

РАДИАЦИОННАЯ ЦИТОГЕНЕТИКА

УДК 612.112.94:575.224.23:614.876:57.087.1

КОНТРОЛЬНЫЕ УРОВНИ ТРАНСЛОКАЦИЙ
В КУЛЬТУРАХ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЛЮДЕЙ,
ОПРЕДЕЛЁННЫЕ С ПОМОЩЬЮ МУЛЬТИЦВЕТНОГО
FISH-ОКРАШИВАНИЯ

© 2025 г. В. Ю. Нугис*, В. А. Никитина, Е. Е. Ломоносова, М. Г. Козлова

Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский
биофизический центр имени А. И. Бурназяна, г. Москва, Россия

*E-mail: nugisvju@list.ru

Поступила в редакцию 17.07.2025 г.

После доработки 29.10.2025 г.

Принята к публикации 12.11.2025 г.

При ретроспективной оценке дозы с помощью мультицветного FISH-окрашивания для адекватной оценки дозы необходимо иметь сведения о средних популяционных уровнях транслокаций в контроле. Материалы и методы. На основе мульти(24-х)цветного FISH-метода произвели анализ аберраций хромосом в культурах лимфоцитов периферической крови 32 относительно здоровых доноров-добровольцев в возрасте от 21 до 72 лет. Результаты. У отдельных доноров было проанализировано от 98 до 473 метафаз. Основную массу FISH-выделяемых хромосомных аберраций составили реципрокные транслокации с частотой (на 100 клеток) 0.758 ± 0.118 , что было существенно в 5.9 раза выше уровня всех нестабильных аберраций. Средние частоты зафиксированных транслокаций составили для женщин и мужчин 0.77 ± 0.13 и 0.74 ± 0.23 соответственно. Выводы. В контрольной группе наблюдаемые частоты транслокаций в культурах лимфоцитов периферической крови не имели половых различий. Также не было обнаружено существенного влияния на этот цитогенетический показатель различных видов медицинского диагностического облучения, заболевания новой коронавирусной инфекцией COVID-19 и курения. Наблюдалась значимая регрессионная зависимость уровня FISH-транслокаций от возраста доноров.

Ключевые слова: культура лимфоцитов периферической крови, контрольная группа, мультицветный FISH-метод, транслокации, ретроспективная оценка дозы

DOI: 10.7868/S3034590125060043

Как известно, в настоящее время для ретроспективной цитогенетической индикации дозы по частотам реципрокных транслокаций используют различные варианты FISH-окрашивания хромосом культивируемых лимфоцитов периферической крови с помощью цельнохромосомных флуоресцирующих ДНК-проб [1]. Для этого следует построить кривые доза-эффект для частот транслокаций после облучения венозной крови *in vitro*. Однако также для верификации самого факта переоблучения необходимо иметь и сведения хотя бы о средних популяционных уровнях данных перестроек хромосом в контроле, так как для каждого отдельного обследуемого индивидуума изначальные цитогенетические показатели остаются неизвестными.

В большинстве работ заявленная цель оценки дозы в отдаленные сроки после возможного

переоблучения достигалась с помощью однокрасительного FISH-метода, позволяющего идентифицировать обмен хромосомным материалом только между FISH- и контрокрашенными хромосомами. Для выявления перестроек и между самими FISH-окрашенными хромосомами используют ДНК-зонды с присоединенными различными флуоресцентными красителями. Так, мы применяли трехцветное FISH-окрашивание при цитогенетическом анализе культур лимфоцитов периферической крови четырех пациентов через (1) 15 лет 8 месяцев; (2) 27.9–34.4 года; (3) 30.1 и 30.5 лет; (4) 47 лет после различных случаев аварийного радиационного воздействия [2]. Для выполнения этой работы нами ранее были получены соответствующие дозовые зависимости для транслокаций, выявляемых с помощью трехцветных ДНК-зондов [3]. Для расчёта контрольных частот транслокаций были использованы

сведения для геномных частот из международного исследования [4]. При этом рекомендуется каждой лаборатории иметь собственные данные относительно контрольных уровней аберраций хромосом в какой-либо популяции.

Ранее в статье [5] с помощью трехцветного FISH-окрашивания 1, 4 и 12 пар хромосом была обследована контрольная группа, включавшая в себя 32 специально отобранных донора-добровольца и 3 человека, кровь которых была использована при построении дозовой зависимости в работе [3]. Все эти люди характеризовались тем, что (1) у них отсутствовал в течение всей жизни аварийный или профессиональный контакт с ионизирующей радиацией, включая деактивацию загрязненных территорий; (2) отсутствовала в течение всей жизни до исследования лучевая или химиотерапия; (3) они не проживали на территориях, отнесенных к экологически неблагоприятным по действию любого фактора; (4) у них не было наследственных, онкологических или аутоиммунных патологий. При этом допускалось наличие разовых и плановых диагностических рентгенографических обследований, включая ежегодную флюорографию органов грудной клетки.

У указанных выше выбранных 32 доноров-добровольцев цитогенетическое исследование культур лимфоцитов периферической крови включало использование не только трехцветного, но и мульти(24-х)цветного FISH-окрашивания (mFISH). Если для пересчета частот аберраций хромосом на весь геном (частота аберраций в геном-эквивалентных клетках) необходимо применять специальные формулы [1], то с помощью mFISH-метода можно производить до некоторой степени полное кариотипирование (без учета внутрихромосомных перестроек) и напрямую регистрировать обмены между различными парами хромосом во всем геноме. Это повышает точность сравнения между различными обследуемыми группами, так как пересчету на геномную частоту сопутствует возрастание вклада случайных различий [1]. Преимуществом данного способа исследования хромосом также является увеличение возможности регистрации сложных перестроек хромосом, например, при действии плотно ионизирующих излучений [6].

Таким образом, целью настоящей статьи является представление результатов цитогенетического исследования с помощью мультицветного (24-х цветного) варианта FISH-метода культур

лимфоцитов периферической крови людей, отнесенных к контрольной популяции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Материалом для данных цитогенетических исследований послужила венозная кровь 32 относительно здоровых доноров-добровольцев (все — жители г. Москва), полученная общепринятым способом. В состав этой группы вошли 20 женщин (возраст от 24 до 72 лет) и 12 мужчин (возраст от 21 до 47 лет). Для взятия крови использовали пластиковые пробирки BD Vacutainer объемом 10 мл с гепарином лития (фирма “Becton Dickinson”, США). Непараметрический *U*-критерий Манна–Уитни продемонстрировал отсутствие статистически существенных возрастных различий между женщинами и мужчинами при средних, равных 40.9 ± 3.1 и 33.6 ± 2.5 лет ($p = 0.155$) соответственно.

Перед венопункцией все доноры-добровольцы подписывали добровольное информированное согласие и заполняли “Персональный медицинский опросник” для получения сведений по профессиональной деятельности, осуществленным медицинским рентгеновским процедурам, перенесенным инфекционным болезням и отношению обследованных лиц к курению. Некоторые данные, выявленные с помощью этого анкетирования, ранее представлены в статье [5].

Все проведенные процедуры соответствовали этическим стандартам институционального и национального комитета по исследовательской этике, Хельсинкской декларации 1964 года, ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. Осуществление этой работы было одобрено этическим комитетом при ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России (протокол № 41 от 15 февраля 2021 г.).

После получения из цельной крови лейкоцитарной пленки в результате самоосаждения эритроцитов ее с примерно 1 мл плазмы использовали для постановки культур лимфоцитов. Соответствующая методика представлена в статье [7]. Процедура приготовления препаратов хромосом описана в работе [5]. Для 24-х цветного mFISH-окрашивания использовали ДНК-зонды 24XCyte (фирма “MetaSystems”, Германия) и производили его в соответствии с фирменной инструкцией (контроткраска — DAPI). Собственно цитогенетическое исследование осуществляли с помощью системы “Метафер 4” (фирма “MetaSystems”, Германия) при анализе метафаз

с 45–46 хромосомами. Для описания транслокаций и других цитогенетических перестроек использовалась номенклатура, приведенная в рекомендациях [8].

Статистическую обработку данных (методы сравнения по критериям Уилкоксона с попарно связанными вариантами и *U*-критерий Манна–Уитни, регрессионный анализ) выполнили с использованием пакета программ Statistica 6. При уровнях значимости $p < 0.05$ различия считали статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В табл. 1 представлены результаты цитогенетического mFISH-исследования культур лимфоцитов периферической крови указанной группы относительно здоровых доноров–добровольцев. В нее внесены сведения об их поле и возрасте, количество проанализированных метафаз и клеток с транслокациями. Сведения об обнаруженных перестройках хромосом приведены не только в виде средних значений, но и с подробным описанием кариотипа каждой аберрантной клетки.

Основную массу FISH-выявляемых хромосомных аберраций составляли реципрокные транслокации с частотой (на 100 клеток) 0.758 ± 0.118 , что значимо в 5.9 раза выше частот (на 100 клеток) всех нестабильных аберраций (дицентрики, центрическое кольцо, ацентрики): 0.128 ± 0.036 ($p = 0.000038$, критерий Уилкоксона с попарно связанными вариантами). Инсерций и инверсий было крайне мало: 0.008 ± 0.008 и 0.009 ± 0.009 соответственно.

Средние частоты зафиксированных транслокаций во всех клетках составили для женщин и мужчин 0.77 ± 0.13 и 0.74 ± 0.23 соответственно, демонстрируя отсутствие статистически значимых половых различий ($p = 0.612$, *U*-критерий Манна–Уитни).

В статье [5] в отдельной таблице приведены данные, взятые из “Персональных медицинских опросников” и касающиеся отношения к курению, перенесенным инфекционным заболеваниям и выполненным медицинским диагностическим процедурам. Эта информация использована и в настоящей работе.

Зарегистрированные с помощью мультицветного FISH-метода средние частоты транслокаций у никогда не куривших (21 донор),

куривших ранее за 2.5–10 лет до исследования (7 доноров) и у курящих на момент обследования (4 донора) равнялись соответственно 0.67 ± 0.11 , 0.45 ± 0.16 , 0.90 ± 0.39 , статистически значимо не отличаясь друг от друга: $p = 0.277$ – 0.824 . Не было различий по указанному цитогенетическому показателю и между донорами, переболевшими и не болевшими новой коронавирусной инфекцией COVID-19 (20 и 12 доноров соответственно): 0.77 ± 0.13 и 0.46 ± 0.11 при $p = 0.212$.

В выбранной группе из 32 доноров–добровольцев только четыре человека никогда не подвергались никаким диагностическим рентгенологическим процедурам. Шесть человек проходили только через соответствующее стоматологическое обследование. В этих двух подгруппах средние частоты наблюдаемых транслокаций равнялись 0.56 ± 0.26 и 0.43 ± 0.22 при $p = 0.517$, что и позволило объединить полученные при их обследовании данные.

Остальные вовлеченные доноры подверглись следующим рентгенодиагностическим исследованиям: (1) только ежегодная флюорография при диспансеризации (9 человек); (2) местное облучение разных индивидуумов при маммографии, разовой флюорографии, компьютерной томографии почки или головы, обследовании носа, грудной клетки или легких (10 человек); (3) ежегодная флюорография в сочетании с другими разовыми радиологическими процедурами (3 человека). В подгруппах (1) и (2) средние частоты транслокаций, зарегистрированных с помощью многоцветного FISH-метода, были равны 1.13 ± 0.30 и 0.77 ± 0.17 (на 100 клеток) соответственно и статистически значимо не отличались друг от друга ($p = 0.348$).

Таким образом, в категорию доноров с отсутствием диагностического облучения или со стоматологическим обследованием вошли 10 человек, а в группу с другими местными радиационным воздействиями – 22 донора. Наблюдаемые в этих случаях средние частоты транслокаций равнялись 0.48 ± 0.16 и 0.88 ± 0.15 с отсутствием статистически значимого различия между ними: $p = 0.064$, хотя об определенной тенденции можно и говорить.

Таблица 1. Результаты цитогенетического mFISH-анализа культур лимфоцитов периферической крови относительно здоровых доноров-добровольцев

Table 1. The results of cytogenetic mFISH analysis of peripheral blood lymphocyte cultures from relatively healthy volunteer donors

№ п/п	Ф.И.О.	Пол	Возраст, лет	Номер кариотипа	Кариотипы aberrантных клеток	Частота aberrаций на 100 клеток						
						TPACh-локусы	Несцепленные	Несцепленные	Локусные	Локусные	Локусные	
1	А.Г.А.	Ж	47	284	2 46, XX, t(10;14)(q22; q12) 46, XX, t(7;15)(p13; q11.2)	0.70	0	0	0	0	0	
2	Ж.А.С.	М	21	250	1 46, XY, t(13;16)(q12; q24)	0.40	0	0	0	0	0	
3	К.И.В.	Ж	38	272	1 46, XX, chtb(2)(q34) 46, XX, cr(17) 46, XX, t(7;14)(p15; q12)	0.37	0	0	0	0	0.37	
4	М.Б.И.	М	26	241	3 46, XY, t(6;11)(q24; q23) 46, XY, t(8;14)(q24; q11.2) 46, XY, t(3;14)(q21; q24)	1.24	0	0	0	0	0	
5	Б.В.А.	М	28	282	4 46, XY, del(4)(q21) 46, XY, t(6;6)(p22; q25) 46, XY, t(1;6;13)(q21; p25; q21) 46, XY, t(7;14)(q32; q12) 46, XY, t(X;4;10)(q21q26; p12q31; p12; q21), chtb(X)(q26, t(1;8;2))(p32; q24; q21), t(3;16)(p21; q21)	2.84	0	0	0	0	0.32	0.32
6	Б.Т.М.	Ж	33	359	2 46, XX, chtb(1)(p21) 46, XX, ins(1;3)(q25; p12p26) 46, XX, t(1;2)(q41; q31)	0.56	0.28	0	0	0	0	0.28
7	З.А.Ю.	М	45	356	3 46, XY, t(6;12)(q21; p12) 46, XY, t(3;12)(p21; q24.3) 46, XY, del(16)(p11.2) 45, Y, t(9;13)(q22;?), del(9)(q22), ace(13)	0.84	0	0	0	0	0.28	0.56
8	К.М.Г.	Ж	60	322	5 46, XX, t(3;12)(p13; p12) 46, XX, t(2;6)(p13; p21) 46, XX, t(1;2)(p31; q37) 46, XX, t(4;13)(q21; q34) 46, XX, t(1;10)(p34; p11.2), t(2;17)(q31; q21)	1.86	0	0	0	0	0	0
9	К.С.В.	Ж	27	219	1 46, XX, t(2;14)(q33; q21)	0.46	0	0	0	0	0	
10	К.Г.В.	Ж	34	377	1 46, XX, chrb(3)(p12); 46, XX, chrb(12)(p11.2); 45, XY, dic(6;10)(p21; q22), t(6;13)(p21; q31), chtb(6;10;13)(?; q22; q31) x2	0.27	0	0	0	0	0.53	0
11	К-В.С.В.	М	29	333	0 46, XY, del(6)(q13)	0	0	0	0	0	0.30	0

Таблица 1. Продолжение
Table 1. Continuation of the table

№ п/п	Ф.И.О.	Пол	Возраст, лет	Кариотипы aberrантных клеток	Частота aberrаций на 100 клеток							
					нормальные мутаберрантные клетки	нормальные и аберрантные клетки	нормальные и аберрантные клетки	нормальные и аберрантные клетки	нормальные и аберрантные клетки	нормальные и аберрантные клетки		
12	Л.Е.Е.	Ж	31	473	0	0	0	0	0	0		
13	Н.В.А.	Ж	47	413	7	46, XX, t(2;4;6)(q37; p16; q21) 46, XX, t(3;20)(p21; q12) 46, XX, t(1;13)(p36; q12) 46, XX, t(2;17)(q37; q21) 46, XX, t(2;4)(p21; q25) 46, XX, t(5;7)(q14; q36) 46, XX, chrb(1)(q25) 46, XX, t(7;14)(q36; q11.2)	1.82	0	0	0	0.24	0
14	Н.О.В.	Ж	34	227	2	46, XX, t(3;17)(q26; q21) 46, XX, t(7;10)(q22; q24) 46, XX, chtb(3)(q22)	0.88	0	0	0	0	
15	О.А.С.	М	47	323	0	46, XY, del(9)(q13) 46, XY, chrb(9)(p13)	0	0	0	0	0.43	
16	Р.А.А.	Ж	24	413	0	46, XX, chr(X)(p11.2) 45, XX, dic(4;5)(q34; q23), ace(4;5)(q34; q23) 46, XX, del(9)(q13)	0	0	0	0	0	
17	Б.Н.И.	Ж	72	264	3	46, XX, t(4;7)(q31; q22) 46, XX, t(1;9)(q42; q22) 46, XX, t(1;14)(q43; q24)	1.14	0	0	0	0.24	
18	Б.Г.П.	Ж	68	219	1	46, XX, t(7;14)(p13; q11.2)	0.46	0	0	0	0	
19	У.Д.Ю.	Ж	27	295	1	46, XX, t(6;11;17;20)(q22; q13; q12; q11.2)	0.68	0	0	0	0	
20	Г.А.А.	М	39	302	1	46, XY, t(1;15)(q31; q24)	0.33	0	0	0	0	
21	Г.И.А.	Ж	38	338	4	46, XX, t(6;8)(q14; q21) 46, XX, t(1;2;6;10;17)(q21; p21; p13; q25)46, XX, t(2;5)(q37; q13) 46, XX, t(9;12)(q21; q13)	1.63	0	0	0	0	
22	С.Н.В.	Ж	51	240	1	46, X, t(X;6)(q26; q12)	0.42	0	0	0	0	
23	С.Ю.Б.	Ж	39	402	1	46, XX, t(7;14)(q36; q21)	0.25	0	0	0	0	
24	Ф.Ю.А.	М	36	318	2	46, XY, t(7;14)(p15; q12) 46, XY, t(7;14)(q36; q12)	0.63	0	0	0	0	

Таблица 1. Окончание
Table 1. End

№	Ф.И.О.	Пол	Возраст, лет	Население, место нахождения	Кариотипы aberrантных клеток	Частота aberrаций на 100 клеток					
						нормин	инверсии	инверсии и делеции	инверсии и делеции и хромосомные фрагменты	нормин	
25	П.Е.В.1	Ж	29	390	46, XX, t(2;14)(q37; q24) 46, XX, t(1;4)(p21;33) 46, XX, t(1;2)(p36;1; p21) 46, XX, inv(1)(q12; p32), t(6;18)(p12; q12) 46, X, chrb(X) (q21) 46, XX, del(7)(q11.2)	1.03	0	0.26	0	0	0.26
26	Б.В.В.	М	30	400	46, XY, t(10;12)(q26; q13) 46, XY, t(13;16)(q12; q22) 46, XY, t(8;9)(q13; q21) 46, XY, chrb(5)(p13)	0.75	0	0	0	0.25	0
27	Е.В.Ю.	М	29	98	0	0	0	0	0	0	0
28	Ж.А.М.	М	28	331	46, XY, t(19;22)(p13; q13) 46, XY, t(2;11)(q37; q13)	0.60	0	0	0	0	0
29	И.С.М.	Ж	24	277	1	46, XX, t(7;14)(q36; q11.2)	0.36	0	0	0	0
30	К.А.М.	М	45	372	46, XY, t(2;11)(p13; q23; q21), t(3;5)(q21; q31), t(9;16)(q34; q23), t(17;18)(q25; q21) 46, XY, t(1;22)(q32; q13) 46, XY, chrb(8)(q21) 46, XY, del(7)(p13)	1.48	0	0	0	0.27	0.27
31	П.Г.В.	Ж	38	391	45, XX, t(9;12;14;18)(p13; p11.2; q24; p11) del(9)(p13) dic(11;14)(p11.2; q24) 46, XX, t(6;12)(q13; q15) 46, X, t(X;8)(p21; q22) 46, XX, t(1;12)(q31; q21) 46, XX, dic(2;7)(q32; p22), chrb(2;7)(q32; p22) 46, XX, t(5;6)(q12; p21) 46, XX, t(7;14)(q36; q11.2)	1.79	0	0	0.51	0	0.26
32	П.Е.В.2	Ж	53	397	45, X, del(1;2)(p11.2) 46, XX, t(7;15)(q32; q24) 46, XX, chrb(1)(q31) 46, XX, t(X;7)(q24; p13) 46, XX, t(2;12)(q32; q24.1)	0.76	0	0	0	0.25	0.25

Примечание. т — транслокация; dic — дипентрик; сг — центрическое кольцо; асе — ацентрическое кольцо; ins — инсерция; del — делеция; chrb — хромосомный фрагмент; chrb — хроматидный фрагмент.

ОБСУЖДЕНИЕ

Как указывалось в статье [5], при использовании трехцветного FISH-окрашивания в культурах лимфоцитов периферической крови контрольных доноров была обнаружена метафаза с обменом, как бы “по кругу”, дистальными участками между тремя хромосомами. При мультицветном FISH-окрашивании наряду с одиночными (простыми) транслокациями при таком варианте окраски аналогичные обмены дистальными участками, как бы “по кругу”, были обнаружены между тремя, четырьмя или пятью разными хромосомами у шести доноров: у Б.В.А.— между 1, 6, 13 хромосомами; у Н.В.А.— между 2, 4 и 6 хромосомами; у К.А.М.— между 2, 11 и 15 хромосомами; у У.Д.Ю.— между 6, 11, 17 и 20 хромосомами; у П.Т.В.— между 9, 12, 14 и 18 хромосомами; у Г.И.А.— между 1, 2, 6, 10 и 17 хромосомами. Так как было предложено считать, что данный вид перестроек между тремя хромосомами соответствует 1.5 транслокациям, то при вовлеченности в аналогичный процесс четырех или пяти хромосом после перевода в простые транслокации их сумма будет равна 2 или 2.5. Именно для перестроек такого типа нами предлагается термин “синхронные” транслокации. Правда, возникает вопрос, как совместить такие наборы транслокаций с представлением об их спонтанном уровне. Подчеркнем, что речь идет именно о спонтанности процесса в контрольной популяции.

После мультицветного FISH-окрашивания у донора Н.О.А. была обнаружена недоступная для цитогенетического анализа мультиаберрантная клетка (МАК). У доноров Б.В.А. и К.А.М., у которых по одной МАК наблюдалось при трёхцветном FISH-окрашивании [5], после применения mFISH-метода в одной из метафаз в культуре лимфоцитов каждого суммарно после соответствующего перевода было определено 4.5 простых транслокаций. Данные клетки также отнесли к МАК. К этому же классу можно причислить и метафазу с двумя синхронными транслокациями и дицентриком в культуре лимфоцитов донора П.Т.В. Также у еще двух доноров — У.Д.Ю. и Г.И.А.— при той же окраске наблюдались метафазы, содержащие суммарно 2 или 2.5 синхронные транслокации соответственно. В принципе, не ясно, можно ли считать эти образования относящимися к истинным МАК или для них больше подходит промежуточное определение “сильноаберрантные” клетки.

Как известно (см. [5]), в условиях отсутствия действия α -излучающих радионуклидов проис-

хождение МАК остается не ясным, как, например, у обследованного нами донора К.А.М. (мужчина), который никогда не курил, не болел новой коронавирусной инфекцией COVID-19, и единственным видом медицинского облучения, которому он подвергался,— это рентгенологическое стоматологическое обследование свыше 1 года назад. Донор Б.В.А. (мужчина) раньше курил, в течение последних 6 месяцев у него было проведено стоматологическое рентгеновское обследование, и он ежегодно подвергался флюорографии. Донор П.Т.В. (женщина) курит в настоящее время (1.5 пачки в день), а также за 3 года, 2 года и в последние 6 месяцев до получения материала имела рентгенологические диагностические процедуры с облучением легких, носа и зубов. Несмотря на явную “ненормальность” и неясность происхождения, все эти проанализированные МАК не были исключены из дальнейшего анализа полученных общих данных.

С другими упомянутыми выше донорами — Г.И.А. и У.Д.Ю. (женщины) и Б.В.А. (мужчина) дело обстоит следующим образом. Г.И.А. никогда не курила, в отличие от У.Д.Ю., курившей в течение 7.5 лет и сейчас отказавшейся от этой привычки. Кроме того, Г.И.А. были сделаны флюорография органов грудной клетки и рентгенологическое стоматологическое обследование соответственно за полгода и за 6–12 месяцев до взятия крови. У.Д.Ю. болела COVID-19 и ОРВИ, и ей производились компьютерная томография головы и рентген шеи за три месяца и рентгенологическое стоматологическое обследование за 6–12 месяцев до цитогенетического анализа. Б.В.А. раньше курил, в течение последних 6 месяцев подвергся рентгеновскому стоматологическому обследованию и ежегодно проходил флюорографию. Но аналогичные процедуры в разном объёме были осуществлены и у некоторых других доноров без последующего выявления МАК (Б.Г.П., Г.А.А., С.Ю.Б., Ф.Ю.А.). Поэтому источник наличия у них сильноаберрантных клеток оказывается не установленным. Вследствие этого, не считая их полноценными МАК, содержащиеся в них синхронные транслокации были также переведены в простые и включены в дальнейший анализ, предположив, что ихявление обусловлено фоновым воздействием в широком смысле данных слов.

