

== МАТЕРИАЛЫ VII МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ ==
“МЕДИЦИНСКИЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ
ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ”
(ТОМСК, 21–22 МАРТА 2023 г.)

УДК [57+61]:575.174.015.3:575.224.23:612.112.94:613.648:539.1.047

**АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ *WNT*
С ЧАСТОТОЙ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ
ПОД ДЕЙСТВИЕМ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ**

© 2024 г. Д. С. Исубакова^{1,*}, Н. В. Литвяков^{1,2}, О. С. Цымбал¹, Т. В. Вишневская¹,
М. Ю. Цыпленкова¹, И. В. Мильто^{1,3}, Р. М. Тахауов^{1,3}

¹Северский биофизический научный центр
Федерального медико-биологического агентства, Северск, Россия

²Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук, Томск, Россия

³Сибирский государственный медицинский университет
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия
*E-mail: mail@sbrc.seversk.ru, isubakova.daria@yandex.ru

Поступила в редакцию 28.06.2023 г.

После доработки 06.02.2024 г.

Принята к публикации 27.03.2024 г.

Представлены результаты изучения связи однонуклеотидных полиморфизмов генов *WNT* с повышенной частотой цитогенетических нарушений в лимфоцитах крови работников объекта использования ионизирующего излучения, подвергавшихся длительному радиационному воздействию в дозах 100–500 мГр. Объектом исследования служила кровь 95 условно здоровых работников, подвергавшихся в процессе профессиональной деятельности долговременному техногенному внешнему воздействию γ -излучения в дозах от 100 до 500 мГр. Для всех обследованных лиц проводили стандартный цитогенетический анализ лимфоцитов крови. Геномную ДНК из лимфоцитов крови работников выделяли с помощью набора QIAamp DNA Blood mini Kit (Qiagen, Германия). Генотипировали ДНК по 116 однонуклеотидным полиморфизмам генов *WNT* с помощью чипов (ДНК-чипы) высокой плотности CytoScan™ HD Array (Affymetrix, США). С учетом поправки Бонферрони установлена ассоциация однонуклеотидных полиморфизмов генов *WNT* с высокой частотой кольцевых хромосом в лимфоцитах крови, все остальные типы цитогенетических нарушений не показали статистической значимости. В результате проведенного исследования выявлен однонуклеотидный полиморфизм гена *WNT9B rs1530364*, который может рассматриваться в качестве потенциального маркера повышенного уровня индивидуальной радиочувствительности организма человека.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, хромосомные aberrации, однонуклеотидный полиморфизм, микроматричный анализ

DOI: 10.31857/S0869803124020037, EDN: NBMXQB

Семейство генов *WNT* состоит из девятнадцати структурно родственных генов, которые обеспечивают экспрессию белков, расположенных в разных аутосомах [1]. WNT-белки связываются с мембранными рецепторами и тем самым активируют внутриклеточные сигнальные пути – WNT-сигнальные пути [2]: канонический (зависимый от β -катенина) и неканонический (независимый от β -катенина). Взаимодействие между WNT-белками и рецепторами плазмолеммы может приводить к множеству внутриклеточных ответов [3, 4].

С радиационно-индуцированным клеточным ответом связывают именно канонический сигнальный путь [5–10]. Активация WNT-сигнального пути после воздействия ионизирующим излучением (ИИ)

приводит к диссоциации протеасомного комплекса, что влечет за собой накопление β -катенина в цитоплазме с последующим ингибированием апоптоза [11]. Основные механизмы этого радиационно-индуцированного WNT/ β -катенин-зависимого клеточного ответа все еще остаются неясными, и лишь в нескольких исследованиях были идентифицированы регуляторы [6, 12], ответственные за радиопротекторный эффект WNT-белков.

Важно отметить, что в случае хронического воздействия ИИ повреждение хромосом и мембран происходит на фоне компенсаторно-адаптивных механизмов и в значительной степени может быть изменено различными факторами (антиоксиданты, простагландины, белки теплового шока,

факторы роста, белки системы репарации ДНК и др.) [13, 14]. Несмотря на многочисленность факторов, анализ генетических эффектов действия ИИ остается одним из наиболее перспективных направлений исследования механизмов формирования индивидуальной радиочувствительности (ИРЧ).

Индивидуальная радиочувствительность обладает многокомпонентным содержанием, но в существенной степени обуславливается генетическими особенностями. Среди них значительную роль играют однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП) генов различных систем клеточной защиты (например, апоптоза, системы репарации ДНК, детоксикации ксенобиотиков и др.) [15, 16]. Система *WNT* играет значительную роль во многих клеточных процессах и для декомпозиции ассоциации клеточных систем с цитогенетическими нарушениями (ЦН) и ИРЧ необходимо детальное изучение каждого компонента системы.

Цель исследования — оценить связь ОНП генов системы *WNT* с повышенной частотой ЦН, возникших у работников объекта использования ИИ (ОИИИ) под действием долговременного техногенного профессионального облучения ИИ в диапазоне доз 100–500 мГр.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

В исследовании использовали цельную венозную кровь 77 условно здоровых работников ОИИИ, не подвергавшихся в процессе профессиональной деятельности облучению ИИ — группа контроля, и 95 условно здоровых работников ОИИИ, подвергавшихся в процессе профессиональной деятельности долговременному техногенному облучению ИИ (γ -излучение) в дозах от 100 до 500 мГр — группа исследования.

Характеристика обследованных групп представлена в табл. 1.

Исследование проводили в соответствии с принципами Хельсинкской декларации 1964 г. (с изменениями 1975–2008 гг.). Все доноры подписали информированное добровольное согласие. Сбор и уточнение информации о донорах биологического материала реализованы с применением базы данных медико-дозиметрического регистра персонала ОИИИ, а также архива медицинской документации СБН Центра, содержащего медицинскую информацию обо всех работниках ОИИИ [17]. Процедуры взятия крови и цитогенетического исследования детально описаны нами ранее и не претерпели трансформаций [18].

Таблица 1. Характеристика обследованных групп работников ОИИИ

Table 1. Characteristics of the surveyed groups of workers object of use of ionizing radiation

Показатель		Группа контроля	Группа исследования
Количество		77	95
Мужчины/женщины		38/39	95/0
Возраст, лет	$M \pm SE$	57.31 ± 1.64	62.95 ± 0.99
Стаж работы, лет	$M \pm SE$	23.62 ± 1.53	34.12 ± 1.01
Доза γ -излучения, мГр	$M \pm SE$	–	220.84 ± 10.06
	Median	–	181.50
	Q_1-Q_3	–	151.22–289.36

Примечание. *M* — среднее арифметическое, *SE* — ошибка среднего арифметического, Median — медиана, Q_1-Q_3 — интерквартильный размах.

Определяли следующие виды ЦН: aberrантные клетки, полиплоидные клетки, мультиабerrантные клетки (более пяти хромосомных aberrаций), хромосомные и хроматидные фрагменты, кольцевые и дицентрические хромосомы, хроматидные обмены (фигуры типа “крест”) и транслокации.

ДНК выделяли из лимфоцитов крови с использованием набора QIAamp DNA Blood mini Kit (Qiagen, Германия). Чистоту ($A_{260}/A_{280} = 1.80-2.00$, $A_{260}/A_{230} = 1.90-2.15$) и концентрацию (50–150 нг/мкл) ДНК устанавливали на спектрофотометре EzDrop-1000 (BlueRay Biotech, Тайвань). Целостность ДНК определяли с помощью капиллярного электрофореза — фрагменты ДНК имели размер более 48 кб.

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

При анализе данных исключены ОНП любого генотипа при $n < 5$, поскольку в условиях мало-численной выборки это увеличивает вероятность ошибки первого рода. Из дальнейшего анализа исключили также ОНП, не соответствующие равновесию Харди–Вайнберга. В результате из 116 ОНП в окончательный статистический анализ был включен 51 ОНП.

Анализ данных генотипирования на каждый из изученных ОНП проводили по четырем моделям: аддитивной, рецессивной, доминантной и сверхдоминантной. По аддитивной модели оценивали различия в частоте ЦН между носителями гомозиготными по доминантному аллелю, носителями гомозиготными по рецессивному аллелю и гетерозиготными носителями. По рецессивной модели устанавливали различия в частоте ЦН между носителями гомозиготными по доминантному аллелю и гетерозиготными носителями, с одной стороны, и носителями гомозиготными по рецессивному аллелю — с другой. По доминантной модели определяли различия в частоте ЦН между носителями гомозиготными по рецессивному аллелю и гетерозиготными носителями с одной стороны, и носителями гомозиготными по доминантному аллелю — с другой. При сверхдоминантной модели устанавливали различия в частоте ЦН между носителями гомозиготными по доминантному и рецессивному аллелю с одной стороны и гетерозиготными носителями с другой.

Статистические методы. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 8.0 (StatSoft, США). Соответствие распределения генотипов в выборке равновесию Харди–Вайнберга оценивали с помощью программы Court lab HW calculator в формате Excel. Для установления значимости различий между выборками по частоте ЦН применяли критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферрони ($p < 0.05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате рутинного цитогенетического анализа лимфоцитов крови установлены частоты ЦН у работников ОИИИ обеих групп. Результаты представлены в табл. 2.

Согласно данным из табл. 2, бóльшая часть типов ЦН, не являющихся маркерами радиационного воздействия, в группе контроля и группе исследования не отличаются. Это является следствием того, что большинство обследованных работников ОИИИ проживают и работают в аналогичных

Таблица 2. Сравнение частот ЦН у работников ОИИИ группы контроля и группы исследования

Table 2. Comparison of the frequencies of cytogenetic disorders in workers object of use of ionizing radiation of the control group and the research group

Тип ЦН	Частота ЦН на 100 клеток $M \pm SE$		p
	Группа контроля, $n = 77$	Группа исследования, $n = 95$	
Аберрантные клетки	1.7817 \pm 0.1585	2.9114 \pm 0.1983	0.0000
Хроматидные фрагменты	0.5939 \pm 0.0677	0.9215 \pm 0.1144	0.0550
Хромосомные фрагменты	0.5030 \pm 0.0622	0.7526 \pm 0.0988	0.2012
Кольцевые хромосомы	0.0717 \pm 0.0186	0.2205 \pm 0.0305	0.0010
Дицентрические хромосомы	0.5666 \pm 0.0715	0.9478 \pm 0.0965	0.0105
Мультиаберрантные клетки	0.0258 \pm 0.0147	0.0163 \pm 0.0072	0.9987
Хроматидные обмены	0.0466 \pm 0.0169	0.0758 \pm 0.0183	0.4570
Транслокации	0.0043 \pm 0.0043	0.0069 \pm 0.0049	0.9288
Полипloidные клетки	0.0000 \pm 0.0000	0.0277 \pm 0.0127	0.5533

Примечание. M — среднее арифметическое, SE — ошибка среднего арифметического, n — число обследованных работников ОИИИ, полужирным шрифтом выделены статистически значимые различия, рассчитанные по критерию Манна–Уитни.

