

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ РИСКА

УДК 613.64: 616.717 – 057

ОЦЕНКА ПОЛИМОРФИЗМА КАНДИДАТНЫХ ГЕНОВ ДЕТЕЙ, АССОЦИИРОВАННОГО С ДЛИТЕЛЬНОЙ НИЗКОУРОВНЕВОЙ ЭКСПОЗИЦИЕЙ СТРОНЦИЕМ С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ

Н.В. Зайцева^{1,2,3}, О.В. Долгих^{1,2,3}, А.В. Кривцов¹, К.Г. Старкова¹, В.А. Лучникова¹, О.А. Бубнова^{1,3}, Е.А. Отавина¹, Н.В. Безрученко^{1,3}, Н.А. Вдовина¹

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

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

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

Проведен сиквенс кандидатных генов школьников, экспонированных стронцием, методом таргетного ресеквенирования. Показано, что в условиях повышенного поступления стронция с питьевой водой увеличивается количество полиморфно измененных участков кандидатных генов. По результатам таргетного ресеквенирования в условиях экспозиции стронцием установлены максимальные полиморфные модификации следующих генов: сульфотрансферазы 1A1 (SULT1A1) и метилентетрагидрофолатредуктазы. Показано, что структура мутаций в условиях экспозиции стронцием характеризуется формированием дефектов в области картирования генов детоксикации (38,5 % от всех мутаций) и иммунорегуляции (22,5 %). Анализ причинно-следственных связей в системе «фактор–число мутаций» позволил установить, что кандидатными генами, отражающими условия экспозиции стронцием, содержащимся в питьевой воде на уровне 1,3 ПДК, являются гены: цитохрома р450, глутатион-трансаминазы (детоксикация); дофамина (ЦНС), интерлейкина-17 и главного комплекса гистосовместимости (иммунная система), метилентетрагидрофолатредуктазы (репродукция).

Ключевые слова: секвенирование, стронций, кандидатные гены, полиморфизм генов, гены детоксикации.

© Зайцева Н.В., Долгих О.В., Кривцов А.В., Старкова К.Г., Лучникова В.А., Бубнова О.А., Отавина Е.А., Безрученко Н.В., Вдовина Н.А., 2015

Зайцева Нина Владимировна – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор (e-mail: root@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 237-25-34).

Долгих Олег Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом иммунобиологических методов диагностики, профессор кафедры окружающей среды, профессор кафедры экологии человека и безопасности жизнедеятельности (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30).

Кривцов Александр Владимирович – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией иммуногенетики (e-mail: krivtsov@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30).

Старкова Ксения Геннадьевна – кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией иммунологии и алергологии (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30).

Лучникова Виктория Александровна – младший научный сотрудник отдела иммунобиологических методов диагностики (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30).

Бубнова Ольга Алексеевна – младший научный сотрудник отдела иммунобиологических методов диагностики (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30).

Отавина Елена Алексеевна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных методов диагностики (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30).

Безрученко Надежда Владимировна – иммунолог отдела иммунобиологических методов диагностики, студентка магистратуры биологического факультета (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30).

Вдовина Надежда Алексеевна – младший научный сотрудник отдела иммунобиологических методов диагностики (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30).

Генетическое тестирование методом ПЦР на индивидуальном уровне дает только качественные результаты, требующие дополнительного тестирования функциональной активности исследованных генов [6, 15, 16]. Многосредовая комбинированная экспозиция химическими мутагенами (бенз(а)пирен, бензол, формальдегид, хлороформ, фенолы, ванадий, стронций и др.) ведет к возникновению генетических и эпигенетических нарушений, которые для своей идентификации требуют более тонких и развернутых молекулярных исследований [2, 3, 4, 7, 8, 10–14]. Стабильный стронций входит в перечень химических веществ, обладающих иммуотропной и мутагенной активностью (токсикологические профайлы Агентства по регистрации токсичных веществ и заболеваний США (ATSDR), 2004, 2008). Ионы стронция близки ионам кальция и могут замещать последние в организме, что является основным типом действия соединений этого элемента [1, 13, 17, 18, 20, 21]. Для подтверждения реализации особенностей генетического полиморфизма требуется количественное тестирование геномных или эпигеномных нарушений, что позволяет методология сиквенса гена или его участков (рисунок) или оценка экспрессии генов [19, 22–25].

Одной из сложных задач изучения генетического полиморфизма является выявление числа замен в генах, отвечающих за механизмы восприятия сигналов в иммунной и эндокринной системах, так как для их изучения невозможно использование рутинных методов генотипирования, применяемых для выявления единичных однонуклеотидных замен (SNP) [5, 26, 27]. Одним из таких методов является метод таргетного секвенирования с использованием жидких биочипов.

В то же время для обнаружения гетерогенности популяции и выявления направления изменения генетического материала под воздействием естественных и антропогенных факторов среды обитания необходим маркер, имеющий помимо качественных характеристик количественное выражение [9]. Одним из таких маркеров является количество единичных однонуклеотидных замен (транзиций, трансверсий), для идентификации которых, особенно в условиях мутагенного воздействия факторов среды обитания, требуется использование высокоточного и современного оборудования для генотипирования.

