

УДК 575.174.015.3:577.34

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-4-79-87>

Поиск полиморфных вариантов кандидатных генов индивидуальной радиочувствительности

Исубакова Д.С.¹, Литвяков Н.В.^{1,2}, Цымбал О.С.¹, Усова Т.В.¹, Цыпленкова М.Ю.¹, Мильто И.В.^{1,3}, Тахауов Р.М.^{1,3}

¹ Северский биофизический научный центр (СБН Центр)
Россия, 636013, Томская обл., г. Северск-13, а/я 130

² Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

³ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Цитогенетические нарушения (ЦН) лимфоцитов, индуцированные «малыми» дозами (до 100 мЗв) ионизирующего излучения (ИИ), являются основными цитогенетическими признаками индивидуальной радиочувствительности организма человека. Помимо репарации ДНК и гибели клеток, которые влияют на формирование ЦН и их элиминацию, вклад в последствия воздействия ИИ на клетку может реализоваться за счет изменений пролиферации клеток с нерепарированными дефектами ДНК. Определяющую роль в регуляции пролиферации клеток играет система циклинов и циклин-зависимых киназ, которые обеспечивают координацию митотических событий при прохождении клеточного цикла.

Цель. Оценить связь однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) генов клеточного цикла с повышенной частотой ЦН, возникших у персонала объекта использования атомной энергии, под действием долговременного техногенного профессионального облучения ИИ в диапазоне доз 100–500 мЗв.

Материалы и методы. Объектом исследования служила кровь 55 условно здоровых работников Сибирского химического комбината (СХК), подвергавшихся в процессе профессиональной деятельности долговременному техногенному радиационному воздействию (γ -излучение) в дозах 100–500 мЗв. Для всех обследованных лиц проводили стандартный цитогенетический анализ лимфоцитов крови. Геномную ДНК из крови работников выделяли с помощью набора QIAamp DNA Blood mini Kit (Qiagen, Германия). Генотипировали ДНК по 257 ОНП генов циклинов и межгенных областей вблизи генов циклинов с помощью ДНК-чипов высокой плотности CytoScan HD Array (Affymetrix, США).

Результаты. Установлено, что с учетом поправки Бонферрони имеются только статистически значимые связи ОНП с высокой частотой дицентрических хромосом, все остальные типы изученных ЦН не показали достоверных отличий. С повышенной частотой дицентрических хромосом, возникающих под действием долговременного техногенного профессионального облучения ИИ, ассоциирован rs803054 *CCN2*.

Заключение. Обнаруженный ОНП (rs803054), рецессивный генотип которого ассоциирован с повышенной частотой дицентрических хромосом у работников СХК, подвергавшихся в процессе профессиональной деятельности долговременному техногенному радиационному воздействию (γ -излучение) в дозах 100–500 мЗв, можно рассматривать в качестве потенциального маркера индивидуальной радиочувствительности. Для подтверждения выявленных ассоциаций необходимы дальнейшие валидационные исследования на расширенной выборке людей, подвергавшихся долговременному техногенному профессиональному облучению ИИ.

✉ Исубакова Дарья Сергеевна, isubakova.daria@yandex.ru

Ключевые слова: ионизирующее излучение, индивидуальная радиочувствительность, хромосомные аберрации, полиморфизм генов, микроматричный анализ

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

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках государственного задания № 388-00162-22-00 от 01.03.2022.

Соответствие принципам этики. Все доноры подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено НИИ онкологии Томского НИМЦ.

Для цитирования: Исубакова Д.С., Литвяков Н.В., Цымбал О.С., Усова Т.В., Цыпленкова М.Ю., Мильто И.В., Тахауов Р.М. Поиск полиморфных вариантов кандидатных генов индивидуальной радиочувствительности. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(4):79–87. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-4-79-87>.

Search for polymorphic variants of candidate genes contributing to individual radiosensitivity

Isubakova D.S.¹, Litviakov N.V.^{1,2}, Tsymbal O.S.¹, Usova T.V.¹, Tsyplenkova M.Yu.¹, Milto I.V.^{1,3}, Takhauov R.M.^{1,3}

¹ *Seversk Biophysical Research Center
P.O. Box-130, Seversk-13, 636013, Russian Federation*

² *Cancer Research Institute of Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences
5, Cooperativny Lane, Tomsk, 634009, Russian Federation*

³ *Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation*

ABSTRACT

Background. Cytogenetic damage (CD) in lymphocytes induced by low doses (up to 0.1 Sv) of ionizing radiation (IR) is the main cytogenetic sign of individual radiosensitivity of the human body. In addition to DNA repair and cell death, which affect the formation of CD and its elimination, IR effects on the cell can be manifested through changes in proliferation of cells with unrepaired DNA damage. The system of cyclins and cyclin-dependent kinases (CDK), which provide coordination of mitotic events during passage of a cell through the cell cycle, plays a crucial role in regulation of cell proliferation.

