы и методика”, два CpG-сайта, аннотированные Illumina, расположены в проанализированных нами фрагментах промоторов генов: cg14430974 (ген *p16/INK4A*) и cg05706652 (ген *SOD3*). Так как наименьший интервал между проанализированными нами и аннотированными Illumina CpG-сайтами составляет всего лишь единицы — десятки баз, будем считать, что имеет место значимая корреляция между уровнями метилирования этих CpG-динуклеотидов. В рамках сотрудничества с лабораторией анализа генома ИОГен РАН (научно-техническая Программа Союзного государства “ДНК-идентификация” [16]), А.В. Рубановичем проводился статистический анализ средних уровней метилирования 820 365 CpG-сайтов генома в группе необлученных лиц. Для вышеупомянутого cg14430974 (ген *p16/INK4A*) этот показатель составил $\beta = 0.0470$ и существенно был ниже такового для гена *SOD3* (cg05706652, $\beta = 0.8194$), что в целом согласуется с наблюдаемой высокой частотой встречаемости метилирования локуса *SOD3* в наших исследованиях.

При обследовании облученных работников Сибирского химического комбината выявлена сопряженность степени метилирования промоторов других генов (*BAX*, *APAF1*, *GADD45A*, *CASP9*, *CIDEB*) с теми или иными цитогенетическими показателями. Для некоторых локусов (*BAD*, *BID*, *HRK*, *CASP9*, *CIDEB*) наблюдалась дозовая зависимость этих эпигенетических нарушений [9, 10]. Слабая корреляция уровня метилирования промотора гена *ATM* с дозовой нагрузкой отмечена и у жителей прибрежных сел р. Теча [11].

Наблюдаемая сопряженность между цитогенетическими нарушениями и изменением статуса

метилирования промоторов генов, по нашему мнению, вполне согласуется с общностью механизмов индукции и причин сохранения на протяжении многих лет генетических и эпигенетических эффектов радиации. Во-первых, как уже обсуждалось нами ранее, радиационно-индуцированное гиперметилование генов связано с оксидативным стрессом, что приводит к сверхрегуляции ДНК метилтрансфераз и рекрутированию этих ферментов к специфическим сайтам репарации ДНК. Во-вторых, повреждения генома/эпигенома могут быть связаны как с непосредственным действием квантов радиации/ионизирующих частиц на клетки крови и их стволовые гемопоэтические предшественники, так и с немишенными отсроченными эффектами облучения (радиационно-индуцированная геномная нестабильность и эффект “свидетеля”) [6–8, 12]. С современных позиций, в реализации последних важная роль отводится механизмам хронического оксидативного стресса, связанным с повреждением митохондрий и их дисфункциями [7, 17].

Предполагаемую роль механизмов хронического оксидативного стресса в реализации отдаленных эффектов облучения, например, демонстрируют данные, свидетельствующие о повышенном уровне продуктов липидной перекисидации и 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина (8-OHdG). Это сопряжено с такими показателями нестабильности генома, как уровни аберрации хромосом, ломкость теломер у врачей-радиологов, подвергшихся многолетнему низкоинтенсивному облучению [18]. При обследовании этого контингента облученных лиц показана обратная сопряженность уровня вышеупомянутых повреждений гуанина с тотальным метилированием генома [19].

Ранее нами уже обсуждалось выявленное в нескольких работах других исследователей на животных гиперметилование генов в отдаленный период после воздействия ионизирующих излучений [1]. В последние годы в экспериментах на растениях и рыбах показано сохранение радиационно-индуцированных изменений статуса метилирования генов в ряду поколений, т. е. трансгенерационная передача этих эпигенетических маркеров перенесенного облучения [20, 21].

