

КЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 575.117:612.112:616.8-009:616-001.28

I. М. Ільєнко*, Д. А. Базика, С. А. Чумак, К. М. Логановський

Державна установа “Національний науковий центр радіаційної медицини
Національної академії медичних наук України”,
вул. Мельникова, 53, м. Київ, 04050, Україна

**ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ-РЕГУЛЯТОРІВ
АПОПТОЗУ ТА КЛІТИННОГО ЦИКЛУ
ЛІМФОЦІТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ
ПРИ ПОРУШЕННЯХ КОГНІТИВНИХ ФУНКЦІЙ
У УЧАСНИКІВ ЛІКВІДАЦІЇ НАСЛІДКІВ АВАРІЇ
НА ЧОРНОБИЛЬСЬКІЙ АЕС**

Мета роботи — визначити особливості і характер змін експресії генів регуляторів апоптозу і клітинного циклу у лімфоцитах периферичної крові учасників ліквідації наслідків аварії (УЛНА) на ЧАЕС, з цереброваскулярною патологією в залежності від ступеня когнітивних порушень. Проведено дослідження відносного рівня експресії генів TP53, TP53I3, FASLG, BAX, CCND1 за допомогою полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі з використанням TagMan технології. Обстежено 120 осіб з цереброваскулярною патологією і різним ступенем вираженості когнітивних порушень, в тому числі в учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС 1986–1987 рр. Встановлені загальні особливості для груп осіб з когнітивними розладами різного ступеня тяжкості: зростання рівня експресії проапоптотичних генів TP53 і TP53I3 у лімфоцитах периферичної крові осіб з легким когнітивним дефіцитом. Залежності експресії генів TP53 і TP53I3 від дози не встановлено. Зафіксовано зниження середніх показників RQ гена BAX в групах УЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр. з легким когнітивним дефіцитом і у хворих з судинною деменцією. Встановлено негативну кореляційну залежність між рівнем експресії гена BAX і дозою опромінення в групі УЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр. з легким когнітивним дефіцитом; дозозалежна гіперекспресія гена циклін D1–CCND1 в лімфоцитах периферичної крові осіб з когнітивними розладами. Найвищий показник RQ гена CCND1 встановлений у групі хворих на деменцію у віддаленому періоді після опромінення.

Ключові слова: іонізуюча радіація, генна експресія, когнітивна функція, апоптоз, Чорнобиль.

* Ільєнко Ірина Миколаївна, e-mail: ilyenko@ukr.net
© Ільєнко І. М., Базика Д. А., Чумак С. А., Логановський К. М., 2012

Розвиток досліджень когнітивних функцій невід'ємно пов'язаний з прогресом сучасної генетики. Емпіричні приклади та теоретичні погляди базуються на інтеграції опису різних рівнів: ген — мозок — когнітивна функція. Тим не менш, позиційні підходи, що ведуть до ідентифікації гена, як фактора спадковості самі по собі визначають лише шлях від когнітивних функцій до гена. Дослідження зворотнього шляху: від гена до пізнання базуються на дослідженні та поясненні того, як зміни в певних генах призводять до певних когнітивних особливостей. Цей шлях передбачає розуміння умов за яких ген (в його різних формах) експресується, який білок він синтезує, як різні частини цього білка зв'язуються з різними молекулами, як це впливає на клітину і як такі складні каскади молекулярних подій впливають на розвиток та функціональність мозку таким чином, щоб вплинути на когнітивні функції.

Одним з факторів, вплив якого пов'язаний із порушенням генетичного апарату людини, є вплив іонізуючої радіації [1, 2, 3]. В останні роки зміни зі сторони ЦНС пропонуються як один з найбільш яскравих проявів ушкоджуючого впливу малих доз іонізуючої радіації, а розуміння молекулярного підґрунтя неврологічних ефектів може стати важливим для оцінки ризиків для здоров'я при медичному опроміненні, у працівників атомної енергетики та потенційному опроміненні населення.

Експресія генів є чутливим індикатором радіаційного впливу, а малі дози відомі як модулятори профілів транскриптів в опромінених клітинах та тканинах [4, 5]. Попередні дослідження транскрипційного профілю у мозковій тканині показали значні зміни експресії при перебігу різних видів інсультів [6, 7, 8, 9]. При дозі опромінення в 10 сГр були показані індуковані зміни в експресії генів у мозку мишій, які якісно відрізнялися від тих, що відзначалися при високих дозах опромінення (2 Гр) і беруть участь у нейронній сигнальній активності [10]. Подальші дослідження генної експресії у тканині гіпокампу щурів після опромінення черепа продемонстрували, що основна генетична відповідь зконцентрована навколо Мус та онкосупресора TP53 [11].