Aim To evaluate the relationship of single-nucleotide polymorphisms (SNPs) of cell cycle genes with an increased frequency of CD in workers of a nuclear power plant affected by chronic occupational radiation exposure in the dose range of 100–500 mSv.

Materials and methods. The object of the study was blood of 55 conditionally healthy workers of Siberian Chemical Plant (SCP) who were affected by chronic occupational radiation exposure (gamma radiation) in the dose range of 100–500 mSv. A standard cytogenetic analysis of blood lymphocytes was performed for all examined individuals. Genomic DNA was isolated from the blood of the workers using the QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Germany). DNA was genotyped using 257 SNPs of cyclin genes and neighboring intergenic regions using DNA microarrays from the high-density CytoScan HD Array (Affymetrix, USA).

Results. Taking into account the Bonferroni correction, only statistically significant associations of SNPs with the frequency of dicentric chromosomes were found; all other types of chromosomal aberrations did not show statistical significance. The rs803054 *CCN12* was associated with an increased frequency of dicentric chromosomes arising under the influence of chronic occupational radiation exposure.

Conclusion. The discovered SNP (rs803054), whose recessive genotype is associated with an increased frequency of dicentric chromosomes in workers of SCP exposed to radiation at doses of 100–500 mSv over a long time, can

be considered as a potential marker of individual radiosensitivity. To confirm the identified associations, further validation studies are needed on an expanded sample of people affected by chronic occupational radiation exposure.

Keywords: ionizing radiation, individual radiosensitivity, chromosomal aberrations, gene polymorphism, microarray analysis

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was carried out within the framework of state assignment No. 388-00162-22-00 dated 01.03.2022.

Conformity with the principles of ethics. All donors signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at Cancer Research Institute of Tomsk NRMC.

For citation: Isubakova D.S., Litviakov N.V., Tsybmal O.S., Usova T.V., Tsyplenkova M.Yu., Milto I.V., Takhaouov R.M. Search for polymorphic variants of candidate genes contributing to individual radiosensitivity. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(4):79–87. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-4-79-87>.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из цитогенетических признаков индивидуальной радиочувствительности (ИРЧ) организма человека считают частоту индуцированных цитогенетических нарушений (ЦН), а также формирование радиогенной патологии, среди которой лидирующие позиции занимают опухолевые заболевания [1–3]. Лимфоциты являются клетками организма человека, наиболее чувствительными к действию ионизирующего излучения (ИИ). Лимфоциты крови с индуцированными ЦН элиминируются из организма посредством различных форм гибели, таких как апоптоз, некроз, некроптоз, аутофагическая гибель, митотическая катастрофа и ускоренное старение облученных клеток [4–6], однако при нарушении этих механизмов гибели или снижении их активности за счет нормальной вариабельности генома лимфоциты с ЦН могут накапливаться, что проявляется в увеличении частоты ЦН даже при «малых» дозах ИИ.

Еще одним механизмом накопления частоты ЦН является пролиферация лимфоцитов, поскольку хорошо известно, что в процессе пролиферации элиминируются aberrации хромосомного типа [1, 2]. Определяющую роль в регуляции пролиферации играет система циклинов, которые функционируют как регуляторы циклин-зависимых киназ и способствуют временной координации каждого митотического события. Таким образом, помимо вариабельности механизмов репарации и гибели клеток, оказывающих прямое действие на формирование ЦН и их элиминацию, опосредованное действие может быть обусловлено и вариабельностью механизмов пролиферации поврежденных клеток с нерепарированными ЦН.

С помощью технологии микроматриц (microarray) проведено широкогеномное исследование ассоциации 162 однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) генов системы циклинов (*CCNA1*, *CCNA2*, *CCNB1*, *CCNB2*, *CCNB3*, *CCND1*, *CCND2*, *CCND3*, *CCNE1*, *CCNE2*, *CCNF*, *CCNG1*, *CCNH*, *CCNI*, *CCNI2*, *CCNJ*, *CCNJL*, *CCNK*, *CCNY*), а также 95 межгенных ОНП, находящихся вблизи генов циклинов, с высокой частотой ЦН у персонала Сибирского химического комбината (СХК, 55 человек), подвергавшегося профессиональному облучению в диапазоне доз 100–500 мЗв. В предварительном исследовании при изучении зависимости «доза–эффект» наблюдается плато, т.е. частота цитогенетических нарушений не изменяется с ростом дозы [7, 8], и именно в этом диапазоне доз следует изучать ассоциацию ОНП с повышенной частотой ЦН для оценки ИРЧ.

Цель исследования – оценить связь ОНП генов циклинов и их промоторов с повышенной частотой ЦН, возникших у работников объекта использования атомной энергии (СХК) под действием долговременного техногенного профессионального облучения ИИ в диапазоне доз 100–500 мЗв.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использовали цельную венозную кровь 38 условно здоровых работников СХК, не подвергавшихся в процессе профессиональной деятельности облучению ИИ – группа контроля, и 55 условно здоровых работников СХК, подвергавшихся в процессе профессиональной деятельности долговременному техногенному облучению ИИ (γ -излучение) в дозах 100–500 мЗв – группа исследования. Характеристика обследованных групп представлена в табл. 1.

Таблица 1

Характеристика обследованных групп работников СХК			
Показатель		Группа контроля, n = 38	Группа исследования, n = 55
Мужчины/женщины		38/0	55/0
Возраст, лет	Me	52,00	59,00
	L-R	37,00–58,00	54,00–69,00
Стаж работы, лет	Me	20,00	34,00
	L-R	12,00–34,00	29,00–42,00
Доза внешнего облучения, мЗв	Me	–	203,35
	L-R	–	164,00–276,15

Сбор и уточнение информации о донорах биологического материала выполнены с использованием базы данных регионального медико-дозиметрического регистра и архива медицинской документации Северского биофизического научного центра, содержащих сведения обо всех работниках СХК [9]. В соответствии с Федеральным законом от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» каждый донор подписал информированное добровольное согласие.

Взятие крови для исследования у доноров проводили из локтевой вены. Кровь забирали в объеме 9 мл в пробирки Vacuette с ЭДТА К3 (Greiner Bio-one, Австрия) и иглой Visio Plus для системы Vacuette, 38 × 0,8 мм, 21G × 11/2 (Greiner Bio-one, Австрия) для последующего выделения ДНК и проведения микроматричного анализа. Для приготовления цитогенетических суспензий кровь забирали в объеме 9 мл в пробирки Vacuette с Li-гепарином (Greiner Bio-one, Австрия) с иглой Visio Plus для системы Vacuette, 38 × 0,8 мм, 21G × 11/2 (Greiner Bio-one, Австрия).

Лицам, включенным в исследование, проводили цитогенетический анализ мононуклеарных лейкоцитов крови. Для культивирования лимфоцитов брали цельную венозную кровь, которую смешивали с питательной средой (15% эмбриональной телячьей сыворотки и 8% среды RPMI 1640, включающей глутамин, фитогемагглютинин, пенициллин) и инкубировали (37 °C) в культуральных флаконах (Corning, США) в суховоздушном шейкере-инкубаторе (Biosan, Латвия). Цитогенетическое исследование проводили на микроскопе Leica DM2500 (Leica, Германия). Анализировали не менее 300 метафазных пластинок у каждого человека. Результаты приводили как частоту ЦН на 100 метафазных пластинок. Определяли следующие виды ЦН: aberrantные клетки, полиплоидные клетки, мультиабerrantные клетки (более пяти хромосомных aberrаций), хромосомные и хроматидные фрагменты, кольцевые и дицентрические хромосомы, хроматидные обмены (фигуры типа «крест») и транслокации.

С использованием набора QIAamp DNA Blood mini Kit (Qiagen, Германия) из мононуклеарных лейкоцитов крови выделяли ДНК. Чистоту (A260/A280 = 1,80–2,00, A260/A230 = 1,90–2,15) и концентрацию (50–150 нг/мкл) ДНК устанавливали на спектрофотометре NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, США). Целостность ДНК определяли при помощи капиллярного электрофореза – фрагменты ДНК имели размер более 48 кб.

Изученные ОНП генотипированы на ДНК-чипах Cyto Scan HD Array (Affymetrix, США). Процедуры пробоподготовки, гибридизации и сканирования проводили в соответствии с протоколом производителя. Обработку результатов микрочипирования осуществляли с применением программы Chromosome Analysis Suite 4.3 (Affymetrix, США). Для уточнения и идентификации ОНП и генов, к которым они принадлежат, в работе были использованы базы данных Affymetrix DataBases genotypes, NCBI, OMIM и GWAS Catalog, SNPedia.