условиях, т. е. выборки стратифицированы, а группа контроля и группа исследования, на которой была изучена ассоциация высокой частоты ЦН с ОНП, не различаются существенным образом, за исключением маркеров радиационного воздействия — кольцевых и дицентрических хромосом. Вероятно, существенный вклад в увеличение частоты ЦН у человека может вносить образ жизни, в частности, курение, употребление алкоголя и др. [16, 19, 20]. Однако частота маркеров радиационного воздействия — кольцевых и дицентрических хромосом, а также частота аберрантных клеток (из-за кольцевых и дицентрических хромосом) статистически значимо выше у работников, подвергавшихся в процессе своей профессиональной деятельности долговременному радиационному воздействию, что потенциально говорит о синергетическом воздействии различных генотоксических

факторов, при этом наблюдается превалирующее действие факторов физической природы, в частности, ИИ, которые и вызывают появление ЦН [21–23].

Далее нами проведена оценка ассоциации частоты радиационно-индуцированных ЦН в зависимости от 51 ОНП изученных генов у работников, входящих в группу исследования. Особое внимание обратили на кольцевые и дицентрические хромосомы.

На рис. 1 представлены уровни значимости для 51 отобранного ОНП (см. выше) по кольцевым хромосомам, на рис. 2 представлены уровни значимости по дицентрическим хромосомам.

На оси ординат отложен отрицательный десятичный логарифм уровня значимости. Линией сверху изображен уровень доверительной вероятности с учетом поправки Бонферрони, равный $-\log(0.05/51) = 3.0086$.

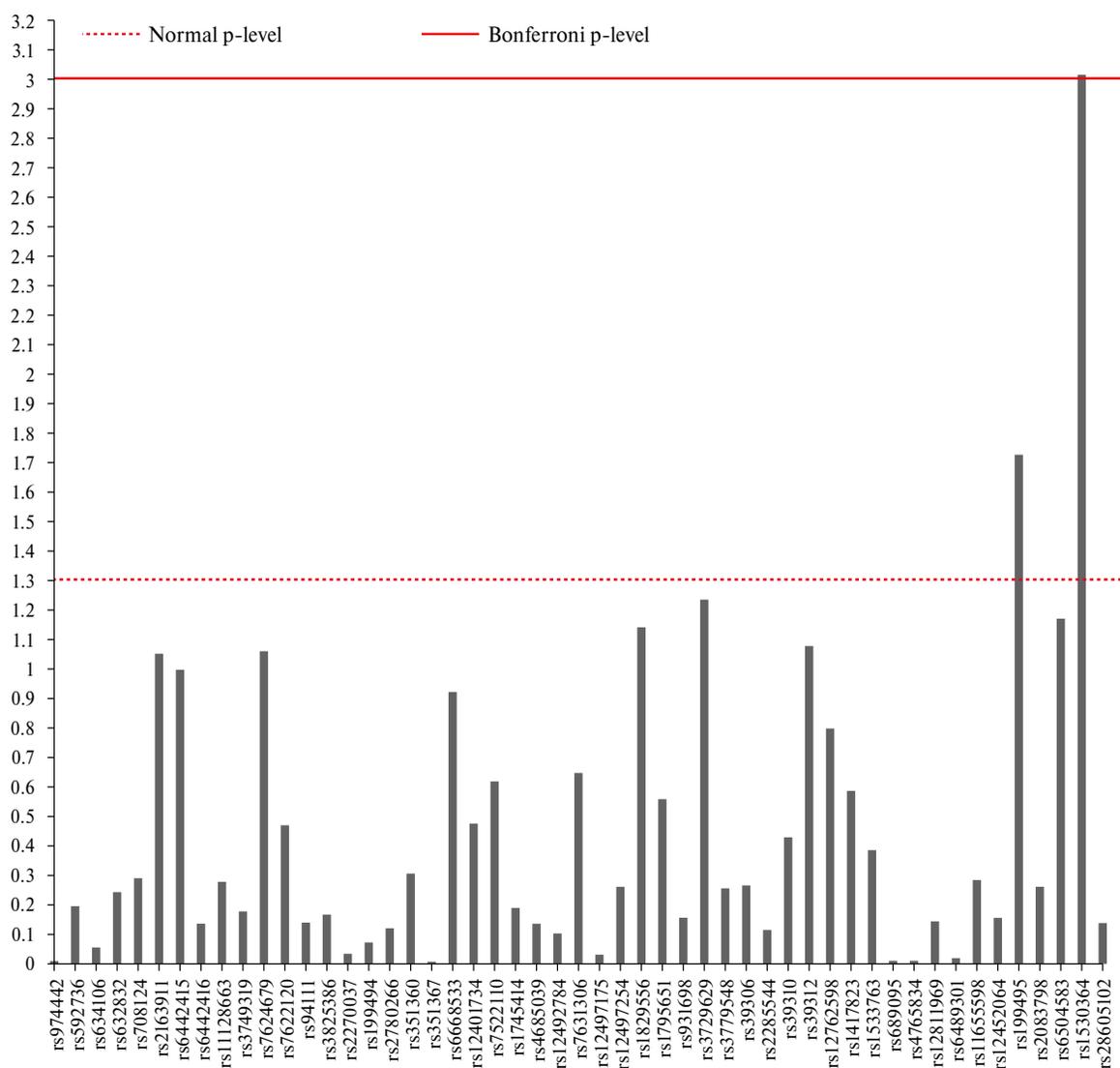


Рис. 1. Уровни значимости для доминантной модели по частоте кольцевых хромосом.

Примечание. По оси ординат — значение уровня p в логарифмических координатах $-\log_{10}$, пунктирная линия уровень значимости $p < 0.05$, рассчитанный по критерию Манна–Уитни, красная линия — уровень поправки Бонферрони.

Fig. 1. Significance levels for the dominant model by the frequency of ring chromosomes.

Note. The Y-axis shows the value of the p-level in logarithmic coordinates $-\log_{10}$, the dotted line is the significance level of $p < 0.05$ calculated by the Mann–Whitney test, the red line is the Bonferroni correction level.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, с учетом поправки Бонферрони из 51 выявленного ОНП анализ данных генотипирования, проведенный по всем четырем генотипическим моделям, показал ассоциацию только с высокой частотой кольцевых хромосом (маркером радиационного воздействия) по доминантной модели мажорного генотипа для 1 ОНП *WNT9B rs1530364* (табл. 3). Для других типов ЦН не установлено статистически значимых показателей с проанализированными ОНП.

Полиморфный вариант *rs1530364* является интронным, принадлежит гену *WNT9B*, располагается в позиции chr17:46874411 (GRCh38.p14). Для ОНП *WNT9B rs1530364* была показана связь гаплотипа rs1530364-G с несиндромальной расщелиной губы [24–27]. Иная информация о вкладе этого ОНП в регуляцию функциональной активности *WNT9B* отсутствует.

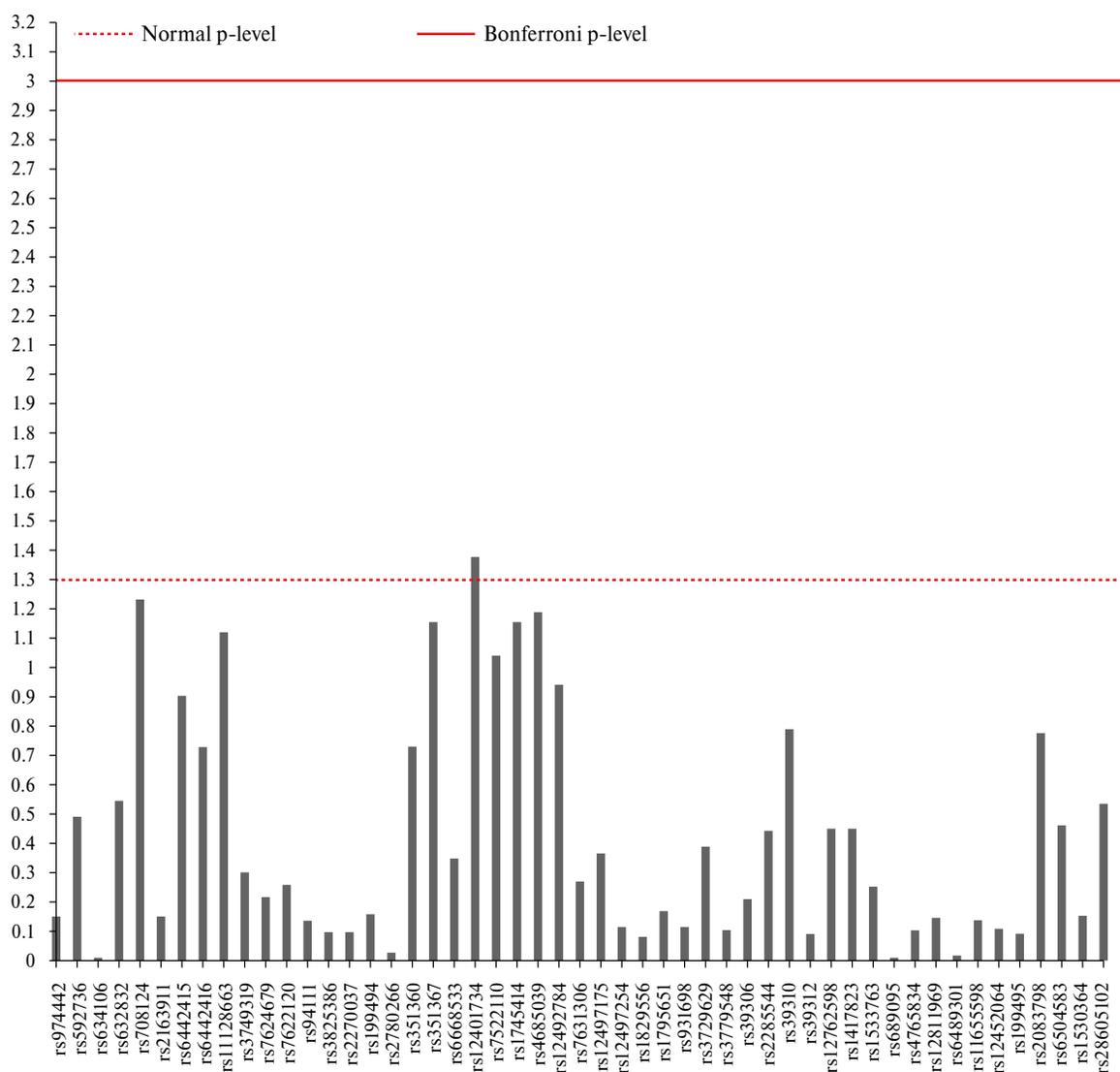


Рис. 2. Уровни значимости для доминантной модели по частоте дицентрических хромосом.

