

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ С НЕКОТОРЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА У ЛИЦ, ПОДВЕРГШИХСЯ ХРОНИЧЕСКОМУ РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ

© 2019 г. Е. А. Блинова^{1,2}, А. А. Аклеев^{1,3*}, А. И. Котикова¹, М. А. Янишевская²

*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: 10.04.2019

Выявлена связь полиморфных участков rs2239815 гена *MAPK8*, rs1053023 гена *STAT3*, rs4143094 гена *GATA3* и rs28362491 гена *NF-kB1* с абсолютным и относительным количеством CD19⁺ лимфоцитов, абсолютным и относительным числом CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов, а также с абсолютным содержанием CD3⁺ и CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов в крови у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию.

Ключевые слова: адаптивный иммунитет, радиация, однонуклеотидный полиморфизм

DOI: 10.31857/S102872210006478-0

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:

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;

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; старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной радиобиологии ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины» ФМБА России, Челябинск, Россия;

Котикова А. И., старший лаборант лаборатории молекулярно-клеточной радиобиологии ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины» ФМБА России, Челябинск, Россия;

Янишевская М. А., магистрант кафедры радиационной биологии ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия.

Ответы иммунной системы на воздействие ионизирующей радиации обнаруживают индивидуальную вариабельность, что может быть обусловлено вариабельностью в экспрессии генов иммунного ответа и определяться генетическим полиморфизмом. Крупномасштабные международные исследования по полногеномному поиску ассоциаций (GWAS) между признаками и генетическими маркерами свидетельствуют об определённом вкладе однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) в формирование того или иного признака, а также об их вкладе в повышение риска развития ряда заболеваний, в том числе онкологических [1]. Находясь в кодирующей части генома, ОНП могут приводить к изменениям структурных и функциональных свойств кодируемого белка, а, располагаясь в некодирующей области (энхансерах, донорах сплайсинга и акцепторных сайтах интронов), приводить к изменению уровня экспрессии генов [2]. Из этого следует, что определённые ОНП могут модифицировать иммунные ответы на радиационное воздействие и тем самым повышать

риск формирования отдалённых последствий облучения. Таким образом, определение роли генетической компоненты в модификации иммунных ответов на радиационное воздействие может способствовать пониманию механизмов формирования отдалённых медицинских эффектов облучения и выявлению ключевых маркеров индивидуальной радиочувствительности человека.

В связи с этим, целью работы являлось установление связи носительства однонуклеотидных полиморфных участков генов *MAPK8*, *STAT3*, *GATA3* и *NF-kB1* с количественными показателями адаптивного иммунитета в отдалённые сроки у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию.

Работу проводили на базе ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины» ФМБА России (г. Челябинск). Исследуемая группа включала 384 облучённых человека (124 мужчины и 260 женщин) – жителей прибрежных сёл реки Течи. Выбор иммунологических показателей, с которыми могут быть ассоциированы полиморфные участки кандидатных генов, проводили на основе анализа молекулярных путей, в которые вовлечены исследуемые гены [3]. Все пациенты, включённые в исследование, подписывали добровольное информированное согласие.

В качестве показателей адаптивного иммунитета методом CD-типирования в крови оценивали абсолютное и относительное количество лимфоцитов с фенотипами: CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD19⁺, рассчитывали иммунорегуляторный индекс (CD4⁺/CD8⁺). Для этих целей использовали стандартную панель моноклональных антител (Beckman Coulter, США). Анализ численности субпопуляций лимфоцитов проводили на проточном цитометре Navios (Beckman Coulter, США). Генотипирование образцов проводили по четырём полиморфным участкам генов: *MAPK8* rs2239815, *STAT3* rs1053023, *GATA3* rs4143094 и *NF-kB1* rs28362491. Для генотипирования использовали ДНК, выделенную из замороженных при –80 °С образцов крови. Детекцию результатов осуществляли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени на приборе «Applied Biosystems Step One Plus» (США) с использованием наборов реагентов «ФЛЭШ» (ТестГен, Россия).