Изученные ОНП генов циклинов (CCN) и межгенных областей вблизи генов циклинов (n = 257):

- *CCNA1 (cyclin A1)*: rs7997378, rs3814803, rs17188012;
- *CCNA2 (cyclin A2)*: rs3217753, rs3217772, rs3217771;
- *CCNB1 (cyclin B1)*: rs1128761;
- *CCNB2 (cyclin B2)*: rs28383518, rs28383514, rs75767699, rs169410487, rs16941042, rs16941046, rs28383551;
- *CCNB3 (cyclin B3)*: rs12848359, rs12009873, rs7063886, rs6614336, rs12007902, rs17003332;
- *CCND1 (cyclin D1)*: rs3212869, rs649392;
- *CCND2 (cyclin D2)*: rs3217805, rs4765775, rs3217916, rs3217812, rs3217848, rs3217830, rs11063072, rs3217882, rs3217898, rs3217933;
- *CCND3 (cyclin D3)*: rs9369318;
- *CCNE1 (cyclin E1)*: rs3218071, rs3218035, rs3218036, rs41520849, rs3218038, rs3218068, rs3218042, rs3218064, rs3218066, rs3218044;
- *CCNE2 (cyclin E2)*: rs2467670, rs16893774, rs2278891;
- *CCNF (cyclin F)*: rs8052046;
- *CCNG1 (cyclin G1)*: rs299322, rs2069345, rs2069347;
- *CCNH (cyclin H)*: rs6879293, rs3752862, rs74582239, rs16902635, rs16902632, rs75949864, rs6891010, rs10067098, rs115516306, rs114916935, rs3827607, rs16902623, rs16902625, rs11745338, rs16902631, rs77996308, rs1062035;
- *CCNI (cyclin I)*: rs803054, rs803057, rs10006033, rs62302339;

– *CCNJ (cyclin J)*: rs4921132, rs57334361, rs17057562, rs6875660, rs4921270, rs74734346, rs17057596, rs78444213, rs17111275, rs2303059, rs915506, rs6874570, rs6556488, rs11949221, rs17057577, rs6899125, rs754112, rs2421777, rs2421778, rs17057631, rs10052876, rs2421779, rs2421780, rs10038395, rs28595384, rs72814336, rs12657051, rs17057641, rs9313842, rs11596126;

– *CCNK (cyclin K)*: rs10144895, rs3918051, rs3918094, rs2069492, rs2069493, rs3918139, rs3918048;

– *CCNY (cyclin Y)*: rs12261552, rs113182825, rs115589270, rs11816866, rs111374708, rs2295417, rs115469285, rs2504352, rs2504350, rs2474533, rs4934749, rs35745247, rs17593103, rs75954134, rs16936030, rs3003980, rs16936032, rs3013364, rs114206731, rs12241755, rs16936035, rs74979754, rs10508817, rs10827506, rs11010151, rs4934753, rs112496700, rs11591533, rs4934754, rs1345561, rs12248732, rs10508818, rs116338411, rs75609581, rs11010178, rs74866156, rs2086153, rs12242002, rs10827509, rs112818779, rs11595699, rs11010213, rs16936102, rs3003981, rs7067539, rs61449529, rs10827512, rs4934551, rs11010225, rs7910421, rs17500653, rs116009947, rs12249814, rs112091952;

– межгенные области вблизи генов циклинов: rs6817626, rs2138940, rs9566153, rs13153588, rs6509615, rs9547604, rs4865924, rs73537845, rs79959089, rs79226566, rs17053967, rs12508668, rs4241604, rs413127, rs11097684, rs115693938, rs9315437, rs2323125, rs12902628, rs5961171, rs59776629, rs6887755, rs6826342, rs4557282, rs375299, rs4502705, rs6818356, rs7682171, rs13133761, rs4518274, rs6849124, rs6849534, rs6871154, rs323746, rs112520532, rs9603050, rs114501411, rs323758, rs323757, rs1441709, rs2919902, rs984026, rs34383364, rs17285919, rs9547632, rs73770251, rs35556022, rs1517886, rs35000040, rs6892636, rs11749408, rs11749439, rs3909481, rs7250135, rs4805497, rs10422957, rs17002403, rs35204615, rs16963260, rs4998568, rs11882235, rs56400371, rs28582702, rs11881322, rs255259, rs1811302, rs255263, rs77475690, rs11084309, rs410468, rs17053969, rs10514840, rs17053994, rs76165140, rs74045329, rs17054069, rs12866109, rs1517893, rs9315426, rs7489996, rs7692898, rs9594152, rs9603064, rs1474085, rs6822060, rs17054113, rs9603072, rs4943389, rs7317651, rs17191516, rs17054217, rs9547595, rs660005, rs16963219, rs594452.

