

УДК 577.25/.27:616.831:616.89-092:616-001.28

Д. А. Бази́ка✉, К. М. Логановський, І. М. Ільєнко, С. А. Чумак, М. О. Бомко

Державна установа “Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України”, 53, вул. Мельникова, м. Київ, 04050, Україна

ПОРУШЕННЯ ГЕННОЇ ЕКСПРЕСІЇ, ТЕЛОМЕР ТА КОГНІТИВНИЙ ДЕФІЦИТ ЯК ФУНКЦІЯ ДОЗИ У ОПРОМІНЕНИХ *IN UTERO* ТА В ДОРОСЛОМУ ВІЦІ ВНАСЛІДОК АВАРІЇ НА ЧАЕС

Мета дослідження – вивчити можливі ефекти малих доз іонізуючого випромінювання на когнітивні функції дорослих і опромінених внутрішньоутробно.

Матеріали і методи. Проведено дослідження когнітивних тестів, довжини теломер і експресії генів, що регулюють функцію теломер в учасників ліквідації наслідків аварії на Чорнобильській АЕС (УЛНА), опромінених у дозі менше 500 мЗв ($n = 326$) та осіб, опромінених внутрішньоутробно в перші дні після аварії у м. Прип'яті ($n = 104$). Нейрокогнітивна оцінка включала основні когнітивні функції: пам'ять увагу, мову, виконавчі функції та візуально-просторове сприйняття. У молодих дорослих після пренатального опромінення аналізували зв'язок між когнітивними функціями і дозою опромінення на плід, мозок та щитоподібну залозу. Аналіз психоневрологічних тестів учасників ліквідації наслідків аварії на Чорнобильській АЕС та осіб, опромінених внутрішньоутробно, з різним рівнем когнітивних порушень проводили в порівнянні з внутрішнім контролем: групою учасників ліквідації аварії на ЧАЕС опромінених в межах до 20 мЗв, та групи осіб відповідного віку з радіоактивно забруднених територій для внутрішньоутробно опромінених.

Результати. Когнітивні функції УЛНА після опромінення в дорослому віці, характеризувалися симптомами помірного когнітивного дефіциту за індексами MMSE (середній груповий індекс $25,58 \pm 2,95$) та достовірно вищим додозалежним рівнем психічних порушень за шкалою BPRS. В УЛНА після опромінення в дозах > 500 мЗв визначається більш виражений когнітивний дефіцит, порівняно з групами опромінених до 500 мЗв та, особливо, неопромінених пацієнтів. У суб'єктів, опромінених *in utero*, при обстеженні у віці 25–27 років діагностували захворювання автономної нервової системи (ICD-10: G90) та домінування неврологічної мікросимптоматики, невротичних, пов'язаних зі стресом та соматоформних порушень (F40–F48). Встановлено зв'язок між експресією генів *TERT*, *TERF1*, *TERF2*, відносною довжиною теломер (RTL), когнітивним дефіцитом, цереброваскулярною патологією, дозою опромінення та віком. Відносна довжина теломер у загальній когорті учасників ліквідації аварії на ЧАЕС знижувалась після 50 років (6,1 %) з найбільш суттєвим зниженням після 70 років (11,7 %). Негативну кореляцію встановлено між RTL та когнітивним дефіцитом (MMSE), між віком та ступенем когнітивного дефіциту. У суб'єктів з когнітивним дефіцитом RTL була достовірно зниженою відносно групи порівняння. В інтервалі малих доз скорочення RTL пов'язано з гіперекспресією гена *TERT2* при низькій експресії *TERT*. При дозах вище 250–500 мЗв продемонстровано гіперекспресію генів *TERF1*, *TERT* та зниження експресії гена *TERF2*, асоційовані з когнітивними розладами та деменцією. Встановлено негативний кореляційний зв'язок між експресією гена *TERF2* та експресією проапоптотичного маркера CD95.

Висновки. Встановлено залежність когнітивного дефіциту у віддаленому періоді після опромінення від дози, віку на момент опромінення та генної регуляції функції теломер.

Ключові слова: теломери, низькі дози опромінення, когнітивний дефіцит, генна експресія, Чорнобиль.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2015. Вип. 20. С. 283–310.

✉ Бази́ка Дмитрій Анатолійович, e-mail: bazyka@yahoo.com

D. A. Bazyka✉, K. M. Loganovsky, I. M. Ilyenko, S. A. Chumak, M. O. Bomko

State Institution “National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Melnykov str., 53, Kyiv, 04050, Ukraine

Gene expression, telomere and cognitive deficit analysis as a function of Chernobyl radiation dose and age: from *in utero* to adulthood

Objective – to estimate the possible effects of low-dose ionizing radiation on human cognitive function in adulthood and *in utero*.

Materials and methods. Cognitive tests, telomere length and expression of genes regulating telomere function were studied in Chernobyl cleanup workers who were exposed to doses under 500 mSv ($n = 326$) and subjects exposed *in utero* during the first days after the accident Prypiat town ($n = 104$). The neurocognitive assessment covered memory, attention, language, executive and visiospatial functions. In young adults after prenatal exposure a relationship was analyzed between a cognitive function and radiation dose to foetus, brain and thyroid gland. Internal controls were used for both groups – the group of Chernobyl cleanup workers exposed in doses less than 20 mSv and an age-matched comparison group from radioactively contaminated areas for subjects exposed *in utero*.

Results. Cognitive functions in cleanup workers exposed to ionizing radiation at adulthood are characterized by symptoms of a mild cognitive impairment according to the MMSE (mean group score $25,58 \pm 2,95$) and a significantly higher level of mental disorders according to the BPRS in a dose-related manner. Cleanup workers exposed to doses over 500 mSv demonstrate a significant cognitive deficit in comparison with those exposed below 500 mSv and especially non-exposed patients. Subjects exposed *in utero* during the check at age of 25–27 years exhibit an excess of the disorders of autonomic nervous system (ICD-10: G90). Neurological microsymptoms as well as neurotic, stress-related and somatoform disorders (F40–F48) dominate. Relationship were revealed between the *TERT*, *TERF1*, *TERF2* genes expression, relative telomere length (RTL), cognitive deficit and cerebrovascular pathology, radiation dose and age. Telomere length in cleanup workers is reduced after 50 years (6.1 %). The most significant reduction in telomere length is shown after 70 years (11.7 %). Negative correlation was found between telomere length and degree of cognitive deficit (MMSE scale) and between age and degree of cognitive deficit. The RTL is significantly decreased in groups of persons with cognitive deficit compared to a comparison group. Telomere length at the late period after low dose radiation exposure is downregulated by the high *TERF2* gene expression combined with low expression of *TERT* gene. After exposure to doses over 250–500 mSv a cognitive deficit and dementia were associated with a substantial increase in *TERT* gene expression, overexpression of *TERF1* and decrease in expression of *TERF2* gene. A relationship was revealed between the *TERF2* gene expression and CD95+ cell fraction susceptible to apoptosis.

Conclusions. This study shows that cognitive deficit in humans at a late period after radiation exposure is influenced by dose, age at exposure and gene regulation of telomere function.

Key words: telomeres, low-dose radiation, cognitive deficit, gene expression, Chernobyl.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2015;20:283-310.

ВСТУП

Вплив іонізуючої радіації на здоров'я людини може залежати від дози опромінення та бути модифікованим низкою чинників, зокрема, психологічним стресом. Радіаційні ефекти підсилюються за рахунок синергізму імунологічних, метаболічних та генетичних процесів. Важливу роль у біології виживаності клітин, старіння та клітинної загибелі відіграють теломери – спеціалізовані структури ДНК, розташовані на кінцевих ділянках хромосом. Теломерний комплекс бере участь у захисті хромосом від пошкоджень ДНК через активацію p53 або p16 INK4a шляхів, які врешті-решт призводять до клітинного старіння і/або апоптозу [1].

INTRODUCTION

Health effects after radiation exposure in humans may depend from radiation dose and could be modified due to confounding factors such as psychological stress. Effects could be enhanced through synergism of immunological, metabolic and genetic processes. Important role in the biology of cell survival, aging and death is played by telomeres – specialized DNA structures located at the terminal ends of chromosomes. Telomere complex plays an important role in protecting the chromosome from DNA damage, such as “breaks” DNA by activation of p53 or p16 INK4a pathways, which ultimately lead to cellular senescence and/or apoptosis [1].

У проліферуючих клітинах, теломери поступово скорочуються протягом кожного мітотичного поділу, що призводить до клітинного старіння. Відповідно, скорочення довжини теломер є не тільки маркером біологічного старіння, а й механізмом з важливими функціональними наслідками. На моделі фібробластів людини показано значення модуляції довжини теломер у розвитку хромосомної нестабільності, індукованої іонізуючим випромінюванням [2]. В той же час, не встановлено достовірного скорочення теломер у населення штату Керала при проживанні в умовах впливу високого природного фону опромінення. Даних щодо змін експресії генів, пов'язаних з функцією теломер, не наводиться [3]. Існує незначна кількість інформації про зміни довжини теломер у віддаленому періоді після опромінення та його вплив на формування віддалених радіаційних наслідків.

Довжина теломер соматичних клітин скорочується з віком та під впливом різних ендогенних та екзогенних патогенетичних факторів. Довжина теломер лейкоцитів периферичної крові може змінюватись, наприклад, після променевої терапії, а радіаційний ефект, як правило, проявляється у клітинах з коротшими теломерами [4]. Довжина теломер у лейкоцитах в цілому була прийнята за стандарт виміру довжини теломер, і в останнє десятиліття був встановлений зв'язок з деякими віковими захворюваннями, а саме: серцево-судинними, раком та деменцією [5]. Довжина теломер лейкоцитів пропонується як біомаркер наявності функціональних та структурних процесів старіння мозку. Довгі теломери, що є свідченням відносно низької клітинної проліферації, знайдені при зменшенні об'єму гіпокампу [6].

Довжина теломер залежить від багатьох серцево-судинних факторів ризику і є біомаркером віку. Скорочення довжини теломер виявляють у більш пізньому віці, при атеросклерозі, гіпертонії, ожирінні, цукровому діабеті, курінні, низькій фізичній активності, серцевій недостатності, жорсткому поведженні в дитинстві, забрудненні повітря внаслідок дорожнього руху, хронічній інфекції, у одинаків та при деменції. Було показано, що скорочення теломер пов'язане з когнітивними порушеннями, включаючи деменцію [7]. Однак зв'язок між скороченням теломер і когнітивною дисфункцією не можна вважати однозначно встановленим [8]. Крім того, відсутні дані щодо взаємозв'язку між довжиною теломер і цереброваскулярним нейрокогнітивним дефіцитом після впливу малих доз радіації.

Є свідчення, що малі дози опромінення (100 мГр) активують гени, відмінні від тих, які активуються

In proliferating cells, telomeres are gradually reduced during each mitotic division and ultimately cell aging. Thus, reducing the length of telomeres is recognized not only a marker of biological aging, but also the mechanism with important functional consequences. On human fibroblasts the role of telomere length modulation is demonstrated in the development of a delayed chromosome instability induced by ionizing radiation [2]. However, no significant influence on telomere shortening was demonstrated in Kerala population with high natural irradiation [3]. No data was presented on the expression of genes associated with telomere function. Few information is available on the telomere length changes at the late period after exposure and its influence on the formation of the late radiation effects.

The telomere length of somatic cells shortens with age and with other endogenous and exogenous pathogenetic factors. The telomere length in peripheral blood leukocytes could be affected by radiation therapy, and the effect of radiation tends to appear in cells with short telomeres [4]. Leukocyte telomere length has generally been accepted as a measurement of systemic telomere length and has in the last decade been found to be associated with several age-related disorders and attributes; e.g., cardiovascular disease, cancer, and dementia [5]. The leukocyte telomere length being used as a biomarker for tapping functional and structural processes of the aging brain. Long telomeres representing a history of relatively low cellular proliferation, are associated with smaller hippocampal volumes [6].

The length of telomeres is influenced by many of the cardiovascular risk factors and is a biomarker of age. Reduced telomere length is found in senior age, atherosclerosis, hypertension, adiposities, diabetes, smoking, physical inactivity, heart failure, maltreatment in childhood, exposure to traffic pollution, chronic infection, single life and dementia. It has been demonstrated that telomere shortening has been associated with cognitive impairment including *dementia* [7]. However, relationships between telomere shortening and cognitive dysfunction are contradictory [8]. Moreover, there are no available data concerning relationships between telomere length and cerebrovascular neurocognitive deficit following exposure to low-dose radiation.

There are indications that a low-dose exposure (100 mGy) activates genes different from those

після дії високих доз (2 Гр), а гени реагування на низькі дози пов'язані з іншими сигнальними шляхами та функціями. Молекулярна реакція мозку миші протягом декількох годин після низьких доз опромінення включає зниження активності нейронних шляхів, пов'язаних з когнітивною дисфункцією, активність яких знижується при нормальному старінні людини та хворобі Альцгеймера [9]. Іонізуюче випромінювання вважається тригером старіння та асоційованої хвороби Альцгеймера.

Експресія генів є чутливим індикатором радіаційного впливу. Незважаючи на те, що повна схема змін експресії генів, пов'язаних з опроміненням відсутня, слід зазначити, що ці зміни є незаперечними і дозозалежними. Таким чином, ми можемо припустити, що профіль експресії генів може бути інформативним маркером опромінення.

Основна мета дослідження полягала в тому, щоб дослідити роль радіаційного опромінення в генній регуляції довжини теломер і його вплив на патогенез цереброваскулярного нейрокогнітивного дефіциту у віддаленому періоді після опромінення в діапазоні низьких доз внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ

Дизайн дослідження та вибірка

Учасники ліквідації наслідків аварії (ЛНА) на ЧАЕС. Учасники ЛНА були обрані випадковим методом з Державного реєстру України осіб, які постраждали внаслідок аварії на ЧАЕС (ДРУ). Репрезентативна вибірка включала в себе учасників ЛНА, які працювали на промайданчику ЧАЕС та 30-кілометровій зоні в період з 26.04.1986 р. по 31.12.1989 р. Критеріями рандомізації з когорти були такі: чоловіча стать, вік 45+; наявність в ДРУ дози опромінення. Дози знаходилися в діапазоні 0,8–2800 мЗв з середньогруповим значенням ($274,0 \pm 418,9$) мЗв ($M \pm SD$).

Пошук включав ідентифікацію останньої адреси, надсилання листів-запрошень, контакт по телефону (якщо можливо) та персональний контакт. Рекрутована група з 326 учасників ЛНА була розподілена на 5 підгруп, відповідно до дози опромінення, та обстежена на наявність когнітивного дефіциту і молекулярних змін. Вивчали 5 дозових груп: 0,0–20 мЗв (внутрішній контроль), 20–100, 100–250, 250–500 мЗв та вище за 500 мЗв. Зовнішній контроль включав 30 мешканців м. Києва, стандартизованих за віком та статтю (табл. 1). Середня доза зовнішнього опромінення для мешканців Києва за 1986–2011 рр., визначена відділом дозиметрії ННЦРМ, – 1,76 мЗв.

after a high-dose radiation (2 Gy) and low-dose response genes are associated with the other pathways and functions. The molecular response of the mouse brain within a few hours after low-dose irradiation involves the down-regulation of neural pathways associated with cognitive dysfunctions that are also down-regulated in normal human aging and Alzheimer's disease [9]. Ionizing radiation is considered to be a trigger for aging and associated Alzheimer's disease.

Gene expression is a sensitive indicator of radiation exposure. Despite the fact that overall scheme of gene expression changes associated with irradiation isn't known to date, the presence of these changes is indisputable and dose-dependent. So, we can assume that the gene profile may be informative as a marker of exposure.

The main aim of the study was to explore the role of radiation dose on gene regulation of telomere length and its influence on the pathogenesis of cerebrovascular neurocognitive deficit at the remote period of low-dose irradiation as a result of the Chernobyl accident.

MATERIALS AND METHODS

Study Design and Sample

Cleanup workers. Chernobyl cleanup workers were selected randomly from the State Registry of Ukraine of Exposed after the Chernobyl Accident (SRU). The representative sample included cleanup workers who worked on the industrial site of Chernobyl NPP and in the 30-km zone since April 26, 1986 till December 31, 1989. The sample of cleanup workers has been randomized from the cohort according to the criteria of male gender, age 45+, and individual external radiation dose available in the SRU. Radiation dose values ranged from 0.8 mSv to 2800 mSv (274.0 ± 418.9 mSv) (mean \pm SD).

Tracing included identification of the address, mailing letters, contact by phone (if available), or door-to-door contact. A group of 326 Chernobyl cleanup workers was recruited, divided into 5 subgroups according to radiation dose and tested for cognitive dysfunctions and molecular changes. Five dose groups were studied: 0.0–20 mSv (internal control), 20–100 mSv, 100–250 mSv, 250–500 mSv, and >500 mSv. The control group consisted of 30 age standardized subjects residing in Kyiv city (table 1). Mean radiation doses of external exposure for Kyiv residents for 1986–2011 period were estimated by the RCRM Department of dosimetry as 1,76 mSv.