Материалы и методы. Впервые в Пермском крае проведена расшифровка структуры 27 генов человека с использованием метода

таргетного ресеквенирования. Исследование включало расшифровку значимых полиморфизмов экзонов и регуляторных областей. При выполнении генетического диагностического обследования проведено секвенирование ДНК 6 детей в возрасте от 7 до 9 лет, постоянно проживающих в геохимической зоне, характеризующейся повышенным содержанием стронция в питьевой воде из подземных водоемков. Метод секвенирования позволил одновременно генотипировать ДНК по всем изучаемым генам. Библиотека зондов была подготовлена заранее по 27 интересующим нас генам и включала в себе около 2 млн олигонуклеотидных зондов, комплементарных интересующим нас областям. Проведено изучение полиморфизма генов CYP1A2, IL17F, IL17D, IL17C, IL17B, TLR4, TERT, FAS, FOXP3, TP53, HLADRB1, MTHFR, GSTA, SULT1A1, NR3C1, VEGF, ZMPSTE, ESR1, ANKK1.

Технология выполнения секвенирования включала в себя несколько этапов: выделение ДНК человека из биологического материала (кровь), создание библиотеки ДНК; этапы амплификации библиотеки ДНК и гибридной ДНК; проведение эмульсионной ПЦР; постановка секвенирования на приборе GS Junior (Швейцария) методом таргетного ресеквенирования на жидких биочипах.

Для выделения кандидатных генов осуществлен анализ и ранжирование полиморфности генов исходя из их функциональной принадлежности: гены иммунорегуляции, гены обмена веществ, гены детоксикации и соматические гены, представляющие преимущественно медиаторы нервной системы.

Результаты и их обсуждение. У шести исследованных пациентов с различным содержанием в крови и моче стронция выявлены полиморфизмы кандидатных генов методом таргетного секвенирования (таблица).

Максимальное число полиморфно измененных участков генов обнаружено в группе генов детоксикации, причем наибольший полиморфизм свойственен сульфотрансферазе 1A1 (SULT1A1) и метилентетрагидрофолатредуктазе, а наиболее консервативными из этой функциональной системы оказались супероксиддисмутаза (SOD) и копропорфириногеноксидаза (CPOX).

Менее полиморфно изменены гены систем иммунной и нервной регуляции. При этом наибольшему полиморфизму из этой системы подвержен HLADRB1, что объяснимо с позиций

Результаты секвенирования по группам кандидатных генов

Функциональные группы генов	Ген	Количество полиморфизмов в сравнении с референсной последовательностью					
		1 п	2 п	3 п	4 п	5 п	6 п
Стронций в моче, мг/дм ³	–	4,549	0,978	1,068	1,739	1,494	2,993
Стронций в крови, мг/ дм ³	–	0,129	0,0574	0,0704	0,266	0,166	0,258
Гены детоксикации	MTHFR	13	13	13	14	23	23
	ZMPSTE24	4	3	3	4	1	4
	CPOX	1	8	7	8	8	10
	GSTA4	11	12	9	15	11	15
	SOD	4	0	6	2	0	6
	CYP1A2	5	3	3	4	3	4
	SULT1A1	41	33	37	10	39	37
	7 генов	79	72	78	57	85	99
Гены иммунорегуляции и пролиферации	IL17B	0	2	0	2	1	1
	IL17C	3	3	2	3	4	2
	IL17D	3	1	2	1	1	1
	IL17F	0	0	0	0	0	1
	VEGFA	2	4	3	2	8	5
	HLADRB1	45	19	6	0	15	10
	TLR4	0	1	1	1	2	2
	FAS	0	4	8	5	7	9
	TP53	7	7	6	6	7	6
	FOXP3	3	3	4	0	2	2
10 генов	63	44	32	20	47	39	
Гены обмена веществ	ACE	4	28	24	22	21	25
	APOE	3	3	3	2	2	5
	SIRT3	9	12	8	12	8	1
	PPARD	4	6	4	5	5	1
	NOS3	19	14	12	14	12	14
	TERT	9	5	14	3	6	5
	6 генов	48	68	65	58	54	51
Соматические гены	ACTA2	1	1	1	2	0	0
	CLCN6	0	1	0	0	1	1
	TH	17	16	15	8	16	18
	DRD2	19	12	16	14	19	20
	4 гена	37	30	32	24	36	39

регуляции иммунного ответа, многие же гены иммунного ответа и онкогенеза достаточно консервативны.

Структура мутаций в условиях экспозиции стронцием (1,3 ПДК) характеризуется формированием дефектов в области картирования генов детоксикации (38,5 % от всех мутаций) и иммунорегуляции (22,5 %).

Отмечается достоверная зависимость числа полиморфно измененных участков генов от содержания в крови стронция (рисунок).

Наблюдались сильные прямые достоверные зависимости содержания стронция в крови и числа замен в генах MTHFR, GSTA4, HLADRB1, CYP1A2, DRD2, IL17D.

