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 оны өндірумен айналысатын жұмысшылар мен жергілікті тұрғындар созылмалы түрде аз мөлшерлі радиациялық сәулеленуге ұшырауы мүмкін. Бұл диссертациялық жұмыс уран өндіретін кәсіпорындардың жұмысшылары, жақын маңдағы елді мекендердің тұрғындары және жұмыс орнында созылмалы радиациялық сәулеленуге ұшырайтын медицина қызметкерлерінің генетикалық материалындағы радиация-индуцирленген өзгерістерді талдауға және созылмалы аз мөлшерлі радиация әсеріне тұрақтылықпен байланысты генетикалық полиморфизмдерді зерттеуге арналған.

Адам ағзасына, әсіресе оның генетикалық материалына созылмалы аз мөлшерлі радиация әсерінің ықпалы әлі де аз зерттелген сала болып табылады, әсіресе генетикалық тұрақтылық тұрғысынан. Радиацияға сезімталдықпен немесе аз мөлшерлі радиацияға төзімділікпен байланысты генетикалық полиморфизмдерді зерттеу маңызды, себебі оларды маркерлер ретінде қолдануға болады. Мұндай маркерлер созылмалы аз мөлшерлі радиацияға ұшырайтын адамдардың жеке радиосезімталдығын бағалауға, кәсіби іріктеуді оңтайландыруға және қауіп тобына кіретіндер арасында аурулардың алдын алуға мүмкіндік береді.

Созылмалы аз мөлшерлі радиациялық сәулеленуге төзімділіктің генетикалық факторлары жөніндегі деректердің жеткіліксіздігі бұл зерттеудің маңыздылығын айқындайды.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі

Адам генетикалық материалына жоғары мөлшерлі радиация әсері жақсы зерттелген және ол ДНҚ-ның ауыр зақымдануымен, мутациялармен және онкологиялық аурулардың даму қаупінің артуымен байланысты екені белгілі. Алайда аз мөлшерлі радиацияның ұзақ уақыт бойы әсер етуі жеткілікті деңгейде зерттелмеген мәселе болып қалып отыр. Бұл әсіресе кәсіби немесе экологиялық сәулеленуге ұшырайтын адамдар үшін өзекті, өйткені төмен дозалар ұзақ уақыт ішінде жиналады.

Әлемдік ядролық қауымдастықтың (World Nuclear Association) мәліметтері бойынша, Қазақстан табиғи уран қоры жөнінен әлемде екінші орында тұр және әлемдік уран өндірісінің айтарлықтай бөлігін өндіреді. Осыған байланысты созылмалы радиациялық әсермен байланысты ерекше қиындықтарға тап болады. Аз мөлшерлі радиацияның созылмалы әсері генетикалық материалда мутациялардың жиналуына әкеліп, ең алдымен онкологиялық аурулардың даму қаупін арттырады, сондай-ақ тұқым қуалайтын патологиялардың пайда болу қаупін тудырады. Осылайша, уран өндіру мен өңдеу жұмысшылар мен жергілікті тұрғындардың денсаулығына ықтимал қауіп төндіреді, бұл төмен дозалы радиацияның ұзақ мерзімді әсерін зерттеудің өзектілігін айқындайды.

Генетикалық материалды қорғауда маңызды рөл атқаратын ДНҚ репарациясы жүйелері радиациядан туындайтын зақымдануларды қалпына келтіреді. Ағзаның бұл

қорғаныс жүйелерінің тиімділігіндегі жеке ерекшеліктер созылмалы аз мөлшерлі радиацияға радиосезімталдық пен төзімділікке айтарлықтай ықпал етуі мүмкін. ДНҚ репарациясы жүйелерінің жұмыс істеу механизмдері мен олардың вариабельдігін түсіну жеке радиосезімталдықты бағалау әдістерін жасауға, кәсіби іріктеуді оңтайландыруға және денсаулықты қорғаудың тиімді профилактикалық шараларын енгізуге мүмкіндік береді. Сондықтан бұл саладағы зерттеулер жоғары ғылыми және практикалық маңызға ие, денсаулыққа төнетін қауіптерді төмендетуге және радиациялық әсер жағдайында қауіпсіздікті арттыруға ықпал етеді. Бұл әсіресе уран өнеркәсібі дамыған Қазақстан сияқты елдер үшін өзекті.

