

Аберрации X-хромосомы в Т-лимфоцитах периферической крови у хронически облучённых женщин в отдалённом периоде наблюдения: пилотное исследование

Ю.Р. Ахмадуллина¹, Я.В. Кривошапова¹

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

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Хроническое радиационное воздействие вследствие проживания людей на загрязнённых радионуклидами территориях является серьёзной проблемой в современном мире, поскольку облучение повышает риски развития лейкозов, солидных злокачественных новообразований и других заболеваний. По современным представлениям в основе многих заболеваний человека лежит мозаичный соматический мутагенез, в особенности затрагивающий половые хромосомы. X-хромосома играет важную роль в функционировании иммунной системы и развитии аутоиммунных процессов, а анеуплоидию по X-хромосоме связывают с развитием многих соматических заболеваний. Поскольку исследования цитогенетических эффектов у облучённых людей на Южном Урале показали повышенное участие X-хромосомы в образовании микроядер, было решено более детально изучить аберрации X-хромосомы.

Цель. Оценка внутри- и межхромосомных аберраций с участием X-хромосомы в Т-лимфоцитах периферической крови у хронически облучённых женщин в отдалённом периоде наблюдения.

Материалы и методы. В пилотное исследование были включены 5 женщин, подвергшихся хроническому радиационному воздействию на Южном Урале, их средний возраст — $74,0 \pm 0,8$ года, средняя кумулятивная доза на красный костный мозг — $1,35 \pm 0,30$ Гр. В группу сравнения вошли 5 женщин, средний возраст которых составил $66,3 \pm 1,2$ года, средняя кумулятивная доза на красный костный мозг — $0,010 \pm 0,006$ Гр (диапазон 0–0,03 Гр). Группа сравнения представлена лицами, проживавшими в сходных социально-экономических условиях, с накопленной дозой облучения на красный костный мозг менее 70 мГр за весь период наблюдения. Хромосомные аберрации с участием X-хромосомы изучали методом мультицветного окрашивания бэндов (mBAND). Частоту аберраций рассчитывали на геном-эквивалент, учитывали возраст донора. Также изучали частоту клеток с анеуплоидным набором X-хромосом.

Результаты. У облучённых женщин частота аберраций с участием X-хромосомы выше, чем в группе сравнения — $0,100 \pm 0,036$ против $0,019 \pm 0,011$ ($U=3$, $p=0,0476$). Также отмечено, что у облучённых женщин более разнообразен качественный состав аберраций, найдена кольцевая хромосома, изохромосома, а также хромосома, предположительно образовавшаяся в процессе хромотриписа. Средние частоты клеток с анеуплоидией по X-хромосоме у облучённых женщин статистически значимо не отличаются от женщин группы сравнения ($p=0,4$), но возможны межиндивидуальные различия.

Заключение. Результаты могут указывать на более интенсивный мутационный процесс у облучённых людей в результате хронического радиационного воздействия. Исследование аберраций с участием X-хромосом в Т-лимфоцитах периферической крови у женщин, подвергшихся хроническому радиационному воздействию на Южном Урале, является перспективным и необходимо его продолжать.

Ключевые слова: хромосомные аберрации; хромотрипсис; X-хромосома; хроническое облучение; ионизирующая радиация; женщины; mBAND; пожилые люди.

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Ахмадуллина Ю.Р., Кривошапова Я.В. Аберрации X-хромосомы в Т-лимфоцитах периферической крови у хронически облучённых женщин в отдалённом периоде наблюдения: пилотное исследование // Экология человека. 2024. Т. 31, № 10. С. XX–XX. DOI: 10.17816/humeco642556 EDN: UTGARA

Рукопись поступила: 04.12.2024

Рукопись одобрена: 02.04.2025

Опубликована online: 20.04.2025

Статья доступна по лицензии CC BY-NC-ND 4.0 International License

© Эко-Вектор, 2024

X-chromosome aberrations in peripheral blood T-lymphocytes in chronically exposed women in the long-term follow-up period: pilot study

Yulia R. Akhmadullina¹, Iana V. Krivoshchapova¹

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

ABSTRACT

BACKGROUND: Chronic radiation exposure due to the residence in the territories contaminated with radionuclides is a serious problem nowadays because radiation exposure increases the risk of leukemia, solid cancer and other disease development. It is believed today, that somatic mosaicism, especially the one that involves sex chromosomes, lies at the basis of numerous diseases. X-chromosome plays an important part in the immune system functioning and development of autoimmune processes, whereas X-chromosome aneuploidy is associated with the development of multiple somatic diseases. Since the studies of the cytogenetic effects in exposed individuals in the Southern Urals demonstrated X-chromosome contribution to the micronuclei formation, a decision has been made to study in detail X-chromosome aberrations.

AIM: To estimate the intra- and inter-chromosome aberrations involving X-chromosomes in peripheral blood T-lymphocytes in chronically exposed women in the long-term follow-up period.

MATERIALS AND METHODS: This pilot study included 5 women affected by chronic radiation exposure in the Southern Urals. Mean age was 74.0 ± 0.8 years, mean cumulative dose to the red bone marrow (RBM) was 1.35 ± 0.30 Gy. The comparison group consisted of 5 women, mean age was 66.3 ± 1.2 years, mean cumulative dose to RBM was 0.01 ± 0.006 Gy (dose range 0 – 0.03 Gy). The comparison group included people living in similar socio-economic environment with the dose to the RBM accumulated over the whole follow up period less than 70 mGy. Chromosome aberrations involving X-chromosomes were analyzed using the multicolored banding technique (mBAND) (MetaSystems). Aberration frequency was calculated per genome-equivalent, the donors' age was taken into account. The frequency of cells with X-chromosome aneuploidy has also been analyzed in the study.

RESULTS: The X-chromosome aberrations occur more frequently in exposed women relative to the women from the comparison group 0.100 ± 0.036 vs. 0.019 ± 0.011 ($U=3$, $p=0.0476$). A greater variety of qualitative composition of the aberrations in exposed women has also been noted. The analysis revealed ring chromosome, isochromosome as well as the chromosome that presumably was generated during chromothripsis. Mean frequencies of cells with X-chromosome aneuploidy do not differ statistically significantly from those in the comparison group ($p=0.4$), but inter-individual variability is probable.

CONCLUSION: The findings of the study could point to a greater intensity of the mutation process in exposed individuals due to chronic radiation exposure. The analysis of the aberrations involving X-chromosomes of the peripheral blood T-lymphocytes in women affected by chronic radiation exposure in the Southern Urals seems promising and requires to be continued.

Keywords: chromosome aberrations; chromothripsis; X-chromosome; chronic exposure; ionizing radiation; women; mBAND; elderly people.