Анализ данных генотипирования на каждый из изученных ОНП проводили по четырем моделям: доминантной, рецессивной, аддитивной и сверхдо-

минантной. По доминантной модели определяли различия в частоте ЦН между носителями гомозиготными по рецессивному аллелю и гетерозиготными носителями, с одной стороны, и носителями гомозиготными по доминантному аллелю – с другой. По рецессивной модели устанавливали различия в частоте ЦН между носителями гомозиготными по доминантному аллелю и гетерозиготными носителями, с одной стороны, и носителями гомозиготными по рецессивному аллелю – с другой. По аддитивной модели оценивали различия в частоте ЦН между носителями гомозиготными по доминантному аллелю, носителями гомозиготными по рецессивному аллелю и гетерозиготными носителями. При сверхдоминантной модели устанавливали различия в частоте ЦН между носителями гомозиготными по доминантному и рецессивному аллелю, с одной стороны, и гетерозиготными носителями – с другой.

Статистическую обработку результатов проводили при помощи программы Statistica 8.0 (StatSoft, США). Результаты представлены в виде медианы и межквартильного размаха $Me (L-R)$.

Соответствие распределения генотипов в выборке равновесию Харди – Вайнберга оценивали с помощью программы Court lab HW calculator в формате Excel. Для установления значимости различий между выборками по частоте ЦН применяли критерий Манна – Уитни с поправкой Бонферрони ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе проведено цитогенетическое исследование частоты ЦН у работников СХК обеих групп для подтверждения повышенной частоты ЦН у работников группы исследования. Результаты представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, частота большинства типов ЦН, которые не являются маркерами радиационного воздействия, в обеих группах работников СХК не отличается. Возможно, это является следствием того, что все работники СХК, включенные в данное исследование, проживают и работают в приблизительно идентичных условиях, т.е. выборки тщательно стратифицированы, а группа контроля и группа исследования, на которой была изучена ассоциация высокой частоты ЦН с ОНП, не различаются существенным образом, за исключением маркеров радиационного воздействия – кольцевых и дицентрических хромосом.

Известно, что серьезный вклад в повышение частоты ЦН у человека может вносить образ жизни, например курение, употребление алкоголя и другие вредные привычки, в меньшей степени – экологические условия, а также контакт на производстве с вредными химическими факторами.

Таблица 2

Сравнение частот ЦН у работников СХК группы контроля и группы исследования, на 100 клеток, Me (L-R)			
Показатель	Группа контроля, n = 38	Группа исследования, n = 55	p
Количество aberrантных клеток	1,0000 (0,3333–2,3333)	2,5641 (1,4285–3,3333)	0,0002
Хроматидные фрагменты	0,3316 (0,0000–0,6666)	0,6269 (0,0000–1,3071)	0,1294
Хромосомные фрагменты	0,3268 (0,0000–0,6557)	0,3225 (0,0000–0,9118)	0,5140
Кольцевые хромосомы	0,0000 (0,0000–0,0000)	0,2724 (0,0000–0,3333)	0,0050
Дицентрические хромосомы	0,3322 (0,0000–0,9493)	0,7712 (0,0000–1,2578)	0,0280
Мультиабerrантные клетки	0,0000 (0,0000–0,0000)	0,0000 (0,0000–0,0000)	0,8819
Хроматидные обмены	0,0000 (0,0000–0,0000)	0,0000 (0,0000–0,0000)	0,2687
Транслокации	0,0000 (0,0000–0,0000)	0,0000 (0,0000–0,0000)	0,8819
Полиплоидные клетки	0,0000 (0,0000–0,0000)	0,0000 (0,0000–0,0000)	0,8820

Примечание. Здесь и в табл. 3 полужирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

Отсутствие различий по частоте хроматидных и хромосомных фрагментов, мультиабerrантных клеток, хроматидных обменов, транслокаций и полиплоидных клеток говорит об отсутствии вышеуказанных различий у работников изучаемых групп. Тем не менее частота маркеров радиационного воздействия – кольцевых и дицентрических хромосом, а также частота абerrантных клеток (из-за кольцевых и дицентрических хромосом) статистически выше у работников, подвергавшихся в процессе своей профессиональной деятельности долговременному радиационному воздействию.

На втором этапе исследования проведена оценка ассоциации частоты радиационно-индуцирован-

ных ЦН в зависимости от полиморфных вариантов изученных генов у работников группы исследования. При анализе данных исключены ОНП любого генотипа при $n < 5$, поскольку в условиях малочисленной выборки это увеличивает вероятность ошибки первого рода. Затем исключили ОНП, не соответствующие равновесию Харди – Вайнберга. В результате из 257 ОНП в окончательный статистический анализ было включено 58 ОНП. Далее выявляли их ассоциацию с высокой частотой установленных ЦН.

На рисунке представлены уровни значимости для 58 отобранных ОНП (см. выше) по дицентрическим хромосомам.

