

УДК: 575.117:616-008.3/5:616-001.28

І. М. Ільєнко✉, Д. А. Бази́ка, Н. А. Голя́рник, Л. М. Зварич, Л. І. Швайко, К. Д. Бази́ка
Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії
медичних наук України», вул. Юрія Ілленка, 53, м. Київ, 04050, Україна

ЗМІНИ ГЕННОЇ ЕКСПРЕСІЇ, АСОЦІЙОВАНІ З НЕПУХЛИННИМИ ЕФЕКТАМИ ВІДДАЛЕНОГО ПЕРІОДУ ПІСЛЯ ОПРОМІНЕННЯ В УЧАСНИКІВ ЛІКВІДАЦІЇ НАСЛІДКІВ АВАРІЇ НА ЧАЕС

Мета: встановити зв'язок радіаційно-асоційованих порушень генної експресії з реалізованою патологією бронхолегеневої та серцево-судинної систем в учасників ліквідації наслідків аварії (ЛНА) на ЧАЕС.

Матеріали і методи. Обстежено 314 учасників ЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр. (основна група) чоловічої статі з різними нозологічними формами серцево-судинної та бронхолегеневої патологій та 50 осіб контрольної групи. Вікова характеристика: основна група – (58,94 ± 6,82) років (M ± SD); 33/79 років (min/max), контрольна група – (50,50 ± 5,73) років (M ± SD); 41/67 років (min/max). Дози зовнішнього опромінення осіб основної групи: (411,82 ± 625,41) мЗв (M ± SD); 1,74/3600 мЗв (min/max). Проведено визначення відносного рівня експресії генів: *BCL2*, *CDKN2A*, *CLSTN2*, *GSTM1*, *IFNG*, *IL1B*, *MCF2L*, *SERPINB9*, *STAT3*, *TERF1*, *TERF2*, *TERT*, *TNF*, *TP53*, *CCND1*, *CSF2*, *VEGFA* у лейкоцитах периферичної крові методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі (7900 HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, USA)). Визначення асоціації «ген-захворювання» проведено на статистичних моделях, стратифікованих окремо для кожного захворювання та гена. Логістична регресія була використана для розрахунку коефіцієнтів шансів.

Результати. В осіб основної групи, хворих на ішемічну хворобу серця виявлені підвищення експресії гена *GSTM1* та відсутність змін генної експресії *VEGFA*. В групі хворих на гіпертонічну хворобу визначено гіперекспресію генів *TP53*, *VEGFA* та *IFNG*. При поєднанні даних захворювань встановлено підвищення експресії генів *CSF2*, *TERF1*, *TERF2*. Виявлені зміни демонструють включення системи окисного гомеостазу у хворих на ішемічну хворобу серця, тоді як гіпертонічна хвороба асоціюється з експресією генів ангіогенезу та імунного запалення. В учасників ЛНА на ЧАЕС з бронхолегеневою патологією встановлено зростання експресії генів, пов'язаних з апоптозом та кіназною активністю (*BCL2*, *CLSTN2*, *CDKN2A*), імунним запаленням (*CSF2*, *IL1B*, *TNF*); експресія гена *TP53* та гена *GSTM1*, пов'язаного з системою глутатіону, була достовірно підвищеною в групі осіб з хронічним бронхітом, тоді як у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень підвищення не визначалося; зниженою була експресія генів *SERPINB9* та *MCF2L*.

Висновки. Визначено зміни експресії генів, асоційовані з розвитком соматичної патології у віддаленому періоді після опромінення, зокрема генів імунної відповіді та запальних реакцій *CSF2*, *IFNG*, *IL1B*, *TNF*; експресії генів-регуляторів клітинної проліферації, старіння та апоптозу *TP53*, *BCL2*, *MCF2L*, *CDKN2A*, *SERPINB9*, *TERF1*, *TERF2*, *TERT*; генів-регуляторів клітинної адгезії та ангіогенезу *CLSTN2*, *VEGFA*.

Ключові слова: генна експресія, соматична патологія, радіація, Чорнобиль.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2020. Вип. 25. С. 456–477. doi: 10.33145/2304-8336-2020-25-456-477

✉ Ільєнко Ірина Миколаївна, e-mail: ilyenko@ukr.net

I. M. Iliencko✉, D. A. Bazyka, N. A. Golyarnyk, L. M. Zvarych, L. I. Shvayko, K. D. Bazyka

State Institution «National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 53 Yuriia Illienka St., Kyiv, 04050, Ukraine

CHANGES IN GENE EXPRESSION ASSOCIATED WITH NON-CANCER EFFECTS OF THE CHORNOBYL CLEAN-UP WORKERS IN THE REMOTE PERIOD AFTER EXPOSURE

Objective: to establish the connection of radiation-induced changes in gene expression with the realized pathology of the broncho-pulmonary and cardiovascular systems in Chernobyl clean-up workers.

Materials and methods. We examined 314 male Chernobyl clean-up workers (main group; age (58.94 ± 6.82) years ($M \pm SD$); min 33, max 79 years; radiation dose (411.82 ± 625.41) mSv ($M \pm SD$); min 1.74, max 3600 mSv) with various nosological forms of cardiovascular and broncho-pulmonary pathology (BPP) and 50 subjects of the control group: age (50.50 ± 5.73) years ($M \pm SD$); min 41, max 67 years. The relative level of *BCL2*, *CDKN2A*, *CLSTN2*, *GSTM1*, *IFNG*, *IL1B*, *MCF2L*, *SERPINB9*, *STAT3*, *TERF1*, *TERF2*, *TERT*, *TNF*, *TP53*, *CCND1*, *CSF2*, *VEGFA* genes expression was determined in peripheral blood leukocytes by real-time PCR (7900 HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, USA)). The «gene-disease» association was determined on statistical models stratified separately for each disease and gene. Logistic regression was used to calculate the odds ratio.

Results. Increased *GSTM1* gene expression and no changes in angiogenesis-related *VEGFA* gene expression were found in the main group of patients with coronary heart disease (CHD). It was established overexpression of *TP53*, *VEGF* and *IFNG* genes in the group of patients with arterial hypertension (AH). At combination of these diseases an increase of expression of *CSF2*, *TERF1*, *TERF2* genes was established. The detected changes demonstrate an activation of the antioxidative defense system in patients with CHD, while AH is associated with the expression of genes of angiogenesis and immune inflammation. It was shown an increase in the expression of genes associated with apoptosis and kinase activity (*BCL2*, *CLSTN2*, *CDKN2*), immune inflammation (*CSF2*, *IL1B*, *TNF*) in Chernobyl clean-up workers with BPP. Expression of *TP53* and *GSTM1* (gene, associated with the glutathione system) was significantly upregulated in the group of individuals with chronic bronchitis, whereas in patients with chronic obstructive pulmonary disease, no increase was detected; the expression of *SERPINB9* and *MCF2L* genes was downregulated.

Conclusions. Changes in the expression of genes, associated with the development of somatic pathology in the remote period after irradiation, in particular the genes of the immune response and inflammatory reactions *CSF2*, *IFNG*, *IL1B*, *TNF*; expression of genes that regulate cell proliferation, aging and apoptosis *TP53*, *BCL2*, *MCF2L*, *CDKN2A*, *SERPINB9*, *TERF1*, *TERF2*, *TERT*; genes that regulate cell adhesion and angiogenesis *CLSTN2*, *VEGF*.

Key words: gene expression, somatic pathology, radiation, Chernobyl.

Problems of Radiation Medicine and Radiobiology. 2020;25:456-477. doi: 10.33145/2304-8336-2020-25-456-477

ВСТУП

Протягом останнього десятиліття наукові дослідження у галузі радіаційної безпеки, були спрямовані на пошук нових біомаркерів, які дозволять швидко та високопродуктивно оцінювати дозу опромінення. Близько 20 років тому S. A. Amundson та ін. [1] припустили, що відносні рівні експресії генів у клітинах периферичної крові (ПК) людини можуть використовуватися, як біомаркери зовнішнього опромінення. З тих пір, відкриття і оцінка нових генів, для яких транскрипційна експресія може бути модульована пошкодженням ДНК в цілому і зокрема іонізуючим випромінюванням (ІВ), значно зросла. Дослідженнями

INTRODUCTION

Over the last decade, a research in the field of radiation biology was focused on search of the new biomarkers that allow quickly and highly productively assess the radiation dose. About 20 years ago, S. A. Amundson et al. [1] suggested that the relative levels of gene expression in human peripheral blood (PB) cells can be used as biomarkers of external irradiation. The number of identified new genes, for which transcriptional expression can be modulated by the DNA damage in general and ionizing radiation (IR) in particular has increased significantly. The NATO and RENEB studies con-

✉ Iryna M. Iliencko, e-mail: ilyenko@ukr.net

за програмами NATO та RENEВ підтверджено великий потенціал визначення генної експресії у лейкоцитах ПК в якості біомаркера впливу ІВ, для забезпечення швидкої оцінки дози опромінення у великій кількості індивідумів [2, 3]. Були проведені масштабні геномні дослідження для виявлення чутливих до опромінення генів у різних часових і дозових інтервалах. Визначено 74-генний підпис, який відрізняє чотири дози опромінення (0,5; 2; 5 та 8 Гр) і контроль. Паттерни експресії п'яти генів (*CDKN1A*, *FDXR*, *SESNI*, *BBC3* та *PHPT1*) з цього генного підпису також були підтверджені за допомогою полімеразноланцюгової реакції у реальному часі [4]. G. O'Brien та ін. [5] вперше продемонстрували *in vivo* дозову реакцію, що показує залежність експресії гена *FDXR* навіть від дуже низьких доз або часткового опромінення організму, з потужною кореляцією між фізично і біологічно оціненими дозами. Автори повідомили про високу чутливість *FDXR* до ІВ на рівні транскрипції, який забезпечує точні оцінки дози *in vivo*. Дослідження M. P. Hande та ін. [6], C. R. Mitchell та ін. [7] з використанням складних методів маркування хромосом (mBand та mFISH) показали, що інтерхромосомні аберації в лімфоцитах зберігаються протягом багатьох років після професійного опромінення.

Асоціація експресії генів з непухлинними хронічними захворюваннями встановлена у працівників виробничого об'єднання «Маяк», які були опромінені внаслідок своєї професійної діяльності. Статистичні моделі були стратифіковані окремо за віком, статтю, видом захворювання і опромінення. Було продемонстровано достовірну залежність усіх асоціацій з радіаційним опроміненням і статтю, що є доказом того, що зміни генної експресії, які спостерігаються після тривалого професійного опромінення, можуть збільшити ризик розвитку непухлинних хронічних захворювань [8].

Проблема наслідків впливу низьких доз радіації на здоров'я людини після Чорнобильської катастрофи, аварії на Фукусімі, не може вважатися вирішеною, оскільки немає певності, щодо впливу низьких доз радіації на ризик розвитку неракових захворювань, зокрема пульмонологічної та серцево-судинної патологій (ССП), які, поряд з раком, займають перші місця у структурі смертності постраждалих. При вивченні зв'язку генної експресії з дозою опромінення віддаленого періоду, у попередніх наших дослідженнях, встановлено дозозалежне зниження експресії генів *BCL2*, *SERPINB9*, *CDKN2A* та *STAT3*; підвищення експресії *MCF2L*. Гіперекспресію гена *TP53* і активацію гена імунного запалення *IL1B* ви-

firmated that the use of gene expression in PB leukocytes as a biomarker of IR has great potential because they can be used to provide a rapid dose estimate for a large number of individuals [2, 3]. The whole genome microarray expression profiling were performed to detect radiation-sensitive genes at various time and dose intervals. A 74-gene signature was identified that distinguishes between four radiation doses (0.5, 2, 5 and 8 Gy) and controls. Expression patterns of five genes (*CDKN1A*, *FDXR*, *SESNI*, *BBC3* and *PHPT1*) from this signature were also confirmed by real-time PCR [4]. G. O'Brien et al. [5] proposed the first *in vivo* dose response reaction, that showing the dependence of *FDXR* gene expression even on very low doses or partial irradiation of the body, with a strong correlation between physically and biologically evaluated doses. The authors reported a high sensitivity of *FDXR* to IR at the transcription level, which provides accurate dose estimates *in vivo*. The study by M. P. Hande et al. [6] and C. R. Mitchell et al. [7] using complex chromosome labeling methods (mBand and mFISH) showed that interchromosomal aberrations in lymphocytes persist for many years after occupational irradiation.

The association of gene expression with non-cancer chronic diseases was established in employees of the Mayak Production Association, who have been irradiated as a result of their professional activities. Statistical models were stratified separately by age, sex, type of disease and exposure. There has been a significant relationship between all associations with radiation and sex, which is evidence that changes in gene expression observed after prolonged occupational exposure may increase the risk of developing non-cancer chronic diseases [8].

The problem of the effects of low-dose radiation on human health after the Chornobyl accident, as well as after the Fukushima accident, isn't resolved, as there is no certainty about the effects of low-dose radiation on the risks of cancer, pulmonary and cardiovascular pathology (CVP), which, along with cancer, occupy the first place in the structure of mortality of exposed population.

In our previous studies of the relationship between gene expression and radiation dose at a late period after exposure, we found a dose-dependent decrease in *BCL2*, *SERPINB9*, *CDKN2A*, and *STAT3* gene expression; with an increase in expression of *MCF2L*. An overexpression of the *TP53* gene and activation of

явлено у підгрупі учасників ліквідації наслідків аварії (ЛНА) на ЧАЕС, опромінених в інтервалі доз до 100 мЗв [9].

На сьогодні встановлено, що ІВ є одним із чинників, що збільшує ризик злоякісних новоутворень, зокрема раку легень [10]. У ряді досліджень, виконаних серед осіб, які пережили атомне бомбардування в Японії, а також серед пацієнтів, які зазнали діагностичного і терапевтичного опромінення, встановлено зв'язок між радіаційним впливом та розвитком непухлинних захворювань органів дихання [11, 12]. У працівників підприємства атомної промисловості ВО «Маяк», що почали трудову діяльність в роки запуску і освоєння виробництва, коли радіаційна ситуація була несприятливою, виявлено розвиток пневмосклерозу, індукованого α -випромінюванням у високих дозах від інкорпорованого плутонію-239, а також підвищений ризик раку легень [13, 14]. Опубліковані дані, що свідчать про вплив радіоактивного пилу на стан бронхолегеневої системи у ліквідаторів аварії на Чорнобильській АЕС, проте провідну роль у виникненні хронічного бронхіту (ХБ) у цієї категорії осіб відводять палінню і попередньому професійному контакту з виробничими факторами [15, 16]. На сьогодні переконалих доказів впливу ІВ в малих і середніх дозах на рівень захворюваності і смертності персоналу атомної промисловості від хвороб органів дихання немає [17, 18].

Хоча традиційна дефініція хронічних захворювань органів дихання, зокрема хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) ґрунтується на показниках дихальної функції, зростає кількість робіт, які свідчать про перспективність дослідження молекулярних механізмів підтипів ХОЗЛ, які залишаються значною мірою невідомими. Дослідження генної експресії у лейкоцитах ПК курців та колишніх курців показало наявність генетичних предикторів розвитку ХОЗЛ. Було ідентифіковано 1013 генів, які відрізняли курців і колишніх курців з ХОЗЛ та за відсутності даної патології. Цей набір предикторів було зведено до дев'яти-генного класифікатора (*IL6R*, *CCR2*, *PPP2CB*, *RASSF2*, *WTAP*, *DNTTIP2*, *GDAP1*, *LIPE* та *RPL14*) [19]. S. Poliska та ін. [20] були ідентифіковані набори генів в альвеолярних макрофагах і периферичних моноцитах, які специфічно пов'язані з ХОЗЛ. Між двома типами клітин існували гени, що перекриваються. Отримані авторами дані показали, що характерні для ХОЗЛ особливості генної експресії в альвеолярних макрофагах і периферичних моноцитах корелюють з відсотком прогнозованого об'єму форсованого видиху.

Хвороби системи кровообігу є провідною глобальною причиною смерті. Існують численні фактори ри-

gene-regulator of immune inflammation *IL1B* was detected in a group of Chernobyl clean-up workers exposed to doses up to 100 mSv [8].

To date, it has been established that IR is one of the factors that increase the risk of malignant neoplasms, in particular lung cancer [10]. A number of studies among patients exposed to diagnostic and therapeutic radiation, have established a link between radiation exposure and the development of non-cancer respiratory diseases [11, 12]. Employees of Mayak Production Association, who started working during the years of start-up and development of production, when the radiation situation was unfavorable, revealed development of pneumosclerosis induced by α -radiation in high doses from incorporated plutonium-239, as well as an increased risk of lung cancer [9, 13, 14]. Published data indicating the influence of radioactive dust on the broncho-pulmonary system in clean-up workers of the Chernobyl accident, but the leading role in the occurrence of chronic bronchitis (CB) is attributed to smoking and previous professional contact with professional hazards [15, 16]. To date, there is no convincing evidence of the impact of IR in small and medium doses on incidence and mortality rates of nuclear industry personnel from respiratory diseases [17, 18].

Although the traditional definition of chronic respiratory diseases, in particular chronic obstructive pulmonary disease (COPD), is based on indicators of respiratory function, there is an increasing number of studies, which suggest the prospects for investigation the molecular mechanisms of COPD subtypes, that remain largely unknown. 1013 genes were identified that distinguished smokers and former smokers with or without COPD. This predictor set was reduced to a nine-gene classifier (*IL6R*, *CCR2*, *PPP2CB*, *RASSF2*, *WTAP*, *DNTTIP2*, *GDAP1*, *LIPE* and *RPL14*) [19]. S. Poliska et al. [20] have identified gene sets specifically associated with COPD in alveolar macrophages and peripheral monocytes. There were overlapping genes between two cell types. The data obtained by the authors showed that COPD-specific gene expression signatures in alveolar macrophages and peripheral monocytes correlate with percent of predicted volume of forced expiration.

Cardiovascular diseases (CVD) are a leading global cause of death and are connected to

зику для серцевих захворювань. Деякі з них мають контрольований характер, такі як спосіб життя, порушення обміну речовин [21]. Інші є неконтрольованими постійними факторами ризику, такі як стать, вік і генетична схильність [22, 23]. Поряд з цим існують фактори навколишнього середовища, які підвищують ризики розвитку кардіоваскулярних захворювань, серед яких є ІВ. Найбільш ранні дані, що вказують на радіаційну індукованість хвороби серця отримані при дослідженні віддалених результатів променевої терапії при лікуванні злоякісних захворювань, зокрема, раку молочної залози [24] або хвороби Ходжкіна [25]. Патології серця після високодозового опромінення в клінічних дослідженнях включали пряме ураження коронарних артерій, фіброз перикарда і міокарда, спайки перикарда, ураження мікросудин та стеноз клапанів.

Нещодавно проведені дослідження показали, що частота ішемічної хвороби серця (ІХС) значно збільшується навіть при дозах опромінення < 2 Гр у жінок, які пройшли променеву терапію раку молочної залози [26]. Більш того, радіаційно-індуковані ураження серця залежать не тільки від дози на серце, але й від дози на легені, особливо в клінічних умовах, коли застосовуються високі місцеві дози [26, 28]. Це додатково ускладнює оцінку відповіді на радіаційний вплив у діапазоні низьких доз. Зокрема, дослідження тривалості життя тих, хто вижив після атомного бомбардування в Японії, та епідеміологічні дослідження працівників атомної станції «Маяк» в Росії показують, що дози, набагато менші, ніж передбачалося раніше, можуть збільшити ризик інфаркту міокарда та інсульту [29–32].

Більшість епідеміологічних даних підтверджують лінійну безпорогову відповідь на дозу опромінення. Проте було показано, що тільки гострі або кумулятивні дози $\sim 0,5$ Гр і вище, значно підвищують ризик розвитку хвороб серця, тоді як величина ризику нижче цієї дози є невизначеною, і поріг не можна виключити. Хоча ризик розвитку ССП в малих і середніх дозах був ретельно проаналізований [22–24], поєднання безлічі супутніх чинників ризику розвитку хвороб серця ускладнює епідеміологічні дослідження виявлення підвищених ризиків в дозах $< 0,5$ Гр. Експериментальні дослідження на тваринах і клітинах необхідні не тільки для правильної екстраполяції оцінок ризиків, але й для з'ясування біологічних механізмів і розробки терапевтичних контрзаходів. Таким чином, ризики цих захворювань значно підвищені в популяціях, що зазнають впливу ІВ, але механізми ще не повністю з'ясовані.

numerous risk factors. Some of them could be under control such as lifestyle, metabolic disorders [21]. Others are uncontrolled constant risk factors, such as gender, age and genetic predisposition [22, 23]. In addition, there exist environmental factors like radiation dose that increase the risk of CVD. The earliest data indicating radiation induction of heart disease have been obtained in the study of long-term results of radiation therapy in the treatment of malignant diseases such as breast cancer [24] or Hodgkin's disease [25]. Cardiac pathology after high-dose irradiation included coronary artery disease, pericardial and myocardial fibrosis, pericardial adhesions, microvascular lesions and valve stenosis.

Recent studies have shown that the incidence of coronary heart disease (CHD) increases significantly even at radiation doses < 2 Gy in women who have undergone radiation therapy for breast cancer [26]. Moreover, radiation-induced heart damage depends not only on the dose to the heart, but also on the dose to the lungs, especially in clinical settings when high local doses are used [26, 28]. This further complicates the assessment of the response to radiation exposure in the low dose range. In particular, studies of the life expectancy of survivors of the atomic bombing in Japan and epidemiological studies of workers at the «Mayak» Production Association in Russia show that doses, much lower than previously, could increase the risk of myocardial infarction and stroke [29–33].

Most epidemiological data support a linear non-threshold response to radiation exposure. However, it has been shown, that only acute or cumulative doses ~ 0.5 Gy and higher, significantly increase the risk of heart disease, while the magnitude of the risk below this dose is uncertain and a threshold cannot be ruled out. Although the risk of CVD after small and medium doses has been carefully analyzed [22–24], the combination of many concomitant risk factors for heart disease complicates epidemiological studies for identifying increased risks at doses less than 500 mGy. Experimental studies in animals and cells are needed not only to correctly extrapolate risk assessments, but also to clarify biological mechanisms and development of therapeutic countermeasures. Thus, the risks of this disease are significantly increased in populations, exposed to IR, but the mechanisms are not yet fully understood.

Необхідно більше доказів, щоб зробити висновок, чи є опромінення фактором, який збільшує захворюваність на неракову патологію і пов'язану з нею смертність. Генна експресія є чутливим індикатором як соматичних порушень в організмі людини, так і радіаційного впливу, а реалізація геномних технологій, недоступних раніше, може пролити світло на зв'язок між дозою опромінення, генетичними змінами та виникненням неракової патології. Висвітленню вказаних закономірностей і присвячено це дослідження.

МЕТА

Встановити зв'язок радіаційно-індукованих порушень генної експресії з реалізованою патологією бронхолегеневої та серцево-судинної систем в учасників ЛНА на ЧАЕС.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Матеріалом для проведення молекулярно-генетичних досліджень були лейкоцити ПК 314 учасників ЛНА на ЧАЕС 1986–1987 рр. (основна група) чоловічої статі із соматичною патологією в анамнезі, які проходили комплексне обстеження у відділі терапії радіаційних наслідків Інституту клінічної радіології ННЦРМ і в поліклініці радіаційного реєстру ННЦРМ за програмою Клініко-епідеміологічного реєстру та мали задокументовані дози зовнішнього опромінення ($411,82 \pm 625,41$ мЗв ($M \pm SD$); $1,74/3600$ мЗв (min/max)) та 50 осіб контрольної групи. Особи контрольної групи не брали участі в ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС і не мешкали на радіоактивно забруднених територіях. Критеріями включення осіб до контрольної групи були відсутність тяжких інфекційних і пухлинних захворювань, гематологічні та імунологічні показники в межах вікових норм. Вікова характеристика: основна група ($58,94 \pm 6,82$) років ($M \pm SD$); $33/79$ років (min/max); контрольна група ($50,50 \pm 5,73$) років ($M \pm SD$); $41/67$ років (min/max).

Проведено аналіз основних груп ССП та бронхолегеневої патології (БЛП) в учасників ЛНА на ЧАЕС та проведено розподіл основної групи обстеження на підгрупи залежно від наявності/відсутності соматичної патології. Проведена уніфікація основних груп соматичної патології за кодами: I – БЛП (0 – відсутність; 1 – хронічний бронхіт (ХБ); 2 – хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ); 3 – ХБ + ХОЗЛ); II – ССП (0 – відсутність; 1 – ІХС; 2 – гіпертонічна хвороба різного ступеня (ГХ); 3 – ІХС + ГХ різного ступеня).

Відносну кількісну оцінку експресії генів виконували за використанням полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі. Проведено визначення відносного рівня

More evidence is needed to conclude whether the exposure factor increases the incidence of non-cancer diseases and mortality. Gene expression is a sensitive indicator of both somatic disorders in the human body and radiation exposure, and the implementation of genomic technologies, not available before, may shed light on the relationship between radiation dose, genetic changes and the occurrence of non-cancer pathology. This study is devoted to the definition of these patterns.

OBJECTIVE

To establish the connection of radiation-induced changes of gene expression with the realized pathology of the broncho-pulmonary and cardiovascular systems in Chernobyl clean-up workers.

MATERIALS AND METHODS

The material for genetic studies was PB leukocytes of 314 male Chernobyl clean-up workers exposed in 1986–1987 (main group) with somatic pathology, who underwent a comprehensive examination in the Institute of Clinical Radiology of NRCRM and had documented doses of external irradiation (411.82 ± 625.41 mSv ($M \pm SD$); $1.74/3600$ mSv (min/max)). The control group consisted of 50 persons, who did not participate in the liquidation of the consequences of the Chernobyl accident and did not live in radioactively contaminated areas. Criteria for inclusion of individuals in the control group were the absence of severe infectious and tumor diseases, hematological and immunological parameters within the age norms. Age characteristics: main group (58.94 ± 6.82) years ($M \pm SD$); $33/79$ years (min/max)), control group (50.50 ± 5.73) years ($M \pm SD$); $41/67$ years (min/max)).

According to the results of examination the main group of clean-up workers was divided into subgroups depending on the presence / absence of somatic pathology. For analysis a codification was performed as follows: I – bronchopulmonary pathology (BPP) (0 – absence; 1 – chronic bronchitis (CB); 2 – chronic obstructive pulmonary disease (COPD); 3 – CB + COPD); II – CVP (0 – absence; 1 – CHD; 2 – arterial hypertension (AH) of various degrees; 3 – CHD + AH).

Relative quantification (RQ) of gene expression was performed using RT-PCR analysis. The relative level of gene expression was deter-

експресії генів: *BCL2*, *CDKN2A*, *CLSTN2*, *GSTM1*, *IFNG*, *IL1B*, *MCF2L*, *SERPINB9*, *STAT3*, *TERF1*, *TERF2*, *TERT*, *TNF*, *TP53*, *CCND1*, *CSF2*, *VEGFA*. Основний алгоритм дослідження відносного рівня генної експресії складався з наступних етапів: виділення РНК з лейкоцитів ПК, проведення зворотньої транскрипції, підготовка реакційної суміші та завантаження TLDA (TaqMan Low Density Array)-плашок (Applied Biosystems, USA), ампліфікація кДНК. Виділення РНК проводили за допомогою автоматичної станції QIAcube (QIAGEN, Germany) з використанням набору для виділення РНК – NucleoSpin RNAII (Macherey-Nagel, Germany). Синтез кДНК зі зразків виділеної РНК проводили в реакції зворотньої транскрипції за допомогою High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, USA) – набору реагентів, які при комбінуванні у відповідних кількостях (за стандартним протоколом) формують реакційну суміш 2x Reverse Transcription Master Mix (RT-ММ). Для проведення ампліфікації отриманий зразок кДНК з'єднували з реакційною сумішшю – PCR Master mix для генної експресії (Applied Biosystems, USA) та вносили до мікропроточної TLDA плашки – Micro Fluidic Card (Applied Biosystems, USA). Були використані 384-лункові мікропроточні плашки з 8 портами та специфічною конфігурацією праймерів для дослідження експресії дослідних генів. Ампліфікацію кДНК проводили за допомогою роботизованого генетичного аналізатора 7900 HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, USA). Показники відносного рівня генної експресії (RQ – relative quantification, відносна кількісна оцінка) розраховували за допомогою $2^{-\Delta\Delta C_t}$ методу.

Первинний аналіз даних проводили з використанням програмного забезпечення SDS 2.3. та RQ Manager 1.2. (Applied Biosystems, USA). Статистичну обробку даних проводили за допомогою Statistica 10.0. Застосовано: дискрипційні методи статистичного аналізу, порівняльний аналіз з використанням t-критерію Стьюдента, кореляційний аналіз за Пірсоном (rxy), факторний дисперсійний аналіз ANOVA (одно- та багатофакторний).

Визначення асоціації «ген-захворювання» проведено на статистичних моделях, стратифікованих окремо для кожного захворювання та гена. Логістична регресія була використана для розрахунку коефіцієнтів шансів (odds ratio – OR). Для виявлення особливостей генної регуляції при окремих видах соматичної патології були побудовані радарні діаграми, які є спробою виявити та порівняти основні сигнальні шляхи, у яких задіяні гіперекспресовані досліджувані гени. Кожна вісь діаграм є відображенням відсотка частот активації шляху, які отримані з підсилених та гіперекспресованих генів.

mined for *BCL2*, *CDKN2A*, *CLSTN2*, *GSTM1*, *IFNG*, *IL1B*, *MCF2L*, *SERPINB9*, *STAT3*, *TERF1*, *TERF2*, *TERT*, *TNF*, *TP53*, *CCND1*, *CSF2*, *VEGFA*. The main algorithm for studying the relative level of gene expression consisted of the following steps: isolation of RNA from PB leukocytes, reverse transcription, preparation of the reaction mixture and loading of TLDA (TaqMan Low Density Array)-plates (Applied Biosystems, USA), cDNA amplification. RNA isolation was performed using an automatic station QIAcube (QIAGEN, Germany) using a kit for RNA isolation – NucleoSpin RNAII (Macherey-Nagel, Germany). cDNA preparation was performed in a reverse transcription reaction using the High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, USA). For amplification, the obtained cDNA sample was combined with the reaction mixture – PCR Master mix for gene expression (Applied Biosystems, USA) and added to the microfluidic TLDA plate – Micro Fluidic Card (Applied Biosystems, USA). 384-well microfluidic card and a specific primer configuration were used to study the gene expression. Amplification of cDNA was performed using a robotic genetic analyzer 7900 HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, USA). RQ were calculated using the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method.

The initial data analysis was performed using SDS 2.3 and RQ Manager 1.2. software (Applied Biosystems, USA). Statistical data processing was performed using Statistica 10.0. Applied: descriptive methods of statistical analysis, comparative analysis using Student's t-test, Pearson's correlation analysis (rxy), the analysis of variance ANOVA.

The association of «gene-disease» was determined on statistical models stratified separately for each disease and gene. Logistic regression was used to calculate odds ratio (OR). To identify the features of gene regulation in certain types of somatic pathology, radar diagrams were constructed, which are an attempt to identify and compare the main signaling pathways in which overexpressed genes are involved. Each axis of the diagrams is a representation of the percentage of pathway activation frequencies that are derived from enhanced and overexpressed genes.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Особливості генної експресії у лейкоцитах ПК учасників ЛНА на ЧАЕС з БЛП

Проведено аналіз генної експресії в лейкоцитах ПК учасників ЛНА на ЧАЕС з основними захворюваннями системи дихання (ХБ; ХОЗЛ), порівняно з групою здорового контролю. На рис. 1 представлено статистично достовірні або з характерними тенденціями зміни експресії генів залежно від наявної пульмонологічної патології. Виявлено гіперекспресію генів *BCL2*, *CSF2*, *CLSTN2*, *ILB*, *TNF*, *CDKN2A* у групах хворих на ХБ з підвищенням середніх значень показника RQ у групі учасників ЛНА на ЧАЕС, хворих на ХОЗЛ; гіперекспресію генів *TP53* та *GSTM1* виявлено лише у групі учасників ЛНА на ЧАЕС, хворих на ХБ. Зниження середньогрупових показників RQ генів *SERPINB9*, *MCF2L* виявлено у групі хворих на ХБ з підсиленням ефекту у групі хворих на ХОЗЛ.

Системне запалення зі зміною регуляції цитокінів, що контролюють механізми захисту організму, є ознакою патогенезу ХОЗЛ, що продемонстровано у нашому дослідженні на рівні генної регуляції цих процесів. Підвищена експресія генів *CSF2*, *IL1B*, *TNF* у групах учасників ЛНА на ЧАЕС, хворих на ХБ та ХОЗЛ, пов'язана зі змінами механізмів захисту, що є ознакою ХОЗЛ, який характеризується локальними, а також системними змінами регуляції хемокінів та цитокінів [33]. Гіперекспресія гена *IL1B* у учасників ЛНА на ЧАЕС з ХБ та ХОЗЛ може бути пов'язана з підсиленням запальних процесів. Показано значно вищий рівень факторів ІЛ-2 [34], ІЛ-6 та TNF-альфа [35] при ХОЗЛ на стадії прогресування хвороби. ІЛ-4 може посилити ХОЗЛ, збільшивши продукцію ІгЕ [36, 37]. Виявлена у нашому дослідженні підвищена експресія гена *CSF2* (рис. 1), який регулює гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор макрофагів, також може бути обумовлена цитокіновими механізмами та за даними В. У. Gajewska та ін. [37], В. Valbi та ін. [38] пов'язана з підсиленням ХОЗЛ через збільшення числа нейтрофілів.

Особливу увагу привертають виявлені зміни в експресії гена *GSTM1* в учасників ЛНА на ЧАЕС, хворих на пульмонологічну патологію (рис. 1), який регулює продукцію глутатіону, що є важливим фактором антиоксидантного захисту. Дослідження генетичних асоціацій антиоксидантних ферментів і ознак ХОЗЛ, а також порівняльні дослідження експресії генів з хворобами органів дихання або курінням, систематично виявляються та перегляда-

RESULTS AND DISCUSSIONS

Gene expression in PB leukocytes of Chernobyl clean-up workers with BPP

The relative level of gene expression in the PB leukocytes of Chernobyl clean-up workers with the main diseases of the respiratory system (CB; COPD) was analyzed in comparison with the healthy control group. The statistically significant changes or trends in gene expression depending on the existing pulmonary pathology are presented at Fig. 1. Findings include overexpression of genes *BCL2*, *CSF2*, *CLSTN2*, *ILB*, *TNF*, *CDKN2A* in groups of patients with CB and elevated average values of RQ in the group of workers with COPD. The overexpression of *TP53* and *GSTM1* genes was detected only in a group of Chernobyl clean-up workers with CB. A decrease in group mean values of RQ of *SERPINB9* and *MCF2L* was found in the group of patients with CB with the lowest mean figures in the group of patients with COPD.

Systemic inflammation with changing regulation of cytokines, that controlling protecting mechanisms, is a sign of the pathogenesis of COPD, as demonstrated in our study of gene regulation of these processes. Increased expression of *CSF2*, *IL1B*, *TNF* genes in main group of Chernobyl clean-up workers with CB and COPD related with changes in mechanisms of protection, which is a sign of COPD, which is characterized by local and systemic changes in the regulation of chemokines and cytokines [33]. *IL1B* overexpression in Chernobyl clean-up workers with CB and COPD can be associated with increased inflammatory processes. Significantly higher level of factors – IL-2 [34], IL6 and TNF- α [34] have been established at COPD in progression disease. IL-4 can aggravate COPD by increasing IgE production [36]. The increased of *CSF2* expression, that detected in our study (Fig. 1), which regulates the granulocyte colony-stimulating factor of macrophages, could also be due to cytokine mechanisms and according to В. U. Gajewska et al. [37] and В. Balbi et al. [38] is associated with progression of COPD due to an increase in the number of neutrophils.

Particular attention is drawn to the identified changes in the expression of *GSTM1* gene in Chernobyl clean-up workers with pulmonary pathology (Fig. 1). This gene regulates the production of glutathione, which is an important factor in antioxidant protection. Studies of genetic associations of antioxidant enzymes with COPD traits, as well as comparative studies of associations of gene expression with respiratory diseases or smoking,

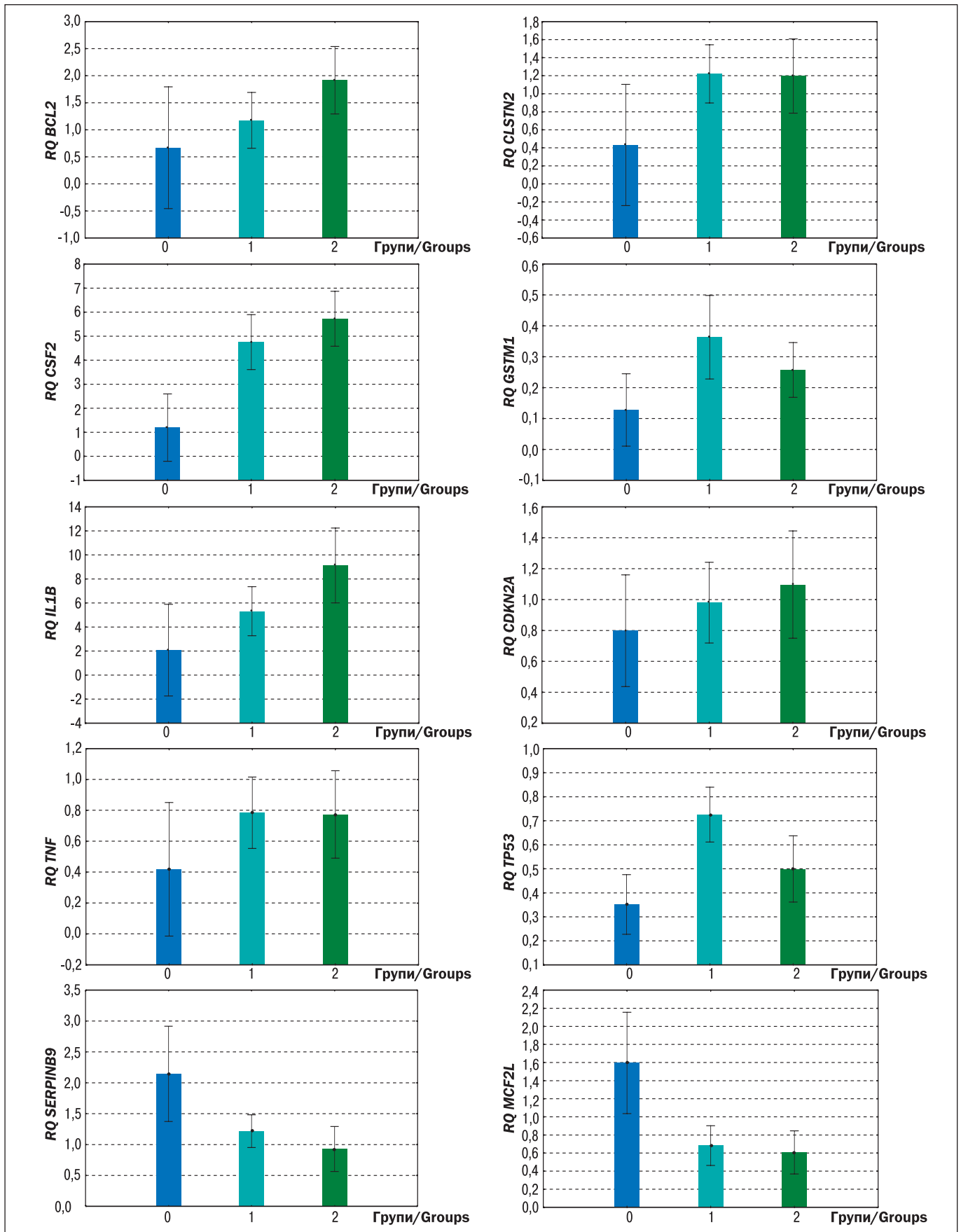


Рисунок 1. Зміни генної експресії у лейкоцитах ПК учасників ЛНА на ЧАЕС з БЛП

0 – здоровий контроль; 1 – ХБ; 2 – ХОЗЛ

Figure 1. Changes in gene expression in PB leukocytes of Chernobyl clean-up workers with BPP

0 – healthy control; 1 – CB; 2 – COPD

ються. А. R. Bentley та ін. [39] при дослідженні 29 генетичних асоціацій і при проведенні порівняльного аналізу генної експресії виявили найбільш сильні та найбільш послідовні ефекти у генах *GCL*, *GSTM1*, *GSTP1* та *SOD3*. ХБ в учасників ЛНА супроводжувався підвищенням експресії *GSTM1*, тоді як при більш тяжкій патології, зокрема ХОЗЛ, встановлено пригнічення експресії, що може бути свідченням виснаження антиоксидантного захисту.

Отримані результати щодо активності гена *CDKN2A* у хворих на пульмонологічну патологію у віддаленому періоді після опромінення (рис. 1) корелюють з даними G. K. Acquah-Mensah та ін. [40], які після встановлення локусу чутливості для ХОЗЛ, «домен-домен» взаємодії з участю білкових продуктів генів у згенерованих мережах, запропонували декілька молекулярних кандидатів, які задіяні в етіології ХОЗЛ. До них відносяться *COL4A3*, *CFLAR*, *GULP1*, *PDCD1*, *CASP10*, *PAX3*, *BOK*, *HSPD1*, *PITX2* та *PML*. Крім того, T-box гени та інгібітор циклінзалежної кінази 2A (*CDKN2A*), які знаходяться в прямих регуляторних транскрипційних зв'язках, виступають як провідні фактори патогенезу ХОЗЛ за посередництвом старіння.

Зміни в експресії гена *SERPINB9*, які були виявлені при дослідженні асоціації ген/пульмонологічна патологія, корелюють з такими, що були виявлені в учасників ЛНА на ЧАЕС залежно від дози опромінення [41]. Ген *SERPINB9* у лейкоцитах ПК учасників ЛНА на ЧАЕС у віддаленому періоді після опромінення гіпоекспресується залежно від дози опромінення і наявності ХБ та ХОЗЛ в анамнезі. Не виявлено такої подібності для генів *MCF2L* та *BCL2*.

Проведено розрахунок OR, результати наведено у табл. 1. При оцінці співвідношення шансів між експресією генів та розвитком патології дихальної системи в учасників ЛНА на ЧАЕС виявлений тісний асоціативний зв'язок між розвитком ХБ/ХОЗЛ та змінами експресії генів (OR > 1) *CLSTN2*, *GSTM1*, *SERPINB9*, *TERF2*, *TERT*, *TNF*, *TP53*, *VEGFA* (табл. 1).

На підставі отриманих даних відсотка частот активації генетичних шляхів, які отримані з підсиленних та гіперекспресованих генів в учасників ЛНА на ЧАЕС з пульмонологічною патологією, побудовані радарні діаграми (рис. 2, 3). В результаті аналізу радарних діаграм у групах учасників ЛНА на ЧАЕС підтверджено активацію генів-регуляторів імунної відповіді як при ХБ, так і при ХОЗЛ; активацію генів-регуляторів ангиогенезу та диферен-

are systematically identified and reviewed. A. R. Bentley et al. [39] in the study of 29 genetic associations revealed the strongest and most consistent effects in *GCL*, *GSTM1*, *GSTP1* and *SOD3* genes. CB in Chernobyl clean-up workers was accompanied by an increase in *GSTM1* expression, whereas in more severe pathology, in particular *COPD*, suppression of expression was found, which may be evidence of depletion of antioxidant protection.

The obtained results on the activity of *CDKN2A* gene in patients with pulmonary pathology in the remote period after irradiation (Fig. 1) correlate with the data of G. K. Acquah-Mensah et al. [40], who, after establishing a sensitivity locus for *COPD*, the «domain-domain» interaction involving protein products of genes in the generated networks, proposed several molecular candidates that are involved in the etiology of *COPD*. These include *COL4A3*, *CFLAR*, *GULP1*, *PDCD1*, *CASP10*, *PAX3*, *BOK*, *HSPD1*, *PITX2* and *PML*. In addition, T-box genes and the cyclin-dependent kinase 2A inhibitor (*CDKN2A*), which are in direct regulatory transcriptional links, act as leading factors in the pathogenesis of *COPD* through aging.

Changes in *SERPINB9* gene expression, which were detected in the study of the association gene/pulmonary pathology, correlate with those, that found in Chernobyl clean-up workers depending on the radiation dose [41]. We have established *SERPINB9* overexpression in PB leukocytes of Chernobyl clean-up workers in the remote period after irradiation depending on the irradiation dose and the presence of CB and *COPD* in clinical history. Such similarities were not found for *MCF2L* and *BCL2* genes.

The OR study results are presented in Table. 1. Assessing the ratio of chances between gene expression and the development of respiratory pathology in Chernobyl clean-up workers revealed a close associative relationship between the development of CB/*COPD* and changes in gene expression (OR > 1) *CLSTN2*, *GSTM1*, *SERPINB9*, *TERF2*, *TERT*, *TNF*, *TP53*, *VEGFA* (Table 1).

Based on the received data on the percentage of frequencies of activation genetic pathways, which are obtained from enhanced and overexpressed genes in Chernobyl clean-up workers with pulmonary pathology, radar diagrams are constructed (Figs. 2, 3). As a result of the analysis of radar diagrams in main group, the activation of genes that regulate the immune response was confirmed in both CB and *COPD*; activation of genes that

Таблиця 1

Оцінка співвідношення шансів між експресією генів та розвитком БЛП в учасників ЛНА на ЧАЕС

Table 1

Odds for development of BPP in Chernobyl clean-up workers with enhanced and overexpression of genes

Ген / Gene	Співвідношення шансів OR, у. о. / Odds Ratio (OR), U	
	ХБ/СВ	ХОЗЛ/СОПД
<i>BCL2</i>	0,92	0,60
<i>CDKN2A</i>	0,91	0,88
<i>CLSTN2</i>	4,28*	1,36*
<i>CSF2</i>	0,71	0,96
<i>GSTM1</i>	6,6*	0,57
<i>IFNG</i>	0,90	0,62
<i>IL1B</i>	0,85	0,20
<i>MCF2L</i>	0,17	0,20
<i>SERPINB9</i>	2,40*	1,45*
<i>TERF1</i>	0,62	0,85
<i>TERF2</i>	2,50*	2,77*
<i>TERT</i>	9,16*	0,45
<i>TNF</i>	2,66*	1,36*
<i>TP53</i>	1,06*	0,54
<i>VEGFA</i>	1,14*	0,90

Примітка. * – OR > 1
Note. * – OR > 1

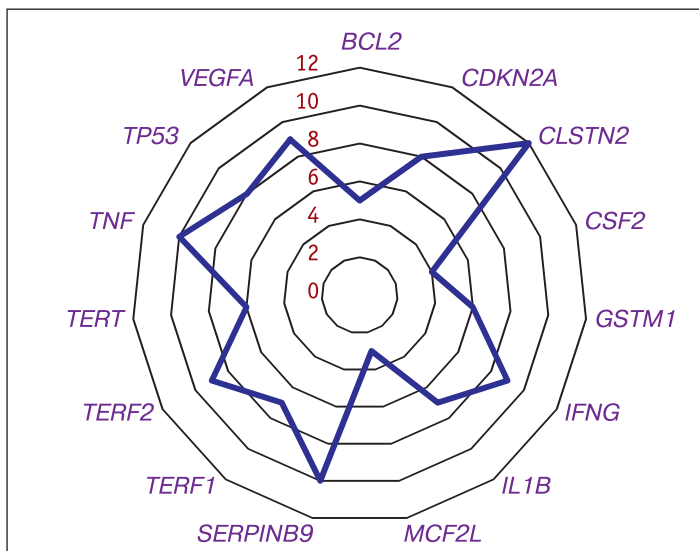


Рисунок 2. Підсилена та гіперекспресія генів у лейкоцитах ПК учасників ЛНА на ЧАЕС з ХБ

Figure 2. Enhanced and overexpression of genes in PB leukocytes of Chernobyl clean-up workers with CB

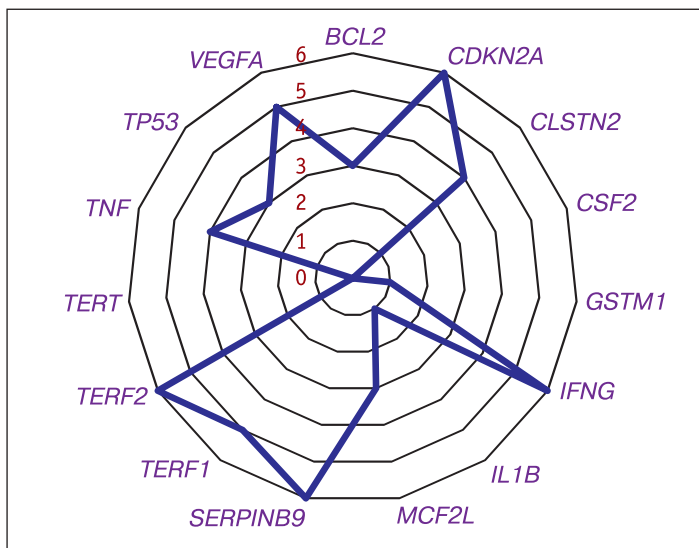


Рисунок 3. Підсилена та гіперекспресія генів у лейкоцитах ПК учасників ЛНА на ЧАЕС з ХОЗЛ

Figure 3. Enhanced and overexpression of genes in PB leukocytes of Chernobyl clean-up workers with COPD

ціації клітин при ХОЗЛ, активацію генів-регуляторів клітинної адгезії при ХБ та ХОЗЛ, а також генів-регуляторів довжини теломер і клітинного старіння при ХОЗЛ.

Особливості генної експресії у лейкоцитах ПК учасників ЛНА на ЧАЕС з ССП

Для дослідження змін генної експресії у лейкоцитах ПК учасників ЛНА на ЧАЕС з ССП було обрано такі нозології: ІХС та ГХ різного ступеня. Серед генів, експресія яких була змінена у лейкоцитах ПК учасників ЛНА на ЧАЕС з ССП, порівняно з контролем, виявлено такі: зростання середньогрупового показника RQ гена *CSF2* виявлено у групі осіб, які мали в анамнезі ГХ та ІХС; експресія гена *GSTM1* не змінювалась, порівняно з контролем у хворих на ГХ, однак достовірно підвищена в групі хворих на ІХС та при поєднанні цих патологічних станів (рис. 4).

Глутатіон має виражену антиоксидантну активність і, відповідно, може запобігати серцево-судинним захворюванням. Н. Shimizu та ін. [42], показано, що низькі рівні глутатіону у плазмі пов'язані з серцево-судинними захворюваннями та їх клінічними типами. У нашому дослідженні чітко визначено асоціативний зв'язок між розвитком ГХ та змінами експресії гена, що кодує цитоплазматичну глутатіон-S-трансферазу *GSTM1*, і генами-регуляторами запальної відповіді *IFNG*, *CSF2*, *TNF*. Коефіцієнти шансів для цих генів були високими (табл. 2). Подібної значущості зв'язок виявлено і для гена *VEGFA*, що є абсолютно виправданим, враховую-

regulate angiogenesis and cell differentiation in COPD, activation of genes that regulate cell adhesion in CB and COPD, as well as genes that regulate telomere length and cell aging in COPD.

Changes in gene expression in PB leukocytes of Chernobyl clean-up workers with CVD

The following nosologies were selected to study the changes in gene expression in PB leukocytes of the Chernobyl clean-up workers with CVP: CHD and AH. An increase of mean group index of RQ of the *CSF2* gene was found in the group of individuals with a AH and CHD; *GSTM1* gene expression did not change compared with control in patients with AH, but was significantly increased in the group of patients with CHD and a combination of these pathological conditions (Fig. 4).

Glutathione appears to have marked antioxidant activities and therefore may prevent CVD. H. Shimizu et al. [42] have been shown that low levels of plasma glutathione are closely associated with CVD and its clinical types. In our study, the association between the AH and changes in the expression of the gene encoding the cytoplasmic glutathione S-transferase *GSTM1* and the genes that regulate the inflammatory response *IFNG*, *CSF2*, *TNF* is clearly defined. The OR for these genes were high (Table 2). The connection with similar significance was found for the *VEGFA* gene, that could be

Таблиця 2

Оцінка співвідношення шансів між експресією генів та розвитком ССП в учасників ЛНА на ЧАЕС

Table 2

Odds for development of CVP in Chernobyl clean-up workers with enhanced and overexpression of genes

Ген / Gene	Співвідношення шансів OR, у. о. / Odds Ratio (OR), U	
	ІХС/СНД	ГХ/АН
<i>BCL2</i>	0,22	0,50
<i>CDKN2A</i>	0,31	3,50*
<i>CLSTN2</i>	0,44	1,00*
<i>CSF2</i>	0,46	1,86*
<i>GSTM1</i>	0,50	2,00*
<i>IFNG</i>	0,75	3,00*
<i>IL1B</i>	0,28	0,26
<i>MCF2L</i>	0,22	0,14
<i>SERPINB9</i>	0,15	0,40
<i>TERF1</i>	0,82	1,48*
<i>TERF2</i>	0,30	0,21
<i>TERT</i>	0,66	1,00*
<i>TNF</i>	0,88	2,66*
<i>TP53</i>	0,10	0,34
<i>VEGFA</i>	1,37*	1,83*

Примітка. * – OR > 1.
Note. * – OR > 1.

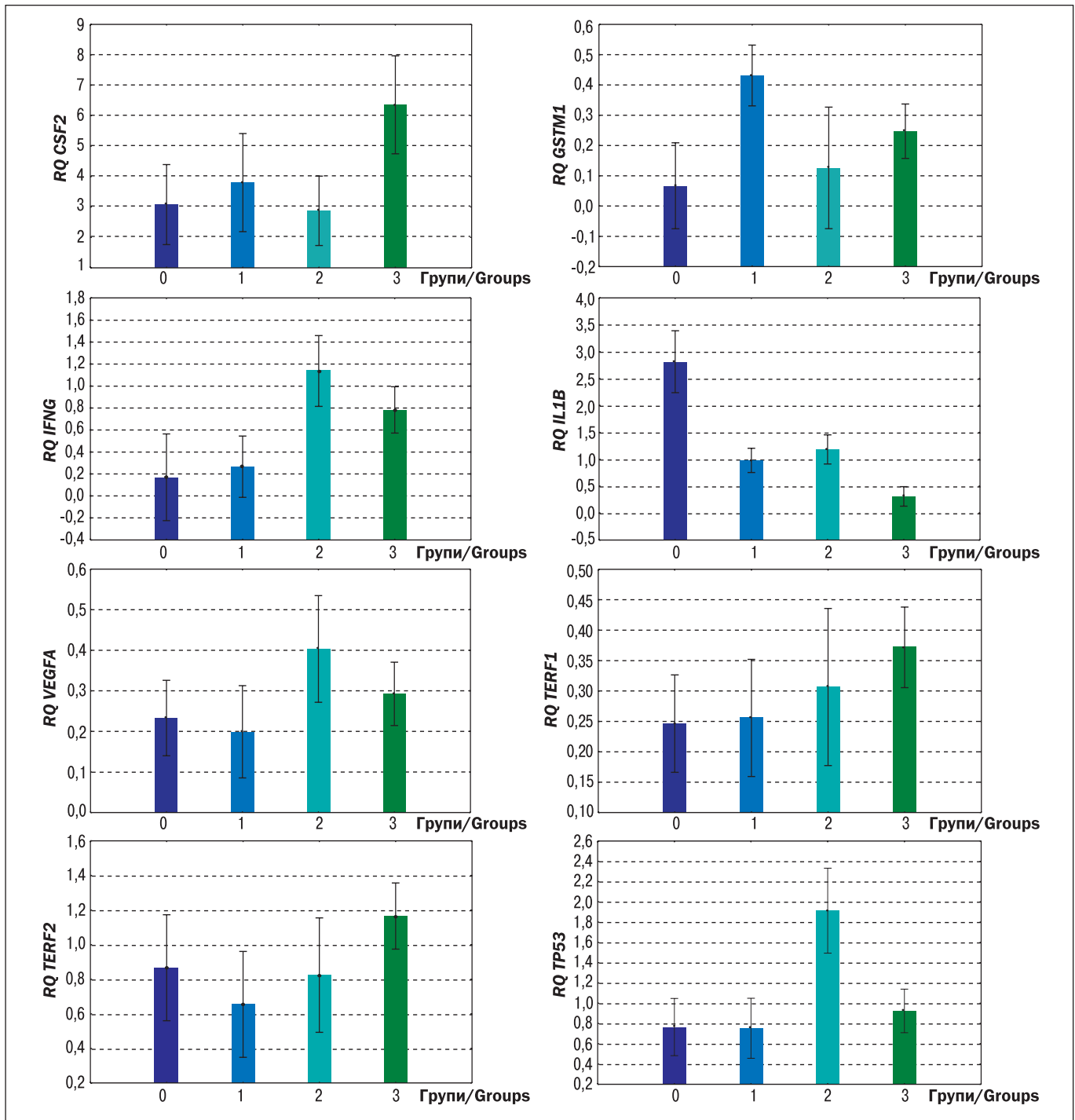


Рисунок 4. Зміни генної експресії у лейкоцитах ПК учасників ЛНА на ЧАЕС з ССП

0 – здоровий контроль; 1 – ІХС; 2 – ГХ; 3 – ІХС + ГХ

Figure 4. Changes in gene expression in PB leukocytes of Chernobyl clean-up workers with CVP

0 – healthy control; 1 – CHD; 2 – AH; 3 – CHD+AH

чи його роль у процесах ангіогенезу. OR для *VEGFA* був більше 1 як при ІХС, так і при ГХ. Середньогрупові показники експресії гена *VEGFA* у групі учасників ЛНА на ЧАЕС з ІХС порівняно з контролем достовірно підвищені у групі хворих на ІХС (рис. 4).

У табл. 2 продемонстровано, що більш тісний асоціативний зв'язок експресії досліджуваних генів виявлено саме з наявністю ГХ в учасників ЛНА на

explained, given its role in the processes of angiogenesis. OR for *VEGFA* was > 1 in both CHD and AH. The mean group index of RQ of *VEGFA* in Chernobyl clean-up workers with CHD group significantly increased compared to the control (Fig. 4).

Table 2 shows that a closer association of the expression of the studied genes was found with the presence of AH in Chernobyl clean-up workers.

ЧАЕС. ГХ – комплексне мультифакторіальне захворювання, основним симптомом якого є стійке підвищення артеріального тиску. Складна і багаторівнева система контролю артеріального тиску передбачає наявність великої генетичної бази, що визначає функцію всіх регуляторних систем, і твердження про те, що практично всі гени беруть участь у регуляції артеріального тиску, напевно, відображає дійсну картину. Однак вплив різних генів далеко нерівнозначний. Є гени, вплив яких на артеріальний тиск настільки мізерний, що виявити його практично неможливо, але з іншого боку є ряд генів, мутації яких призводять до різко виражених змін артеріального тиску, і ці випадки фактично є моногенними патологіями. Частота таких мутацій дуже мала і число моногенних форм ГХ становить частки відсотка від усіх випадків. В даний час проводяться інтенсивні дослідження з використанням повногеномного пошуку асоціацій маркованих локусів генома з артеріальним тиском. Саме такий підхід, що дозволяє оцінити внесок безлічі генів у детермінацію ГХ, розглядається в якості методу вибору при вивченні генетики ГХ. На сьогодні виявлено низку генів (*NPR3*, *GUCY1A3-GUCY1B3*, *ADM*, *GNAS-EDN3*, *NPPA NPPB* та *CYP17A1*), які внесені в метаболічні шляхи, пов'язані з регуляцією артеріального тиску і розвитком ГХ [43].

Виявлено тісний асоціативний зв'язок розвитку ГХ в учасників ЛНА на ЧАЕС з експресією генів-регуляторів теломеро-теломеразного комплексу *TERF1* та *TERT* (табл. 2), що імовірно пов'язано з віковими характеристиками даної групи. Неоднозначними виявились результати дослідження експресії генів-регуляторів імунної відповіді: виявлено гіперекспресію гена *IFNG* у групі хворих з ІХС, чого не спостерігалось у випадку іншого гена-регулятора прозапальних процесів – *IL1B*. Водночас виявлено тенденцію до зростання середніх показників RQ гена *SERPINB9* у групах хворих з ІХС, ГХ та у групі з комбінованим впливом двох патологій (рис. 4). Статистично достовірними виявились зміни експресії гена *TP53* у групі учасників ЛНА на ЧАЕС з ГХ, що виявлялось у гіперекспресованості цього гена. Роль гена-онкосупресора *TP53* відмічена при виявленні активації сигнальних шляхів генної регуляції розвитку ССП у віддаленому періоді після опромінення (рис. 5, 6). Радарні діаграми демонструють, що характерними є активація генів *TP53*, *IFNG*, *IL1B*, *CLSTN2*, *CDKN2A*, *TERF1* у лейкоцитах ПК учасників ЛНА на ЧАЕС з ГХ (рис. 6) та генів *IL1B*, *CLSTN2*, *TNF*,

AH is a complex multifactorial disease, the main symptom of which is a persistent increase in blood pressure. A complex and multilevel system of blood pressure control involves a large genetic base that determines the function of all regulatory systems, and the statement that virtually all genes are involved in the regulation of blood pressure probably reflects the true picture. However, the influence of different genes is far from equal. There are genes whose effect on blood pressure is so negligible that it is almost impossible to detect, but on the other hand there are a number of genes whose mutations lead to pronounced changes in blood pressure, and these cases are actually monogenic pathologies. The frequency of such mutations is very low and the number of monogenic forms of AH is less than a percent of all cases. An intensive research is currently being conducted using a full-genome search for associations of labeled loci of the genome with blood pressure. It is this approach, which allows to assess the contribution of many genes to the determination of AH, is considered as a method of choice in the study of AH genetics. To date, a number of genes (*NPR3*, *GUCY1A3-GUCY1B3*, *ADM*, *GNAS-EDN3*, *NPPA-NPPB* and *CYP17A1*) have been identified that involved in metabolic pathways, that associated in blood pressure regulation and AH development [43].

Close associative relationship between the development of AH and expression of genes-regulators of the telomero-telomerase complex *TERF1* and *TERT* was found in main group (Table 2), which is probably related to the age characteristics of this group. The results of the study of the expression of genes that regulate the immune response were ambiguous: overexpression of *IFNG* gene was detected in a group of patients with CHD, which was not observed in the case of another gene that regulates pro-inflammatory processes *IL1B*. However, there is a tendency to increase the average RQ of *SERPINB9* gene in groups of patients with CHD, AH and in the group with a combined effect of the two pathologies (Fig. 4). Changes in the expression of *TP53* gene in the AH group were statistically significant. The role of gene-oncosuppressor *TP53* was noted in the detection of activation of signaling pathways of gene regulation of the development of CVP in the remote period after irradiation (Fig. 5, 6). Radar diagrams show the activation of *TP53*, *IFNG*, *IL1B*, *CLSTN2*, *CDKN2A*, *TERF1* genes in PB leukocytes of Chernobyl clean-up workers with AH (Fig. 6) and *IL1B*, *CLSTN2*, *TNF* and *BCL2* genes in PB leuko-

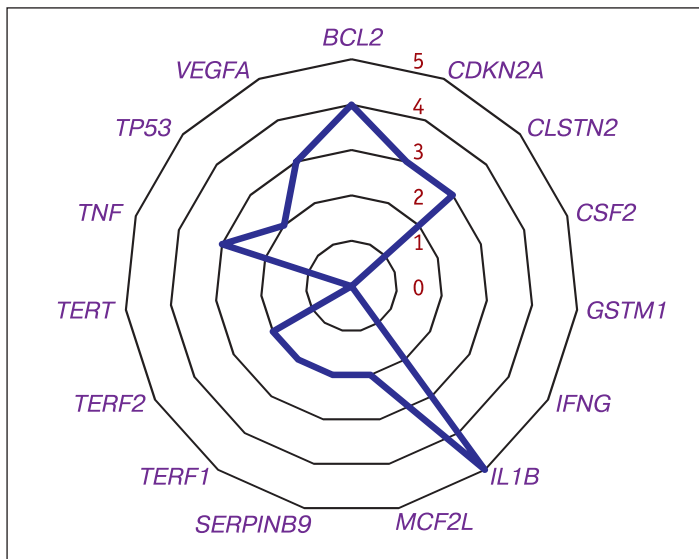


Рисунок 5. Підсилена та гіперекспресія генів у лейкоцитах ПК учасників ЛНА на ЧАЕС, хворих на ІХС

Figure 5. Enhanced and overexpression of genes in PB leukocytes of Chernobyl clean-up workers with CHD

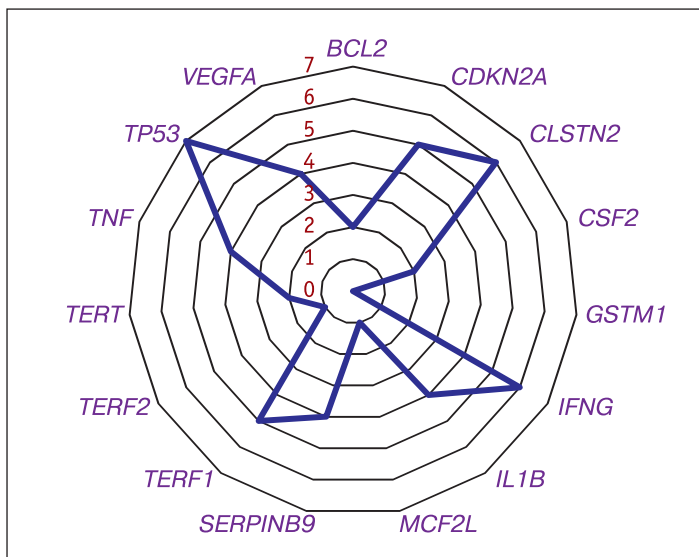


Рисунок 6. Підсилена та гіперекспресія генів у лейкоцитах ПК учасників ЛНА на ЧАЕС, хворих на ГХ

Figure 6. Enhanced and overexpression of genes in PB leukocytes of Chernobyl clean-up workers with AH

BCL2 у лейкоцитах ПК учасників ЛНА на ЧАЕС з ІХС (рис. 5).

На підставі отриманих результатів, для визначення змін експресії генів, асоційованих з розвитком досліджених видів соматичних захворювань у віддаленому періоді після опромінення, рекомендується включати до комплексу обстеження дослідження експресії генів імунної відповіді, зокрема, запальних реакцій *CSF2*, *IFNG*, *ILB*, *TNF*; експресії генів-регуляторів клітинної проліферації, старіння та апоптозу *TP53*, *BCL2*, *MCF2L*, *CDKN2A*, *SERPINB9*, *TERF1*, *TERF2*, *TERT*; генів-регуляторів клітинної адгезії та ангиогенезу *CLSTN2*, *VEGFA* (табл. 3).

На момент обстеження стан здоров'я обстежених учасників ЛНА на ЧАЕС характеризувався наявністю двох і більше соматичних захворювань. Для пошуку причин поєданого прояву патологічних станів використовуються різні підходи, у тому числі й генетичні. В останні роки з'явилися наукові роботи, які оцінюють набори генів, що асоційовані з ко-

ocytes of Chernobyl clean-up workers with CHD (Fig. 5).

To determine changes in gene expression associated with the studied types of somatic diseases in the remote period after irradiation, it is recommended to include to the examination complex the investigation of genes regulating the immune response, in particular inflammatory reactions (*CSF2*, *IFNG*, *ILB*, *TNF*); expression of genes that regulate cell proliferation, aging and apoptosis (*TP53*, *BCL2*, *MCF2L*, *CDKN2A*, *SERPINB9*, *TERF1*, *TERF2*, *TERT*); genes that regulate cell adhesion and angiogenesis (*CLSTN2* and *VEGFA*) (see Table 3).

A state of health of Chernobyl clean-up workers was characterized by the presence of two or more somatic diseases. Various approaches, including genetic, are used to search for the causes of the combined manifestation of pathological conditions. In recent years, research has emerged sets of genes that are associated with comorbid pathology [44].

Таблиця 3

Зміни генної експресії, асоційовані з непухлинними ефектами віддаленого періоду після опромінення в учасників ЛНА на ЧАЕС

Table 3

Changes in gene expression associated with non-cancer effects of the Chernobyl clean-up workers in the remote period after exposure

Нозологічна форма соматичної патології Nosological form of somatic pathology	Зміни генної експресії Changes in gene expression
БЛП/ВРР	<i>CLSTN2, GSTM1, SERPINB9, TERF1, TERF2, TERT, TNF, TP53, VEGFA</i>
ССП/СВП	<i>CDKN2A, CLSTN2, CSF2, GSTM1, IFNG, TERF1, TERT, TNF, VEGFA</i>

морбідною патологією [44]. На підставі гіпотези генетичного зв'язку між хворобами вдається виявити не тільки нові генетичні варіанти, але й визначити нові локуси чутливості для кожного з коморбідних станів. Саме так, на підставі генетичного аналізу окремих серцево-судинних фенотипів, встановлені нові варіанти в генах *HS3ST1* та *ECCHDC3*, асоційовані з підвищеним ризиком хвороби Альцгеймера [45]. Слід зазначити, що пошук загальних генів є важливим не тільки у випадку вивчення коморбідних станів, але й для хвороб, які мають загальні фенотипові прояви (наприклад, ХОЗЛ та астма). Таким прикладом є ланцюг серцево-судинних (ГХ, інфаркт міокарда, серцева недостатність) та метаболічних (цукровий діабет 2-го типу, ожиріння) подій, які виникають при впливі багатьох факторів та які порушують декілька фізіологічних і метаболічних механізмів [44]. Аналіз 2110 генів, пов'язаних з вищезазначеними станами, дозволив виділити 16 загальних генів серцево-судинного континууму (*ABCA1, ACE, ADRB2, AGT, AGTR1, ApoA1, ApoE1, CETR, GNB3, IL6, LIPC, LPL, MTHFR, NOS3, SELE, TNF*) [46]. Результати генетичних досліджень аутоімунних захворювань (целиакія, розсіяний склероз, псоріаз, ревматоїдний артрит, цукровий діабет 1-го типу) та хвороби Крона, показали, що практично половина виявлених генетичних маркерів пов'язані одразу з декількома хворобами [47]. Наведені вище приклади свідчать, що основним результатом дослідження коморбідності для патологій різних фізіологічних систем є спільність генетичних факторів розвитку комбінованої патології. Значущість окремих порушень у загальних генах підтверджується також і на прикладі розвитку патологій, які рідко комбінуються, припускаючи, що однакові біологічні механізми можуть впливати по-різному на розвиток різних хвороб.

Підтвердженням такого припущення певною мірою стали результати нашого дослідження, які де-

Based on the hypothesis of a genetic link between diseases, it is possible not only to identify new genetic variants, but also to identify new loci of susceptibility for each of the comorbid conditions. Thus, based on genetic analysis of individual cardiovascular phenotypes, new variants have been identified in the *HS3ST1* and *ECCHDC3* genes, which are associated with an increased risk of Alzheimer's disease [45]. It should be noted, that the search for common genes is important not only in the study of comorbid conditions, but also for diseases that have common phenotypic manifestations (eg, COPD and asthma). Another example is the chain of cardiovascular (AH, myocardial infarction, heart failure) and metabolic (type 2 diabetes, obesity) events that occur under the influence of many factors and which disrupt several physiological and metabolic mechanisms [44]. Analysis of 2110 genes associated with the above conditions, identified 16 common genes of the cardiovascular continuum (*ABCA1, ACE, ADRB2, AGT, AGTR1, ApoA1, ApoE1, CETR, GNB3, IL6, LIPC, LPL, MTHFR, NOS3, SELE, TNF*) [46]. Genetic studies of autoimmune diseases (celiac disease, multiple sclerosis, psoriasis, rheumatoid arthritis, type 1 diabetes) and Crohn's disease have shown that almost half of the identified genetic markers are associated with several diseases [47]. The above examples show that the main result of the study of comorbidity for pathologies of different physiological systems is the commonality of genetic factors in the development of combined pathology. The significance of individual disorders in common genes is also confirmed by the example of the development of pathologies that are rarely combined, suggesting that the same biological mechanisms may affect the development of different diseases in various ways.

Confirmation of this hypothesis to a certain extent were the results, which demonstrate a viola-

монструють порушення генної регуляції основних патогенетичних механізмів розвитку ССП та БЛП, які пов'язані зі змінами експресії генів-регуляторів імунної відповіді, зокрема запальних реакцій, експресії генів-регуляторів клітинної проліферації, адгезії та ангіогенезу, експресії генів-регуляторів клітинного старіння та загибелі. Такі зміни характеризуються спільністю генетичних реакцій зі зсувом (активацією) у бік тих сигнальних шляхів, які є патофізіологічно або генетично обумовленими, протекторними або пов'язаними з розвитком іншої патології.

ВИСНОВКИ

Проведене дослідження було спрямоване на пошук специфічних генних механізмів та генів-маркерів, які задіяні у патогенетичних шляхах розвитку певних нозологічних форм ССП та БЛП в учасників ЛНА на ЧАЕС. В осіб основної групи (учасники ЛНА на ЧАЕС), хворих на ІХС, виявлено підвищення експресії гена *GSTM1* (система глутатіону) та відсутність змін генної експресії *VEGFA*, пов'язаного з ангіогенезом. У групі учасників ЛНА на ЧАЕС, хворих на ГХ, визначено підвищену експресію генів *TP53*, *VEGFA* та *IFNG*. При поєднанні ІХС та ГХ встановлено підвищення експресії гена *CSF2*, генів *TERF1* та *TERF2*, які беруть участь у регуляції довжини теломер. Отже, при ІХС виявлено включення системи окисного гомеостазу, тоді як ГХ асоціюється з експресією генів ангіогенезу та імунного запалення. У лейкоцитах ПК учасників ЛНА на ЧАЕС із захворюваннями бронхолегеневої системи встановлено зростання експресії генів, пов'язаних з апоптозом та кіназною активністю (*BCL2*, *CLSTN2*, *CDKN2*), імунним запаленням (*CSF2*, *IL1B*, *TNF*); експресія гена *TP53* та гена *GSTM1*, пов'язаного з системою глутатіону, була достовірно підвищеною у групі осіб з ХБ, тоді як у хворих з більш вираженою стадією ХОЗЛ, підвищення не визначалося; зниженою була експресія генів *SERPINB9* та *MCF2L*, що свідчить про виснаження захисних резервів.

Отримані результати досліджень змін генної експресії в учасників ЛНА на ЧАЕС створюють підґрунтя для формування молекулярно-генетичних критеріїв оцінки радіобіологічних проявів у патогенезі соматичної патології віддаленого періоду після опромінення внаслідок Чорнобильської катастрофи.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Identification of potential mRNA biomarkers in peripheral blood lymphocytes for human exposure to ionizing radiation / S. A. Amundson, K. T. Do,

tion of gene regulation of the main pathogenetic mechanisms of CVP and BPP associated with changes in the expression of genes that regulate the immune response, including inflammatory reactions, expression of regulatory genes of proliferation, adhesion and angiogenesis, expression of genes that regulate cell aging and death. Such changes are characterized by the commonality of genetic reactions with a shift (activation) towards those signaling pathways that are pathophysiologically or genetically determined, protective or associated with the development of other pathologies.

CONCLUSIONS

The study was aimed at finding gene mechanisms and marker genes that are involved in the pathogenetic pathways of CVP and BPP in Chernobyl clean-up workers. Increased *GSTM1* gene expression (glutathione system) and no changes in angiogenesis-related *VEGFA* gene expression were found in the main group of patients with CHD. Increased expression of *TP53*, *VEGFA* and *IFNG* genes was detected in the group of patients with AH. The combination of CHD and AH showed an increase in the expression of the *CSF2* gene, *TERF1* and *TERF2* genes, which are involved in the regulation of telomere length. Thus, CHD has been shown to involve the oxidative homeostasis system, whereas AH is associated with the expression of angiogenesis and immune inflammation genes. Increased expression of genes associated with apoptosis and kinase activity (*BCL2*, *CLSTN2*, *CDKN2*), immune inflammation (*CSF2*, *IL1B*, *TNF*); expression of the *TP53* gene and the *GSTM1* gene associated with the glutathione system was significantly elevated in the group of workers with CB, whereas in patients with more severe stage of COPD, no increase was detected; the expression of *SERPINB9* and *MCF2L* genes was reduced, which indicates the depletion of protective reserves. The obtained results of studies of changes in gene expression in Chernobyl clean-up workers create the basis for the formation of molecular genetic criteria for assessing radiobiological manifestations in the pathogenesis of somatic pathology in the remote period after irradiation due to the Chernobyl accident.

REFERENCES

1. Amundson SA, Do KT, Shahab S, Bittner M, Meltzer P, Trent J, et al. Identification of potential mRNA biomarkers in peripheral

1. S. Shahab, M. Bittneret et al. *Radiat. Res.* 2000. Vol. 154. P. 342–346. doi: 10.1667/0033-7587(2000)154 [0342:iopmbi] 2.0.co;2.
2. Gene-expression biomarkers for application to high-throughput radiation biodosimetry [Internet] / M. B. Grace, C. A. Salter, J. R. Bullard et al. *NATO RTG-099*. 2005. Available from : <https://www.researchgate.net/publication/228813361>. Title from the screen.
3. Candidate gene biodosimetry markers of exposure to external ionizing radiation in human blood: A systematic review / J. Lacombe, Chao Sima, S. A. Amundson F. Zenhausern. *PLoS One*. 2018. Vol. 13(6). e0198851. doi: 10.1371/journal.pone. 0198851. eCollection 2018.
4. Paul S., Amundson S. A. Development of gene expression signatures for practical radiation biodosimetry. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2008. Vol. 71(4). P. 1236–1244. doi: 10.1016/j.ijrobp.2008.03.043.
5. FDXR is a biomarker of radiation exposure in vivo / G. O'Brien, L. Cruz-Garcia, M. Majewski et al. *Scientific Reports*. 2018. Vol. 8, no. 1. Article number: 684. doi: 10.1038/s41598-017-19043-w.
6. Past exposure to densely ionizing radiation leaves a unique permanent signature in the genome / M. Prakash Hande, T. V. Azizova, C. R. Geard et al. *Am. J. Hum. Genet.* 2003. Vol. 72, no. 5. P. 1162–1170. doi: 10.1086/375041.
7. Stable intra-chromosomal biomarkers of past exposure to densely ionizing radiation in several chromosomes of exposed individuals / C. R. Mitchell, T. V. Azizova, M. P. Hande et al. *Radiat. Res.* 2004. Vol. 162, no.3. P. 257–263. doi: 10.1667/rr3231.
8. Association of radiation-induced genes with noncancer chronic diseases in Mayak workers occupationally exposed to prolonged radiation / M. Abend, T. Azizova, K. Muller et al. *Radiat. Res.* 2015. Vol. 183, no. 3. P. 249–261. doi: 10.1667/ RR13758.1.
9. Expression of biological markers induced by ionizing radiation at the late period after exposure in a wide range of doses / I. M. Ilienکو, N. A. Golyarnik, O. V. Lyaskivska et al. *Probl. Radiac. Med. Radiobiol.* 2018. Vol. 23. P. 331–350. doi: 10.33145/ 2304-8336-2018-23-331-350.
10. Association of COPD candidate genes with computed tomography emphysema and airway phenotypes in severe COPD / W. J. Kim, E. Hoffman, J. Reilly, C. Hersh et al. *Eur. Respir. J.* 2011. Vol. 37. P. 39–43. doi: 10.1183/09031936.00173009.
11. Chronic bronchitis sub-phenotype within COPD: inflammation in sputum and biopsies / J. B. Snoeck-Stroband, T. S. Lapperre, M. M. Gosman et al. *Eur. Respir. J.* 2008. Vol. 31. P. 70–77. doi: 10.1183/09031936.00137006.
12. Susceptibility to exacerbation in chronic obstructive pulmonary disease / J. R. Hurst, J. Vestbo, A. Anzueto et al. *N. Engl. J. Med.* 2010. Vol. 363, no. 12. P. 1128–1138. doi: 10.1056/NEJMoa0909883.
13. Окладникова Н. Д., Кудрявцева Т. И., Беляева З. Д. Плутониевый пневмосклероз, итоги многолетнего медицинского наблюдения. *Вопросы радиационной безопасности*. 2000. №1. С. 42–49.
- blood lymphocytes for human exposure to ionizing radiation. *Radiat Res.* 2000 Jan;154(3):342-346.
2. Grace MB, Salter CA, Bullard JR, Prasanna PGS, Manglapus GL, Blakely WF. Gene-Expression Biomarkers for Application to High-Throughput Radiation Biodosimetry [Internet]. *NATO RTG-099*. 2005 Jun. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/228813361>.
3. Lacombe J, Sima Sh, Amundson SA, Zenhausern F. Candidate gene biodosimetry markers of exposure to external ionizing radiation in human blood: A systematic review [Internet]. *PLoS One*. 2018 Jun 7;13(6):e0198851. Available from: doi: 10.1371/journal.pone. 0198851.
4. Paul S, Amundson SA. Development of gene expression signatures for practical radiation biodosimetry. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2008 Jul;71(4):1236-1244.
5. O'Brien G, Cruz-Garcia L, Majewski M, Grepl J, Abend M, Port M et al. FDXR is a biomarker of radiation exposure in vivo [Internet]. *Scientific Reports*. 2018 Jan; 8:684. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-19043-w>.
6. Hande MP, Azizova TV, Geard CR, Burak LE, Mitchell CR, Khokhryakov VF et al. Past exposure to densely ionizing radiation leaves a unique permanent signature in the genome. *Am J Hum Genet.* 2003 May;72(5):1162-1170.
7. Mitchell CR, Azizova TV, Hande MP, Burak LE, Tsakok JM, Khokhryakov VF et al. Brenner Stable intra-chromosomal biomarkers of past exposure to densely ionizing radiation in several chromosomes of exposed individuals. *Radiat Res.* 2004 Sep;162(3): 257-263.
8. Abend M, Azizova T, Muller K, Dorr H, Doucha-Senf S, Kreppel H et al. Association of radiation-induced genes with noncancer chronic diseases in Mayak workers occupationally exposed to prolonged radiation. *Radiat Res.* 2015;183(3):249-261.
9. Ilienکو IM, Golyarnik NA, Lyaskivska OV, Belayev OA, Bazyka DA. Expression of biological markers induced by ionizing radiation at the late period after exposure in a wide range of doses. *Probl Radiac Med Radiobiol.* 2018;23:331-350. doi: 10.33145/2304-8336-2018-23-331-350.
10. Kim WJ, Hoffman E, Reilly J, Hersh C, DeMeo D, Washko G, et al. Association of COPD candidate genes with computed tomography emphysema and airway phenotypes in severe COPD. *Eur Respir J.* 2011;37:39-43. doi: 10.1183/09031936. 00173009.
11. Snoeck-Stroband JB, Lapperre TS, Gosman MME, Boezen HM, Timens W, Hacken N. H. T. ten, et al. Chronic bronchitis sub-phenotype within COPD: inflammation in sputum and biopsies. *Eur Respir J.* 2008;31:70-77. doi: 10.1183/09031936. 00137006.
12. Hurst JR, Vestbo J, Anzueto A, Locantore N, Mullerova H, Tal-Singer R, et al. Susceptibility to exacerbation in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med.* 2010;363(12):1128-1138. doi: 10.1056/NEJMoa0909883.
13. Okladnikova ND, Kudryavceva TI, Beljaeva ZD. [Plutonium pneumosclerosis, the results of long-term of medical supervi-

14. Lung cancer risks from plutonium: an updated analysis of data from the Mayak worker cohort / E. S. Gilbert, M. E. Sokolnikov, D. L. Preston et al. *Radiat. Res.* 2013. Vol. 179, no. 3. P. 332–342. doi: 10.1667/RR3054.1.
15. Гусева М. Ю. Состояние бронхолегочной системы у ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС. *Медицина труда и промышленная экология.* 2006. Vol. 10. С. 7–13.
16. Чучалин А. Г. Патология органов дыхания у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС. *Терапевтический архив.* 1996. Vol. 68 (3). С. 5–7.
17. Mortality from diseases other than cancer following low doses of ionizing radiation: results from the 15-country study of nuclear industry worker / M. Vrijheid, E. Cardis, P. Ashmore et al. *Int. J. Epidemiol.* 2007. Vol. 36, no. 5. P. 1126–1135. doi: 10.1093/ije/dym138.
18. Заболеваемость хроническим бронхитом у работников атомного предприятия ПО «Маяк» / Г. В. Жунтова, Т. В. Азизова, М. В. Банникова и др. *Здравоохранение Российской Федерации.* 2015. Т. 59 (2). С. 24–28.
19. Gene expression profiling of peripheral blood leukocytes identifies potential novel biomarkers of chronic obstructive pulmonary disease in current and former smokers / J. S. Edmiston, K. J. Archer, M. J. Scian et al. *Biomarkers.* 2010. Vol. 15. P. 715–730. doi: 10.3109/1354750X.2010.512091.
20. Chronic obstructive pulmonary disease-specific gene expression signatures of alveolar macrophages as well as peripheral blood monocytes overlap and correlate with lung function / S. Poliska, E. Csanky, A. Szanto et al. *Respiration.* 2011. Vol. 81, no. 6. P. 499–510. doi: 10.1159/000324297.
21. Burns D. M. Epidemiology of smoking-induced cardiovascular disease. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2003. Vol. 46. P. 11–29. doi: 10.1016/s0033-0620(03)00079-3
22. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories / P. W. Wilson, R. B. D'Agostino, D. Levy et al. *Circulation.* 1998. Vol. 97, no. 18. P. 1837–1847. doi: 10.1161/01.cir.97.18.1837.
23. Mortality from cardiovascular disease more than 10 years after radiotherapy for breast cancer: nationwide cohort study of 90000 Swedish women / S. Darby, P. McGale, R. Peto et al. *BMJ.* 2003. Vol. 326, no. 7383. P. 256–257. doi: 10.1136/bmj.326.7383.256.
24. Hancock S. L., Donaldson S. S., Hoppe R. T. Cardiac disease following treatment of Hodgkin's disease in children and adolescents. *J. Clin. Oncol.* 1993. Vol. 11, no. 7. P. 1208–1215. doi: 10.1200/JCO.1993.11.7.1208.
25. Risk of ischemic heart disease in women after radiotherapy for breast cancer / S. C. Darby, M. Ewertz, P. McGale et al. *N. Engl. J. Med.* 2013. Vol. 368, no. 11. P. 987–998. doi: 10.1056/NEJMoa1209825.
26. Physiological interaction of heart and lung in thoracic irradiation / G. Ghobadi, S. van der Veen, B. Bartelds et al. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2000;1:42-49. Russian.
14. Gilbert ES, Sokolnikov ME, Preston DL, Schonfeld SJ, Schadilov AE, Vasilenko EK, et al. Lung cancer risks from plutonium: an updated analysis of data from the Mayak worker cohort. *Radiat Res.* 2013;179(3):332-342. doi: 10.1667/RR3054.1.
15. Guseva M Ju. [The state of the broncho-pulmonary system in the liquidators of the accident at the Chernobyl Nuclear Power Plant]. *Meditsina truda i promyshlennaja ekologija.* 2006;10:7-13. Russian.
16. Chuchalin AG. [Pathology of the respiratory system in liquidators of the Chernobyl accident]. *Terapevticheskij arhiv.* 1996;68(3):5-7. Russian.
17. Vrijheid M, Cardis E, Ashmore P, Auvinen A, Bae J-M, Engels H, et al. Mortality from diseases other than cancer following low doses of ionizing radiation: results from the 15-country study of nuclear industry worker. *Int J Epidemiol.* 2007;36(5):1126-1135. doi: 10.1093/ije/dym138.
18. Zhuntova GV, Azizova TV, Bannikova MV, Belyaeva ZD, Bragin EV, Grigoryeva ES, Moseeva MB, Fomin EP. [The morbidity of chronic bronchitis of workers of the nuclear enterprise «MAYAK»]. *Zdravoohranenie Rossijskoj Federaciiu.* 2015;59(2):24-28. Russian.
19. Edmiston JS, Archer KJ, Scian MJ, Joyce AR, Zedler BK, Murrelle EL. Gene expression profiling of peripheral blood leukocytes identifies potential novel biomarkers of chronic obstructive pulmonary disease in current and former smokers. *Biomarkers.* 2010;15:715-730. doi: 10.3109/1354750X.2010.512091.
20. Poliska S, Csanky E, Szanto A, Szatmari I, Mesko B, Szeles L, et al. Chronic obstructive pulmonary disease-specific gene expression signatures of alveolar macrophages as well as peripheral blood monocytes overlap and correlate with lung function. *Respiration.* 2011 Mar;81(6):499-510. doi: 10.1159/000324297.
21. Burns DM. Epidemiology of smoking-induced cardiovascular disease. *Prog Cardiovasc Dis.* 2003 Jul-Aug;46(1):11-29. doi: 10.1016/s0033-0620(03)00079-3.
22. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation.* 1998;97(18):1837-1847. doi: 10.1161/01.cir.97.18.1837.
23. Darby S, McGale P, Peto R, Granath F, Hall P, Ekbohm A. Mortality from cardiovascular disease more than 10 years after radiotherapy for breast cancer: nationwide cohort study of 90000 Swedish women. *BMJ.* 2003;326(7383):256-257. doi: 10.1136/bmj.326.7383.256.
24. Hancock SL, Donaldson SS, Hoppe RT. Cardiac disease following treatment of Hodgkin's disease in children and adolescents. *J Clin Oncol.* 1993 Jul;11(7):1208-15. doi: 10.1200/JCO.1993.11.7.1208.
25. Darby SC, Ewertz M, McGale P, Bennet AM, Blom-Goldman U, et al. Risk of ischemic heart disease in women after radiotherapy for breast cancer. *N Engl J Med.* 2013 Mar;368(11):987-998. doi: 10.1056/NEJMoa1209825.
26. Ghobadi G, Van der Veen S, Bartelds B, De Boer RA, Dickinson MG, De Jong JR, et al. Physiological interaction of heart and lung in tho-

- Oncol. Biol. Phys.* 2012. Vol. 84 (5). e639–e646. Available from: doi: 10.1016/j.ijrobp.2012.07.2362.
27. Multivariate normal tissue complication probability modeling of heart valve dysfunction in Hodgkin lymphoma survivors / L. Cella, R. Liuzzi, M. Conson et al. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2013. Vol. 87. P. 304–310.
 28. Noncancer disease incidence in atomic bomb survivors, 1958–1998 / M. Yamada, F. L.Wong, S. Fujiwara et al. *Radiat. Res.* 2004. Vol. 161(6). P. 622–632.
 29. Radiation exposure and circulatory disease risk: Hiroshima and Nagasaki atomic bomb survivor data, 1950–2003 / Y. Shimizu, K. Kodama, N. Nishi et al. *BMJ.* 2010. Vol. 340. Available from : doi: 10.1136/bmj.b5349.
 30. Cardiovascular diseases in the cohort of workers first employed at Mayak PA in 1948–1958 / T. V. Azizova, C. R. Muirhead, M. B. Druzhinina et al. *Radiat. Res.* 2010. Vol. 174. P. 155–168. doi: 10.1667/RR1789.1.
 31. Cerebrovascular diseases in nuclear workers first employed at the Mayak PA in 1948–1972 / T. V. Azizova, C. R. Muirhead, M. B. Moseeva et al. *Radiat. Environ. Biophys.* 2011. Vol. 50. P. 539–552. doi: 10.1007/s00411-011-0377-6.
 32. The role of systemic inflammation in COPD / K. L. Bailey, J. Goraya, S. L. Rennard. In: L. Nici, R. ZuWallack, editors. *Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Co-morbidities and systemic consequences.* Humana Press, 2012. P. 15–30.
 33. Eosinophil and T cell markers predict functional decline in COPD patients / J. M. D'Armiento, S. M. Scharf, M. D. Roth et al. *Respiratory Res.* 2009. Vol. 10, no. 1. P. 113. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-10-113>.
 34. Barnes P. J. The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J. Clin. Investig.* 2008. Vol. 118, no. 11 P. 3546–3555. doi: 10.1172/JCI36130.
 35. Barnes P. J. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nat. Rev. Immunol.* 2008. Vol. 8, no. 3. P. 183–192. doi: 10.1038/nri2254.
 36. Cytokine production by bronchoalveolar lavage T lymphocytes in chronic obstructive pulmonary disease / A. Barczyk, W. Pierzchala, O. M. Kon et al. *J. Allergy Clin. Immunology.* 2006. Vol. 117, no. 6. P. 1484–1492. doi: 10.1016/j.jaci.2006.02.013.
 37. Gajewska B. U., Wiley R. E., Jordana M. GM-CSF and dendritic cells in allergic airway inflammation: basic mechanisms and prospects for therapeutic intervention. *Current Drug Targets Inflammation and Allergy.* 2003. Vol. 2, no. 4. P. 279–292. doi: 10.2174/1568010033484052.
 38. Increased bronchoalveolar granulocytes and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor during exacerbations of chronic bronchitis / B. Balbi, C. Bason, E. Balleari et al. *Eur. Respir. J.* 1997. Vol. 10, no. 4. P. 846–850.
 39. Bentley A. R., Emrani P., Cassano P. A. Genetic variation and gene expression in antioxidant related enzymes and risk of COPD : a systematic review. *Thorax.* 2008. Vol. 63, no. 11. P. 956–961. doi: 10.1136/thx.2007.086199.
 - racic irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012;84(5): e639-46. doi: 10.1016/j.ijrobp.2012.07.2362.
 27. Cella L, Liuzzi R, Conson M, D'Avino V, Salvatore M, Pacelli R. Multivariate normal tissue complication probability modeling of heart valve dysfunction in Hodgkin lymphoma survivors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2013;87(2):304-10. doi: 10.1016/j.ijrobp.2013.05.049.
 28. Yamada M, Wong FL, Fujiwara S, Akahoshi M, Suzuki G. Noncancer disease incidence in atomic bomb survivors, 1958– 1998. *Radiat Res.* 2004;161(6):622-32. doi: 10.1667/rr3183.
 29. Shimizu Y, Kodama K, Nishi N, Fumiyoshi K, Suyama A, Soda M, et al. Radiation exposure and circulatory disease risk: Hiroshima and Nagasaki atomic bomb survivor data, 1950-2003. *BMJ.* 2010;340: b5349. doi: 10.1136/bmj.b5349.
 30. Azizova TV, Muirhead CR, Druzhinina MB, Grigoryeva ES, Vlasenko EV, Sumina MV, et al. Cardiovascular diseases in the cohort of workers first employed at Mayak PA in 1948–1958. *Radiat Res.* 2010 Aug;174(2):155-68. doi: 10.1667/RR1789.1.
 31. Azizova TV, Muirhead CR, Moseeva MB, Grigoryeva ES, Sumina MV, O'Hagan J, et al. Cerebrovascular diseases in nuclear workers first employed at the Mayak PA in 1948-1972. *Radiat Environ Biophys.* 2011;50(4):539-52. doi: 10.1007/s00411-011-0377-6.
 32. Bailey KL, Goraya J, Rennard SL. The role of systemic inflammation in COPD. In: Nici L, ZuWallack R, editors. *Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Co-Morbidities and Systemic Consequences.* Humana Press; 2012. p. 15-30.
 33. D'Armiento JM, Scharf SM, Roth MD, Connett JE, Ghio A, Sternberg D, et al. Eosinophil and T cell markers predict functional decline in COPD patients. *Respiratory Res.* 2009;10(1):113. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-10-113>.
 34. Barnes PJ. The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Investig.* 2008;118(11): 3546-3556. doi: 10.1172/JCI36130.
 35. Barnes PJ. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nat Rev Immunol.* 2008; 8(3):183-192. doi: 10.1038/nri2254.
 36. Barczyk A, Pierzchala W, Kon OM, Cosio B, Adcock IM, Barnes PJ. Cytokine production by bronchoalveolar lavage T lymphocytes in chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunology.* 2006;117(6):1484-1492. doi: 10.1016/j.jaci.2006.02.013.
 37. Gajewska BU, Wiley RE, Jordana M. GM-CSF and dendritic cells in allergic airway inflammation: basic mechanisms and prospects for therapeutic intervention. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2003; 2(4):279-92. doi: 10.2174/1568010033484052.
 38. Balbi B, Bason C, Balleari E, Fiasella F, Pesci A, Ghio R, et al. Increased bronchoalveolar granulocytes and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor during exacerbations of chronic bronchitis. *Eur Respir J.* 1997;10(4):846-850.
 39. Bentley AR, Emrani P, Cassano PA. Genetic variation and gene expression in antioxidant related enzymes and risk of COPD : a systematic review. *Thorax.* 2008;63(11):956-961. doi: 10.1136/thx.2007.086199.

40. Suppressed Expression of T-box Transcription Factors Is Involved in Senescence in Chronic Obstructive Pulmonary Disease / G. K. Acquah-Mensah, D. Malhotra, M. Vulimiri et al. *PLoS Comput Biol.* 2012. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002597>.
41. Експресія радіаційно-індукованих біологічних маркерів у віддаленому періоді після опромінення у широкому інтервалі доз / І. М. Ільєнко, Н. А. Голярник, О. В. Лясківська та ін. *Проблеми радіаційної медицини та радіобіології*. 2018. Вип. 23. С. 331–350. doi: 10.33145/2304-8336-2018-23-331-350.
42. Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama study / H. Shimizu, Y. Kiyohara, I. Kato et al. *Stroke*. 2004. Vol. 35(9). P. 2072–2077. doi: 10.1161/01.STR.0000138022.86509.2d.
43. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk / The International Consortium for Blood Pressure Genome-Wide Association Studies ; G. B. Ehret, P. B. Munroe, K. M Rice et al. *Nature*. 2011. Vol. 478. P. 103–109.
44. Брагіна Е. Ю., Фрейдін М. Б. Молекулярно-генетические исследования коморбидности. *Бюллетень сибирской медицины*. 2015. Т. 14, № 6. С. 94–102.
45. Polygenic overlap between C-reactive protein, plasma lipids, and alzheimer disease / R. S. Desikan, A. J. Scbork, Y. Wang et al. *Circulation*. 2015. Vol. 131, no. 23. P. 2061–2069. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.015489.
46. Пузырев В. П., Степанов В. А., Makeeva О. А. Синтропные гены болезней сердечно-сосудистого континуума. *Медицинская генетика*. 2009. Т. 8, №3. С. 31–38.
47. Pervasive sharing of genetic effects in autoimmune disease / C. Cotsapas, B. F. Voight, E. Rossin E. et al. *PLoS Genet*. 2011. Vol. 7, no. 8. e1002254. doi: 10.1371/journal.pgen. 1002254.
40. Acquah-Mensah GK, Malhotra D, Vulimiri M, McDermot JE, Biswal S. Suppressed Expression of T-box Transcription Factors Is Involved in Senescence in Chronic Obstructive Pulmonary Disease [Internet]. *PLoS Comput Biol.* 2012 Jul; 8(7):e1002597. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002597>.
41. Iliencko IM, Golyarnik NA, Lyaskivska OV, Belayev OA, Bazyka DA. Expression of biological markers induced by ionizing radiation at the late period after exposure in a wide range of doses. *Probl Rad Med Radiobiol.* 2018;23:331-350. doi: 10.33145/2304-8336-2018-23-331-350.
42. Shimizu H, Kiyohara Y, Kato I, Kitazono T, Tanizaki Y, Kubo M, et al. Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama study. *Stroke*. 2004 ;35(9):2072-2077. doi: 10.1161/01.STR. 0000138022.86509.2d.
43. The International Consortium for Blood Pressure Genome-Wide Association Studies; Ehret GB, Munroe PB, Rice KM, Bochud M, Johnson AD, Chasman DI, et al. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature*. 2011;478:103-109. doi: 10.1038/nature10405.
44. Bragina EJu, Frejdin MB. [Molecular genetic studies of comorbidity]. *Bjulleten' sibirskoj medicinyju*. 2015;14(6):94-102. Russian.
45. Desikan RS, Schork AJ, Wang Y, Thompson WK, Dehghan A, Ridker PM, et al. Polygenic overlap between C-reactive protein, plasma lipids, and alzheimer disease. *Circulation*. 2015;131(23):2061-2069. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA. 115.015489.
46. Puzyrev VP, Stepanov VA, Makeeva OA. [Syntropic genes for diseases of the cardiovascular continuum]. *Meditinskaja genetika*. 2009;8(3):31-38. Russian.
47. Cotsapas C, Voight BF, Rossin E, Lage K, Neale BM, Wallace C, et al. Pervasive sharing of genetic effects in autoimmune disease. *PLoS Genet*. 2011;7(8):e1002254. doi: 10.1371/journal.pgen. 1002254.

ІНФОРМАЦІЯ ПРО АВТОРІВ

Ільєнко Ірина Миколаївна, доктор біологічних наук, відділ клінічної імунології, лабораторія імуноцитології, Інститут клінічної радіології, Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», м. Київ

Базика Дмитрій Анатолійович, доктор медичних наук, професор, відділ клінічної імунології, Інститут клінічної радіології, Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», м Київ

Голярник Наталія Анатоліївна, кандидат біологічних наук, відділ клінічної імунології, лабораторія імуноцитології, Інститут клінічної радіології, Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», м. Київ

Зварич Лілія Миколаївна, відділ клінічної імунології, лабораторія імуноцитології, Інститут клінічної ра-

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Iryna N. Iliencko, Doctor of Biological Sciences, Department of Clinical Immunology, Laboratory of Immunocytology, Institute for Clinical Radiology, State Institution «National Research Centre for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Dimitry A. Bazyka, Doctor of Medical Sciences, Professor, Department of Clinical Immunology, Institute for Clinical Radiology, State Institution «National Research Centre for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Natalia A. Golyarnik, Candidate of Biological Sciences, Department of Clinical Immunology, Laboratory of immunocytology, Institute for Clinical Radiology, State Institution «National Research Centre for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Liliia M. Zvarych, Department of Clinical Immunology, Laboratory of immunocytology, Institute for Clinical

діології, Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», м. Київ

Швайко Людмила Іванівна, доктор медичних наук, старший науковий співробітник, відділення пульмонології, Інститут клінічної радіології, Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», м. Київ

Базика Костянтин Дмитрович, кандидат медичних наук, старший науковий співробітник, відділення пульмонології, Інститут клінічної радіології, Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», м. Київ

Radiology, State Institution «National Research Centre for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Liudmyla I. Shvayko, Doctor of Medical Sciences, Senior Research Associate, Department of Pulmonology, Institute for Clinical Radiology, State Institution «National Research Centre for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Kostyantyn D. Bazyka, Candidate of Medical Sciences, Senior Research Associate, Department of Pulmonology, Institute for Clinical Radiology, State Institution «National Research Centre for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Стаття надійшла до редакції 23.06.2020

Received: 23.06.2020