При сравнении цитогенетических анализов культур лимфоцитов периферической крови контрольной группы доноров-добровольцев при использовании мультицветного (настоящая статья) и трехцветного (статья [5]) FISH-методов

необходимо констатировать схожесть полученных результатов. В обоих случаях не обнаружилось влияние следующих факторов на регистрируемые уровни транслокаций:

- стоматологические рентгенологические исследования;
- другие местные диагностические радиационные воздействия, включая ежегодную флюорографию легких при диспансеризации;
- заболевание новой коронавирусной инфекцией COVID-19;
- курение.

Правда, как и в статье [5], надо констатировать, что в обследованной группе доноров было очень мало курильщиков. По-видимому, поэтому и возникло расхождение с данными большинства научных источников об увеличении числа транслокаций при злостном (именно злостном) курении (см. наш обзор [9]).

Регрессионный анализ с использованием метода наименьших квадратов позволил получить ниже приведенное уравнение возрастной зависимости частоты транслокаций при использовании для их регистрации mFISH-метода. Единственно надо отметить, что, учитывая, что частота транслокаций у донора Б.А. значительно отклонялась от показателей основной группы, было принято решение об исключении его данных из этого анализа.

$$Y_A = (0.072 \pm 0.306) + (0.016 \pm 0.008) \times A,$$

где Y_A — частота транслокаций на 100 клеток, A — возраст (годы) при $r = 0.367$ и $p = 0.042$, что указывает на статистическую значимость этой зависимости. Соответствующий коэффициент детерминации $R^2 = 0.135$, т.е. возраст объясняет 13.5% изменчивости частот транслокаций.

График этой зависимости, описываемой указанным уравнением, представлен на рис. 1. На нем, в том числе, приведены 95%-доверительные интервалы для самой линии регрессии

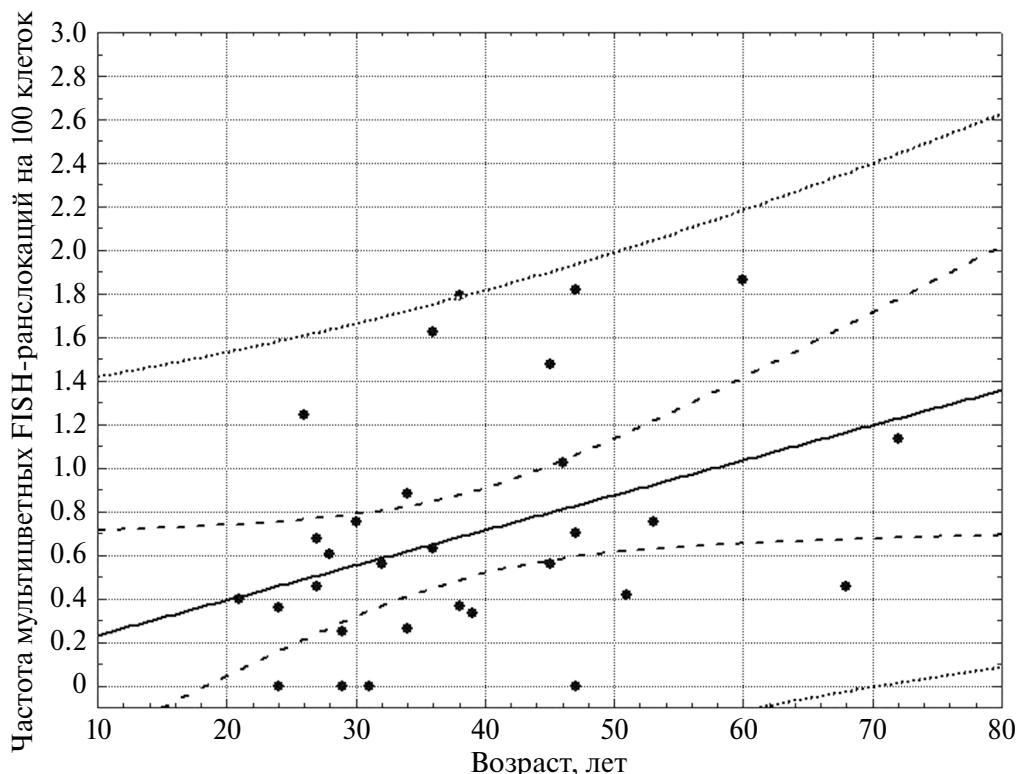


Рис. 1. График возрастной зависимости (сплошная линия) с 95%-доверительными интервалами (для линии регрессии — пунктир, для индивидуальных значений — точки) частот FISH-регистрируемых транслокаций у относительно здоровых доноров при использовании мультицветного FISH-окрашивания хромосом

Fig. 1. Graph of age dependence (solid line) with 95% confidence intervals (for the regression line — dotted line, for individual values — dots) of the frequencies of FISH-registered translocations in relatively healthy donors using multi-color FISH staining of chromosomes

и для индивидуальных значений. Выход наблюдаемых частот транслокаций у исследуемых людей за верхнюю границу последних будет означать значительно более высокую частоту наблюдаемых повреждений хромосом, чем в контроле.

