

УДК 616-092

Однонуклеотидные полиморфизмы как биомаркеры отдалённых радиационно-индуцированных изменений системного иммунитета

Аклеев А.А.^{1,2}, Блинова Е.А.^{2,3}, А.В. Аклеев А.В.^{2,3}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 454092, Челябинск, ул. Воровского, д. 64

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Уральский научно-практический Центр Радиационной Медицины» Федерального медико-биологического агентства России. 454141, Челябинск, ул. Воровского, д. 68А

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет». 454001 г. Челябинск, ул. Братьев Кашириных, д. 129

Актуальность. Поиск молекулярно-генетических предикторов злокачественных новообразований важен как для понимания патогенетических механизмов отдалённых последствий облучения человека в малых дозах и с низкой мощностью дозы, так и для персонализации их радиационного риска.

Цель. Исследовать связь однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) генов, регулирующих иммунные реакции, с показателями системного иммунитета у облученных людей в отдалённые сроки.

Методы. Через 60 и более лет после начала хронического облучения в широком диапазоне доз (диапазон индивидуальных значений: 0,08-4,46 Гр) обследовано 384 жителя прибрежных сел реки Течи. Проанализировано влияние носительства ОНП генов (PAD4 rs874881, MPO rs2333227, NOX2 rs4673, а также IL1b rs1143634, IL2 rs2069762, IL4 rs2070874, IL6 rs1800795, IL8 rs4073, IL10 rs1800871, IL10 rs1800872, TNFa rs361525, MAPK8 rs2239815, STAT3 rs1053023, GATA3 rs4143094 и NF-κB1 rs28362491) на показатели системного иммунитета.

Результаты. Установлено модифицирующее влияние полиморфных вариантов генов MAPK8 rs2239815, NF-κB1 rs28362491, STAT3 rs1053023 и GATA3 rs4143094 на численность основных субпопуляций лимфоцитов в периферической крови; IL10 rs1800872 и PAD4 rs874881, соответственно, – на содержание сывороточных ИЛ-10 и ФНО-α. Полиморфизмы IL2 rs2069762, IL6 rs1800795, IL12 rs3212227 и MPO rs2333227 оказывали модифицирующее влияние на функциональное состояние иммунокомпетентных клеток у облученных людей в отдалённые сроки.

Заключение. Однонуклеотидные полиморфизмы генов, вовлеченные в регуляцию иммунитета, могут рассматриваться в качестве потенциальных биомаркеров, ассоциированных с радиационно-индуцированными изменениями системного иммунитета, и предикторов отдалённых последствий облучения человека, прежде всего, злокачественных новообразований.

Ключевые слова: биомаркеры; однонуклеотидные полиморфизмы; иммунная система; радиация; отдалённые последствия.

Для цитирования: Аклеев А.А., Блинова Е.А., А.В. Аклеев А.В. Однонуклеотидные полиморфизмы как биомаркеры отдалённых радиационно-индуцированных изменений системного иммунитета. Патогенез 2021; 19(3): 38-49.

DOI: 10.25557/2310-0435.2021.03.38-49

Для корреспонденции: Аклеев Андрей Александрович, e-mail: andrey.akleev@yandex.ru

Финансирование. Работа была выполнена по контракту № 27.501.19.2 от 08.07.2019 г. в рамках Федеральной целевой программы «Обеспечение ядерной и радиационной безопасности на 2016 – 2020 годы и на период до 2030 года».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Авторы признательны заведующему отделом База данных «Человек» ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России Н.В. Старцеву за помощь в формировании исследуемой группы.

Поступила: 27.05.2021.

Single-nucleotide polymorphisms as biomarkers of long-term radiation-induced changes in systemic immunity

Akleyev A.A.^{1,2}, Blinova E.A.^{2,3}, Akleyev A.V.^{2,3}

¹ South Ural State Medical University, Voroyskogo St. 64, Chelyabinsk 454092, Russian Federation

² Urals Research Center for Radiation Medicine of the Federal Biomedical Agency of Russia, Voroyskogo St. 68A, Chelyabinsk 454141, Russian Federation

³ Chelyabinsk State University, Brat'yev Kashirinykh St. 129, Chelyabinsk 454001, Russian Federation

Background. The search for molecular genetic predictors for malignant neoplasms is important for both understanding of pathogenetic mechanisms for long-term consequences of low dose and low dose rate exposure of people, and for personification of their radiation risk.

The aim was to study the connection of single-nucleotide polymorphisms (SNP) of genes regulating immune responses with systemic immune parameters in exposed persons in the long-term.

Methods. 384 residents of the Techa riverside settlements were examined 60 and more years after the onset of chronic exposure to a wide range of doses (range of individual values: 0.08-4.46 Gy). Effects of carrying SNP genes (PAD4 rs874881, MPO rs2333227, NOX2 rs4673, as well as IL1b rs1143634, IL2 rs2069762, IL4 rs2070874, IL6 rs1800795, IL8 rs4073, IL10 rs1800871, IL10 rs1800872, TNFa rs361525, MAPK8 rs2239815, STAT3 rs1053023, GATA3 rs4143094 and NF-κB1 rs28362491) on systemic immune parameters were studied.

Results. MAPK8 rs2239815, NF-κB1 rs28362491, STAT3 rs1053023 and GATA3 rs4143094 gene polymorphisms exerted a modifying effect on the number of main subpopulations of peripheral blood lymphocytes; IL10 rs1800872 and PAD4 rs874881, respectively, modified serum concentrations of IL-10 and TNFa. Polymorphisms IL2 rs2069762, IL6 rs1800795, IL12 rs3212227 and MPO rs2333227 modified the functional status of immunocompetent cells in exposed persons in the long-term.

Conclusion. Single-nucleotide polymorphisms of the genes involved in immune regulation can be considered as potential biomarkers associated with radiation-induced changes in the systemic immunity and as predictors for long-term consequences in exposed persons, primarily for malignant neoplasms.

Key words: biomarkers; single-nucleotide polymorphisms; immune system; radiation; long-term effects.

For citation: Akleyev A.A., Blinova E.A., Akleyev A.V. [Single-nucleotide polymorphisms as biomarkers of long-term radiation-induced changes in systemic immunity]. *Patogenez [Pathogenesis]* 2021; 19(3): 38-49. (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2021.03.38-49

For correspondence: Andrey A. Akleyev; **e-mail:** andrey.akleev@yandex.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The authors are grateful to Nikolai V. Startsev, the Head of the «Data Base Man» Department of the Urals Research Center for Radiation Medicine of FMBA of Russia, for his assistance in the formation of the study group.

Accepted: 27.05.2021.

Введение

Результаты эпидемиологических исследований свидетельствуют о повышенном риске развития злокачественных новообразований у людей, подвергшихся воздействию ионизирующей радиации (ИР). У жителей прибрежных сел реки Течи, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, в отдалённые сроки также отмечена повышенная заболеваемость и смертность от злокачественных опухолей и лейкозов [1]. В этой связи исследование системного иммунитета у жителей прибрежных сел реки Течи, у которых вследствие инкорпорации ⁹⁰Sr в костной ткани наибольшие дозы облучения пришлись на красный костный мозг (ККМ), представляет особый интерес.

В отличие от ранних тканевых реакций человека на действие ИР, таких как местные лучевые поражения или острый лучевой синдром, патогенетические механизмы отдалённых эффектов остаются мало изученными [2]. Предполагается, что в патогенез отдалённых эффектов облучения человека вовлечено индуцированное ИР хроническое воспаление, обусловленное пострадиационными нарушениями системного иммунитета [3].

Показано, что отдалённые изменения системного иммунитета после облучения, в отличие от ранних иммунных ответов, не являются следствием радиационной гибели иммуноцитов. Состояние иммунной системы (ИС) в отдалённые сроки после хронического низкоинтенсивного облучения определяется комплексом таких факторов, как: восстановление числа и функционального состояния гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников в ККМ, атрофия тимуса, нарушение регуляции иммунных ответов, ускоренное старение иммунокомпетентных клеток (ИКК) и другими [2, 4]. Как показали наши ранее проведён-

ные исследования, у жителей прибрежных сел реки Течи в период реализации отдалённых последствий отмечались воспалительные изменения цитокинового спектра сыворотки крови [5].

