Ботбаев Дауреннің

«6D070100- Биотехнология» мамандығы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін дайындалған диссертациясына

АҢДАТПА

«Аз мөлшерлі радиацияның созылмалы әсеріне генетикалық тұрақтылықты бағалау әдісін әзірлеу»

Жұмыстың жалпы сипаттамасы

Қазақстан уран қоры бойынша әлемдегі жетекші елдердің бірі болып табылады, ал уран өндіру саласының қызметкерлері мен оған жақын орналасқан аумақтардың тұрғындары аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне ұшырауы мүмкін. Осы диссертациялық жұмыс ағзаның радиорезистенттілігімен байланысты негізгі молекулалық-жасушалық үдерістерге қатысатын гендердің полиморфизмдері мен аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің ұзақ мерзімді кәсіптік әсері арасындағы ассоциацияларды анықтауға, сондай-ақ уран өндіру кәсіпорындарының қызметкерлерінде, жақын маңдағы аудандардың тұрғындарында және созылмалы радиациялық әсерге ұшырайтын медицина қызметкерлерінде радиация әсерінен туындайтын генетикалық материал өзгерістерін талдауға арналған.

Аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің адам ағзасына, әсіресе оның генетикалық материалына созылмалы әсері әлі де жеткілікті деңгейде зерттелмеген. Радиосезімталдықпен немесе радиорезистенттілікпен ассоциацияланған генетикалық варианттарды зерттеу ғылыми әрі практикалық тұрғыдан маңызды, өйткені оларды әлеуетті генетикалық маркерлер ретінде қарастыруға болады. Болашақта мұндай маркерлер аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне ұшырайтын адамдардың радиосезімталдыққа жеке генетикалық бейімділігін бағалау, кәсіптік іріктеу тәсілдерін жетілдіру және тәуекелі жоғары топтар үшін профилактикалық іс-шараларды әзірлеу мақсатында қолданылуы мүмкін.

Аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне жауаптың жеке ерекшеліктерімен байланысты генетикалық факторлар туралы мәліметтердің шектеулілігі осы бағыттағы зерттеулердің өзектілігі мен қажеттілігін айқындайды.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі

Иондаушы сәулеленудің жоғары дозаларының адам генетикалық материалына әсері жан-жақты зерттелген және ДНҚ-ның елеулі зақымдануымен, мутациялардың пайда болуымен және онкологиялық аурулардың даму қаупінің артуымен байланысты екені белгілі. Алайда аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің ұзақ уақыт бойы әсер етуінің биологиялық салдары әлі де жеткілікті зерттелмеген. Бұл мәселе әсіресе кәсіби қызметіне немесе қоршаған орта жағдайларына байланысты иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне ұшырайтын адамдар үшін өзекті, өйткені мұндай жағдайда аз мөлшердегі сәулелену дозалары ұзақ уақыт бойы жинақталады.

Қазақстан табиғи уран қоры бойынша әлемде екінші орында және уран өндіретін жетекші мемлекеттердің бірі болып табылады (World Nuclear Association деректері бойынша). Осыған байланысты еліміз созылмалы радиациялық әсермен байланысты ерекше мәселелерге тап болып отыр. Аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің ұзақ мерзімді әсері генетикалық материалда өзгерістердің жинақталуына әкеліп, әртүрлі аурулардың, ең алдымен онкологиялық аурулардың даму қаупін

арттыруы мүмкін, сондай-ақ тұқым қуалайтын патологиялардың пайда болуына ықпал етуі ықтимал. Сондықтан уран өндіру және өңдеу кәсіпорындарының қызметі осы сала қызметкерлері мен жақын маңдағы елді мекендер тұрғындарының денсаулығына қауіп төндіруі мүмкін, бұл аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің ұзақ мерзімді әсерлерін зерттеудің маңыздылығын айқындайды.

ДНҚ репарация жүйелері генетикалық материалдың тұтастығын сақтауда маңызды рөл атқарады, өйткені олар сәулелену әсерінен туындаған ДНҚ зақымдануларын қалпына келтіреді. ДНҚ репарациясына қатысатын гендердің генетикалық вариабельділігі радиациядан туындаған зақымдануларды қалпына келтіру тиімділігіндегі жеке айырмашылықтарды және соның салдарынан ағзаның радиосезімталдығын анықтауы мүмкін. ДНҚ репарациясының молекулалық механизмдерін және олардың қызметіндегі генетикалық вариабельділіктің рөлін түсіну жеке радиосезімталдықты бағалау әдістерін әзірлеуге, кәсіптік іріктеу тәсілдерін жетілдіруге және тиімді профилактикалық іс-шараларды енгізуге негіз болады. Сондықтан бұл бағыттағы зерттеулердің ғылыми және практикалық маңызы зор, өйткені олар денсаулыққа төнетін қауіптерді азайтуға және радиациялық қауіпсіздікті арттыруға ықпал етеді. Бұл әсіресе уран өнеркәсібі дамыған Қазақстан сияқты елдер үшін ерекше өзекті.

ДНҚ репарация жүйелерінен басқа, аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне ағзаның жеке жауабының қалыптасуындағы иммундық жүйенің ықтимал рөлі де ғылыми қызығушылық тудырады. Ұзақ уақытқа созылған радиациялық әсер иммундық жүйенің қызметіне ықпал етуі мүмкін деген болжам бар, алайда қазіргі таңда қолда бар мәліметтер жеткіліксіз және көп жағдайда бір-біріне қарама-қайшы. Иммундық жауапқа қатысатын генетикалық факторларды одан әрі зерттеу жеке радиосезімталдықтың молекулалық механизмдерін неғұрлым толық түсінуге мүмкіндік береді.

Зерттеудің мақсаты: аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне ұшыраған адамдарда функционалдық маңызы бар гендердің полиморфизмдері мен мутацияларын зерттеу арқылы радиорезистенттілікпен ассоциацияланған генетикалық варианттарды анықтау.

Зерттеудің міндеттері:

1. Уран өнеркәсібі қызметкерлерінің, жақын маңдағы аумақтар тұрғындарының, кәсіби қызметі барысында аз мөлшердегі иондаушы сәулелену әсеріне ұшырайтын медицина қызметкерлерінің, сондай-ақ табиғи радиациялық фоны қалыпты өңірлер тұрғындарының (бақылау тобы) қан және ДНҚ үлгілерінің коллекциясын қалыптастыру.
2. Жасушалық циклді, апоптозды және ангиогенезді реттейтін, сондай-ақ ДНҚ репарациясы жүйесіне қатысатын гендер полиморфизмдерінің аз мөлшердегі иондаушы сәулелену әсеріне төзімділікпен ассоциациясын зерттеу.
3. Аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсері жағдайында иммундық жүйе гендеріндегі мутациялық өзгерістер деңгейін зерттеу.
4. Аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне генетикалық бейімділікті бағалаудың әдістемелік тәсілін әзірлеу.

Зерттеу нысынадры зерттеу нысаны ретінде Қазақстандағы уран өндіру және өңдеу кәсіпорындарының қызметкерлері мен жақын маңдағы аудандар тұрғындарының, сондай-ақ Италияда аз мөлшердегі иондаушы сәулелену әсеріне ұшыраған медицина қызметкерлерінің ДНҚ үлгілері алынды. Бұл топтар ұзақ мерзімді радиациялық әсердің салдарын зерттеуге мүмкіндік беретін бірегей дереккөз болып табылады. Бақылау тобы ретінде табиғи радиациялық фоны қалыпты өңірлерде тұратын дені сау донорлардың ДНҚ үлгілері пайдаланылды.

Зерттеу пәні: аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне төзімділікпен ассоциацияланған ДНҚ полиморфизмдері, сондай-ақ аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсерінен туындаған ДНҚ өзгерістері.

Зерттеу әдістері: полимеразалық тізбекті реакция (ПТР), рестрикциялық фрагменттер ұзындығының полиморфизмі (RFLP), нақты уақыттағы полимеразалық тізбекті реакция (Real-time ПТР), Сэнгер бойынша секвенирлеу, TaqMan Assay әдісі..

Зерттеудің ғылыми жаңалығы

Зерттеу барысында алғаш рет Қазақстандағы уран өндіру кәсіпорындары қызметкерлерінің геномына аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің әсері бағаланып, сондай-ақ жасушалық циклді, апоптозды және ангиогенезді реттеуге қатысатын, ДНҚ репарациясы жүйесіне қатысатын кейбір гендердің аллельдік варианттарының аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне төзімділікпен ассоциациялары алғаш рет анықталды. Жасушалық цикл мен апоптозды реттеуге қатысатын *TP53* және *CDKN1A* гендерінің полиморфизмдері бойынша кәсіби сәулеленуге ұшыраған топтар мен бақылау тобында генотиптік және аллельдік жиіліктер арасында статистикалық тұрғыдан сенімді айырмашылықтар анықталды. Бұл аталған гендерді радиациялық әсерге жеке генетикалық сезімталдықты бағалауға арналған биомаркерлер ретінде қолдану мүмкіндігін негіздейді. Сонымен қатар, *VEGF, RAD51, XPD, XRCC1* және *IFNα-2b* гендеріндегі зерттелген полиморфизмдер аз мөлшердегі иондаушы сәулелену әсеріне төзімділікпен ассоциация көрсеткен жоқ. Бұл зерттеу Қазақстандағы кәсіби радиациялық қауіптің генетикалық аспектілеріне арналған алғашқы іргелі жұмыстардың бірі болып табылады және радиациялық эпидемиология, генетикалық скрининг және профилактикалық медицина салаларындағы кейінгі зерттеулер үшін ғылыми-практикалық негіз қалыптастырады.

Зерттеудің теориялық маңызы

Жұмыстың теориялық маңыздылығы аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне ағзаның жеке жауап беру ерекшеліктерінің негізінде жатқан молекулалық-генетикалық механизмдер туралы түсінікті кеңейтумен сипатталады. Жүргізілген зерттеу ДНҚ репарациясы, жасушалық циклді реттеу және апоптоз үдерістеріне қатысатын гендердің жекелеген аллельдік варианттарының аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің ұзақ мерзімді созылмалы әсерімен ассоциациясын анықтауға мүмкіндік берді. Алынған нәтижелер радиациялық төзімділіктің молекулалық механизмдері биологиялық реттелудің әртүрлі деңгейлерінде жүзеге асуы мүмкін екенін көрсетеді. Зерттеу радиациялық төзімділіктің көпдеңгейлі табиғаты туралы түсінікті кеңейтіп, әртүрлі биологиялық жүйелердің өзара әрекеттесуін болжайды. Жүргізілген жұмыс осы бағыттағы болашақ зерттеулер үшін ғылыми негіз болады.

Зерттеудің практикалық құндылығы

Жұмыстың практикалық маңыздылығы уран кеніштері қызметкерлерінде, радиологиялық бейіндегі медицина қызметкерлерінде, сондай-ақ радиациялық қауіпті аумақтар тұрғындарында аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне жеке жауап беру бейімділігін бағалауға арналған генетикалық маркерлерді әзірлеуге негіз бола алатын деректерді алумен анықталады. Болашақта мұндай маркерлер радиациялық әсерге жоғары сезімталдығы немесе төзімділігі бар адамдарды анықтауға, кәсіби іріктеуді ғылыми негізде жүргізуге және уақтылы профилактикалық іс-шараларды жүзеге асыруға мүмкіндік береді. Алынған нәтижелер радиациялық гигиенада, еңбек медицинасында және кәсіби генетикада қолданылуы мүмкін, сондай-ақ нормативтік-әдістемелік құжаттарды әзірлеу мен генетикалық мониторинг бағдарламаларын жетілдіру барысында пайдаланылуы ықтимал.

Қорғауға шығарылатын негізгі қағидалар

1. *TP53* генінің 6-интронындағы полиморфизм аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне төзімділікпен ассоциацияланған: A аллелі жоғары радиорезистенттілікпен, ал G аллелі төмен радиорезистенттілікпен байланысты. *TP53* генінің 3-интронындағы инсерциялық полиморфизм де аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне төзімділікпен ассоциацияланған: инсерцияның болуы жоғары радиорезистенттілікпен, ал делеция төмен радиорезистенттілікпен байланысты.
2. *TP53* генінің 4-экзонында орналасқан Arg72Pro (rs1042522) полиморфизмі аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне төзімділікпен ассоциацияланған: C (Pro) аллелі жоғары радиорезистенттілікпен, ал G (Arg) аллелі төмен радиорезистенттілікпен байланысты.
3. *CDKN1A* генінің 31-кодонындағы полиморфизм аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне төзімділікпен ассоциацияланған: C аллелі жоғары радиорезистенттілікпен, ал A аллелі төмен радиорезистенттілікпен байланысты.
4. Аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне генетикалық бейімділікті бағалау әдістемесі ұсынылды. Ол радиациялық фоны жоғары жағдайларда жұмыс істеуге арналған персоналды іріктеу кезінде қолданылуы мүмкін.

Зерттеудің негізгі нәтижелері мен тұжырымдары

1. Уран өнеркәсібі қызметкерлерінің (511 үлгі), жақын маңдағы аудандар тұрғындарының (100 үлгі), жұмыс орнында аз мөлшердегі иондаушы сәулелену әсеріне ұшырайтын медицина қызметкерлерінің (21 үлгі), сондай-ақ табиғи радиациялық фоны қалыпты өңірлер тұрғындарының (300 үлгі) қан және ДНҚ үлгілерінің коллекциялары қалыптастырылды.
2. *TP53* және *CDKN1A* гендерінің төрт полиморфты локусының аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне төзімділікпен статистикалық маңызды ассоциациялары анықталды. Генотиптер мен аллельдердің таралуында статистикалық мәнді айырмашылықтар Степногорск тау-кен химия комбинаты (СТКХК) қызметкерлері мен бақылау тобы арасында, сондай-ақ «Балкашинское» кен орнының шахтерлері мен бақылау тобы арасында *TP53* генінің 3-интроны, 6-интроны және 4-экзонында, сондай-ақ *CDKN1A* генінің 31-кодонында анықталды. Этникалық топтар арасындағы аллельдер мен генотиптердің таралуындағы жекелеген айырмашылықтар анықталғанымен, олар жалпы анықталған ассоциациялар сипатына елеулі әсер еткен жоқ. Байқалған айырмашылықтар, әсіресе қазақ ұлты өкілдері арасындағы таңдаманың шектеулі көлемімен байланысты болуы мүмкін. Алынған нәтижелер *TP53* және *CDKN1A* гендерінің полиморфизмдерін радиосезімталдыққа/радиорезистенттілікке

генетикалық бейімділіктің молекулалық-генетикалық маркерлері ретінде пайдалану әлеуетін көрсетеді. Бұл маркерлер иондаушы сәулелену жағдайында еңбек ететін адамдардың кәсіби тәуекелін бағалау және ғылыми негізделген медициналық-генетикалық іріктеу жүргізу үшін қолданылуы мүмкін. Сонымен қатар, *VEGF, RAD51, XPD, XRCC1* және *APC* гендері радиациялық төзімділік механизмдерінде маңызды рөл атқарғанымен, осы гендердің зерттелген полиморфизмдері бойынша топтар арасында аллельдер мен генотиптердің таралуында статистикалық маңызды айырмашылықтар анықталған жоқ.

3. *IFNα-2b* генін талдау барысында уран өндіру кәсіпорындарының қызметкерлері мен жұмыс орнында аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне ұшырайтын медицина қызметкерлерінде мутациялық өзгерістер анықталған жоқ. Зерттеу барысында аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсерінен мутациялық өзгерістер деңгейінің жоғарылағанын дәлелдейтін мәліметтер алынбады. Алайда әдебиеттегі деректердің қарама-қайшылығы және осы жұмыстағы секвенирлеу қамтуының салыстырмалы түрде төмен болуы алынған нәтижелерді растау немесе жоққа шығару үшін қосымша зерттеулер жүргізу қажеттігін көрсетеді.

4. Анықталған молекулалық-генетикалық варианттар негізінде аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне ағзаның жеке жауабына генетикалық бейімділікті бағалаудың ықтимал тәсілдерінің бірі ұсынылды. Қосымша валидациядан кейін бұл тәсіл радиациялық фоны жоғары еңбек жағдайларында кәсіби іріктеу барысында қолданылуы мүмкін.

Жұмыстың мемлекеттік бағдарламалар жоспарымен байланыстылығы: Зерттеу жұмысы келесі ғылыми-техникалық бағдарламалар (ҒТП) аясында орындалды: О.0457 «Қазақстанның биологиялық әртүрлілігін сақтауды қамтамасыз ету мақсатында өсімдіктер, жануарлар және микроорганизмдер коллекцияларын сақтау және толықтыру, сондай-ақ бірегей генетикалық банктерді сақтау» (2011–2015 жж.). 1-тапсырма: «Аз мөлшердегі иондаушы сәулеленудің созылмалы әсеріне ұшыраған уран кеніштері қызметкерлерінің ДНҚ банкін құру және олардың молекулалық-генетикалық сипаттамасын жүргізу. Аз мөлшердегі радиацияның созылмалы әсеріне ұшыраған адамдардың генотиптерінің электрондық деректер базасын құру». О.0592 «Қазақстан медицинасы, ауыл шаруашылығы және қоршаған ортаны қорғау салаларының қажеттіліктері үшін отандық геномдық-протеомдық және жасушалық технологияларды әзірлеу» (2012–2014 жж.). 2-тапсырма: «Уран өндіру және өңдеу кәсіпорындары қызметкерлерінде аз мөлшердегі иондаушы сәулелену әсерінің салдарын молекулалық-генетикалық мониторингілеу». Зерттеу жұмысының тәжірибелік бөлімі М.А. Айтхожин атындағы Молекулалық биология және биохимия институтының базасында, сондай-ақ 2018 жылы Италиядағы Болонья университетінің Фармакология және биотехнология кафедрасында орындалды.

Жұмыстың сыннан өтуі: диссертациялық жұмыстың материалдары келесі ғылыми конференцияларда ұсынылып, талқыланды: Халықаралық студенттер мен жас ғалымдардың ғылыми конференциясы «Фараби әлемі» (2014–2018 жж., Алматы, Қазақстан); «Уран өндіруші өңірлердің медико-биологиялық және радиоэкологиялық мәселелері» атты конференция, Радиобиология және радиациялық қорғау институтының 10 жылдығына арналған (2015 ж., Астана, Қазақстан); жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференциясы, М.А. Айтхожин атындағы Молекулалық биология және биохимия институтының 40 жылдығына арналған (2019 ж., Алматы, Қазақстан); XVIII Халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференция «Қазіргі әлемдегі

ресейлік ғылым» (2018 ж., Мәскеу, Ресей); Халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференция материалдары «Сәтбаев оқулары – 2021» (2021 ж., Алматы, Қазақстан).

Диссертацияның құрылымы

Диссертациялық жұмыстың негізгі нәтижелері 14 баспа еңбекте жарияланған, оның ішінде Scopus және Web of Knowledge деректер базасында индекстелетін импакт-факторы бар халықаралық журналдарда – 2 мақала, ғылым және жоғары білім саласындағы сапаны қамтамасыз ету комитетінің тізіміне енгізілген басылымдарда – 7 мақала, халықаралық конференциялар материалдарында – 5 тезис жарияланды. Сонымен қатар 1 енгізу актісі, 1 патент және 1 пайдалы модельге патент алынды.

Диссертациялық жұмыстың құрылымы мен көлемі

Диссертациялық жұмыс 148 беттен тұрады және келесі бөлімдерді қамтиды: анықтамалар, белгілеулер мен қысқартулар, кіріспе, әдебиеттерге шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері және оларды талқылау, қорытынды, пайдаланылған әдебиеттер тізімі және қосымшалар. Пайдаланылған әдебиеттер тізімі 282 атаудан тұрады. Жұмыста 26 кесте және 19 сурет берілген.