

УДК 57.042; 576.385

РОЛЬ МИКРОЯДЕР В ЭЛИМИНАЦИИ ХРОМАТИНА

© 2024 г. Ю. Р. Ахмадуллина^{1,2,*}, П. О. Хоменко¹

¹Уральский научно-практический центр радиационной медицины
Федерального медико-биологического агентства

ул. Воровского, 68А, Челябинск, 454141 Россия

²Челябинский государственный университет

ул. Братьев Кашириных, 129, Челябинск, 454001 Россия

*E-mail: akhmadullina.yul@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.10.2023 г.

После доработки 22.02.2024 г.

Принята в печать 03.08.2024 г.

Микроядра представляют собой внеядерные хроматиновые компартменты, отделенные от основного ядра и окруженные собственной ядерной оболочкой. Долгое время считалось, что микроядра являются конечным этапом патологических процессов в клетке, и поэтому они использовались только в качестве биомаркеров влияния генотоксических факторов, а также нестабильности генома при различных заболеваниях. В настоящее время показано, что микроядра могут участвовать в процессе жизнедеятельности клеток, оказывать воздействие на ядерный геном и приводить к изменениям физиологии клеток и тканей. Известно, что образование микроядер является одним из этапов избирательной элиминации хроматина в онтогенезе некоторых видов растений и животных. При этом на уровне генома происходит узнавание участков, которые подлежат маркировке и удалению из ядра клеток; часто этот процесс сопровождается модификациями с образованием гетерохроматина, изменением конденсации хромосом и их положения в ядре. Процессы, наблюдаемые при избирательной и неизбирательной элиминации хроматина, во многом схожи. Поскольку роль микроядер в функционировании клеток еще плохо изучена, а состав микроядер и способы элиминации хроматина могут влиять на их роль в развитии патогенеза, это подчеркивает важность дополнительных исследований в этой области.

DOI: 10.31857/S0044459624040026, EDN: UTXEZI

Микроядра представляют собой внеядерные хроматиновые компартменты, отделенные от основного ядра и окруженные собственной ядерной оболочкой. Согласно современным представлениям, микроядра являются следствием элиминации хроматина из ядра клетки посредством различных механизмов.

Длительное использование микроядерного теста в целях токсикологического скрининга закрепило за ними статус биомаркеров генотоксического действия факторов различной природы. На основании убеждения о том, что ядро клетки посредством микроядер навсегда теряет хроматин, считалось, что образование микроядер, как правило, приводит к гибели клетки. Кроме гибели клетки микроядра часто связывают с такими неблагоприятными явлениями, как анеуплоидия, хромосомные аберрации, нарушения

кариогенеза, или с общим термином “нестабильность генома” (Hayashi, 2006; Fenech et al., 2011).

В последнее время эта парадигма постепенно пересматривается, поскольку становится очевидным, что микроядра не всегда являются конечным этапом патологических изменений, а могут быть активными участниками процессов изменения ядерного генома, например, в злокачественных клетках. Кроме того, микроядра образуются спонтанно, без очевидного влияния генотоксических и цитотоксических веществ, и, более того, являются биомаркерами клеточного старения, т.е. их образование является опосредованным в результате возраст-зависимых изменений хроматина в ядре клетки (Guo et al., 2019; Vao et al., 2023).

Известно, что у некоторых организмов образование микроядер связано с процессом

избирательной (запрограммированной) элиминации хромосомных фрагментов или целых хромосом, что необходимо для сохранения правильной работы генетического аппарата в ходе онтогенеза (Dedukh, Krasikova, 2022). У многоклеточных организмов процесс избирательной элиминации хроматина происходит на ранних стадиях развития у предшественников соматических клеток, а у простейших — во время формирования макронуклеуса. Под воздействием же генотоксических и цитотоксических факторов на клетку происходят комплексные изменения, которые включают повреждение ДНК, изменения структуры хроматина, дисфункцию белков, обеспечивающих поддержание функционирования хроматина, репарационные процессы и деление клеток. Эти изменения также приводят к элиминации хроматина, но это уже не связано с некой онтогенетической программой и называется неизбирательной (незапрограммированной) элиминацией хроматина. В результате такой элиминации хроматина также образуются микроядра, которые не всегда деградируют, а сохраняются в клетке и прямо или опосредованно участвуют в различных патологических процессах (Кисурина-Евгеньева и др., 2016).

Избирательная и неизбирательная элиминация хроматина изучаются в контексте различных научных задач и объектов исследования. Эти процессы, хотя направлены на разные цели, могут обнаруживать схожие черты, обусловленные общими биологическими закономерностями, такими как пластичность и консервативность генома. В исследованиях молекулярных механизмов избирательной элиминации хроматина накоплен значительный материал, раскрывающий механизмы модификации ядерного генома. Этот процесс направлен на удаление последовательностей ДНК, которые больше не требуются для нормального функционирования клеток и тканей, таких как некоторые гены, тандемные повторы, мобильные генетические элементы, целые хромосомы и даже геномы. В то же время молекулярные механизмы неизбирательной элиминации хроматина менее изучены, накоплен обширный, но разрозненный материал. Это подчеркивает необходимость более глубокого исследования этой области.

Таким образом, одним из важных аспектов является изучение современной концепции микроядер как структур, играющих важную роль в процессе элиминации хроматина. Предмет данной статьи — проблема образования

микроядер, исследование их функциональной активности, а также закономерностей, регулирующих попадание хроматина в микроядра.

ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ ЭЛИМИНАЦИЯ ХРОМАТИНА

Важным аспектом исследования микроядер является разделение между избирательной и неизбирательной элиминацией хроматина. Избирательная элиминация хроматина связана с сохранением генетической целостности и функции клеток и тканей, в то время как неизбирательная элиминация обычно происходит в ответ на генотоксические и цитотоксические воздействия.

Подробный анализ современных представлений об избирательной элиминации хроматина систематизирован в обзоре Дедух и Красиковой (Dedukh, Krasikova, 2022). Несмотря на то, что механизмы избирательной элиминации генетического материала различны, на уровне генома происходит “понимание” того, какие участки подлежат маркировке и удалению. Например, хорошо изучено, что у инфузорий элиминация генетического материала сопровождается эпигенетической маркировкой. Большую роль при этом играют короткие некодирующие РНК, которые у класса инфузорий *Oligohymenophorea* привлекают гистоновые метилтрансферазы к участкам, которые должны быть удалены. Это приводит к образованию гетерохроматина, который вырезается белками *piggyBac*, относящимися к классу транспозаз (Mochizuki, 2010; Fang et al., 2012).

У других организмов особая роль эпигенетических модификаций и некодирующих РНК в маркировке геномных последовательностей, которые должны быть сохранены или элиминированы, изучена недостаточно. Тем не менее особенности изменения структуры хроматина, которые сопровождают запрограммированную элиминацию, описаны и у других видов. Чаще всего элиминация хроматина также связана с его гетерохроматизацией и аномальной конденсацией. Например, у *Petromyzon marinus* в элиминированных районах хромосом накапливаются гетерохроматиновые модификации (5meC, H3K9me3), а затем и в микроядрах, которые в последствии деградируют (Timoshevskiy et al., 2016).

Если говорить о механизмах избирательной элиминации целых хромосом (чаще это половые или В-хромосомы), то их удаление обычно

опосредуется изменениями в области центромеры, например, связанными с утерей белка CENH3. Это приводит к неспособности хромосомы прикрепиться к микротрубочкам веретена деления и к закономерному отставанию ее в анафазе. Так, например, происходит элиминация В-хромосомы у козлятника (*Aegilops speltoides*) (Ruban et al., 2020). Элиминация хромосом опосредуется эпигенетическими модификациями также и у бенгальских зябликов (*Lonchura striata domestica*): хромосома, ограниченная зародышевой линией перед элиминацией, накапливает различные гистоновые модификации на разных стадиях мейоза, которые приводят к нарушению работы кинетохора и центромеры. В результате элиминации образуется микроядро с признаками высокой фрагментации ДНК (Priore, Pigozzi, 2014).

У чешуекрылых насекомых элиминации предшествует гетерохроматизация (хромосомы накапливают эпигенетические маркеры, характерные для гетерохроматина, такие как H3K9me3, H4K20me3 и белки, связанные с HP1), которая происходит у них на ранних стадиях развития. Последующее удаление может происходить во время раннего развития самцов или во время сперматогенеза (Prantera, Bongiorno, 2012). Похожий механизм обнаружен также у *Sciara ocellaris*. При этом элиминация сопровождается аномальным дефосфорилированием H3S10, что приводит к неспособности отцовских хромосом к сегрегации (Greciano, Goday, 2006).