В настоящее время доказано, что иммунные ответы, как и клеточные гомеостатические механизмы (репарация повреждений ядерной ДНК, блок клеточного цикла, апоптоз и др) являются генетически детерминированными и определяют генетическую стабильность организма после радиационного воздействия. Показана высокая значимость ИС в распознавании и элиминации клеток со стабильными нерепарированными повреждениями ядерной ДНК и клеток, претерпевших злокачественную трансформацию [4].

В этой связи особый интерес представляют молекулярно-генетические маркёры, ассоциированные с пострадиационным состоянием системного иммунитета человека, которые могут быть использованы для прогноза отдалённых последствий облучения. В качестве потенциальных маркёров рассматривали однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП) генов, которые вовлечены в регуляцию иммунной системы и определяют индивидуальную радиочувствительность человека [6]. Предполагается, что исследование функционального состояния ИС у облученных лиц и анализ связи ОНП с характерными для отдалённого пострадиационного периода изменениями системного иммунитета позволит идентифицировать иммуногенетические маркёры предрасположенности к отдалённым эффектам.

Целью настоящего исследования было изучение модифицирующего эффекта ОНП генов, регулирующих иммунные ответы, на показатели системного иммунитета у жителей прибрежных сел реки Течи, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, в отдалённые сроки.

Материалы и методы исследования

В исследовании приняли участие 384 человека (124 мужчины и 260 женщин), которые подверглись хроническому радиационному воздействию вследствие проживания в прибрежных населенных пунктах реки Течи. Все обследованные люди подверглись комбинированному внешнему гамма- и внутреннему облучению в результате загрязнения реки жидкими радиоактивными отходами (ЖРО) ПО «Маяк» [1]. Возрастной диапазон обследованных лиц составил $58 \div 88$ лет. Индивидуальные дозы облучения оценивали на основе дозиметрической системы реки Течи [1]. Среднее значение поглощенной дозы облучения ККМ у обследованных людей составило $1,08 \pm 0,04$ Гр (диапазон индивидуальных значений: $0,08 \div 4,46$ Гр). Индивидуальные значения дозы на тимус и периферические органы ИС были значительно ниже и находились, преимущественно, в диапазоне малых доз.

Исследование проводили через 60–68 лет (2010–2018 гг) после начала сбросов ЖРО в реку Течу. Исследуемые группы были сформированы на основе медико-дозиметрической Базы данных «Человек» ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА». Объектом исследования являлись лимфоциты периферической крови (ЛПК) и сывортка крови облученных людей.

Отбор кандидатных генов проводили на основе анализа интернет-баз данных полногеномных исследований Национального центра биотехнологической информации США (The National Center for Biotechnology Information) и базы данных молекулярных путей, в которые вовлечены исследуемые гены (KEGG PATHWAY Database [7]).

Количественную и качественную оценку образцов ДНК после экстракции из лимфоцитов проводили с помощью спектрофотометра «NanoDrop 2000» (Thermo Scientific, США). Генотипирование образцов и детекцию результатов осуществляли методом ПЦР в реальном режиме времени на приборе «Applied Biosystems Step One Plus» (Applied Biosystems, США) с использованием наборов реагентов «ФЛЭШ» (ТестГен, Россия). Анализ данных генотипирования проводили с использованием программы «Step One Software» (Applied Biosystems, США).

Проведен анализ связи ОНП генов, регулирующих иммунный ответ (*PAD4* rs874881, *MPO* rs2333227, *NOX2* rs4673, а также *IL1b* rs1143634, *IL2* rs2069762, *IL4* rs2070874, *IL6* rs1800795, *IL8* rs4073, *IL10* rs1800871, *IL10* rs1800872, *TNFa* rs361525, *MAPK8* rs2239815, *STAT3* rs1053023, *GATA3* rs4143094 и *NF-κB1* rs28362491) с количеством ИКК в периферической крови, функциональными показателями нейтрофилов и моноцитов, содержанием цитокинов в сывортке крови у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию. Выбор иммунологических показателей, с которыми могли быть ассоциированы ОНП кандидатных генов, проводили на основе анализа молекулярных путей, в ко-

торые вовлечены исследуемые гены, в соответствии с электронной базой данных KEGG PATHWAY [7].

Принимая во внимание, что носительство минорного (условно-патологического) аллеля может модифицировать функциональную активность конкретного гена, исследовали специфические фенотипические проявления у носителей минорного генотипа в сравнении с носителями мажорного.

Количество ИКК в периферической крови определяли с использованием автоматического гематологического анализатора «Pentra 120 DX» (HORIBA ABXS.A.S., Франция). Для количественного определения $CD3^+$, $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD19^+$, $CD16^+CD56^+$, $CD3^+CD16^+56^+$ и $CD95^+$ лимфоцитов в крови применяли метод CD-типирования на проточном цитометре «Navios» (Beckman Coulter, США) с использованием стандартной панели моноклональных антител (Beckman Coulter, США). Определение уровней цитокинов и иммуноглобулинов А, М и G в сывортке крови осуществляли с использованием тест-систем компаний «Вектор-Бест» (Россия) и «eBioscience» (США) на автоматическом микропланшетном ИФА-анализаторе «Lazurite» (DYNEX Technologies, США). Фагоцитарную, лизосомальную активность и состояние внутриклеточного кислородзависимого метаболизма нейтрофилов и моноцитов определяли при помощи стандартных методов, учет проводили с использованием микроскопа «Axio Imager. A2» (Carl Zeiss, Германия) в световом режиме.

Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи табличного редактора «Microsoft Excel 2010», пакета прикладных программ «Statistica 12.0» (StatSoft, США) и веб-инструмента «SNPStats». Отличия показателей считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования

В исследуемой группе не было выявлено отклонений частот генотипов по изучаемым локусам от равновесия Харди-Вайнберга.

Показатели системного иммунитета у облученных лиц в зависимости от генотипа по полиморфным участкам генов *MAPK8*, *NF-κB1*, *STAT3* и *GATA3*, кодирующих транскрипционные факторы, вовлеченные в регуляцию иммунной системы, представлены в табл. 1–5.

Содержание большинства ИКК и цитокинов у носителей разных генотипов по полиморфному участку rs2239815 гена *MAPK8* не отличалось (табл. 1). Согласно рецессивной модели у носителей минорного гомозиготного генотипа С/С абсолютное число $CD19^+$ лимфоцитов было статистически значимо ниже ($p = 0,040$) по сравнению с носителями гомозиготного генотипа Т/Т и гетерозиготного — Т/С. В соответствии с доминантной моделью, для носителей минорного аллеля С (генотипы Т/С и С/С) относительное количество $CD19^+$ лимфоцитов также было ниже ($p = 0,020$) в сравнении с носителями генотипа Т/Т.

В отдалённые сроки у облученных людей были выявлены статистически значимые особенности количества CD3⁺, CD3⁺CD4⁺ и CD16⁺CD56⁺ ЛПК в зависимости от генотипа по полиморфному участку rs1053023 гена *STAT3* (табл. 2). Согласно рецессивной модели у носителей минорного генотипа С/С наблюдалось более высокое абсолютное количество CD3⁺ ($p = 0,020$) и CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов ($p = 0,040$) в крови по сравнению с носителями генотипов Т/Т и Т/С. У них также регистрировалось более низкое содержание CD16⁺CD56⁺ лимфоцитов ($p = 0,040$) в сравнении с носителями генотипов Т/Т и Т/С.

У жителей прибрежных сел реки Течи была выявлена связь между снижением общего числа CD3⁺, CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов в крови и полиморфным участком rs4143094 гена *GATA3* (табл. 3). Согласно доминантной модели, у носителей генотипов А/С – А/А наблюдались более низкие значения абсолютного количества CD3⁺ ($p = 0,009$) и CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов ($p = 0,007$)

в крови по сравнению с носителями мажорного генотипа С/С.

Носительство генотипа Ins/Ins по полиморфному участку rs28362491 гена *NF-κB1* у облученных лиц было сопряжено лишь со сниженным относительным количеством CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов в крови (табл. 4). Так, у облученных людей, не имеющих делеции в регуляторном участке rs28362491 гена *NF-κB1* (генотипы Ins/Ins), наблюдалось более низкое среднее содержание CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов ($p = 0,020$) в крови по сравнению с людьми, имеющими делеции.

