

## ИЗУЧЕНИЕ ПОСЛЕДСТВИЙ РАДИАЦИОННЫХ АВАРИЙ

УДК 612.112.94:575.224.23:614.876:539.1.047

### ЗАВИСИМОСТЬ ЧАСТОТЫ ТРАНСЛОКАЦИЙ В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ ОТ ДОЗЫ И ВОЗРАСТА НА НАЧАЛО ОБЛУЧЕНИЯ У ЖИТЕЛЕЙ ПРИБРЕЖНЫХ СЕЛ РЕКИ ТЕЧА

© 2023 г. Е. И. Толстых<sup>1,\*</sup>, А. В. Возилова<sup>1</sup>, М. О. Дегтева<sup>1</sup>, А. В. Аклев<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Уральский научно-практический центр радиационной медицины  
Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации, Челябинск, Россия

<sup>2</sup> Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

\*E-mail: evgenia.tolstykh@yandex.ru

Поступила в редакцию 09.06.2022 г.

После доработки 16.12.2022 г.

Принята к публикации 21.12.2022 г.

Оценка влияния возраста на частоту радиационно-индуцируемых транслокаций, регистрируемых методом FISH в циркулирующих в Т-лимфоцитах в отдаленный период после облучения, имеет как теоретический, так и практический интерес для целей биодозиметрии. Целью нашей работы был анализ дозовой зависимости частоты транслокаций в Т-лимфоцитах периферической крови у доноров различного возраста, подвергшихся облучению в прибрежных селах р. Теча ( $n = 197$ ). В цитогенетических исследованиях использовали цельно-хромосомные зонды для окрашивания трех пар хромосом. Всего было просчитано 104721 геном-эквивалентов (GE) и обнаружено 2540 транслокаций. Для каждого донора индивидуальные дозы облучения, поглощенные в органах и тканях к моменту забора крови, были рассчитаны с использованием дозиметрической системы р. Теча. Кроме того, были рассчитаны дозы на Т-лимфоциты и их предшественников с использованием оригинального модельного подхода с учетом возрастной динамики Т-лимфоцитов; именно с этими дозами были связаны возрастные зависимости частоты транслокаций. Основными источниками облучения доноров были <sup>89,90</sup>Sr, накапливающиеся в кости и практически локально облучающие костный мозг. Для оценки параметров зависимости доза–эффект использовали линейную регрессионную модель. После учета фоновых значений наименьшая частота транслокаций на 1000 GE на Гр была выявлена у доноров в возрасте 0–5 лет на момент облучения ( $9.3 \pm 1.3$ ), что статистически значимо ниже, чем у детей 6–18 лет ( $15.3 \pm 1.5$ ), но не у взрослых ( $11.9 \pm 2.9$ ). Значение для взрослых (>18 лет) характеризовалось максимальным разбросом, но оказалось близким к величинам, полученным в международном исследовании профессионалов после внешнего облучения ( $11.6 \pm 1.6$ ). Значения фоновых частот транслокаций, определенных в различных возрастных группах, соответствуют опубликованным значениям, полученным в объединенном международном исследовании по необлученным донорам. Мы также подтвердили отсутствие влияние пола на частоту транслокаций.

**Ключевые слова:** циркулирующие Т-лимфоциты, хромосомные aberrации, транслокации, возраст человека, биодозиметрия

**DOI:** 10.31857/S086980312302011X, **EDN:** EPDGBB

Возрастные особенности формирования радиационно-индуцируемых транслокаций в лимфоцитах периферической крови изучались в публикациях [1, 2]. Сложность получения однозначных результатов связана с тем, что с возрастом увеличивается число фоновых транслокаций, возникающих спонтанно за счет эндогенных клеточных процессов или в результате воздействия мутагенных агентов окружающей среды [3]. При этом С.Е. Rube et al. [4] отмечают снижение с возрастом способности лимфоцитов репарировать радиационно индуцированные повреждения ДНК,

особенно выраженные у пожилых. Ответ на вопрос, как влияет возраст на число радиационно индуцируемых транслокаций, регистрируемых в отдаленный период, имеет как теоретический, так и практический интерес для целей биодозиметрии, поскольку Т-лимфоциты периферической крови являются объектом изучения хромосомных aberrаций, вызванных воздействием облучения на тело человека.

Для оценок частоты aberrаций используются различные методы, в том числе и метод флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH). Его приме-

няют как для ретроспективной оценки доз в случае профессионального облучения [5, 6], так и при аварийном облучении, например, жителей прибрежных сел р. Теча, пострадавших вследствие сбросов жидких радиоактивных отходов в период 1949–1956 гг. [7–9]. В последнем случае имело место неравномерное многолетнее внутреннее и в меньшей степени внешнее облучение, причем вклад  $^{89,90}\text{Sr}$ , инкорпорированного в костную ткань, был определяющим в формировании дозы на красный костный мозг (ККМ). В ситуации на р. Теча облучению подверглись лица широкого возрастного диапазона.

Цитогенетические исследования жителей прибрежных сел методом FISH начались в 1996. В результате многолетней работы в УНПЦ РМ были накоплены данные, позволяющие оценить зависимости частоты хромосомных аберраций (транслокаций) от дозы облучения, описанные в ряде работ [7–9]. Наиболее важным можно считать вывод о том, что при локальном облучении костного мозга  $^{89,90}\text{Sr}$  доза на ККМ, оцененная на основе частоты транслокаций с использованием стандартных калибровочных кривых, была существенно ниже дозы на ККМ, основанной на прямых измерениях содержания  $^{90}\text{Sr}$  в организме [8]. Это наблюдение послужило причиной разработки модели облучения Т-лимфоцитов и их предшественников на основе концепции Т-клеточного рода (TG), который объединяет всех потомков конкретного предшественника Т-клеток, достигшего тимуса [10, 11]. Данная модель позволяет оценивать дозу, которая характеризует облучение Т-предшественников в ККМ, а также облучение циркулирующих Т-лимфоцитов при их пребывании в четырех компартаментах тела: ККМ, тонкий кишечник, толстый кишечник, остальные внескелетные лимфоидные ткани (доза для них соответствует дозе на мягкие ткани, такие как мышцы) [12]. Кроме того, эта модель оценивает относительную долю в пробе крови Т-лимфоцитов, чьи прогениторы получили высокую дозу в ККМ, и Т-лимфоцитов, облучившихся только при циркуляции. Эти модельные оценки делаются с учетом инволюционных изменений тимуса и возрастного снижения его продукции. На важность использования модельного подхода при анализе цитогенетических данных указывается, в частности, и в обзоре Европейской группы по радиационной дозиметрии EURADOS [13].

За последние годы регистр измерений FISH жителей прибрежных сел р. Теча был пополнен. Кроме того, были разработаны новые подходы к уточнению доз облучения жителей, родившихся в период максимальных сбросов в р. Теча [14]. Таким образом, целью нашей работы является анализ дозовой зависимости частоты транслокаций в Т-лимфоцитах периферической крови у доноров

различного возраста. Доза на ткань-мишень, с облучением которой мы связывали появление транслокаций в Т-лимфоцитах, — это сумма доз на прогениторы и циркулирующие Т-лимфоциты (ПЦТЛ), вклад которых взвешен в соответствии с динамикой выхода прогениторов из ККМ и долями Т-лимфоцитов, сформированных до и после начала облучения.

Для достижения цели решались следующие задачи: 1) оценка для каждого донора индивидуальных доз облучения ККМ и других лимфоидных тканей на основе последних дозиметрических подходов, а также оценка на их основе доз на ПЦТЛ; 2) анализ зависимостей доза–эффект для частоты транслокаций в трех возрастных группах: 0–5 лет, 6–18 лет и старше 18 лет.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

### *Характеристика доноров, жителей прибрежных сел р. Теча, обследованных методом FISH*

Выборка доноров включает 197 человек, для которых было сделано 212 обследований методом FISH. Некоторые доноры были обследованы дважды в разное время в период 1994–2021 гг. Настоящая выборка включает людей, ранее описанных в работах [11] ( $n = 178$ ), а также дополнительное число доноров (19 человек), подсчет транслокаций которых был проведен в последние годы. Число проб мужчин — 72, женщин — 140. Средний возраст на момент начала облучения (в 1950 г.) составил 11.8 лет, диапазон минимальных и максимальных значений: 0–38 лет. Средний возраст на момент забора крови для анализа FISH составил 66.9 (42–87) лет.

### *Цитогенетические методы оценки числа транслокаций*

Протоколы FISH и подробные описания подсчета хромосомных аберраций были даны в предыдущих работах [7, 15]. Во всех случаях использовали цельно-хромосомные зонды для окрашивания трех пар хромосом. Подсчет аберраций был выполнен в цитогенетических лабораториях нескольких научных центров при окрашивании следующих пар хромосом: в УНПЦ РМ (в том числе все исследования последних пяти лет) и лаборатории Public Health England (Великобритания), пары — 2, 3, 5; в Институте радиобиологии им. Гельмгольца (Германия), пары — 1, 4, 12; а также в Лейденском университетском медицинском центре (Нидерланды), пары — 1, 4, 8. Всего было просчитано 104721 GE (геном-эквивалентов) и обнаружено 2540 транслокаций.

*Оценка доз облучения доноров*

Все доноры при проживании в прибрежных селах р. Теча подвергались внешнему  $\gamma$ -облучению и внутреннему  $\beta, \gamma$ -облучению, последнее в основном за счет  $^{89,90}\text{Sr}$  и  $^{137}\text{Cs}$  [16, 17]. Помимо  $^{89,90}\text{Sr}$  и  $^{137}\text{Cs}$  учитывались дозы облучения от  $^{141,144}\text{Ce}$ ,  $^{95}\text{Zr}$ ,  $^{95}\text{Nb}$ ,  $^{103,106}\text{Ru}$ . Для индивидуализации доз внутреннего облучения использовали результаты прижизненных измерений содержания  $^{90}\text{Sr}$  в организме на спектрометре излучений человека (СИЧ-9.1), если таковые имелись для конкретного индивида. Для индивидуализации доз внешнего облучения были использованы данные о месте проживания человека в конкретном населенном пункте (расстояние дома от уреза воды). Всего 147 человек (75%) либо сами измерялись на СИЧ-9.1, либо измерялись члены их семей, поэтому дозы их внутреннего облучения были ранее индивидуализированы (оценены индивидуально-уровни поступления радионуклидов). Для 14 человек (24% доноров из группы 0–5 лет) дозы впервые были индивидуализированы на основании измерений  $\beta$ -активности передних зубов с помощью зубного датчика [14].

Расчет доз на ККМ, тонкий и толстый кишечник и другие внескелетные лимфоидные ткани (ВТ, соответствуют дозе на мышцы) для всех доноров был проведен с использованием последней версии дозиметрической системы р. Теча (TRDS-2016) [16]. Дозы рассчитывали с момента начала облучения до даты отбора проб крови, кроме того, при расчете доз на ПЦТЛ использовали годовые мощности доз, как это описано ниже. Следует отметить, что более 70% дозы на ККМ от  $^{89,90}\text{Sr}$  было получено в течение первых 5 лет облучения.

Лица, родившиеся после начала радиоактивного загрязнения (после 1949 г.), получили также дозу внутриутробного облучения (15 человек), которая оценивалась с использованием отдельного блока TRDS-2016. Средняя доза (min-max) на ККМ для них составила 0.072 (0–0.266) Гр, внутриутробные дозы на другие ткани не учитывались в расчетах, так как их вклад был несущественным.

Дозы на ПЦЛТ были рассчитаны с использованием программы “Лимфоциты” по алгоритму, описанному ранее [11]. В модели были отражены следующие особенности формирования пула циркулирующих Т-лимфоцитов [10]:

1. Все Т-лимфоциты происходят от Т-клеточных предшественников – прогениторов, которые формируются в ККМ. Через кровеносное русло часть из них переходит в тимус, где происходит формирование Т-лимфоцитов с уникальными Т-клеточными рецепторами. Т-лимфоциты в периферических лимфоидных тканях образуют многоклеточные и часто долгоживущие клоны клеток с одинаковыми Т-клеточными рецепторами; репертуар Т-кло-

нов формируется в детстве и остается довольно стабильным в течение жизни (до 70 лет).

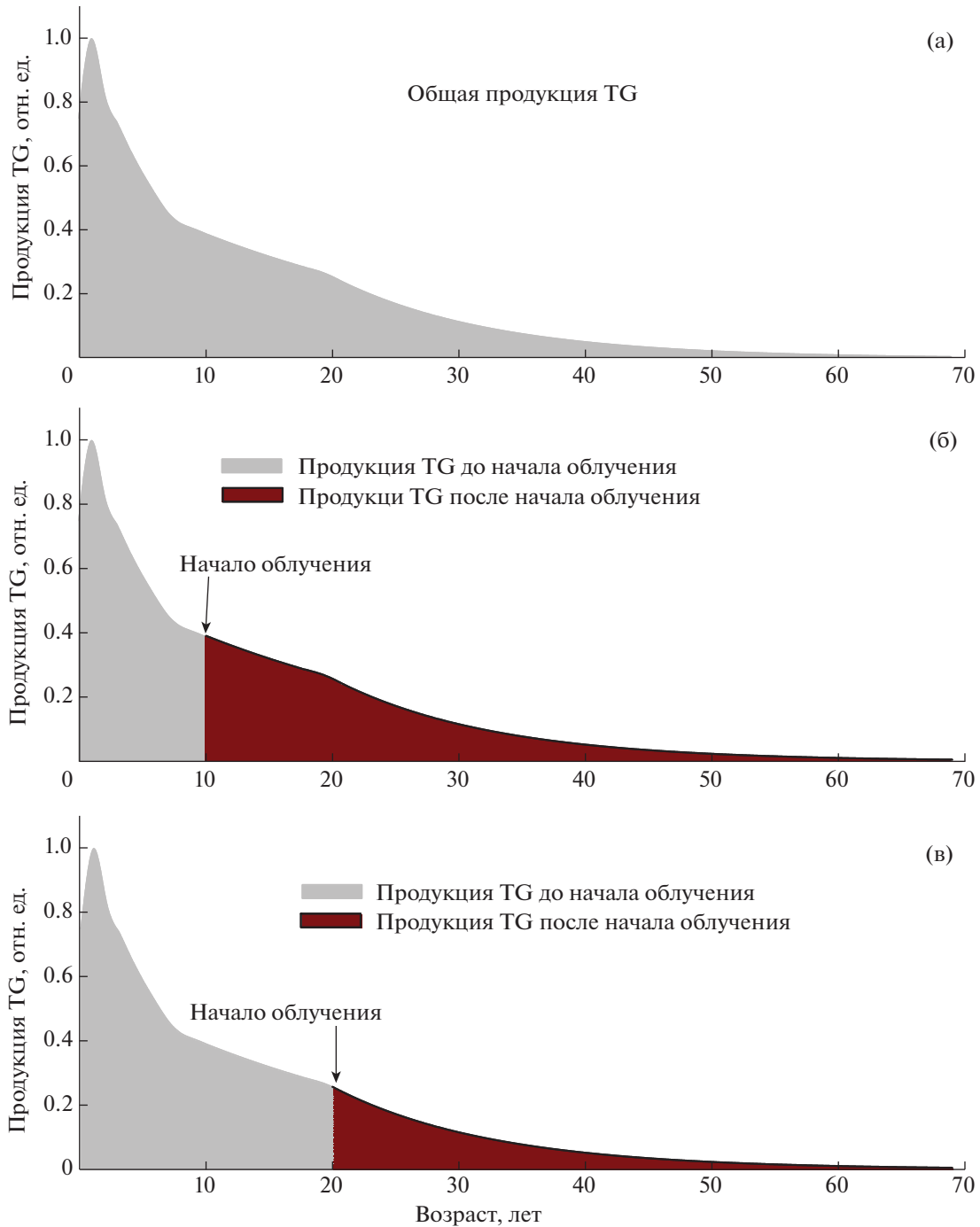
2. При облучении Т-прогенитора в ККМ потенциальный груз хромосомных aberrаций несут все его потомки, т.е. целый набор Т-клонов с уникальными Т-клеточными рецепторами. Все потомки одного прогенитора и сам прогенитор объединяются в Т-клеточный род или Т-Genus (TG), который является объектом моделирования.

Принималось, что продукция TG прямо пропорциональна продукции тимусом Т-лимфоцитов. Потеря TG в течение жизни не оказывает существенного влияния на возрастное соотношение представителей различных TG в периферической крови, поскольку предполагалось, что потеря TG пропорциональна их продукции. В свою очередь, для оценки зависящей от возраста продукции тимусом Т-лимфоцитов, которое определяется по числу недавних тимусных эмигрантов (recent thymus emigrants RTE), использовали результаты моделирования I. Vains [18, 19]. Эта модель базируется на экспериментальных данных по скорости пролиферации различных фракций Т-лимфоцитов, их количеству в периферической крови, возрастной динамике и т.п. Были выделены следующие возрастные периоды в соответствии с продукцией тимуса. От рождения до 1 года: продукция тимусом Т-лимфоцитов увеличивается, достигая максимума к 1 году; от 1 года до 8 лет: падение продукции тимуса идет со скоростью 12% в год; от 8 до 20 лет: падение продукции со скоростью 4% в год; от 20 до 70 лет: снижение продукции тимуса со скоростью 8% в год. Эти оценки использовались нами как модельные параметры для оценки возрастной динамики TGs в относительных единицах (рис. 1).

Для доли TG, сформированных до начала облучения (рис. 1, б, в, левая светлая часть) учитывали только дозу, накопленную лимфоцитами и их потомками при циркуляции. Для доли TG, сформированных после начала облучения (рис. 1, б, в, правая темная часть) учитывали два компонента облучения: дозу, накопленную в период пребывания прогениторов в ККМ, и дозу, накопленную лимфоцитами (потомками прогениторов) в период их циркуляции. Для удобства рассчитывали отдельно дозу на прогениторы и дозу на циркулирующие лимфоциты.

Средневзвешенная доза на прогениторы ( $D_{LP}$ ) представляет собой дозу, накопленную прежде, чем прогениторы покинули ККМ и начали генерировать Т-лимфоциты в тимусе, рассчитывается как среднее значение, взвешенное в соответствии с долей потомков каждого прогенитора в периферической крови на момент забора пробы:

$$D_{LP} = \frac{1}{P_{TG}(age_s)} \int_{t_1}^{t_2} [f(age) \times D_{KKM}(t, age)] dt; \quad (1)$$



**Рис. 1.** Возрастная зависимость продукции ТГ; площади под кривыми отражают суммарные значения ТГ: а – за период от рождения до 70 лет; б – до и после начала облучения в возрасте 10 лет; и в – до и после начала облучения в возрасте 20 лет.

**Fig. 1.** Age dependence of TGs production; the areas under the curves reflect the total values of TGs: (a) for the period from birth to the age of 70; (б) before and after the onset of exposure at 10 years of age; and (в) before and after the onset of exposure at the age of 20.

где  $t$  – календарное время (годы);  $t_1$  – первый год накопления дозы с начала облучения;  $t_s$  – год забора пробы;  $t_{birth}$  – год рождения донора;  $age = t - t_{birth}$  – возраст донора (годы), который варьи-

рует от возраста на момент начала облучения  $age_1 = t_1 - t_{birth}$  до возраста на момент забора крови  $age_s = t_s - t_{birth}$ ;  $P_{TG}(age)$  – общее число Т-клеточных родов, произведенных в период от рождения

до указанного возраста (в относительных единицах), определяется как интеграл функции  $f_{TG}(age)$ ,

которая описывает возрастную динамику производства TG:

$$P_{TG}(age) = \int_0^{age} f_{TG}(t)dt; \tag{2}$$

$$f_{TG}(age) = \begin{cases} 0.5 + 0.5age, & 0 \leq age \leq 1 \\ \exp(-0.12(age - 1)), & 1 < age \leq 8 \\ 0.4317 \exp(-0.04(age - 8)), & 8 < age \leq 20 \\ 0.2671 \exp(-0.08(age - 20)), & 20 < age \end{cases} \tag{3}$$

$D_{KKM}(t, age)$  – поглощенная доза на КKM, накопленная к возрасту  $age$  с момента начала облучения, рассчитывается с учетом возраста и истории облучения донора (проживания на загрязненных территориях).

Средневзвешенная доза на циркулирующие лимфоциты  $D_{LC}$  рассчитывается с учетом их пребывания в четырех компартментах: ВТ, КKM, толстый кишечник (*col*), тонкий кишечник (*small*) в отношении 0.853; 0.10; 0.025; 0.022 [12]:

$$D_{LC} = \frac{1}{P_{TG}(age_s)} \int_{t_i}^{t_s} P_{TG}(age)[0.85\dot{D}_{BT}(t, age) + 0.1\dot{D}_{KKM}(t, age) + 0.025\dot{D}_{col}(t, age) + 0.022\dot{D}_{small}(t, age)]dt, \tag{4}$$

где  $P_{TG}(age)$  – рассчитывается согласно уравнению (2) и (3) в относительных единицах;

$\dot{D}_{KKM}(t, age)$  – годовая мощность поглощенной дозы в КKM, которая является функцией календарного времени, возраста и истории облучения конкретного донора;

$\dot{D}_{col}(t, age)$  – годовая мощность поглощенной дозы в толстом кишечнике;

$\dot{D}_{small}(t, age)$  – годовая мощность поглощенной дозы в тонком кишечнике.

Таким образом, полная средневзвешенная доза на ПЦТЛ рассчитывается на основе уравнений (1) и (4) как сумма  $D_{LP} + D_{LC}$ .

Если донор был облучен в период внутриутробного развития, т.е. его мать в период беременности проживала на радиоактивно загрязненных территориях, то доза внутриутробного облучения КKM прибавляется к дозе на Т-прогениторы ( $D_{LP}$ ).

#### Статистическая обработка данных

Вычисления стандартных параметров проводили с помощью лицензионных программ Microsoft Excel и SigmaPlot на персональном компьютере. Кроме этого, для оценки связи между суммарной дозой облучения ПЦТЛ и частотой

транслокаций был использован модуль AMFIT программного пакета EPICURE [20], позволяющий построить линейную регрессионную зависимость, используя распределение Пуассона и пуассоновское среднее для группированных данных:

$$Y(age_1, age_s, sex, dose) = Y_0(age_s, sex) + \beta \times dose, \tag{5}$$

где  $Y(age_1, age_s, sex, dose)$  – ожидаемая частота транслокаций на GE, зависит от возраста на начало облучения  $age_1$ ; возраста на момент забора крови  $age_s$ , пола  $sex$  и накопленной дозы облучения  $dose$ ;  $Y_0(age_s, sex)$  – ковариантно-специфическая фоновая частота транслокаций на GE, зависящая от возраста  $age_s$  на момент забора крови и пола  $sex$ ;  $\beta$  – увеличение частоты транслокаций на GE на GE (угол наклона линии регрессии).

Переменные были распределены по следующим категориям. Возраст на момент забора крови  $age_s$  (годы) – четыре категории: <50; 50–60; 60–70; >70); возраст на начало облучения  $age_1$  (годы) – три категории: 0–5; 6–18; >18. Доза  $dose$  рассматривалась как непрерывная переменная.

Во всех случаях значения параметров вычисляли с помощью метода максимального правдоподобия, а значения  $P$  оценивали на основании двухсторонних тестов. Так как в группе доноров не было лиц с нулевыми дозами облучения, значения фоновой частоты транслокаций (параметр  $Y_0$ ) получали методом экстраполяции линейной регрессии к нулевой дозе. Для каждого параметра определяли среднее значение, стандартную ошибку ( $SE$ ), уровень значимости ( $p$ ), 95%-ный доверительный интервал ( $CI$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Результаты оценки индивидуальных доз облучения доноров

Для всех доноров были рассчитаны индивидуальные дозы облучения. В табл. 1 представлены дозовые характеристики выборки. Как следует из табл. 1, наибольшие дозы характерны для КKM. Это связано с тем, что вклад изотопов стронция в суммарную дозу на КKM для многих доноров со-

**Таблица 1.** Значения доз облучения лимфоидных органов/тканей на момент забора крови в зависимости от возраста, Гр**Table 1.** Values of exposure doses to lymphoid organs/tissues at the time of blood sampling depending on age, Gy

Орган-мишень	Дозы в возрастных группах по годам; среднее (95% CI)			
	0–5	5–18	18–38	вся выборка
ККМ	1.01* (0.07–2.53)	1.19 (0.14–2.95)	0.61 (0.02–2.28)	1.02 (0.04–2.83)
ВТ	0.27 (0.01–0.80)	0.24 (0.01–0.72)	0.24 (0.01–0.68)	0.25 (0.01–0.73)
Толстый кишечник	0.37 (0.02–0.93)	0.33 (0.03–0.9)	0.27 (0.01–0.79)	0.33 (0.02–0.92)
Тонкий кишечник	0.3 (0.01–0.82)	0.26 (0.02–0.75)	0.23 (0.01–0.67)	0.27 (0.01–0.78)
ПЦТЛ	0.83 <sup>#</sup> (0.05–2.08)	0.64 (0.08–1.51)	0.33 (0.01–0.92)	0.62 (0.03–1.51)

Примечание.\* Включает внутриутробную дозу на ККМ для облучившихся *in utero*; <sup>#</sup> доза на ККМ, полученная *in utero*, учтена как прибавка к дозе на прогениторы  $D_{LP}$ .

ставлял более 90%. Промежуточное положение занимают дозы на ПЦТЛ. Более низкие средние дозы на органы по сравнению с другими группами характерны для взрослых (почти в 2 раза ниже, чем в группе 6–18 лет). Это связано с возрастными особенностями метаболизма стронция, с преимущественным его накоплением в растущей костной ткани. Следует отметить, что верхние границы 95% CI в возрастных группах отличаются не столь значительно.

На рис. 2 показано накопление дозы на ПЦТЛ в течение 30 лет после начала облучения на примере донора в возрасте  $age_1 = 10$ , проживавшего в среднем течении р. Теча, где более 90% дозы было обусловлено  $^{89,90}\text{Sr}$ . Как показывают расчеты, к возрасту 10 лет (начало облучения) около половины ТГ, вырабатываемых в течении жизни донора, уже сформировано (рис. 1, б). Это означает, что около половины прогениторов покинули ККМ до начала радиационного воздействия и дали начало в тимусе Т-лимфоцитам с разными Т-клеточными рецепторами. Рисунок 2, а иллюстрирует накопление дозы в этой доле ТГ (потомство необлученных прогениторов), которые циркулировали и пролиферировали в тканях организма с начала облучения до момента забора крови. Составляющие эту долю Т-лимфоциты (представители ТГ) получили одинаковую дозу  $D_0$ , которая представляет собой сумму доз, накопленных при циркуляции через ВТ, ККМ, толстый и тонкий кишечник в соответствии с долей времени, проведенной в этих органах и тканях. Накопленная доза для этой доли ТГ составляет около 90 мГр за 30 лет (рис. 2, а).

На рис. 2, б представлено накопление дозы в другой части ТГ, присутствующих в образце крови донора. Эти ТГ произошли от прогениторов, облученных в ККМ, которые потенциально передали своим потомкам груз хромосомных aberrаций. Прогениторы покидали ККМ в различное время ( $t_1, t_2, t_3$ ) после начала облучения. Достигая тимуса, они в короткое время давали начало

Т-лимфоцитам, продолжавшим облучение при циркуляции в теле. Результирующие дозы ( $D_1, D_2, D_3$ ) представляют собой сумму доз на прогениторы и лимфоциты-потомки. Максимальная доза  $D_3$  (более 900 мГр) наблюдалась, если прогениторы провели длительное время (25 лет) в ККМ. Однако число прогениторов, достигающих тимуса и дающих начало новым Т-лимфоцитам (RTE), резко уменьшается с возрастом, поэтому вклад потомков таких “высокодозовых” прогениторов в пул циркулирующих лимфоцитов не велик.

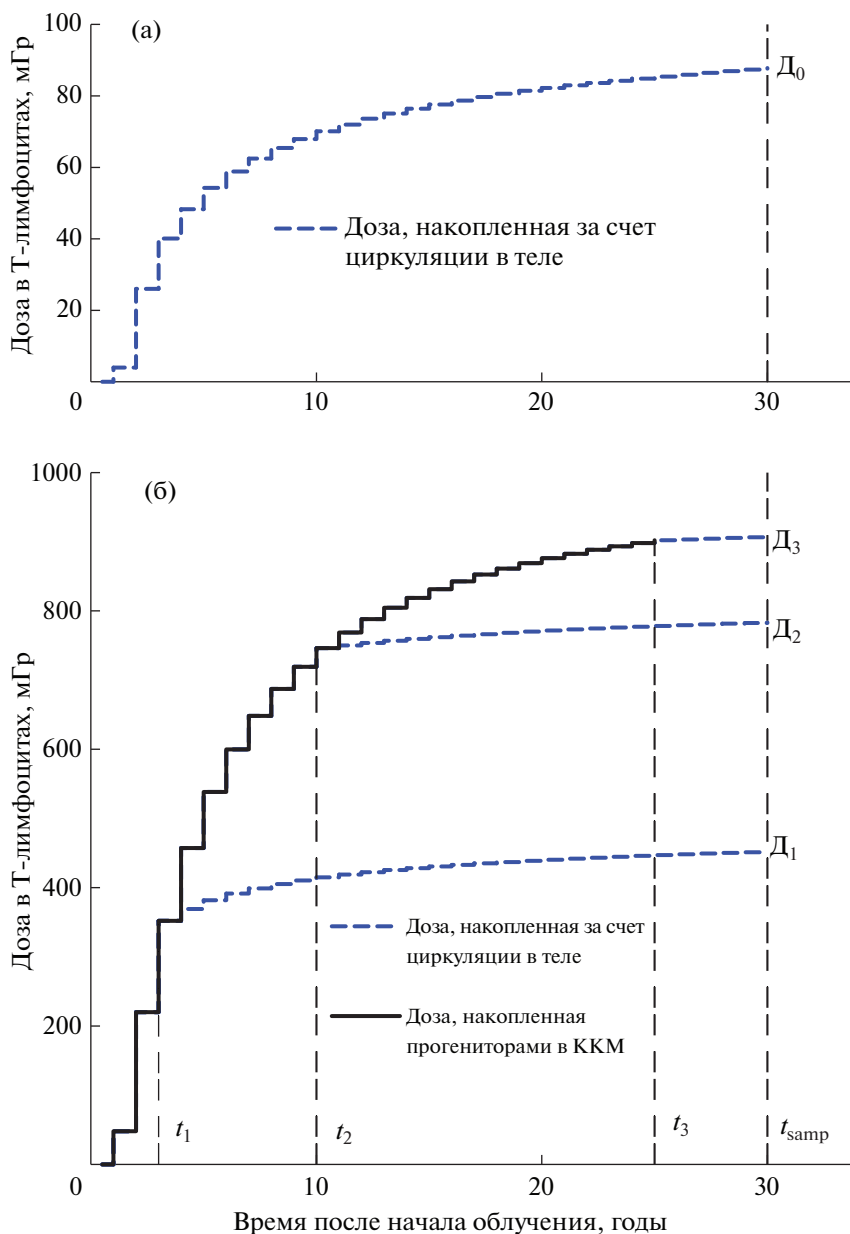
Таким образом, на момент забора крови все циркулирующие лимфоциты получили ту или иную дозу облучения, которая взвешивается в соответствии с их долей. С учетом всех вкладов, средневзвешенная доза на ПЦТЛ для данного донора составила 490 мГр, при этом различные фракции лимфоцитов получили дозу от 90 до 950 мГр.

#### *Возрастная зависимость частоты транслокаций в отдаленные сроки после начала облучения*

В табл. 2 показаны рассчитанные нами фоновые значения частоты транслокаций в зависимости от возраста. Уровень значимости оценки параметра во всех случаях был высоким ( $p < 0.001$ ). Для сравнения в табл. 2 приведены величины, полученные в рамках обширного международного исследования [3], где число доноров интересующего возрастного диапазона составило  $n = 817$ .

Как следует из табл. 2, во всех случаях наблюдается увеличение фоновой частоты с увеличением возраста. Найденные нами оценки не отличаются от фоновых значений для необлученных доноров [3] ( $p > 0.05$ ), что говорит об адекватности используемого модельного подхода.

Хотя наши предыдущие исследования не обнаружили влияния пола на частоту радиационно-индуцированных транслокаций [21], мы провели оценку параметров регрессии отдельно для мужчин и женщин. В табл. 3 показаны значения ча-



**Рис. 2.** Схема, показывающая принцип формирования поглощенной дозы к моменту забора крови ( $t_{\text{samp}}$ ) в гетерогенной популяции Т-лимфоцитов: а – формирование годовых поглощенных доз в Т-лимфоцитах, которые уже находились в периферическом пуле в начале облучения (потомки необлученных прогениторов); они получали одинаковую “циркуляционную” дозу ( $D_0$ ) из-за циркуляции в организме; б – формирование доз в Т-лимфоцитах, которые являются потомками облученных прогениторов, покинувших ККМ в разное время ( $t_1$ ,  $t_2$ ,  $t_3$ ); эти Т-лимфоциты получили разные дозы ( $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$ ), которые являются суммой “прогениторной дозы” и “циркуляционной дозы”.

**Fig. 2.** Scheme showing the principle of the absorbed dose formation at the time of blood sampling ( $t_{\text{samp}}$ ) in a heterogeneous population of T-lymphocytes: а – formation of annual absorbed doses in T-lymphocytes that have already been in the peripheral pool at the beginning of exposure (descendants of unexposed progenitors); they received the same dose ( $D_0$ ) due to circulation in the body; б – the formation of doses in T-lymphocytes, which are the descendants of exposed progenitors that left the RBM at different time ( $t_1$ ,  $t_2$ ,  $t_3$ ); these T-lymphocytes received different doses ( $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$ ), which are the sum of the “progenitor dose” and the “circulating dose”.

стоты транслокаций на 1000 GE на 1 Гр дозы с учетом базовых фоновых значений, для мужчин и женщин. Во всех случаях уровень значимости оценки параметра  $p < 0.001$ . Как следует из табл. 3, значения  $\beta$  у мужчин и женщин достоверно не от-

личаются, но наблюдается тенденция более высоких значений для мужчин.

В табл. 4 представлены возрастные зависимости частоты транслокаций на 1000 GE на 1 Гр дозы с учетом базовых фоновых значений; уровень

**Таблица 2.** Фоновая, зависящая от возраста, частота транслокаций на 1000 GE в сопоставлении опубликованными данными**Table 2.** Background age-dependent translocation frequency per 1000 GE in comparison to published data

Возраст, годы	Настоящее исследование, оба пола, среднее (95% CI),	Данные [3], оба пола, среднее (95% CI)
<50	9.1 (4.0–11.9)	7.9 (7.0–10.4)
50–60	9.3 (5.13–11.8)	8.9 (8.0–13.5)
60–70	14.9 (13.79–18.1)	12.1 (10.5–13.8)
>70	16.0 (15.4–19.4)	16.1 (13.6–21.4)

значимости оценки параметра для всех групп  $p < 0.001$ . Как видно, число транслокаций на 1 Гр дозы в группе детей 0–5 лет значимо ниже, чем в группе 6–18 лет, но не в группе взрослых. Мы не получили статистически значимых отличий между значениями  $\beta$  для детей 0–5 лет и лиц старше 18 лет, хотя значение для взрослых было выше в 1.3 раза. Таким образом, если облучение произошло в раннем возрасте, то впоследствии регистрируется более низкая частота транслокаций относительно остальных возрастов.

## ОБСУЖДЕНИЕ

### *Применение модели облучения Т-лимфоцитов и их предшественников для расчетов дозы на ПЦТЛ*

При интерпретации наших цитогенетических данных мы связываем эффект (частота транслокаций) с дозой на ПЦТЛ, которая отражает возрастную динамику формирования Т-лимфоцитов и учитывает неравномерность облучения органов и тканей основным источником облучения доноров —  $^{89,90}\text{Sr}$ . Мы впервые применили разработанную нами модель облучения Т-лимфоцитов, позволяющую рассчитывать дозы на ПЦТЛ, для изучения возрастных зависимостей формирования транслокаций. Учтены следующие компоненты дозы — доза на прогениторы, полученная в ККМ, а также доза, полученная Т-лимфоцитами в процессе их циркуляции в организме (последнее относится к потомкам облученных и необлученных прогениторов). Кроме того, учтен относительный вклад каждого компонента дозы, который зависит от возраста. С увеличением возраста на начало облучения наблюдается снижение вклада про-

гениторной дозы, что косвенно отражает резкое снижение продукции тимуса с возрастом.

В плане верификации предложенного нами модельного подхода мы сопоставили частоту транслокаций на 1 Гр дозы с опубликованными данными по внешнему  $\gamma$ -облучению. Частота транслокаций на 1 Гр дозы является важным показателем/коэффициентом, который позволяет перейти от подсчитанных транслокаций в Т-лимфоцитах конкретного донора к дозе облучения. Поскольку в случае внешнего  $\gamma$ -облучения доза на Т-лимфоциты и ККМ практически совпадает, то коэффициент позволяет перейти к дозе облучения ККМ. В случае неравномерного внутреннего облучения радиоизотопами стронция доза на ПЦТЛ близка к дозе облучения ККМ только для детей младшего возраста, для старших возрастов различия между дозами на ПЦТЛ и ККМ уже весьма существенны (табл. 1). В этой связи представляет интерес сравнить полученные нами значения  $\beta$  для взрослых с опубликованными данными по внешнему  $\gamma$ -облучению [5]. Такие данные были получены в результате международного исследования по оценке частоты транслокаций у работников ядерного предприятия в Селлафилде (Sellafield nuclear facility, Cumbria, UK;  $n = 459$ ), подвергавшихся преимущественно внешнему облучению [5]. Работники, как и в случае с донорами из когорты р. Теча, подвергались пролонгированному облучению с небольшой мощностью дозы. Кроме того, при анализе результатов в этой работе использовали те же статистические подходы, т.е. для расчетов параметров регрессии был использован модуль Amfit программы EPICUR и дозы на ККМ. На рис. 3 показано сопоставление полученных нами значений  $\beta$  и аналогичной величины из работы [5]:  $\beta = 11.6 \pm 1.6$ . Как следует из рис. 3, полученные нами значения, как для взрослых (18–38 лет), так и для всей выборки (0–38 лет), практически совпадают с экспериментальными данными по внешнему облучению, что говорит о приемлемости нашей модели.

Правомерность использованного модельного подхода также подтверждает хорошее согласование рассчитанных нами фоновых частот транслокаций с опубликованными данными (табл. 2).

**Таблица 3.** Значения угла наклона регрессии доза–эффект для мужчин и женщин**Table 3.** Dose-response regression slope values for men and women

Группа	Число транслокаций на 1000 GE на 1 Гр $\beta \pm \text{SE}$ (95% CI)
Мужчины	$14.0 \pm 1.6$ (11.0–17.1)
Женщины	$11.0 \pm 1.2$ (8.6–13.5)



**Таблица 4.** Значения угла наклона регрессии доза–эффект в возрастных группах  
**Table 4.** Dose-response regression slope values in the age groups

Группы#	Возраст на начало облучения, годы	<i>n</i>	Число транслокаций на 1000 GE на 1 Гр $\beta \pm SE$ (95% CI)
1	0–5	58	$9.3 \pm 1.3$ (6.7–11.9)
2	5–18	108	$15.3 \pm 1.5\#$ (12.4–18.3)
3	18–38	46	$11.9 \pm 2.9$ (6.3–17.8)

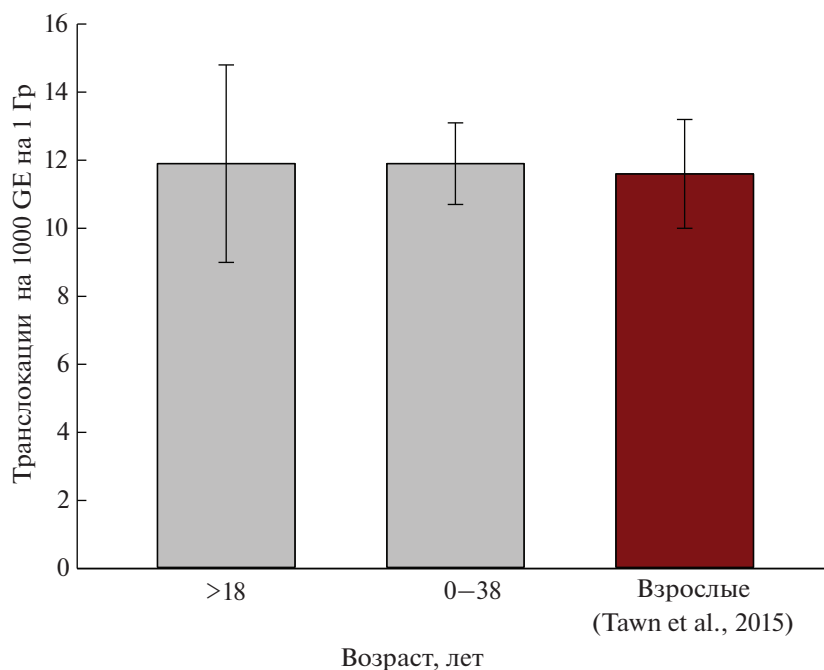
# Статистически значимые различия относительно группы 0–5 лет.

Применение модельного подхода ставит вопрос о неопределенностях дозовых оценок на ПЦТЛ, однако это является отдельной задачей, которая будет решаться в дальнейшем. В настоящее время мы можем указать на основные источники неопределенностей и общие подходы к их оценке:

1. *Неопределенность оценки доз на органы и ткани (ККМ, ткани кишечника), рассчитанных по системе TRDS-2016.* В настоящем исследовании использованы детерминированные (точечные) оценки индивидуальной дозы на органы и ткани [16] для обследованных доноров. Создание стохастической версии TRDS-2016 позволяет определить границы неопределенности индивидуальных оценок доз на основе стохастического моделирования с использованием характеристик статистического распределения значений каждо-

го параметра [22]. Работа над стохастической версией сейчас близка к завершению.

2. *Неопределенность использованной модели возрастной динамики TG, соответствующей динамике (RTE) [18].* Оценки неопределенности возрастной динамики RTE были сделаны автором модели I. Vains [18, 19]. Следует также отметить, что существуют и другие подходы к моделированию динамики T-лимфоцитов (но не динамики TG), представленные, к примеру, в работах [23–25]. Преимущество использованной нами модели I. Vains [18, 19] в том, что она описывает динамику RTE в течение жизни и хорошо согласуется с большим набором экспериментальных данных количеству наивных T-клеток в крови человека, включая данные о пациентах с тимэктомией. По мере накопления знаний о формировании иммунной системы в онтогенезе возможно измене-



**Рис. 3.** Значения  $\beta$  для группы старше 18 лет и всей выборки (светлые столбики), а также согласно [5] (темный столбик). Вертикальные линии отражают диапазон ошибки среднего.

**Fig. 3.** The values of  $\beta$  for the age group over 18 years and the entire sample (light bars), as well as according to [5] (dark bar). The error bars show the range of standard error.

ние параметров модели и более точное количественное описание динамики ТГ.

3. *Неопределенность, которую вносит допущение, что потеря ТГ в течение жизни не оказывает существенное влияние* на соотношение представителей различных ТГ в периферической крови на момент ее забора. Другими словами, это предполагает, что потеря ТГ всегда составляет одинаковую долю от произведенных ТГ независимо от возраста. Мы планируем смоделировать влияние изменений скорости потери ТГ в разные возрастные периоды на соотношение представителей различных ТГ в периферической крови и, соответственно, на дозовые оценки.

4. *Неопределенность, связанная с учетом внутриутробного облучения.* Мы не рассматривали динамику формирования циркулирующих Т-клеток во внутриутробный период. В качестве грубого приближения принимали, что генерация тимусом Т-лимфоцитов началась после рождения, а до этого облучались только прогениторы в костном мозге плода. Эта проблема также требует более детального рассмотрения.

#### *Интерпретация возрастных зависимостей частоты транслокаций в отдаленные сроки после облучения*

Гетерогенность циркулирующих Т-лимфоцитов осложняет понимание причин влияния возраста на начало облучения на частоту транслокаций в отдаленные сроки, т.е. через 60 и более лет после начала облучения. Согласно нашим оценкам (табл. 4), в возрасте 0–5 лет формирование транслокаций (на 1 Гр), которые в течение длительного времени проявляются в циркулирующих Т-лимфоцитах, существенно ниже, чем в следующей возрастной группе 5–18 лет. Транслокации являются следствием неверно репарированных двунитевых разрывов ДНК (ДР), не приведших к гибели клетки, т.е. формально они прямо пропорциональны числу ДР после облучения и обратно пропорциональны эффективности репарации. В этой связи представляют интерес опубликованные экспериментальные данные по влиянию возраста на эти процессы. Как показал анализ, эти данные неоднозначны.

Прежде всего, исследования по людям весьма ограничены и касаются облучения клеток *in vitro*. Rube et al., 2011 [4] изучали уровень эндогенных (фоновых) нерепарированных двунитевых разрывов ДНК в гемопоэтических стволовых и прогениторных клетках (ГСК) в зависимости от возраста человека, а также число ДР через 8 и 24 ч после рентгеновского облучения ГСК *in vitro* в дозе 2 Гр. Число нерепарированных ДР регистрировали по числу очагов  $\gamma\text{H2AX-foci}$ <sup>1</sup> на клетку, выделяя группу новорожденных (клетки взяты из пу-

повинной крови,  $n = 34$ ) и взрослых (16–86 года,  $n = 68$ ). В результате было показано, что ГСК новорожденных демонстрировали более низкий (относительно взрослых) фоновый уровень повреждения ДНК (число ДР) и значительно более эффективную репарацию ДНК после облучения. То есть и до, и после облучения число ДР у новорожденных было существенно ниже. R.J. de Voer et al. [26], также изучавшие частоту ДР по  $\gamma\text{H2AX-foci}$  в Т-лимфоцитах периферической крови<sup>2</sup> людей, обнаружили аналогичную возрастную зависимость, т.е. максимальное число ДР было в группе взрослых. Это наблюдалось как в необлученных клетках, так и после облучения в дозе 1 Гр. Важно, однако, отметить, что по данным [26] число зарегистрированных дицентриков после облучения было в 1.5 раза выше у детей (2–5 лет) по сравнению с взрослыми (>20 лет). То есть не обнаружена прямая зависимость числа нестабильных хромосомных aberrаций после радиационного воздействия от частоты ДР и их репарации.

Интересные результаты были также обнаружены в экспериментах на мышах. M. Gomolka et al. [27] отмечают, что после облучения в дозе 4 Гр число ДР в ГСК у детенышей было достоверно ниже, чем у взрослых особей. Увеличение ДР с возрастом авторы связывают с большей выраженностью хронического окислительного стресса после облучения у взрослых, обусловленного воспалительными состояниями, по сравнению с детенышами. В подробном исследовании K. Akiyoshi et al. [28] изучали радиационный ответ клеток селезенки (у мышей это гемопоэтическая ткань) и обнаружили, что у детенышей и старых взрослых наблюдаются одинаковое число разрывов ДНК и скорость репарации, однако у детенышей наблюдалась значительно более высокая пострadiационная индукция апоптоза.

Для объяснения полученных нами результатов также представляют интерес данные о разной радиочувствительности стволовых кроветворных клеток/прогениторов и периферических Т-лимфоцитов. I.P. Kovalchuk et al. [29], исследовавшие стволовые клетки из пуповинной крови, а также циркулирующие Т-лимфоциты взрослых и новорожденных, отмечают, что у новорожденных как в ГСК, так и в Т-клетках формируется одинаковое число ДР, но скорость репарации выше в стволовых клетках. При сравнении частоты ДР в Т-лимфоцитах новорожденных и взрослых авторы отмечают более высокую частоту ДР в Т-лимфоцитах новорожденных, объясняя это различиями в укладке ядерного хроматина.

<sup>1</sup> Один из ключевых белков, участвующих в репарации ДР.

<sup>2</sup> Авторы не указывали, что изучали именно Т-лимфоциты, но указанные методики применяются именно для цитогенетических исследований Т-лимфоцитов.

Таким образом, опираясь на опубликованные данные, можно предположить, что обнаруженные нами более низкие значения частоты транслокаций в группе 0–5 лет отражают: 1) более высокую скорость репарации ДР в ГСК (основной источник формирования транслокаций в Т-лимфоцитах для этого возраста) по сравнению с Т-лимфоцитами, вклад которых резко увеличивается с возрастом; и/или 2) более низкую частоту возникновения ДР в прогениторах и Т-лимфоцитах вследствие менее выраженного оксидативного стресса и провоспалительных состояний у новорожденных и детей раннего возраста; и/или 3) более высокую индукцию апоптоза в этой возрастной группе после облучения, что приводит к более эффективному удалению клеток с генетическими повреждениями.

#### Направления дальнейшей работы

Мы видим два основных направления дальнейшей работы. Во-первых, это накопление данных по частоте хромосомных aberrаций у доноров в группах 0–18 лет на момент облучения. Следует отметить, что группа взрослых на момент облучения (18–38 лет) оказалась самой малочисленной и имеет максимальный разброс значений угла наклона регрессии. К сожалению, эта группа не может быть пополнена, так как объединяет лиц старше 1932 г. р. Во-вторых, это дальнейшее усовершенствование модели облучения Т-лимфоцитов и учет неопределенностей дозовых оценок.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Были выявлены следующие возрастные зависимости частоты транслокаций в Т-лимфоцитах от дозы на ПЦТЛ: наименьшее число транслокаций на 1000 GE на Гр выявлено у доноров в возрасте 0–5 лет ( $9.3 \pm 1.3$ ), что статистически значимо ниже, чем у детей 6–18 лет ( $15.3 \pm 1.5$ ), но не у взрослых ( $11.9 \pm 2.9$ ). Для взрослых (>18 лет) полученное значение после внешнего характеризовалось максимальным разбросом, но оказалось близким к величинам, полученным в международном исследовании профессионалов облучения ( $11.6 \pm 1.6$ ). Полученные возрастные зависимости требуют дальнейших дополнительных исследований для их интерпретации.

Значения фоновых частот транслокаций, определенных в различных возрастных группах, соответствует опубликованным данным, полученным в объединенном международном исследовании по необлученным донорам. Мы также подтвердили отсутствие влияния пола на частоту транслокаций.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность В.А. Кривошапову и С.Б. Епифановой за техническую помощь в работе.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tucker J.D. Low-dose ionizing radiation and chromosome translocations: a review of the major considerations for human biological dosimetry // *Mutat. Res.* 2008. V. 659. № 3. P. 211–20. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.04.001>
2. Vorobtsova I., Semenov A., Timofeyeva N. et al. An investigation of the age-dependency of chromosome abnormalities in human populations exposed to low-dose ionising radiation // *Mech. Ageing Dev.* 2001. V. 122. № 13. P. 1373–82. [https://doi.org/10.1016/s0047-6374\(01\)00275-5](https://doi.org/10.1016/s0047-6374(01)00275-5)
3. Sigurdson A.J., Ha M, Hauptmann M., Bhatti P. et al. International study of factors affecting human chromosome translocations // *Mutat. Res.* 2008. V. 652. № 2. P. 112–21. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2008.01.005>
4. Rube C.E., Fricke A., Widmann T.A. et al. Accumulation of DNA Damage in Hematopoietic Stem and Progenitor Cells during Human Aging // *PLoS ONE.* 2011. V. 6. № 3. P. e17487. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017487>
5. Tawn E.J., Curwen G.B., Jonas P. et al. Chromosome Aberrations Determined by FISH in Radiation Workers from the Sellafield Nuclear Facility // *Radiat. Res.* 2015. V. 184. № 3. P. 296–303. <https://doi.org/10.1667/RR14125.1>
6. Sotnik N.V., Osovets S.V., Scherthan H., Azizova T.V. mFISH analysis of chromosome aberrations in workers occupationally exposed to mixed radiation // *Radiat. Environ. Biophys.* 2014. V. 53. № 2. P. 347–54. <https://doi.org/10.1007/s00411-014-0536-7>
7. Vozilova A.V., Shagina N.B., Degteva M.O. et al. Preliminary FISH-based assessment of external dose for residents exposed on the Techa River // *Radiat. Res.* 2012. V. 177. № 1. P. 84–91. <https://doi.org/10.1667/rr2485.1>
8. Vozilova A.V., Shagina N.B., Degteva M.O. 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. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncu131>
9. Дегтева 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. 34–45. [Degteva M.O., Shishkina E.A., Tolstykh E.I. et al. Application of the EPR and FISH Methods to Dose Reconstruction for People Exposed in the Techa River Area // *Radiat. Biol. Radioecol.* 2017. V. 57. № 1. P. 34–45. (In Russ.)] PMID: 30698929
10. Толстых Е.И., Возилова А.В., Дегтева М.О. и др. Концепция Т-клеточного рода как основа для анализа результатов цитогенетических исследований при локальном облучении костного мозга // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2020. Т. 60. № 1. С. 12–

25. [Tolstykh E.I., Vozilova A.V., Degteva M.O. et al. Concept of T-Cell Genus as the Basis for the Analysis of FISH Results after Local Bone Marrow Exposure // Radiats. Biol. Radioecol. 2020. V. 60. № 1. P. 12–25 (In Russ.)].  
https://doi.org/10.31857/S0869803121040111
11. Tolstykh E.I., Degteva M.O., Vozilova A.V., Anspaugh L.R. Local bone-marrow exposure: how to interpret the data on stable chromosome aberrations in circulating lymphocytes? (some comments on the use of FISH method for dose reconstruction for Techa riverside Residents) // Radiat. Environ. Biophys. 2017. V. 56. № 4. P. 389–403.  
https://doi.org/10.1007/s00411-017-0712-7
12. Толстых Е.И., Дегтева М.О., Возилова А.В., Аклейев А.В. Подходы к цитогенетической оценке дозы при радиационном воздействии на лимфоидную ткань кишечника // Радиационная биология. Радиоэкология. 2021. Т. 61. № 4. С. 339–352. [Tolstykh E.I., Degteva M.O., Vozilova A.V., Akleyev A.V. Approaches to the Cytogenetic Assessment of the Dose due to Radiation Exposure of the Gut Associated Lymphoid Tissue // Radiats. Biol. Radioecol. 2021. V. 61. № 4. P. 339–352 (In Russ.)].  
https://doi.org/10.31857/S0869803121040111
13. Giussani A., Lopez M.A., Romm H. et al. Eurados review of retrospective dosimetry techniques for internal exposures to ionising radiation and their applications // Radiat. Environ. Biophys. 2020. V. 59. № 3. P. 357–387.  
https://doi.org/10.1007/s00411-020-00845-y
14. Толстых Е.И., Дегтева М.О., Кривошапов В.А., Нанье Б.А. Метод оценки индивидуальных значений поступления  $^{90}\text{Sr}$  с рационом на основе измерений зубного датчика у жителей прибрежных сел р. Теча. // Вопр. радиац. безопасности. 2019. Т. 93. № 4. С. 55–63 [Tolstykh E.I., Degteva M.O., Krivoshchapov V.A., Napier B.A. Metod otsenki individual'nykh znacheniy postupleniya  $^{90}\text{Sr}$  s ratsionom na osnove izmereniy zubnogo datchika u zhitel'ey pribrezhnykh sol r. Techa // Voprosy radiatsionnoy bezopasnosti. 2019. V. 93. № 4. P. 55–63 (In Russ.)]
15. Bauchinger M., Salassidis K., Braselmann H. et al. FISH-based analysis of stable translocations in a Techa River population // Int. J. Radiat. Biol. 1998. V. 73. № 6. P. 605–12.  
https://doi.org/10.1080/095530098141852
16. 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 Phys. 2019. V. 117. № 4. P. 378–387.  
https://doi.org/10.1097/HP.0000000000001067
17. Дегтева М.О., Шагина Н.Б., Воробьева М.И. и др. Современное представление о радиоактивном загрязнении реки Теча в 1949–1956 гг. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2016. Т. 56. № 5. С. 523–534. [Degteva M.O., Shagina N.B., Vorobiova M.I. et al. Contemporary Understanding of Radioactive Contamination of the Techa River in 1949–1956 // Radiats. Biol. Radioecol. 2016. V. 56. № 5. P. 523–534 (In Russ.)] PMID: 30703313.  
https://doi.org/10.7868/S0869803116050039
18. Bains I. Mathematical Modelling of T Cell Homeostasis: A thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy of the University College London, 2010.  
http://discovery.ucl.ac.uk/20159/1/20159.pdf.
19. Bains I., Yates A.J., Callard R.E. Heterogeneity in thymic emigrants: implications for thymectomy and immunosenescence // PLoS One. 2013. V. 8. № 2. P. e49554.  
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049554
20. Hironsoft. Epicure: Fast, interactive software for the analysis of medical, public health, epidemiologic, econometric, and reliability data V. 2.10. Seattle, WA: Hironsoft International Corporation, 1998.
21. Tolstykh E.I., Degteva M.O., Vozilova A.V. et al. Interpretation of FISH results in the case of nonuniform internal radiation exposure of human body with the use of model approach // Russian J. Genet. 2019. V. 55. № 10. P. 1227–1233.  
https://doi.org/10.1134/S1022795419100132
22. Napier B.A., Degteva M.O., Shagina N.B., Anspaugh L.R. Uncertainty analysis for the Techa River Dosimetry System // Med. Radiol. Radiat. Saf. 2013. V. 58. P. 5–28 (in Engl. and Russ.)
23. Yates A., Chan C.C., Callard R.E. et al. An approach to modelling in immunology // Brief Bioinform. 2001. V. 2. № 3. P. 245–257.  
https://doi.org/10.1093/bib/2.3.245
24. Ye P., Kirschner D.E. Measuring emigration of human thymocytes by T-cell receptor excision circles // Crit. Rev. Immunol. 2002. V. 22. № 5–6. P. 483–497. PMID: 12803323
25. Hazenberg M.D., Otto S.A., van Rossum A.M. et al. Establishment of the CD4+ T-cell pool in healthy children and untreated children infected with HIV-1 // Blood. 2004. V. 104. № 12. P. 3513–3519.  
https://doi.org/10.1182/blood-2004-03-0805
26. De Boer R.J., Perelson A.S. Quantifying T lymphocyte turnover // J. Theor. Biol. 2013. V. 327. P. 45–87.  
https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2012.12.025
27. Gomolka M., Oestreicher U., Röbber U. et al. Age-dependent differences in DNA damage after in vitro CT exposure // Int. J. Radiat. Biol. 2018. V. 94. № 3. P. 272–281.  
https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1419302
28. Ariyoshi K., Miura T., Kasai K. et al. Age Dependence of Radiation-Induced Genomic Instability in Mouse Hematopoietic Stem Cells // Radiat. Res. 2018. V. 190. № 6. P. 623–633.  
https://doi.org/10.1667/RR15113.1
29. Kovalchuk I.P., Golubov A., Koturbash I.V. et al. Age-dependent changes in DNA repair in radiation-exposed mice // Radiat. Res. 2014. V. 182. № 6. P. 683–694.  
https://doi.org/10.1667/RR13697.1
30. Vandevoorde C., Vral A., Vandekerckhove B. et al. Radiation Sensitivity of Human CD34(+) Cells Versus Peripheral Blood T Lymphocytes of Newborns and Adults: DNA Repair and Mutagenic Effects // Radiat. Res. 2016. V. 185. № 6. P. 580–90.  
https://doi.org/10.1667/RR14109.1

## Dependence of the Translocation Frequency in Blood Lymphocytes on the Dose and Age at the Onset of Exposure in Residents of the Techa Riverside Settlements

E. I. Tolstykh<sup>a,#</sup>, A. V. Vozilova<sup>a</sup>, **M. O. Degteva<sup>a</sup>**, and A. V. Akleev<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Ural Scientific and Practical Center of Radiation Medicine of the Federal Medical and Biological Agency of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia

<sup>b</sup> Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

<sup>#</sup>E-mail: evgenia.tolstykh@yandex.ru

Evaluation of age effect on the frequency of radiation-induced translocations, registered using FISH in circulating T-lymphocytes in the long-term period after exposure, is both of theoretical and practical interest for the purposes of biodosimetry. The objective of our study was to analyze the dose dependence of the translocation frequency in the peripheral blood T-lymphocytes in donors of different age who were exposed in the Techa Riverside settlements ( $n = 197$ ). In cytogenetic studies, whole chromosome painting probes were used to stain three pairs of chromosomes. A total of 104,721 genome equivalents (GE) were calculated and 2,540 translocations were found. For each donor, the individual absorbed doses in organs and tissues at the time of blood sampling were calculated using the Techa River Dosimetry System. In addition, doses to T-lymphocytes and their progenitors were calculated using the innovative modelling approach with due account of age related-dynamics of T-lymphocytes. The age dependence of the translocation frequency was associated particularly with these doses. The main sources of donor exposure were <sup>89,90</sup>Sr, accumulating in bones and irradiating the bone marrow almost locally. To assess the parameters of the dose-effect relationship, linear regression model was used. After taking into account background values, the lowest frequency of translocations per 1000 GE per Gy was found in donors aged 0–5 years at the time of exposure ( $9.3 \pm 1.3$ ), which is statistically significantly lower than in children aged 6–18 years ( $15.3 \pm 1.5$ ), but not in adults ( $11.9 \pm 2.9$ ). The value for adults (>18 years) was characterized by the maximum scatter, but was close to the values obtained in an international study of nuclear enterprise personnel after external exposure ( $11.6 \pm 1.6$ ). The values of the background translocation frequencies registered in various age groups correspond to the published data obtained in a joint international study on unexposed donors. We have also confirmed the absence of sex-effect on the frequency of translocations.

**Keywords:** circulating T-lymphocytes, chromosomal aberrations, translocations, human age, biodosimetry