У межвидовых гибридов растений хроматин, предназначенный для элиминации, пространственно разделен в интерфазном ядре и локализуется на ядерной периферии (Gernand et al., 2006). У насекомых из р. *Sciara* элиминация сверхнормативных и отцовских половых хромосом часто происходит путем отпочкования микроядер в зародышевых клетках (Staiber, 2006). В половых клетках одна из двух отцовских X-хромосом и некоторые другие хромосомы находятся в полуконденсированном состоянии, соединяются с ядерной мембраной и выводятся из ядра в цитоплазму путем формирования почки. Авторы (Perondini, Ribeiro, 1997) на микрофотографиях, выполненных с помощью электронной микроскопии, показывают, что в элиминации хроматина активно участвует ядерная мембрана, эндоплазматическая сеть (ЭПС) с рибосомами, митохондрии, актиновые филаменты. Для процесса элиминации синтезируется новая ядерная мембрана, в которую и помещается хроматин.

ОБРАЗОВАНИЕ МИКРОЯДЕР ПРИ НЕИЗБИРАТЕЛЬНОЙ ЭЛИМИНАЦИИ ХРОМАТИНА

В литературе описаны три общие причины образования микроядер при незапрограммированной элиминации хроматина: первая связана с отставанием ацентрических фрагментов хромосом, вторая — с отставанием хромосом или хроматид с центромерой, третья — с почкованием ядра. В настоящее время активно исследуются молекулярные причины этих процессов.

Считается, что ацентрические фрагменты хромосом образуются в результате невозстановленных двунитевых разрывов ДНК при действии кластогенных факторов (например, некоторые химические соединения и ионизирующая радиация). Разрывы ДНК могут быть связаны с процессом репликации, что подтверждают исследования, которые показали, что различные нарушения факторов репликации и репарации ДНК приводят к образованию микроядер с ацентрическими фрагментами (Bartsch et al., 2017; Bailey et al., 2019; Leimbacher et al., 2019). Также показано, что ацентрические фрагменты образуются в результате разрывов полицентрических хромосом, что приводит к образованию микроядер и/или незащищенных концов хроматид. Незащищенные концы хроматид подвержены различным процессам реорганизации и могут запускать циклы “разрыв—слияние—мост” (ВФВ-циклы, Breakage-fusion-bridge cycle), которые также приводят к образованию микроядер (этот процесс рассматривается как один из механизмов хромосомной нестабильности злокачественных клеток) (Gisselsson et al., 2001; Umbreit et al., 2020).

Нормальная сегрегация хромосом обусловлена правильной конденсацией хромосом и разделением сестринских хроматид. К факторам, ответственным за отставание хромосом, можно отнести неисправные центромеры, кинетохоры, дефекты в сборке и функционировании центросом и микротрубочек. Например, при дефектах кинезин-связывающих белков KIF18A и KIF15 происходят нарушения движения и выравнивания митотических хромосом, уменьшение длины веретена деления, что в конечном счете выражается в нарушении сегрегации хромосом и образовании микроядер (Malaby et al., 2019). В другом исследовании сообщалось о повышении частоты микроядер при истощении деубиквитирующего фермента Cezanne/OTUD7B, участвующего в контроле сегрегации

хромосом путем регулирования активности анафаза-стимулирующего комплекса / циклосомы (APC/C) (Bonacci, Emanuele, 2019).

В настоящее время наиболее изученными являются вопросы функционирования веретена деления в контексте врожденного генетического заболевания – первичной микроцефалии. Первичная микроцефалия – это аутосомно-рецессивное заболевание, сопровождающееся уменьшением объема головного мозга ввиду различных мутаций в генах, ответственных за конденсацию хромосом и организацию веретена деления нейрогенных клеток (так называемые *МСПН* гены) (Faheem et al., 2015). В моделях микроцефалии показано, что клетки характеризуются преждевременной конденсацией хромосом, повышенной анеуплоидией и частотой микроядер, что является следствием нарушения молекулярных механизмов деления клеток (Pang et al., 2022).

Интересными являются результаты исследований, показывающие, что в процессе правильной сегрегации хромосом важную роль играют лизосомы. Умеренная активность лизосомальных ферментов обеспечивает правильную работу целого набора белков, участвующих в изменениях упаковки хроматина и его движения в процессе клеточного цикла, например, на уровне деградации гистона H3 или компонентов когезинового механизма (Hämälistö et al., 2020; Almacellas et al., 2021).

Исследования на культурах клеток показывают, что при формировании единого ядра из набора индивидуализированных митотических хромосом важную роль играет семейство белков VAF. Белки семейства VAF взаимодействуют с хроматином и белками внутренней оболочки ядра (LEM-домены), что способствует тому, что отдельные хромосомы окружаются ядерной оболочкой (Боголюбова, Боголюбов, 2023). Как показало исследование Самвера с соавт. (Samwer et al., 2017), димеры VAF образуют плотный слой на поверхности хроматина, который ограничивает доступ других клеточных компонентов внутрь объема хроматина. Это позволяет хроматину функционировать как единому целому и стимулирует образование единого ядра. В мутантных клетках по белку VAF наблюдается образование нескольких ядер, которые могут распознаваться как микроядра.

Также показано, что на отстающих хромосомах с высокой частотой нарушается правильная сборка ядерной оболочки (например, отсутствие ламина B) (Okamoto et al., 2011). В литературе обсуждаются гипотезы, объясняющие неполную

сборку микроядерной оболочки, например, на основе сигнальных каскадов, контролируемых Aurora B или при участии микротрубочек веретена деления, которые предположительно ингибируют рекрутирование неосновных белков ядерной оболочки (Maiato et al., 2015; Liu, Pellman, 2020), но точные механизмы пока не ясны.

Почкование интерфазных ядер с последующим образованием микроядер является плохо изученным процессом, особенно в клетках человека (Shimizu et al., 1998). Образование микроядер почкованием неоднократно предсказывалось на основании обнаружения ядерных почек или выпячиваний в цитогенетических препаратах и близкого сходства некоторых из них с микроядрами (Fenech, 2007). Известно, что таким образом образуются микроядра из ДМ-хромосом (Double minute chromosome). ДМ-хромосомы – это внехромосомные элементы, представляющие собой многократно амплифицированные копии генов (зачастую онкогенов), которые связывают с результатом геномной нестабильности (Utani et al., 2011). Во время G1-фазы деления клетки ДМ-хромосомы располагаются на периферии ядра, и при наличии разрывов или нестабильности ламины образуется почка путем выпячивания ядерной мембраны (Itoh, Shimizu, 1998). Часто такие микроядра не содержат ядерную ламину или имеют дефекты в ней, что влияет на их способность к экспрессии. Отметим, что ДМ-микроядра могут образовываться и в другие фазы митоза.

Помимо амплификации онкогенов, отпочкование хроматина может происходить в результате образования большого числа двухцепочечных разрывов, например, при воздействии ионизирующего излучения. Показано, что хроматин с двухцепочечными разрывами становится подвижным и часто перемещается на периферию ядра для репарации (Oza et al., 2009; García Fernández, Fabre, 2022). Предположительно, если репарация хроматина невозможна, он удаляется из ядра путем образования микроядер (Medvedeva et al., 2007).

Результаты исследований на дрозофиле и клетках мышей указывают на возможное воздействие белков D1, ProD и HMG1A1 на процесс ядерного почкования. Эти белки регулируют правильную организацию прицентромерных участков ДНК в хромоцентры. Аномалии в функции D1/ProD/HMG1A1 приводят к образованию микроядер посредством ядерного

почкования, сопровождаясь значительным (иногда 10-кратным) увеличением повреждений ДНК в этих микроядрах (Jagannathan et al., 2018, 2019).

Изучение механизмов образования микроядер посредством почкования интерфазного ядра является актуальной темой, поскольку часто наблюдается в стареющих клетках (Ivanov et al., 2013; Robijns et al., 2018).

РОЛЬ МИКРОЯДЕР В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ КЛЕТОК

В ряде случаев микроядра являются активными структурами, в которых могут проходить процессы репликации, репарации и транскрипции. Как показывают исследования, вероятнее всего, данные процессы зависят от интактности ядерной оболочки микроядра и наличия ядерного порового комплекса, т.е. важна возможность осуществлять ядерно-цитоплазматический транспорт (Robijns et al., 2018). Также имеется предположение, что если хромосома или ее фрагмент содержит в достаточном количестве участки связывания с ядерной ламиной (LADs) и ядерным поровым комплексом, то микроядро будет иметь нормальную ядерную оболочку (Кисурина-Евгеньева и др., 2016; Chang et al., 2022).