Відомо, що ген онкосупресор TP53 відіграє ключову роль у клітинній відповіді на стрес та ушкодження ДНК, бере участь у контролі клітинного циклу та регуляції апоптозу. Обидва білки, які належать до родини білків TP53 — p63/p73 беруть участь у розвитку: p63 має вирішальне значення для оновлення епітеліальних стовбурових клітин та епітеліального гомеостазу, а p73 бере участь у нейрогенезі та природній імунній відповіді. Нейрональні дефекти були першою фенотиповою властивістю, яка спостерігалась у p73-дефіцитних мишій, у тому числі

з високим внутрішньочерепним тиском та дизгенезією гіпокампу [12]. Важливими були дослідження, які показали, що Δ Np73 ізоформи в основному експресуються при розвитку мишаочого мозку та симпатичних нейронів, що пояснює нейронні дефекти через втрату Δ Np73. Як з'ясувалось, Δ Np73 ізоформи гальмують нейрональний апоптоз, блокуючи p53-проапоптотичну функцію [13]. Ці дослідження визначають p73 та Δ Np73 ізоформи, як визначальні фактори клітинного диференціювання та апоптозу нервової тканини. Більш того, у розвитку клітин Кахаля-Ретціуса кори головного мозку людини, показаний тісний зв'язок між експресією p73 та риліну — глікопротеїну, який бере участь у міграції нейронів [14].

При дослідженні когорти осіб УЛНА на ЧАЕС у віддаленому періоді після опромінення, не можна не враховувати, що у розвиток когнітивного дефіциту свій внесок робить вік та старіння організму. Сучасні молекулярно-генетичні методи вимірювання активності певних генів у соматичних тканинах показали, що процес старіння є періодом відтворюваних динамічних змін. Рівень експресії одних генів зростає, тоді як інших знижується [15]. При дослідженні 233 генів у клітинах головного мозку шурів було ідентифіковано 7 гіпоекспресуючих та 10 гіперекспресуючих функціональних категорій генів, пов'язаних зі старінням та когнітивним станом [16]. Множинні гени, які пов'язані з енергетичним метаболізмом, особливо мітохондріальною функцією та ланцюгами електронного транспорту, гіпоекспресуються з віком. Однією з найбільш інтригуючих гіпопрограматорних категорій генів, асоційованих зі старінням та когнітивним станом, були ті, що пов'язані з синаптично-нейронною пластичністю (agrin, Gap-43, Narp, Arc, Vgf). Також багато інших, залежних від нейронної активності генів, включаючи гени негайнії ранньої відповіді у категоріях “транскрипція” (Egr 1, NGFI-C) та “сигналінг” (MAPKK6). З віком гіпоекспресуються також гени, асоційовані зі старінням та когнітивним станом, які важливі для біосинтезу (нуклеопорін, H2AZ), а також протеїни трафіку (шаперони: Hsp60, DnaJ-подібний гомолог). Серед генів, які відповідають за старіння та когнітивний стан, є ті, що гіперекспресуються, а саме: гени, асоційовані з гліальною функцією, запаленням, імунітетом та оксидативним стресом.

Мета дослідження — визначити особливості та характер змін експресії генів регуляторів апоптозу та клітинного циклу у лімфоцитах периферичної крові (ПК) учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС, хворих на цереброваскулярну патологію, в залежності від ступеня когнітивних розладів.

Матеріал та методи дослідження. Проведене дослідження відносного рівня генної експресії у лімфоцитах ПК 120 осіб. Були сформовані наступні групи обстеження: 1 група — контроль (18 практично здорових осіб), середній вік ($M \pm SD$) — ($50,1 \pm 5,11$) року; 2 група — 17 неопромінених осіб із цереброваскулярною патологією (ЦВП) та легким когнітивним дефіцитом, середній вік ($54,8 \pm 9,17$) року; 3 група — 8 неопромінених осіб, із ЦВП та деменцією, середній вік ($61,6 \pm 11,61$) року; 4 група — 54 УЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр. із ЦВП та легким когнітивним дефіцитом, середній вік ($54,9 \pm 7,07$) року, доза опромінення ($M \pm SD$) — ($0,51 \pm 0,09$) Зв; 5 група — 23 УЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр., із ЦВП та деменцією, середній вік ($61,1 \pm 7,56$) роки, доза опромінення — ($0,43 \pm 0,10$) Зв.