Таким образом, анализ связи показателей системного иммунитета у облученных людей с полиморфизмами генов, кодирующих транскрипционные факторы и принимающих участие в регуляции иммунной системы, позволяет сделать заключение о том, что исследуемые полиморфные участки rs2239815 гена *MAPK8*, rs28362491 гена *NF-κB1*, rs1053023 гена *STAT3* и rs4143094 гена *GATA3* способны оказывать влияние на содержание CD3⁺,

Таблица 1

Показатели системного иммунитета у облученных носителей полиморфного участка rs2239815 гена *MAPK8*

Показатель	Генотип*	M ± SE	Модель Различие [95% ДИ]
CD3 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	Т/Т-Т/С (187) С/С (34)	1,51 ± 0,05 1,48 ± 0,08	Рецессивная −0,03 [−0,25 – 0,20]
CD3 ⁺ лимфоциты, %	Т/Т-Т/С (192) С/С (35)	67,62 ± 0,73 68,94 ± 1,32	Рецессивная 1,32 [−2,19 – 4,84]
CD3 ⁺ CD4 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	Т/Т-Т/С (187) С/С (33)	0,94 ± 0,03 0,86 ± 0,05	Рецессивная 0,07 [−0,08 – 0,23]
CD3 ⁺ CD4 ⁺ лимфоциты, %	Т/Т-Т/С (190) С/С (34)	42,4 ± 0,63 40,6 ± 1,24	Рецессивная 1,81 [1,27–4,89]
CD3 ⁺ CD8 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	Т/Т-Т/С (163) С/С (29)	0,52 ± 0,02 0,56 ± 0,05	Рецессивная 0,04 [0,07 – 0,16]
CD3 ⁺ CD8 ⁺ лимфоциты, %	Т/Т-Т/С (192) С/С (35)	22,96 ± 0,60 25,46 ± 1,28	Рецессивная 2,50 [0,48 – 5,47]
CD19 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	Т/Т-Т/С (189) С/С (34)	0,24 ± 0,01 0,19 ± 0,02 p = 0,040	Рецессивная 0,05 [0 – 0,10]
CD19 ⁺ лимфоциты, %	Т/Т (88) Т/С-С/С (137)	11,4 ± 0,52 9,98 ± 0,37 p = 0,020	Доминантная 1,42 [0,19–2,65]
CD16 ⁺ CD56 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	Т/Т-Т/С (186) С/С (33)	0,37 ± 0,02 0,41 ± 0,04	Рецессивная 0,04 [−0,04 – 0,12]
CD16 ⁺ CD56 ⁺ лимфоциты, %	Т/Т-Т/С (190) С/С (34)	16,47 ± 0,57 18,35 ± 1,39	Рецессивная 1,88 [1,00 – 4,76]
CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	Т/Т-Т/С (187) С/С (32)	0,15 ± 0,01 0,16 ± 0,02	Рецессивная 0,01 [−0,03 – 0,06]
CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺ лимфоциты, %	Т/Т-Т/С (191) С/С (33)	6,46 ± 0,33 6,91 ± 0,72	Рецессивная 0,45 [−1,23 – 2,12]
ФНОα, пг/мл	Т/Т-Т/С (212) С/С (39)	4,69 ± 0,23 4,31 ± 0,50	Рецессивная −0,38 [−1,49 – 0,74]
CD95 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	Т/Т-Т/С (143) С/С (24)	0,06 ± 0,01 0,07 ± 0,02	Рецессивная 0,00 [−0,03 – 0,04]
CD95 ⁺ лимфоциты, %	Т/Т-Т/С (160) С/С (29)	3,29 ± 0,54 2,51 ± 0,63	Рецессивная −0,79 [−3,35 – 1,78]

Примечание: * – в круглых скобках после наименования генотипа указано количество обследованных лиц, имеющих данный генотип.

Таблица 2

Показатели системного иммунитета у облученных носителей полиморфного участка rs1053023 гена *STAT3*

Показатель	Генотип*	M ± SE	Модель Различие [95% ДИ]
CD3 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	T/T-T/C (186) C/C (12)	1,48 ± 0,04 1,92 ± 0,26 p = 0,020	Рецессивная 0,44 [0,08 – 0,81]
CD3 ⁺ лимфоциты, %	T/T-T/C (200) C/C (12)	67,62 ± 0,69 72,69 ± 2,14	Рецессивная 5,07 [0,51 – 10,66]
CD3 ⁺ CD4 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	T/T-T/C (194) C/C (12)	0,90 ± 0,03 1,16 ± 0,16 p = 0,040	Рецессивная 0,25 [0,01–0,50]
CD3 ⁺ CD4 ⁺ лимфоциты, %	T/T-T/C (198) C/C (12)	41,62 ± 0,61 44,24 ± 1,42	Рецессивная 2,62 [2,29 – 7,54]
CD3 ⁺ CD8 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	T/T-T/C (170) C/C (12)	0,52 ± 0,02 0,62 ± 0,09	Рецессивная 0,10 [0,06 – 0,26]
CD3 ⁺ CD8 ⁺ лимфоциты, %	T/T-T/C (200) C/C (12)	23,62 ± 0,60 23,24 ± 1,82	Рецессивная –0,38 [–5,27) – 4,52]
CD19 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	T/T-T/C (196) C/C (12)	0,23 ± 0,01 0,28 ± 0,04	Рецессивная 0,05 [0,03–0,13]
CD19 ⁺ лимфоциты, %	T/T-T/C (199) C/C (12)	10,36 ± 0,32 11,05 ± 1,86	Рецессивная 0,69 [–2,00) – 3,38]
CD16 ⁺ CD56 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	T/T-T/C (192) C/C (12)	0,38 ± 0,02 0,31 ± 0,04	Рецессивная 0,07 [0,06–0,2]
CD16 ⁺ CD56 ⁺ лимфоциты, %	T/T-T/C (197) C/C (12)	17,38 ± 0,57 12,60 ± 1,51 p = 0,040	Рецессивная 4,78 [0,20 – 9,36]
CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	T/T-T/C (192) C/C (12)	0,15 ± 0,01 0,15 ± 0,04	Рецессивная 0,01 [–0,06) – 0,07]
CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺ лимфоциты, %	T/T-T/C (197) C/C (12)	6,55 ± 0,32 6,08 ± 1,2	Рецессивная –0,47 [–3,10) – 2,17]
ИЛ-6, пг/мл	T/T-T/C (230) C/C (12)	10,35 ± 2,24 6,61 ± 3,31	Рецессивная –3,74 [–23,07) – 15,58]

Примечание: * – в круглых скобках после наименования генотипа указано количество обследованных лиц, имеющих данный генотип.

Таблица 3

Показатели системного иммунитета у облученных носителей полиморфного участка rs4143094 гена *GATA3*

Показатель	Генотип*	M ± SE	Модель Различие [95% ДИ]
CD3 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	C/C (124) A/C-A/A (78)	1,60 ± 0,06 1,36 ± 0,06 p = 0,009	Доминантная 0,24 [0,06–0,41]
CD3 ⁺ лимфоциты, %	C/C (127) A/C-A/A (81)	68,45 ± 0,81 68,13 ± 0,91	Доминантная –0,32 [–2,77) – 2,12]
CD3 ⁺ CD4 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	C/C (121) A/C-A/A (80)	0,96 ± 0,04 0,85 ± 0,04	Доминантная 0,10 [0,01–0,22]
CD3 ⁺ CD4 ⁺ лимфоциты, %	C/C (122) A/C-A/A (83)	41,73 ± 0,77 42,58 ± 0,93	Доминантная 0,84 [–1,53) – 3,22]
CD3 ⁺ CD8 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	C/C (106) A/C-A/A (70)	0,56 ± 0,03 0,45 ± 0,03 p = 0,007	Доминантная 0,12 [0,03–0,20]
CD3 ⁺ CD8 ⁺ лимфоциты, %	C/C (127) A/C-A/A (81)	23,69 ± 0,76 22,66 ± 0,85	Доминантная –1,02 [–3,32) – 1,27]
ИЛ-2, пг/мл	C/C (142) A/C-A/A (85)	8,11 ± 0,84 8,41 ± 1,03	Доминантная 0,30 [–2,34) – 2,95]
ИЛ-4, пг/мл	C/C (133) A/C-A/A (85)	4,31 ± 0,52 4,13 ± 0,63	Доминантная –0,18 [–1,79) – 1,42]
ИФНγ, пг/мл	C/C (145) A/C-A/A (88)	19,67 ± 1,86 19,55 ± 2,60	Доминантная –0,12 [–6,26) – 6,03]

Примечание: * – в круглых скобках после наименования генотипа указано количество обследованных лиц, имеющих данный генотип.