Клетки, содержащие микроядра, могут элиминироваться путем апоптоза, что является важным для тканей с высоким регенерационным потенциалом, поскольку предотвращает деление аберрантных клеток (Decordier et al., 2002). На делящихся культурах клеток человека при воздействии генотоксических веществ показано, что в клетках с микроядрами снижается пролиферативная активность во второй–пятой клеточной генерации. При этом клетки с микроядрами могут сохраняться в культуре несколько клеточных циклов (до 75–89%), хотя они и подвержены изменениям. В клетках с микроядрами, которые вступили в митоз, часто наблюдается слияние ядер, мультиполярный митоз или гибель клеток после митоза (по сравнению с клетками без микроядер). Включение микроядер обратно в ядро клетки наблюдается с частотой от 10 до 24% (Reimann et al., 2020, 2023). Механизмы, которые позволяют микроядрам возвращаться в ядерный геном, пока остаются недостаточно изученными. В работе Варески с соавт. (Warecki et al., 2020) показано, что в нейробластах дрозофилы запаздывающие хромосомы в телофазе могут реинтегрироваться в ядро через каналы в ядерной оболочке. Этот процесс

связан с образованием единой ядерной мембраны вокруг каждой хромосомы и зависит от работы семейств белков ESCRT-III совместно с BAF (Halfmann et al., 2019).

В настоящее время накопились доказательства того, что микроядра являются активатором нестабильности генома. В результате того, что ядерная оболочка микроядер часто собирается с нарушениями, хроматин микроядер характеризуется нарушениями репликации ДНК (Crasta et al., 2012; Liu, Pellman, 2020). Также сообщается, что в клетках человека хромосомы микроядер накапливают сниженные уровни важных факторов сборки кинетохор (MAD1, Auroga B и др.) в течение нескольких делений, что приводит к повторяющейся неправильной сегрегации этих хромосом в течение нескольких клеточных циклов (Soto et al., 2018). Одним из вариантов нестабильности генома является хромотриписис, который наблюдается при различных видах рака и врожденных заболеваниях. Современная модель хромотриписиса предполагает участие в этом процессе микроядер, в которых как раз и происходит фрагментация хроматина в процессе нарушенной репликации и лигирования фрагментов с образованием множественных перестроек в процессе негомологичной репарации (Zhang et al., 2015).

В литературе обсуждается связь микроядер с ретротранспозонной активностью. Например, в работе Шимизу с соавт. (Shimizu et al., 2019) показано, что в гибридных клетках человека и мышей микроядра, помимо амплифицированных онкогенов, содержат Alu-фрагменты. В ряде работ изучается влияние гипометилирования LINE-1 на образование центромер-положительных микроядер (Cho et al., 2015b, 2019). Это интересное направление исследований, поскольку активность транспозонов обеспечивает нестабильность генома и связана с многими онкологическими заболеваниями.

Микроядра, имеющие разрывы ядерной оболочки, могут восприниматься как “цитоплазматическая” ДНК, что приводит к их обнаружению циклической гуанозинмонофосфатной (GMP) аденозинмонофосфатной (AMP) синтазой (сGAS). Через ряд промежуточных стадий активируются врожденные иммунные реакции (ключевой белок стимулятор генов интерферонов – STING), что приводит к выработке интерферонов 1 типа (IFN) и провоспалительной продукции цитокинов, а также к усиленной экспрессии лигандов естественных клеток-киллеров и CD8+ Т-лимфоцитов (Chen et al., 2016;

Mackenzie et al., 2017; Li, Chen, 2018). По литературным данным, активация cGAS также связана с клеточной гибелью и аутофагией микроядер (Liu et al., 2022).

Также считается, что активация пути cGAS-STING через микроядра способствует клеточному старению и связанному со старением секреторному фенотипу (senescence associated secretory phenotype, SASP), что приводит к развитию хронического воспаления (Oliveira Mann, Kranzusch, 2017; Ablasser, Chen, 2019). Такие исследования показывают, что, поскольку микроядра стимулируют врожденный иммунитет, они являются ключевыми компонентами, участвующими в иницировании клеточных и генетических изменений, связанных со старением и хроническим воспалением (Fenech et al., 2019; Kirsch-Volders et al., 2020).

До сих пор остается неясным, что именно влияет на функционирование клетки с микроядрами. Почему в одних случаях при элиминации хроматина из ядра в клетке активируются механизмы гибели или аутофагии, а в других случаях становится возможным выживание клетки, хромотрипсис и стимуляция хронического воспаления. С этой точки зрения важным является изучение состава микроядер, поскольку хроматин прямо или косвенно может влиять на образование ядерного порового комплекса и взаимодействие микроядра с ядром клетки.

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА МИКРОЯДЕР ПРИ ВЛИЯНИИ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Химические вещества, обладающие генотоксическим эффектом, способны приводить к незапрограммированной элиминации хроматина. К наиболее изученным в этом отношении относятся цитостатические препараты. Цитостатики различаются по химической структуре и механизмам действия, но с точки зрения их генотоксического эффекта их можно разделить на кластогенные (циклофосфамид, карбоплатин, доксорубицин, блеомицин и митомицин) и анеугенные (винкристин и винбластин) (Sgura et al., 1997; Arsoy et al., 2009). Считается, что кластогенные цитостатики вызывают фрагментацию хроматина, а анеугенные вызывают нарушение сборки веретена деления тем, что ингибируют полимеризацию субъединиц тубулина в микротрубочках (Кисурина-Евгеньева и др., 2006).

Чтобы установить, какие хромосомы или их участки включаются в состав микроядер,

применяется метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (Fluorescence *in situ* hybridization, FISH). Для анализа могут быть использованы красители к каким-то конкретным хромосомам или для всего хромосомного набора (метод mFISH).

Для изучения особенностей образования микроядер в одной из работ (Novhannisyuan et al., 2012) проводилась флуоресцентная гибридизация *in situ* с использованием панцентромерных и хромосомоспецифических зондов для хромосом 3, 4, 6, 7, 9, 16, 17, 18 и X в лейкоцитах человека, обработанных митомицином С. Митомицин С представляет собой противоопухолевый антибиотик, применяемый в лечении злокачественных заболеваний. Согласно результатам данной работы (Novhannisyuan et al., 2012), все исследуемые хромосомы оказались вовлечены в образование микроядер. Корреляции между интерфазным положением, размером и плотностью генов изученных хромосом и их элиминацией в микроядра обнаружено не было. Тем не менее было показано, что в микроядра чаще попадали хромосомы 9 и 16 или их хромосомные фрагменты. В другой работе (Fauth et al., 2000), где сравнивался эффект митомицина и диэтилстильбэстрола (ДЭС), который раньше применялся для лечения злокачественных заболеваний половых желез, было выявлено, что митомицин вызывает деконденсацию перичентромерного гетерохроматина хромосом 1 и 9. ДЭС, в свою очередь, деконденсацию хроматина не вызывал, и в составе микроядер чаще встречали материал из хромосом 14, 19 и 21. Авторы предполагают, что гетерохроматиновый участок в составе хромосомы 9 может быть специфической мишенью для митомицина С. Другой противоопухолевый антибиотик — блеомицин, который, как и митомицин, принадлежит к группе антрациклинов, не увеличивает частоту включения 1, 9, 16-й хромосом, и частота включения фрагментов этих хромосом коррелирует с их размерами (Novhannisyuan et al., 2016).

Методом mFISH на предмет состава микроядер исследовалось не только влияние цитостатиков, но и других препаратов. Антигерпетический препарат идоксуридин обладает кластогенным эффектом и в концентрации 40 мкг/мл увеличивает число микроядер в 12 раз. В одной из работ (Fauth, Zankl, 1999) отмечается, что в клетках, обработанных идоксуридином, повышается частота микроядер, содержащих хромосомы 1 и особенно 9, по сравнению с микроядрами контрольных клеток. При этом в составе

микроядер были выявлены в основном гетерохроматиновые участки, а метафазный анализ показал низкое число разрывов в выше указанных хромосомах, но высокую степень деконденсации на хромосоме 9q12 (28–79%) и в меньшей степени на 1q12 (8–21%) (Tommerup, 1984).

Деконденсацию хромосом также могут вызывать активаторы/ингибиторы метилирования ДНК. Например, 5-азацитидин вызывает значительную деконденсацию гетерохроматиновых районов хромосом 1, 9, 15, 16 и Y, что коррелирует с увеличением образования микроядер (Guttenbach, Schmid, 1994). Другие аналоги цитидина (5-фтор-2'-дезоксцитидин, 5,6-дигидро-5-азацитидин, 6-азацитидин) также способны индуцировать образование микроядер (Stopper et al., 1995). Согласно данным работы Фаут и Шертана (Fauth, Scherthan, 1998), обработка культур лимфоцитов 5-азацитидином вызывает преимущественное исключение материала хромосом 1 (34%), 9 (32%) и 16 (20%) в микроядра. Повышенное содержание этих же хромосом в микроядрах наблюдается и при ICF-синдроме. Синдром ICF – это редкое заболевание, при котором у пациентов наблюдается недоконденсация гетерохроматиновых блоков хромосом 1, 9 и 16 и различные иммунодефицитные состояния (Stacey et al., 1995). Таким образом, нарушение конденсации гетерохроматина не только увеличивает частоту образования микроядер, но и коррелирует с частотой включения этих хромосом в их состав.