Критерієм включення в контрольну групу були відсутність ЦВП, підтверджена оглядом невролога та параклінічними методами дослідження, відсутність анамнестичних даних щодо опромінення, значення по скринінговій шкалі MMSE 28–30 балів. Критерієм включення в групу 2 неопромінених з когнітивними розладами була наявність ЦВП, підтверджена оглядом невролога та параклінічними методами дослідження, відсутність анамнестичних даних щодо опромінення та значення по скринінговій шкалі MMSE 24–27 балів. Критерієм включення в групу 4 була наявність ЦВП, фіксованої дози опромінення та значення по скринінговій шкалі MMSE 24–27 балів. Критерієм включення в групу 5 була наявність ЦВП, фіксованої дози опромінення та значення по скринінговій шкалі MMSE ≤ 23 балів. Всі досліджувані особи були чоловічої статі.

Дослідження генної експресії проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) зі зворотною транскрипцією у реальному часі. Виділення РНК проводили із мононуклеарів ПК за допомогою автоматичної станції QIAcube (QIAGENE, Germany) для виділення нуклеїнових кислот та спін-колонкового набору для виділення РНК — NucleoSpin RNAII (Macherey-Nagel, Germany) із застосуванням обробкою ДНК-азою. Синтез қДНК із зразків виділеної РНК проводився за допомогою High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, USA). Ампліфікація қДНК проводилася за допомогою роботизованої системи 7900 HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, USA) з використанням наборів TagMan. Аналіз отриманих даних проводили за допомогою програмного забезпечення

SDS 2.3 та RQManager. Показники відносного рівня генної експресії (RQ) розраховували за допомогою $\Delta\Delta Ct$ порівняльного методу, де $\Delta\Delta Ct = (Ct_{sample} - Ct_{ref})_{ctrl} - (Ct_{sample} - Ct_{ref})_{irradiated}$ і де оцінка співвідношення експресії дорівнює $2^{\Delta\Delta Ct}$. Проведена оцінка експресії наступних генів: TP53, TP53I3, FASLG, BAX, CCND1 (ген, який кодує G1/S-специфічний циклін-D1 білок), які на транскрипційному, а потім і на трансляційному рівнях беруть участь у реалізації запрограмованої клітинної загибелі та регуляції клітинного циклу.

Результати та їх обговорення. Одним з найважливіших генів-регуляторів апоптозу є TP53. Експресія TP53 відбувається при перших ознаках ушкодження ДНК, в тому числі й іонізуючою радіацією. В результаті проведеного дослідження встановлено підвищення рівня експресії гена TP53 відповідно зі зростанням ступеня тяжкості когнітивних розладів (рис. 1). Поряд з цим, імовірним є внесок радіаційного фактора у генну відповідь, оскільки показники експресії гена TP53 у групах опромінених осіб з когнітивними розладами різного ступеня тяжкості були найвищими. Для перевірки цього припущення, були об'єднані групи 2, 3 (неопромінені особи з легким когнітивним дефіцитом та деменцією) та групи 4, 5 (УЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр. з легким когнітивним дефіцитом та деменцією). Однак достовірно значущих змін у рівні експресії гена TP53 в залежності від фактора опромінення не виявлено. Кореляційної залежності від дози опромінення також не встановлено.

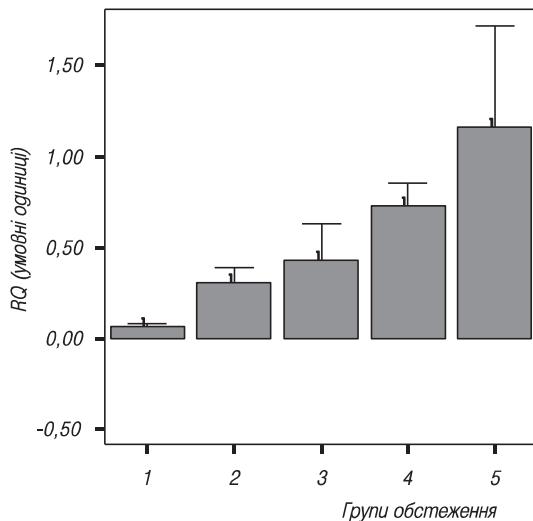


Рис. 1. Характеристика рівня експресії гена TP53 у лімфоцитах ПК осіб груп обстеження. 1 — контроль, 2 — неопромінені особи з легким когнітивним дефіцитом в анамнезі, 3 — неопромінені особи, хворі на деменцію, 4 — УЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр. з легким когнітивним дефіцитом в анамнезі, 5 — УЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр., хворі на деменцію

Проведено дослідження гена TP53I3. Вивчення цього гена не випадкове, оскільки він кодує протеїн, схожий з оксидоредуктазами, який залучений у клітинну відповідь на оксидативний стрес та іонізуюче опромінення. Ген TP53I3 індукується онкосупресором p53 і вважається, що він залучений до p53-опосередкованої клітинної загибелі. Припускають, що поліморфізм цього гена асоціюється з різною сприйнятливістю до раку. Нами встановлено зростання рівня експресії TP53I3 у групах осіб з легким когнітивним дефіцитом. Різко знижені показники RQ гена TP53I3 зафіксовані у групі хворих на деменцію, поряд із цим у групі опромінених осіб з деменцією цей показник не відрізняється від контрольних значень. Достовірно значущих змін у рівні експресії гена TP53I3 в залежності від опромінення не виявлено. Таким чином, встановлена загальна особливість для груп осіб з когнітивним дефіцитом — зростання рівня експресії проапоптотичних генів TP53 та TP53I3 незалежно від радіаційного фактора в анамнезі.

Дослідження генів-регуляторів одного з проапоптотичних членів родини білків Bcl-2 — BAX продемонструвало статистично достовірні результати у групах 4, 5 — опромінених осіб з легким когнітивним дефіцитом та деменцією. Відомі складні механізми взаємодії BAX та p53, які дають підстави припустити наявність порушень у функціонуванні Bcl-2-асоційованого X протеїну у нашому дослідженні. У більшості здорових клітин ссавців BAX знаходиться у цитозолі клітин, однак при активзації сигналінту апоптозу BAX вбудовується в мембрани клітинних органел, здебільшого мітохондрій. Імовірним вважається, що p53 сприяє BAX у включені в мітохондріальну мембрани та у реалізації апоптозу в якості фактора транскрипції. Нами встановлено зниження експресії гена BAX у групах осіб з легким когнітивним дефіцитом та деменцією порівняно з контролем (рис. 2). Статистично значущими результатами були у групах 4, 5 (опромінені особи) — $1,21 \pm 1,09$ ($M \pm SD$), $p < 0,01$ та $0,68 \pm 0,78$ ($M \pm SD$), $p < 0,05$ відповідно (де середній показник RQ BAX контролальної групи становив $2,13 \pm 1,91$ ($M \pm SD$)). З огляду на те, що у групах УЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр. з когнітивним дефіцитом була встановлена статистично достовірна різниця між експериментальними значеннями RQ гена BAX та контрольними, ми провели аналіз залежностей від дози опромінення. Статистично достовірної різниці не встановлено. Однак, встановлена тенденція до асоціації рівня експресії гена BAX та дози опромінення у групі 4 — УЛНА на ЧАЕС з легким когнітивним дефіцитом. Коефіцієнт кореляції Пірсона становив: $r = -0,31$, $p < 0,123$ (рис. 3).

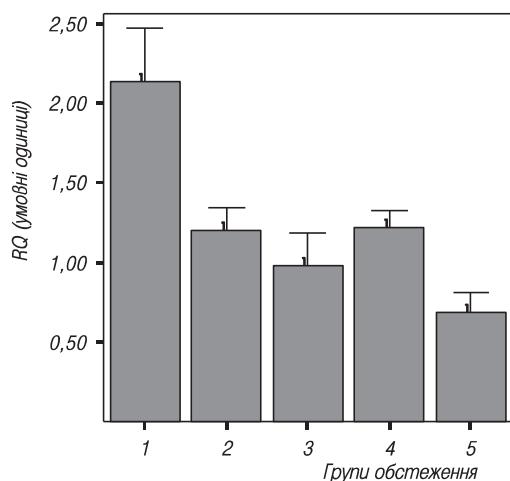


Рис. 2. Характеристика рівня експресії гена BAX у лімфоцитах ПК осіб груп обстеження. 1 — контроль, 2 — неопромінені особи з легким когнітивним дефіцитом в анамнезі, 3 — неопромінені особи, хворі на деменцію, 4 — УЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр. із легким когнітивним дефіцитом в анамнезі, 5 — УЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр., хворі на деменцію

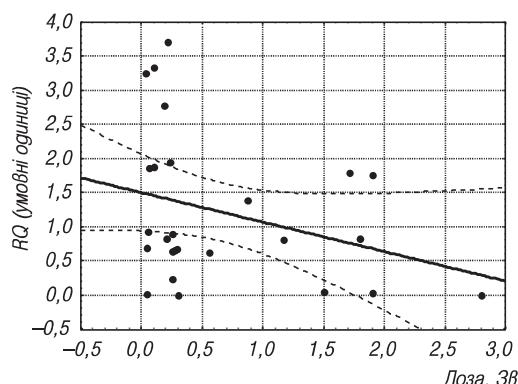


Рис. 3. Дозова залежність експресії гена BAX в УЛНА на ЧАЕС із легким когнітивним дефіцитом через 22–24 роки після опромінення

Проведений аналіз експресії гена FASLG, продукт якого відноситься до родини факторів некрозу пухлин та при зв'язуванні з рецептором індукує запрограмовану клітинну загибель. Однак існують дані, які свідчать про те, що передача апоптотичного сигналу, який індукується антитілом, не є гарантованою, а дефектний Fas-опосередкований апоптоз призводить до онкогенезу [17]. Мутації FASLG також асоційовані з аутоімунним лімфопроліферативним синдромом [18].

У лімфоцитах ПК неопромінених осіб з когнітивними розладами різного ступеня тяжкості встановлено зниження рівня експресії гена FASLG, що є підставою припустити наявність порушень у реалізації FAS-опосередкованого апоптозу при ЦВП. Натомість у групах 4 та 5 показник RQ гена FASLG лише мав тенденцію до зростання ($p>0,05$) (рис. 4). В залежності від наявності опромінення в анамнезі встановлено вірогідну різницю у групах хворих на легкі когнітивні розлади ($p<0,05$) та деменцією

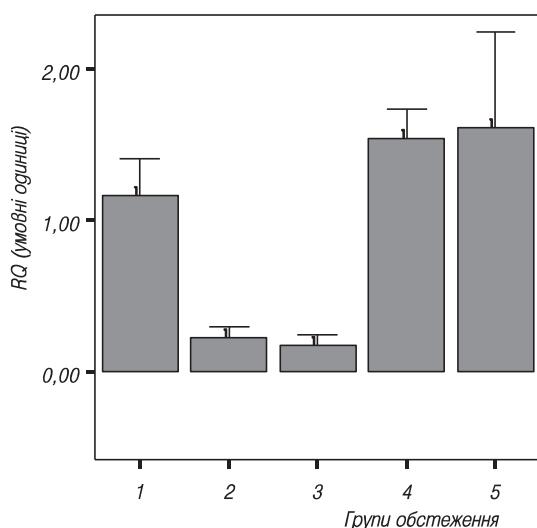


Рис. 4. Характеристика рівня експресії гена FASLG у лімфоцитах ПК осіб з групами обстеження. 1 — контроль, 2 — неопромінені особи з легким когнітивним дефіцитом в анамнезі, 3 — неопромінені особи, хворі на деменцію, 4 — УЛНА на ЧАЕС 1986—1987 рр. з легким когнітивним дефіцитом в анамнезі, 5 — УЛНА на ЧАЕС 1986—1987 рр., хворі на деменцію

ними білками, які контролюють швидкість проходження G1-фази у клітинах вищих еукаріот, є циклін D-типу. Циклін D1, на відміну від D2 та D3, відіграє особливу роль у диференціюванні клітини. Цикліни групи D експресуються у більшості типів клітин, крім того їх експресія активується при переході клітиною від стану спокою до поділу. CCND1 — ген, який кодує цикліні групи D. Мутації або гіперекспресія гена CCND1 спостерігаються досить часто при різних типах пухлин. Вважають, що гіперекспресія циклінів імовірно сприяє канцерогенезу.

Дослідження гена CCND1 у лімфоцитах ПК осіб з когнітивними розладами, показали зростання відносного рівня експресії в залежності від ступеня когнітивного дефіциту та фактора опромінення. Найбільш високий показник RQ встановлений у групі опромінених осіб, хворих на деменцію. Однак, статистично достовірні результати зафіксовані лише

($p < 0,05$). При розподілі груп в залежності від наявності фактора радіаційного впливу, нами не встановлено взаємозв'язку з дозою опромінення.

Дослідження запрограмованої клітинної загибелі після опромінення неможливе без вивчення фундаментальної біологічної проблеми — регуляції клітинного циклу. Доля клітин, які діляться, залежить від цілого ряду обставин: генетичної програми, впливу зовнішніх та внутрішніх факторів. В результаті чого клітина може вступити у процес диференціювання, запустити механізми апоптозу або вступити у процес бласт-трансформації. Основ-

у групі 4 — опромінені особи з легким когнітивним дефіцитом (рис. 5). Дослідження ступеня внеску радіаційного чинника у рівень експресії гена CCND1 показали наявність кореляційної залежності між дозою опромінення та показником RQ цього гена у групі опромінених осіб з легким когнітивним дефіцитом з високим ступенем достовірності. Коефіцієнт кореляції Пірсона становив: $r=0,61$, $p<0,005$. Результати проілюстровано на рис. 6. Однак, при порівнянні показників RQ гена CCND1 у групах, розподілених в залежності від наявності фактора радіаційного впливу, різниці не встановлено.

Пошук молекулярно-генетичних основ когнітивної функції є однією з фундаментальних наукових проблем сьогодення. Як свідчать дослідження, генетичні фактори вносять істотний внесок у варіативність когнітивних показників. Цей внесок може складати 50–80% у загальній популяції [19]. Специфічні гени, які порушують когнітивні функції, визначено при окремих клінічних формах — хворобах Альцгеймера, Паркінсона, що дає змогу застосування ранньої діагностики та генної терапії [20]. Водночас, у загальній популяції асоціації цих генів зі зниженням когнітивної функції досі не встановлено, що свідчить про більшу складність механізмів та можливість мультигенних змін. Сьогодні ведеться їх інтенсивний пошук із застосуванням різних методичних підходів. Проводяться дослідження генів, які визначають індивідуальну чутливість тканини мозку до ішемії, серед яких найбільш значущі гене-

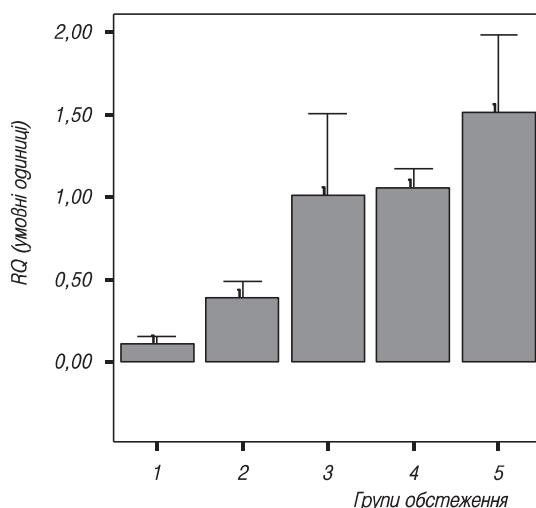


Рис. 5. Характеристика рівня експресії гена CCND1 у лімфоцитах ПК осіб груп обстеження. 1 — контроль, 2 — неопромінені особи з легким когнітивним дефіцитом в анамнезі, 3 — неопромінені особи, хворі на деменцію, 4 — УЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр. з легким когнітивним дефіцитом в анамнезі, 5 — УЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр., хворі на деменцію

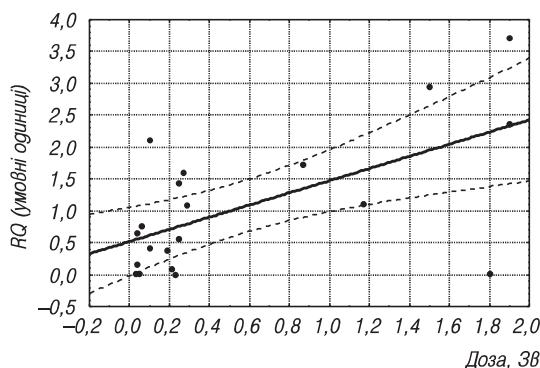


Рис. 6. Дозова залежність експресії гена CCND1 в УЛНА на ЧАЕС з легким когнітивним дефіцитом через 22–24 роки після опромінення

рівня експресії проапоптотичних генів TP53 та TP53I3 у лімфоцитах ПК осіб з легким когнітивними дефіцитами. Залежності експресії генів TP53 та TP53I3 від дози не встановлено; зниження середніх показників RQ гена BAX у групах УЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр. з легким когнітивним дефіцитом та хворих на деменцію. Встановлена негативна кореляційна залежність між рівнем експресії гена BAX та дозою опромінення у групі УЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр. з легким когнітивним дефіцитом; дозозалежна гіперекспресія гена циклу D1 – CCND1 у лімфоцитах ПК осіб з когнітивними розладами. Найвищий показник RQ гена CCND1 встановлений у групі хворих на деменцію у віддаленому періоді після опромінення.

тичні механізми апоптозу та антиапоптозного захисту. Нами показано значення цих загальних механізмів у віддаленому періоді після дії іонізуючої радіації на учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС, які на момент опромінення являли собою здорову популяцію репродуктивного віку. Також описують підвищення рівня експресії РНК, яке знаходить відображення у периферичній крові, як “генетичний підпис” іонізуючої радіації [21]. Вирішення цього питання можливе з урахуванням порогових значень дози для досліджуваних механізмів.

Висновки. Таким чином, в результаті проведеного аналізу експресії генів-регуляторів апоптозу встановлені загальні особливості для груп осіб з когнітивними розладами різного ступеня тяжкості: зростання рівня експресії проапоптотичних генів TP53 та TP53I3 у лімфоцитах ПК осіб з легким когнітивними дефіцитами. Залежностей експресії генів TP53 та TP53I3 від дози не встановлено; зниження середніх показників RQ гена BAX у групах УЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр. з легким когнітивним дефіцитом та хворих на деменцію. Встановлена негативна кореляційна залежність між рівнем експресії гена BAX та дозою опромінення у групі УЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр. з легким когнітивним дефіцитом; дозозалежна гіперекспресія гена циклу D1 – CCND1 у лімфоцитах ПК осіб з когнітивними розладами. Найвищий показник RQ гена CCND1 встановлений у групі хворих на деменцію у віддаленому періоді після опромінення.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Коцан, І. Я. Вплив іонізуючої радіації на нервову систему / І. Я. Коцан, О. А. Журавльов // Науковий вісник Волинського державного університету ім. Л. Українки. — 2007. — С. 5–14.
2. Loganovsky K. Do low doses of ionizing radiation affect the human brain? / K. Loganovsky // Data Science J. — 2002. — Vol. 8, № 24. — P. 13–35.

3. Логановський К. Н. Влияет ли ионизирующая радиация на головной мозг человека? [Електронний ресурс] / К. Н. Логановський // Укр. медичний часопис Online. — 2009. — № 3. — Режим доступу: <http://www.umj.com.ua>.
4. Low-dose irradiation alters the transcript profiles of human lymphoblastoid cells including genes associated with cytogenetic radioadaptive response / M. A. Coleman [et al.] // Radiat. Res. — 2005. — Vol. 164. — P. 369–382.
5. Gene expression changes in mouse brain after exposure to low-dose ionizing radiation / E. Yin [et al.] // Int. J. Radiat. Biol. — 2003. — Vol. 79. — P. 759–775.
6. Microarray expression analysis of gad mice implicates involvement of Parkinson's disease associated UCH-L1 in multiple metabolic pathways / M. Bonin [et al.] // Mol. Brain Res. — 2004. — Vol. 126. — P. 88–97.
7. Saba R. Target labeling for the detection and profiling of microRNAs expressed in CNS tissue using microarrays / R. Saba, S. Booth // BMC Biotechnol. — 2006. — Vol. 6. — P. 47.
8. Laser microdissection and microarray analysis of the hippocampus of Ras-GRF1 knockout mice reveals gene expression changes affecting signal transduction pathways related to memory and learning / A. Fernandez-Medarde [et al.] // Neuroscience. — 2007. — Vol. 146. — P. 272–285.
9. Lowe X. R. The expression of Troponin T1 gene is induced by ketamine in adult mouse brain / X. R. Lowe, X. Lu, F. Marchetti // Brain Res. — 2007. — Vol. 1174. — P. 7–17.
10. Gene expression changes in mouse brain after exposure to low-dose ionizing radiation / E. Yin [et al.] // Int. J. Radiat. Biol. — 2003. — Vol. 79. — P. 759–775.
11. Achanta P. Gene expression changes in the rodent hippocampus following whole brain irradiation / P. Achanta [et al.] // Neurosci. Lett. — 2007. — Vol. 418. — P. 143–148.
12. P73-deficient mice have neurobiological, pheromonal and inflammatory defects but lack spontaneous tumors / A. Yang [et al.] // Nature. — 2000. — Vol. 404. — P. 99–103.
13. An anti-apoptotic role for the p53 family member, p73, during developmental neuron death / C. D. Pozniak [et al.] // Science. — 2000. — Vol. 289. — P. 304–306.
14. Meyer G. Expression of p73 and reelin in the developing human cortex / G. Meyer, C. G. Perez-Garcia, H. Abraham // J. Neurosci. — 2002. — Vol. 22. — P. 4973–4986.
15. Москалев А. А. Перспективные направления генетики старения и продолжительности жизни / А. А. Москалев // Успехи геронтологии. — 2009. — Т. 22, № 3. — С. 92–103.
16. Gene Microarrays in Hippocampal Aging: Statistical Profiling Identifies Novel Processes Correlated with Cognitive Impairment / E. M. Blalock [et al.] // J. Neuroscience. — 2003. — Vol. 23. — P. 3807–3819.
17. Debatin K. M. Apoptosis pathways in cancer and cancer therapy / K. M. Debatin // Cancer Immunol., Immunother. — 2004. — Vol. 53, № 3. — P. 153–159.
18. João Bosco Oliveira. Disorders of apoptosis: mechanisms for autoimmunity in primary immunodeficiency diseases / João Bosco Oliveira, Sudhir Gupta // J. Clin. Immunol. — 2008. — Vol. 28, Suppl. 1. — P. 20–28.
19. Heritability of cognitive abilities in adult twins: comparison of Minnesota and Swedish data / D. Finkel [et al.] // Behav. Genet. — 1995. — Vol. 25. — P. 421–431.
20. Waring S. C. Genome-wide association studies in Alzheimer disease / S. C. Waring, R. N. Rosenberg // Arch. Neurol. — 2008. — Vol. 65, № 3. — P. 329–334.
21. Paul S. Development of gene expression signatures for practical radiation biodosimetry // S. Paul, S. A. Amundson // Int. J. Rad. Oncology Biol. Phys. — 2008. — Vol. 71, № 4. — P. 1236–1244.