Так, через год после хронического воздействия γ -излучения (8.7 мГр/ч, 27 дней) на родительское поколение zebrafish (отряд карпообразные) у потомков F1-генерации (исследование эмбрионов, 5.5 ч после фертилизации) методом полногеномного секвенирования выявлено 5658 диффе-

ренциально-метилованных сайтов (DMRs), преимущественно локализованных в регуляторных участках генома — промоторах генов и энхансерах. Гены DMRs были ассоциированы с развитием, апоптозом, индукцией раковых опухолей, причем анализ экспрессии генов показал сопряженность изменений с аналогичными функциями. Показано, что изменения метилирования ДНК частично могут сохраняться на протяжении нескольких поколений: из 19 DMR, выявленных в поколении F1, пять DMR регистрировались вплоть до F3-генерации. По мнению авторов, наблюдаемые эпигенетические модификации могут быть ассоциированы с выявляемыми дефектами развития и нестабильностью генома у потомков облученных родителей [20]. В эксперименте на *Arabidopsis thaliana* в результате воздействия γ -излучения (30 и 110 мГр/ч) у представителей всех трех поколений растений (родительское поколение — ранее не экспонированные растения, особи поколений 1 и 2 — потомки облученных родителей) наблюдалось увеличение числа ДМР, причем во второй генерации рассматриваемые изменения были наиболее выражены. По мнению авторов, полученные результаты могут указывать на роль метилирования ДНК в регуляции генов, ассоциированных с развитием и различными стрессовыми реакциями, в ответ на воздействие радиации, и обеспечивают адаптацию растений в течение нескольких поколений [21].

В последние годы активно обсуждаются модификации метилирования генома как молекулярного механизма гормезиса при воздействии генотоксических факторов в низких дозах и концентрациях. Они имеют место наряду с такими процессами как модуляция транскрипционного фактора Nrf2, активирующего синтез глутатиона, изменения экспрессии микроРНК и т. д. [22]. Очевидно, что индукция защитного ответа клетки на облучение должна быть ассоциирована с генерализованными изменениями метилирования ДНК. Нами же в отдаленный период после экспонирования выявлено гиперметилование отдельных CpG-динуклеотидов CpG-строгов промоторов ряда генов, затрагивающее малую фракцию клеточной популяции облученного организма. Так как эти эпигенетические модификации характеризуются зависимостью от дозы и ассоциированы с уровнем цитогенетических нарушений хромосомного типа, поэтому преимущественно является результатом повреждающего действия радиации на молекулы клетки (мишенными и немишенными эффектами облучения) [6–8, 12].

Заслуживает внимания, что сопряженность общей частоты aberrаций хромосом (хроматидные + хромосомные) не только с метилированием генов, но и с возрастом оказалась невысокой, но значимой. Эта обратная корреляционная связь обусловлена вкладом aberrаций хроматидного типа, уровень которых таким же образом ассоциирован с возрастом. Хотя этот факт объяснить пока сложно, не исключено, что речь идет о проявлениях радиационно-индуцированной нестабильности генома, для которой характерны простые aberrации хромосом, в первую очередь одиночные хроматидные фрагменты и наибольшая выраженность в молодом организме [13]. Наша выборка состояла из облученных лиц, чем моложе они были на момент обследования, тем в более раннем периоде онтогенеза имело место радиационное воздействие.

Вопрос относительно специфичности выявленного гиперметиличирования ряда генов для радиационного воздействия остается открытым. Здесь следует подчеркнуть, что мы обследуем людей, заведомо зная о присутствии у них в анамнезе перенесенного облучения, а не выборку индивидов, произвольно отобранную из общей популяции и изученную на предмет наличия у них цитогенетических/эпигенетических нарушений.

В обзоре [23] приводится анализ изменений метилома в клетках крови лиц, подвергшихся воздействию генотоксикантов (в основном химической природы) в результате профессиональной деятельности. К сожалению, авторам не удалось выявить специфические маркеры воздействия тех или иных генотоксических факторов, что объясняется многообразием спектра изученных “кандидатных” генов и самих токсических агентов, а также недостаточностью работ, посвященных длительному мониторингу изменений эпигенома.

В наших исследованиях гиперметиличирование промоторов локусов *p16/INKA* и *GSTP1* высоко значимо ассоциировано с радиационным воздействием, что верифицировано на двух тестовых выборках обследованных индивидов [6–8]. В экспериментах на мышах показано индуцированное рентгеновским излучением гиперметиличирование CpG-островка гена *p16/INKA* в клетках желудочно-кишечного тракта, но не *p19/ARF*. Абсолютно обратная ситуация наблюдается при введении животным нитрозометилмочевины и/или инфицирования их *Helicobacter felis* H. *Felis*: эпигенетическая модификация выявлена только у гена *p19/ARF*. Таким образом, исследователи наблюдали диф-

ференциальный характер метилирования генов *p16/INKA* и *p19/ARF* при воздействии разных канцерогенов [24].

В то же время рассматриваемые эпигенетические модификации этих генов, в первую очередь *p16*, выявлены в других работах у лиц, подвергшихся экспонированию различных факторов химической природы, причем эффекты носят разнонаправленный характер. Так, гиперметиличирование *p16* было ассоциировано с воздействием бензена [25], полициклических ароматических углеводородов [26], ультрадисперсных частиц PM2.5 [27], свинца [28, 29], каменноугольной смолы [30], никеля [31]. Повышенный уровень метилирования *GSTP1* выявлен у лиц, подвергшихся действию пестицидов [32], но не свинца [28, 29]. Кроме того, в работе [33] показана сопряженность гипометиличирования этого локуса с воздействием свинца в высоких концентрациях. Гипометиличирование промотора гена *p53* наблюдалось как результат воздействия полициклических ароматических углеводородов [34], а также частиц PM2.5 [27]. Воздействие последних ассоциировано и с гипометиличированием гена *RASSF1A* [27].

Хотя, судя по всему, ген клеточного цикла *p16* является в наибольшей мере изученным по сравнению с другими локусами, нельзя исключать и его большую “уязвимость” к действию факторов не только радиационной, но и химической природы; отчетливо прослеживается преимущественно одинаковая направленность процесса его эпигенетической модификации при действии разных генотоксикантов.

Следует подчеркнуть, что в ряде вышеупомянутых работ индуцированные теми или иными генотоксикантами эпигенетические модификации генов, имеющие разную направленность, сопряжены с высокой поврежденностью генома (повышенные уровни микроядер, ДНК-аддуктов, укорочение длины теломер) [26, 29, 30, 34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в отдаленный период после облучения в диапазоне малых и средних доз выявлена положительная ассоциативная связь между поврежденностью генома и гиперметиличированием генов основных защитных систем клеток. Полученные данные могут указывать на общие закономерности в механизмах индукции и сохранении на протяжении многих лет рассмотренных генетических и эпигенетических эффектов радиации.

Хотя вопрос относительно специфичности выявленных эпигенетических нарушений именно для радиационного воздействия остается открытым, представляется важным включение в комплексную оценку отдаленных эффектов облучения исследования гиперметилирования промоторов генов с расширением спектра анализируемых локусов. В целом это даст возможность создать высокопрогностическую систему генетических/эпигенетических маркеров, имеющую значительную информативность не только в биоиндикации радиационного воздействия, но и в своевременном выявлении лиц с предикторами преждевременного старения и развития возраст-ассоциированных заболеваний.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа частично выполнена в рамках темы государственного задания Минобрнауки России “Механизмы генетических процессов у микроорганизмов, растений, животных и человека” (№ 122022600163-7), подтемы “Генотоксиканты и антигенотоксиканты окружающей среды: маркеры отдаленного воздействия и генетические риски развития широко распространенных заболеваний”.

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или Национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kuzmina N.S. Radiation-Induced DNA Methylation Disorders: In Vitro and In vitro Studies. *Biol. Bull.* 2021; 48(11):2015–2037. <http://doi:10.1134/S1062359021110066>
2. Horvath S., Raj K. DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing. *Nat. Rev. Genet.* 2018;19(6):371–384. <http://doi:10.1038/s41576-018-0004-3>
3. Levine M.E., Lu A.T., Quach A. et al. An epigenetic biomarker of aging for lifespan and healthspan. *Aging (Albany NY)*. 2018;10(4):573–591. <http://doi:10.18632/aging.101414>
4. McCrory C., Fiorito G., Hernandez B. et al. GrimAge Outperforms Other Epigenetic Clocks in the Prediction of Age-Related Clinical Phenotypes and All-Cause Mortality. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 2021;76(5):741–749. <http://doi:10.1093/gerona/glaa286>
5. McCartney D.L., Hillary R.F., Stevenson A.J. et al. Epigenetic prediction of complex traits and death. *Genome Biol.* 2018;19(1):136. <http://doi:10.1186/s13059-018-1514-1>
6. Kuzmina N.S., Lapteva N.Sh., Rubanovich A.B. Hypermethylation of genepromoters in peripheral blood leukocytes in humans long term after radiation exposure. *Environ. Res.* 2016;146:10–17. <http://doi:10.1016/j.envres.2015.12.008>
7. Kuzmina N.S., Lapteva N.Sh., Rusinova G.G. et al. Gene hypermethylation in blood leukocytes in humans long term after radiation exposure — validation set. *Environ. Poll.* 2018;234:935–942. <http://doi:10.1016/j.envpol.2017.12.039>
8. Kuzmina N.S., Lapteva N. Sh., Rubanovich A.V. Hypermethylation of Gene Promoters in Blood Leukocytes of Irradiated Individuals—Final Research Results. *Russ. J. Genetics.* 2022;58(11):1373–1384. <http://doi:10.1134/S1022795422110060>
9. Isubakova D.S., Tsymbal O.S., Bronikovskaya E.V. et al. Methylation of promoters of apoptosis-related genes in blood lymphocytes of workers exposed to occupational external irradiation. *Bull. Experim. Biol. Med.* 202;171(3):357–361. <http://doi:10.1007/s10517-021-05227-y>
10. Исубакова Д.С., Цымбал О.С., Литвяков Н.В. и др. Связь метилирования промоторов генов апоптоза в лимфоцитах крови с частотой хромосомных aberrаций и дозой облучения. *Экол. генетика.* 2022;20(4):315–323. [Isubakova D.S., Tsymbal O.S., Litvyakov N.V. et al. Relationship between methylation of promoters of apoptosis genes in blood lymphocytes with the frequency of chromosomal aberrations and the dose of radiation. *Ecological Genetics.* 2022;20(4):315–323. (in Russ.)]. <http://doi:10.17816/ecogen109119>
11. Blinova E.A., Nikiforov V.S., Kotikova A.I. et al. Methylation status of apoptosis genes and intensity of apoptotic death of peripheral blood lymphocytes in persons chronically exposed to radiation. *Mol. Biol.* 2022;56(6):993–1002. <http://doi:10.1134/s002689332205003x>
12. Kuzmina N.S., Lapteva N.Sh., Rubanovich A.V. The association between hypermethylation of gene promoters and cytogenetic disturbances in humans exposed to radiation as a result of the Chernobyl accident. *Biol. Bull.* 2021;48(12):2099–2104. <http://doi:10.1134/S1062359021120086>
13. Сусков И.И., Агаджанян А.В., Кузьмина Н.С. и др. Проблема трансгенерационного феномена геномной нестабильности у больных детей разных возрастных групп после аварии на ЧАЭС. *Радиац. биология. Радиоэкология.* 2006;46(4):466–474. [Suskov I.I., Agadzhanian A.V., Kuz'mina N.S. i dr.

- Problema transgeneratsionnogo fenomena genomnoy nestabil'nosti u bol'nykh detey raznykh vozrastnykh grupp posle avarii na ChAES = The problem of the transgeneration phenomenon of genome instability in sick children of different age groups after the accident at the Chernobyl nuclear power plant. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya*. 2006;46(4):466-474. (in Russ)].
14. Сальникова Л.Е., Фомин Д.К., Елисова Т.В. и др. Изучение связи цитогенетических и эпидемиологических показателей с генотипами у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2008;48(3):303-312. [Sal'nikova L.Ye., Fomin D.K., Yelisoa T.V. i dr. Izucheniye svyazi tsitogeneticheskikh i epidemiologicheskikh pokazateley s genotipami u likvidatorov posledstviy avarii na ChAES = Genotype Dependence of Cytogenetic and Epidemiological Characteristics in the Liquidators of the Accident at the ChNPP. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya*. 2008;48(3):303-312. (in Russ.)].
 15. Han Y., Franzen J., Stiehl T. et al. New targeted approaches for epigenetic age predictions. *BMC Biol*. 2020;18:71. <http://doi: 10.1186/s12915-020-00807-2>
 16. <https://soyuz.by/projects/ldfklr/programma-razrabotka-innovacionnyh-genogeograficheskikh-i-genomnyh-tehnologiy-identifikacii-lichnosti-i-individualnyh-osobennostey-cheloveka-na-osnove-izucheniya-genofondov-regionov-soyuznogo-gosudarstva-dnk-identifikaciya>
 17. Averbeck D., Rodriguez-Lafrasse C. Role of Mitochondria in Radiation Responses: Epigenetic, Metabolic, and Signaling Impacts. *Int. J. Mol. Sci*. 2021;22 (20):11047. <http://doi: 10.3390/ijms222011047>
 18. Tričković J.F., Šobot A.V., Joksić I., Joksić G. Telomere fragility in radiology workers occupationally exposed to low doses of ionising radiation. *Arh. Hig. Rad. Toksikol*. 2022;73(1):23-30. <http://doi: 10.2478/aiht-2022-73-3609>
 19. Chen B., Dai Q., Zhang Q. et al. The relationship among occupational irradiation, DNA methylation status, and oxidative damage in interventional physicians. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(39):e17373. <http://doi: 10.1097/MD.00000000000017373>
 20. Kamstra J.H., Hurem S., Martin L.M. et al. Ionizing radiation induces transgenerational effects of DNA methylation in zebrafish. *Sci. Rep*. 2018;8(1):15373. <http://doi: 10.1038/s41598-018-33817-w>
 21. Laanen P., Saenen E., Mysara M. et al. Changes in DNA Methylation in *Arabidopsis thaliana* Plants Exposed Over Multiple Generations to Gamma Radiation. *Front. Plant Sci*. 2021;12:611783. <http://doi: 10.3389/fpls.2021.611783>
 22. Rossnerova A., Izzotti A., Pulliero A. et al. The Molecular Mechanisms of Adaptive Response Related to Environmental Stress. *Int. J. Mol. Sci*. 2020;21(19): 7053. <http://doi: 10.3390/ijms21197053>
 23. Jiménez-Garza O., Ghosh M., Barrow T.M., Godderis L. Toxicomethylomics revisited: A state-of-the-science review about DNA methylation modifications in blood cells from workers exposed to toxic agents. *Front. Public Health*. 2023;11: 1073658. <http://doi: 10.3389/fpubh.2023.1073658>
 24. Yang C., Gu L., Deng D. Distinct susceptibility of induction of methylation of p16ink4a and p19arf CpG islands by X-radiation and chemical carcinogen in mice. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen*. 2014;768:42-50. <http://doi: 10.1016/j.mrgentox.2014.04.012>
 25. Xing C., Wang Q., Tian H. et al. Hypermethylation and downregulation of tumor suppressor gene p16 in benzene poisoning. *Wei Sheng Yan Jiu*. 2012;41(2):247-50. (in Chinese).
 26. Yang P., Ma J., Zhang B. et al. CpG site-specific hypermethylation of p16INK4a in peripheral blood lymphocytes of PAH-exposed workers. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev*. 2012;21(1):182-90. <http://doi: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0784>
 27. Hou L., Zhang X., Zheng Y. et al. Altered methylation in tandem repeat element and elemental component levels in inhalable air particles. *Environ. Mol. Mutagen*. 2014;55(3):256-65. <http://doi: 10.1002/em.21829>
 28. Kovatsi L., Georgiou E., Ioannou A. et al. p16 promoter methylation in Pb2+ -exposed individuals. *Clin. Toxicol. (Phila)*. 2010;48(2):124-8. <http://doi: 10.3109/15563650903567091>
 29. Yu L.B., Tu Y.T., Huang J.W. et al. Hypermethylation of CpG islands is associated with increasing chromosomal damage in chinese lead-exposed workers. *Environ. Mol. Mutagen*. 2018;59(6):549-556. <http://doi: 10.1002/em.22194>
 30. Wang Y., Duan X., Zhang Y. et al. DNA methylation and telomere damage in occupational people exposed to coal tar pitch. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. 2015;33(7):507-11. (in Chinese).
 31. Yang J., Chen W., Li X. et al. Relationship between urinary nickel and methylation of p15, p16 in workers exposed to nickel. *J. Occup. Environ. Med*. 2014; 56(5):489-92. <http://doi: 10.1097/JOM.0000000000000168>
 32. Rusiecki J.A., Beane Freeman L.E., Bonner M.R. et al. High pesticide exposure events and DNA methylation among pesticide applicators in the agricultural health study. *Environ. Mol. Mutagen*. 2017;58(1):19-29. <http://doi: 10.1002/em.22067>
 33. Devóz P.P., Reis M.B.D., Gomes W.R. et al. Adaptive epigenetic response of glutathione (GSH)-related genes against lead (Pb)-induced toxicity, in individuals chronically exposed to the metal. *Chemosphere*. 2021;269:128758. <http://doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.128758>
 34. Pavanello S., Pesatori A.C., Dioni L. et al. Shorter telomere length in peripheral blood lymphocytes of workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Carcinogenesis*. 2010;31(2):216-21. <http://doi: 10.1093/carcin/bgp278>

Cytogenetic Disorders Depending on Hypermethylation of Gene Promoters in Exposed Individuals: Final Research Results

N. S. Kuzmina^{1,2*}, N. Sh. Lapteva¹, A. V. Rubanovich¹

¹*N.I. Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russia*

²*N.N. Semyonov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Science,*

**E-mail: nin-kuzmin@yandex.ru*

The results of the study of hypermethylation of promoters of the cell cycle genes (*RASSF1A*, *p16/INK4A*, *p14/ARF*, *p53*, *ATM*), antioxidant protection (*GSTP1*, *SOD3*), estrogen receptor (*ESR1*) are summarized in individuals exposed to chronic or fractionated irradiation in the range of small and medium doses (101 people, 24–78 years old: the liquidators of the accident at the Chernobyl nuclear power plant and adult residents of territories contaminated with radionuclides, 135–688 kBq/m²), in the aspect of the relationship of these epigenetic modifications with the cytogenetic status of the individual. Multiple regression analysis showed that the frequency of both simple and complex exchange aberrations of the chromosomal type is associated with the methylation status of the complex of the studied genes ($\beta = 0.504$, $p = 1.9E-7$ and $\beta = 0.349$, $p = 3.6E-4$, respectively), but not with age ($\beta = -0.122$, $p = 0.178$ and $\beta = 0.153$, $p = 0.109$). In general, highly significant differences were demonstrated between groups of exposed individuals with different epigenetic status (number of hypermethylated genes) for all considered cytogenetic parameters, with the exception of chromatid-type aberrations (Kruskal–Wallis test: $p = 2E-4$ and $p = 5E-8$ for the total frequency of cytogenetic disorders and rearrangements of the chromosomal type, respectively). The level of cytogenetic disorders of the chromosomal type increases with an increase in the number of methylated genes in irradiated individuals. The data obtained may point to general patterns in the mechanisms of induction and preservation over the years of the considered genetic and epigenetic effects of radiation.

Keywords: radiation exposure, hypermethylation, gene promoter, CpG-island, blood leukocytes, human organism, chromosome aberrations

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Кузьмина Нина Станиславовна (Kuzmina Nina Stanislavovna) <https://orcid.org/0000-0002-2441-0122>, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия (N.I. Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia), Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук, Москва, Россия (N.N. Semyonov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Science, Moscow, Russia), nin-kuzmin@yandex.ru

Лаптева Нелля Шамильевна (Lapteva Nellya Shamilyevna), <https://orcid.org/0009-0003-3385-5005>, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Рос-

сийской академии наук, Москва, Россия (N.I. Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia), nellya912@yandex.ru

Рубанович Александр Владимирович (Rubanovich Aleksandr Vladimirovich) <https://orcid.org/0000-0002-1251-8806>, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия (N.I. Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia), rubanovich@vigg.ru

Вклад авторов: Кузьмина Н.С. (проведение экспериментальных исследований, анализ полученных данных и написание статьи), Лаптева Н.Ш. (проведение экспериментальных исследований), Рубанович А.В. (проведение биоинформационного и статистического анализа данных).