В работе Телез с соавт. (Télez et al., 2010) антигипертензивный препарат атенолол вызывал образование микроядер с преимущественным вовлечением хромосом 7, 11, 17 и X. Авторы связывают это с феноменом хрупкости хромосом. Хромосомные хрупкие сайты представляют собой участки хромосом, которые особенно чувствительны к физическому или химическому воздействию и легко ломаются. В молекулярном смысле это области хромосом, которые содержат повторяющиеся нуклеотидные последовательности (центромеры, теломеры), триплетные повторы ДНК (в гене *FMRI*), а также гетерохроматиновые области. Результаты этого исследования свидетельствуют о корреляции между хромосомной хрупкостью и содержанием в микроядрах 7-й и 11-й хромосом у пациентов.

Частоту образования микроядер может повысить не только воздействие генотоксических веществ, но и, например, недостаток фолатов в организме. Фолиевая кислота – важный витамин

группы В, участвующий в фолатном цикле, в результате которого образуется S-аденозилметионин (SAM) – ключевой донор метила для метилтрансфераз ДНК. Таким образом, фолиевая кислота имеет огромное значение для метилирования ДНК. Также фолиевая кислота является источником метильных групп, необходимых для синтеза dTMP (дезокситимидинмонофосфат) из dUMP (дезоксиуридинмонофосфат). При недостатке dTMP при репликации или репарации будет происходить избыточное включение урацила в ДНК. Существуют многочисленные исследования, показывающие связь между уровнем фолатов и образованием микроядер (Lindberg et al., 2007; Bull et al., 2012; Lu et al., 2012). Применение фолатов у лиц с сахарным диабетом 2-го типа показало достоверное снижение частоты клеток с микроядрами (Lazalde-Ramos et al., 2012). Образование микроядер при недостатке фолатов может опосредоваться нарушениями метилирования ДНК в области центромеры, что способствует деконденсации хроматина. В свою очередь, деконденсация центромерных районов приводит к неразрешенным соединениям Холидея, разрывам хромосом, транслокациям, неправильной сегрегации хромосом (Sawyer et al., 1995; Tuck-Muller et al., 2000).

Есть вещества, механизм действия которых не связан с нарушением конденсации хромосом. К таким веществам можно отнести бензол. При исследовании действия бензола и его метаболитов было отмечено влияние на хромосомы группы С и X-хромосому (Holecková et al., 2004). Эта закономерность частично подтверждается и в других работах, посвященных исследованию генотоксичности бензола. Например, в другой работе (Zhang et al., 1998) *in vitro* обработка метаболитами бензола и гидрохиноном лимфоцитов человека вызвала анеуплоидию хромосом 5 и 7. В работе Чуна с соавт. (Chung et al., 2002) методом FISH окраски 7-й и 8-й хромосом лимфоцитов, обработанных 1,2,4-бензотриолом, число анеуплоидных клеток росло с увеличением концентрации вещества, при этом хромосома 8 была более чувствительна к действию бензотриола, чем хромосома 7. Авторы предполагают, что, возможно, это связано с пространственным расположением хромосом и их восприимчивостью к эффекту нарушения правильной работы веретена деления.

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА МИКРОЯДЕР ПРИ ВЛИЯНИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Среди физических факторов, ведущих к образованию микроядер, огромное число работ посвящено действию ионизирующего излучения (ИИ).

Известно, что ИИ приводит к образованию большого числа двухцепочечных разрывов ДНК, которые связывают с образованием различных хромосомных aberrаций (ХА) (Pfeiffer et al., 2000; Iliakis et al., 2004). Тем не менее не все ХА приводят к образованию микроядер, но, несмотря на это, микроядра являются хорошим маркером радиационно-индуцированной нестабильности хромосом (Terradas et al., 2009). Количество радиационно-индуцированных микроядер коррелирует с дозой излучения и зависит от качества излучения при остром воздействии (Tewari et al., 2016). Считается, что взаимосвязь между увеличением частоты микроядер и увеличением дозы острого облучения (0–4 Гр) соответствует линейно-квадратичной модели (Lee et al., 1994; IAEA, 2011). При сравнении действия гамма- (^{137}Cs) и рентгеновского излучений в дозах от 0 до 3 Гр с шагом в 0.3 Гр было показано, что частота микроядер увеличивается с ростом дозы по линейно-квадратичной зависимости, коэффициенты которой практически совпадают для этих типов излучений (Varbu et al., 2019). По мнению большинства исследователей, в целях биологической дозиметрии использование микроядерного теста ограничено областью низких доз (до 0.1–0.2 Гр) ввиду широкой вариабельности фоновых значений частоты встречаемости клеток с микроядрами (IAEA, 2011).

Актуальным вопросом в настоящее время является радиочувствительность хроматина при воздействии малых доз или излучений с малой интенсивностью облучения (Morgan, Bair, 2013). Результаты некоторых исследований свидетельствуют о том, что длительное хроническое воздействие низких доз приводит к преимущественно анеугенным эффектам, что, скорее всего, свидетельствует об эпигенетических изменениях хроматина (Thierens et al., 2000).

При изучении состава микроядер фибробластов, индуцированных острым гамма-излучением в дозе 4 Гр, наблюдалось включение в микроядра 2-й и 7-й хромосом выше ожидаемых расчетных значений (Mukherjee et al., 1996). Авторы предположили, что это связано с наличием большого числа нетранскрибируемых

областей в этих хромосомах, которые репарируются хуже, чем транскрибируемые регионы.

В работе Балайи с соавт. (Balajee et al., 2014) анализировали состав радиационно-индуцированных микроядер методом mFISH после *in vitro* гамма-облучения в диапазоне доз 1–10 Гр. Авторы отмечают, что хромосомы, принадлежащие к группам А (1, 2, 3) и В (4, 5), обнаруживались чаще на 35–45% как в монохромосомных, так и в мультихромосомных микроядрах. Среди хромосом групп А и В материал 1-й хромосомы встречался чаще у всех доноров после облучения. Помимо этого, хромосомы 13 и 19 наблюдались в микроядрах чаще, чем ожидалось относительно содержания в этих хромосомах ДНК. Также была отмечена высокая индивидуальная изменчивость у доноров относительно частоты включения в микроядра других хромосом. Примечательно, что среди доноров сходство в хромосомном составе радиационно-индуцированных микроядер наблюдалось у доноров-мужчин, у которых наиболее часто встречались хромосомы 1, 2 и 13 после 1 Гр, 1 и 2 – после 2 Гр, 1, 2, 3, 4 и 8 – после 3 Гр, 1, 2 и 4 – после 4 Гр, 1, 2 и 3 – после 5 Гр.

Наше исследование (Ахмадуллина, 2022) микроядер в лимфоцитах облученных женщин методом mFISH показало, что наибольшее число микроядер являются монохромосомными (62.1% у облученных женщин и 79.4% в группе сравнения). При изучении качественного состава микроядер было обнаружено, что материал от хромосом попадает в них не равновероятно. Отклоняются от равновероятного попадания в микроядра в большую сторону 2-й, 16-й и X-хромосомы. Причем частота микроядер с материалом X-хромосомы в группе облученных женщин достигает 40.4%, и 47.5% – в группе сравнения. По оценкам некоторых авторов (Guttenbach et al., 1995; Leach, Jackson-Cook, 2001; Dumont et al., 2020; Giunta et al., 2021), частота микроядер с X-хромосомой может колебаться от 3 до 80%, а также зависит от пола и возраста доноров. С возрастом частота попадания в микроядра X-хромосом увеличивается. К молекулярным механизмам включения X-хромосомы в микроядро принято относить нарушение ее сегрегации в процессе клеточного деления из-за ее гетерохроматизации.

Цитогенетическое исследование, проведенное на лимфоцитах работников больниц, профессионально подвергавшихся воздействию рентгеновского и гамма-излучения в малых

дозах (средние значения для группы 11.25 мЗв за последние 10 лет), показало значительное увеличение количества центромеро-положительных микроядер у работников, подвергшихся облучению, по сравнению с группой сравнения. У женщин частота микроядер была на 40% выше, чем у мужчин (Thierens et al., 2000). При *in vitro* исследовании влияния рентгеновского излучения в дозах 20, 50 и 100 сГр на отсроченное образование числовых хромосомных aberrаций в нормальных фибробластах человека была отмечена повышенная частота анеуплоидии хромосом 1 и 4 через 240 ч культивирования (5 пассажей) после облучения в дозе 100 сГр (Cho et al., 2015a).

Интересно, что радиационно-индуцированные микроядра оказались структурно похожими на основные ядра, поскольку они содержали ядерные ламины А и С, а также были окружены сетью промежуточных филаментов (Walker et al., 1996).

Поскольку образование радиационно-индуцированных микроядер может быть связано с образованием ХА, то изучение качественных характеристик ХА может быть информативным при анализе чувствительности хромосом к разрывам и их восстановлению. В целом в литературе обсуждается два возможных варианта специфики образования радиационно-индуцированных aberrаций. Первая гипотеза предполагает стохастический характер распределения радиационно-индуцированных повреждений ДНК, т.е. случайное распределение разрывов вдоль генома. В этом случае количество точек разрыва будет пропорционально длине хромосомы, следовательно, повышается вероятность участия поврежденной хромосомы в неправильной рекомбинации. Вторая гипотеза предполагает, что разрывы хромосом могут быть связаны с так называемыми горячими точками, хрупкими сайтами в их структуре, конформационными особенностями хромосом, 3D-структурой хромосом и ядра. При изучении этого вопроса в литературе можно найти подтверждения обеим гипотезам, т.е. имеют место как вероятностные процессы, связанные с распределением в объеме квантов энергии, так и особенности самих хромосом, их состав, конформационные особенности, расположение в ядре и т.д. (Barquintero et al., 1998; Foster et al., 2013; Balajee et al., 2018; Nikitina et al., 2022).

Например, при изучении частоты aberrаций различных хромосом методом mFISH в клетках периферической крови человека после

облучения рентгеновскими лучами в дозе 3 Гр были показаны отклонения от случайного ожидаемого значения для некоторых хромосом. Хромосомы 2 и 3 показали значительно меньше симметричных транслокаций, чем ожидалось, а хромосома 4 – больше. Хромосомы 15 и 22 показали больше симметричных транслокаций, чем ожидалось. Для хромосом 2, 3 и 18 выявлено меньше дицентриков, чем ожидалось, а для хромосом 15, 16 и 17 – больше (Suzuki et al., 2003). В работе Никитиной с соавт. (Nikitina et al., 2022) длительное наблюдение стабильных хромосомных aberrаций у работника ЧАЭС выявило, что количество точек разрывов на отдельные хромосомы было почти пропорционально их физической длине, за исключением хромосом 13 и 20.

Кроме того, анализ секвенирования всего генома в облученных клетках, проведенный в работе Морисита с соавт. (Morishita et al., 2016), выявил множественные *de novo* сложные хромосомные перестройки, локализованные в хромосомах 2, 5, 7 и 20, которые напоминают хромотрипсис, а многоцветный FISH показал сложную транслокацию хромосомы 7 с участием хромосом 11 и 12.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные исследования подтверждают, что микроядра соматических клеток не всегда являются конечным этапом патологических изменений. Они могут быть активными участниками процессов изменения ядерного генома, поскольку хроматин в микроядрах может подвергаться повреждениям и включаться в ядро клетки. Кроме этого, микроядра могут восприниматься как “цитоплазматическая” ДНК, что приводит к провоспалительной продукции цитокинов, активации системы врожденного иммунитета, что, в свою очередь, приводит к гибели клеток с микроядрами, аутофагии микроядер или поддержанию секреторного фенотипа, связанного с клеточным старением.

Поскольку микроядра являются следствием элиминации хроматина из ядра клетки, интересным является сравнение механизмов избирательной и неизбирательной элиминации хроматина. Избирательная элиминация хроматина, которая является частью онтогенетической программы организма, обусловлена эпигенетической маркировкой хроматина, подлежащего удалению из генома. В первую очередь эпигенетическая маркировка связана с конденсацией

хромосом до процесса элиминации – присоединений меток гетерохроматина, а также и сами микроядра характеризуются гетерохроматизацией, что предшествует их деградации. У человека в соматических клетках при неизбирательной элиминации хроматина в микроядра часто попадают хромосомы с высоким содержанием конститутивного и факультативного гетерохроматина. В экспериментах с воздействием химических веществ на клетки сообщается о деконденсации хромосом с высоким содержанием гетерохроматина, что предположительно приводит к нарушению сегрегации хромосом и образованию микроядер.

Также обращает на себя внимание избирательная элиминация половых хромосом, которая сопровождается изменением конденсации хромосом и удалением их из ядра через процесс почкования интерфазного ядра. Неизбирательная элиминация хромосом также в некоторых случаях происходит по схожему механизму через образование ядерной почки, но этот процесс пока менее изучен.

Анализ литературы показал, что состав микроядер при неизбирательной элиминации хроматина часто является неслучайным, имеются хромосомы, склонные к попаданию в микроядра (спонтанно и при воздействии повреждающих факторов), что, скорее всего, связано с нарушением конденсации хромосом в течение клеточного цикла, наличием в хромосомах хрупких сайтов и горячих точек.

В заключение изучение микроядер и механизмов элиминации хроматина имеет важное значение для нашего понимания клеточной биологии, генетики и патологии. Эти исследования могут иметь перспективное значение для разработки новых методов диагностики и лечения заболеваний, связанных с изменениями в ядерном геноме, и позволить более глубоко понять процессы клеточного старения и онтогенеза.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа была поддержана Федеральным медико-биологическим агентством России.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит экспериментальных исследований с использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ахмадуллина Ю.Р.*, 2022. Состав микроядер в Т-лимфоцитах у женщин, подвергшихся хроническому радиационному воздействию // Радиационная биология. Радиоэкология. Т. 62. № 6. С. 591–601. <https://doi.org/10.31857/S0869803122060030>
- Боголюбова И.О., Боголюбов Д.С.*, 2023. Функциональные взаимодействия ВАФ и LEM-белков в процессах формирования половых клеток // Цитология. Т. 65. № 5. С. 407–419. <https://doi.org/10.31857/S0041377123050036>
- Кисурина-Евгеньева О.П., Брянцева С.А., Штиль А.А., Онищенко Г.Е.*, 2006. Антитубулиновые агенты могут инициировать различные пути апоптоза // Биофизика. Т. 51. № 5. С. 875–880.
- Кисурина-Евгеньева О.П., Сутягина О.И., Онищенко Г.Е.*, 2016. Биогенез микроядер // Биохимия. Т. 81. С. 453–464. <https://doi.org/10.1134/S0006297916050035>
- Ablasser A., Chen Z.J.*, 2019. cGAS in action: Expanding roles in immunity and inflammation // Science. V. 363. № 6431. Art. eaat8657. <https://doi.org/10.1126/science.aat8657>
- Almacellas E., Pelletier J., Day C., et al.*, 2021. Lysosomal degradation ensures accurate chromosomal segregation to prevent chromosomal instability // Autophagy. V. 17. № 3. P. 796–813. <https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1764727>
- Arsoy N.S., Neuss S., Wessendorf S., et al.*, 2009. Micronuclei in peripheral blood from patients after cytostatic therapy mainly arise *ex vivo* from persistent damage // Mutagenesis. V. 24. № 4. P. 351–357. <https://doi.org/10.1093/mutage/gep015>
- Bailey L.J., Bianchi J., Doherty A.J.*, 2019. PrimPol is required for the maintenance of efficient nuclear and mitochondrial DNA replication in human cells // Nucleic Acids Res. V. 47. № 8. P. 4026–4038. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz056>
- Balajee A., Bertucci A., Taveras M., Brenner D.*, 2014. Multicolour FISH analysis of ionising radiation induced micronucleus formation in human lymphocytes // Mutagenesis. V. 29. P. 447–455. <https://doi.org/10.1093/mutage/geu041>
- Balajee A.S., Sanders J.T., Gollosi R., et al.*, 2018. Investigation of spatial organization of chromosome territories in chromosome exchange aberrations after ionizing radiation exposure // Health Phys. V. 115. P. 77–89. <https://doi.org/10.1097/HP.0000000000000840>