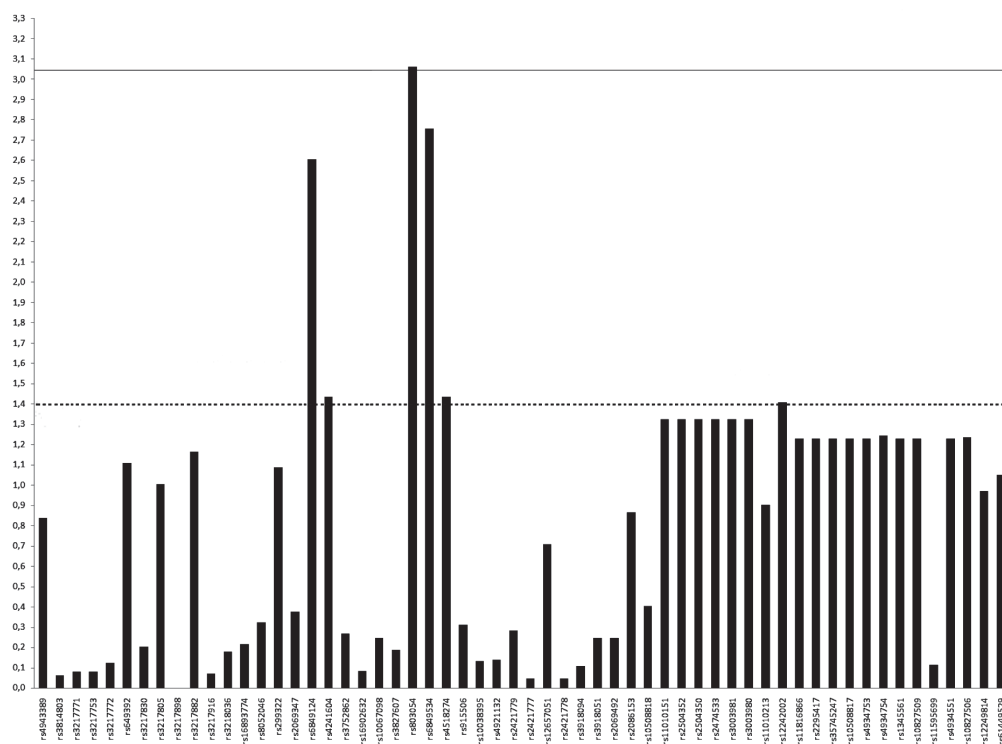


Рисунок. Уровни значимости для рецессивной модели по частоте дицентрических хромосом. Ось ординат – значение p в логарифмических координатах – (\log_{10}) ; пунктирная линия – уровень значимости $p < 0,05$, рассчитанный по критерию Манна – Уитни, сплошная линия – уровень поправки Бонферрони

На оси ординат отложен отрицательный десятичный логарифм уровня доверительной вероятности. Линией сверху изображен уровень доверительной вероятности с учетом поправки Бонферрони равный $-\log(0,05/57) = 3,0644$. Таким образом, на рисунке показано, что с учетом поправки Бонферрони только один ОНП ассоциирован с высокой частотой дицентрических хромосом у работников СХК группы исследования.

Из 58 выявленных ОНП анализ данных генотипирования, проведенный по всем четырем генотипическим моделям (доминантной, рецессивной, аддитивной и сверхдоминантной), показал ассоциацию только с высокой частотой дицентрических хромосом (маркеров радиационного воздействия) по рецессивной модели для 1 ОНП *CCNI2* (*rs803054*) (табл. 3).

Таблица 3

Частота дицентрических хромосом в зависимости от генотипов по изученным генам у работников группы исследования, на 100 клеток, <i>Me (L-R)</i>					
Показатель	Частота дицентрических хромосом по генотипам			<i>p</i>	Поправка Бонферрони
<i>Доминантная модель</i>					
<i>CCNI2</i> rs803054	<i>A/G + G/G, n = 39</i>		<i>A/A, n = 16</i>	0,0865	0,000874
	0,9740 (0,0000–1,6666)		0,3928 (0,0000–1,0317)		
<i>Рецессивная модель</i>					
<i>CCNI2</i> rs803054	<i>A/A + A/G, n = 42</i>		<i>G/G, n = 13</i>	0,0008	0,000874
	0,5303 (0,0000–1,0899)		1,4285 (1,0256–1,8750)		
<i>Сверхдоминантная модель</i>					
<i>CCNI2</i> rs803054	<i>A/A + G/G, n = 28</i>		<i>A/G, n = 27</i>	0,1116	0,000874
	0,9890 (0,3928–1,5476)		0,6060 (0,0000–1,0899)		
<i>Аддитивная модель</i>					
<i>CCNI2</i> rs803054	<i>A/A, n = 16</i>	<i>A/G, n = 26</i>	<i>G/G, n = 13</i>	0,8645	0,000874
	0,3928 (0,0000–1,0317)	0,6298 (0,0000–1,0899)	1,4285 (1,0256–1,8750)		

Примечание. *n* – число обследованных с данным генотипом в группе при *p* < 0,05.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полиморфный вариант rs803054 является интронным, располагается в позиции chr5:132750285 (GRCh38.p13) и принадлежит гену *CCNI2*. В 2008 г. S. Choudhry и соавт. выдвинули предположение, что 5q23.3 (авторы указали, что rs803054 располагается в позиции chr5:132162193) является потенциальной областью, содержащей гены астмы у пуэртиканцев [10]. Иная информация о вкладе этого ОНП в регуляцию функциональной активности *CCNI2* отсутствует, в том числе и в базе SNPedia.

В отличие от результатов S. Choudhry и соавт. в нашей работе показана ассоциация rs803054 с радиационно-индуцированными ЦН. Так, выявлено, что для rs803054 *CCNI2* носители рецессивного генотипа имели частоту дицентрических хромосом в 2 раза выше в сравнении с носителями доминантного генотипа при относительно одинаковых дозах внешнего облучения ИИ. Одной из причин более высокой частоты кольцевых и дицентрических хромосом у работников в группе исследования является долговременное техногенное профессиональное облучение ИИ [11].

CCNI2 локализован в длинном плече 5-й хромосомы (5q31.1), считается гомологом *CCNI*. *CCNI2*

взаимодействует с CDK5 и активирует ее. С. Liu и соавт. и J. Taneera и соавт. показали, что истощение *CCNI2* с помощью siRNA ингибирует прохождение клеточного цикла и пролиферацию клеток [12, 13]. D.M. Lai и соавт. продемонстрировали пониженный уровень экспрессии *CCNI2*, который, в свою очередь, ингибировал пролиферацию клеток колоректального рака, останавливал клеточный цикл в фазе G2, а также стимулировал клеточный апоптоз [14]. Имеется информация, что снижение экспрессии *CCNI2* замедляет прогрессирование рака желудка за счет ингибирования пролиферации опухолевых клеток, повышения восприимчивости к апоптозу и подавления миграции [15].

Известно, что ЦН элиминируются в процессе пролиферации, поэтому, согласно полученным нами результатам, у носителей рецессивного аллеля rs803054 *CCNI2* может отмечаться снижение экспрессии *CCNI2*, вследствие которой снижается пролиферативный потенциал лимфоцитов и интенсивность элиминации ЦН, к которым относятся дицентрические хромосомы. Полученные результаты хорошо согласуются с данными, полученными [12, 13]. На фоне долговременного техногенного профессионального облучения ИИ это приводит к увеличению частоты дицентрических хромосом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые выявлен ОНП rs803054, который можно рассматривать в качестве потенциального маркера ИРЧ. Показано, что работники СХК, гомозиготные по рецессивному аллелю rs803054, имеют повышенную частоту дицентрических хромосом в лимфоцитах крови при хроническом профессиональном облучении ИИ в диапазоне доз 100–500 мЗв. Идентифицированный кандидатный маркер ИРЧ может использоваться при разработке тест-системы для определения генетически детерминированной ИРЧ при помощи ПЦР-системы в режиме реального времени.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Елисова Т.В. Стабильные и нестабильные абберрации хромосом у человека и других млекопитающих в связи с вопросами биологической дозиметрии. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2008;48(1):14–27.
2. Балаева Л.С., Сипягина А.Е. Предикторы риска формирования радиационно-индуцированных стохастических заболеваний в поколениях детей из семей облученных родителей – актуальная проблема современности. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2019;64(1):7–14. DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-1-7-14.
3. Kim B.M., Hong Y., Lee S., Liu P., Lim J.H., Lee Y.H. et al. Therapeutic implications for overcoming radiation resistance in cancer therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2015;16(11):26880–26913. DOI: 10.3390/ijms161125991.
4. Maier P., Hartmann L., Wenz F., Herskind C. Cellular pathways in response to ionizing radiation and their targetability for tumor radiosensitization. *Int. J. Mol. Sci.* 2016;17(1):102. DOI: 10.3390/ijms17010102.
5. Baskar R., Lee K.A., Yeo R., Yeoh K.W. Cancer and radiation therapy: current advances and future directions. *Int. J. Med. Sci.* 2012;9(3):193–199. DOI: 10.7150/ijms.3635.
6. Freidin M.B., Vasilyeva E.O., Skobelskaya E.V., Goncharova I.A., Karpov A.B., Takhauov R.M. The prevalence and spectrum of chromosomal aberrations in workers of the Siberian Group of Chemical Enterprises. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2005;(2):75–81.