TO CITE THIS ARTICLE:

Akhmadullina YuR, Krivoshchapova IaV. X-chromosome aberrations in peripheral blood T-lymphocytes in chronically exposed women in the long-term follow-up period: pilot study. *Ekologiya cheloveka* (Human Ecology). 2024;31(10):XX-XX. DOI: 10.17816/humeco642556 EDN: UTGARA

Received: 04.12.2024

Accepted: 02.04.2025

Published online: 20.04.2025

The article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 International License

© Eco-Vector, 2024

ОБОСНОВАНИЕ

В современном техногенном обществе повышается вероятность контактов населения с источниками ионизирующего излучения. Это связано с использованием медицинских диагностических процедур, которые могут увеличивать радиационную нагрузку на организм, с частым использованием воздушного транспорта, проживанием на территориях с повышенным уровнем радиации, а также с аварийными ситуациями. Хроническое радиационное воздействие в результате проживания на загрязнённых радионуклидами территориях является серьёзной проблемой, поскольку приводит к повышенной частоте соматического мутагенеза у населения. Длительное наблюдение за когортой жителей Южного Урала, проживавших на загрязнённых радионуклидами территориях, выявило повышенные риски лейкозов и некоторых солидных злокачественных новообразований. В разные периоды наблюдений были отмечены изменения в состоянии гемопоэза, иммунитета и других систем организма [1].

Известно, что соматические мутации начинают появляться в клетках человека с момента первого деления зиготы и продолжают накапливаться на протяжении всей жизни, порождая генетическую гетерогенность в тканях, известную как соматический мозаицизм. В современных исследованиях показано, что накопление соматических мутаций в течение всей жизни может быть связано с повышенным риском развития рака и других возрастных заболеваний [2–4]. В ряде работ обсуждается, что важную роль в соматическом мутагенезе играют изменения половых хромосом. Например, показано, что потеря Y-хромосомы при раке мочевого пузыря способствует прогрессированию опухоли, худшему ответу опухоли на лекарственные препараты, а также уклонению от противоопухолевого иммунитета [5–7].

Важные выводы были получены также из исследований, посвящённых изменениям в X-хромосоме. X-хромосома человека содержит около 150 млн пар оснований, что составляет примерно 5% ДНК в клетках женщин, 2,5% — в клетках мужчин [8]. Важность X-хромосомы трудно переоценить, ведь она содержит в себе 864 белок-кодирующих гена. Гены, сцепленные с X-хромосомой, играют ключевую роль в функционировании и гомеостазе иммунной системы и в развитии аутоиммунных процессов [9].

В настоящее время внимание учёных направлено на изучение мозаичной потери X-хромосомы, которую часто можно наблюдать в лейкоцитах у женщин. Биоинформатический анализ показал, что наиболее часто потери X-хромосомы выявляют у женщин более старшего возраста, а также имеется положительная связь между потерей X-хромосомы и риском развития миелоидного лейкоза и восприимчивости к некоторым инфекционным заболеваниям [10].

У жителей Южного Урала, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, цитогенетические эффекты оценивали по частоте нестабильных хромосомных aberrаций, по частоте клеток с микроядрами, оценивали теломерные районы хромосом. [11]. Применение 24-цветного FISH окрашивания позволило отметить, что у облучённых женщин микроядра могут состоять из фрагментов более чем шести разных хромосом что подтверждает способность ионизирующего излучения приводить к нестабильности генома в отдалённом периоде после облучения. Кроме того, анализ показал, что в микроядрах у женщин наиболее часто попадает X-хромосома по сравнению с другими хромосомами [12]. А в группе облучённых женщин центромерные сигналы X-хромосом в микроядрах встречались чаще, чем в группе сравнения, что отражает отдалённое влияние ионизирующего излучения на процесс нарушения сегрегации одной из X-хромосом в митозе [11].

Предметом исследования также является и радиочувствительность X-хромосомы. Например, в исследовании [13] показано, что острое гамма-излучение ^{60}Co в дозах 2 и 4 Гр вызывает фрагментацию 7-й и X-хромосомы с одинаковой частотой. Но при этом X-хромосома менее склонна взаимодействовать с аутосомами, чем 7-я хромосома. Авторы предположили, что неучастие X-хромосомы в транслокациях с аутосомами может отражать более обособленное расположение X-хромосомы в клеточном ядре.

В связи с выше изложенным было решено более детально изучить aberrации X-хромосомы в Т-лимфоцитах периферической крови у облучённых женщин. Для оценки хромосомных перестроек в X-хромосоме был выбран метод мультицветной флуоресцентной *in situ* гибридизации бэндов хромосом (mBand). Этот метод позволяет обнаружить внутрихромосомные и межхромосомные перестройки X-хромосомы как сложные для выявления другими методами инверсии [14], так и делеции, кольцевые, дицентрические хромосомы, изохромосомы, реципрокные транслокации [15, 16].

Цель исследования. Оценка внутри- и межхромосомных aberrаций с участием X-хромосомы в Т-лимфоцитах периферической крови у хронически облучённых женщин в отдалённом периоде наблюдения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ЛИЦ

Исследование aberrаций X-хромосомы методом mBAND являлось пилотным и проводилось в ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России впервые в 2024 г.

Выбранный метод исследования mBAND является трудоёмким, дорогостоящим и высокотехнологичным, требующим специализированного программного обеспечения для анализа. Так как исследование проводили на одной паре хромосом, важно было проанализировать максимально возможное количество клеток с каждого препарата. Это обусловило выбор в качестве доноров женщин, так как они имеют две X-хромосомы в кариотипе.

Критериями включения облучённых лиц в цитогенетическое исследование является отсутствие аутоиммунных, онкологических, острых или хронических в период обострения воспалительных заболеваний; отсутствие приёма антибиотиков, глюкокортикоидов и цитостатиков в течение шести месяцев, предшествующих исследованию, отсутствие рентгенологических обследований в течение трёх месяцев, предшествующих исследованию.

В пилотное исследование включили 10 доноров: 5 женщин, подвергшихся хроническому радиационному воздействию на Южном Урале. Их средний возраст — $74,0 \pm 0,8$ года (диапазон 72–77 лет), средняя кумулятивная доза на красный костный мозг (ККМ) — $1,35 \pm 0,30$ Гр (диапазон 0,8–2,4 Гр). В группу сравнения вошли 5 женщин, проживавших в сходных социально-экономических условиях, с накопленной дозой облучения на ККМ менее 70 мГр за весь период наблюдения. Средний возраст женщин группы сравнения — $66,3 \pm 1,2$ года (диапазон 64–71 год), средняя кумулятивная доза на ККМ — $0,01 \pm 0,006$ Гр (диапазон 0–0,03 Гр).

Ранее проведённые исследования возрастной динамики цитогенетических показателей у лиц, подвергшихся радиационному воздействию на Южном Урале, не выявили различий в возрастных группах 60–69 лет и 70–79 лет [11, 17].

Облучённых людей, которые могут войти в группу обследованных лиц, выбирали при помощи программного комплекса «REGISTR» единой информационной системы ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России [18]. Индивидуальные дозы облучения на ККМ были рассчитаны по TRDS-2016 сотрудниками биофизической лаборатории [19].

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом УНПЦ РМ (протокол № 11 от 11.11.2024). У лиц, участвующих в цитогенетических исследованиях, было получено информированное согласие на забор образцов крови и дальнейшие исследования.

ПОЛУЧЕНИЕ МЕТАФАЗНЫХ ХРОМОСОМ ИЗ Т-ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Забор венозной крови производили из локтевой вены в вакутейнер с гепарином. Цитогенетические препараты из Т-лимфоцитов периферической крови доноров получали согласно протоколу, который включает 4 последовательных этапа: культивирование клеток до стадии метафазы, гипотоническую обработку метафазных клеток, фиксацию метафазных пластинок и собственно приготовление препаратов хромосом. Культивирование Т-клеток проводили в стерильных бакпечатках. Клетки культивировали в CO_2 инкубаторе при $37,5^\circ\text{C}$ в течение 54 ч. За 3 ч до окончания культивирования в культуру вводили раствор коллемеда в итоговой концентрации 0,03 мг/мл (ПанЭко).

Для гипотонической обработки клеток приливали тёплый 37°C раствор KCl (0,55%), ресуспендировали осадок и оставляли на 30 мин в термостате при 37°C . Затем смесь центрифугировали при 1400 об/мин 7 мин, осторожно удаляли супернатант, ресуспендировали

осадок и приливали холодный 4 °С свежеприготовленный фиксатор (3 части спирта этилового и 1 часть ледяной уксусной кислоты). Клетки проводили через фиксатор 3 или 4 раза.

Для получения препаратов хромосом пипеткой раскапывали смесь на охлаждённое стекло (2 капли). Стекло сушили на термоплате при 40 °С. Качество препарата проверяли при фазово-контрастной микроскопии. После высыхания препаратов проводили флуоресцентную гибридизацию *in situ*.

ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ *IN SITU*

Для окраски препаратов с целью идентификации aberrаций с участием X-хромосомы использовали зонды производства компании MetaSystems — XCyte X, Chromosome X mBAND probe (кат. номер D-0223-030-DI).

Метод mBAND (multicolor banding) основан на гибридизации частей хромосомы зондами, меченых различными флуорохромами, вдоль длины хромосомы, таким образом, что зонды гибридизуются частично перекрываясь на отдельных участках хромосом. Характерная многоцветная полосчатая картина mBAND создаётся путём количественной оценки соотношения интенсивности флуоресценции вдоль хромосомы. Эти соотношения уникальны и визуализируются в виде псевдоцветов, специфичных для каждой полосы (рис. 1). mBAND предоставляет информацию, которая позволяет проводить точный анализ даже очень сложных меж- и внутрихромосомных aberrаций¹.

Окрашивание препаратов происходило в соответствии с протоколом производителя. Проводилась денатурация ДНК на хромосомных препаратах, денатурация и гибридизация ДНК-зондов, постгибридизационная отмывка и контрокрашивание DAPI/antifade.

ПОЛУЧЕНИЕ ОЦИФРОВАННЫХ ИЗОБРАЖЕНИЙ МЕТАФАЗНЫХ КЛЕТОК

Препараты оцифровывали с помощью автоматической системы для поиска и съёмки метафаз Metafer (Metasystems, Германия). Получали изображения качественных метафаз с использованием иммерсионного объектива ×63.

АНАЛИЗ ПРЕПАРАТОВ

Работа с оцифрованными изображениями проводилась с помощью программного обеспечения Isis (Metasystems, Германия). Для исследования выбирали метафазы, содержащие X-хромосомы без артефактов. Анализировали X-хромосомы в соответствии с расположением спектров возбуждения флуорохромов, как показано на рис. 1. На рис. 2 представлены X-хромосомы, окрашенные методом mBAND (без aberrаций).

В работе учитывали инверсии хромосом (хромосомные и хроматидные), простые транслокации — реципрокные и нереципрокные, дицентрические хромосомы, изохромосомы, а также делеции. На рис. 3 одна из гомологичных X-хромосом содержит перичентрическую инверсию 46 XX, inv X (p11.4; q26), также на рис. 3 представлена хроматидная инверсия. На рис. 4 представлена дицентрическая X-хромосома (предположительно образованная из двух гомологичных X-хромосом). На рис. 5 представлена реципрокная aberrация с участием X-хромосомы.

Также в работе проанализировали количество анеуплоидных метафаз по X-хромосоме: норма (XX) или анеуплоидия по X-хромосоме (X или XXX).

РАСЧЁТ ГЕНОМ-ЭКВИВАЛЕНТОВ И ПЕРЕСЧЁТ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ С УЧЁТОМ ВОЗРАСТА ОБСЛЕДУЕМЫХ ЛИЦ

Частоту хромосомных aberrаций рассчитывали на число геном-эквивалентов (GE). Коэффициент перехода от числа просчитанных клеток к геномным эквивалентам рассчитывали стандартным образом, который подробно описан в работе [17]. Для этого использовали следующую формулу:

$$GE = 2,05 * f_x (1 - f_x), \quad (1)$$

где f_x — доля в геноме окрашенной пары хромосом.

Доля ДНК в X-хромосоме в женском геноме человека представлена в работе [20] и составляет 0,0508.

Также на частоту транслокаций оказывает влияние возраст. Метаанализ фоновых частот транслокаций в зависимости от возраста приведён в работе [21]. Для оценок использовали

¹ XCyte 1. Human mBAND Probe. Режим доступа: <https://metasystems-probes.com/en/probes/mband/d-0201-030-di> Дата обращения: 19.11.2024.

данные, полученные по здоровым донорам. Расчётные значения фоновых частот транслокаций на 1 GE для доноров различного возраста рассчитывали по формуле:

$$X = e^{-7,925} + e^{-9,284} (age * e^{age * 0.01062}) \quad (2)$$

В табл. 1 представлена частота хромосомных aberrаций, рассчитанная на геномный эквивалент. В столбце 14 «Все aberrации за вычетом фона» представлены хромосомные aberrации, полученные в результате коррекции общей частоты aberrаций (столбец 13) с учётом возраста согласно формуле (2).

СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ДАННЫХ

Для статистического анализа использовали программу Past 4.01 (Oyvind Hammer; Великобритания).

Для описания частоты хромосомных aberrаций с участием X-хромосомы применяли стандартные методы описательной и сравнительной статистики. Для описания данных использовали средние частоты и ошибку среднего. Для сравнения групп по частоте хромосомных aberrаций использовали U-критерий Манна–Уитни, для сравнения частоты анеуплоидных клеток — точный критерий Фишера. Различия признавали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В табл. 1 представлены индивидуальные частоты aberrаций X-хромосом. Как видно, частота инверсий X-хромосомы низкая: у большинства доноров (90%) хромосомных инверсий не выявлено. У одной облучённой женщины с самой высокой дозой на ККМ из выборки (2,44 Гр) встретилось 3 инверсии X-хромосомы: две из них определены как клональные и посчитаны за одну, так как имели одинаковые точки разрыва inv(X) (p11.4; q26), то есть итого было обнаружено 2 разные хромосомные инверсии (точки разрыва второй — inv(X) (p11.2;q24). Также у облучённых женщин отмечены инверсии хроматидного типа, которые выглядели как переворот одной из хроматид относительно центромеры на 180°.