- Bao H., Cao J., et al. (Aging Biomarker Consortium), 2023. Biomarkers of aging // *Sci. China Life Sci.* V. 66. P. 893–1066.
<https://doi.org/10.1007/s11427-023-2305-0>
- Barbu L., Obreja D., Dului O., 2019. The cell micronuclei response to ionizing radiation in the case of gamma and x-ray exposure // *Romanian J. Physics.* V. 64. Art. 702.
- Barquinero J.F., Knehr S., Braselmann H., et al., 1998. DNA-proportional distribution of radiation-induced chromosome aberrations analyzed by fluorescence *in situ* hybridization painting of all chromosomes of a human female karyotype // *Int. J. Radiat. Biol.* V. 74. № 3. P. 315–323.
<https://doi.org/10.1080/0955330098141456>
- Bartsch K., Knittler K., Borowski C., et al., 2017. Absence of RNase H2 triggers generation of immunogenic micronuclei removed by autophagy // *Hum. Mol. Genet.* V. 26. № 20. P. 3960–3972.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddx283>
- Bonacci T., Emanuele M.J., 2019. Impressionist portraits of mitotic exit: APC/C, K11-linked ubiquitin chains and Cezanne // *Cell Cycle.* V. 18. № 6–7. P. 652–660.
<https://doi.org/10.1080/15384101.2019.1593646>
- Bull C.F., Mayrhofer G., Zeegers D., et al., 2012. Folate deficiency is associated with the formation of complex nuclear anomalies in the cytokinesis-block micronucleus cytome assay // *Environ. Mol. Mutagen.* V. 53. № 4. P. 311–323.
<https://doi.org/10.1002/em.21688>
- Chang L., Li M., Shao S., et al., 2022. Nuclear peripheral chromatin-lamin B1 interaction is required for global integrity of chromatin architecture and dynamics in human cells // *Protein Cell.* V. 13. P. 258–280.
<https://doi.org/10.1007/s13238-020-00794-8>
- Chen Q., Sun L., Chen Z.J., 2016. Regulation and function of the cGAS-STING pathway of cytosolic DNA sensing // *Nat. Immunol.* V. 17. № 10. P. 1142–1149.
<https://doi.org/10.1038/ni.3558>
- Cho Y.H., Jang Y., Woo H.D., et al., 2019. LINE-1 hypomethylation is associated with radiation-induced genomic instability in industrial radiographers // *Environ. Mol. Mutagen.* V. 60. № 2. P. 174–184.
<https://doi.org/10.1002/em.22237>
- Cho Y.H., Kim S.Y., Woo H.D., et al., 2015a. Delayed numerical chromosome aberrations in human fibroblasts by low dose of radiation // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* V. 12. P. 15162–15172.
<https://doi.org/10.3390/ijerph121214979>
- Cho Y.H., Woo H.D., Jang Y., et al., 2015b. The association of LINE-1 hypomethylation with age and centromere positive micronuclei in human lymphocytes // *PLoS One.* V. 10. № 7. Art. e0133909.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133909>
- Chung H.W., Kang S.J., Kim S.Y., 2002. A combination of the micronucleus assay and a FISH technique for evaluation of the genotoxicity of 1,2,4-benzenetriol // *Mutat. Res.* V. 516. № 1–2. P. 49–56.
- Crasta K., Ganem N.J., Dagher R., et al., 2012. DNA breaks and chromosome pulverization from errors in mitosis // *Nature.* V. 482. № 7383. P. 53–58.
<https://doi.org/10.1038/nature10802>
- Decordier I., Dillen L., Cundari E., et al., 2002. Elimination of micronucleated cells by apoptosis after treatment with inhibitors of microtubules // *Mutagenesis.* V. 17. № 4. P. 337–344.
<https://doi.org/10.1093/mutage/17.4.337>
- Dedukh D., Krasikova A., 2022. Delete and survive: Strategies of programmed genetic material elimination in eukaryotes // *Biol. Rev.* V. 97. № 1. P. 195–216.
<https://doi.org/10.1111/brv.12796>
- Dumont M., Gamba R., Gestraud P., et al., 2020. Human chromosome-specific aneuploidy is influenced by DNA-dependent centromeric features // *EMBO J.* V. 39. Art. e102924.
- Faheem M., Naseer M.I., Rasool M., et al., 2015. Molecular genetics of human primary microcephaly: An overview // *BMC Med. Genomics.* V. 8. Art. S4.
<https://doi.org/10.1186/1755-8794-8-S1-S4>
- Fang W., Wang X., Bracht J.R., et al., 2012. Piwi-interacting RNAs protect DNA against loss during *Oxytricha* genome rearrangement // *Cell.* V. 151. № 6. P. 1243–1255.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.10.045>
- Fauth E., Scherthan H., 1998. Frequencies of occurrence of all human chromosomes in micronuclei from normal and 5-azacytidine-treated lymphocytes as revealed by chromosome painting // *Mutagenesis.* V. 13. № 3. P. 235–241.
<https://doi.org/10.1093/mutage/13.3.235>
- Fauth E., Scherthan H., Zankl H., 2000. Chromosome painting reveals specific patterns of chromosome occurrence in mitomycin C- and diethylstilbestrol-induced micronuclei // *Mutagenesis.* V. 15. № 6. P. 459–467.
<https://doi.org/10.1093/mutage/15.6.459>
- Fauth E., Zankl H., 1999. Comparison of spontaneous and idoxuridine-induced micronuclei by chromosome painting // *Mutat. Res.* V. 440. № 2. P. 147–156.
[https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(99\)00021-2](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(99)00021-2)
- Fenech M., 2007. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay // *Nat. Protoc.* V. 2. P. 1084–1104.
<https://doi.org/10.1038/nprot.2007.77>
- Fenech M., Holland N., Kirsch-Volders M., et al., 2019. Micronuclei and disease – Report of HUMN project workshop at Rennes 2019 EEMGS conference // *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* V. 850–851. Art. 503133.
<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2020.503133>
- Fenech M., Kirsch-Volders M., Natarajan A.T., et al., 2011. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells // *Mutagenesis.* V. 26. № 1. P. 125–132.
<https://doi.org/10.1093/mutage/geq052>

- Foster H.A., Estrada-Girona G., Themis M., et al., 2013. Relative proximity of chromosome territories influences chromosome exchange partners in radiation-induced chromosome rearrangements in primary human bronchial epithelial cells // *Mutat. Res.* V. 756. № 1–2. P. 66–77.
<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.06.003>
- García Fernández F., Fabre E., 2022. The dynamic behavior of chromatin in response to DNA double-strand breaks // *Genes (Basel)*. V. 13. № 2. Art. 215.
<https://doi.org/10.3390/genes13020215>
- Gernand D., Rutten T., Pickering R., Houben A., 2006. Elimination of chromosomes in *Hordeum vulgare* x *H. bulbosum* crosses at mitosis and interphase involves micronucleus formation and progressive heterochromatinization // *Cytogenet. Genome Res.* V. 114. № 2. P. 169–174.
<https://doi.org/10.1159/000093334>
- Gisselsson D., Jonson T., Petersén A., et al., 2001. Telomere dysfunction triggers extensive DNA fragmentation and evolution of complex chromosome abnormalities in human malignant tumors // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. V. 98. № 22. P. 12683–12688.
<https://doi.org/10.1073/pnas.211357798>
- Giunta S., Hervé S., White R.R., et al., 2021. CENP-A chromatin prevents replication stress at centromeres to avoid structural aneuploidy // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. V. 118. № 10. Art. e2015634118.
- Greciano P.G., Goday C., 2006. Methylation of histone H3 at Lys4 differs between paternal and maternal chromosomes in *Sciara ocellaris* germline development // *J. Cell Sci.* V. 119. № 22. P. 4667–4677.
<https://doi.org/10.1242/jcs.03279>
- Guo X., Ni J., Liang Z., Xue J., Fenech M.F., Wang X., 2019. The molecular origins and pathophysiological consequences of micronuclei: New insights into an age-old problem // *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.* V. 779. P. 1–35.
<https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2018.11.001>
- Guttenbach M., Koschorz B., Bernthaler U., et al., 1995. Sex chromosome loss and aging: *in situ* hybridization studies on human interphase nuclei // *Am. J. Human Genetics*. V. 57. № 5. P. 1143–1150.
- Guttenbach M., Schmid M., 1994. Exclusion of specific human chromosomes into micronuclei by 5-azacytidine treatment of lymphocyte cultures // *Exp. Cell Res.* V. 211. № 1. P. 127–132.
<https://doi.org/10.1006/excr.1994.1068>
- Halfmann C.T., Sears R.M., Katiyar A., et al., 2019. Repair of nuclear ruptures requires barrier-to-autointegration factor // *J. Cell Biol.* V. 218. № 7. P. 2136–2149.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201901116>
- Hämälistö S., Stahl J.L., Favaro E., et al., 2020. Spatially and temporally defined lysosomal leakage facilitates mitotic chromosome segregation // *Nat. Commun.* V. 11. № 1. Art. 229.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-14009-0>
- Hayashi M., 2006. The micronucleus test—most widely used *in vivo* genotoxicity test // *Genes Environ.* V. 38. Art. 18.
<https://doi.org/10.1186/s41021-016-0044-x>
- Holecková B., Piesová E., Sivikova K., Dianovský J., 2004. Chromosomal aberrations in humans induced by benzene // *Ann. Agric. Environ. Med.* V. 11. № 2. P. 175–179.
- Hovhannisyan G., Aroutiounian R., Babayan N., et al., 2016. Comparative analysis of individual chromosome involvement in micronuclei induced by mitomycin C and bleomycin in human leukocytes // *Mol. Cytogenet.* V. 9. Art. 49.
<https://doi.org/10.1186/s13039-016-0258-4>
- Hovhannisyan G., Aroutiounian R., Liehr T., 2012. Chromosomal composition of micronuclei in human leukocytes exposed to mitomycin C // *J. Histochem. Cytochem.* V. 60. № 4. P. 316–322.
<https://doi.org/10.1369/0022155412436587>
- IAEA, 2011. International Atomic Energy Agency Technical Reports Series No. 405. *Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment: A Manual*. Vienna: IAEA. 127 p.
- Iliakis G., Wang H., Perrault A.R., et al., 2004. Mechanisms of DNA double strand break repair and chromosome aberration formation // *Cytogenet. Genome Res.* V. 104. № 1–4. P. 14–20.
<https://doi.org/10.1159/000077461>
- Itoh N., Shimizu N., 1998. DNA replication-dependent intranuclear relocation of double minute chromatin // *J. Cell Sci.* V. 111. № 22. P. 3275–3285.
- Ivanov A., Pawlikowski J., Manoharan I., et al., 2013. Lysosome-mediated processing of chromatin in senescence // *J. Cell Biol.* V. 202. № 1. P. 129–143.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201212110>
- Jagannathan M., Cummings R., Yamashita Y.M., 2018. A conserved function for pericentromeric satellite DNA // *Elife*. V. 7. Art. e34122.
<https://doi.org/10.7554/eLife.34122>
- Jagannathan M., Cummings R., Yamashita Y.M., 2019. The modular mechanism of chromocenter formation in *Drosophila* // *Elife*. V. 8. Art. e43938.
<https://doi.org/10.7554/eLife.43938>
- Kirsch-Volders M., Bolognesi C., Ceppi M., et al., 2020. Micronuclei, inflammation and auto-immune disease // *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.* V. 786. Art. 108335.
<https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2020.108335>
- Lazalde-Ramos B.P., Zamora-Perez A.L., Sosa-Macías M., et al., 2012. DNA and oxidative damages decrease after ingestion of folic acid in patients with type 2 diabetes // *Arch. Med. Res.* V. 43. № 6. P. 476–481.
<https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2012.08.013>
- Leach N.T., Jackson-Cook C., 2001. The application of spectral karyotyping (SKY) and fluorescent *in situ* hybridization (FISH) technology to determine the chromosomal content(s) of micronuclei // *Mutat. Res.* V. 495. № 1–2. P. 11–19.

- [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(01\)00194-2](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(01)00194-2)
- Lee T.K., Wiley A.L., Jr, Esinhart J.D., Blackburn L.D., 1994. Radiation dose-dependent variations of micronuclei production in cytochalasin B-blocked human lymphocytes // *Teratog. Carcinog. Mutagen.* V. 14. № 1. P. 1–12.
<https://doi.org/10.1002/tcm.1770140102>
- Leimbacher P.A., Jones S.E., Shorrocks A.K., et al., 2019. MDC1 interacts with TOPBP1 to maintain chromosomal stability during mitosis // *Mol. Cell.* V. 74. № 3. P. 571–583.E8.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.02.014>
- Li T., Chen Z.J., 2018. The cGAS-cGAMP-STING pathway connects DNA damage to inflammation, senescence, and cancer // *J. Exp. Med.* V. 215. № 5. P. 1287–1299.
<https://doi.org/10.1084/jem.20180139>
- Lindberg H.K., Wang X., Järventausta H., Falck G.C., et al., 2007. Origin of nuclear buds and micronuclei in normal and folate-deprived human lymphocytes // *Mutat. Res.* V. 617. № 1–2. P. 33–45.
<https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2006.12.002>
- Liu H., Wang F., Cao Y., et al., 2022. The multifaceted functions of cGAS // *J. Mol. Cell Biol.* V. 14. № 5. Art. mjac031.
<https://doi.org/10.1093/jmcb/mjac031>
- Liu S., Pellman D., 2020. The coordination of nuclear envelope assembly and chromosome segregation in metazoans // *Nucleus.* V. 11. № 1. P. 35–52.
<https://doi.org/10.1080/19491034.2020.1742064>
- Liu L., Ni J., Zhou T., et al., 2012. Choline and/or folic acid deficiency is associated with genomic damage and cell death in human lymphocytes in vitro // *Nutr. Cancer.* V. 64. № 3. P. 481–487.
<https://doi.org/10.1080/01635581.2012.660671>
- Mackenzie K.J., Carroll P., Martin C.A., et al., 2017. cGAS surveillance of micronuclei links genome instability to innate immunity // *Nature.* V. 548. № 7668. P. 461–465.
<https://doi.org/10.1038/nature23449>
- Maiato H., Afonso O., Matos I., 2015. A chromosome separation checkpoint: A midzone Aurora B gradient mediates a chromosome separation checkpoint that regulates the anaphase-telophase transition // *Bioessays.* V. 37. № 3. P. 257–266.
<https://doi.org/10.1002/bies.201400140>
- Malaby H.L.H., Dumas M.E., Ohi R., Stumpff J., 2019. Kinesin-binding protein ensures accurate chromosome segregation by buffering KIF18A and KIF15 // *J. Cell Biol.* V. 218. № 4. P. 1218–1234.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201806195>
- Medvedeva N.G., Panyutin I.V., Panyutin I.G., Neumann R.D., 2007. Phosphorylation of histone H2AX in radiation-induced micronuclei // *Radiat. Res.* V. 168. № 4. P. 493–498.
<https://doi.org/10.1667/RR0788.1>
- Mochizuki K., 2010. DNA rearrangements directed by non-coding RNAs in ciliates // *WIRs RNA.* V. 1. № 3. P. 376–387.
<https://doi.org/10.1002/wrna.34>
- Morgan W.F., Bair W.J., 2013. Issues in low dose radiation biology: the controversy continues. A perspective // *Radiat. Res.* V. 179. № 5. P. 501–510.
<https://doi.org/10.1667/RR3306.1>
- Morishita M., Muramatsu T., Suto Y., et al., 2016. Chromothripsis-like chromosomal rearrangements induced by ionizing radiation using proton microbeam irradiation system // *Oncotarget.* V. 7. № 9. P. 10182–10192.
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.7186>
- Mukherjee A., Alejandro J., Payne S., Thomas S., 1996. Age-related aneuploidy analysis of human blood cells *in vivo* by fluorescence *in situ* hybridization (FISH) // *Mech. Ageing Dev.* V. 90. P. 145–156.
[https://doi.org/10.1016/0047-6374\(96\)01762-9](https://doi.org/10.1016/0047-6374(96)01762-9)
- Nikitina V., Nugis V., Astrelina T., et al., 2022. Pattern of chromosomal aberrations persisting over 30 years in a Chernobyl Nuclear Power Plant accident survivor: study using mFISH // *J. Radiat. Res.* V. 63. № 2. P. 202–212.
<https://doi.org/10.1093/jrr/rrab131>
- Okamoto A., Utani K., Shimizu N., 2011. DNA replication occurs in all lamina positive micronuclei, but never in lamina negative micronuclei // *Mutagenesis.* V. 27. № 3. P. 323–327.
- Oliveira Mann C.C., de, Kranzusch P.J., 2017. cGAS conducts micronuclei DNA surveillance // *Trends Cell Biol.* V. 27. № 10. P. 697–698.
<https://doi.org/10.1016/j.tcb.2017.08.007>
- Oza P., Jaspersen S.L., Miele A., et al., 2009. Mechanisms that regulate localization of a DNA double-strand break to the nuclear periphery // *Genes Dev.* V. 23. № 8. P. 912–927.
<https://doi.org/10.1101/gad.1782209>
- Pang D., Yu S., Yang X., 2022. A mini-review of the role of condensin in human nervous system diseases // *Front. Mol. Neurosci.* V. 15. Art. 89796.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.889796>
- Perondini A., Ribeiro A., 1997. Chromosome elimination in germ cells of *Sciara* embryos: involvement of the nuclear envelope // *Invertebr. Reprod. Dev.* V. 32. № 2. P. 131–141.
<https://doi.org/10.1080/07924259.1997.9672614>
- Pfeiffer P., Goedecke W., Obe G., 2000. Mechanisms of DNA double-strand break repair and their potential to induce chromosomal aberrations // *Mutagenesis.* V. 15. № 4. P. 289–302.
<https://doi.org/10.1093/mutage/15.4.289>
- Prantera G., Bongiorno S., 2012. Mealybug chromosome cycle as a paradigm of epigenetics // *Genet. Res. Int.* V. 2012. Art. 867390.
<https://doi.org/10.1155/2012/867390>
- Priore L., del, Pigozzi M.I., 2014. Histone modifications related to chromosome silencing and elimination

- during male meiosis in Bengalese finch // *Chromosoma*. V. 123. № 3. P. 293–302.
<https://doi.org/10.1007/s00412-014-0451-3>
- Reimann H., Stopper H., Hintzsche H., 2020. Long-term fate of etoposide-induced micronuclei and micronucleated cells in HeLa-H2B-GFP cells // *Arch. Toxicol.* V. 94. № 10. P. 3553–3561.
<https://doi.org/10.1007/s00204-020-02840-0>
- Reimann H., Stopper H., Hintzsche H., 2023. Fate of micronuclei and micronucleated cells after treatment of HeLa cells with different genotoxic agents // *Arch. Toxicol.* V. 97. № 3. P. 875–889.
<https://doi.org/10.1007/s00204-022-03433-9>
- Robijns J., Houthaev G., Braeckmans K., De Vos W.H., 2018. Loss of nuclear envelope integrity in aging and disease // *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* V. 336. P. 205–222.
<https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2017.07.013>
- Ruban A., Schmutzer T., Wu D.D., et al., 2020. Supernumerary B chromosomes of *Aegilops speltoides* undergo precise elimination in roots early in embryo development // *Nat. Commun.* V. 11. Art. 2764.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-16594-x>
- Samwer M., Schneider M.W.G., Hoefler R., et al., 2017. DNA cross-bridging shapes a single nucleus from a set of mitotic chromosomes // *Cell*. V. 170. № 5. P. 956–972.E23.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.07.038>
- Sawyer J.R., Swanson C.M., Wheeler G., Cunniff C., 1995. Chromosome instability in ICF syndrome: Formation of micronuclei from multibranching chromosomes 1 demonstrated by fluorescence in situ hybridization // *Am. J. Med. Genet.* V. 56. № 2. P. 203–209.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.1320560218>
- Sgura A., Antoccia A., Ramirez M.J., et al., 1997. Micronuclei, centromere-positive micronuclei and chromosome nondisjunction in cytokinesis blocked human lymphocytes following mitomycin C or vincristine treatment // *Mutat. Res.* V. 392. № 1–2. P. 97–107.
[https://doi.org/10.1016/s0165-1218\(97\)00048-7](https://doi.org/10.1016/s0165-1218(97)00048-7)
- Shimizu N., Itoh N., Utiyama H., Wahl G.M., 1998. Selective entrapment of extrachromosomally amplified DNA by nuclear budding and micronucleation during S phase // *J. Cell Biol.* V. 140. № 6. P. 1307–1320.
<https://doi.org/10.1083/jcb.140.6.1307>
- Shimizu N., Kapoor R., Naniwa S., et al., 2019. Generation and maintenance of acentric stable double minutes from chromosome arms in inter-species hybrid cells // *BMC Mol. Cell Biol.* V. 20. Art. 2.
<https://doi.org/10.1186/s12860-019-0186-3>
- Soto M., García-Santisteban I., Krenning L., et al., 2018. Chromosomes trapped in micronuclei are liable to segregation errors // *J. Cell Sci.* V. 131. № 13. Art. jcs214742.
<https://doi.org/10.1242/jcs.214742>
- Stacey M., Bennett M., Hulten M., 1995. FISH analysis on spontaneously arising micronuclei in the ICF syndrome // *J. Med. Genetics*. V. 32. № 7. P. 502–508.
<https://doi.org/10.1136/jmg.32.7.502>
- Staiber W., 2006. Chromosome elimination in germ line—soma differentiation of *Acricotopus lucidus* (Diptera, Chironomidae) // *Genome*. V. 49. № 3. P. 269–274.
<https://doi.org/10.1139/g05-103>
- Stopper H., Körber C., Gibis P., et al., 1995. Micronuclei induced by modulators of methylation: analogs of 5-azacytidine // *Carcinogenesis*. V. 16. № 7. P. 1647–1650.
<https://doi.org/10.1093/carcin/16.7.1647>
- Suzuki K., Ojima M., Kodama S., Watanabe M., 2003. Radiation-induced DNA damage and delayed induced genomic instability // *Oncogene*. V. 22. P. 6988–6993.
<https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206881>
- Télez M., Ortiz-Lastra E., Gonzalez A.J., et al., 2010. Assessment of the genotoxicity of atenolol in human peripheral blood lymphocytes: Correlation between chromosomal fragility and content of micronuclei // *Mutat. Res.* V. 695. № 1–2. P. 46–54.
<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2009.02.015>
- Terradas M., Martín M., Tusell L., Genescà A., 2009. DNA lesions sequestered in micronuclei induce a local defective-damage response // *DNA Repair*. V. 8. № 10. P. 1225–1234.
<https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2009.07.004>
- Tewari S., Khan K., Husain N., et al., 2016. Peripheral blood lymphocytes as *in vitro* model to evaluate genomic instability caused by low dose radiation // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* V. 17. № 4. P. 1773–1777.
<https://doi.org/10.7314/apjcp.2016.17.4.1773>
- Thierens H., Vral A., Morthier R., et al., 2000. Cytogenetic monitoring of hospital workers occupationally exposed to ionizing radiation using the micronucleus centromere assay // *Mutagenesis*. V. 15. № 3. P. 245–249.
<https://doi.org/10.1093/mutage/15.3.245>
- Timoshevskiy V.A., Herdy J.R., Keinath M.C., Smith J.J., 2016. Cellular and molecular features of developmentally programmed genome rearrangement in a vertebrate (sea lamprey: *Petromyzon marinus*) // *PLoS Genet.* V. 12. № 6. Art. e1006103.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006103>
- Tommerup N., 1984. Idoxuridine induction of micronuclei containing the long or short arms of human chromosome 9 // *Cytogenet. Cell Genet.* V. 38. № 2. P. 92–98.
<https://doi.org/10.1159/000132038>
- Tuck-Muller C.M., Narayan A., Tsien F., et al., 2000. DNA hypomethylation and unusual chromosome instability in cell lines from ICF syndrome patients // *Cytogenet. Cell Genet.* V. 89. № 1–2. P. 121–128.
<https://doi.org/10.1159/000015590>
- Umbreit N.T., Zhang C.Z., Lynch L.D., et al., 2020. Mechanisms generating cancer genome complexity from a single cell division error // *Science*. V. 368. № 6488. Art. eaba0712.
<https://doi.org/10.1126/science.aba0712>
- Utani K., Okamoto A., Shimizu N., 2011. Generation of micronuclei during interphase by coupling between

- cytoplasmic membrane blebbing and nuclear budding // *PloS One*. V. 6. № 11. Art. e27233.
- Walker J.A., Boreham D.R., Unrau P., Duncan A.M., 1996. Chromosome content and ultrastructure of radiation-induced micronuclei // *Mutagenesis*. V. 11. № 5. P. 419–424.
<https://doi.org/10.1093/mutage/11.5.419>
- Warecki B., Ling X., Bast I., Sullivan W., 2020. ESCRT-III-mediated membrane fusion drives chromosome fragments through nuclear envelope channels // *J. Cell Biol.* V. 219. № 3. Art. e201905091.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201905091>
- Zhang C.Z., Spektor A., Cornils H., et al., 2015. Chromothripsis from DNA damage in micronuclei // *Nature*. V. 522. № 7555. P. 179–184.
<https://doi.org/10.1038/nature14493>
- Zhang L., Rothman N., Wang Y., et al., 1998. Increased aneusomy and long arm deletion of chromosomes 5 and 7 in the lymphocytes of Chinese workers exposed to benzene // *Carcinogenesis*. V. 19. № 11. P. 1955–1961.
<https://doi.org/10.1093/carcin/19.11.1955>

The role of micronuclei in chromatin elimination

Yu. R. Akhmadullina^{a, b, *}, P. O. Khomenko^a

¹*Urals Research Center for Radiation Medicine, Federal Medical Biological Agency
 Vorovskogo st., 68A, Chelyabinsk, 454141 Russia*

²*Chelyabinsk State University
 Brothers Kashirinykh st., 129, Chelyabinsk, 454001 Russia
 E-mail: akhmadullina.yul@yandex.ru

Micronuclei are the extra-nuclear chromatin compartments separated from the primary nucleus and surrounded by their own nuclear envelope. For a long time it has been thought that micronuclei is the final stage of the pathological process in a cell. They have been used as biomarkers of the influence of genotoxic factors as well as of genome instability in various diseases. Nowadays, it is demonstrated that micronuclei could be involved in the cellular activities, affect the nuclear genome and lead to the changes in cell and tissue physiology. It is known that the formation of micronuclei is one of the steps in selective chromatin elimination in the ontogenesis of plant and animal species. The regions to be marked and eliminated from cell nucleus are recognized at the level of genome. This process is often accompanied by modifications with the heterochromatin formation, changes in the chromosome condensation and in the position of chromosomes in the nucleus. The processes observed in selective and non-selective chromatin elimination are similar to a great extent. The fact that the role of micronuclei in the cell functioning is not well-known yet, and the composition of the micronuclei and the ways of chromatin elimination could influence their role in the development of the pathogenesis, emphasizes the importance of additional studies for a more profound investigation of this phenomenon.