Таким образом, если использовать шкалу Чертока [10], то наблюдается корреляционная связь умеренной силы ($0.3 < |r| < 0.5$) между контрольными уровнями транслокаций, зарегистрированных с помощью мульти(24-х)цветного FISH-метода, и возрастом доноров в диапазоне от 21 до 72 лет.

Регрессионную зависимость частоты обнаруженных транслокаций в культурах лимфоцитов периферической крови от возраста наблюдали и в нашем предыдущем исследовании [5] на материале почти той же группы доноров-добровольцев (на три человека больше) с использованием трехцветной FISH-методики, что согласуется с данными преимущественного одноцветного FISH-окрашивания, приведенными в международной мета-аналитической статье [4].

Сравнение у одних и тех же доноров частот транслокаций в геном-эквивалентном числе клеток по результатам трехцветного FISH-окрашивания (статья [5]) с их частотами, наблюдаемыми при использовании мультицветного FISH-метода, было осуществлено с помощью непараметрического критерия Уилкоксона для связанных выборок и показало отсутствие значимого различия между этими показателями ($p = 0.318$). При этом соответствующие средние частоты транслокаций на 100 клеток составили 0.64 ± 0.09 и 0.76 ± 0.12 .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе с помощью мульти(24-х)цветного FISH-метода был осуществлен цитогенетический анализ культур лимфоцитов периферической крови контрольной группы, состоявшей из 32 доноров-добровольцев, которые входили в контингент из 35 человек, подвергшийся обследованию с использованием трехцветного FISH-окрашивания [5]. В обоих случаях основную массу FISH-регистрируемых аберраций хромосом составили реципрокные транслокации, частота которых значительно превышала уровень всех нестабильных аберраций. Инсерции и инверсии были крайне редки. Количество наблюдавшихся перестроек было одинаково у мужчин и женщин. Различные виды медицинского диагностического радиационного воздействия, заболевание новой коронавирусной инфекцией

COVID-19 и курение также не влияли на рассматриваемый цитогенетический показатель. При этом была установлена значимая регрессионная зависимость уровня транслокаций от возраста доноров-добровольцев. Сравнение реальных частот транслокаций при mFISH-окрашивании и частот транслокаций в геном-эквивалентных клетках при трехцветном FISH-окрашивании показало отсутствие статистически значимых различий между ними.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена без целевого финансирования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation Emergencies. Vienna: IAEA, 2011. 240 p.
2. Ломоносова Е.Е., Нугис В.Ю., Козлова М.Г., Никитина В.А., Галстян И.А., Снигирёва Г.П. Трехцветный FISH-метод: сравнение ретроспективных цитогенетических дозовых оценок у разных пациентов, подвергшихся острому аварийному облучению. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2023; 63(3):240–249.
[Lomonosova E.E., Nugis V. Yu., Kozlova M.G., Nikitina V.A., Galstyan I.A., Snigiryova G.P. Three-color FISH method: a comparison of retrospective cytogenetic dose estimations in different patients undergoing acute emergency irradiation. *Radiation Biology. Radioecology*. 2023; 63(3):240–249. (In Russ.)].
<https://doi.org/10.31857/S0869803123030104>
3. Нугис В.Ю., Снигирёва Г.П., Ломоносова Е.Е., Козлова М.Г., Никитина В.А. Трехцветный FISH-метод: кривые доза-эффект для транслокаций в культурах лимфоцитов периферической крови после гамма-облучения *in vitro*. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2020; 65(5):12–20.
[Nugis V. Yu., Snigiryova G.P., Lomonosova E.E., Kozlova M.G., Nikitina V.A. Three-color FISH-method: dose-effect curves for translocations in peripheral blood lymphocyte cultures after gamma-irradiation *in vitro*. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2020; 65(5):12–20. (In Russ.)].
<https://doi.org/10.12737/1024-6177-2020-65-5-12-20>
4. Sigurdson A.J., Ha M., Hauptmann M., Bhattia P., Sram R.J., Beskid O., et al. International study