CD19⁺ и CD16⁺CD56⁺ лимфоцитов в крови у облученных людей.

Статистически значимые результаты исследования связи ОНП генов, кодирующих секрецию цитокинов, с показателями системного иммунитета у облученных лиц представлены в табл. 5. Так, у облученных носителей генотипа С/С по полиморфному участку rs2069762 гена *IL2* в периферической крови отмечалось большее

абсолютное ($p = 0,040$) и относительное ($p = 0,030$) количество CD3⁺ и CD3⁺CD16⁺56⁺ ($p = 0,001$) лимфоцитов по сравнению с носителями генотипов А/А и А/С. Носительство минорного аллеля С (генотипы G/C – C/C) по локусу *IL6* rs1800795 было ассоциировано с более высоким относительным количеством CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов ($p = 0,040$) в крови по сравнению с носителями гомозиготного генотипа G/G. У носителей

Таблица 4

Ассоциативная связь полиморфного участка rs28362491 гена *NF-κB1* с показателями системного иммунитета у облученных лиц

Показатель	Генотип*	M ± SE	Модель Различия [95% ДИ]
CD3 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	Ins/Ins (69) Ins/Del-Del/Del (165)	1,48 ± 0,06 1,5 ± 0,05	Доминантная 0,01 [(-0,16) – 0,19]
CD3 ⁺ лимфоциты, %	Ins/Ins (72) Ins/Del-Del/Del (168)	67,64 ± 1,23 68,16 ± 0,72	Доминантная 0,52 [2,16 – 3,19]
CD3 ⁺ CD4 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	Ins/Ins (69) Ins/Del-Del/Del (164)	0,88 ± 0,04 0,93 ± 0,03	Доминантная 0,06 [0,05 – 0,17]
CD3 ⁺ CD4 ⁺ лимфоциты, %	Ins/Ins (71) Ins/Del-Del/Del (166)	40,27 ± 1,03 43,01 ± 0,65 p = 0,020	Доминантная 2,74 [0,39 – 5,08]
CD3 ⁺ CD8 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	Ins/Ins (62) Ins/Del-Del/Del (146)	0,56 ± 0,03 0,51 ± 0,02	Доминантная 0,05 [0,03 – 0,14]
CD3 ⁺ CD8 ⁺ лимфоциты, %	Ins/Ins (72) Ins/Del-Del/Del (168)	25,05 ± 1,05 22,89 ± 0,61	Доминантная 2,16 [0,11 – 4,43]
CD19 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	Ins/Ins (70) Ins/Del-Del/Del (166)	0,22 ± 0,01 0,23 ± 0,01	Доминантная 0,03 [0,02 – 0,05]
CD19 ⁺ лимфоциты, %	Ins/Ins (72) Ins/Del-Del/Del (167)	9,72 ± 0,53 10,61 ± 0,36	Доминантная 0,89 [0,38 – 2,16]
CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	Ins/Ins (68) Ins/Del-Del/Del (164)	0,41 ± 0,03 0,35 ± 0,02	Доминантная 0,06 [0,01 – 0,12]
CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺ лимфоциты, %	Ins/Ins (71) Ins/Del-Del/Del (166)	17,48 ± 0,97 16,28 ± 0,59	Доминантная 1,20 [0,95 – 3,35]
CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	Ins/Ins (68) Ins/Del-Del/Del (164)	0,16 ± 0,01 0,14 ± 0,01	Доминантная 0,02 [0,01 – 0,05]
CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺ лимфоциты, %	Ins/Ins (71) Ins/Del-Del/Del (166)	7,16 ± 0,56 6,29 ± 0,34	Доминантная 0,87 [0,37 – 2,11]
ИЛ-1β, пг/мл	Ins/Ins (76) Ins/Del-Del/Del (192)	29,67 ± 8,40 23,68 ± 6,76	Доминантная -5,99 [(-29,46) – 17,48]
ИЛ-2, пг/мл	Ins/Ins (75) Ins/Del-Del/Del (189)	7,84 ± 1,08 7,48 ± 0,69	Доминантная -0,36 [(-2,90) – 2,17]
ИЛ-4, пг/мл	Ins/Ins (71) Ins/Del-Del/Del (157)	4,07 ± 0,69 4,31 ± 0,46	Доминантная 0,24 [(-1,38) – 1,87]
ИЛ-8, пг/мл	Ins/Ins (79) Ins/Del-Del/Del (192)	7,04 ± 2,51 7,63 ± 0,79	Доминантная 0,59 [(-3,37) – 4,55]
ИЛ-10, пг/мл	Ins/Ins (80) Ins/Del-Del/Del (191)	12,81 ± 2,15 11,21 ± 0,99	Доминантная -1,60 [(-5,66) – 2,46]
ИФНγ, пг/мл	Ins/Ins (80) Ins/Del-Del/Del (190)	18,77 ± 1,92 19,78 ± 1,69	Доминантная 1,01 [(-4,65) – 6,67]
ФНОα, пг/мл	Ins/Ins (80) Ins/Del-Del/Del (192)	4,68 ± 0,37 4,96 ± 0,47	Доминантная 0,28 [(-1,20) – 1,77]
CD95 ⁺ лимфоциты, × 10 ⁹ /л	Ins/Ins (55) Ins/Del-Del/Del (122)	0,06 ± 0,01 0,06 ± 0,01	Доминантная 0,01 [(-0,02) – 0,03]
CD95 ⁺ лимфоциты, %	Ins/Ins (60) Ins/Del-Del/Del (142)	2,28 ± 0,35 3,47 ± 0,61	Доминантная 1,19 [0,71 – 3,09]

Примечание: * – в круглых скобках после наименования генотипа указано количество обследованных лиц, имеющих данный генотип.

условно патологического генотипа А/А полиморфного участка rs1800872 гена *IL10* отмечены более высокие уровни сывороточного ИЛ-10 ($p=0,040$) относительно людей с мажорными генотипами С/С – С/А. Тогда как у носителей минорного аллеля С (генотипы А/С – С/С) по локусу rs3212227 гена *IL12* регистрировалось более высокое содержание абсолютного количества нейтрофилов ($p = 0,030$) в сравнении с носителями генотипа А/А.

Оценка связи показателей, характеризующих системный иммунитет, у облученных лиц с полиморфным участком rs874881 гена *PAD4* позволила выявить статистически значимую связь данного ОНП с уровнем ФНО- α в сыворотке крови. Согласно доминантной модели у носителей минорного генотипа С/С отмечено более высокое содержание ФНО- α в сыворотке крови ($p = 0,010$) по сравнению с носителями генотипов С/Г – Г/Г.

Результаты анализа связи полиморфных участков генов, кодирующих миелопероксидазу и компоненты NADPH-оксидазной системы нейтрофилов и моноци-

тов (*MPO* rs2333227 и *NOX2* rs4673) с показателями внутриклеточного кислородзависимого метаболизма нейтрофилов и моноцитов по данным НСТ-теста в спонтанном и индуцированном вариантах представлены в **табл. 6**. Показано, что полиморфизм rs2333227 гена *MPO* статистически значимо модифицирует показатели индуцированного кислородзависимого метаболизма моноцитов, а также спонтанного и индуцированного кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у облученных людей. Так, у носителей минорного аллеля Т (генотипы С/Т-Т/Т) отмечалась более низкая интенсивность ($p = 0,030$) индуцированного внутриклеточного кислородзависимого метаболизма моноцитов по сравнению с гомозиготами С/С. Кроме того, у носителей гомозиготного генотипа Т/Т этого же полиморфизма показатели интенсивности как спонтанного ($p = 0,020$), так и индуцированного ($p = 0,003$) внутриклеточного кислородзависимого метаболизма нейтрофилов были ниже относительно облученных лиц с генотипами С/С – С/Т. При этом для полиморфизма rs4673 гена *NOX2* статистически значимых связей с исследуемыми показателями выявлено не было.

Таблица 5

Ассоциативная связь полиморфных участков генов, регулирующих уровень цитокинов, с показателями системного иммунитета у облученных лиц

Показатель	Генотип*	M \pm SE	Модель Различие [95% ДИ]
<i>IL2</i> rs2069762			
CD3 ⁺ лимфоциты, $\times 10^9$ /л	A/A – A/C (144) C/C (25)	1,45 \pm 0,05 1,72 \pm 0,17 $p = 0,040$	Рецессивная 0,27 [0,01 – 0,53]
CD3 ⁺ лимфоциты, %	A/A – A/C (147) C/C (25)	67,83 \pm 0,71 71,99 \pm 1,91 $p = 0,030$	Рецессивная 4,15 [0,45 – 7,86]
CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺ лимфоциты, $\times 10^9$ /л	A/A – A/C (142) C/C (25)	0,12 \pm 0,01 0,20 \pm 0,03 $p = 0,001$	Рецессивная 0,07 [0,03 – 0,12]
CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺ лимфоциты, %	A/A – A/C (160) C/C (29)	5,80 \pm 0,32 8,47 \pm 1,14 $p = 0,004$	Рецессивная 2,66 [0,88 – 4,45]
<i>IL6</i> rs1800795			
CD3 ⁺ CD4 ⁺ лимфоциты, %	G/G (64) G/C – C/C (96)	39,98 \pm 1,09 42,82 \pm 0,86 $p = 0,040$	Доминантная 2,84 [0,15 – 5,53]
<i>IL10</i> rs1800872			
ИЛ-10, пг/мл	C/C – C/A (200) A/A (18)	12,00 \pm 1,05 19,80 \pm 5,05 $p = 0,040$	Рецессивная 7,81 [0,34 – 15,28]
<i>IL12</i> rs3212227			
Нейтрофилы, $\times 10^9$ /л	A/A (114) A/C – C/C (103)	3,39 \pm 0,11 3,76 \pm 0,13 $p = 0,030$	Доминантная 0,37 [0,04 – 0,71]
<i>PAD4</i> rs874881			
ФНО- α , пг/мл	C/C (84) C/G – G/G (179)	6,27 \pm 1,02 4,35 \pm 0,19 $p = 0,010$	Доминантная –1,93 [–3,40) – (–0,45)]

Примечание: * – в круглых скобках после наименования генотипа указано количество обследованных лиц, имеющих данный генотип.

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что полиморфизмы генов, регулирующих иммунные реакции, могут модифицировать показатели системного иммунитета у людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию в период реализации отдалённых эффектов. Выявлена связь ряда полиморфных участков генов с содержанием сывороточных ИЛ-10 (*IL10* rs1800872) и ФНО- α (*PAD4* rs874881), а также с количественными и функциональными показателями ИКК (*IL2* rs2069762, *IL6* rs1800795 и *IL12* rs3212227, *MPO* rs2333227, *MAPK8* rs2239815, *STAT3* rs1053023, *GATA3* rs4143094 и *NF- κ B1* rs28362491).

Обсуждение

Результаты наших ранее проведенных исследований [8] свидетельствуют о том, что отдалённые эффекты ИР со стороны системного иммунитета, в отличие от ранних иммунных ответов, не являются следствием цитоцидного действия радиации. Состояние ИС в отдалённые сроки после хронического низкоинтенсивного облучения определяется не гибелью ИКК и их предшественников, а изменением функции иммуноцитов вследствие активации многочисленных сигнальных путей [8, 9]. Как следствие, наблюдается комплекс ответов иммуноцитов, включая синтез антиоксидантов, задержку клеточного цикла в сверхочных точках, репара-

цию поврежденной ДНК и другие, которые позволяют облученной клетке сохранить способность к делению и дифференцировке [10]. Все эти гомеостатические механизмы генетически детерминированы.

К настоящему времени для ограниченного числа генов показана связь их полиморфизмов с индивидуальной радиочувствительностью человека [6, 11] и отдалёнными эффектами облучения [12, 13]. Однако патогенетические механизмы ассоциаций остаются неясными. Результаты настоящего исследования показали, что носительство некоторых генотипов по ряду ОНП модифицирует иммунные ответы у облучённого человека в отдалённые сроки, что может оказать влияние на его предрасположенность к отдалённым эффектам облучения. Установлено, что такие полиморфизмы, как rs1053023 гена *STAT3*, rs4143094 гена *GATA3*, rs28362491 гена *NF- κ B1*, rs2069762 гена *IL2* ассоциированы с количеством Т-клеток. Причины установленной зависимости остаются неясными.

В настоящее время известно, что Т-лимфоциты, которые регулируют баланс обновления и гибели наивных клеток и клеток памяти, играют центральную роль в обеспечении гомеостаза иммунной системы в целом. Разнообразные пулы наивных Т-клеток необходимы для обеспечения иммунных ответов на новые антигены. Способность поддерживать Т-клеточный пул, как наивных клеток, так и клеток памяти, численность ко-

Таблица 6

Показатели интенсивности внутриклеточного кислородзависимого метаболизма нейтрофилов и моноцитов у облученных носителей полиморфных участков rs2333227 гена *MPO* и rs4673 гена *NOX2*

Показатель	Генотип*	M \pm SE	Модель Различие [95% ДИ]
<i>MPO</i> rs2333227			
НСТМ сп., %	C/C (182) C/T-T/T (90)	50,34 \pm 0,94 48,80 \pm 1,32	Доминантная -1,54 [(-4,73) - 1,66]
НСТМ инд., %	C/C (185) C/T-T/T (96)	50,30 \pm 0,91 47,27 \pm 1,01 p = 0,030	Доминантная -3,14 [(-6,01) - (-0,28)]
НСТН сп., %	C/C - C/T (256) T/T (16)	49,03 \pm 0,82 40,94 \pm 1,45 p = 0,020	Рецессивная -8,09 [(-14,58) - (-1,6)]
НСТН инд., %	C/C - C/T (264) T/T (17)	47,22 \pm 0,82 37,41 \pm 1,88 p = 0,003	Рецессивная -9,81 [(-16,23) - (-3,39)]
<i>NOX2</i> rs4673			
НСТМ сп., %	C/C (150) T/C - T/T (122)	49,63 \pm 1,08 49,84 \pm 1,08	Доминантная 0,22 [(-2,82) - 3,25]
НСТМ инд., %	C/C (151) T/C - T/T (130)	50,32 \pm 1,00 48,08 \pm 0,95	Доминантная -2,24 [(-4,98) - 0,49]
НСТН сп., %	C/C (150) T/C - T/T (122)	48,93 \pm 1,05 47,94 \pm 1,20	Доминантная -0,98 [(-4,09) - 2,12]
НСТН инд., %	C/C (151) T/C - T/T (130)	46,85 \pm 1,15 46,33 \pm 1,07	Доминантная -0,52 [(-3,63) - 2,60]

Примечания: НСТМ сп. - НСТ моноцитов спонтанный, НСТМ инд. - НСТ моноцитов индуцированный, НСТН инд. - НСТ нейтрофилов спонтанный, НСТН сп. - НСТ нейтрофилов индуцированный. * - в круглых скобках после наименования генотипа указано количество обследованных лиц, имеющих данный генотип.

торого снижается с возрастом, имеет ключевое значение для функционирования иммунитета в отдалённые сроки после радиационного воздействия [10]. Иммуностатический механизм контролирует доли разных типов ИКК, выработку цитокинов и уровень экспрессии функциональных молекул ИКК [14].

Экспериментальные и клинические данные свидетельствуют о том, что ИР может нарушать иммунный гомеостаз вследствие снижения выработки наивных Т-клеток из-за нарушения регуляции и поддержания пулов Т-клеток памяти [15]. Так, у лиц, переживших атомные бомбардировки в Японии, отмечено снижение числа наивных CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов, хотя пулы Т-клеток памяти были нормальными (CD4⁺), или даже несколько большего объёма (CD8⁺) [16], а их TCR-репертуар значительно сокращался с увеличением дозы облучения вследствие клональной экспансии Т-клеток памяти [17]. Уменьшение пула наивных Т-клеток может приводить к снижению противoinфекционной резистентности организма, а клональная экспансия Т-клеток памяти, связанная с изменением TCR-репертуара, может скомпрометировать способность ИС контролировать рецидивирующие и латентные инфекции [18].

Отдалённые нарушения адаптивного иммунитета и выработки наивных Т-клеток могут быть вызваны и неполным восстановлением пула тимопоэтических клеток-предшественников костномозгового происхождения. Данные, полученные в экспериментах на животных облученных в малых дозах, подтверждают результаты клинических наблюдений и показывают, что неэффективный костномозговой гемопоэз после облучения вызывает ограничение резерва лимфоидных клеток и последующие нарушения адаптивного иммунитета [11]. Значительная роль в восстановлении системного иммунитета после облучения ККМ и тимуса принадлежит индукции гомеостатической пролиферации клеток-предшественников и зрелых Т-лимфоцитов [19].

Восстановление системного иммунитета после облучения в больших дозах требует регенерации пула костномозговых гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Показано, что недостаток ранних тимических мигрантов и наивных Т-клеточных субпопуляций обусловлен нарушениями восстановления костномозговых ГСК и ранних тимических предшественников, их мобилизации и заселения тимических ниш, и, как следствие, низкой эндогенной тимической регенерацией [20].

Полученные в работе данные свидетельствуют о недостаточности гомеостатической пролиферации ГСК и гемопоэтических клеток-предшественников (ГКП) ККМ и тимуса, а также самих Т-лимфоцитов у людей-носителей некоторых генотипов по полиморфным участкам генов иммунной системы в отдалённые сроки после преимущественного облучения ККМ. Так, число CD3⁺CD4⁺ клеток было модифицировано у носителей минорного аллеля по полиморфному участку rs1053023 гена *STAT3*, rs28362491 гена *NF-κB1* и rs1800795 гена *IL6*, а CD3⁺CD8⁺ клеток – у носителей минорного генотипа

GATA3 rs4143094. Изменение числа CD3⁺CD16⁺56⁺ лимфоцитов в отдалённые сроки после облучения было ассоциировано с полиморфизмом *IL2* rs2069762.

Неполное восстановление пула тимопоэтических клеток-предшественников костномозгового происхождения и вторичная атрофия тимуса у них, по-видимому, способны нарушать выработку наивных Т-клеток и, как следствие, вызывать нарушения адаптивного иммунитета.

Радиационно-индуцированное нарушение сложной системы регуляции ИС в настоящее время рассматривается как важный фактор, определяющий долгосрочность изменений системного иммунитета после облучения [21]. Наибольшее распространение получило представление, что ИР угнетает функцию Th1, приводит к Th1/Th2-дисбалансу и воспалительному иммунному ответу [4]. Отмеченная в настоящем исследовании связь полиморфизмов генов, регулирующих системный иммунитет, *STAT3*, *NF-κB1* и *GATA3* с содержанием регуляторных субпопуляций CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов представляется чрезвычайно важной. Так, известно, что белки STAT способны регулировать активность разных ИКК и цитокинов [22, 23], а ИР индуцирует Th2-ответ путем вмешательства в сигналы STAT [24]. Транскрипционный фактор NF-κB является одним из ключевых регуляторов генов, вовлеченных в воспалительный ответ и также опосредует индуцированный радиацией Th2-ответ [25].

Другой причиной нарушения числа Т-клеток у облученных носителей некоторых ОНП может быть повышенная гибель ЛПК, вызванная радиационно-индуцированной нестабильностью генома (РИНСГ). Ранее проведенные исследования позволяют предположить наличие РИНСГ у жителей прибрежных сел реки Течи по критерию наличия у них хромосомной нестабильности. Через десятилетия после прекращения облучения в лимфоцитах крови у них выявляется высокая частота нестабильных хромосомных aberrаций [26]. В настоящее время получены доказательства, что воспалительные процессы способствуют развитию РИНСГ в облученных клетках [27] и ответственны за длительную поддержку РИНСГ в клетках ККМ [28]. В клетках млекопитающих недавно открыт новый механизм, который позволяет понять отсроченные проявления РИНСГ. Показано, что рентгеновское излучение вызывает, наряду с повышенной рекомбинацией, и эпигенетический сайленсинг генов, вовлеченный в отсроченный мутагенез [29].

У облученных носителей минорного генотипа C/C полиморфизма rs874881 гена *PAD4* отмечено повышенное, по сравнению с носителями генотипов C/G – G/G, содержание ФНО-α в сыворотке крови. Ранее было показано, что в отдалённые сроки у жителей прибрежных сел реки Течи отмечены воспалительные изменения цитокинового спектра сыворотки крови, которые включают повышение уровней ФНО-α и ИФН-γ, а также снижение содержания ИЛ-4 [5]. Повышенное содержание провоспалительного белка ФНО-α в сыворотке крови

у облученных людей может быть следствием сниженно-го содержания у них сывороточного ИЛ-4, который подавляет секрецию моноцитами и макрофагами ФНО- α .

В работе было показано, что ОНП генов, вовлеченных в конкретные сигнальные пути и регулирующих определенные функции ИКК, у облученных людей способны модифицировать и факторы врожденного иммунитета. Так, у носителей минорного аллеля С (генотипы А/С – С/С) по локусу rs3212227 гена *IL12* регистрировалось более высокое содержание абсолютного количества нейтрофилов в сравнении с носителями генотипа А/А. Установлена также ассоциация *MPO* rs2333227 с функциональной способностью нейтрофилов поддерживать внутриклеточный кислородзависимый метаболизм.

Заключение

Хотя в настоящее время получено много доказательств канцерогенного действия ИР, патогенетическая роль системного иммунитета в развитии радиационно-индуцированных злокачественных новообразований остается неясной. Установлено, что ИР обладает выраженным мутагенным эффектом, вызывая повышение частоты генных мутаций в клетках различных органов. Доказано, что ИС способна распознавать и элиминировать из организма поврежденные радиацией клетки, которые не смогли восстановить исходную структуру ядерной ДНК и не были элиминированы посредством апоптоза или других механизмов клеточной гибели [4, 11]. Интерпретация изменений иммунитета после облучения в отдаленные сроки чрезвычайно неоднозначна. С одной стороны, ИС вовлечена в гомеостатические механизмы, направленные на поддержание генетической стабильности облученных клеток, и участвует в распознавании и элиминации клеток, имеющих стабильные нерепарированные генетические повреждения. С другой стороны, многокомпонентная и динамичная ИС сама является радиочувствительной, а изменения в ИКК после облучения могут сохраняться длительное время [4, 11].

Данные литературы показывают, что механизмы нарушения регуляции ИС, как единого целого, после облучения до настоящего времени исследованы недостаточно. На основании имеющихся данных ясно, что ИР может нарушать эволюционно сложившиеся механизмы регуляции системного иммунитета. В большинстве исследований у облученных индивидов отмечался сдвиг иммунного баланса в сторону Th2-ответа. Однако предстоит еще прояснить многие генетические и эпигенетические механизмы действия радиации, способные модифицировать регуляцию и реакции системного иммунитета, включая роль РИНСГ.

В условиях невозможности смоделировать иммунные ответы в отдаленные сроки после облучения поиск биомаркёров пострадиационных изменений в ИС представляет значительный теоретический и практический

интерес. В ходе настоящего пилотного исследования было показано, что целый ряд ОНП генов, вовлеченных в регуляцию системного иммунитета, могут рассматриваться в качестве биологических предикторов отдаленных последствий облучения человека. Установлено, что полиморфизмы многих генов, вовлеченные в регуляцию иммунных ответов, модифицируют показатели системного иммунитета у людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию в отдаленный период. Выявлена связь ряда полиморфных участков генов с содержанием сывороточных ИЛ-10 (*IL10* rs1800872) и ФНО- α (*PAD4* rs874881), а также с количественными и функциональными показателями ИКК (*IL2* rs2069762, *IL6* rs1800795 и *IL12* rs3212227, *MPO* rs2333227, *MAPK8* rs2239815, *STAT3* rs1053023, *GATA3* rs4143094 и *NF- κ B1* rs28362491).

Результаты данного исследования свидетельствуют о перспективности изучения молекулярно-генетических маркёров, как для понимания патогенеза отдаленных радиационных эффектов, так и для персонализированного прогноза отдаленных эффектов радиации у человека.