В группе сравнения хромосомные aberrации представлены простыми транслокациями у двух доноров. В группе облучённых хромосомные aberrации были представлены простыми транслокациями (4 донора), изохромосомой (1 донор; рис. 6), дицентриком (1 донор), делециями (2 донора), кольцевой хромосомой (1 донор; рис. 7). Средняя частота всех aberrаций в группе облучённых лиц составила $0,100 \pm 0,036$, что статистически значимо выше, чем в группе сравнения — $0,019 \pm 0,011$ ($U=3$, $p=0,0476$).

Также при анализе препаратов у одной облучённой женщины встретилась клетка с измененной X-хромосомой, похожей на хромотрипсис (рис. 8). На рисунке видно, что одна из гомологичных X-хромосом нормальная, а другая изменена по своей морфологии и распределению спектров окрашивания флюорохромов.

В табл. 2 представлена частота анеуплоидных клеток по X-хромосоме. Видно, что имеется вариабельность в межиндивидуальных значениях частоты встречаемости анеуплоидных клеток по X-хромосоме. Средняя частота анеуплоидных клеток по X-хромосоме у облучённых женщин несколько повышена относительно группы сравнения, но не достигает статистической значимости ($p=0,096$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе мы оценили частоту aberrаций с участием X-хромосомы у женщин, подвергшихся хроническому радиационному воздействию вследствие проживания на загрязнённых радионуклидами территориях. В исследовании применяли высокотехнологичный цитогенетический метод mBAND, позволяющий выявлять внутри и межхромосомные aberrации. Результаты исследований показали, что у облучённых женщин частота aberrаций с участием X-хромосомы выше, чем в группе сравнения. Также отмечено, что у них более разнообразен качественный состав aberrаций: инверсии, простые транслокации, кольцевая хромосома, изохромосома, дицентрическая хромосома и делеции, тогда как в группе сравнения встретились только простые транслокации. Интересной находкой является редкое событие для клетки — хромотрипсис X-хромосомы у облучённой женщины. Полученные в данном исследовании результаты могут указывать на более интенсивный мутационный процесс у женщин, подвергшихся хроническому радиационному воздействию.

Частота анеуплоидных клеток по X-хромосоме у облучённых женщин не отличается от женщин группы сравнения, но даже на такой небольшой выборке видно, что имеются межиндивидуальные различия. Чтобы оценить частоту соматических клеток с анеуплоидией, необходимо расширить выборку.

Полученные результаты сопоставимы с литературными данными, указывающими на повышенную частоту хромосомных aberrаций у облучённого населения [22–24]. Считается, что хромосомные aberrации возникают непосредственно в ранние сроки после радиационного воздействия, часть из них (нестабильные aberrации) элиминируется в результате нарушения прохождения клеткой митоза, а другая часть (стабильные aberrации) менее подвержена элиминации и остаётся в клетках. Например, существуют методы редактирования генома, позволяющие хромосоме с мутацией замыкать в кольцо с дальнейшей элиминацией [25]. На основании полученных данных мы можем предполагать, что aberrантные хромосомы могут элиминироваться из ядра, в том числе посредством микроядер. Поскольку образование микроядер связано с нарушенной сегрегацией хромосом, то aberrации, затрагивающие центромеру, могут способствовать этому процессу.

В данном исследовании выявлено, что у облучённых женщин в отдалённом периоде после облучения обнаруживаются как стабильные, так и нестабильные aberrации с участием X-хромосомы. Это может свидетельствовать о радиационно-индуцированной нестабильности генома в клетках. Механизмы формирования радиационно-индуцированной нестабильности генома остаются неизученными, но в литературе обсуждается, что причиной могут быть некие предмутационные состояния, связанные с эпигенетическими изменениями хроматина [26].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе проанализирована частота хромосомных aberrаций с участием X-хромосомы у женщин, подвергшихся хроническому радиационному воздействию. Ранее проведённые исследования свидетельствуют о повышенной частоте хромосомных aberrаций у подобных групп населения, но ключевые механизмы их возникновения и связи с радиационно-индуцированной нестабильностью генома остаются неясными. Наши результаты подтверждают наличие более высоких частот aberrаций и разнообразия их типов у облучённых женщин, в частности, выявлены редкие случаи инверсий и уникальные события, такие как хромотрипсис X-хромосомы, что может указывать на более интенсивный мутационный процесс в клетках. Обнаруженные межиндивидуальные различия в частоте анеуплоидии показывают необходимость увеличения выборки для более точного анализа. Дальнейшее изучение радиационных эффектов на хромосомном уровне будет способствовать более глубокому пониманию механизмов, ведущих к хромосомным aberrациям и элиминации хромосом из ядра клетки. Результаты исследования подчёркивают важность дальнейших исследований в этой области для разработки эффективных методов биоиндикации радиационного воздействия, а также для развития методов по оценке индивидуальной радиочувствительности человека.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Ю.Р. Ахмадуллина — обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, написание текста и редактирование статьи, анализ препаратов, статистическая обработка данных; Я.В. Кривошапова — обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, написание текста и редактирование статьи, анализ препаратов, описание первичных данных. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). **Этическая экспертиза.** Исследование одобрено этическим комитетом УНПЦ РМ (протокол №11 от 11.11.2024).

Согласие на публикацию. Все участники исследования добровольно подписали форму информированного согласия до включения в исследование.

Источники финансирования. Государственное задание ФМБА РФ на выполнение прикладной научно-исследовательской работы по теме «Отдалённые цитогенетические эффекты хронического облучения у жителей Южного Урала».

Раскрытие интересов. Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Оригинальность. При создании настоящей работы авторы не использовали ранее опубликованные сведения (текст, иллюстрации, данные).

Доступ к данным. Редакционная политика в отношении совместного использования данных к настоящей работе не применима, новые данные не собирали и не создавали.

Генеративный искусственный интеллект. При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Рассмотрение и рецензирование. Настоящая работа подана в журнал в инициативном порядке и рассмотрена по обычной процедуре. В рецензировании участвовали два внешних рецензента, член редакционной коллегии и научный редактор издания.

Благодарности. Авторы выражают признательность кан. биол. наук А.В. Возиловой за вклад в обоснование актуальности исследования, старшему лаборанту Н.Ф. Савковой за лабораторную поддержку.

ADDITIONAL INFORMATION

Authors' contribution. Yu.R. Akhmadullina — literature review, collection and analysis of literary sources, writing and editing articles, slide analysis, statistical data processing; Ya.V. Krivoshchapova — literature review, collection and analysis of literary sources, writing and editing articles, drug analysis, description of primary data. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors have made a significant contribution to the development of the concept, research and preparation of the article, read and approved the final version before publication).

Ethical expertise. The study was approved by the Ethics Committee of the UNOC RM (Protocol No. 11 dated 11/11/2024).

Consent for publication. All study participants voluntarily signed an informed consent form before being included in the study.

Funding sources. The study was supported by the FMBA of the Russian Federation for the implementation of applied research work on the topic "Long-term cytogenetic effects of chronic radiation in residents of the Southern Urals".

Disclosure of interests. The authors have no relationships, activities or interests for the last three years related with for-profit or not-for-profit third parties whose interests may be affected by the content of the article.

Statement of originality. In creating this work, the authors did not use previously published information (text, illustrations, data).

Data availability statement. The editorial policy regarding data sharing does not apply to this work, and no new data was collected or created.

Generative AI. Generative AI technologies were not used for this article creation.

Provenance and peer-review. This paper was submitted to the journal on an unsolicited basis and reviewed according to the usual procedure. Two external reviewers, a member of the editorial board, and the scientific editor of the publication participated in the review.

Acknowledgments. We thank the PhD of Biological Sciences A.V. Vozilova for her contribution to substantiating the relevance of the study. To laboratory assistant N.F. Savkova for laboratory support.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Akleyev AV, editor. *Consequences of radioactive contamination of the Techa river*. Chelyabinsk: Kniga; 2016. 400 p. (In Russ.)
2. Iourov IY, Heng HH. Editorial: Somatic genomic mosaicism & human disease. *Front Genet*. 2022;13:1045559. doi: 10.3389/fgene.2022.1045559
3. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB, et al. The cytogenomic "Theory of Everything": chromohelkosis may underlie chromosomal instability and mosaicism in disease and aging. *Int J Mol Sci*. 2020;21(21):8328. doi: 10.3390/ijms21218328
4. Torreggiani S, Castellan FS, Aksentijevich I, Beck DB. Somatic mutations in autoinflammatory and autoimmune disease. *Nat Rev Rheumatol*. 2024;20(11):683–698. doi: 10.1038/s41584-024-01168-8

5. Abdel-Hafiz HA, Schafer JM, Chen X, et al. Y chromosome loss in cancer drives growth by evasion of adaptive immunity. *Nature*. 2023;619(7970):624–631. doi: 10.1038/s41586-023-06234-x
6. Liu J, Chen T, Liu X, et al. Engineering materials for pyroptosis induction in cancer treatment. *Bioact Mater*. 2023;33:30–45. doi: 10.1016/j.bioactmat.2023.10.027
7. Fenner AA. New role for the Y chromosome in cancer growth and immunotherapy response. *Nature Reviews Urology*. 2023;20(8):455. doi: 10.1038/s41585-023-00800-8
8. Ross MT, Grafham DV, Coffey AJ, et al. The DNA sequence of the human X chromosome. *Nature*. 2005;434(7031):325–337. doi: 10.1038/nature03440
9. Bianchi I, Lleo A, Gershwin ME, Invernizzi P. The X chromosome and immune associated genes. *J Autoimmun*. 2012;38(2-3):J187–J192. doi: 10.1016/j.jaut.2011.11.012
10. Liu A, Genovese G, Zhao Y, et al. Population analyses of mosaic X chromosome loss identify genetic drivers and widespread signatures of cellular selection. doi: 10.1101/2023.01.28.23285140
11. Akhmadullina YuR, Vozilova AV, Krivoshchapova YaV. The effect of chronic exposure on the parameters of cytogenetic markers of senescence in the residents of the Techa riverside settlements. *Medicine of Extreme Situations*. 2024;26(2):56–66. doi: 10.47183/mes.2024.018 EDN: VECQHP
12. Akhmadullina YuR. The composition of micronuclei in T-lymphocytes in women affected by chronic radiation exposure. *Biol Bull Russ Acad Sci*. 2023;50(11):2986–2996. doi: 10.1134/S1062359023110031
13. Jordan R, Schwartz JL. Noninvolvement of the X chromosome in radiation-induced chromosome translocations in the human lymphoblastoid cell line TK6. *Radiat Res*. 1994;137(3):290–294.
14. Wan TS, Ma ES. Molecular cytogenetics: an indispensable tool for cancer diagnosis. *Chang Gung Med J*. 2012;35(2):96–110. doi: 10.4103/2319-4170.106161
15. Chudoba I, Hickmann G, Friedrich T, et al. mBAND: a high resolution multicolor banding technique for the detection of complex intrachromosomal aberrations. *Cytogenet Genome Res*. 2004;104(1-4):390–393. doi: 10.1159/000077521
16. Hada M, Wu H, Cucinotta FA. mBAND analysis for high- and low-LET radiation-induced chromosome aberrations: a review. *Mutat Res*. 2011;711(1-2):187–192. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2010.12.018
17. Vozilova AV Assessment of the effect of chronic exposure on premature aging of human T-lymphocytes based on unstable chromosome aberrations. *Medicine of Extreme Situations*. 2023;25(2):85–90. doi: 10.47183/mes.2023.015 EDN: KORRHT
18. Startsev NV, Shishkina EA, Blinova EA, Akleev AV. Reference and information complex registr of the urals research center for radiation medicine of the FMBA of Russia. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2022;67(1):46–53. doi: 10.12737/1024-6177-2022-67-1-46-53 EDN: WXBBDTN
19. Shishkina EA, Napier BA, Preston DL, Degteva MO. Dose estimates and their uncertainties for use in epidemiological studies of radiation-exposed populations in the Russian Southern Urals. *PLoS One*. 2023;18(8):e0288479. doi: 10.1371/journal.pone.0288479
20. The use of cytogenetic dosimetry to ensure preparedness and response in radiation emergencies. IAEA. Vienna; 2014. 250 p. URL: https://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/EPR_Biodosimetry2011R_web.pdf
21. Sigurdson A, Ha M, Hauptmann M, et al. International study of factors affecting human chromosome translocations. *Mutat Res*. 2008;652(2):112–121. doi: 10.1016/j.mrgentox.2008.01.005
22. Pilinskaya MA. Cytogenetic effects in somatic cells of individuals affected by the Chernobyl disaster as a biomarker of the effects of ionizing radiation in small doses. *International Journal of Radiation Medicine*. 1999;(2):60–6. (In Russ.)
23. Nakano M, Kodama Y, Ohtaki K, et al. Detection of stable chromosome aberrations by FISH in A-bomb survivors: comparison with previous solid Giemsa staining data on the same 230 individuals. *Int J Radiat Biol*. 2001;77(9):971–977. doi: 10.1080/09553000110050065
24. Vozilova AV, Shagina NB, Degteva MO, Akleyev AV. Chronic radioisotope effects on residents of the Techa river (Russia) region: cytogenetic analysis more than 50 years after onset of exposure. *Mutat Res*. 2013;756(1-2):115–118. doi: 10.1016/j.mrgentox.2013.05.016

25. Kashevarova AA, Skryabin NA, Belyaeva EO, et al. Elimination of the ring chromosome as the basis for correction of major chromosomal defects. In: *Human genetics and pathology: collection of scientific papers*. Tomsk: Literaturnoe byuro; 2017. P. 159–160. EDN: ZVYANB
26. Pelevina II, Aleschenko AV, Antoshchina NM, et al. The reaction of cell population to low level of irradiation. *Radiation biology. Radioecology*. 2003;43(2):161–166. EDN: OOFYHP

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / AUTHORS' INFO

* Автор, ответственный за переписку	* Corresponding author
* Ахмадуллина Юлия Рафисовна, канд. биол. наук; адрес: Россия, 454141, Челябинск, ул. Воровского д. 68а; ORCID: 0000-0003-4394-2228; eLibrary SPIN: 3511-3838; e-mail: akhmadullina.yul@yandex.ru	* Yulia R. Akhmadullina, Cand. Sci. (Biology); address: 68a Vorovskogo st, Chelyabinsk, Russia, 454141; ORCID: 0000-0003-4394-2228; eLibrary SPIN: 3511-3838; e-mail: akhmadullina.yul@yandex.ru
Кривошапова Яна Владимировна; ORCID: 0000-0002-2555-2616; eLibrary SPIN: 9194-3604; e-mail: yana_ho@mail.ru	Iana V. Krivoshchapova; ORCID: 0000-0002-2555-2616; eLibrary SPIN: 9194-3604; e-mail: yana_ho@mail.ru

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Частота хромосомных aberrаций с участием X-хромосомы

Table 1. Frequency of chromosome aberrations involving X-chromosome

Группа Group	Пациентки The patients	Доза на ККМ, Гр Dose for RBM (G)	Количество во клеток Number of cells	GE	Инверсии Inversions		Простые транслокации Simple translocations	Изохромосомы Isochromosomes	Кольцевые хромосомы Ring chromosomes	Дипентрики Dicentrics	Делеции Deletions	Все aberrации All the aberrations	Все aberrации за вычетом фона All aberrations minus the background
					хромосо- мные chromoso- mal	хромати- дные chromati- d							
Сравнения Comparison	1	0	185	18,29	0	0	0,0547	0	0	0	0	0,0547	0,0521
	2	0	194	19,18	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0,003	217	21,45	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	0,01	230	22,74	0	0	0,0440	0	0	0	0	0,0440	0,0411
	5	0,03	338	33,41	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Облучённые женщины Irradiated women	6	0,80	171	16,90	0	0,0592	0,0592	0	0,0592	0	0,0592	0,2366	0,2340
	7	0,88	277	27,38	0	0,0365	0	0	0	0	0	0,0365	0,0323
	8	1,08	868	85,80	0	0	0,0233	0,0117	0	0,0117	0,0117	0,0583	0,0456
	9	1,57	389	38,45	0	0	0,0780	0	0	0	0	0,0780	0,0722
	10	2,44	249	24,61	0,0813	0	0,0406	0	0	0	0	0,1219	0,1178

Примечание. ККМ — красный костный мозг.

Note. RBM — red bone marrow.

Таблица 2. Частота анеуплоидных клеток по X-хромосоме, %

Table 2. Frequency of cells with X-chromosome aneuploidy, %

Пациентки The patients	Норма (XX) The norm (XX)	X	XXX	Все анеуплоидии All aneuploidies
1	89,19	8,65	2,16	10,81
2	93,81	5,15	1,03	6,19
3	94,93	3,69	1,38	5,07
4	96,52	1,74	1,74	3,48
5	93,79	4,44	1,78	6,21
Группа сравнения Comparison Group	93,65±1,22	4,73±1,13	1,62±0,20	6,35±1,22
6	95,32	2,92	1,75	4,68
7	89,17	8,66	2,17	10,83
8	95,28	3,46	1,27	4,72
9	84,58	12,85	2,57	15,42
10	89,16	8,03	2,81	10,84
Облучённые женщины Irradiated women	90,7±2,10	7,18±1,8	2,1±0,28	9,30±2,06

РИСУНКИ

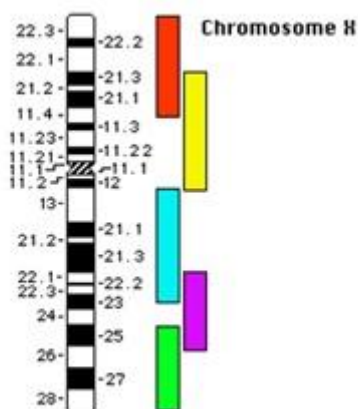


Рис. 1. Схема гибридизации зондов для X-хромосомы: спектры возбуждения флуорохромов сопоставимы с аква Мариновым, зелёным, оранжевым, красным и ближним инфракрасным спектром (XCyte 1. Human mBAND Probe. <https://metasystems-probes.com/en/probes/mband/d-0201-030-di>).

Fig. 1. Scheme of probe hybridization for X-chromosome: excitation/absorption spectra of fluorochromes are comparable to the aquamarine, green, orange, red and near-infrared spectrum/spectra (XCyte 1. Human mBAND Probe. <https://metasystems-probes.com/en/probes/mband/d-0201-030-di>).

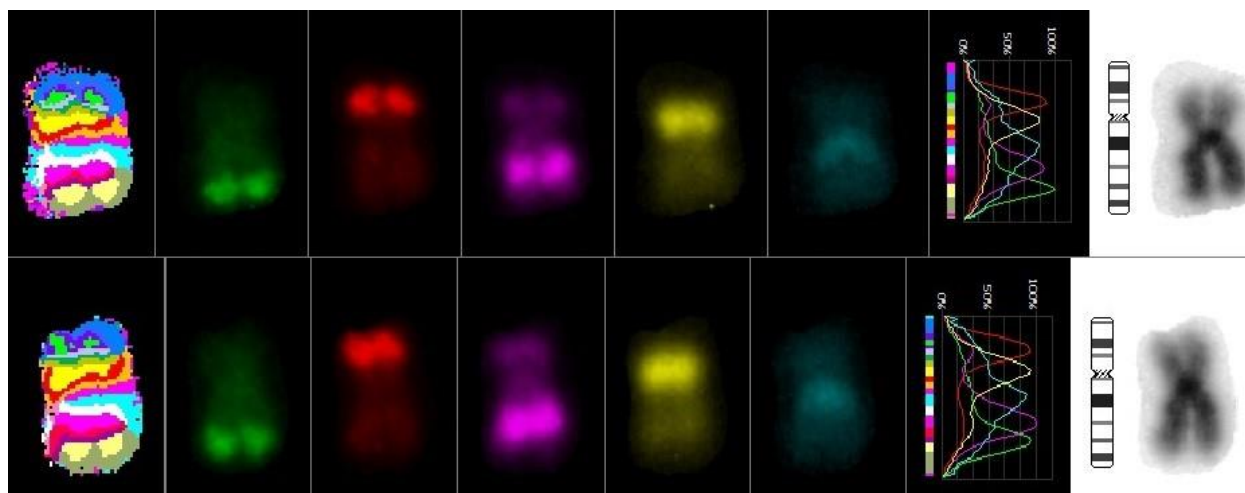


Рис. 2. X-хромосомы, окрашенные методом mBAND (норма).

Fig. 2. X-chromosomes stained with mBAND (norm)

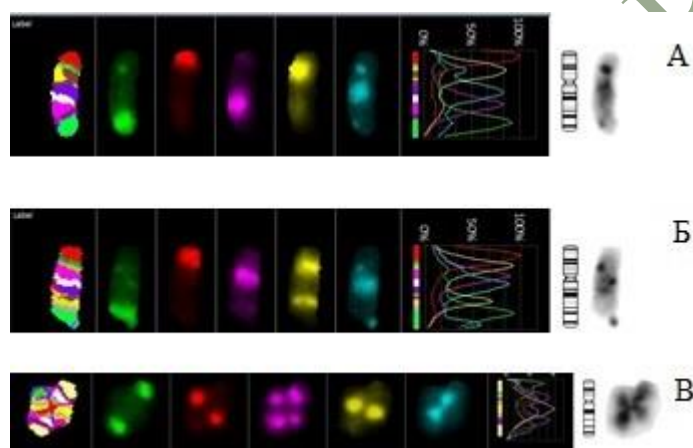


Рис. 3. Инверсии в X-хромосоме (А — нормальная хромосома, Б — перичесентрическая инверсия X-хромосомы; В — хроматидная инверсия X-хромосомы).

Fig. 3. Inversions in X-chromosomes (A — normal chromosome, Б — pericentric inversion of X chromosome; В — chromatid inversion of X chromosome).

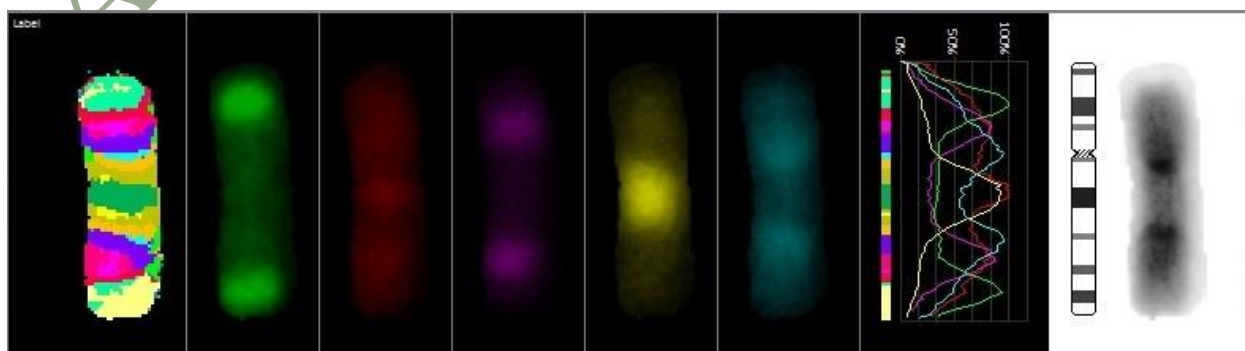


Рис. 4. Дицентрическая X-хромосома.

Fig. 4. Dicentric X chromosome.

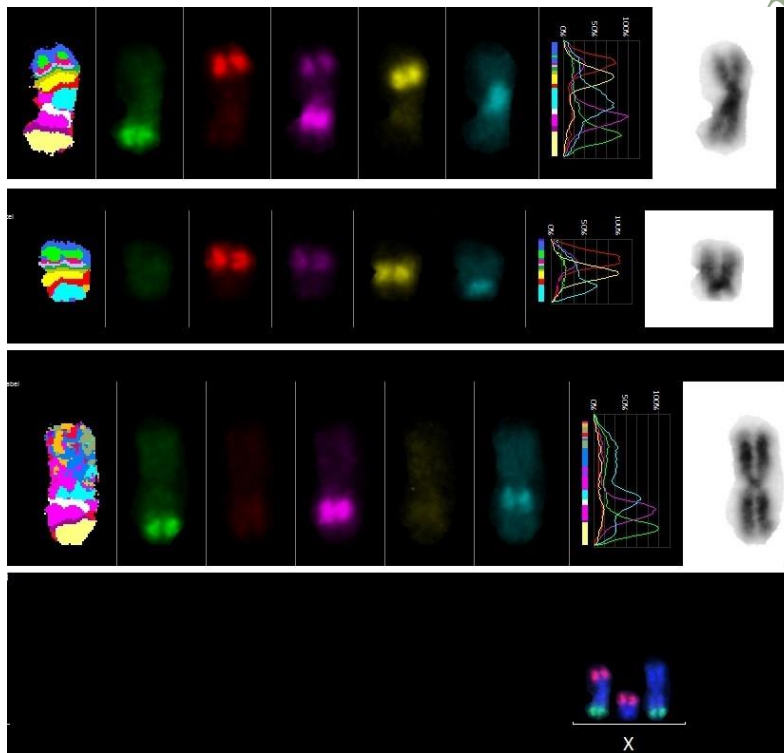
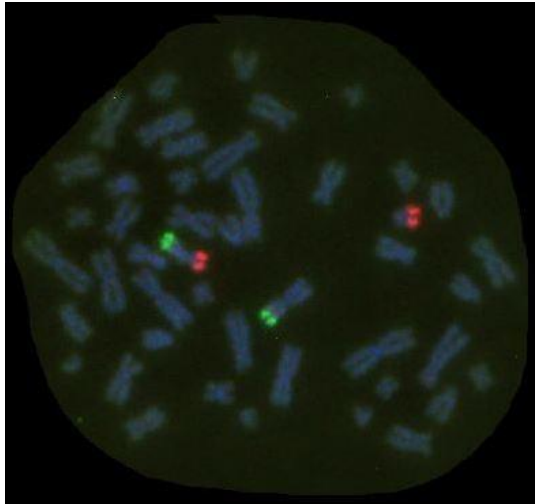


Рис. 5. Транслокация с участием X-хромосомы (наверху — вид метафазной пластинки; внизу — расположение спектров возбуждения флюорохромов).

Fig. 5. Translocations involving X chromosome (up — type of metaphase plate, down — location of fluorochrome excitation/absorption spectra).

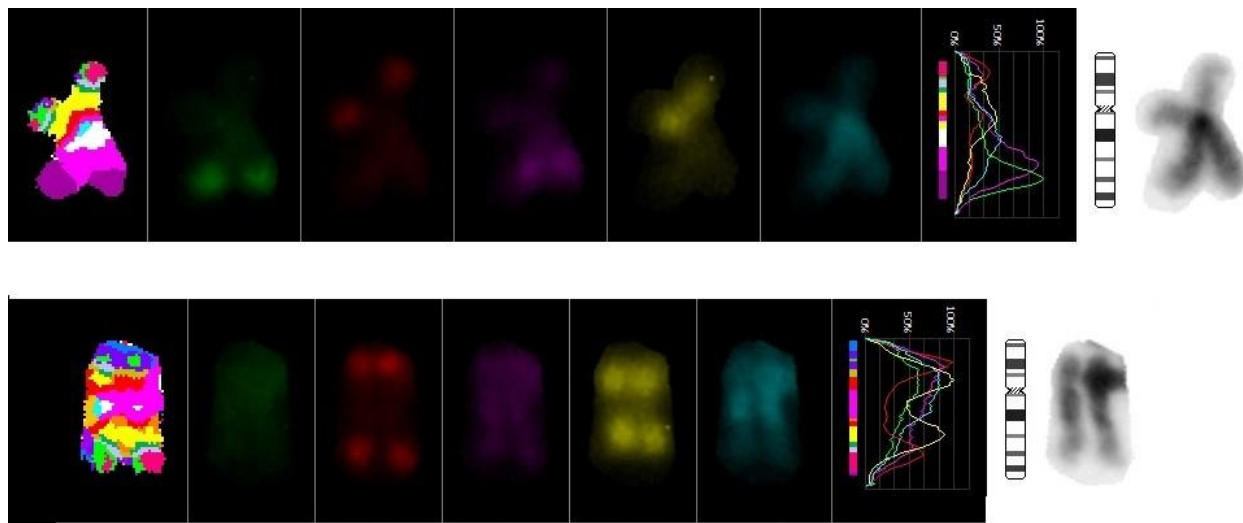


Рис. 6. Изохромосома по р-плечу.

Fig. 6. P-arm isochromosome.

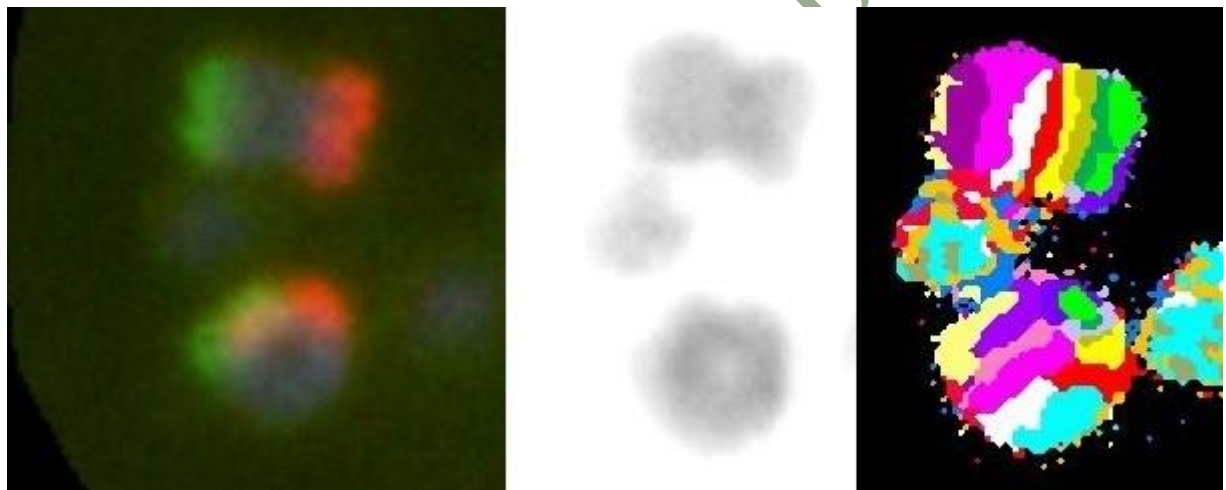


Рис. 7. Кольцевая X-хромосома.

Fig. 7. Ring X-chromosome.

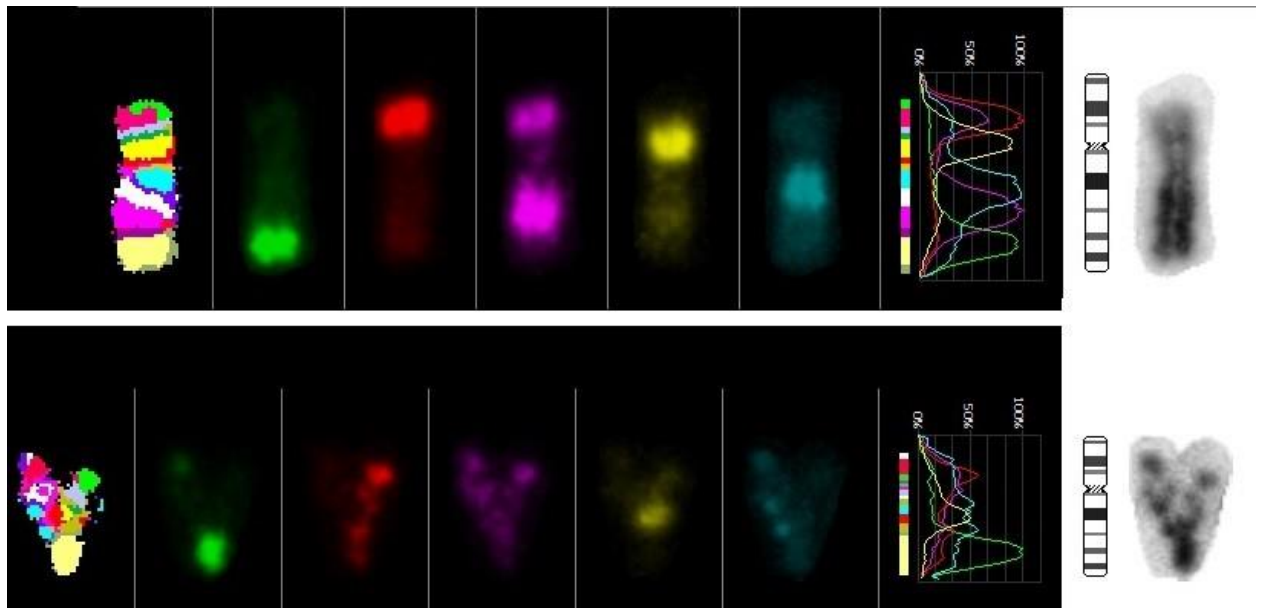


Рис. 8. Хромотрипсис X-хромосомы.

Fig. 8. X-chromosome chromothripsis.