- of factors affecting human chromosome translocations. *Mutat. Res.* 2008; 652(2):112–121.
https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2008.01.005
5. Ломоносова Е.Е., Нугис В.Ю., Козлова М.Г., Никитина В.А. Контрольные уровни транслокаций в культурах лимфоцитов периферической крови людей, определенные с помощью трехцветного FISH-окрашивания. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2024; 64(6):585–597.
[*Lomonosova E.E., Nugis V.Yu., Kozlova M.G., Nikitina V.A. Control levels of tranlocations in human peripheral blood lymphocyte cultures determined using three-color FISH-staining. Radiation Biology. Radioecology.* 2024; 64(6):585–597. (In Russ.)].
https://doi.org/10.31857/S0869803124060031
6. Sotnik N.V., Osovets S.V., Scherthan H., Azizova T.V. mFISH analysis of chromosome aberrations in workers occupationally exposed to mixed radiation. *Radiat. Environ. Biophys.* 2014; 53(2):347–354.
https://doi.org/10.1007/s00411-014-0536-7
7. Нугис В.Ю., Козлова М.Г. Цитогенетические исследования в двух ситуациях обнаружения неконтролируемых источников ионизирующего излу- чения. *Медицинская радиология и радиационная безопасность.* 2015; 60(2):37–46.
8. ISCN (2013): An International System for Human Cytogenetic Nomenclature, L.G. Shaffer, J. McGowan-jordan, M. Schmid (eds). Basel: S. Karger, 2013. 149 p.
9. Ломоносова Е.Е., Нугис В.Ю., Никитина В.А., Козлова М.Г. Контрольные уровни FISH-ре- гистрируемых транслокаций: обзор литературы. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2022; 62(4):399–407.
[*Lomonosova E.E., Nugis V. Yu., Nikitina V.A., Kozlova M.G. Control levels of Fish-registered translocations: literature review. Radiation Biology. Radioecology.* 2022; 62(4):399–407. (In Russ.)].
https://doi.org/10.31857/S0869803122040075
10. Гостенина В.И., Карапдин К.С. Особенности применения корреляционного анализа в социологических исследованиях. *Экономика. Социология. Право.* 2017; 8(4):73–81.
[*Gostenina V.I., Karapdin K.S. Peculiarities of the use of correlation analysis in sociological research. Economics. Sociology. Law.* 2017; 8(4):73–81. (In Russ.)].
<http://www.profit-brgu.ru>

Control Levels of Translocations in Human Peripheral Blood Lymphocyte Cultures Determined by Multicolor Fish Staining

V. Yu. Nugis*, V. A. Nikitina, E. E. Lomonosova, M. G. Kozlova

*State Research Center — Burnasyan Federal Medical Biophysical Center
of Federal medical Biological Agency, Moscow, Russia*

**e-mail: nugisyu@list.ru*

Introduction. In retrospective dose assessment using multicolor FISH staining, adequate dose assessment requires information on the average population levels of translocations in the control. Materials and Methods. Using the multi(24) color FISH method, chromosome aberrations were analyzed in peripheral blood lymphocyte cultures from 32 relatively healthy volunteer donors aged 21 to 72 years. Results. From 98 to 473 metaphases were analyzed in individual donors. The main quantity of FISH-registered chromosomal aberrations were reciprocal translocations with a frequency (per 100 cells) of 0.758 ± 0.118 , which was significantly 5.9 times higher than the level of all unstable aberrations. The average frequencies of recorded translocations were 0.77 ± 0.13 and 0.74 ± 0.23 for women and men, respectively. Conclusion. In the control group, the observed frequencies of translocations in peripheral blood lymphocyte cultures did not have gender differences. Also, no significant effect of various types of medical diagnostic radiation, COVID-19 disease, and smoking on this cytogenetic indicator was found. A moderate correlation was observed between the frequencies of FISH translocations and the age of the donors.

Keywords: peripheral blood lymphocyte culture, control group, multicolor FISH method, translocations, retrospective dose assessment

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Нугис Владимир Юрьевич, OCID:
<https://orcid.org/0000-0001-7396-0246>, Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна, Москва, Россия, nugisvju@list.ru

Nugis Vladimir Yurievich, OCID:
<https://orcid.org/0000-0001-7396-0246> (State Research Center — Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal medical Biological Agency, Moscow, Russia, e-mail: nugisvju@list.ru)

Никитина Виктория Андреевна, OCID:
<https://orcid.org/0000-0002-3150-7686>, Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна, Москва, Россия, e-mail: nikitinava@yandex.ru

Nikitina Victoria Andreevna, OCID:
<https://orcid.org/0000-0002-3150-7686>, State Research Center — Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal medical Biological Agency, Moscow, Russia, e-mail: nikitinava@yandex.ru

Ломоносова Елена Евгеньевна, OCID:
<https://orcid.org/0000-0003-3739-4261>, Государст-

венный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна, Москва, Россия, e-mail: mrs.lomonosova@gmail.com

Lomonosova Elena Evgenievna, OCID:
<https://orcid.org/0000-0003-3739-4261> State Research Center — Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal medical Biological Agency, Moscow, Russia, e-mail: mrs.lomonosova@gmail.com

Козлова Мария Германовна, OCID:
<https://orcid.org/0000-0001-8159-0513>, Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна, Москва, Россия, e-mail: koslovaamg@yandex.ru

Kozlova Maria Germanovna, OCID:
<https://orcid.org/0000-0001-8159-0513> (State Research Center — Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal medical Biological Agency, Moscow, Russia, e-mail: koslovaamg@yandex.ru)

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы внесли эквивалентный вклад в подготовку публикации.