Список литературы

1. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. *Epidemiological studies of cancer risk due to low-dose-rate radiation from environmental sources*. N.Y.: United Nations, 2018: 65-175.
2. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. *Biological mechanisms of radiation actions at low doses*. N.Y.: United Nations, 2012.
3. Khatami M. Chronic Inflammation: Synergistic interactions of recruiting macrophages (TAMs) and eosinophils (Eos) with host mast cells (MCs) and tumorigenesis in CALTs. M-CSF, suitable biomarker for cancer diagnosis! *Cancers*. 2014; 6(1): 297-322. DOI:10.3390/cancers6010297
4. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. *Effects of ionizing radiation on the immune system*. N.Y.: United Nations, 2009: 1-338.
5. Аклев А.А. Иммунный статус человека в отдаленном периоде хронического радиационного воздействия. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2020; 65(4): 29-35. DOI: 10.12737/1024-6177-2020-65-4-29-35
6. Хаитов Р.М., Аклев А.В., Кофиади И.А. *Индивидуальная радиочувствительность и иммунитет*. Челябинск: Книга, 2018. 215 с.
7. KEGG PATHWAY Database [website]. Режим доступа: <https://www.genome.jp/kegg/pathway.html/> Дата обращения 08.05.2019.
8. Akleyev A.A., Blinova E.A., Dolgushin I.I. Immunological status of chronically exposed persons with increased level of TCR mutations. *Radiat. Environ. Biophys.* 2019; 58: 81-88. DOI: 10.1007/s00411-018-0766-1
9. Azimian H., Bahreyni-Toossi M.T., Rezaei A.R., Rafatpanah H., Hamzehloei T., Fardid R. Up-regulation of Bcl-2 expression in cultured human lymphocytes after exposure to low doses of gamma radiation. *J. Med. Phys.* 2015; 40: 38-44. DOI: 10.4103/0971-6203.152249
10. Devic C., Ferlazzo M.L., Foray N. Influence of individual radiosensitivity on the adaptive response phenomenon: toward a mechanistic explanation based on the nucleo-shuttling of ATM protein. *Dose-Response*. 2018; 16(3): 1559325818789836. DOI: 10.1177/1559325818789836
11. Authors on behalf of ICRP, Stewart F.A., Akleyev A.V., Hauer-Jensen M., Hendry J.H., Kleiman N.J., Macvittie T.J., Aleman, B.M., Edgar A.B., Mabuchi K., Muirhead C.R., Shore R.E., Wallace W.H. ICRP publication 118: ICRP statement on tissue reactions and early and late effects of radiation in normal tissues and organs--threshold doses for tissue reactions in a radiation protection context. *Ann. ICRP*. 2012; 41(1-2): 1-322. DOI: 10.1016/j.icrp.2012.02.001

12. Colin C., Granzotto A., Devic C., Massart C., Viau M., Vogin G., Maalouf M., Joubert A., Foray N. MRE11 and H2AX biomarkers in the response to low-dose exposure: Balance between individual susceptibility to radiosensitivity and to genomic instability. *Int. J. Low Radiat.* 2011; 8(2): 96-106. DOI: 10.1504/IJLR.2011.044191
13. Sigurdson A.J., Bhatti P., Doody M.M., Hauptmann M., Bowen L., Simon S.L., Weinstock R.M., Linet M.S., Rosenstein M., Stovall M., Alexander B.H., Preston D.P., Struewing J.P., Rajaraman P. Polymorphisms in apoptosis- and proliferation-related genes, ionizing radiation exposure, and risk of breast cancer among U.S. Radiologic Technologists. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2007; 16(10): 2000-2007. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-07-0282
14. Rajaraman P., Bhatti P., Doody M.M., Simon S.L., Weinstock R.M., Linet M.S., Rosenstein M., Stovall M., Alexander B.H., Preston D.L., Sigurdson A.J. Nucleotide excision repair polymorphisms may modify ionizing radiation-related breast cancer risk in US radiologic technologists. *Int. J. Cancer.* 2008; 123(11): 2713-2716. DOI: 10.1002/ijc.23779
15. Хайтов Р.М. *Физиология иммунной системы.* М.: ВИНТИ, 2005. 375 с.
16. Yamaoka M., Kusunoki Y., Kasagi F., Hayashi T., Nakachi K., Kyoizumi S. Decreases in percentages of naïve CD4 and CD8 T cells and increases in percentages of memory CD8 T-cell subsets in the peripheral blood lymphocyte populations of A-bomb survivors. *Radiat. Res.* 2004; 161(3): 290-298. DOI: 10.1667/rr3143
17. Kusunoki Y., Yamaoka M., Kasagi F., Hayashi T., MacPhee D.G., Kyoizumi S. Long-lasting changes in the T-cell receptor V beta repertoires of CD4 memory T-cell populations in the peripheral blood of radiation-exposed people. *Br. J. Haematol.* 2003; 122(6): 975-984. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2003.04520.x
18. Kusunoki Y., Hayashi T. Long-lasting alterations of the immune system by ionizing radiation exposure: implications for disease development among atomic bomb survivors. *Int. J. Radiat. Biol.* 2008; 84(1): 1-14. DOI: 10.1080/09553000701616106
19. Митин А.Н., Литвина М.М., Комогорова В.В., Шарова Н.И., Ярилин А.А. Вклад гомеостатической пролиферации и связанных с ней процессов в восстановление популяции периферических Т-клеток в условиях лимфопении, индуцированной облучением. *Иммунология.* 2013; 34(5): 242-247.
20. MacVittie T.J., Bennett A.W., V. Cohen M., Farese A.M., Higgins A., Hankey K.G. Immune cell reconstitution after exposure to potentially lethal doses of radiation in the nonhuman primate. *Health Phys.* 2014; 106(1): 84-96. DOI: 10.1097/HP.0b013e3182a2a9b2
21. Bogdándi E.N., Balogh A., Felgyinszki N., Szatmári T., Persa E., Hildebrandt G., Sáfrány G., Lumniczky K. Effects of low-dose radiation on the immune system of mice after total-body irradiation. *Radiat. Res.* 2010; 174(4): 480-489. DOI: 10.1667/RR2160.1
22. Deorukhkar A., Krishnan S. Targeting inflammatory pathways for tumor radiosensitization. *Biochem. Pharmacol.* 2010; 80(12): 1904-1914. DOI: 10.1016/j.bcp.2010.06.039
23. Kaplan M.H., Sun Y.L., Hoey T., Grusby M.J. Impaired IL-12 responses and enhanced development of Th2 cells in Stat4-deficient mice. *Nature.* 1996; 382(6587): 174-177. DOI: 10.1038/382174a0
24. Han S.K., Song J.Y., Yun Y.S., Yi S.Y. Gamma irradiation-reduced IFN-gamma expression, STAT1 signals, and cell-mediated immunity. *J. Biochem. Mol. Biol.* 2002; 35(6): 583-589. DOI: 10.5483/bm-brep.2002.35.6.583
25. Linard C., Marquette C., Mathieu J., Pennequin A., Clarençon D., Mathé D. Acute induction of inflammatory cytokine expression after gamma-irradiation in the rat: effect of an NF-kappaB inhibitor. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2004; 58(2): 427-434. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2003.09.039
26. Vozilova A.V., Shagina N.B., Degteva M.O., Akleyev A.V. Chronic radioisotope effects on residents of the Techa River (Russia) region: cytogenetic analysis more than 50 years after onset of exposure. *Mutat. Res.* 2013; 756(1-2): 115-118. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2013.05.016
27. Lorimore S.A., Chrystal J.A., Robinson J.I., Coates P.J., Wright E.G. Chromosomal instability in unirradiated hemaopoietic cells induced by macrophages exposed in vivo to ionizing radiation. *Cancer Res.* 2008; 68(19): 8122-8126. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0698
28. Lorimore S.A., Mukherjee D., Robinson J.I., Chrystal J.A., Wright E.G. Long-lived inflammatory signaling in irradiated bone marrow is genome dependent. *Cancer Res.* 2011; 71(20): 6485-6491. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1926
29. Suzuki M., Boothman D.A. Stress-induced premature senescence (SIPS)--influence of SIPS on radiotherapy. *J. Radiat. Res.* 2008; 49(2): 105-112. DOI: 10.1269/jrr.07081

References

1. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. *Epidemiological studies of cancer risk due to low-dose-rate radiation from environmental sources.* N.Y.: United Nations, 2018: 65-175.
2. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. *Biological mechanisms of radiation actions at low doses.* N.Y.: United Nations, 2012.
3. Khatami M. Chronic Inflammation: Synergistic interactions of recruiting macrophages (TAMs) and eosinophils (Eos) with host mast cells (MCs) and tumorigenesis in CALTs. M-CSF, suitable biomarker for cancer diagnosis! *Cancers.* 2014; 6(1): 297-322. DOI:10.3390/cancers6010297
4. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. *Effects of ionizing radiation on the immune system.* N.Y.: United Nations, 2009: 1-338.
5. Akleyev A.A. [Immune status of a man long after chronic radiation exposure]. *Medicinskaya radiologiya i radiacionnaya bezopasnost' [Medical Radiology and Radiation Safety].* 2020; 65(4): 29-35. DOI: 10.12737/1024-6177-2020-65-4-29-35 (in Russian)
6. Khaitov R.M., Akleyev A.V., Kofiadi I.A. *[Individual radiosensitivity and immunity].* Chelyabinsk: Kniga, 2018. 215 p. (in Russian)
7. KEGG PATHWAY Database [website]. Режим доступа: <https://www.genome.jp/kegg/pathway.html/> Дата обращения 08.05.2019.
8. Akleyev A.A., Blinova E.A., Dolgushin I.I. Immunological status of chronically exposed persons with increased level of TCR mutations. *Radiat. Environ. Biophys.* 2019; 58: 81-88. DOI: 10.1007/s00411-018-0766-1
9. Azimian H., Bahreyni-Toossi M.T., Rezaei A.R., Rafatpanah H., Hamzehloei T., Fardid R. Up-regulation of Bcl-2 expression in cultured human lymphocytes after exposure to low doses of gamma radiation. *J. Med. Phys.* 2015; 40: 38-44. DOI: 10.4103/0971-6203.152249
10. Devic C., Ferlazzo M.L., Foray N. Influence of individual radiosensitivity on the adaptive response phenomenon: toward a mechanistic explanation based on the nucleo-shuttling of ATM protein. *Dose-Response.* 2018; 16(3): 1559325818789836. DOI: 10.1177/1559325818789836
11. Authors on behalf of ICRP, Stewart F.A., Akleyev A.V., Hauer-Jensen M., Hendry J.H., Kleiman N.J., Macvittie T.J., Aleman, B.M., Edgar A.B., Mabuchi K., Muirhead C.R., Shore R.E., Wallace W.H. ICRP publication 118: ICRP statement on tissue reactions and early and late effects of radiation in normal tissues and organs--threshold doses for tissue reactions in a radiation protection context. *Ann. ICRP.* 2012; 41(1-2): 1-322. DOI: 10.1016/j.icrp.2012.02.001
12. Colin C., Granzotto A., Devic C., Massart C., Viau M., Vogin G., Maalouf M., Joubert A., Foray N. MRE11 and H2AX biomarkers in the response to low-dose exposure: Balance between individual susceptibility to radiosensitivity and to genomic instability. *Int. J. Low Radiat.* 2011; 8(2): 96-106. DOI: 10.1504/IJLR.2011.044191
13. Sigurdson A.J., Bhatti P., Doody M.M., Hauptmann M., Bowen L., Simon S.L., Weinstock R.M., Linet M.S., Rosenstein M., Stovall M., Alexander B.H., Preston D.P., Struewing J.P., Rajaraman P. Polymorphisms in apoptosis- and proliferation-related genes, ionizing radiation exposure, and risk of breast cancer among U.S. Radiologic Technologists. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2007; 16(10): 2000-2007. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-07-0282
14. Rajaraman P., Bhatti P., Doody M.M., Simon S.L., Weinstock R.M., Linet M.S., Rosenstein M., Stovall M., Alexander B.H., Preston D.L., Sigurdson A.J. Nucleotide excision repair polymorphisms may modify ionizing radiation-related breast cancer risk in US radiologic technologists. *Int. J. Cancer.* 2008; 123(11): 2713-2716. DOI: 10.1002/ijc.23779
15. Khaitov R.M. *[Physiology of immune system].* М.: ВИНТИ, 2005. 375 p. (in Russian)
16. Yamaoka M., Kusunoki Y., Kasagi F., Hayashi T., Nakachi K., Kyoizumi S. Decreases in percentages of naïve CD4 and CD8 T cells and increases in percentages of memory CD8 T-cell subsets in the peripheral blood lymphocyte populations of A-bomb survivors. *Radiat. Res.* 2004; 161(3): 290-298. DOI: 10.1667/rr3143
17. Kusunoki Y., Yamaoka M., Kasagi F., Hayashi T., MacPhee D.G., Kyoizumi S. Long-lasting changes in the T-cell receptor V beta rep-

- ertoires of CD4 memory T-cell populations in the peripheral blood of radiation-exposed people. *Br. J. Haematol.* 2003; 122(6): 975-984. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2003.04520.x
18. Kusunoki Y., Hayashi T. Long-lasting alterations of the immune system by ionizing radiation exposure: implications for disease development among atomic bomb survivors. *Int. J. Radiat. Biol.* 2008; 84(1): 1-14. DOI: 10.1080/09553000701616106
 19. Mitin A.N., Litvina M.M., Komogoroa V.V., Sharova N.I., Yarilin A.A. [Contribution of homeostatic proliferation and relation processes to restoration of peripheral T cell population in radiation induced lymphopenia]. *Immunologiya [Immunology]*. 2013; 34(5): 242-247. (in Russian)
 20. MacVittie T.J., Bennett A.W., V. Cohen M., Farese A.M., Higgins A., Hankey K.G. Immune cell reconstitution after exposure to potentially lethal doses of radiation in the nonhuman primate. *Health Phys.* 2014; 106(1): 84-96. DOI: 10.1097/HP.0b013e3182a2a9b2
 21. Bogdándi E.N., Balogh A., Felgyinszki N., Szatmári T., Persa E., Hildebrandt G., Sáfrány G., Lumniczky K. Effects of low-dose radiation on the immune system of mice after total-body irradiation. *Radiat. Res.* 2010; 174(4): 480-489. DOI: 10.1667/RR2160.1
 22. Deorukhkar A., Krishnan S. Targeting inflammatory pathways for tumor radiosensitization. *Biochem. Pharmacol.* 2010; 80(12): 1904-1914. DOI: 10.1016/j.bcp.2010.06.039
 23. Kaplan M.H., Sun Y.L., Hoey T., Grusby M.J. Impaired IL-12 responses and enhanced development of Th2 cells in Stat4-deficient mice. *Nature.* 1996; 382(6587): 174-177. DOI: 10.1038/382174a0
 24. Han S.K., Song J.Y., Yun Y.S., Yi S.Y. Gamma irradiation-reduced IFN-gamma expression, STAT1 signals, and cell-mediated immunity. *J. Biochem. Mol. Biol.* 2002; 35(6): 583-589. DOI: 10.5483/bm-brep.2002.35.6.583
 25. Linard C., Marquette C., Mathieu J., Pennequin A., Clarençon D., Mathé D. Acute induction of inflammatory cytokine expression after gamma-irradiation in the rat: effect of an NF-kappaB inhibitor. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2004; 58(2): 427-434. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2003.09.039
 26. Vozilova A.V., Shagina N.B., Degteva M.O., Akleyev A.V. Chronic radioisotope effects on residents of the Techa River (Russia) region: cytogenetic analysis more than 50 years after onset of exposure. *Mutat. Res.* 2013; 756(1-2): 115-118. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2013.05.016
 27. Lorimore S.A., Chrystal J.A., Robinson J.I., Coates P.J., Wright E.G. Chromosomal instability in unirradiated haemopoietic cells induced by macrophages exposed in vivo to ionizing radiation. *Cancer Res.* 2008; 68(19): 8122-8126. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0698
 28. Lorimore S.A., Mukherjee D., Robinson J.I., Chrystal J.A., Wright E.G. Long-lived inflammatory signaling in irradiated bone marrow is genome dependent. *Cancer Res.* 2011; 71(20): 6485-6491. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1926
 29. Suzuki M., Boothman D.A. Stress-induced premature senescence (SIPS)--influence of SIPS on radiotherapy. *J. Radiat. Res.* 2008; 49(2): 105-112. DOI: 10.1269/jrr.07081

Сведения об авторах:

Аклеев Андрей Александрович — доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной радиобиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Уральский научно-практический Центр Радиационной Медицины» Федерального медико-биологического агентства России; <https://orcid.org/0000-0001-9781-071X>

Блинова Евгения Андреевна — кандидат биологических наук, заведующая лабораторией молекулярно-клеточной радиобиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Уральский научно-практический Центр Радиационной Медицины» Федерального медико-биологического агентства России; доцент кафедры радиационной биологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Челябинский государственный университет»; <https://orcid.org/0000-0002-2567-7945>

Аклеев Александр Васильевич — доктор медицинских наук, профессор, директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Уральский научно-практический Центр Радиационной Медицины» Федерального медико-биологического агентства России; заведующий кафедрой радиационной биологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Челябинский государственный университет»; <https://orcid.org/0000-0003-2583-5808>