7. Литвяков Н.В., Фрейдin М.Б., Халюзова М.В., Сазонов А.Э., Васильева Е.О., Альбах Е.Н. и др. Частота и спектр цитогенетических нарушений у работников Сибирского химического комбината. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2014;54(3):283–296. DOI: 10.7868/S0869803114030084.
8. Исубакова Д.С., Халюзова М.В., Литвяков Н.В., Брониковская Е.В., Усова Т.В., Тахауов Р.М. и др. Цитогенетические нарушения в лимфоцитах крови у работников Сибирского химического комбината, подвергавшихся профессиональному облучению. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2021;61(4):353–366. DOI: 10.31857/S0869803121040056.
9. Takhauov R.M., Karpov A.B., Albach E.N., Khalyuzova M.V., Freidin M.B., Litviakov N.V. et al. The bank of biological samples representing individuals exposed to long-term ionizing radiation at various doses. *Biopreserv Biobank.* 2015;13(2):72–78. DOI: 10.1089/bio.2014.0035.
10. Choudhry S., Taub M., Mei R., Rodriguez-Santana J., Rodriguez-Cintron W., Shriver M.D. et al. Genome-wide screen for asthma in Puerto Ricans: evidence for association with 5q23 region. *Hum. Genet.* 2008;123(5):455–468. DOI: 10.1007/s00439-008-0495-7.
10. Снигирева Г.П. Последствия воздействий ионизирующих излучений: цитогенетические изменения в лимфоцитах крови человека. М.: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2009:402.
11. Liu C., Zhai X., Zhao B., Wang Y., Xu Z. Cyclin I-like (CCN12) is a cyclin-dependent kinase 5 (CDK5) activator and is involved in cell cycle regulation. *Sci. Rep.* 2017;7:40979. DOI: 10.1038/srep40979.
12. Taneera J., Fadista J., Ahlqvist E., Zhang M., Wierup N., Renström E. et al. Expression profiling of cell cycle genes in human pancreatic islets with and without type 2 diabetes. *Mol. Cell Endocrinol.* 2013;375(1-2):35–42. DOI: 10.1016/j.mce.2013.05.003.
13. Lai D.M., Bi J.J., Chen Y.H., Wu Y.D., Huang Q.W., Li H.J. et al. CCN12 plays a promoting role in the progression of colorectal cancer. *Cancer Med.* 2021;10(6):1913–1924. DOI: 10.1002/cam4.3504
14. Chen W., Zhou Y., Wu G., Sun P. CCN12 promotes the progression of human gastric cancer through HDGF. *Cancer Cell Int.* 2021;21:661–673. DOI: 10.1186/s12935-021-02352-6.

Вклад авторов

Исубакова Д.С. – анализ и интерпретация данных, подготовка текста статьи. Литвяков Н.В. – разработка концепции и дизайна исследования. Цымбал О.С., Усова Т.В., Цыпленкова М.Ю. – сбор и обработка материала, выполнение исследований. Мильто И.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания, редактирование. Тахауов Р.М. – проверка критически важного интеллектуального содержания, редактирование, утверждение окончательного варианта рукописи.

Информация об авторах

Исубакова Дарья Сергеевна – науч. сотрудник, СБН Центр, г. Северск, isubakova.daria@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5032-9096>

Литвяков Николай Васильевич – д-р биол. наук, профессор РАН, вед. науч. сотрудник, СБН Центр, г. Северск; зав. лабораторией онковирусологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, nvlitv72@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0714-8927>

Цымбал Ольга Сергеевна – науч. сотрудник, СБН Центр, г. Северск, olga-tsymbal@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2311-0451>

Усова Татьяна Валерьевна – мл. науч. сотрудник, СБН Центр, г. Северск, vishnevskaya_seversk@mail.ru.

Цыпленкова Мария Юрьевна – мл. науч. сотрудник, СБН Центр, г. Северск, mariatsyplenkova@yandex.ru.

Мильто Иван Васильевич – д-р биол. наук, доцент, зам. директора по научной работе, СБН Центр, г. Северск; профессор кафедры морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск, milto_bio@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9764-4392>

Тахауов Равиль Манихович – заслуженный врач Российской Федерации, д-р мед. наук, профессор, директор, СБН Центр, г. Северск; профессор кафедры организации здравоохранения и общественного здоровья, СибГМУ, г. Томск, niirm2007@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1994-957X>

(✉) **Исубакова Дарья Сергеевна**, isubakova.daria@yandex.ru

Поступила в редакцию 28.09.2022;
одобрена после рецензирования 24.10.2022;
принята к публикации 26.10.2022