

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ИММУННОГО ОТВЕТА У ЛИЦ, ПОДВЕРГШИХСЯ ХРОНИЧЕСКОМУ РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ, В ОТДАЛЁННЫЕ СРОКИ

© 2019 г. А. А. Аклеев^{1,3*}, В. С. Никифоров^{1,2}, Е. А. Блинова^{1,2},
И. И. Долгушин³

*E-mail: andrey.akleev@yandex.ru

¹ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины» ФМБА России, Челябинск, Россия;

²ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия;

³ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия

Поступила: 25.03.2019. Принята: 08.04.2019

В отдалённые сроки у облучённых людей регистрировалось снижение уровня транскрипционной активности гена NF-κB1 и повышение уровня экспрессии гена PAD4. Учитывая зависимость некоторых показателей иммунитета от уровней экспрессии генов NF-κB1 и PAD4 можно полагать, что изменения иммунитета у облучённых людей в отдалённые сроки могут быть опосредованы изменениями транскрипционной активности генов.

Ключевые слова: иммунитет, радиация, экспрессия генов

DOI: 10.31857/S102872210006479-1

Адрес: 454092 Челябинск, ул. Воровского, 64, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Аклеев Андрей Александрович. Тел.: +7(351)2327456; +79043011682 (моб.).

E-mail: andrey.akleev@yandex.ru

Авторы:

Аклеев А. А., к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия; с.н.с. лаборатории молекулярно-клеточной радиобиологии ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины» ФМБА России, Челябинск, Россия;

Никифоров В. С., м.н.с. лаборатории молекулярно-клеточной радиобиологии ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины» ФМБА России, Челябинск, Россия; аспирант кафедры радиационной биологии ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия;

Блинова Е. А., к.б.н., заведующая лабораторией молекулярно-клеточной радиобиологии ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины» ФМБА России, Челябинск, Россия; доцент кафедры радиационной биологии ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия;

Долгушин И. И., академик РАН, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия.

Многие клеточные процессы, задействованные в поддержании генетического гомеостаза организма после облучения, включая иммунный ответ, генетически детерминированы. В ответ на малые дозы радиации и облучение с низкой мощностью дозы повышается экспрессия целого ряда генов, в том числе генов, вовлечённых в сигнальные пути, регулирующие функции различных субпопуляций лимфоцитов, секрецию цитокинов, факторов роста и других, которые позволяют облучённым клеткам и тканям восстановить генетический гомеостаз. Однако в ряде случаев повышенная экспрессия генов вовлечена в патогенез отдалённых радиационных эффектов [1], в том числе таких, как злокачественные новообразования и болезни сердечно-сосудистой системы.

Вследствие этого целью настоящей работы была оценка экспрессии ряда генов, участвующих в регуляции системного иммунитета, у облучённых лиц в период реализации отдалённых последствий радиационного воздействия.

Основную группу составили 58 облучённых лиц – жителей прибрежных сёл реки Течи, подвергшихся хроническому радиационному воз-

действию, группу сравнения – 50 необлучённых человек, проживавших в тех же административно-территориальных образованиях. Накопленные дозы облучения красного костного мозга (ККМ) – центрального органа иммуногенеза, в основной группе варьировали от 0,08 до 3,51 Гр ($0,75 \pm 0,08$ Гр). Обследованные лица обеих групп были представлены, главным образом, женщинами, преимущественно, пожилого возраста. Все люди, включённые в исследование, предварительно давали информированное согласие в письменном виде. Исследование проводили на базе ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины» ФМБА России (г. Челябинск). Для определения транскрипционной активности генов STAT3, GATA3, MAPK8, NF- κ B1 и PAD4 использовали РНК, экстрагированную из мононуклеаров периферической крови колоночным методом, на основе которой в реакции обратной транскрипции получали комплементарную ДНК (кДНК). Анализ уровня экспрессии генов проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ОТ-ПЦР). Для оценки иммунного статуса у обследованных лиц в крови определяли число нейтрофилов, моноцитов, CD19⁺, CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов, оценивали фагоцитарную, лизосомальную активность и интенсивность внутриклеточного кислородзависимого метаболизма нейтрофилов и моноцитов, а также содержание IgM, IgG, IgA в сыворотке крови и уровни сывороточных цитокинов (ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН γ , ФНО α). Исследование регуляторной активности генов STAT3, GATA3 и MAPK8 у облучённых лиц и в группе сравнения не выявило статистически значимых различий. Вместе с тем, уровни экспрессии гена NF- κ B1 были существенно ниже ($p=0,003$) у облучённых людей относительно группы сравнения, а гена PAD4, напротив, существенно выше ($p=0,05$). По данным корреляционного анализа не было установлено статистически значимой зависимости транскрипционной активности генов NF- κ B1 и PAD4 от величины накопленной дозы облучения ККМ. Интерес также представляла оценка тех показателей системного иммунитета у облучённых людей, которые определяются регуляторной активностью генов NF- κ B1 и PAD4. Для этого в сравниваемых группах методами корреляционного и регрессионного анализа оценивалась зависимость показателей системного иммунитета, характеризующих состояние сигнальных

путей, в которые вовлечены белковые продукты генов NF- κ B1 и PAD4 [2], от уровня экспрессии этих генов. Корреляционный анализ в группе облучённых людей показал отсутствие статистически значимых зависимостей количества CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD19⁺ лимфоцитов, уровней сывороточных IgM, IgG, IgA и содержания ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО α и ИФН γ от транскрипционной активности гена NF- κ B1. В группе сравнения регистрировалась умеренная положительная корреляционная зависимость абсолютного количества CD19⁺ лимфоцитов в крови ($R=0,29$; $p=0,05$) от уровня экспрессии гена NF- κ B1. В то же время содержание сывороточных IgG и IgM умеренно отрицательно коррелировало с транскрипционной активностью гена NF- κ B1, коэффициенты корреляции составили, соответственно, $-0,41$ ($p=0,007$) и $-0,33$ ($p=0,04$). Регрессионный анализ подтвердил, что содержание IgG в сыворотке крови лиц группы сравнения находилось в умеренной обратной зависимости от уровня экспрессии гена NF- κ B1. Однако не было установлено статистически значимых регрессионных зависимостей между количеством CD19⁺ лимфоцитов в крови и содержанием сывороточного IgM от уровня экспрессии гена NF- κ B1 у лиц группы сравнения. В группе облучённых лиц отмечена лишь умеренная положительная корреляция между интенсивностью внутриклеточного кислородзависимого метаболизма нейтрофилов по данным индуцированного НСТ-теста ($R=0,35$; $p=0,01$) и уровнем экспрессии гена PAD4 (регрессионный анализ не позволил выявить достоверной зависимости). Для других иммунологических показателей (абсолютное число нейтрофилов, моноцитов в крови, фагоцитарная, лизосомальная активность, спонтанная интенсивность внутриклеточного кислородзависимого метаболизма нейтрофилов и моноцитов, уровни сывороточных ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО α и ИФН γ) статистически значимых зависимостей от транскрипционной активности гена PAD4 в группе облучённых лиц установлено не было. Так же не было зарегистрировано взаимосвязей между вышеперечисленными иммунологическими показателями и уровнем экспрессии гена PAD4 у лиц группы сравнения.

Результаты настоящего исследования свидетельствовали о том, что хроническое радиационное воздействие с преимущественным облучением ККМ человека может длительно модифицировать транскрипционную активность

иммунорегуляторных генов, таких как NF-κB1 и PAD4 и, как следствие, модулировать иммунные ответы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Шуленина Л. В., Ушенкова Л. Н., Ледин Е. В., Шагирова Ж. М., Раева Н. Ф., Засухина Г. Д., Михайлов В. Ф. Экспрессия генов P53, NPM1, Kras, c-Myc, P14ARF в крови онкологических больных до и после лучевой терапии. Радиационная биология. Радиоэкология. 2012, 52 (6), 572–581. [Shuleniina L. V., Ushenkova L. N., Ledin E. V., Shagirova J. M., Raeva N. F., Zasukhina G. D., Mikhailov V. F. Expression of P53, NPM1, Kras, c-Myc, p14ARF Genes in Blood Cells of Cancer Patients Before and After Radiation Therapy. Radiation Biology. Radioecology. 2012, 52 (6), 572–581].
2. Database of metabolic pathways KEGG PATHWAY Database. 2018. URL: <http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>.

EXPRESSION OF IMMUNE RESPONSE GENES IN CHRONICALLY IRRADIATED PERSONS AT LATE PERIOD AFTER EXPOSURE

© 2019 A. A. Akleyev^{1,3*}, V. S. Nikiforov^{1,2}, E. A. Blinova^{1,2}, I. I. Dolgushin³

*E-mail: andrey.akleev@yandex.ru

¹Urals Research Center for Radiation Medicine of the FMBA of Russia, Chelyabinsk, Russia;

²Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia;

³Southern-Urals State Medical University of the RF Ministry of Public Health, Chelyabinsk, Russia

Received: 25.03.2019. Accepted: 08.04.2019

At late period after exposure a decrease in the level of NF-κB1 gene expression and an increase in the level of PAD4 gene expression were registered in exposed persons. Considering the dependence of some immunity parameters on the levels of NF-κB1 and PAD4 gene expression, it can be assumed that changes in the immunity of exposed persons in the remote period can be mediated by changes in transcriptional activity of genes.

Key words: immunity, radiation, gene expression

Authors:

Akleyev A. A., M.D., PhD, Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia; Senior researcher of Molecular-cell Radiobiology Laboratory, Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia. **E-mail:** andrey.akleev@yandex.ru;

Nikiforov V. S., Junior researcher of Molecular-cell Radiobiology Laboratory, Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia; Postgraduate student of the Department of Radiation Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia;

Blinova E. A., PhD, Head of Molecular-cell Radiobiology Laboratory, Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia; Associate Professor of the Department of Radiation Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia;

Dolgushin I. I., M.D., Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics Department, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia.