
НАЦИОНАЛЬНОЕ РУКОВОДСТВО

Р.М. Хаитов, Л.П. Алексеев, Д.Ю. Трофимов

Иммуногеномика и генодиагностика человека



Москва
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»
2017

Глава 7

Роль генетической составляющей в развитии отдаленных эффектов радиационного воздействия

Одной из приоритетных задач Института иммунологии со времени своего основания является развитие исследований в области иммуногенетики человека. На разных этапах деятельности института его сотрудники активно принимали и принимают участие в разработке всех основных направлений иммуногенетики.

Объект исследований — гены иммунного ответа человека, продукты которых обеспечивают важнейшие биологические, в первую очередь иммунологические, функции организма. В основе развития большинства социально значимых заболеваний человека лежит нарушение этих функций, вызванное неблагоприятными эндогенными и экзогенными воздействиями. Одним из перспективных, но в то же время невероятно сложных и мало изученных вопросов в этой области остается изучение действия радиации на организм человека. С одной стороны, известно, что клетки иммунной системы являются одними из наиболее радиочувствительных клеток организма, что определяет выраженный иммуносупрессирующий эффект радиации, а с другой, очевидно, что именно иммунная система играет ключевую роль в восстановлении и адаптации организма после облучения и в условиях хронического радиационного воздействия.

Актуальность этой проблемы обусловлена непрерывным развитием атомных технологий, вызванным растущими потребностями человечества в доступных источниках энергии. Однако освоение энергии атома всегда будет связано с рисками для здоровья человека. История знает несколько примеров ядерных инцидентов,

повлекших за собой аварийное облучение населения и участников ликвидации последствий аварий. По сей день система здравоохранения сталкивается с наследием крупнейших военных и техногенных катастроф, начиная с бомбардировки Хиросимы и Нагасаки и вплоть до аварии на Фукусимской АЭС, масштаб последствий которой до сих пор не оценен в полной мере.

В связи с этим уже в конце 1940-х — начале 1950-х годов перед мировым здравоохранением и человечеством в целом возникла новая задача — обеспечение ядерной и радиационной безопасности населения и в первую очередь контингентов, работающих в условиях повышенного риска воздействия радиации. В эти контингенты входит персонал предприятий атомной промышленности, добывающей отрасли, а также военных объектов. Кроме того, в связи с развитием космической отрасли в последние годы на повестке дня остро стоит вопрос обеспечения радиационной безопасности экипажей космических кораблей.

В 1950–1960-х годах во всех странах были начаты интенсивные исследования, целью которых стало создание препаратов, снижающих радиочувствительность. К сожалению, это развиваемое и в наши дни направление далеко не полностью оправдало первоначальные надежды.

В настоящее время в связи с реализацией и завершением Международной программы «Геном человека» и появлением новых данных о структуре и функциях генома человека более перспективным представляется принципиально иной подход. Этот подход основан на установлении генетических маркеров, обуславливающих индивидуальную чувствительность организма к радиации. Расшифровка генома человека позволила значительно расширить представления об уровне разнообразия (полиморфизма) генов.

Одновременно с этим изменились представления о роли мутационного процесса в биомедицине и формировании человека как вида. Сегодня ясно, что в рамках мутационных процессов происходят не только отрицательные явления, но также и процесс обеспечения человечества устойчивостью к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды, включая инфекционные и техногенные факторы.

При определении направления дальнейших исследований необходимо установить эффекты облучения, которые, с одной стороны, имели бы четкое клиническое проявление, а с другой — характеризовались значимостью иммунной системы и генетического аппарата в этиологии и манифестации заболевания. Среди таких эффектов наибольший интерес с практической и медицинской точки зрения представляет механизм развития злокачественных новообразований. Установлено, что хроническое низко- и среднетозовое облучение, особенно ставшее результатом инкорпорации радионуклидов, обладает канцерогенным эффектом [22]. Кроме того, на повышенный канцерогенный риск облучения указывают отчеты международной комиссии BEIR (Biologic Effects of Ionizing Radiation VII report) [12]

и проводимые в России исследования отдаленных эффектов радиации у участников ликвидации последствий радиационных аварий и лиц, проживающих на радиоактивно загрязненных территориях [2].