Оценка связи полиморфного участка rs2239815 гена *MAPK8* с количеством иммунокомпетентных клеток у лиц, подвергшихся хроническому

радиационному воздействию, позволила выявить более высокие показатели абсолютного ($p=0,04$) и относительного ($p=0,02$) количества CD19⁺ лимфоцитов у носителей минорного аллеля С. Согласно рецессивной модели у носителей минорного гомозиготного генотипа С/С абсолютное количество CD19⁺ лимфоцитов было ниже по сравнению с носителями гомозиготного генотипа Т/Т и гетерозиготного генотипа Т/С ($p=0,04$). В соответствии с доминантной моделью, для носителей минорного аллеля С (генотипы Т/С и С/С) относительное количество CD19⁺ лимфоцитов также было ниже относительно носителей генотипа Т/Т ($p=0,02$). Исследование связи полиморфного участка rs1053023 гена *STAT3* с показателями адаптивного иммунитета позволило выявить статистически значимые связи с количеством CD3⁺ и CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов. Согласно рецессивной модели у носителей минорного генотипа С/С наблюдалось более высокое содержание CD3⁺ ($p=0,02$) и CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов в крови ($p=0,04$) по сравнению с носителями генотипов Т/Т и Т/С. Также регистрировалась связь носительства полиморфного участка rs4143094 гена *GATA3* с количеством CD3⁺ и CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов в крови. У носителей гомозиготного генотипа С/С наблюдалось более высокое абсолютное содержание CD3⁺ лимфоцитов ($p=0,009$) и CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов ($p=0,007$) в крови по сравнению с носителями аллеля А (генотипы А/А и А/С). У лиц, не имеющих делеции в регуляторном участке rs28362491 гена *NF-kB1*, наблюдалось сниженное относительное количество CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов ($p=0,02$) в крови по сравнению с лицами, имеющими делецию (генотипы Ins/Del и Del/Del).

Белковые продукты генов *MAPK8*, *STAT3*, *GATA3* и *NF-kB1* являются транскрипционными факторами и непосредственно регулируют процессы пролиферации, созревания и дифференцировки CD3⁺ и CD19⁺ лимфоцитов. Таким образом, можно сделать заключение, что исследуемые полиморфные участки rs2239815 (*MAPK8*), rs28362491 (*NF-kB1*), rs1053023 (*STAT3*), rs4143094 (*GATA3*) влияют на количественные показатели CD3⁺, CD4⁺ и CD19⁺ лимфоцитов. Однако, чтобы сделать однозначный вывод о роли генетической компоненты в модификации иммунных ответов у облучённых лиц, необходимо минимизировать влияние фактора дозы облучения ККМ путём увеличения группы облучённых лиц.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Visscher P. M., Brown M. A., McCarthy M. I., Yang J.* Five years of GWAS discovery. *Am J. Hum. Genet.* 2012, 13, 90 (1), 7–24.
2. Подколотный Н. Л., Афонников Д. А., Васькин Ю. Ю., Брызгалов Л. О., Иванисенко В. А., Деменков П. С., Пономаренко М. П., Рассказов Д. А., Гунбин К. В., Процук И. В., Шутков И. Ю., Леонтьев П. Н., Фурсов М. Ю., Бондарь Н. П., Антонцева Е. В., Меркулова Т. И., Колчанов Н. А. Программный комплекс SNP-MED для анализа влияния однонуклеотидных полиморфизмов на функцию генов, связанных с развитием социально значимых заболеваний. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013, 17, 4/1, 577–588. [*Podkolodnyy N. L., Afonnikov D. A., Vaskin Yu. Yu., Bryzgalov L. O., Ivanisenko V. A., Demenkov P. S., Ponomarenko M. P., Rasskazov D. A., Gunbin K. V., Protsyuk I. V., Shutov I. Yu., Leontyev P. N., Fursov M. Yu., Bondar N. P., Antontseva E. V., Merkulova T. I., Kolchanov N. A.* The SNP-MED system for analysis of the effect of single-nucleotide polymorphisms on the function of genes associated with socially significant diseases. *Vavilovskii zhurnal genetiki i seleksii.* 2013, 17, 4/1, 577–588]
3. Database of metabolic pathways KEGG PATHWAY Database. 2018. URL: <http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>.

ASSOCIATION OF GENE POLYMORPHISMS WITH SOME INDICATORS OF ADAPTIVE IMMUNITY IN CHRONICALLY EXPOSED PERSONS

© 2019 Е. А. Blinova^{1,2}, А. А. Akleyev^{1,3*}, А. И. Kotikova¹,
М. А. Yanishevskaya²

*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: 10.04.2019

Associations between polymorphic sites rs2239815 of gene *MAPK8*, rs1053023 of gene *STAT3*, rs4143094 of gene *GATA3*, rs28362491 of gene *NF-kB1* with the absolute and relative number of CD19⁺ lymphocytes, CD3⁺CD4⁺ lymphocytes and with the absolute content of CD3⁺ and CD3⁺CD8⁺ lymphocytes were registered in exposed persons.

Key words: adaptive immunity, radiation, single nucleotide polymorphism

Authors:

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;

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;

Kotikova A. I., senior laboratory assistant of Molecular-cell Radiobiology Laboratory, Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia;

Yanishevskaya M. A., undergraduate of the Department of Radiation Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia.