

УДК 613.64: 616.717-057

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОТИПОВ ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ, ПРОЖИВАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РИСКА

**О.В. Долгих^{1,2,3}, А.В. Кривцов¹, О.А. Бубнова^{1,3}, К.Г. Старкова¹,
В.А. Лучникова¹, Е.А. Пирогова¹**

¹ ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», Россия, 614045, г. Пермь, ул. Монастырская, 82,

² ФБУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский политехнический университет», Россия, 614990, г. Пермь, Комсомольский проспект, 29,

³ ФБУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Россия, 614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15

Проведена сравнительная оценка результатов иммунодиагностики и анализа полиморфизма генов детей, экспонированных аэротехногенными загрязнителями, с генотипами их родителей. Установлен генетический полиморфизм генов детоксикации CYP1A1, CYP2D6, SULT1A1, а также вариантная аллельность генов, характеризующих состояние эндотелия сосудов (VEGF и eNOS), как у детей, так и их родителей. Представленные данные свидетельствуют о генетической фиксации минорных генотипов родителей у детей в условиях воздействия химических факторов риска.

Ключевые слова: аэрогенная внешнесредовая нагрузка, полиморфизм генов, генетическая фиксация, гены детоксикации, факторы риска.

Актуальным является проведение объективной и достоверной оценки систем детоксикации и полиморфизма генов у населения в условиях повышенной техногенной химической нагрузки с использованием современных диагностических молекулярно-генетических технологий [1–4, 7–11]. Анализ и использование в дальнейшем современных генетических диагностических критериев, прежде всего генов детоксикации 1-й и 2-й фазы, позволит расширить доказательную базу по выявлению причинно-следственных связей патологических и преморбидных состояний, обусловленных воздействием химических факторов среды обитания [5, 6, 12].

Целью исследования являлся сравнительный анализ генетических маркеров у детского

и взрослого населения, проживающего на территории воздействия химических факторов риска.

Материалы и методы. В качестве территории наблюдения были выбран район крупного промышленного города с развитой химической промышленностью. Ведущими факторами аэрогенной внешнесредовой нагрузки на территории являются формальдегид (превышение ПДК_{сс} до 3,57); фенол (до 1,42 ПДК_{сс}), бенз(а)пирен (до 5,41 ПДК_{сс}). Приоритетный путь поступления вредных веществ – ингаляционный. В качестве контрольной, условно-чистой территории выбран район с допустимым уровнем химического воздействия. Обследовано детское население (75 человек), постоянно проживающее и посещающее ДДУ в соответствующих

© Долгих О.В., Кривцов А.В., Бубнова О.А., Старкова К.Г., Лучникова В.А., Пирогова Е.А., 2015

Долгих Олег Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом иммунобиологических методов диагностики (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел. (342) 236-39-30).

Кривцов Александр Владимирович – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией иммуногенетики (e-mail: krivtsov@fcrisk.ru; тел. (342) 236-39-30).

Бубнова Ольга Алексеевна – младший научный сотрудник отдела иммунобиологических методов диагностики, студентка магистратуры биологического факультета (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел. (342) 236-39-30).

Старкова Ксения Геннадьевна – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией иммунологии и аллергологии (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел. (342) 236-39-30).

Лучникова Виктория Александровна – младший научный сотрудник отдела иммунобиологических методов диагностики, доцент кафедры экологии человека и безопасности жизнедеятельности (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел. (342) 236-39-30).

Пирогова Елена Алексеевна – младший научный сотрудник отдела иммунобиологических методов диагностики (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел. (342) 236-39-30).

районах, а также взрослое население (родители детей) в количестве 36 человек.

Забор материала для ПЦР проводился методом взятия мазков со слизистой оболочки ротоглотки. Затем выделяли ДНК с помощью сорбентного метода, в основе которого лежит разрушение клеток с дальнейшей сорбцией нуклеиновых кислот на сорбент.

Для исследования полиморфных вариантов в изучаемых генах применяли методику ПЦР, в основе чего – реакция амплификации и детекция продуктов этой реакции в режиме реального времени с помощью флюоресцентных меток, которыми предварительно помечают используемые для реакции амплификации праймеры. Для одновременной детекции нескольких продуктов реакции применяют разные флюоресцентные метки и зонды (мультиплексная ПЦР). В качестве праймеров использовали участок ДНК генов CYP1A1, CPOX, VEGF, eNO-синтаза, SULT1A1. Для определения генотипа человека применяли метод аллельной дискриминации, когда различия между гетерозиготами, гомозиготами дикого и минорного вариантов устанавливали по различиям в протекании реакций амплификации соответствующих праймеров.

Обработка данных по генотипированию проводилась с использованием унифицированной программы «Ген Эксперт». Данная программа служит для расчета статистических параметров для исследований «случай – контроль», использующих SNP (диагностику однонуклеотидных полиморфизмов). Применялись статистические методы для описания равновесия частот генотипов и аллелей генов по равновесию Харди-Вайнберга.

Результаты и их обсуждение. Поведен анализ особенностей однонуклеотидных полиморфизмов у проживающего в условиях комбинированной многофакторной химической экспозиции техногенными факторами взрослого населения и закрепления измененного генотипа у детей, также живущих на данной территории (таблица).

Установлено, что полиморфизм гена детоксикации CYP1A1 отличается преимущественными негативными отклонения у детей основной группы, тогда как гетерозиготный вариант генотипа CPOX характерен для взрослых основной группы, закрепляясь по наследству в виде патологической гомозиготы на уровне, превышающем аналогичную распространенность генотипа у взрослых в 3 раза. Повышенная распространенность гетезиготного генотипа гена

Сравнительный полиморфизм генов у детей и их родителей в условиях экспонирования химическими техногенными факторами

Показатель	Генотип	Взрослые		Генотип	Дети	
		основная	контроль		основная.	контроль
Ген цитохрома P-450	GG	93 %	94 %	GG	92 %	93 %
	AG	6 %	4 %	AG	8 %	7 %
	AA	1 %	2 %	AA	0 %	0 %
	G	96	96	G	96	97
	A	4	4	A	4	3
Ген CPOX 1 (копропорфирино- геноксидаза)	AA	62 %	65 %	GG	70 %	66 %
	CA	37 %	35 %	GA	27 %	33 %
	CC	1 %	0 %	AA	3 %	1 %
	A	80	83	A	83	83
	C	20	17	C	17	17
Гн SULT1A1	GG	27 %	27,3	GG	30 %	34,8
	GA	61 %	54,5	GA	59 %	39,1
	AA	12 %	18,2	AA	11 %	26,1
	G	58	65	G	59	62
	A	42	35	A	41	38
Ген VEGF	GG	55 %	52 %	GG	50 %	50 %
	GC	37 %	37 %	GC	40 %	40 %
	CC	8 %	11 %	CC	10 %	10 %
	G	73	70	G	71	70
	C	27	30	C	29	30
Ген eNOS	GG	54 %	52 %	GG	47 %	60 %
	GT	40 %	41 %	GT	44 %	34 %
	TT	16 %	7 %	TT	9 %	6 %
	G	74	74	G	69	77
	T	26	26	T	31	23

сульфатазы (SULT1A1) характеризует особенности полиморфизма как взрослых, так и детей основной группы. Полиморфизм гена фактора некроза опухоли свидетельствует о негативной селекции при наследовании и преобладании у детей как минорного аллеля, так и нежелательных вариантов генотипа. Выявлена повышенная распространенность гетерозиготного варианта патогенетических генов, отвечающих за состояние эндотелия сосудистого русла (VEGF, eNOS), и если ген эндотелиального фактора роста у родителей в основной группе не отличался от контроля, то гомозиготный вариант (ТТ) гена NO-синтазы обеспечил у потомства высокий уровень гетерозиготных отклонений.

Установленные генетические ассоциации указывают на наличие негативной генетической селекции большинства анализируемых генов, чему способствует присутствие в атмо-

сферном фоздухе формальдегида, фенола, бенз(а)пирена, так как для контрольной группы подобные ассоциации не характерны.

Выводы. Таким образом, проведенная сравнительная оценка результатов иммунодиагностики и анализа полиморфизма генов детей, экспонированных техногенными загрязнителями, с генотипами их родителей позволила выявить особенности генетического полиморфизма генов детоксикации CYP1A1, CPOX, SULT1A1, а также аллельность иммунокомпетентных генов и генов, характеризующих состояние эндотелия сосудов (VEGF и eNOS) у детей и их родителей. Представленные данные свидетельствуют о генетической фиксации у детей существующих полиморфизмов родителей и росте распространенности мутантных аллелей генов эндотелиального фактора роста и эндотелиальной NO-синтазы в условиях воздействия химических факторов риска (формальдегид, фенол, бенз(а)пирен).

Список литературы

1. Долгих О.В., Предеина Р.А., Дианова Д.Г. Экспериментальная оценка влияния фенолов на иммунорегуляцию EX VIVO // Анализ риска здоровью. – 2014. – № 1. – С. 83–87.
2. Зайцева Н.В., Дианова Д.Г., Долгих О.В. Особенности апоптоза у детей при хроническом аэрогенном воздействии фенола // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 2. – С. 56–59.
3. Измеров Н.Ф. Профессиональный отбор в медицине труда // Медицина труда и промышленная экология. – 2006. – № 3. – С. 1–5.
4. Иммунологические и генетические маркеры внешнесредовой экспозиции стронцием / К.Г. Горшкова, О.А. Бубнова, Е.Д. Маерова, О.В. Долгих // Санитарный врач. – 2014. – № 3. – С. 72–74.
5. Особенности генетического полиморфизма у женщин с угрозой невынашивания в условиях хронической аэрогенной экспозиции фенолами / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, О.А. Бубнова, В.Б. Алексеев // Анализ риска здоровью. – 2013. – № 4. – С. 77–81.
6. Патогенетические закономерности каскадного механизма развития хронических гастродуоденальных заболеваний у детей, обусловленных потреблением питьевой воды ненадлежащего качества по содержанию продуктов гиперхлорирования и марганца / О.Ю. Устинова, К.П. Лужецкий, О.А. Маклакова, М.А. Землянова, О.В. Долгих, Т.С. Уланова // Анализ риска здоровью. – 2014. – № 3. – С. 61–70.
7. Approaches to the evaluation of chemical-induced immunotoxicity / K. Krzystyniak [et al.] // Environ Health Perspect. – 1995. – Vol. 103, suppl. 9. – P. 17–22.
8. Effects of resveratrol on human immune cell function / R. Falchetti [et al.] // Life Sci. – 2001. – Vol. 70, № 1. – P. 81–96.
9. Immunotoxicology: suppressive and stimulatory effects of drugs and environmental chemicals on the immune system / E. Gleichmann [et al.] // Arch. Toxicology. – 1989. – № 63. – P. 257–273.
10. Influence of air pollution on humoral immune response / R. Stiller-Winkler [et al.] // J. Clin. Epidemiol. – 1996. – Vol. 49 (5). – P. 527–534.
11. Xenobiotic-metabolizing enzymes in human respiratory nasal mucosa / P.G. Gervasi, V. Longo, F. Naldi, G. Panattoni, F. Ursino // Biochem Pharmacol. – 1991. – Vol. 41. – P. 177–184.
12. Zaitseva N.V., Dianova D.G., Dolgykh O.V. Effects of cellular immunity in conditions of surplus supply of strontium with consumed water // European journal of natural history. – 2014. – № 1. – С. 7–8.

References

1. Dolgih O.V., Predeina R.A., Dianova D.G. Jeksperimental'naja ocenka vlijanija fenolov na immunoregulaciju EX VIVO [Experimental assessment of phenols impact on the EX VIVO immune regulation]. *Analiz riska zdorov'ju*, 2014, no 1, pp. 83–87.

2. Zajceva N.V., Dianova D.G., Dolgih O.V. Osobennosti apoptoza u detej pri hronicheskom ajerogenom vozdejstvii fenola [Peculiarities of apoptosis in children at chronic aerogenic exposure to phenol]. *Fundamental'nye issledovaniya*, 2014, no 2, pp. 56–59.
3. Izmerov N.F. Professional'nyj otbor v medicine truda [Professional selection in the occupational medicine]. N.F. Izmerov. *Medicina truda i promyshlennaja jekologija*, 2006, no 3, pp. 1–5.
4. Gorshkova K.G., Bubnova O.A., Maerova E.D., Dolgih O.V. Immunologicheskie i geneticheskie markery vneshnesredovoj jekspozicii stronciem [Immunological and genetic markers of the external environmental exposure to strontium]. *Sanitarnyj vrach*, 2014, no 3, pp. 72–74.
5. Dolgih O.V., Krivcov A.V., Bubnova O.A., Alekseev V.B. Osobennosti geneticheskogo polimorfizma u zhenshin s ugrozoy nevnashivaniya v uslovijah hronicheskoj ajerogennoj jekspozicii fenolami [Peculiarities of genetic polymorphism in women with the threat of premature delivery in the conditions of chronic aerogenic exposure to phenols]. *Analiz riska zdorov'ju*, 2013, no 4, pp. 77–81.
6. Ustinova O.Ju., Luzheckij K.P., Maklakova O.A., Zemljanova M.A., Dolgih O.V., Ulanova T.S. Patogenicheskie zakonomernosti kaskadnogo mehanizma razvitiya hronicheskikh gastroduodenal'nyh zabojevanij u detej, obuslovlennyh potreblenijem pit'evoj vody nenadlezhshhego kachestva po sodержaniju produktov giperhlorirovaniya i marganca [Pathogenetic regularities of cascade mechanism of the development of chronic gastroduodenal diseases in children stipulated by the consumption of potable water of improper quality under the content of hyperchlorination products and manganese]. *Analiz riska zdorov'ju*, 2014, no 3, pp. 61–70.
7. Approaches to the evaluation of chemical-induced immunotoxicity. K Krzystyniak [et. al.]. *Environ Health Perspect*, 1995, no 103, suppl 9, pp. 17–22.
8. Effects of resveratrol on human immune cell function. R. Falchetti [et. al.]. *Life Sci.*, 2001, vol. 70, no 1, pp. 81–96.
9. Immunotoxicology: suppressive and stimulatory effects of drugs and environmental chemicals on the immune system. E. Gleichmann [et. al.]. *Arch. Toxicology*, 1989, no 63, pp. 257–273.
10. Influence of air pollution on humoral immune response. Stiller-Winkler R [et. al.]. *J. Clin. Epidemiol.*, 1996, 49 (5), pp. 527–534.
11. Gervasi P.G., Longo V., Naldi F., Panattoni G., Ursino F. Xenobiotic-metabolizing enzymes in human respiratory nasal mucosa. *Biochem Pharmacol.*, 1991, vol. 41, pp. 177–184.
12. Zaitseva N.V., Dianova D.G., Dolgikh O.V. Effects of cellular immunity in conditions of surplus supply of strontium with consumed water. *European journal of natural history*, 2014, no 1, pp. 7–8.

CHARACTERIZATION OF THE GENOTYPES OF CHILDREN AND ADULTS RESIDING IN THE CONDITIONS EXPOSED TO THE CHEMICAL RISK FACTORS

O.V. Dolgikh^{1,2,3}, **A.V. Krivtsov**¹, **O.A. Bubnova**^{1,3}, **K.G. Starkova**¹,
V.A. Luchnikova¹, **E.A. Pirogova**¹

¹ FBFSI "Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies",
Russian Federation, Perm, 82, Monastyrskaya St., 614045,

² Perm National Research Polytechnic University, Russian Federation, Perm, 29, Komsomolsky prospekt, 614990,

³ Perm State National Research University, Russian Federation, Perm, 15, Bukireva St., 614990

We conducted the comparative assessment of the results of immune diagnostics and analysis of polymorphism of genes in children exposed to the aero-technogenic contaminants with the genotypes of their parents. We established the genetic polymorphism of detoxication genes CYP1A1, CPOX, SULT1A1 as well as the alternative allelism of genes characterizing the condition of the endothelium of vessels (VEGF and eNOS) both for children and their parents. The presented data evidence the genetic fixation of minor genotypes of parents in children exposed to the chemical risk factors.

Key words: *aerogenic external environmental load, polymorphism of genes, genetic fixation, detoxication genes, risk factors.*

© Dolgikh O.V., Krivtsov A.V., Bubnova O.A., Starkova K.G., Luchnikova V.A., Pirogova E.A., 2015

Dolgikh Oleg Vladimirovich – doctor of medical sciences, professor, head of immune-biological diagnostic methods department, professor of the human ecology and life safety department, professor of the environment protection department (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel. (342) 236-39-30).

Krivtsov Aleksandr Vladimirovich – candidate of medical science, head of immunogenetics laboratory (e-mail: krivtsov@fcrisk.ru; tel. (342) 236-39-30).

Bubnova Olga Alekseevna – junior research assistant of the immune-biological diagnostic methods department (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel. (342) 236-39-30).

Starkova Kseniya Gennadyevna – candidate of medical science, head of immunology and allergology laboratory (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel. (342) 236-39-30).

Luchnikova Viktoria Aleksandrovna – junior research assistant of the immune-biological diagnostic methods department, associate professor of the human ecology and life safety department (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel. (342) 236-39-30).

Pirogova Elena Alekseevna – junior research assistant of the immune-biological diagnostic methods department (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel. (342) 236-39-30).