Таблиця 1

Розподіл та дескриптивна характеристика учасників ЛНА за дозовими групами

Table 1

Distribution and descriptive characteristics of randomized cleanup workers by dose groups

Група Group	Доза, мЗв Dose, mSv	Кількість суб'єктів Number of subjects	Вік / age	
			М (SD)	діапазон / range
1	0–20 (внутрішній контроль)	44	61,97 (6,67)	44–78
2	20–100	85	58,40 (6,18)	46–75
3	100–250	97	56,89 (7,63)	45–76
4	250–500	64	58,95 (7,43)	45–80
5	> 500	36	61,11 (6,99)	47–76
6	Зовнішній контроль (1,76)	30	52,82 (5,96)	45–74

За ступенем когнітивних порушень учасників ЛНА було розподілено на 3 групи. Критерії включення до груп були такими:

➤ *здорові* – учасники ЛНА без когнітивних порушень, відсутність цереброваскулярної патології підтверджено невропатологом, показник MMSE 28 або вище;

➤ *помірний когнітивний дефіцит* – учасники ЛНА з помірними когнітивними порушеннями, підтвердженою цереброваскулярною патологією, відповідають критеріям Наукового положення судинного внеску до когнітивного порушення та деменції АНА/ASA щодо можливого або вірогідного судинного помірному когнітивного порушення (VaMCI), індекс MMSE в межах 24–27;

➤ *деменція* – учасники ЛНА з судинною деменцією (VaD), підтвердженою цереброваскулярною патологією, відповідають критеріям Наукового положення судинного внеску до когнітивного порушення та деменції АНА/ASA щодо можливої або вірогідної судинної деменції (VaD), індекс MMSE 23 або нижче.

Розподіл суб'єктів за групами когнітивних порушень наведено в табл. 2.

Критеріями виключення були наявність тяжких захворювань центральної нервової системи несудинного характеру (інфекційні, обмінні, пухлинні, трав-

Also cleanup workers were divided for three groups due to the level of cognitive impairment. Inclusion criteria for each group are presented below.

Healthy Group – Cleanup workers without cognitive disorders; absence of cerebrovascular disease confirmed by clinical review of neurologist; MMSE score of 28 or more.

MCI Group – Cleanup workers with mild cognitive impairment (MCI), confirmed cerebro-vascular disease by clinical review of neurologist; meet the AHA/ASA Scientific Statement Vascular Contributions to Cognitive Impairment and Dementia criteria for probable or possible vascular mild cognitive impairment (VaMCI); MMSE score in a range of 24–27.

Dementia Group – Cleanup workers with vascular dementia (VaD), confirmed cerebrovascular disease; meet the AHA/ASA Scientific Statement Vascular Contributions to Cognitive Impairment and Dementia criteria for probable or possible vascular dementia (VaD); MMSE score of 23 or less.

Distribution of subjects by group of cognitive impairment due to this criteria is presented in table 2.

Exclusion criteria were the next – other than cerebrovascular severe diseases of the central nervous system (e.g. infectious, metabolic, tumors',

Таблиця 2

Розподіл обстежених учасників ЛНА за групами когнітивних порушень

Table 2

Distribution of cleanup workers by the group of cognitive impairment

Групи за ступенем порушень / cognitive groups	n	%
Здорові / normal	83	25,46
Помірний когнітивний дефіцит / mild cognitive impairment	195	59,82
Деменція / dementia	48	14,72
Всього / total	326	100

ми голови, дегенеративні, депресивні захворювання, психози), небажання виконувати вимоги протоколу або процедури, або нездатність зрозуміти мову протоколу, тяжкі ушкодження слухової функції, алкоголізм та наркотична залежність.

Опромінені in utero. ДРУ містить інформацію щодо 1200 дітей, опромінених внутрішньоутробно. Сформована ННЦРМ когорта опромінених in utero (народжені з 27.04.1986 р. по 26.02.1987 р. на радіоактивно забруднених територіях України (РЗТ), включаючи Чорнобильську зону відчуження, була ідентифікована після перевірок якості та консистентності даних ДРУ ($n = 1037$). Суб'єкти, які зазнали впливу опромінення в межах природного фону, та населення РЗТ були включені до стандартизованих за віком груп порівняння. Протокол запрошення пацієнтів до дослідження та критерії виключення були такими ж, як і в УЛНА.

Реконструкція індивідуальних доз на плід, фетальної дози на щитоподібну залозу та на мозок проводилась за допомогою двох підходів: 1) фетальна доза на щитоподібну залозу приймалася рівною дозі на щитоподібну залозу матері; 2) відповідно до моделі Публікації ICRP 88 (2001). Дози було відновлено для дітей з м. Прип'ять та контрольної групи з м. Києва.

За допомогою Публікації 88 ICRP [10] проведено обчислення ефективних доз на плід, мозок та щитоподібну залозу у 104 суб'єктів, народжених в період між 26.04.1986 р. та 26.02.1987 р. від матерів, евакуйованих з міста Прип'яті до Києва, та 78 їх колишніх однокласників з Києва. Середня ефективна фетальна доза у опромінених була ($59,5 \pm 25,3$) мЗв ($M \pm SD$ в порівнянні з ($1,2 \pm 0,05$) мЗв в контролі. Пренатальна еквівалентна доза на мозок становила ($17,1 \pm 7,1$) та ($0,8 \pm 0,03$) мЗв відповідно для опромінених та контролю. Еквівалентна доза на щитоподібну залозу була ($685,1 \pm 548,8$) мЗв у опромінених in utero та ($34,0 \pm 26,8$) мЗв – в контрольній групі. У 16 суб'єктів (15,4 %) дози на щитоподібну залозу за період in utero перевищували 1 Зв, 4 з них (3,8 %) мали дозу на плід більше 100 мЗв. Для групи порівняння з РЗТ дози не наведені. Deskриптивна характеристика суб'єктів, опромінених in utero, наведена у табл. 3.

Інформована згода та ухвала. Письмову інформовану згоду на участь у дослідженні отримано від кожного суб'єкта. Дослідження отримало ухвалу від Комітету з біоетики ННЦРМ. Дотримувалися процедури у відповідності з етичними стандартами та Хельсінкською декларацією 1975 р. (перегляд 1983 р.).

major head trauma, degenerative, major depression or psychosis); unwilling to comply with the protocol or procedures or unable to understand the language used; any severe visual or auditory disorders; alcoholism or drug dependence.

Exposed in utero. The SRU includes information on 1,200 prenatally exposed individuals. The NRCRM cohort of in utero exposed (born between April 27, 1986 and February 26, 1987 at the radioactively contaminated area of Ukraine, including the Chernobyl exclusion zone) has been identified after range and consistence checks of the SRU data ($n = 1037$). Subjects were exposed to natural radiation levels and population of radioactively contaminated area were included to the age-matched comparison groups. All of them have been invited for examinations. Exclusion criteria were the same as for cleanup workers.

Individual reconstruction of total fetal doses, fetal thyroid doses and fetal doses on brain has been carried out using 2 methods: 1) fetal thyroid dose is assumed to be equal to the mother's thyroid dose, and 2) according to the model by ICRP Publication 88 (2001). Doses were reconstructed for the exposed children from Prip'yat and also for the control group in Kyiv.

The ICRP Publication-88 [10] was applied for calculation of effective fetal, brain and thyroid doses for a sample of 104 individuals born between April 26, 1986 and February 26, 1987 to mothers who had been evacuated from Prip'yat to Kyiv, and their former 78 classmates from Kyiv. Mean effective fetal doses (with SD) were 59.5 ± 25.3 mSv in the exposed group and 1.2 ± 0.05 mSv in the control group. Prenatal equivalent brain doses were 17.1 ± 7.1 mSv and 0.8 ± 0.03 mSv for the exposed and control groups respectively. Equivalent thyroid doses in utero were 685.1 ± 548.8 mSv in the exposed and 34.0 ± 26.8 mSv in the control group. There were 16 persons (15.4 %) who had been exposed in utero to thyroid doses 1 Sv and more, 4 of these individuals (3.8 %) had fetal doses >100 mSv. No doses values are available for the radioactively contaminated area population. Characteristics of subjects exposed in utero is presented at table 3.

Consent and Approval. Written informed consent to participate in the study was obtained from each study subject. The study was approved by the RCRM Ethical Review Committee. The procedures were followed in accordance with the ethical standards and Helsinki Declaration of 1975, as revised in 1983.

Таблиця 3

Характеристика суб'єктів, опроміненних внутрішньоутробно та контрольних груп

Table 3

Characteristics of cases and controls

Характеристики Characteristic	Опромінені випадки Cases exposed	Діти з РЗТ Contaminated area	Контроль Controls
	n = 104	n = 23	n = 78
Чоловіча стать, n (%) Males, n (%)	54 (51,9)	10 (43,5)	34 (32,4)
Вік, ± MSD, років Age, mean ± SD, in year	24,5 ± 1,7	24,7 ± 1,1	24,5 ± 1,6
Еквівалентна доза на мозок, M ± SD, мЗв Child's equivalent dose on brain, mean ± SD, mSv	17,1 ± 7,1	N/A	0,8 ± 0,02
Child's integral fetal dose, mean ± SD, mSv Інтегральна доза на плід, M ± SD, мЗв	59,5 ± 25,3	N/A	1,2 ± 0,05
Еквівалентна доза на щитоподібну залозу in utero, M ± SD, мЗв Child's equivalent thyroid dose in utero, mean ± SD, mSv	685,1 ± 548,8	N/A	34,0 ± 26,8

Психоневрологічний протокол та верифікація діагнозів. Нейрокогнітивна оцінка проводилась фахівцями відділу психоневрології ННЦРМ. Діагностика судинних когнітивних розладів проводилася за критеріями АНА/АSА [11], шкалою MMSE [12], а також ICD-10 і DSM-IV. Використовували шкали опитувальників українською та російською мовами. Вони включали такі когнітивні тести:

- ▶ Шкала Mini-Mental State Examination (MMSE) для визначення когнітивного дефіциту;
- ▶ тест Векслера для оцінки інтелекту дорослих (WAIS) [13], для оцінки вербального (VIQ), невербального (PIQ) та повного IQ;
- ▶ тест аудиторного вербального навчання Рея (RAVLT) [14], для дослідження вербального навчання та тривалої пам'яті.

Клінічне неврологічне та психіатричне дослідження проводилось за стандартними діагностичними шкалами:

- ▶ Розширеною шкалою стану інтелектуальної неспроможності Kurtzke (EDSS) [15], для оцінки неврологічного дефіциту;
- ▶ Короткою психіатричною оціночною шкалою (BPRS) [16], для кількісного визначення основних психопатологічних симптомів та психопатології в цілому;
- ▶ Шкалою внеску подій (IES) [17], для оцінки суб'єктивного дистресу, викликаного травмуючою подією;
- ▶ Шкалою дратівливості, депресії та тривоги (IDA) [18], для оцінки дратівливості;
- ▶ Загальним опитувальником здоров'я-28 (GHQ-28) [19], для оцінки психологічних аспектів якості життя;

Psychoneurological Protocol, Verification of Diagnoses. Neurocognitive assessment was performed by the experts (Psychoneurology dpt., RCRM). Diagnostics of vascular cognitive impairment was done according to the АНА/АSА criteria [11], MMSE [12], ICD-10 and DSM-IV criteria as well. Interview scales were introduced in Russian or Ukrainian version. The following cognitive tests were applied:

- ▶ Mini-Mental State Examination (MMSE), to measure cognitive deficit;
- ▶ Wechsler Adult Intelligence Scale (WAIS) [13], to measure Verbal (VIQ), Performance (PIQ) and Full IQs;
- ▶ Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT) [14], to measure verbal learning and delayed memory.

Clinical neurological and psychiatric examination was carried out using standard diagnostic scales:

- ▶ The Kurtzke Expanded Disability Status Scale (EDSS) [15], to measure the neurologic deficits;
- ▶ Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS) [16], for quantitative estimation of the main psychopathological symptoms and psychopathology generally;
- ▶ The Impact of Event Scale (IES) [17], to measure subjective distress caused by traumatic event;
- ▶ The Irritability, Depression and Anxiety Scale (IDA) [18], to rate irritability;
- ▶ General Health Questionnaire-28 (GHQ-28) [19], to measure the psychological aspects of quality of life;

► Шкалою депресії Zung (SDS) [20], для оцінки настрою пацієнта.

Дослідження відносної довжини теломер за допомогою флуоресцентної гібридизації *in situ* та проточної цитометрії

Визначення відносної довжини теломер проводили за допомогою Telomer PNA Kit/FITC (DakoCytometry, Denmark). Набір рекомендовано для визначення теломер у ядерних гемопоетичних клітинах з використанням зв'язаних із флуоресцеїном зразків пептидної нуклеїнової кислоти (PNA). Методика проведення аналізу складалась з декількох етапів, а саме: попередня обробка, денатурація, гібридизація (1-й день); промивання, фарбування ДНК, аналіз (2-й день). В якості контрольних клітин, була використана лінія лейкемічних клітин K562, яка має довгу та встановлену довжину теломер. Аналіз гібридизованих зразків із FITC-міченою PNA був проведений за допомогою проточного цитометра FACSCalibur. RTL розраховували за формулою:

$$RTL = \frac{\text{середнє значення FL1 у дослідних клітин із зразком} - \text{середнє значення FL1 у дослідних клітин без зразка}}{\text{середнє значення FL1 у контрольних клітин із зразком} - \text{середнє значення FL1 у контрольних клітин без зразка}} \times \frac{\text{DNA index of control cells}}{\text{DNA index of sample cells}} \times 100$$

Полімеразна ланцюгова реакція у режимі реального часу (оцінка відносного рівня генної експресії)

Визначення відносного рівня генної експресії проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі із зворотною транскрипцією. Виділення тотальної РНК проводили з лейкоцитів периферичної крові за допомогою автоматичної станції QIAcube (QIAGEN, Germany) для виділення нуклеїнових кислот та набору для виділення РНК – NucleoSpinRNAII (Macherey-Nagel, Germany). Синтез комплементарної ДНК (кДНК) із зразків виділеної РНК проводився з використанням HighCapacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, USA). Ампліфікація кДНК проводилась на базі роботизованої станції 7900 HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, USA) із застосуванням наборів TagMan для генів *TERT*, *TERF1* та *TERF2*. Аналіз отриманих даних проводили за допомогою програмного забезпечення SDS 2.3 та RQManager. Показники відносного рівня генної експресії (RQ) розраховували за допомогою $2^{-\Delta\Delta Ct}$ методу, де $\Delta\Delta Ct = (Ct_{\text{sample}} - Ct_{\text{ref}})_{\text{contrl}} - (Ct_{\text{sample}} - Ct_{\text{ref}})_{\text{irradiated}}$.

► Zung Depression Scale (SDS) [20], to determine the mood of the patient.

Telomere analysis (relative length assay) by fluorescence *in situ* hybridization and flow cytometry

The relative telomere length (RTL) was assessed using the Telomere PNA Kit / FITC (DakoCytometry, Denmark). The kit is recommended for application in assay of telomere length in nucleated hematopoietic cells using a peptide nucleic acid (PNA) probe labeled with FITC. Assay procedure included several stages, namely preprocessing, denaturation, hybridization (the 1st day), washing, DNA staining, and analysis (the 2nd day). The K562 leukemic cell line with long and determined telomere length was used as control cells. Hybridized samples with FITC-labelled PNA were counted at FACSCalibur cytometer. The RTL was calculated by the equation as a follows:

Real-time polymerase chain reaction (relative quantification of gene expression)

Gene expression was explored by polymerase chain reaction (PCR) with real-time reverse transcription. RNA was segregated from peripheral blood mononuclear by the automated workstation QIAcube (QIAGEN, Germany) for nucleic acids segregation with spin-column kit for RNA segregation – NucleoSpin RNAII (Macherey-Nagel, Germany) using the DNase processing. cDNA was synthesized from segregated RNA samples with the High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, USA). Amplification of cDNA was performed using robotic systems 7900 HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, USA) with TagMan sets for *TERT*, *TERF1* and *TERF2* genes. The data were analyzed using the SDS 2.3 software and RQManager. Relative levels of gene expression (RQ) was calculated according to the $\Delta\Delta Ct$ comparative method, where $\Delta\Delta Ct = (Ct_{\text{sample}} - Ct_{\text{ref}})_{\text{contrl}} - (Ct_{\text{sample}} - Ct_{\text{ref}})_{\text{irradiated}}$ and the expression ratio is $2^{\Delta\Delta Ct}$.

РЕЗУЛЬТАТИ

Загальний психоневрологічний статус: група учасників ЛНА на ЧАЕС

В процесі проведення неврологічного обстеження у більшості пацієнтів діагностувалася переважно цереброваскулярна патологія – церебральний атеросклероз, гіпертензивна енцефалопатія, хронічна недостатність мозкового кровообігу (ХНМК), наслідки перенесених гострих порушень мозкового кровообігу (ГПМК). Розподіл обстежених за неврологічною патологією представлений в таблиці 4.

Спостерігались деякі відмінності між групою внутрішнього контролю та іншими групами за показником “гіпертензивна енцефалопатія” (статистично недостовірні). Значення групи внутрішнього контролю також були нижчими у порівнянні з іншими групами (окрім групи > 500 мЗв) за показником “наслідки перенесених ГПМК”, однак також без статистичної достовірності. Значення показника “церебральний атеросклероз” не показало істотних відмінностей у порівнянні з групою внутрішнього контролю. Водночас, показник ХНМК зустрічався частіше в групі внутрішнього контролю у порівнянні з дозовою групою 20–100 мЗв ($\chi^2 = 8,03$; $p < 0,05$). Інша неврологічна патологія була представлена одиничними випадками в групах дослідження.