Стаття надійшла до редакції 17.05.2012.

І. Н. Ільєнко, Д. А. Базыка, С. А. Чумак, К. Н. Логановский

*Государственное учреждение “Национальный научный центр радиационной
медицины Национальной академии медицинских наук Украины”,
53, ул. Мельникова, г. Киев, 04050, Украина*

**ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ-РЕГУЛЯТОРОВ АПОПТОЗА
И КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ
КРОВИ ПРИ НАРУШЕНИЯХ КОГНИТИВНОЙ ФУНКЦИИ
У УЧАСТНИКОВ ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ
НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС**

Цель работы — определить особенности и характер изменений экспрессии генов регуляторов апоптоза и клеточного цикла в лимфоцитах периферической крови участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС, с цереброваскулярной патологией в зависимости от степени когнитивных нарушений. Проведено исследование относительного уровня экспрессии генов TP53, TP53I3, FASLG, BAX, CCND1 с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием TagMan технологий. Обследовано 120 лиц с цереброваскулярной патологией и разной степенью выраженности когнитивных нарушений, в том числе у участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС 1986–1987 гг. Установлены общие особенности для групп лиц с когнитивными расстройствами разной степени тяжести: рост уровня экспрессии проапоптотических генов TP53 и TP53I3 в лимфоцитах периферической крови лиц с легким когнитивным дефицитом. Зависимостей экспрессии генов TP53 и TP53I3 от дозы не установлено. Зафиксировано снижение средних показателей RQ гена BAX в группах УЛПА на ЧАЭС 1986–1987 гг. с легким когнитивным дефицитом и у больных с сосудистой деменцией. Установлена отрицательная корреляционная зависимость между уровнем экспрессии гена BAX и дозой облучения в группе УЛПА на ЧАЭС 1986–1987 гг. с легким когнитивным дефицитом; дозозависимая гиперэкспрессия гена циклин D1 — CCND1 в лимфоцитах ПК лиц с когнитивными расстройствами. Наивысший показатель RQ гена CCND1 установлен в группе больных деменцией в отдаленном периоде после облучения.

Ключевые слова: ионизирующая радиация, генная экспрессия, когнитивная функция, апоптоз, Чернобыль.

I. Il'ienko, D. Bazuka, S. Chumak, K. Loganovsky

*State Institution “National Research Center for Radiation Medicine
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”,
53, Melnykov str., Kyiv, 04050, Ukraine*

**EXPRESSION OF GENE-REGULATORS OF APOPTOSIS
AND CELL CYCLE IN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES
IN COGNITIVE IMPAIRMENT OF CHORNOBYL CLEAN-UP WORKERS**

Aim — to determine the characteristics and nature of changes in expression of gene-regulators of apoptosis and cell cycle progression in peripheral blood lymphocytes of Chernobyl clean-up workers with cognitive function impairment. The study of relative

quantification of expression of genes TP53, TP53I3, FASLG, BAX, CCND1 was performed by polymerase chain reaction in PCR real time using TagMan technologies. The study involved 120 subjects and different stages of cognitive impairment, including the Chornobyl clean-up workers 1986–87. Subjects with mild cognitive disorders were characterized by an increase in the expression of proapoptotic genes TP53 and TP53I3. Dependency of gene expression and TP53 TP53I3 of the dose is not established. Documented reduction in average RQ of BAX was demonstrated in groups of Chornobyl clean-up workers of 1986–87 with mild cognitive deficit as well as in patients with vascular dementia. A negative correlation was shown between the level of BAX gene expression and radiation dose in the group of Chernobyl clean-up workers 1986–87 with mild cognitive deficits, and a dose-related overexpression of CCND1 in the peripheral blood lymphocytes of patients with cognitive deficit. The highest CCND1 gene RQ figures were shown in patients with dementia in the late period after irradiation.

Key words: *ionising radiation, gene expression, cognitive functions, apoptosis, Chornobyl.*