Примечание. По оси ординат — значение уровня p в логарифмических координатах $-(\log_{10})$, пунктирная линия — уровень значимости $p < 0.05$, рассчитанный по критерию Манна–Уитни, красная линия — уровень поправки Бонферрони.

Fig. 2. Significance levels for the dominant model by the frequency of dicentric chromosomes.

Note. The Y-axis shows the value of the p -level in logarithmic coordinates $-(\log_{10})$, the dotted line is the significance level of $p < 0.05$ calculated by the Mann–Whitney test, the red line is the Bonferroni correction level.

Таблица 3. Частота кольцевых хромосом (на 100 клеток, $M \pm SE$) в зависимости от генотипов по изученным ОНП у работников группы исследования

Table 3. The frequency of ring chromosomes (per 100 cells, $M \pm SE$) depending on the genotypes for the studied SNP in workers of the research group

ОНП	Частота кольцевых хромосом по генотипам			<i>p</i>
Аддитивная модель				
<i>WNT9B rs1530364</i>	<i>G/G</i> , <i>n</i> = 37	<i>G/A</i> , <i>n</i> = 47	<i>A/A</i> , <i>n</i> = 11	0.0023
	0.3660 ± 0.0594	0.1293 ± 0.0288	0.1212 ± 0.0678	
Рецессивная модель				
<i>WNT9B rs1530364</i>	<i>G/A + G/G</i> , <i>n</i> = 84	<i>A/A</i> , <i>n</i> = 11		0.3060
	0.2335 ± 0.0331	0.1212 ± 0.0678		
Доминантная модель				
<i>WNT9B rs1530364</i>	<i>G/A + A/A</i> , <i>n</i> = 58	<i>G/G</i> , <i>n</i> = 37		0.0009
	0.1277 ± 0.0264	0.3660 ± 0.0594		
Сверхдоминантная модель				
<i>WNT9B rs1530364</i>	<i>G/G + A/A</i> , <i>n</i> = 48	<i>G/A</i> , <i>n</i> = 47		0.0143
	0.3099 ± 0.0503	0.1293 ± 0.0288		

Примечание. *M* — среднее арифметическое, *SE* — ошибка среднего арифметического, *n* — число обследованных с данным генотипом в группе при $p < 0.05$, полужирным шрифтом выделены статистически значимые различия с поправкой Бонферрони $p = 0.0009$.

Нами выявлено, что для ОНП *WNT9B rs1530364* носители мажорного генотипа имели частоту кольцевых хромосом в 3 раза выше в сравнении с носителями рецессивного генотипа при дозах облучения ИИ, которые приводят к статистически значимому повышению частоты ЦН, но находятся на плато кривой “доза–частота ЦН”, иначе говоря, в диапазоне 100–500 мГр частота ЦН линейно не растет [28] при относительно одинаковых дозах внешнего облучения ИИ.

WNT9B локализован в длинном плече 17-й хромосомы (17q21.32). *WNT9B* кодирует лиганд, который соединяется с рецептором Frizzled и впоследствии активирует канонический путь *WNT/β-catenin* [29]. *WNT9B* является геном-мишенью Hedgehog и контролирует клеточную пролиферацию и клеточную полярность [30]. Важно отметить, что WNT-белки имеют иммунорегуляторные функции, включая регуляцию дифференцировки, фенотипа и функции Т-лимфоцитов [31].

Основываясь на функции *WNT9B*, можно предположить, что нарушения в работе могут способствовать снижению пролиферативной активности

лимфоцитов или ингибированию апоптоза и сохранению ЦН в лимфоцитах крови.

Данные о взаимосвязи ИИ и функционировании *WNT9B* получены нами впервые. При этом есть информация, что WNT-сигнальный путь регулирует радиорезистентность опухолевых клеток [32]. Более того, передача сигналов WNT участвует в радиорезистентности опухолевых стволовых клеток [9]. Wang J.F. et al. указывают, что путь WNT/β-катенина играет важную роль в радиопротекции [11]. Василец Ю.Д. и соавт. показали, что ИИ индуцировало ядерную транслокацию и накопление β-катенина [33]. Wang P. et al. обнаружили, что WNT/β-катенин может играть важную роль в стимулировании аномальной пролиферации и миграции эпителиальных клеток хрусталика после облучения низкими дозами ИИ [34].

Помимо этого, имеются данные о связи WNT-сигнального пути, а в ряде работ и *WNT9B*, с различного рода заболеваниями [35, 36], в том числе и злокачественными новообразованиями [37–39].

Эти факты заметно усложняют любое определение точной функции пути WNT. Однако неоспоримо, что путь WNT/β-катенина играет важную роль в предотвращении повреждений, вызванных ИИ.

И aberrantная передача сигналов WNT приводит к широкому спектру патологий у людей [11].

Ген *WNT9B* мало изучен, однако имеющиеся данные позволяют предположить его активное участие во многих процессах, связанных с защитным действием от воздействия ИИ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенного исследования выявлен ОНП гена *WNT9B rs1530364*, который может рассматриваться в качестве потенциального маркера повышенного уровня ИРЧ. Для работников ОИИИ показано, что мажорный генотип *rs1530364* ассоциирован с повышенной частотой кольцевых хромосом при хроническом профессиональном облучении ИИ в диапазоне доз 100–500 мГр. Для подтверждения выявленных ассоциаций необходимы дальнейшие валидационные исследования на расширенной выборке людей, подвергавшихся долговременному техногенному профессиональному облучению ИИ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Rim E.Y., Clevers H., Nusse R. The Wnt Pathway: From Signaling Mechanisms to Synthetic Modulators. *Ann. Rev. Biochem.* 2022;91(1):571–598. <http://doi.org/10.1146/annurev-biochem-040320-103615>
- Niehrs C. The complex world of WNT receptor signalling. *Nat. Rev. Molec. Cell Biol.* 2012;13(12): 767–779. <http://doi.org/10.1038/nrm3470>
- van Amerongen R., Nusse R. Towards an integrated view of WNT signaling in development. *Development.* 2009;136(19):3205–3214. <http://doi.org/10.1242/dev.033910>
- Nusse R., Clevers H. WNT/ β -Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities. *Cell.* 2017;169:985–999. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.016>
- Lacombe J., Zenhausem F. Effect of mechanical forces on cellular response to radiation. *Radiother. Oncol.* 2022;176:187–198. <http://doi.org/10.1016/j.radonc.2022.10.006>
- Dong Z., Zhou L., Han N., et al. WNT/ β -catenin pathway involvement in ionizing radiation-induced invasion of U87 glioblastoma cells. *Strahlenther Onkologie.* 2015;191(8):672–680. <http://doi.org/10.1007/s00066-015-0858-7>
- Yang Y., Zhou H., Zhang G., et al. Targeting the canonical WNT/ β -catenin pathway in cancer radioresistance: Updates on the molecular mechanisms. *J. Cancer Res. Therap.* 2019;15(2):272–277. http://doi.org/10.4103/jcr.t.JCRT_421_18
- Woodward W.A., Chen M.S., Behbod F., et al. WNT/ β -catenin mediates radiation resistance of mouse mammary progenitor cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2007;104(2):618–623. <http://doi.org/10.1073/pnas.0606599104>
- Chen M.S., Woodward W.A., Behbod F., et al. WNT/ β -catenin mediates radiation resistance of Sca1+ progenitors in an immortalized mammary gland cell line. *J. Cell Sci.* 2007;120(3):468–477. <http://doi.org/10.1242/jcs.03348>
- Xiao Q., Chen Z., Jin X., et al. The many postures of noncanonical WNT signaling in development and diseases. *Biomed. & Pharmacother.* 2017;93:359–369. <http://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.06.061>
- Wang J.F., Liu C., Zhang Q., et al. Research progress in the radioprotective effect of the canonical WNT pathway. *Cancer Biol. Med.* 2013;10(2):61. <http://doi.org/10.7497/j.issn.2095-3941.2013.02.001>
- Watson R.L., Spalding A.C., Zielske S.P., et al. GSK-3 β and β -catenin modulate radiation cytotoxicity in pancreatic cancer. *Neoplasia.* 2010;12(5):357–65. <http://doi.org/10.1593/neo.92112>
- Аклеев А.В. Реакции тканей на хроническое воздействие ионизирующего излучения. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2009;49(1):5–20. [Akleev A.V. Reakcii tkanej na hronicheskoe vozdejstvie ioniziruyushchego izlucheniya. *Radiation Biology. Radioecology.* 2009;49(1):5–20. (In Russ.)]
- Алексанин С.С. Закономерности формирования соматической патологии в отдаленном периоде после аварии на Чернобыльской АЭС и опыт оказания адресной медицинской помощи ликвидаторам после аварии. *Медико-биологические проблемы жизнедеятельности.* 2010;1(3):128–134. [Aleksanin S.S. Zakonomernosti formirovaniya somaticheskoy patologii v otdalennom periode posle avarii na Chernobyl'skoj AES i opyt okazaniya adresnoj medicinskoj pomoshchi likvidatoram posle avarii. *Medical and Biological Problems of Life Activity.* 2010;1(3):128–134. (In Russ.)]
- Barnett G.C., Coles C.E., Elliott R.M., et al. Independent validation of genes and polymorphisms reported to be associated with radiation toxicity: a prospective analysis study. *Lancet Oncol.* 2012;13(1):65–77. [http://doi.org/10.1016/S1470-2045\(11\)70302-3](http://doi.org/10.1016/S1470-2045(11)70302-3)
- Литвяков Н.В., Карпов А.Б., Тахауов Р.М. и др. Генетические маркеры индивидуальной радиочувствительности человека. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2011. 186 с. [Litviakov N.V., Karpov A.B., Tahauov R.M., i dr. Geneticheskie markyory individual'noj radiochuvstvitel'nosti cheloveka. Tomsk: Izdatel'stvo Tomskogo universiteta, 2011. 186 p. (In Russ.)]
- Takhauov R.M., Karpov A.B., Albach E.N., et al. The bank of biological samples representing individuals exposed to long-term ionizing radiation at various doses. *Biopreserv. Biobank.* 2015;13(2): 72–78. <http://doi.org/10.1089/bio.2014.0035>
- Литвяков Н.В., Фрейдин М.Б., Халюзова М.В., и соавт. Частота и спектр цитогенетических нарушений у работников Сибирского химического комбината. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2014;54(3):283–296. [Litviakov N.V., Frejdin M.B., Khalyuzova M.V. i soavt. Chastota i spektr citogeneticheskikh narushenij u rabotnikov Sibirskogo himicheskogo kombinata. *Radiation Biology. Radioecology.* 2014;54(3):283–296. (In Russ.)] <http://doi.org/10.7868/S0869803114030084>

19. Моссе И.Б. Лекции по радиационной генетике. Мн.: МГЭУ им. А.Д. Сахарова, 2005. 208 с. [Mosse I.B. Lekcii po radiacionnoj genetike. International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, 2005. 208 p. (In Russ.)]
20. Ингель Ф.И. Перспективы использования микроядерного теста на лимфоцитах крови человека, культивируемых в условиях цитокинетического блока. Ч. 2. Факторы среды и индивидуальные особенности в системе нестабильности генома человека. Дополнительные возможности теста. Методика проведения экспериментов и цитогенетического анализа. *Экол. генетика*. 2006;4(4):38–54. [Ingel' F.I. Perspektivy ispol'zovaniya mikroyadernogo testa na limfocitah krovi cheloveka, kul'tiviruemyh v usloviyah citokineticheskogo bloka. Chast' 2. Faktory sredy i individual'nye osobennosti v sisteme nestabil'nosti genoma cheloveka. Dopolnitel'nye vozmozhnosti testa. Metodika provedeniya eksperimentov i citogeneticheskogo analiza. *Ecological Genetics*. 2006;4(4):38–54. (In Russ.)]
21. Петин В.Г. Комбинированное биологическое действие ионизирующих излучений и других вредных факторов окружающей среды (научный обзор). *Радиация и риск (Бюлл. Национального радиационно-эпидемиологического регистра)*. 2001;12:117–134. [Petin V.G. Kombinirovannoe biologicheskoe dejstvie ioniziruyushchih izluchenij i drugih vrednyh faktorov okruzhayushchej sredy (nauchnyj obzor). *Radiation and Risk (Bulletin of the National Radiation and Epidemiological Registry)*. 2001;12:117–134 (In Russ.)]
22. Тихонов М.Н. Влияние малых доз ионизирующей радиации на здоровье человека. *Экология пром. производства*. 2011;2:27–39. [Tihonov M.N. Vliyanie malyh doz ioniziruyushchej radiacii na zdorov'e cheloveka. *Ekologiya promyshlennogo proizvodstva*. 2011;2:27–39. (In Russ.)]
23. Аржавкина Л.Г., Харченко Т.В. Соматические мутации в некоторых профессиональных когортах. *Изв. Рос. воен.-мед. академии*. 2020;39(S3-1):9–13. [Arzhavkina L.G., Kharchenko T.V. The somatic mutations impact in some professional cohorts. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2020;39(S3-1):9–13. (In Russ.)]
24. Jain R., Dharma R.M., Dinesh M.R., et al. Association of WNT9B rs1530364 and WNT5A rs566926 Gene Polymorphisms with Nonsyndromic Cleft lip and Palate in South Indian Population using Deoxyribonucleic Acid Sequencing. *Contemporary Clinical Dentistry*. 2020;11(1):60–66. http://doi.org/10.4103/ccd.ccd_90_19
25. Maili L., Letra A., Silva R., et al. PBX-WNT-P63-IRF6 pathway in nonsyndromic cleft lip and palate. *Birth Defects Research*. 2020;112(3):234–244. <http://doi.org/10.1002/bdr2.1630>
26. Fontoura C., Silva R.M., Granjeiro J.M., et al. Association of WNT9B Gene Polymorphisms With Nonsyndromic Cleft Lip With or Without Cleft Palate in Brazilian Nuclear Families. *Cleft Palate-Craniofacial J*. 2015;52(1):44–48. <http://doi.org/10.1597/13-146>
27. Letra A., Maili L., Mulliken J.B., et al. Further evidence suggesting a role for variation in ARHGAP29 variants in nonsyndromic cleft lip/palate. *Birth Defects Research. Part A, Clinical and molecular teratology*. 2014;100(9):679–685. <http://doi.org/10.1002/bdra.23286>
28. Исубакова Д.С., Халюзова М.В., Литвяков Н.В. и соавт. Цитогенетические нарушения в лимфоцитах крови у работников Сибирского химического комбината, подвергавшихся профессиональному облучению. *Радиац. биология. Радиоэкология*. 2021;61(4):353–366. [Isubakova D.S., Khalyuzova M.V., Litviakov N.V. i soavt. Citogeneticheskie narusheniya v limfocitah krovi u rabotnikov Sibirskogo himicheskogo kombinata, podvergavshihся professional'nomu oblucheniyu. *Radiation Biology. Radioecology*. 2021;61(4):353–366. (In Russ.)] <http://doi.org/10.31857/S0869803121040056>
29. Clevers H. WNT/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell*. 2006;127(3):469–480. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2006.10.018>
30. Regard J.B., Malhotra D., Gvozdenovic-Jeremic J., et al. Activation of Hedgehog signaling by loss of GNAS causes heterotopic ossification. *Nat. Med*. 2013;19(11):1505–1512. <http://doi.org/10.1038/nm.3314>
31. Wallace J., Narasipura S.D., Sha B.E., et al. Canonical WNTs Mediate CD8⁺ T Cell Noncytolytic Anti-HIV-1 Activity and Correlate with HIV-1 Clinical Status. *J. Immunol*. 2020;205(8):2046–2055. <http://doi.org/10.4049/jimmunol.1801379>
32. Zhao Y., Tao L., Yi J., et al. The Role of Canonical Wnt Signaling in Regulating Radioresistance. *Cell. Physiol. Biochem*. 2018;48(2):419–432. <http://doi.org/10.1159/000491774>
33. Василец Ю.Д., Арноцкая Н.Е., Кудрявцев И.А., Шевченко В.Е. Wnt-сигнальный каскад в патогенезе мультиформной глиобластомы. *Успехи молек. онкологии*. 2018;5(4):94–103. [Vasilets Yu.D., Arnotskaya N.E., Kudryavtsev I.A., Shevchenko V.E. WNT-signaling pathway in pathogenesis of glioblastoma multiforme. *Advances in Molecular Oncology*. 2018;5(4):94–103. (In Russ.)] <http://doi.org/10.17650/2313-805X-2018-5-4-94-103>
34. Wang P., Li Y.W., Lu X., et al. Low-dose ionizing radiation: Effects on the proliferation and migration of lens epithelial cells via activation of the Wnt/ β -catenin pathway. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen*. 2023;888:503637. <http://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2023.503637>
35. Lemire G., Zheng B., Ediae G.U., et al. Homozygous WNT9B variants in two families with bilateral renal agenesis/hypoplasia/dysplasia. *Am. J. Med. Genet*. 2021;185(10):3005–3011. <http://doi.org/10.1002/ajmg.a.62398>
36. Vandenberg M., Andlauer T.F.M., Zhou Y., et al. Genetic Variation in WNT9B Increases Relapse Hazard in Multiple Sclerosis. *Ann. Neurol*. 2021;89(5):884–894. <http://doi.org/10.1002/ana.26061>
37. Bergholz J., Xiao Z.X. Role of p63 in Development, Tumorigenesis and Cancer Progression. *Cancer Microenvironment*. 2012;5(3):311–322. <http://doi.org/10.1007/s12307-012-0116-9>

38. MacDonald B.T., Tamai K., He X. Wnt/beta-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev. Cell.* 2009;17(1):9-26.
<http://doi.org/10.1016/j.devcel.2009.06.016>
39. Lu S., Yakirevich E., Yang D., et al. WNT Family Member 9b (WNT9b) Is a New Sensitive and Specific Marker for Breast Cancer. *Am. J. Surg. Pathol.* 2021;45(12):1633–1640.
<http://doi.org/10.1097/PAS.0000000000001784>

Association of *WNT* Gene Polymorphism with Frequency of Cytogenetic Disorders under the Action of Ionizing Radiation

D. S. Isubakova^{1,*}, N. V. Litviakov^{1,2}, O. S. Tsymbal¹, T. V. Vishnevskaya¹,
 M. Yu. Tsyplenkova¹, I. V. Milto^{1,3}, R. M. Takhauov^{1,3}

¹Seversk Biophysical Research Center, Seversk, Russia

²Tomsk National Research Medical Center

of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

³Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

*E-mail: mail@sbrc.seversk.ru, isubakova.daria@yandex.ru

The paper presents the results of a study of the association of single nucleotide polymorphisms of the *WNT* genes with an increased frequency of cytogenetic disorders in the blood lymphocytes of workers at an ionizing radiation facility exposed to long-term radiation exposure at doses of 100–500 mGy. The object of the study was the blood of 95 apparently healthy workers who were subjected to long-term technogenic external exposure to γ -radiation in doses from 100 to 500 mGy in the course of their professional activities. For all examined individuals, a standard cytogenetic analysis of blood lymphocytes was performed. Genomic DNA was isolated from workers' blood lymphocytes using a "QIAamp DNA Blood mini Kit" (Qiagen, Germany). DNA was genotyped for 116 single nucleotide polymorphisms of the *WNT* genes using high-density "CytoScan™ HD Array" (Affymetrix, USA) chips (DNA chips). Taking into account the Bonferroni correction, an association of single nucleotide polymorphisms of the *WNT* genes with a high frequency of circular chromosomes in blood lymphocytes was established, all other types of cytogenetic disorders did not show statistical significance. As a result of the study, a single nucleotide polymorphism of the *WNT9B* gene *rs1530364* was identified, which can be considered as a potential marker of individual radiosensitivity.

Keywords: ionizing radiation, chromosomal aberrations, single nucleotide polymorphism, microarray analysis

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Исубакова Дарья Сергеевна (Isubakova Daria Sergeevna),
isubakova.daria@yandex.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-5032-9096>

Литвяков Николай Васильевич (Litviakov Nikolay Vasilievich), nvlitv72@yandex.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-0714-8927>

Цымбал Ольга Сергеевна (Tsymbal Olga Sergeevna),
olga-tsymbal@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2311-0451>

Вишневская Татьяна Валерьевна (Vishnevskaya Tatyana Valerievna), vishnevskaya_seversk@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-2264-0546>

Цыпенкова Мария Юрьевна (Tsyplenkova Maria Yurievna), mariatsyplenkova@yandex.ru,
<https://orcid.org/0009-0001-9932-0180>

Мильто Иван Васильевич (Milto Ivan Vasilievich),
milto_bio@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9764-4392>

Тахауов Равиль Манихович (Takhauov Ravil Manikhovich), niirm2007@yandex.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-1994-957X>

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

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи. The authors declare that there are no obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках государственного задания, тема НИР "Изучение связи однонуклеотидных полиморфизмов генов клеточного цикла с частотой хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови работников Сибирского химического комбината".