При аналізі психопатологічних розладів спостерігалось суттєве переважання пацієнтів з органічними психічними розладами, що спростовує провідну роль у формуванні психопатології в учасників ЛНА лише психологічних та пов'язаних зі

RESULTS

General psychoneurological status: cleanup workers group

During the conducting of neurological examination the range of cerebrovascular diseases, namely cerebral atherosclerosis, hypertensive encephalopathy, chronic cerebral ischaemia, sequelae of strokes (acute cerebrovascular accidents) was predominantly diagnosed in most patients. Distribution of examined subjects by neurological diseases is presented in table 4.

There were some differences between the group of internal control over other groups for hypertensive encephalopathy (not statistically significant). The figures of internal control were lower in index sequelae of strokes compared to the other dose groups (except dose group >500 mSv), but also without statistic significance. Value of cerebral atherosclerosis showed no significant differences in comparison to the group's internal control. At the same time index of cerebral ischaemia (chronic) in internal control group was higher than in dose group of 20–100 mSv ($\chi^2 = 8.03$; $p < 0.05$). Other neurologic disorders were presented only by sporadic cases in studied groups.

In the analysis of psychopathological disorders was observed marked prevalence of patients with organic mental disorders, which refutes the leading role in the development of psychopathology in cleanup workers only for psychological and stress-

Таблиця 4

Розподіл обстежених за неврологічною патологією, %

Table 4

Distribution of examined subjects by diagnosed neurological diseases in per cent

	Дозові групи, мЗв / dose groups, mSv				
	0–20* n = 44	20–100 n = 85	100–250 n = 97	250–500 n = 64	> 500 n = 36
Церебральний атеросклероз (I67.2) Cerebral atherosclerosis	30 (68,2)	52 (61,2)	66 (68,0)	47 (73,4)	26 (72,2)
Гіпертензивна енцефалопатія (I67.4) Hypertensive encephalopathy	6 (13,6)	19 (22,3)	25 (25,8)	16 (25,0)	9 (25,0)
Хронічна недостатність мозкового кровообігу (I67.8) Cerebral ischaemia (chronic)	23 (52,3)	23 (27,1)*	40 (41,2)	29 (45,3)	16 (44,4)
Наслідки перенесених ГПМК (I63, I69.0–I69.4) Sequelae of strokes	2 (4,5)	9 (10,6)	10 (10,3)	8 (12,5)	2 (5,6)
Полінейропатії та інші захворювання периферійної нервової системи (G60–64) Polyneuropathies and other disorders of the peripheral nervous system	-	2 (2,3)	4 (4,1)	-	-

Примітка. # – внутрішній контроль; * – $p < 0,05$ у порівнянні з групою внутрішнього контролю.
Note. # – internal control; * – $p < 0.05$ compared with internal control group.

Таблиця 5
Розподіл обстежених за психіатричною патологією, %

Table 5
Distribution of examined subjects by psychiatric disorders in per cent

	Дозові групи, мЗв / dose groups, mSv				
	0–20* n = 44	20–100 n = 85	100–250 n = 97	250–500 n = 64	> 500 n = 36
Без психопатології With no disorders	10 (22,7)	10 (11,8)	13 (13,4)	10 (15,6)	1 (2,8)*
Судинна деменція (F01) Vascular dementia	6 (13,6)	12 (14,1)	14 (14,4)	7 (10,9)	7 (19,4)
Органічний депресивний розлад (F06.32) Organic depressive disorder	-	-	1 (1,0)	1 (1,6)	1 (2,8)
Органічний емоційно лабільний (астенічний) розлад (F06.6) Organic emotionally labile (asthenic) disorder	11 (25,0)	18 (21,2)	28 (28,9)	15 (23,4)	5 (13,9)
Легкий когнітивний дефіцит (F06.7) Mild cognitive disorder	13 (29,5)	25 (29,4)	29 (29,9)	21 (32,8)	19 (52,8)*
Органічний розлад особистості (F07.0) Organic personality disorder	4 (9,1)	10 (11,8)	13 (13,4)	7 (10,9)	1 (2,8)

Примітка. # – внутрішній контроль; * – $p < 0,05$ у порівнянні з групою внутрішнього контролю.
Note. # – internal control; * – $p < 0.05$ compared with internal control group.

стресом факторів. Серед органічних розладів, найчастіше зустрічалися легкий когнітивний дефіцит (ЛКД), органічний емоційно лабільний (астенічний) розлад та органічний розлад особистості. Значення показника ЛКД у групі внутрішнього контролю було суттєво нижчим, ніж в групі > 500 мЗв. Приблизно однаково в усіх групах була представлена судинна деменція.

Інші діагностичні категорії були представлені окремими випадками. Ці випадки спостерігались лише в трьох останніх групах і були представлені депресивними розладами коморбідними з органічними психічними розладами.

Відповідно до показника “Відсутність психопатології”, його значення в групі внутрішнього контролю мало тенденцію переважання у порівнянні з усіма іншими групами і було статистично більшим у порівнянні з дозовою групою > 500 мЗв ($\chi^2 = 6,64$; $p < 0,05$). Розподіл обстежених за психіатричною патологією представлений у таблиці 5.

**Загальний психоневрологічний статус:
опромінені *in utero***

У опроміненних *in utero* превалювали захворювання автономної нервової системи (ICD-10: G90). В когортах опроміненних *in utero* та осіб, які проживають на радіоактивно забруднених територіях, на відміну від контролю, спостерігалися ХНМК (ICD-10: I67.8) в шести (5,8 %) та одному (4,3 %) випадках, відповідно ($p > 0,05$). У групі осіб, які проживають на

related factors. Among organic disorders, most common were observed mild cognitive disorder, organic emotionally labile (asthenic) disorder and organic personality disorder. The value of mild cognitive disorder in internal control group were significantly lower then in dose group > 500 mSv. The relatively equally in all groups was represented the diagnosis of vascular dementia.

Other diagnostic categories were represented by sporadic cases. These cases were observed only in the third, fourth and fifth groups and all of these cases were depressive disorders comorbid with organic mental disorders.

Regarding the absence of psychopathology, the figures of internal control have a tendency to be higher compared to all other groups, and were statistically different to the dose group >500 mSv ($\chi^2 = 6.64$; $p < 0.05$). Distribution of examined subjects by psychiatric diseases is presented in table 5.

**General psychoneurological status:
exposed *in utero***

Disorders of autonomic nervous system (ICD-10: G90) prevailed. In cohort of *in utero* and in radioactively contaminated area population opposite to control the chronic cerebral ischemia (ICD-10: I67.8) were found, 6 (5.8 %) and 1 (4.3 %) cases appropriately, $p > 0.05$, There were no cases of Episodic and paroxysmal disorders

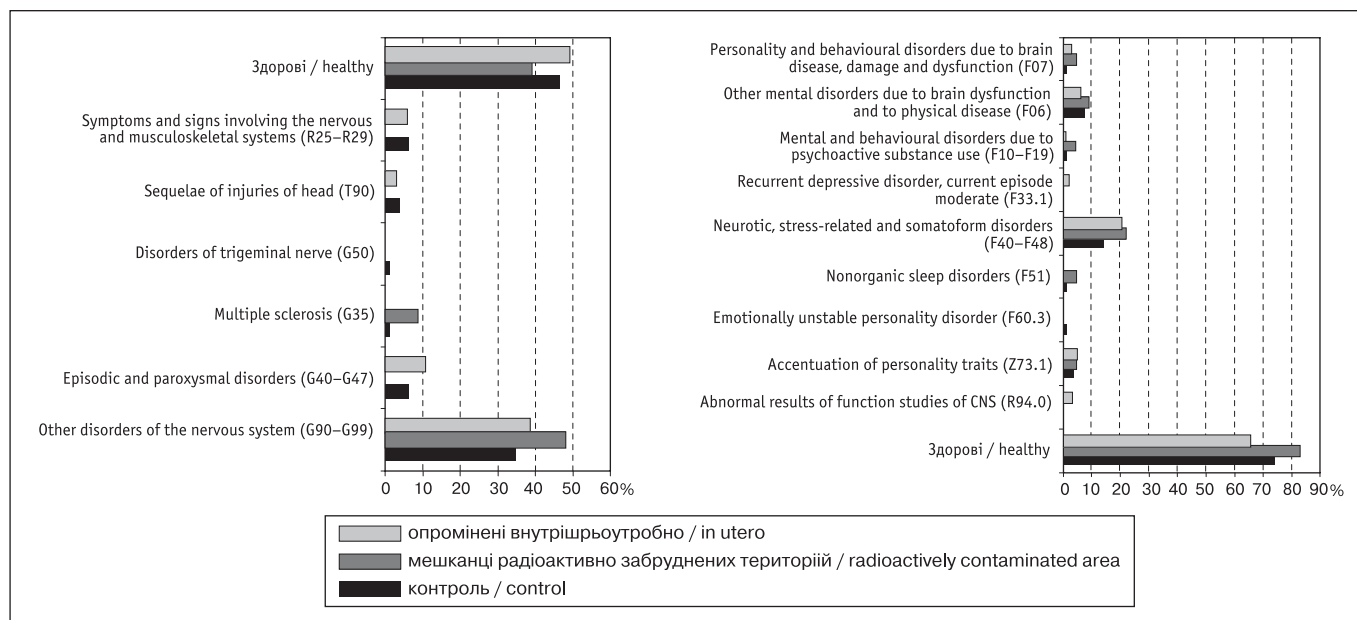


Рисунок 1. Структура захворювань ЦНС (1) та психічних і поведінкових розладів (2) у досліджуваних групах

Figure 1. Structure of CNS diseases (1) and of mental and behavioural disorders (2) in investigational groups

РЗТ, були відсутні епізодичні та пароксизмальні розлади (G40–G47). Невротичні, пов'язані зі стресом та соматоформні розлади (F40–F48) домінували в усіх досліджуваних групах без статистичних відмінностей (рис. 1).

Таким чином, результати клінічних неврологічного та психіатричного досліджень переважно показали відсутність статистично значущих відмінностей у досліджуваних групах.

Психонейрометрія: порівняння груп УЛНА на ЧАЕС та опромінених *in utero*

Було проведено аналіз психоневрологічних тестів УЛНА на ЧАЕС та опромінених внутрішньоутробно з різним рівнем когнітивного дефіциту у порівнянні з контролем. Група учасників ЛНА, опромінених в наднизьких дозах – 0–20 мЗв (група 1), виступала внутрішнім контролем для груп учасників ліквідації, опромінених в межах 20–100 мЗв (група 2), 100–250 мЗв (група 3), 250–500 мЗв (група 4) та > 500 мЗв (група 5). Для опромінених *in utero* (група 6) контролем виступала група неопромінених відповідного віку (група 7). Також, як група порівняння для груп 6 та 7, використовувалась група осіб відповідного віку, які проживають на РЗТ (група 8). Зважаючи на наявні дані щодо можливого окремого впливу на довжину теломер тяжкої цереброваскулярної патології (інсульту) проводилась оцінка досліджуваних груп як без поправки, так і з поправ-

(G40–G47) in radioactively contaminated area population. Neurotic, stress-related and somatoform disorders (F40–F48) were dominated in all investigational groups without statistical significance (Fig. 1).

Thus, the results of clinical neurological and psychiatric examination mostly testify the absence of statistical significance between investigational groups.

Psychoneurometry: comparison of cleanup workers and persons exposed *in utero*

Analysis of psychoneurological tests of Chernobyl cleanup workers and persons exposed in utero with varying degrees of cognitive impairment was performed in comparison to the controls. It was a group of internal control – group of persons exposed in low doses – 0–20 mSv (group 1) for Chernobyl cleanup workers exposed in ranges 20–100 mSv (group 2), 100–250 mSv (group 3), 250–500 mSv (group 4) and >500 mSv (group 5) For persons exposed in utero (group 6) it was an age-matched comparison group consisting of individuals exposed to natural levels of irradiation (group 7). Also for exposed in utero was used an age-matched comparison group from radioactively contaminated areas (group 8). Also, due to data of the possible separate impact on telomere length of the severe cerebrovascular pathology (strokes) the studied groups were

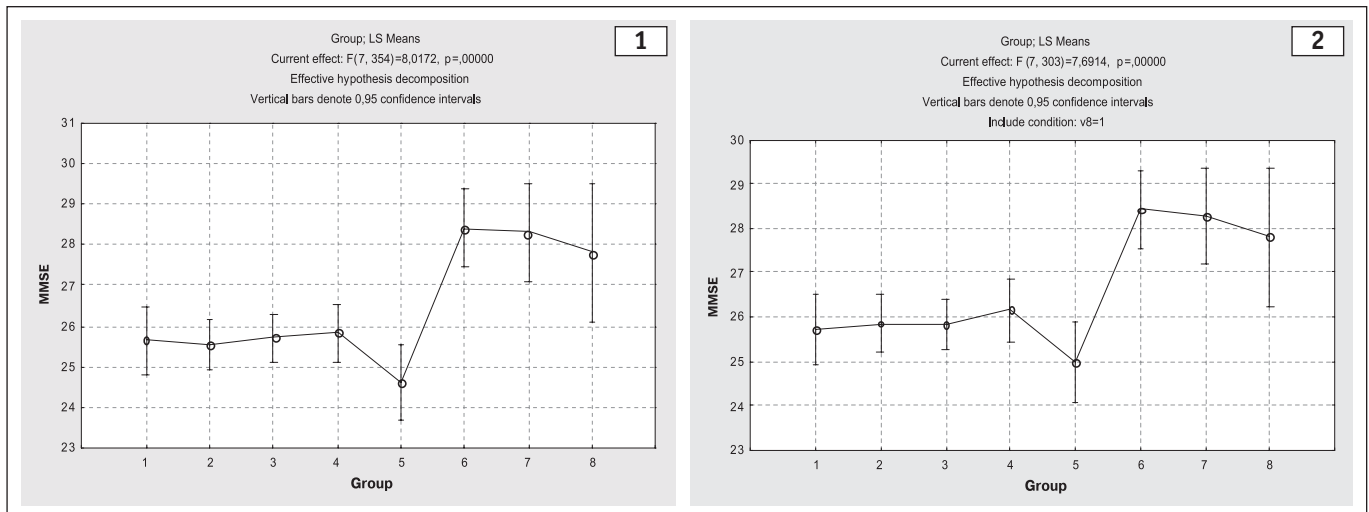


Рисунок 2. Обстежені без поправки (1) і з поправкою по здоров'ю без тяжкої цереброваскулярної патології (2). MMSE (когнітивний дефіцит). ANOVA.

Figure 2. The examined without adjustment (1) and adjusted on health without severe cerebrovascular pathology (2). MMSE (cognitive deficite). ANOVA.

кою по здоров'ю без тяжкої цереброваскулярної патології.

Результати тесту MMSE в досліджуваних групах показали, що переважна більшість рандомізованих учасників ЛНА з нашого Реєстру (групи 1, 2, 3, 4, 5) потрапляють в рамки легкого когнітивного дефіциту (ЛКД) у відповідності до операціональних критеріїв MMSE (24-27 балів), (рис. 2). Також було виявлено, що група УЛНА, опромінених в дозах > 500 мЗв (group 5), має суттєве когнітивне зниження у порівнянні з іншими групами (рис. 3).

У всіх рандомізованих з нашого Реєстру учасників ЛНА (групи 1, 2, 3, 4, 5) відмічався суттєво вищий

estimated without adjustment and adjusted on health without severe cerebrovascular disease.

Estimating of the MMSE values of the studied groups shows that the all randomized from our Register cleanup workers (groups 1,2,3,4,5) are at the frame of Mild Cognitive Impairment (MCI) according to the operational criteria of the MMSE (24-27). (see Fig. 2) Also it was found that cleanup workers exposed to >500 mSv (group 5) have significant cognitive decline comparing with other studied groups (see Fig. 3).

The all randomized from our Register cleanup workers (groups 1, 2, 3, 4, 5) have significantly

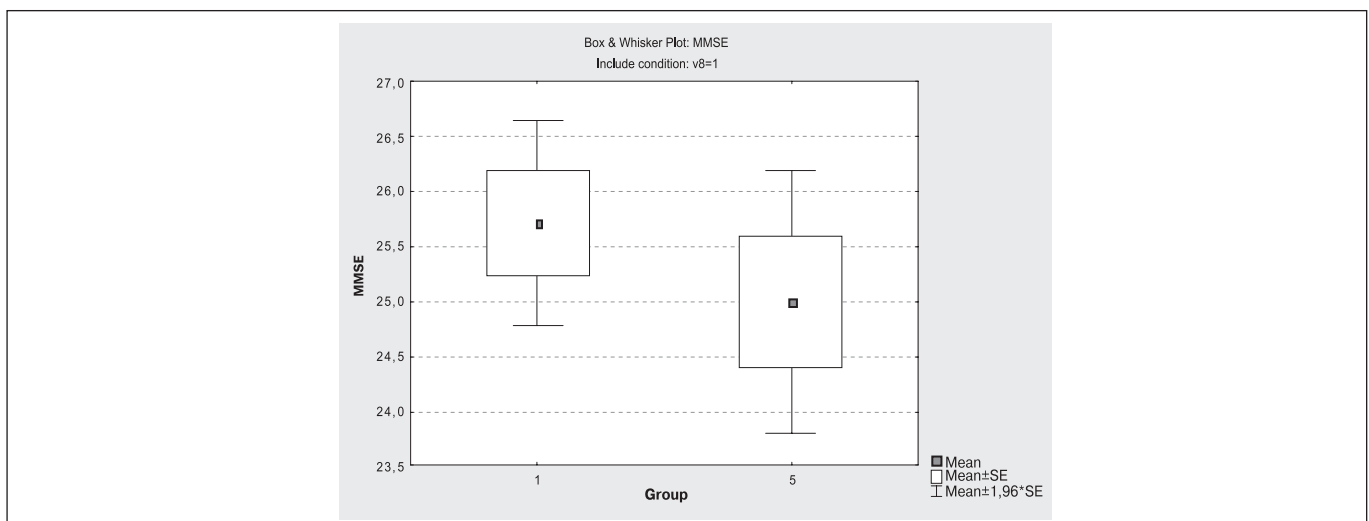


Рисунок 3. Опромінені до 20 мЗв проти > 500 мЗв з поправкою по здоров'ю без тяжкої цереброваскулярної патології. MMSE (когнітивний дефіцит). t-тест Стьюдента.

Figure 3. The exposed to 20 vs. 500 mSv without severe diseases. Adjusted on health. MMSE (cognitive deficit). Student's t-test.

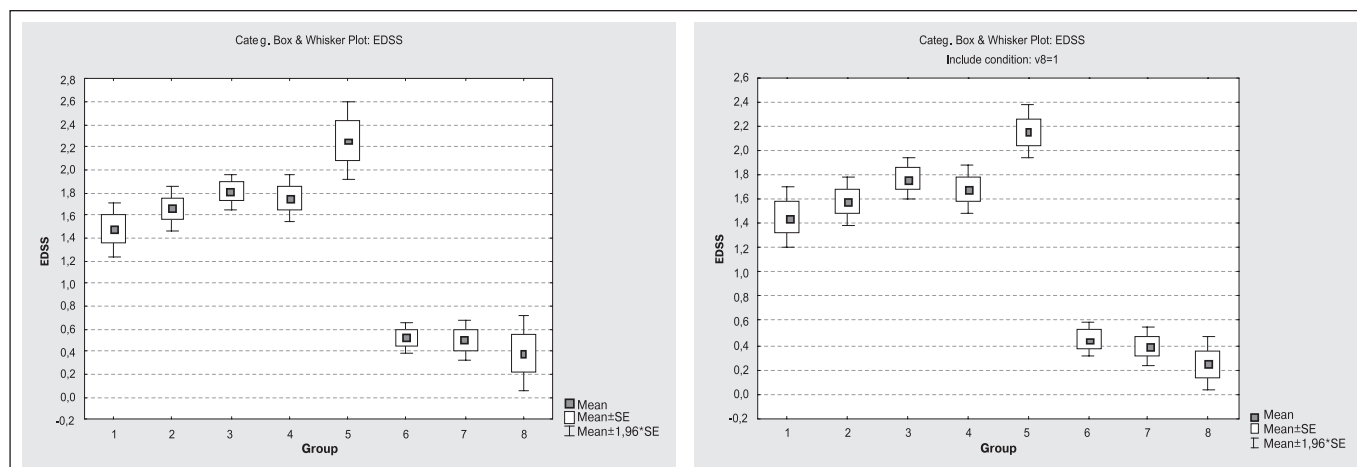


Рисунок 4. Обстежені без поправки (1) і з поправкою по здоров'ю без тяжкої цереброваскулярної патології (2). EDSS (неврологічний дефіцит). ANOVA.

Figure 4. The examined without adjustment (1) and adjusted on health without severe cerebrovascular disease (2). EDSS (neurological deficit). ANOVA.

неврологічний дефіцит за показниками тесту EDSS, ніж у молодих дорослих (групи 6, 7, 8). Ці результати можуть бути пояснені ефектом віку (рис. 4). Опромінені in utero із зони відчуження (група 6) мають більш виражений неврологічний дефіцит, ніж їх неопромінені ровесники (група 7), і навіть мешканці РЗТ (група 8).

Порівняння показників EDSS групи внутрішнього контролю (група 1) і групи УЛНА, опроміненних в дозах 250–500 мЗв (група 4) продемонструвало суттєве неврологічне погіршення в останній групі. Що стосується групи УЛНА, опроміненних в дозах > 500 мЗв (група 5), то вона показала найбільш виражені порушення (рис. 5).

У всіх рандомізованих з нашого Реєстру УЛНА (групи 1, 2, 3, 4, 5) відмічався значуще вищий рівень

higher neurological deficit according to the EDSS, that young adults (groups 6, 7, 8). These results could be the effect of the age (see Fig. 4). Exposed in utero (Chernobyl exclusion zone) (group 6) have bigger neurological deficit, than the age-matched non-exposed people (group 7) and even inhabitants of radioactively contaminated areas (group 8).

Comparing the EDSS scores of the internal group control (group 1) and group of cleanup workers exposed to 250–500 mSv (group 4) shows the significant neurological decline in the last group. And the most expressed neurological decline is observed in group of cleanup workers exposed to >500 mSv (group 5) (see Fig. 5).

The all randomized from our Register cleanup workers (groups 1, 2, 3, 4, 5) have significantly

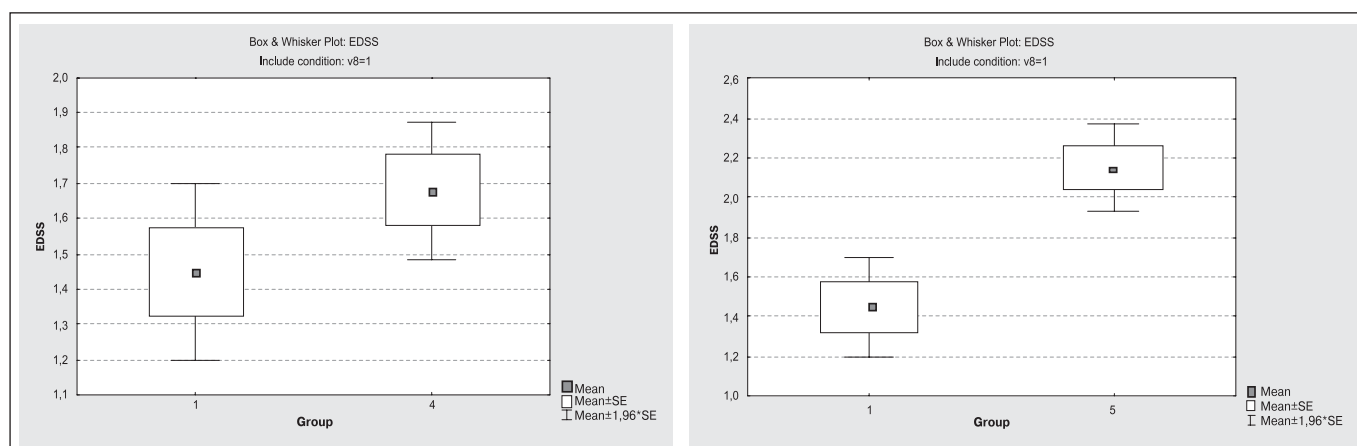


Рисунок 5. Опромінені до 20 мЗв проти 250–500 мЗв (1) та до 20 мЗв проти > 500 мЗв (2) з поправкою по здоров'ю без тяжкої цереброваскулярної патології. EDSS (неврологічний дефіцит). *t*-тест Стьюдента.

Figure 5. The exposed to 20 vs. 250–500 mSv (1) and 20 vs 500 mSv (2) without severe diseases. Adjusted on health. EDSS (neurological deficit). Student's *t*-test.

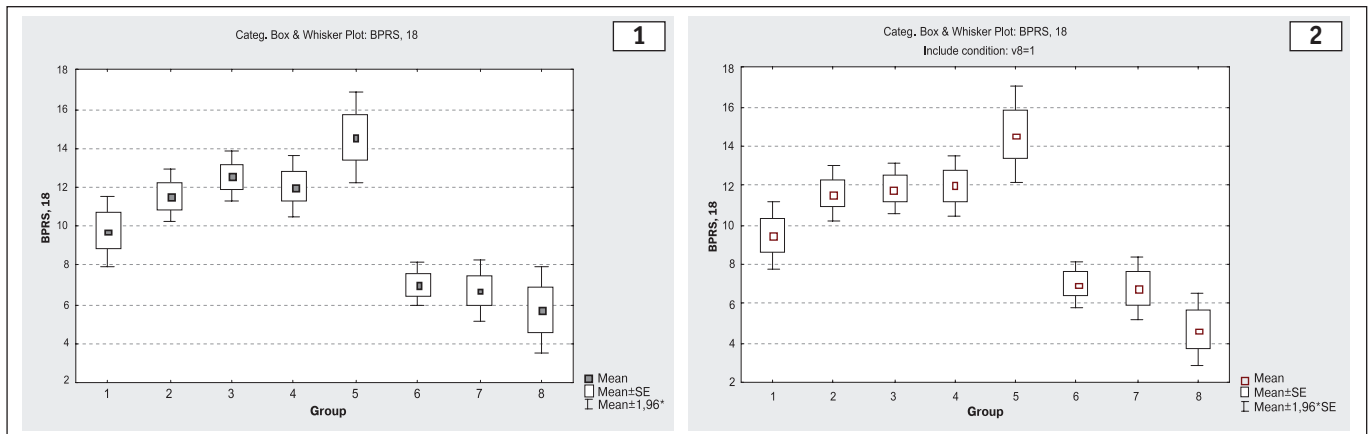


Рисунок 6. Обстежені без поправки (1) і з поправкою по здоров'ю без тяжкої цереброваскулярної патології (2). BPRS (психічні розлади). ANOVA.

Figure 6. The examined without adjustment (1) and adjusted on health without severe cerebrovascular pathology (2). BPRS (mental disorders). ANOVA.

психічних розладів за показниками тесту порівняно з молоддю (групи 6, 7, 8), причому він мав також дозозалежний тренд (рис. 6). Відповідно, це може бути ефектом віку та отриманої дози опромінення. Опромінені in utero із зони відчуження (група 6) мали більш виражений психіатричний дефіцит, ніж їхні неопромінені однолітки (група 7) та мешканці РЗТ (група 8).

Порівняння значення BPRS у групі внутрішнього контролю (група 1) та групі УЛНА, опромінені в дозах 250–500 мЗв (група 4) показало суттєве переважання психопатології в останній групі. Окрім того, найбільш виражені психопатологічні порушення спостерігалися в групі учасників ЛНА, опромінені в дозах > 500 мЗв (група 5) (рис. 7).

При аналізі показників тесту RAVLT ніяких дозозалежних ефектів на вербальну короточасну

higher level of mental disorders according to the BPRS in dose-related manner, than young adults (groups 6, 7, 8) (see Fig. 6). This could be the effect of the age and radiation dose. Exposed in utero (Chornobyl exclusion zone) (group 6) have bigger psychiatric deficit, than they age-matched non-exposed people (group 7) and even inhabitants of radioactively contaminated areas (group 8).

Comparing the BPRS scores of the internal group control (group 1) and group of cleanup workers exposed to 250–500 mSv (group 4) shows the significant psychiatric decline in the last group. And the most significant psychiatric decline have the cleanup workers exposed to >500 mSv (group 5) (see Fig. 7).

Analyzing the values of the RAVLT test no dose-related effects on verbal short memory and learn-

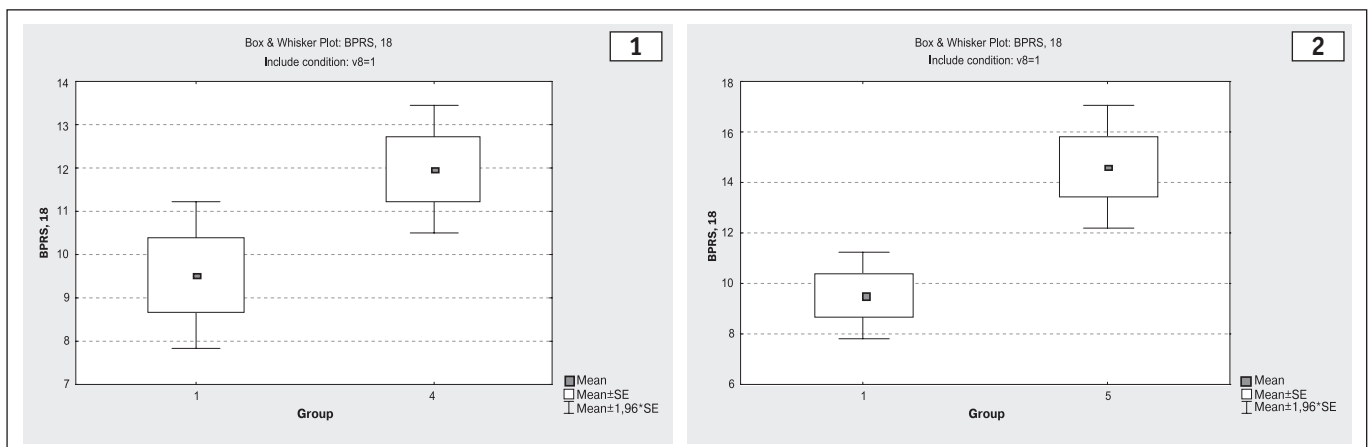


Рисунок 7. Опромінені до 20 мЗв проти 250–500 мЗв (1) та до 20 мЗв проти > 500 мЗв (2) з поправкою по здоров'ю без тяжкої цереброваскулярної патології. *t*-тест Стьюдента.

Figure 7. The exposed to 20 vs. 250–500 mSv (1) and 20 vs >500 mSv (2) without severe diseases. Adjusted on health. BPRS (mental disorders). Student's *t*-test.

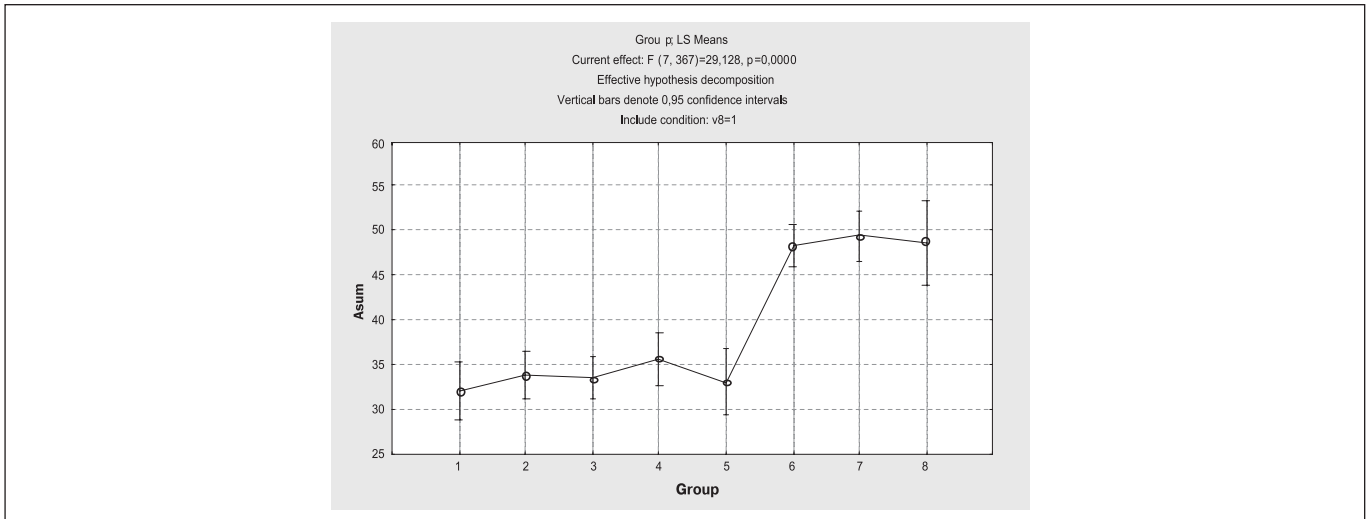


Рисунок 8. Обстежені з поправкою по здоров'ю без тяжкої цереброваскулярної патології. RAVLT (вербальна короточасна пам'ять і навчання). ANOVA.

Figure 8. The examined without severe diseases. Adjusted on health. RAVLT (verbal short memory and learning). ANOVA.

пам'ять і навчання серед усіх опромінених (УЛНА та in utero) виявлено не було (рис. 8). Порівняння in utero груп (групи 6, 7, 8) з групами УЛНА (групи 1, 2, 3, 4, 5) показали що молоді дорослі (групи 6, 7, 8) мають вищі показники Asum, що свідчить про те, що вони "розумніші" за УЛНА (групи 1, 2, 3, 4, 5). Цей очікуваний результат можна віднести до вікових ефектів.

Немає сумнівів, що широкомасштабні радіаційні аварії призводять до ексцесу депресивних розладів, ПТСР та інших стрес-асоційованих розладів у осіб, які мають відношення до цих катастроф. Однак, досі не визначений етіологічний внесок іонізуючого вип-

ing among all exposed (cleanup workers and in utero) were founded (see Fig. 8). The comparison of in utero groups (groups 6, 7, 8) with cleanup workers groups (groups 1, 2, 3, 4, 5) shows that the young adults (groups 6, 7, 8) have higher Asum values, which means that they are "clever" than the cleanup workers (groups 1, 2, 3, 4, 5). This expected result seems to be an age effect.