Созылмалы аз мөлшерлі радиацияның әсері иммундық жүйеге де ықпал етуі мүмкін, оны әлсіретіп, ағзаның инфекцияларға қарсы тұру қабілетін төмендетуі ықтимал, алайда бұл жөніндегі деректер қайшылықты болып отыр. Сонымен қатар, созылмалы аз мөлшерлі радиациялық сәулеленуге ағзаның эпигенетикалық өзгерістер (ДНҚ метилденуі, гистондардың модификациясы, кодталмайтын РНҚ экспрессиясы) арқылы жауап беру ерекшеліктері де қызығушылық тудырады. Бұл әсерлер күрделі әрі көптеген факторларға, соның ішінде жеке ерекшеліктерге тәуелді екені анық. Осы саладағы зерттеулер аз мөлшерлі радиацияның ұзақ мерзімді әсерінің адам денсаулығына ықпалын түсінуге, профилактика шараларын әзірлеуге және тәуекел топтарының (уран өнеркәсібі жұмысшылары мен радиациялық фоны жоғары аймақ тұрғындары) қауіпсіздігін қамтамасыз етуге маңызды үлес қосады.

Зерттеудің мақсаты: аз мөлшерлі радиация әсеріне ұшыраған адамдарда функционалды маңызды гендердің полиморфизмдері мен мутацияларын зерттеу арқылы генетикалық тұрақтылық пен жеке радиосезімталдықты бағалауға мүмкіндік беретін молекулалық маркерлерді анықтау.

Зерттеудің міндеттері:

1. Уран өнеркәсібі жұмысшыларының, жақын маңдағы аудандар тұрғындарының, жұмыс орнында аз мөлшерлі радиация әсеріне ұшырайтын медицина қызметкерлерінің, сондай-ақ радиациялық фоны қалыпты аймақ тұрғындарының (салыстырмалы топ) қан үлгілері мен ДНҚ үлгілерінің коллекциясын қалыптастыру.
2. Жасушалық циклді, апоптозды және ангиогенезді реттейтін, ДНҚ репарация жүйесіне тартылған гендердің маңызды полиморфизмдерінің созылмалы аз мөлшерлі радиация әсеріне тұрақтылықпен байланысын зерттеу.
3. Созылмалы аз мөлшерлі радиация әсерінде иммундық жүйе гендеріндегі мутациялық өзгерістер деңгейін зерттеу.
4. Аз мөлшерлі радиацияның созылмалы әсеріне генетикалық тұрақтылықты бағалау әдісін әзірлеу.

Зерттеу нысынадры: зерттеу нысаны ретінде Қазақстандағы уран өндіру және өңдеу кәсіпорындарының жұмысшылары мен жақын маңдағы аудандардың тұрғындарының, сондай-ақ Италияда аз мөлшерлі радиациялық сәулеленуге ұшыраған медицина қызметкерлерінің ДНҚ үлгілері алынды. Бұл топтар ұзақ мерзімді радиациялық әсердің салдарын зерттеу үшін бірегей дереккөз болып табылады. Салыстырмалы топ ретінде радиациялық фоны қалыпты аймақтардан алынған сау донорлардың ДНҚ үлгілері пайдаланылды.

Зерттеу пәні: созылмалы аз мөлшерлі радиацияның әсеріне тұрақтылықпен ассоциацияланған ДНҚ полиморфизмі, сондай-ақ созылмалы аз мөлшерлі радиацияның әсерінен туындаған ДНҚ-дағы өзгерістер.

Зерттеу әдістері: полимеразды тізбекті реакция (ПТР), рестрикциялық фрагменттер ұзындығының полиморфизмі (RFLP), риал-тайм ПТР (RT-PCR), Сэнгер бойынша секвенирлеу, TaqMan Assay әдісі.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы

Зерттеуде алғаш рет Қазақстандағы уран өндіру кәсіпорындары жұмысшыларының геномындағы өзгерістерге аз мөлшерлі иондаушы сәулеленудің әсері бағаланды және алғаш рет жасушалық циклді, апоптозды және ангиогенезді реттейтін, ДНҚ репарациясы жүйесіне қатысты кейбір гендердің аллельдік варианттарының созылмалы аз мөлшерлі радиация әсеріне төзімділікпен байланысы жөніндегі деректер ұсынылды. Жасушалық цикл мен апоптозды реттеуге қатысатын *TP53* және *CDKN1A (p21)* гендерінің полиморфизмдері бойынша кәсіби сәулеленген топтар мен салыстырмалы топ арасында сенімді генотиптік және аллельдік айырмашылықтар анықталды. Бұл нәтижелер аталған гендерді радиациялық экспозицияға сезімталдықтың биомаркерлері ретінде қолдану мүмкіндігін негіздейді. Сонымен қатар, зерттелген *VEGF, RAD51, XPD, XRCC1* және *IFNα-2b* гендерінің маңызды полиморфизмдері аз мөлшерлі радиация әсеріне төзімділікпен байланысын көрсеткен жоқ. Бұл зерттеу Қазақстанда кәсіби радиациялық тәуекелдің генетикалық аспектілеріне арналған алғашқы іргелі еңбектердің бірі болып табылады және радиациялық эпидемиология, генетикалық скрининг пен профилактикалық медицина саласында одан әрі ғылыми-практикалық негіз қалыптастырады.

Зерттеудің теориялық маңызы

Диссертациялық жұмыстың теориялық маңызы радиациялық тұрақтылықтың ықтимал молекулалық механизмдерін ашуда жатыр. Жүргізілген зерттеу ДНҚ репарациясы жүйесі, жасушалық цикл мен апоптоз, сондай-ақ иммундық жауап гендерінің кейбір аллельдік варианттары созылмалы аз мөлшерлі радиация әсеріне тұрақтылықпен ассоциацияланатынын анықтауға мүмкіндік берді. Алынған деректер радиациялық тұрақтылықтың молекулалық механизмдері биологиялық реттелудің әртүрлі деңгейінде әрекет етуі мүмкін екенін көрсетеді. Зерттеу радиациялық тұрақтылықтың көпдеңгейлі табиғатын тереңірек түсінуге жол ашып, әртүрлі жүйелер арасындағы өзара байланыс болуын болжайды. Жүргізілген жұмыс осы саладағы болашақ зерттеулерге серпін береді.

Зерттеудің практикалық құндылығы

Жұмыстың практикалық маңызы уран кеніштері жұмысшылары, радиологиялық бейіндегі медицина қызметкерлері және радиациялық қауіпті аймақтар тұрғындары арасында созылмалы аз мөлшерлі радиация әсеріне жеке тұрақтылықты бағалау мен жүйелі мониторинг жүргізу үшін генетикалық полиморфизмдерді маркерлер ретінде қолдану мүмкіндігінде жатыр. Мұндай маркерлер радиациялық әсерге жоғары сезімталдық немесе тұрақтылық танытатын адамдарды анықтауға, кәсіби іріктеуді дұрыс жүргізуге және профилактикалық шараларды дер кезінде қабылдауға мүмкіндік береді. Бұл тәсіл кәсіби қауіпсіздік деңгейін арттыруға және радиацияға байланысты аурулардың даму қаупін төмендетуге ықпал етеді. Зерттеу нәтижелері медициналық тәжірибеге, радиациялық гигиена және кәсіби генетика саласына енгізілуі мүмкін, сондай-ақ тәуекел топтары арасында генетикалық мониторинг жүйесін жетілдіру және нормативтік-әдістемелік құжаттарды әзірлеу барысында пайдаланылуы ықтимал.

Қорғауға шығарылатын негізгі қағидалар

1. *p53* генінің 6-интронындағы полиморфизм созылмалы аз мөлшерлі радиация әсеріне төзімділікпен ассоциацияланады: A аллелі жоғары радиорезистенттілікпен, ал G аллелі төмен радиорезистенттілікпен байланысты.

2. *p53* генінің 3-интронындағы инсерциялық полиморфизм созылмалы аз мөлшерлі радиация әсеріне төзімділікпен ассоциацияланады: инсерция жоғары радиорезистенттілікпен, ал делеция төмен радиорезистенттілікпен байланысты.
3. *p53* генінің 4-экзонында орналасқан Arg72Pro (rs1042522) полиморфизмі созылмалы аз мөлшерлі радиация әсеріне төзімділікпен ассоциацияланады: C (Pro) аллелі жоғары радиорезистенттілікпен, ал G (Arg) аллелі төмен радиорезистенттілікпен байланысты.
4. *p21* (CDKN1A) генінің 31-кодонындағы полиморфизм созылмалы аз мөлшерлі радиация әсеріне төзімділікпен ассоциацияланады: A аллелі жоғары радиорезистенттілікпен, ал C аллелі төмен радиорезистенттілікпен байланысты.
5. Созылмалы аз мөлшерлі радиация әсеріне генетикалық тұрақтылықты бағалау әдісі әзірленді. Ол радиациялық фоны жоғары салаларда қызметкерлерді іріктеуде қолданылуы мүмкін.

Зерттеудің негізгі нәтижелері мен тұжырымдары

1. Уран өнеркәсібі жұмысшыларының (511 үлгі), жақын маңдағы аймақ тұрғындарының (100 үлгі), жұмыс орнында аз мөлшерлі радиация әсеріне ұшырайтын медицина қызметкерлерінің (21 үлгі), сондай-ақ радиациялық фоны қалыпты аймақ тұрғындарының (300 үлгі) қан үлгілері мен ДНҚ үлгілерінің коллекциясы жасақталды.
2. *p53* және p21 гендерінің төрт полиморфты аймағының аз мөлшерлі созылмалы радиация әсеріне төзімділікпен маңызды ассоциациялары анықталды. Генотиптер мен аллельдердің таралуындағы статистикалық тұрғыдан мәнді айырмашылықтар СТКХК жұмысшылары мен салыстырмалы топ арасында, сондай-ақ «Балқашинское» кен орны шахтерлары мен салыстырмалы топ арасында *p53* генінің 3-ші және 6-шы интрондарында, 4-ші экзонда және *p21* генінің 31-ші кодонында тіркелді. Зерттелген кейбір полиморфизмдер бойынша этникалық топтар арасындағы аллельдер мен генотиптердің таралуында айқын айырмашылықтар, сондай-ақ анықталған ассоциациялардағы сәйкессіздіктер байқалды. Бұл этникалық генетикалық фонды осындай зерттеулерде ескеру қажеттілігін көрсетеді. Алынған деректер *p53* және *p*21 гендерінің полиморфизмдерін жеке радиосезімталдықтың молекулалық-генетикалық маркерлері ретінде пайдаланудың әлеуетін дәлелдейді. Бұл маркерлер кәсіби қауіп-қатерді бағалау және иондаушы сәулелену жағдайында жұмыс істейтін тұлғаларды ғылыми негізделген медициналық-генетикалық іріктеу үшін қолданылуы мүмкін. Сонымен қатар, радиациялық төзімділік механизмдерінде маңызды рөл атқаратын *VEGF, RAD51, XPD, XRCC1* және *APC* гендері бойынша зерттелген полиморфизмдерде топтар арасында статистикалық мәнді айырмашылықтар табылмады. Дегенмен, *APC* гені бойынша анықталған кейбір үрдістер қосымша зерттеуді қажет етеді.
3. Уран өндіру кәсіпорындары жұмысшылары мен жұмыс орнында аз мөлшерлі радиация әсеріне ұшырайтын медицина қызметкерлерінде *IFNα-2b* геніндегі мутациялық өзгерістер деңгейі салыстырмалы топтағы көрсеткіштерден айтарлықтай ерекшеленген жоқ. Біздің зерттеуімізде ұзақ мерзімді төмен дозалық сәулеленудің мутациялық өзгерістер деңгейін арттыратынын дәлелдейтін деректер алынбағанымен, әдебиеттердегі қарама-қайшы мәліметтерді және біздің жұмысымыздағы секвенирлеудің салыстырмалы түрде төмен қамтылуын ескере отырып, алынған нәтижелерді растау немесе жоққа шығару үшін қосымша зерттеулер қажет.
4. Анықталған молекулалық-генетикалық маркерлер негізінде аз мөлшерлі радиацияның созылмалы әсеріне генетикалық тұрақтылықты бағалау әдісі жасалды. Бұл әдіс радиациялық фоны жоғары ортада қызмет ететін персоналды кәсіби іріктеу мен мониторинг жүргізуде қолданылуы мүмкін.

Жұмыстың мемлекеттік бағдарламалар жоспарымен байланыстылығы: диссертациялық жұмыс Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігі мен Денсаулық сақтау министрлігінің мемлекеттік бағдарламалары мен жобаларына сәйкес орындалды. Зерттеу «Уран кеніштері жұмысшыларының ДНҚ-ның молекулалық-генетикалық сипаттамасын жасау және созылмалы аз мөлшерлі радиация әсеріне ұшыраған тұлғалардың генотиптерінің электрондық деректер базасын қалыптастыру» (2011–2015 жж.), «Қазақстан Республикасының уран өнеркәсібі жұмысшылары арасында аурулардың дамуының кәсіби тәуекелін төмендету» (2013–2015 жж.), сондай-ақ «Радиоактивті қалдықтар қоймаларының ықпал ету аймағында тұратын халық үшін радиациялық қауіпті төмендету әдістерін зерттеу және әзірлеу» (2018–2020 жж.) сияқты бастамалар аясында жүргізілді. Ғылыми жұмыстың практикалық бөлігі 2018 жылы М.А. Айтхожин атындағы Молекулалық биология және биохимия институтының базасында, сондай-ақ Италиядағы Болонья университетінің фармакология және биотехнология кафедрасында іске асырылды.

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 125 беттен тұрады, оған мына бөлімдер кіреді: терминдер, белгілеулер мен қысқартулар, кіріспе, әдебиеттерге шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, нәтижелер және олардың талқылауы, қорытынды. Пайдаланылған дереккөздер тізімі 262 атауды қамтиды. Жұмыс 18 кесте мен 14 суретті қамтиды.