Установление ключевых маркеров, отражающих генетическую предрасположенность к развитию негативных эффектов радиационного воздействия и в том числе онкопатологий, позволит исключить или снизить до минимума вероятность негативного влияния радиации на организм человека. Достижение этой цели позволит не только снизить радиационные риски для работников атомной, добывающей и аэрокосмической отрасли, но и откроет новые возможности повышения эффективности и безопасности методов ядерной медицины.

Проблема снижения медицинских рисков может быть решена путем комплексного изучения негативных эффектов радиации на здоровье человека и мониторинга основных показателей здоровья облученных лиц. Эта область исследований является одним из традиционных направлений радиационной медицины. Перечень практических и фундаментальных вопросов, которые рассматривает данная наука, чрезвычайно широк, и в ней, как и в любой дисциплине, ориентированной на быстрый перенос научных разработок в область практического здравоохранения, остро стоит вопрос выбора оптимальных инструментов исследования. Поэтому одной из приоритетных задач, решение которой обеспечивает проведение исследований на передовом мировом уровне, является обеспечение выполнения фундаментальных и прикладных исследований отечественными реагентами, а также высокотехнологичным оборудованием, соответствующим лучшим мировым стандартам.

7.1. Поиск кандидатных генов иммунного ответа, вовлеченных в ответ организма на радиационное воздействие

В условиях сдвига физиологического баланса, обусловленного действием радиации, особенную значимость приобретает иммунная система человека, в том числе процессы регуляции восстановления пула иммунокомпетентных клеток и поддержания разнообразия антигенраспознающих рецепторов, а следовательно, и защиты человека от внешних и измененных собственных антигенов. Длительные наблюдения за людьми, подвергшимся облучению, указывают на то, что иммунная система является одной из наиболее уязвимых к действию радиации. В целом, при радиоактивном облучении организма человека наблюдается сдвиг баланса в относительной представленности популяций Т-клеток на фоне общей лимфопении [8].

Так, проспективное исследование лиц, выживших после атомной бомбардировки городов Хиросима и Нагасаки (Япония), показало значитель-

ное уменьшение числа Т-клеток, в том числе CD4⁺ CD45RA⁺ наивных клеток, на фоне увеличения активности НК-клеток [16].

Еще одной особенностью, характеризующей функциональное состояние иммунной системы наряду с лимфопенией и сдвигом иммунологического баланса, является повышение активности фагоцитов. На самом деле эти показатели взаимосвязаны. В результате разрушения лимфоцитов высвобождается значительное количество биологических молекул (РНК, ДНК, пептидов), за утилизацию которых отвечают фагоциты [4, 11, 25]. Врожденные нарушения в генах системы репарации ДНК на фоне разрушительной для нуклеиновых кислот ионизации приводит к накоплению мутаций, нарушениям процессов трансляции и посттрансляционного процесса белков. Это, в свою очередь, приводит к образованию большого числа «новых» для распознающих молекул антигенов.

Изучению роли приобретенных и врожденных мутаций в развитии негативных эффектов облучения следует уделить особое внимание. Радиационно-индуцированное накопление мутаций в генах, продукты которых ответственны за презентацию антигенов и регуляцию развития иммунного ответа, может сыграть решающую роль в специфичности их связывания с антигеном [20, 28]. В меньшей степени это относится к врожденным (наследуемым) мутациям. Замена всего одной аминокислоты может приводить к изменению конформации пептида, изменению стерических условий взаимодействия и аффинности связи. Это, в свою очередь, может запускать каскад дальнейших реакций и приводить к индивидуальным отклонениям в иммунологическом гомеостазе [15, 29].

Так, при рассмотрении базовых механизмов формирования иммунных реакций в ответ на радиационное воздействие отдельного внимания заслуживает процесс восстановления пула лимфоцитов после облучения. В ряде исследований показано, что у взрослых людей в условиях пониженной активности тимуса процесс репопуляции лимфоцитов осуществляется за счет периферических органов иммунной системы (гомеостатическая пролиферация). Увеличение пула олигоклональных клеток памяти, населяющих лимфатические узлы, приводит к снижению репертуара Т-клеточных рецепторов (TCR). Это, в свою очередь, может препятствовать взаимодействию Т-клеток с опухолевыми антигенами и повышать риск развития онкопатологий. Ключевыми цитокинами, регулируемыми процессом репопуляции цитокинов, являются IL-15 и IL-7 [23, 30].

Таким образом, нарушение функций генов иммунного ответа и их продуктов ведет к развитию тяжелых форм иммунологической недостаточности и иммунозависимым заболеваниям. В связи с этим анализ генов иммунного ответа может иметь прогностическое значение в оценке риска развития осложнений радиационного воздействия. Именно поэтому, рассматривая особенности реакции организма человека на радиационное воздействие, особенное внимание мы уделяем именно регулирующей роли

пептидов системы HLA и особенностям восстановления иммунной системы после стрессорного воздействия.

В рамках разработки аппаратно-диагностического комплекса созданы тест-системы и проведена работа по изучению частот 11 SNP-маркеров и 34 аллелей HLA класса II у лиц без известной истории облучения (как здоровых, так и с патологией), а также у лиц, проживающих на радиоактивно-загрязненных территориях (табл. 7.1).

Таблица 7.1. SNP-маркеры, включенные в исследование генетических основ индивидуальной реакции организма на радиационное воздействие

Маркер	Ген	Функция или установленная ассоциация
rs1801516	<i>ATM</i>	Репарация ДНК, клеточный цикл
rs664677	<i>ATM</i>	Репарация ДНК, клеточный цикл
rs1800469	<i>TGFB1</i>	Репарация ДНК, апоптоз
rs1799782	<i>XRCC1</i>	Репарация ДНК
rs1052133	<i>OGG1</i>	Репарация ДНК
rs2717536	<i>IL7</i>	Иммунный ответ
rs2296135	<i>IL15RA</i>	Иммунный ответ
rs9642880	<i>8q24</i>	Ассоциация с онкозаболеваниями
rs6983267	<i>8q24</i>	Ассоциация с онкозаболеваниями
rs1447295	<i>8q24</i>	Ассоциация с онкозаболеваниями
rs13281615	<i>8q24</i>	Ассоциация с онкозаболеваниями

В исследование по установлению генетических основ развития отсроченных эффектов хронического радиационного воздействия были включены кандидатные маркеры, расположенные в четырех генах систем контроля клеточного цикла и репарации ДНК: *ATM* (2 маркера), *TGFB1*, *XRCC1* и *OGG1* [3].

Серин-протеиновая киназа *ATM* (*Ataxia Telangiectasia Mutated*) принимает участие в фосфорилировании белков репарации ДНК, регуляции механизма апоптоза в ответ на формирование двухцепочечных разрывов ДНК, а также в стабилизации супрессорного опухолевого белка p53. Трансформирующий фактор роста *TGFB1* вовлечен в ответ клетки на стрессорное воздействие (цитотоксические препараты, ионизирующее излучение, температурный шок, окислительный стресс), а также является медиатором системы передачи сигнала между компонентами врожденного и приобретенного иммунитета. Оба гена являются важными компонентами систем репарации ДНК и регуляции клеточного цикла, нарушения в которых связаны с процессом канцерогенеза. Гены *XRCC1* и *OGG1* кодируют тесно связанные продукты,