There is no doubt that large-scale radiation emergencies lead to excesses of depressive disorders, PTSD and other stress-related states in people drawn into the orbit of such disasters. However, it is not clear etiological significance of ionizing

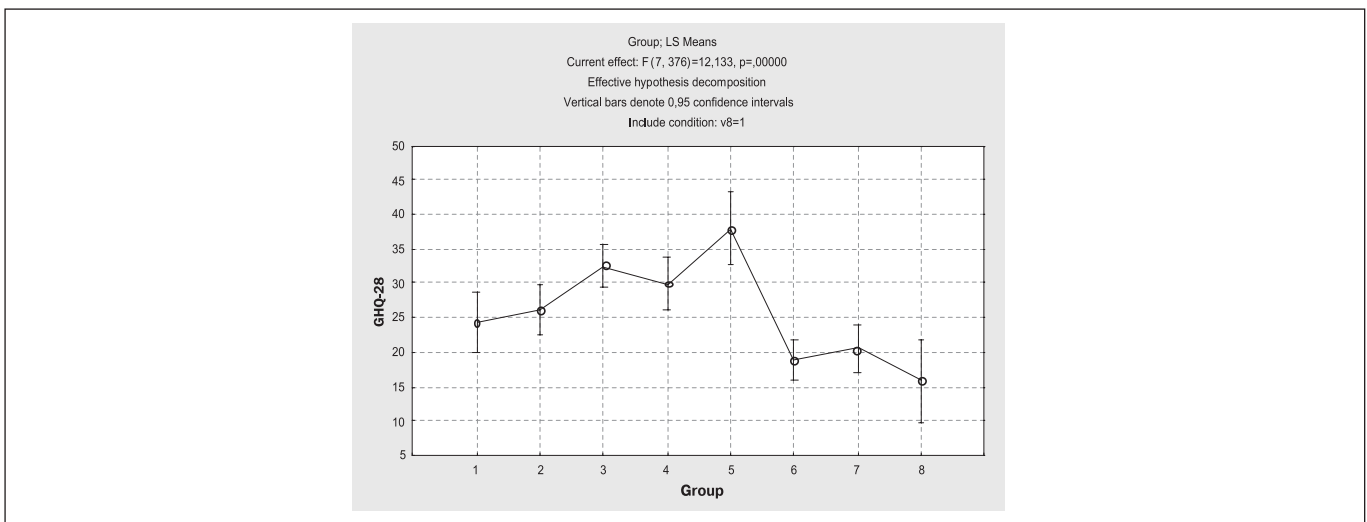


Рисунок 9. Обстежені з поправкою по здоров'ю без тяжкої цереброваскулярної патології. GHQ-28 (самооцінка здоров'я). ANOVA.

Figure 9. The examined without severe diseases. Adjusted on health. GHQ-28 (health self-estimation). ANOVA.

ромінювання, особливо в діапазоні малих доз, у генезі цих станів. В нашому дослідженні спостерігалась тенденція щодо посилення показників ПТСР, депресії та інших стрес-асоційованих розладів (рис. 9–11). Зокрема, ми вважаємо, що це пояснюється чітким психологічним ефектом, який має відношення до стрес-асоційованих розладів. Ті особи, які побували в найнебезпечніших ділянках аварії, відчувають себе найбільш чутливими і уразливими. Отже, це можна назвати псевдодозоасоційованим ефектом, а саме психологічним ефектом сприйняття радіаційного ризику. Кращі показники в групах молоді (групи 6, 7, 8) порівняно з УЛНА (групи 1, 2, 3, 4, 5) можуть бути пояснені їхнім меншим фокусуванням уваги на впливі аварії та на потенційно небезпечних ефектах іонізуючої радіації на їхнє здоров'я.

Подібні тенденції спостерігалися при аналізі показників тестів ПТСР-IES and IDA (рис. 10). Ефект сприйняття радіаційного ризику також мав більший вплив на ці показники в залежності від отриманої дози опромінення. Показники в групах молоді були нижчі (кращі), ніж в групах учасників ЛНА. Ці результати пояснюються меншим акцентуванням уваги молоді (групи 6, 7, 8) порівняно з учасниками ЛНА (групи 1, 2, 3, 4, 5) на наслідках Чорнобильської катастрофи для їх здоров'я та соціального функціонування.

Подібні висновки можна зробити, аналізуючи рівень депресії із застосуванням шкали SDS. Зрозумілі психологічні ефекти роблять внесок у виникнення та існування депресивних станів. Учасники ЛНА, які перебували в найбільш небезпечних та

radiation, especially in the range of low doses in the genesis of such states. In our study a tendency of increasing of PTSD, depression and other stress-related states in proportion to radiation dose were observed (see Fig. 9-11.). We suggest that this is a clear psychological effect contributing to stress-related disorders. Those, who had been in the most dangerous areas of the disaster, are self-felling the most sensitive and vulnerable. So, this seems to be a pseudo-dose-related effect, but it's rather psychological radiation risk perception effect. The better scores of young adults (groups 6, 7, 8) comparing cleanup workers (groups 1, 2, 3, 4, 5) could be explained by their lower focusing on disaster impact and potentially harmful health effects of ionizing radiation.

Similar trends are observed in the analysis of performance tests PTSD-IES and IDA (Fig. 10). Psychological radiation risk perception effect also has greater impact on these indices depending on obtained irradiation dose. And the values in in-utero groups were lower (better) than in cleanup workers. These results connected with lower focusing on health and social consequences of Chernobyl disaster of the young adults (groups 6, 7, 8) comparing clean-up workers (groups 1, 2, 3, 4, 5).

Similar conclusions can be drawn by analyzing the level of depression using the SDS scale. Understandable psychological effects contribute to the emergence and existence of depression. Cleanup workers who were in the most dangerous

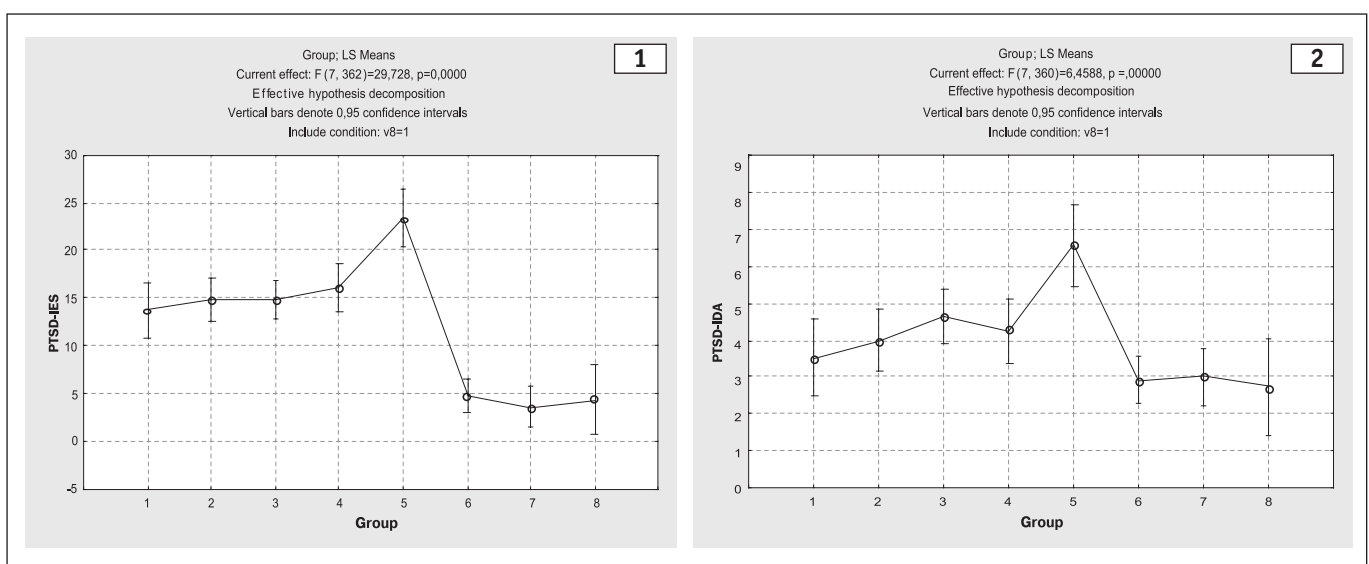


Рисунок 10. Обстежені з поправкою по здоров'ю без тяжкої цереброваскулярної патології. 1 – IES (ПТСР); 2 – IDA (ПТСР). ANOVA.

Figure 10. The examined without severe diseases. Adjusted on health. A – IES (PTSD); B – IDA (PTSD). ANOVA.

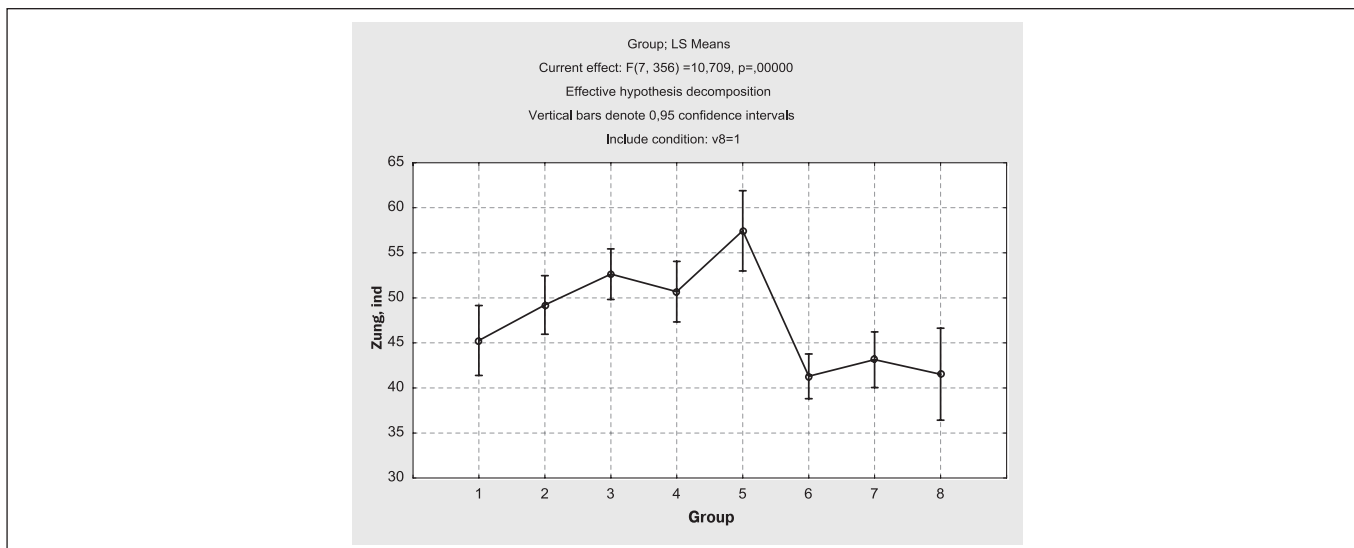


Рисунок 11. Обстежені з поправкою по здоров'ю без тяжкої цереброваскулярної патології. SDS (Депресія). ANOVA.

Figure 11. The examined without severe diseases. Adjusted on health. SDS (Depression). ANOVA.

забруднених зонах, почуваються найбільш депресивно. Середні показники SDS у групах УЛНА, опромінених в межах 100–250 мЗв (група 3), 250–500 мЗв (група 4) та > 500 мЗв (група 5) становили більше 50 пунктів, що відповідає легкому ступеню депресії. У молоді (групи 6, 7, 8) ці показники суттєво нижчі (кращі). Кращі показники у молоді можна пояснити меншим акцентуванням уваги на наслідках аварії.

Загальний IQ-WAIS (Інтелектуальний коефіцієнт Векслера) у ліквідаторів, опромінених у дозі > 500 мЗв був вищим, ніж в інших досліджуваних групах.

and contaminated zones feel most depressed. Average SDS indices the groups of clean up workers exposed within 100–250 mSv (group 3), 250–500 mSv (Group 4) and > 500 mSv (Group 5) were more than 50 points, which corresponds to mild depression. In young people (groups 6, 7, 8) these figures are significantly lower (better). Best indices in young people can be explained by a less focusing on consequences of the accident.

Total IQ-WAIS (Wechsler's Intellectual quotient) in liquidators exposed to >500 mSv was higher comparative to other investigational

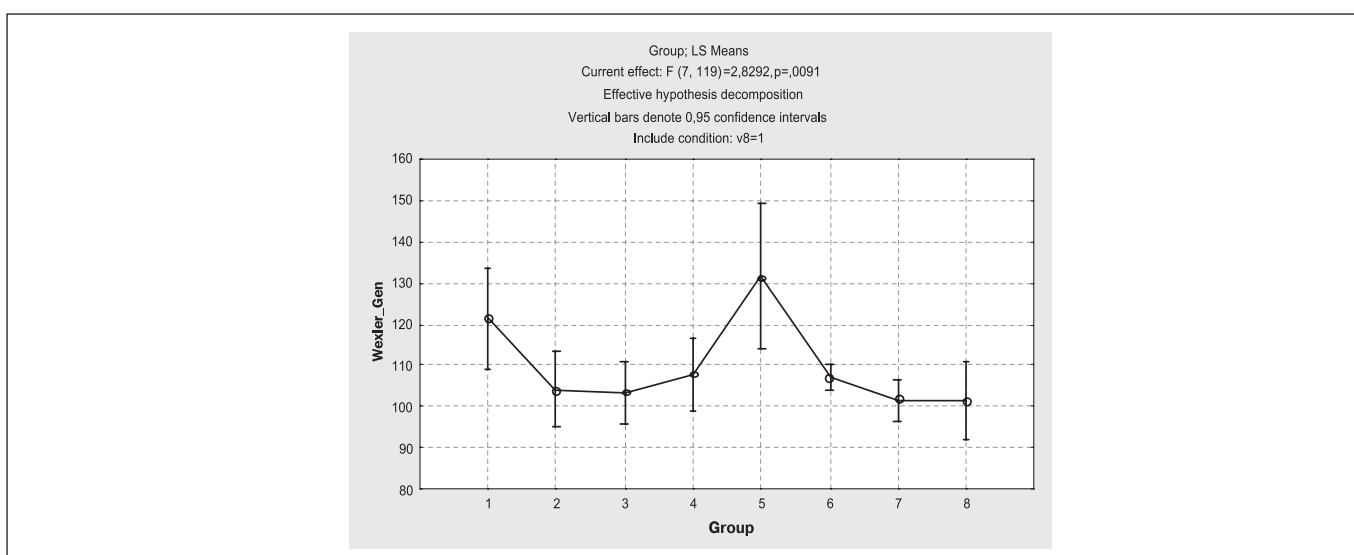


Рисунок 12. Обстежені з поправкою по здоров'ю без тяжкої цереброваскулярної патології. Загальний IQ-WAIS (Інтелектуальний коефіцієнт Векслера). ANOVA.

Figure 12. The examined without severe diseases. Adjusted on health. Total IQ-WAIS (Wechsler's Intellectual quotient). ANOVA.

Таблиця 6

Характеристика показників відносної довжини теломер у лейкоцитах периферичної крові УЛНА на ЧАЕС в групах дослідження

Table 6

Relative telomere length in peripheral blood leukocytes of examination groups

Групи дослідження Groups of cleanup workers	Інтервал доз Dose interval	RTL		t t-value	p*
		M	SD		
1	0–20 мЗв / mSv (внутрішній контроль / internal control)	14,16	4,17	-	-
2	20–100 мЗв / mSv	16,80	4,21	-2,62	0,01
3	100–250 мЗв / mSv	15,92	3,94	-2,02	0,04
4	250–500 мЗв / mSv	16,88	3,96	-2,90	0,004
5	> 500 мЗв / mSv	17,64	3,64	-3,34	0,001

Примітка. * – статистично значуща різниця відносно групи внутрішнього контролю.
Note. * – significant difference in comparison with the internal control group.

Цей факт можна пояснити так званим ефектом “le professional” – ті, хто отримав вищі дози опромінення, мали вищий освітній рівень як професіонали, задіяні на найбільш небезпечних ділянках (рис. 12).

Дослідження довжини теломер

Аналіз відносної довжини теломер (RTL) у лейкоцитах периферійної крові в УЛНА з різним рівнем когнітивного дефіциту був проведений у порівнянні з внутрішнім контролем. Було встановлено підвищення середніх показників RTL в досліджуваних групах порівняно з внутрішнім контролем (табл. 6).

Однак аналіз довжини теломер у групах опромінених порівняно зі здоровим контролем (середнє значення RTL – $17,21 \pm 2,21$ (M \pm SD)) показав зворотній результат. Було встановлено зниження показників RTL у лейкоцитах периферійної крові УЛНА в різних дозових групах відносно контролю (p < 0,0006).

Результати досліджень відносної довжини теломер порівняно з контролем підтвердили припущення про взаємозв’язок між змінами довжини теломер та дозою радіації більш ніж через двадцять п’ять років після опромінення. Редукція теломерних ділянок хромосом може бути сигналом для запуску клітинного старіння. Наявність реплікативного старіння призводить до зниження ефективності системи, яка має визначати порушення ДНК та бере участь у репарації геномної ДНК. Подібні порушення системи відновлення ДНК у віддаленому періоді після опромінення можуть призводити до патологічних станів, таких як злоякісна трансформація, і є ознакою геномної нестабільності в учасників ЛНА на ЧАЕС через більш ніж 25 років після опромінення.

groups. It could be an effect of “le professional” – those exposed to the higher radiation doses had the higher educational level as a professional (see Fig. 12).

Telomere length studies

Analysis of RTL in leukocytes of peripheral blood of Chornobyl cleanup workers with varying degrees of cognitive impairment was performed in comparison to the internal controls. It was found the increase of average RTL indexes in the study group compared to the internal control (Table 6).

However, analysis of telomere length in dose group comparison with the healthy control (mean RTL – 17.21 ± 2.21 (M \pm SD)) showed the opposite result. It was established the decline of the RTL indexes in leukocytes of peripheral blood of Chornobyl clean-up workers in different dose ranges relatively of control (p < 0.0006).

The results of studies of telomere length vs. the control group confirmed our assumption about relationship between the telomere changes and radiation dose more than twenty years after the exposure. Our data suggest the relationship between the telomere changes and radiation dose more than 20 years after the exposure. The reduction of telomeric chromosomal sites may be a signal to start cell aging. In the presence of replicative aging reduces the effectiveness of the system, which detects DNA violations and participates in the repair of genomic DNA. Such violations DNA reparation system in the remote period after irradiation can lead to pathological conditions, including malignant transformation, since shown feature of genome instability in cleanup workers after 25 years after the Chornobyl accident.

Також нами отримані дані, які демонструють зв'язок між скороченням відносної довжини теломер та комбінацією ефектів іонізуючого випромінювання з наявністю когнітивних порушень. Довгі теломери характерні для клітин з відносно низькою клітинною проліферацією, що може бути асоційовано з віковими змінами. Ми припускаємо, що більш довгі теломери в осіб, які були опромінені у діапазоні вищих доз, та за наявності когнітивних розладів, вірогідно, свідчать про дозозалежну активацію теломерази (на що вказує підвищення експресії гена *TERT*, який регулює активність теломерази) як хромосомного механізму “репарації”, який запускається у відповідь на ушкодження генетичного матеріалу та віддзеркалює дефекти теломеразного регулювання, що створює умови запуску канцерогенних процесів.

Встановлено, що в основних групах УЛНА на ЧАЕС довжина теломер залежить від дози опромінювання та ступеня когнітивних розладів. Найвищі середні значення показника RTL були зареєстровані в групі осіб, опромінених у дозах понад 500 мЗв та у групі осіб з когнітивними розладами важкого ступеня. Однак, кореляційний аналіз між RTL та дозою опромінювання продемонстрував зв'язок низької сили та не був статистично значущим ($r = 0,13$).

Відомо, що в соматичних клітинах довжина теломер скорочується з віком. Проведено кореляційний аналіз між показниками RTL та віком у загальній когорті обстежених осіб. Встановлено лише загальні тенденції, які демонструють зниження показника RTL залежно від віку (рис. 13).

Віковий діапазон загальної когорти обстежених осіб становив від 44 до 80 років. Були сформовані 4

Data demonstrate that longer telomeres are related to a combined effect disease with cognitive impairment and ionizing radiation. Long telomeres representing a history of relatively low cellular proliferation which may be associated with age-related changes. We presume, that the longer telomeres in persons more heavily exposed to ionizing radiation and the presence of cognitive impairment probably indicate dose-dependent activation of telomerase (as evidenced by increased *TERT* gene expression, which regulates telomerase activity – see below) as a chromosome “reparative” mechanism that is launched following damage and reflect the defects in telomerase regulation finally predisposing to the onset of carcinogenic processes.

In the ChNPP accident cleanup workers the length of telomeres depends on the dose of exposure and degree of cognitive disorders. The highest group RTL values were registered in the group of persons exposed over 500 mSv and among persons with severe degree of cognitive impairment. Despite of this fact the correlation analysis of relative telomere length and radiation dose show low power correlation ($r = 0.13$).

It is known that the telomere length of somatic cells shortens with age. It was inspected correlation analysis between the relative telomere length and age of the total cohort of persons. Established only a general trend that shows decrease in relative telomere length with age (Fig. 13).

Age of the total cohort of people examined was in the range of from 44 to 80 years. It was formed



Рисунок 13. Кореляційна залежність між показником RTL та віком в учасників ЛНА на ЧАЕС.

Figure 13. Dependence between age and RTL in cleanup workers of Chernobyl accident.

вікових групи для диференціації та характеристики змін досліджуваних показників у межах вікових діапазонів. До першої вікової групи увійшли особи, які мали вік на момент обстеження 40–50 років, до 2-ї групи – 50–60 років, 3-ї групи – 60–70 років, 4-ї групи – 70–80 років. Такий розподіл продемонстрував, що скорочення RTL фіксується в групі осіб старше 50 років (6,1 %). Найбільш значуще скорочення RTL зафіксоване в групі осіб старших за 70 років (11,7 %). Результати наведені на рис. 14.

Відносна довжина теломер може бути потенційним діагностичним біомаркером для диференціації дегенеративних та судинних когнітивних порушень. Когнітивні функції послаблюються з віком, як і довжина теломерних послідовностей скорочується з віком. В дослідженні були виявлені подібні залежності. Було встановлено негативну кореляцію між відносною довжиною теломер і ступенем когнітивного дефіциту (за шкалою MMSE) та між віком і ступенем когнітивного дефіциту (рис. 15). Однак, встановлені зв'язки статистичної достовірності не мали.

Когнітивний дефіцит також супроводжує процес старіння і тому може корелювати з довжиною теломер. В нашому дослідженні було підтверджено думку, що довжина теломер корелює з різними рівнями когнітивних порушень і може бути біомаркером когнітивного старіння у пацієнтів до початку клінічних проявів деменції. Було встановлено, що показник RTL підвищувався в групах осіб з когнітивним дефіцитом і деменцією. Однак, порівняльний аналіз

4 age groups to differentiation and characteristics changes of parameters in different age ranges. These are: 1 group – 40–50 years, 2 group – 50–60 years, 3 group – 60–70 years, 4 group – 70–80 years. This distribution showed that the rate of RTL reduced is found in the group of persons aged older than 50 years (6.1 %). The most significant reduction in telomere length was shown at age over 70 years old (11.7 %). The results are shown in Figure 14.

The relative telomere length can be a potential diagnostic biomarker for differentiation between the degenerative and vascular cognitive impairment. Cognitive functions decline with age, both as the telomere length is reduced alongside. We observed this type of dependency in our study. Negative correlation albeit non-significant statistically was found between the relative telomere length and degree of cognitive deficit (MMSE scale) and also between age and degree of cognitive deficit (Fig. 15).

Cognitive deficits also accompanies the aging process and, therefore, may correlate with telomere length. In our study was confirmed the suggestion that telomere length correlates with different degrees of cognitive functions, and may be biomarkers of cognitive aging in patients before the onset of dementia. It was established that the RTL index increased in the group of persons with cognitive deficits and dementia. However, compara-

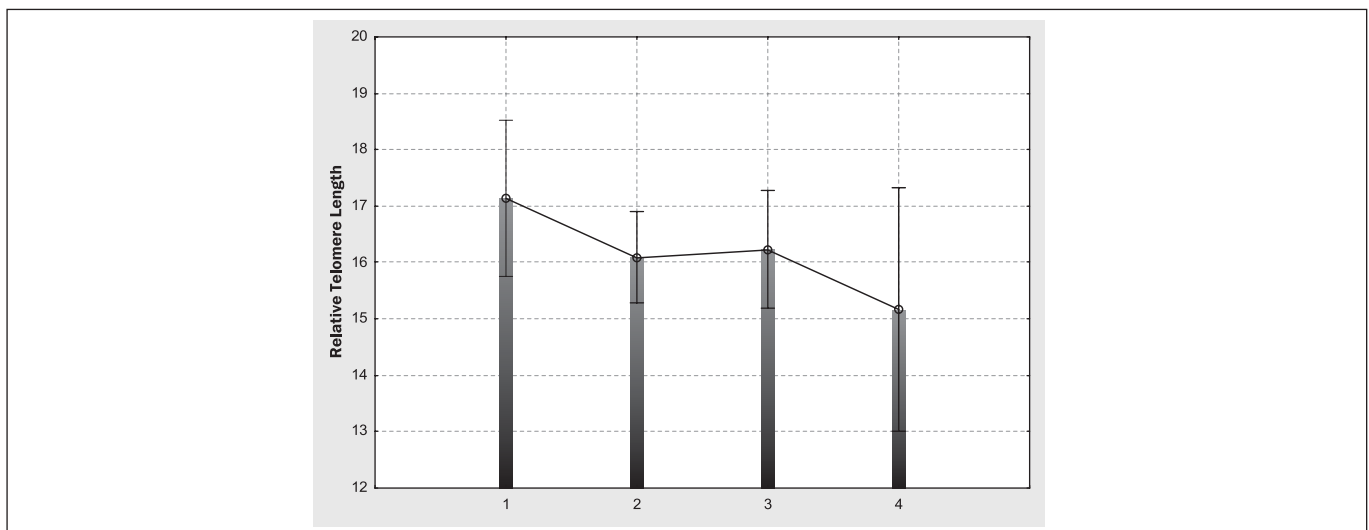


Рисунок 14. Характеристика відносної довжини теломер залежно від віку в УЛНА на ЧАЕС через 25-27 років після опромінення ($M \pm SD$). Вісь X – вікові групи: 1 – 40–50 років, 2 – 50–60 років, 3 – 60–70 років, 4 – 70–80 років; вісь Y – RTL.

Figure 14. The relative telomere length and age in Chernobyl cleanup workers 25–27 years after radiation exposure ($M \pm SD$): X-axis – age groups; Y-axis – RTL. 1 – 40–50 years, 2 – 50–60 years, 3 – 60–70 years, 4 – 70–80 years.

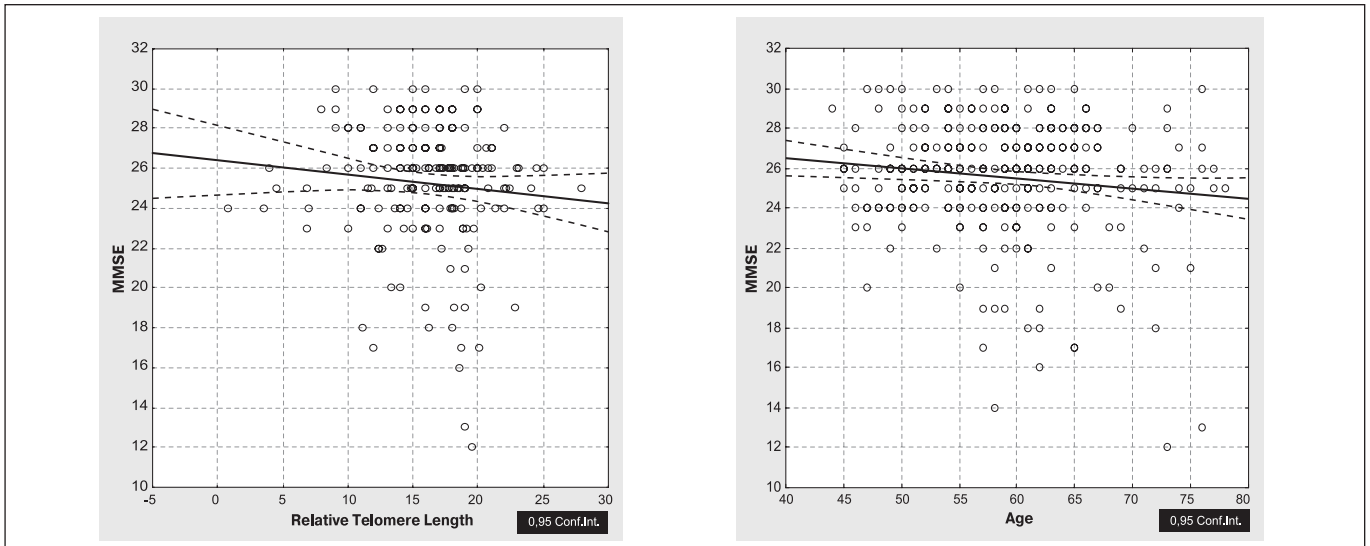


Рисунок 15. Кореляційні залежності між ступенем когнітивного дефіциту (за шкалою MMSE) і RTL (1) та віком (2) в УЛНА на ЧАЕС у віддаленому періоді після опромінення.

Figure 15. Dependence between cognitive deficit according to the MMSE, age (1) and RTL (2) in cleanup workers of Chernobyl accident.

відносної довжини теломер у групах осіб із когнітивними розладами різного ступеня тяжкості відносно контрольної групи продемонстрував зниження показника RTL ($p < 0,01$). Це підтверджує залежність цього параметра від наявності хвороби та демонструє включення різних механізмів регулювання довжини теломер у хворих пацієнтів порівняно зі здоровими особами, так само, як і в групі хворих, залежно від виразності когнітивного дефіциту (рис. 16).

tive characteristics of telomere length in groups of persons with cognitive deficits of varying severity and in the control group demonstrate a decreased of RTL ($p < 0.01$). This confirms the relationships between RTL and disease, and a switch of the different pathways in telomere length regulation in disease as compared to healthy, as well as within the cohort of patients with varying degrees of severity of cognitive impairment (Fig. 16).

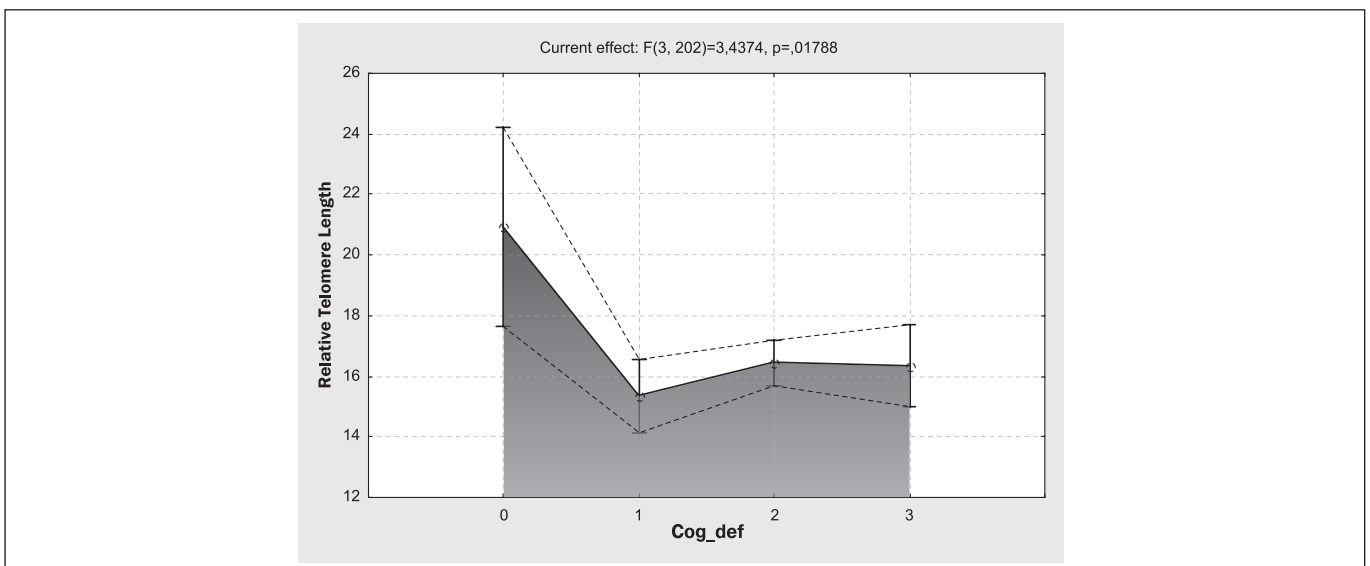


Рисунок 16. Зміни показника відносної довжини теломер залежно від ступеня когнітивних розладів ($M \pm SD$): X-вісь – ступінь когнітивних розладів (0 – контроль; 1 – здорові (внутрішній контроль); 2 – когнітивні розлади середнього ступеня; 3 – деменція); Y-вісь – RTL.

Figure 16. Changes of the RTL index due to a stage of cognitive impairment in Chernobyl cleanup workers 25–27 years after radiation exposure ($M \pm SD$): X-axis – stage of cognitive impairment (0 – control; 1 – healthy; 2 – mild cognitive impairment; 3 – dementia); Y-axis – RTL.

Аналіз експресії генів *TERF1*, *TERF2* та *TERT* залежно від дози опромінення та ступеня когнітивних розладів
 Аналіз експресії генів *TERF1*, *TERF2*, *TERT* відносно групи внутрішнього контролю не показав статистично значущих результатів. Були виявлені лише деякі тенденції. Експресія гена *TERF1* характеризувалася наступними особливостями: значення RQ експресії гена *TERF1* не були значно змінені відносно групи внутрішнього контролю. Достовірні зміни були знайдені в групах опромінених вище 250 та 500 мЗв (рис. 17, 1). Експресія гена *TERF2* у 2-й та 3-й групах була незначно пригнічена, група ж осіб, опромінених у дозах, вищих за 500 мЗв, характеризувалась навпаки гіперекспресією цього гена (рис. 17, 2). Найбільш значні зміни були зафіксовані при аналізі відносного рівня експресії гена *TERT*. Середні значення RQ *TERT* зростали зі збільшенням дози опромінення. Найвищі значення цього показника зафіксовані в групі осіб, які були опромінені у дозах, більших за 500 мЗв (рис. 17, 3). Таким чином, ці дослідження демонструють залежність між зміною експресії генів-регуляторів довжини теломер та дозою зовнішнього опромінення.

На підтвердження цих припущень були знайдені слабкі, але значущі кореляційні залежності між змінами рівнів RQ генів *TERF1*, *TERF2*, *TERT* та дозою опромінення. Коефіцієнти кореляції Пірсона були такі: $r = 1,17$ ($p < 0,05$), $r = 0,23$ ($p < 0,05$), $r = 0,48$ ($p < 0,05$), відповідно. Таким чином, отримані дані демонструють наявність зв'язків між рівнем експресії генів-регуляторів довжини теломер-теломеразного комплексу та дозою через більш як двадцять п'ять років після опромінення. Виявлені особливості свідчать про те,

Analysis *TERF1*, *TERF2* and *TERT* gene expression due to radiation dose and cognitive deficit

Analysis of *TERF1*, *TERF2*, *TERT* genes expression in dose groups exposed below 250 mSv in comparison with the internal control group and did not show statistically significant results. However, there were some trends and patterns. *TERF1* gene expression characterized such features: the index of *TERF1* RQ was not significantly altered compared with the internal control group. The significant changes were observed in exposed over 250 mSv) and 500 mSv (Fig. 17, 1). *TERF2* gene expression in groups 2 and 3 was slightly reduced, to the contrary, a group of subjects, exposed to 500 mSv and more, was characterized by an overexpression of this gene (Fig. 17, 2). The most substantial changes are noted in the analysis of the *TERT* gene expression. The mean RQ of *TERT* grew is elevated in parallel with increasing radiation dose. The highest rate was registered in the group of subjects exposed over 500 mSv (Fig. 17, 3). Thus, there is a clear relationship between changes in expression of genes – regulators of telomeres length and radiation dose.

Confirmation of this assumption is the established correlation between RQ of *TERF1*, *TERF2*, *TERT* and radiation dose). The Pearson correlation coefficient were $r = 1.17$ ($p < 0.05$), $r = 0.23$ ($p < 0.05$), $r = 0.48$ ($p < 0.05$) accordingly. Thus, these data demonstrate a relationship between the expression of genes-regulators of telomere-telomerase complex and radiation dose at a time period more than twenty five years after the exposure. The results suggest that that at the late period there

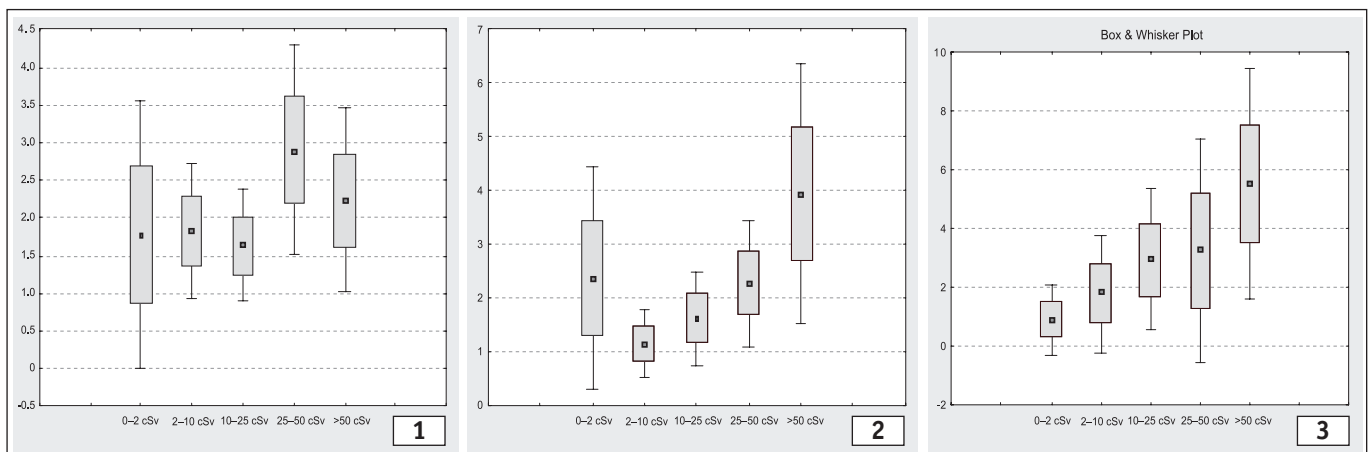


Рисунок 17. Характеристика відносного рівня експресії генів *TERF1*, *TERF2* та *TERT* в групах УЛНА на ЧАЕС з різним дозовим навантаженням порівняно з групою внутрішнього контролю ($M \pm SD$): X-вісь – групи дослідження; Y-вісь: 1 – RQ *TERF1*; 2 – RQ *TERF2*; 3 – RQ *TERT* генів.

Figure 17. Description of *TERF1*, *TERF2* and *TERT* gene expression in dose group comparative to the internal control ($M \pm SD$): X-axis – exposure groups; Y-axis: RQ for *TERF1* (1); RQ for *TERF2* (2); RQ for *TERT* gene (3).

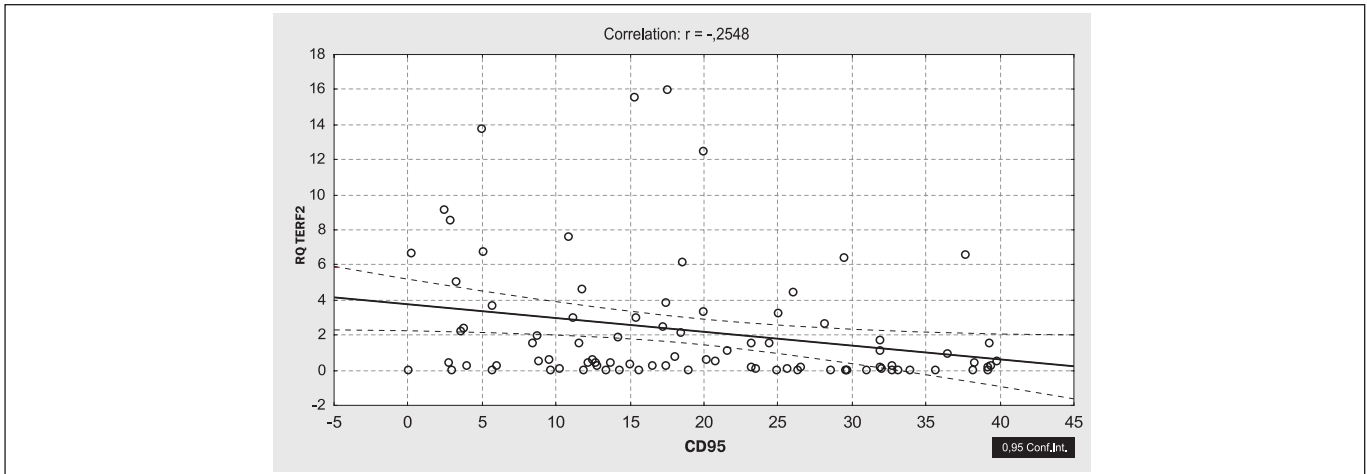


Рисунок 18. Кореляційна залежність між відносним рівнем експресії гена *TERF2* та CD95+ у лейкоцитах периферичної крові УЛНА на ЧАЕС у період 25–27 років після радіаційного опромінення.

Figure 18. Dependence between RQ of *TERF2* and expression of CD95 in peripheral blood leukocytes of cleanup workers of Chernobyl accident 25–27 years after radiation exposure.

що у віддаленому періоді після опромінення існують зміни у генній регуляції при дозах понад 500 мЗв.

Теломери відіграють роль у регуляції судинного старіння, а скорочення довжини теломер на сьогодні розглядається як маркер предикції кардіоваскулярних захворювань та пов'язаної з ними смертності. Доведено, що *TERF1* є одним з головних регуляторів довжини теломер, тоді як *TERF2* лише залучається до захисту хромосомних кінцівок. Нещодавніми дослідженнями показано, що обидва білка відіграють значну роль як у регуляції довжини теломер, так і в захисті хромосомних закінчень.

exists some difference in gene regulation at doses below and over 500 mSv.

Telomeres play a role in regulation vascular aging and shorter leukocytes telomere length has been demonstrated to predict cardio-cerebrovascular disease and mortality. It has been postulated that *TERF1* mainly involved in the regulation of telomere length, whereas *TERF2* was implicated in protectin chromosome ends. Recent reports have shown that both proteins play a crucial role in regulation telomere length as well as in protecting chromosome ends.

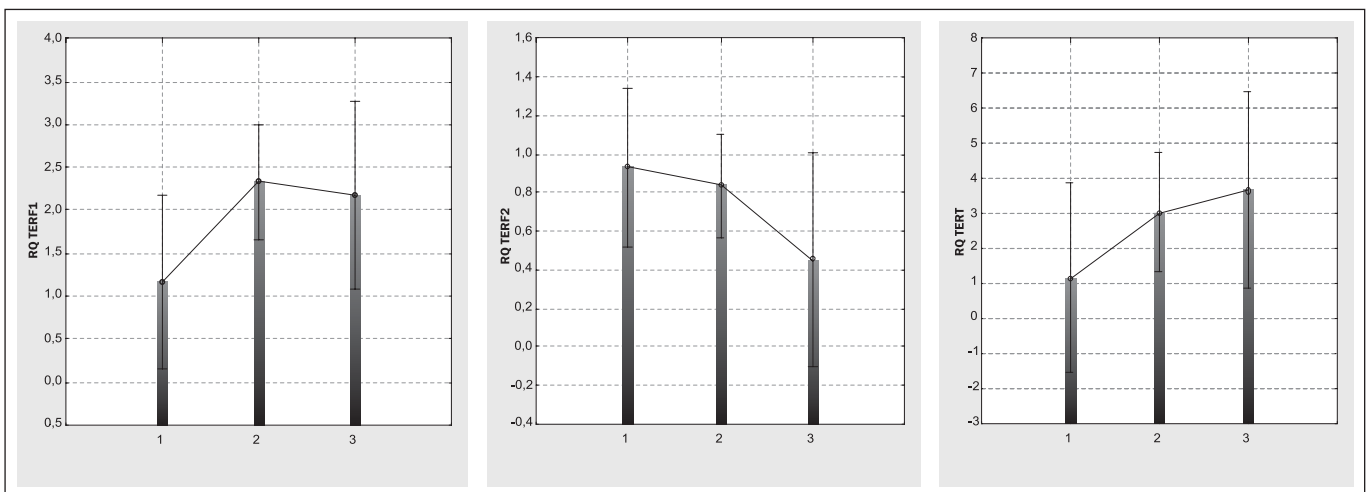


Рисунок 19. Характеристика відносного рівня експресії генів *TERF1*, *TERF2* та *TERT* у загальній когорті УЛНА на ЧАЕС залежно від ступеня когнітивних розладів ($M \pm SD$): X-вісь – ступінь когнітивних розладів (1 – здорові; 2 – когнітивний дефіцит середнього ступеня; 3 – деменція); Y-вісь: А – RQ *TERF1*; Б – RQ *TERF2*; С – RQ *TERT* генів.

Figure 19. Description of *TERF1*, *TERF2* and *TERT* gene expression in total cohort depending on the degree of cognitive impairment ($M \pm SD$): X-axis – stage of cognitive impairment (1 – healthy; 2 – cognitive impairment; 3 – dementia); Y-axis: RQ for *TERF1* (1); RQ for *TERF2* (2); RQ for *TERT* gene (3).

Нами вивчено інтенсивність експресії генів “захисного” комплексу (*TERF1*, *TERF2*) та *TERT* залежно від ступеня когнітивних розладів. Аналіз особливостей *TERF1* генної експресії продемонстрував наявність гіперекспресії цього гена в осіб з когнітивним дефіцитом та деменцією (рис. 19, 1). На фоні зростання експресії гена *TERF1*, виявлено гіпоекспресію гену *TERF2* (рис. 19, 2). Пригнічення експресії *TERF2* може ініціювати механізми передчасного старіння негативними кореляційними залежностями між рівнем експресії гена *TERF2* та експресією апоптотичного маркера CD95 ($r = -0.25$, $p < 0.05$) (рис. 18). Також встановлена гіперекспресія гена *TERT* (рис. 19, 3), що частково пояснює встановлений факт елонгації довжини теломер залежно від ступеня когнітивного дефіциту або апоптозу шляхом порушення теломерних петель. Це припущення підтверджується знайденими негативними кореляційними залежностями між рівнем експресії гену *TERF2* та експресією апоптотичного маркера CD95 ($r = -0.25$; $p < 0.05$) (рис. 18). Також встановлено гіперекспресію гену *TERT* (рис. 19, 3), що частково пояснює встановлений факт елонгації довжини теломер в залежності від ступеню когнітивного дефіциту.

ОБГОВОРЕННЯ ТА ВИСНОВКИ

Цереброваскулярна патологія, органічні ураження головного мозку та когнітивні порушення – серед провідних патологій у постраждалих. Чорнобильський форум дійшов висновку, що психічне здоров'я було найбільш серйозною проблемою охорони здоров'я населення, викликаною аварією. Результати ряду досліджень показали присутність когнітивного дефіциту в УЛНА з переважанням депресивних симптомів, суїцидальних ідей і т.д. [21, 22]. Однак зв'язок експресії судинної патології з іонізуючим випромінюванням після Чорнобилю повинен бути чітко доведений [23]. Завданням даного дослідження було з'ясувати зв'язок між дозою опромінення, довжиною теломер та її генною регуляцією і когнітивним дефіцитом, як наслідок цереброваскулярної патології віддаленого періоду після опромінення.

Існують експериментальні докази змін довжини теломер внаслідок дії іонізуючого випромінювання [24]. Експериментальні дослідження показали, що дисфункція теломер погіршує репарацію ДНК і підвищує чутливість до іонізуючої радіації. Взаємозв'язки між дозою опромінення, довжиною теломер та апоптозом були описані нашою науковою групою у ранньому періоді після опромінення персоналу, який зазнав впливу іонізуючої радіації в малих дозах на Чорнобильській АЕС [25]. Інші дослідження [26] показали

We studied the “shelterin” complex (*TERF1*, *TERF2*) and *TERT* gene expression depending on the degree of cognitive impairment. Analysis of features of *TERF1* gene expression, showed the presence of overexpression of *TERF1* in persons with cognitive deficits and dementia (Fig. 19, 1). On the background of increased RQ of *TERF1*, it was showed decreased *TERF2* gene expression (Fig. 19, 2). Inhibition of *TERF2* can induce either senescence or apoptosis of cells by destroying telomere loops. This assumption is supported by the established negative correlation between *TERF2* gene expression and the expression of apoptosis marker CD95 ($r = -0.25$, $p < 0.05$) (figure 18). In addition, we found an increase of *TERT* gene expression (Fig. 19, 3), which partly explains the established fact of elongation of telomere length depending on the degree of cognitive deficit. This assumption is supported by the established negative correlation between *TERF2* gene expression and the expression of apoptosis marker CD95 ($r = -0.25$, $p < 0.05$) (figure 18). In addition, we found an increase of *TERT* gene expression (figure 19, 3), which partly explains the established fact of elongation of telomere length depending on the degree of cognitive deficit.

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

Cerebrovascular pathology, organic brain damage and cognitive impairment are among the main pathology in the exposed persons. The Chernobyl Forum concluded that mental health was the largest public health problem unleashed by the accident. The results of several studies have demonstrated presence of cognitive deficit in cleanup workers with prevalence of depressive symptoms, suicide ideation etc. [21, 22]. However, the relationship of the vascular pathology excess after Chernobyl to ionizing radiation has to be distinctly proven [23]. The approach of this study was to find out the connection between the radiation dose, telomere length and its gene regulation, and cognitive deficit as the result of the cerebrovascular pathology of the late period.

There is some experimental evidence on the changes of telomeres due to ionizing radiation [24]. Experimental studies have shown that telomere dysfunction impairs DNA repair and enhances sensitivity to ionizing radiation. Similar relationships between the radiation dose, telomere length and apoptosis have been described by our group at the early period after exposure in staff exposed to low-doses at Chernobyl NPP [25]. Other study [26] demonstrated different patterns of telomere

різні тенденції у зміні довжини теломер у 565 учасників ліквідації з Латвії: довші теломери в учасників ліквідації наслідків аварії 1986 року та онкологічних хворих, і більш короткі теломери у ліквідаторів із радіаційними катарактами, остеопорозом, атеросклерозом або ішемічною хворобою серця. Інформація щодо доз опромінення в цьому дослідженні була відсутня.

Особливістю даного дослідження є те, що зміни довжини теломер та генної регуляції теломеро-теломеразного комплексу фіксуються у віддаленому періоді після радіаційного опромінення, включаючи вплив малих доз. Оскільки скорочення теломер описано при низці хвороб з когнітивним дефіцитом, природним було б очікувати зв'язок між теломерами та патологією, а також те, що буде знайдено асоціацію між довжиною теломер, віком і когнітивним дефіцитом. Більш того, наші дані свідчать, що взаємозв'язок між змінами довжини теломер і дозою опромінення зберігається понад двадцять років. Наші дані також показують, що ці зміни довжини теломер пов'язані з експресією генів, що мають позитивні і негативні ефекти регулювання на функції теломер. Нами встановлено, що існує певна різниця в регуляції генів у дозах нижче і більше 500 мЗв у віддаленому періоді після опромінення. Необхідним є продовження дослідження з визначення стабільності змін експресії генів протягом тривалого періоду після опромінення.

Як результат цього дослідження можна зробити наступні **висновки**:

Когнітивні функції залежать від дози опромінення та віку на момент опромінення. Особи, опромінені в зрілому віці (учасники ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС) демонстрували симптоми помірного когнітивного дефіциту за операційними критеріями MMSE (середні значення в групах – 24–27 балів).

Особи опромінені *in utero* протягом спостереження у віці 25–27 років продемонстрували збільшення захворювань автономної нервової системи (МКХ-10: G90). Неврологічна мікросимптоматика та невротичні, пов'язані зі стресом та соматоформні розлади (F40–F48) превалювали в цій групі.

Учасники ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС демонстрували суттєво вищий рівень психіатричної патології відповідно до значень BPRS та отриманої дози порівняно з молоддю. Це можна пояснити ефектами віку та дози. Учасники ЛНА, опромінені у дозах 500 мЗв показали більш виражений когнітивний дефіцит у порівнянні з опроміненними у дозах нижче 500 мЗв та, особливо, неопроміненними пацієнтами.

Спостерігалась тенденція в посиленні показників ПТСР, депресії та інших стрес-асоційованих розладів

length changes in 565 cleanup workers from Latvia: longer telomeres in cleanup workers of 1986 working on deactivation and cancer patients and shorter telomeres in those cleanup workers with concomitant cataracts, osteoporosis, atherosclerosis, or coronary heart disease. Radiation doses were not available.

The peculiarity of this study is that the telomere length its gene regulation changes are found at the late period after the radiation exposure including the exposure at low dose. As telomere shortening is described in a number of diseases with cognitive impairment, it's natural to expect the relationship between the telomeres and disease and the connection between the telomere length, age and cognitive deficit has been revealed. Moreover, our data suggest the relationship between the telomere changes and radiation dose more than twenty years after the exposure. Our data also demonstrate that these telomere changes are related to the expression of genes having positive and negative regulation effects on telomere function. We report that at the late period there exists some difference in gene regulation at doses below and over 500 mSv. Follow-up study is needed to determine the stability of gene expression changes during the substantial time period after radiation exposure.

As a result of this study several **conclusions** could be made:

Cognitive functions is influenced by the radiation dose and age at exposure. Subjects exposed to ionizing radiation at adulthood as cleanup workers exhibit symptoms of mild cognitive impairment according to the operational criteria of the MMSE (mean group scores range = 24–27).

Subjects exposed *in utero* during the check at age of 25–27 years exhibit an excess of the disorders of autonomic nervous system (ICD-10: G90). Neurological microsymptoms as well as neurotic, stress-related and somatoform disorders (F40–F48) dominate.

The cleanup workers have significantly higher level of mental disorders according to the BPRS in dose-related manner, than young adults. This could be the effect of the age and radiation dose. Cleanup workers exposed to doses over 500 mSv demonstrate significant cognitive deficit in comparison with exposed below 500 mSv and especially non-exposed patients.

There was a tendency in increasing of the indices of PTSD, depression and other stress-associated

залежно від отриманої дози опромінення. Це можна пояснити тим, що особи, які побували в найбільш небезпечних ділянках аварії, відчувають себе максимально чутливими і уразливими. Кращі показники в групах молоді порівняно з групами УЛНА можуть бути пояснені їхнім меншим фокусуванням уваги на потенційно небезпечних ефектах іонізуючої радіації на їхнє здоров'я.

Аналіз відносної довжини теломер в учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС у віддаленому періоді після аварії показав зменшення відповідних показників у опромінених порівняно зі здоровим контролем.

З віком спостерігалось суттєве зменшення довжини теломер. Довжина теломер в УЛНА знижувалась після 50 років (6,1 %). Найбільш суттєве зниження довжини теломер було показано в осіб старших за 70 років (11,7 %).

Результати цього дослідження показали наявність молекулярних механізмів, що сприяють розвитку когнітивного дефіциту у віддаленому періоді після опромінення. Була встановлена негативна кореляція між довжиною теломер та рівнем когнітивного дефіциту (шкала MMSE), а також між віком і рівнем когнітивного дефіциту. Окрім того, індекс RTL був суттєво знижений у осіб з груп з когнітивним дефіцитом у порівнянні з контрольною групою.

Встановлено наступні особливості функціонування генів регуляторів теломеро-теломеразного комплексу. Відносна експресія генів *TERF1* та *TERF2* зростала залежно від дози опромінення (> 250 мЗв). Середні показники RQ гена *TERT* також були підвищені відповідно до зростання дозового навантаження. Найвищий показник був зафіксований у групі УЛНА на ЧАЕС, опромінених у дозовому інтервалі > 500 мЗ. Встановлено кореляційні залежності між експресією генів *TERF1*, *TERF2*, *TERT* та дозою опромінення. Продемонстровано наявність гіперекспресії генів *TERF1*, *TERT* та зниження експресії гену *TERF2* в осіб із когнітивними розладами та деменцією. Встановлено негативний кореляційний зв'язок між експресією гена *TERF2* та експресією проапоптотичного маркера CD95, що є непрямим доказом індукції запрограмованої клітинної загибелі у відповідь на дисфункцію теломерної петлі.

Подяка

Дослідження проведені за планом Національної академії медичних наук України (НДР № 525) спільно з грантом проекту CEREBRAD (№ 295552) Європейської рамкової програми FP7 “Когнітивні та цереброваскулярні ефекти, викликані малими дозами іонізуючого випромінювання”.

disorders depending on the radiation dose. This can be explained by the fact that those who have visited the most dangerous areas of accident, feeling the most sensitive and vulnerable. Best performance in young groups in comparison with cleanup workers groups can be explained by their smaller focus on the potentially harmful effects of ionizing radiation on their health.

Analysis of relative telomere length in cleanup workers at the late period after radiation exposure shows a decrease radiation exposed comparing with healthy control.

A significant telomere length decrease is demonstrated with age. Telomere length in cleanup workers is reduced after 50 years (6.1 %). The most significant reduction in telomere length is shown after 70 years (11.7 %).

This study shows a presence of a molecular mechanism supporting presence of a cognitive deficit at a late period after radiation exposure. Negative correlation was found between telomere length and degree of cognitive deficit (MMSE scale) and between age and degree of cognitive deficit. However, RTL index is significantly decreased in groups of persons with cognitive deficits compared to control group.

It was established, following features of functioning of the gene regulators of telomere-telomerase complex. RQ of *TERF1* and *TERF2* was considerable increased with higher dose load (> 25 cSv). Average index of RQ of *TERT* also grew along with an increasing radiation dose. The highest rate registered in the group of persons, exposed within > 50 cSv dose interval. There was established a correlation between the *TERF1*, *TERF2*, *TERT* gene expression and the radiation dose. There was shown the presence of overexpression of *TERF1*, *TERT* and decreased *TERF2* genes in persons with cognitive deficits and dementia. It was established negative correlation between *TERF2* gene expression and the expression of apoptosis marker CD95 that can induce apoptosis of cells by destroying telomere loops.

Acknowledgements

This study was conducted according to the shadulle and supported jointly by the National Academy of Medical Sciences of Ukraine grant № 525 and the EU-FP7 project CEREBRAD (№295552) – “Cognitive and Cerebrovascular Effects Induced by Low Dose Ionizing Radiation”.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Changes of telomere length with aging / K. Takubo, J. Aida, N. Izumiyama-Shimomura [et al.] // *Geriatr. Gerontol. Int.* – 2010. – Vol. 10, Suppl. 1. – P. 197–206.
2. The role of telomere length modulation in delayed chromosome instability induced by ionizing radiation in human primary fibroblasts / F. Berardinelli, A. Antocchia, R. Buonsante [et al.] // *Environ. Mol. Mutagen.* – 2013. – Vol. 54, No.3. – P. 172–179.
3. Das B. Telomere length in human adults and high level natural background radiation / B. Das, D. Saini, M. Seshadri // *PLoS One.* – 2009. – Vol. 4(12). – e8440.
4. Radiation-associated changes in the length of telomeres in peripheral leukocytes from inpatients with cancer / T. Maeda, K. Nakamura, K. Atsumi [et al.] // *Int. J. Radiat. Biol.* – 2013. – Vol. 89(2). – P. 106–109.
5. Svenson U. Telomere length as a biological marker in malignancy / U. Svenson, G. Roos // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2009. – Vol. 1792(4). – P. 317–323.
6. Longer leukocyte telomere length is associated with smaller hippocampal volume among non-demented APOE e3/e3 subjects / M. Wikgren, T. Karlsson, J. Lind [et al.] // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7(4). – e34292. – doi: 10.1371/journal.pone.0034292.
7. Leukocyte telomere length (LTL) is reduced in stable mild cognitive impairment but low LTL is not associated with conversion to Alzheimer's disease: a pilot study / S. Moverare-Skrtic, P. Johansson, N. Mattsson [et al.] // *Exp. Gerontol.* – 2012. – Vol. 47(2). – P. 179–182.
8. Telomere length and ApoE polymorphism in mild cognitive impairment, degenerative and vascular dementia / D. Zekry, F. R. Herrmann, I. Irminger-Finger [et al.] // *J. Neurol. Sci.* – 2010. – Vol. 299(1-2). – P. 108–111.
9. Early brain response to low-dose radiation exposure involves molecular networks and pathways associated with cognitive functions, advanced aging and Alzheimer's disease / X. R. Lowe, S. Bhattacharya, F. Marchetti, A. J. Wyrobek // *Radiat. Res.* – 2009. – Vol. 171(1). – P. 53–65.
10. Doses to the embryo and fetus from intakes of radionuclides by the mother. A report of The International Commission on Radiological Protection // *Ann. ICRP.* – 2001. – Vol. 31(1-3). – P. 19–515.
11. Vascular contributions to cognitive impairment and dementia: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association / P. B. Gorelick, A. Scuteri, S. E. Black [et al.] // *Stroke.* – 2011. – Vol. 42(9). – P. 2672–2713.
12. Folstein M. F. "Mini-Mental State": A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician / M. F. Folstein, S. E. Folstein, P. R. McHugh // *J. Psychiatr. Res.* – 1975. – Vol. 12(3). – P. 189–198.
13. Wechsler D. Administration manual for the Wechsler Adult Intelligence Scale / D. Wechsler. – 3rd UK Ed. (WAIS-IIIUK). – London : The Psychological Corporation, Harcourt Brace Jovanovich Publishers, 1997.
14. Schmidt M. Rey auditory verbal learning test : a handbook (RAVLT) / M. Schmidt. – Lutz, Florida : Psychological Assessment Resources, 1997. – 125 p.
15. Kurtzke J. F. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS) / J. F. Kurtzke // *Neurology.* – 1983. – Vol. 33(11). – P. 1444–1452.

REFERENCES

1. Takubo K, Aida J, Izumiyama-Shimomura N, Ishikawa N, Sawabe M, Kurabayashi R, et al. Changes of telomere length with aging. *Geriatr Gerontol Int.* 2010 Jul;10 Suppl 1:S197-206.
2. Berardinelli F, Antocchia A, Buonsante R, Gerardi S, Cherubini R, De Nadal V, et al. The role of telomere length modulation in delayed chromosome instability induced by ionizing radiation in human primary fibroblasts. *Environ Mol Mutagen.* 2013 Apr;54(3):172-9.
3. Das B, Saini D, Seshadri M. Telomere length in human adults and high level natural background radiation. *PLoS One.* 2009 Dec 23;4(12):e8440.
4. Maeda T, Nakamura K, Atsumi K, Hirakawa M, Ueda Y, Makino N. Radiation-associated changes in the length of telomeres in peripheral leukocytes from inpatients with cancer. *Int J Radiat Biol.* 2013 Feb;89(2):106-9.
5. Svenson U, Roos G. Telomere length as a biological marker in malignancy. *Biochim Biophys Acta.* 2009 Apr;1792(4):317-23.
6. Wikgren M, Karlsson T, Lind J, Nilbrink T, Hultdin J, Slegers K, Van Broeckhoven C, Roos G, Nilsson LG, Nyberg L, Adolfsson R, Norrback KF. Longer leukocyte telomere length is associated with smaller hippocampal volume among non-demented APOE e3/e3 subjects. *PLoS One.* 2012;7(4):e34292.
7. Moverare-Skrtic S, Johansson P, Mattsson N, Hansson O, Wallin A, Johansson JO, Zetterberg H, Blennow K, Svensson J. Leukocyte telomere length (LTL) is reduced in stable mild cognitive impairment but low LTL is not associated with conversion to Alzheimer's disease: a pilot study. *Exp Gerontol.* 2012 Feb;47(2):179-82.
8. Zekry D, Herrmann FR, Irminger-Finger I, Graf C, Genet C, Vitale AM, Michel JP, Gold G, Krause KH. Telomere length and ApoE polymorphism in mild cognitive impairment, degenerative and vascular dementia. *J Neurol Sci.* 2010 Dec 15;299(1-2):108-11.
9. Lowe XR, Bhattacharya S, Marchetti F, Wyrobek AJ. Early brain response to low-dose radiation exposure involves molecular networks and pathways associated with cognitive functions, advanced aging and Alzheimer's disease. *Radiat Res.* 2009 Jan;171(1):53-65.
10. Doses to the embryo and fetus from intakes of radionuclides by the mother. A report of The International Commission on Radiological Protection. *Ann ICRP.* 2001;31(1-3):19-515.
11. Gorelick PB, Scuteri A, Black SE, Decarli C, Greenberg SM, Iadecola C, et al. Vascular contributions to cognitive impairment and dementia: a statement for healthcare professionals from the American heart association/American stroke association. *Stroke.* 2011 Sep;42(9):2672-713.
12. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res.* 1975 Nov;12(3):189-98.
13. Wechsler D. Administration Manual for the Wechsler Adult Intelligence Scale. 3rd UK ed. (WAIS-IIIUK). London: The

16. Overall J. E. The brief psychiatric rating scale / J. E. Overall, D. R. Gorham // Psychol. Rep. – 1962. – No. 10. – P. 799–812.
17. Horowitz M. J. Impact of events scale. A measure of objective stress / M. J. Horowitz, N. Wilner, W. Alvarez // Psycho. Som. Med. – 1979. – Vol. 41. – P. 209–218.
18. A clinical scale for the self-assessment of irritability / R. P. Snaith, A. A. Constantopoulos, M. Y. Jardine [et al.] // Br. J. Psychiatry. – 1978. – Vol. 132. – P. 164–171.
19. Goldberg D. P. Manual of the General Health Questionnaire / D. P. Goldberg. – Windsor, UK : NFER Publishing, 1978.
20. Zung W. W. K. A self-rating depression scale / W. W. K. Zung // Arch. Gen. Psych. – 1965. – Vol. 12. – P. 63–70.
21. The mental health of clean-up workers 18 years after the Chernobyl accident / K. Loganovsky, J. M. Havenaar, N. L. Tintle [et al.] // Psychol. Med. – 2008. – Vol. 38(4). – P. 481–488.
22. Bromet E. J. A 25 year retrospective review of the psychological consequences of the Chernobyl accident / E. J. Bromet, J. M. Havenaar, L. T. Guey // Clin. Oncol. – 2011. – Vol. 23(4). – P. 297–305.
23. Akiba S. Circulation disease risk after low level ionizing radiation exposure / S. Akiba // Radiat. Emerg. Med. – 2013. – Vol. 2, No. 2. – P. 13–22.
24. Belloni P. Relationship between spontaneous or radiation-induced apoptosis and telomere shortening in G(0) human lymphocytes / P. Belloni, P. Latini, F. Palitti // Mutat. Res. – 2010. – Vol. 701(2). – P. 118–122.
25. Ilyenko I. Analysis of relative telomere length and apoptosis in humans exposed to ionising radiation / I. Ilyenko, O. Lyaskivska, D. Bazyka // Exp. Oncol. – 2011. – Vol. 33(4). – P. 235–238.
26. Telomere length in Chernobyl accident recovery workers in the late period after the disaster / J. Reste, R. Zvigule, T. Zvagule [et al.] // J. Radiat. Res. – 2014. – Vol. 1. – P. 1–12.
- Psychological Corporation, Harcourt Brace Jovanovich, Publishers; 1997.
14. Schmidt M. Rey Auditory Verbal Learning Test: A Handbook (RAVLT), Lutz, Florida: Psychological Assessment Resources, Inc; 1997. 125 p.
15. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). Neurology. 1983 Nov;33(11):1444-52.
16. Overall JE, Gorham DR. The brief psychiatric rating scale. Psychol Rep 1962;10:799-812.
17. Horowitz MJ, Wilner N, Alvarez W. Impact of events scale. A measure of objective stress. Psycho Som Med 1979;4:209-218.
18. Snaith RP, Constantopoulos AA, Jardine MY, McGuffin P. A clinical scale for the self-assessment of irritability. British Journal of Psychiatry 1978;132:164-171.
19. Goldberg DP. Manual of the General Health Questionnaire. Windsor, UK: NFER Publishing; 1978.
20. Zung WWK. A self-rating depression scale. Arch Gen Psych 1965;12:63-70.
21. Loganovsky K, Havenaar JM, Tintle NL, Guey LT, Kotov R, Bromet EJ. The mental health of clean-up workers 18 years after the Chernobyl accident. Psychol Med. 2008 Apr;38(4):481-8.
22. Bromet EJ, Havenaar JM, Guey LT. A 25 year retrospective review of the psychological consequences of the Chernobyl accident. Clin Oncol (R Coll Radiol). 2011 May;23(4):297-305.
23. Akiba S. Circulation disease risk after low level ionizing radiation exposure. Radiat Emerg Med. 2013;2(2):13-22.
24. Belloni P, Latini P, Palitti F. Relationship between spontaneous or radiation-induced apoptosis and telomere shortening in G(0) human lymphocytes. Mutat Res. 2010;701(2):118-22.
25. Ilyenko I, Lyaskivska O, Bazyka D. Analysis of relative telomere length and apoptosis in humans exposed to ionising radiation. Exp Oncol. 2011;33(4):235-8.
26. Reste J, Zvigule G, Zvagule T, Kurjane N, Eglite M, Gabruseva N, et al. Telomere length in Chernobyl accident recovery workers in the late period after the disaster. J Radiat Res. 2014 Nov;55(6):1089-100.

Стаття надійшла до редакції 2.10.2015

Received: 2.10.2015