Анализ общего количества точечных замен позволил определить среднее количество мутаций на одного человека по 25 кандидатным генам, которое составило 210 замен. Тогда как среднее количество замен в экспонируемой груп-

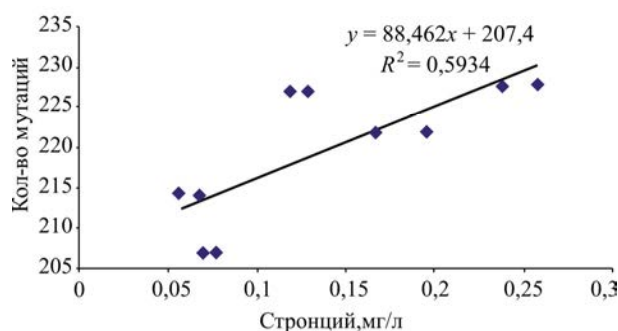


Рис. Зависимость числа полиморфно измененных участков генов от содержания стронция в крови

пе составило 226, что на 7,1 % выше, чем в аналогичной популяции, проживающей вне стронциевой эндемии.

Проведенный анализ ассоциаций в системе «ген–рецептор» с использованием метода таргетного ресеквенирования, проточной цитометрии и иммунофлюоресцентного анализа позво-

лил оценить взаимосвязи между генами и кодируемыми ими белками. Зависимости строились между величинами точечных замен в конкретном гене и значением белка, кодируемого данным геном, установленного детекцией на флюоресцентном анализаторе. Выявлены сильные достоверные зависимости в биологических логистических системах «ген дофамина–дофамин», «ген ИЛ17d–ИЛ-17», «ген FOXp3–CD127», «ген p53–p53». Этот факт коррелирует с биологической необходимостью поддерживать адаптационную экспрессию данных генов и белков на достаточном гомеостатическом уровне в силу их огромной регуляторной значимости. Оказались разорванными логистические взаимосвязи в системах «ген GSTA4–GSTA», «ген SOD–SOD», «ген FAS–CD95+», «ген VEGF–VEGF», что указывает на физиологическую неприемлемость условий внешней среды, изменяющей адаптационные возможности процессов конъюгации, антиоксидантной защиты, контроля процесса апоптоза и функции эндотелия.

Выводы. Использование технологии расшивки последовательностей методом таргетного ресеквенирования в условиях экспози-

ции стронцием позволило установить максимальные полиморфные варианты для генов сульфотрансферазы 1A1 (SULT1A1) и метилентетрагидрофолатредуктазы, а наиболее консервативными из этой функциональной системы оказались супероксиддисмутаза (SOD) и копропорфириногенаоксидаза (CPOX).

По результатам секвенирования и анализа причинно-следственных связей «фактор–число мутаций» установлено, что кандидатными генами, отражающими условия экспозиции стронцием, содержащимся в питьевой воде на уровне 1,3 ПДК, являются гены: цитохрома р450, глутатион-трансаминазы (**детоксикация**); дофамина (**ЦНС**), интерлейкина-17 и главного комплекса гистосовместимости (**иммунная система**), метилентетрагидрофолатредуктазы (**репродукция**).

Фенотипирование генетически подтвержденных мутаций позволило установить, что условия экспозиции стронцием (1,3 ПДК) достоверно реализуют полиморфизмы генов: дофамина (медиатор ЦНС), интерлейкина-17 и регуляторных Т-лимфоцитов (иммунная система), транскрипционного фактора 53 (онкосупрессор).

Список литературы

1. Венгеровский А.И., Хлусов И.А., Нечаев К.А. Молекулярные механизмы действия бисфосфонатов и стронция ранелата // Экспер. и клин. фармак. – 2014. – Т. 77 (9). – С. 43–46.
2. Зайцева Н.В., Долгих О.В. Особенности клеточного звена иммунитета у детей в условиях внешне-средовой экспозиции толуолом, формальдегидом, фенолом // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т. 14, № 5 (2). – С. 341–343.
3. Зайцева Н.В., Май И.В. К вопросу установления и доказательства вреда здоровью населения при выявлении неприемлемого риска, обусловленного факторами среды обитания // Анализ риска здоровью. – 2013. – № 2. – С. 14–27.
4. Иммунные и ДНК-маркеры воздействия техногенной нагрузки / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, Р.А. Харахорина, Д.В. Ланин // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2012. – № 4. – С. 240–241.
5. Иммунологические и генетические маркеры воздействия ароматических углеводов на работающих / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, А.М. Гугович, Р.А. Харахорина, Д.В. Ланин, Т.С. Лыхина, М.А. Сафонова // Медицина труда и промышленная экология. – 2012. – № 12. – С. 30–33.
6. 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.
7. Куценко С.А. Основы токсикологии. – СПб.: Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, 2002. – 395 с.
8. Ланин Д.В. Анализ корегуляции иммунной и нейроэндокринной систем в условиях воздействия факторов риска // Анализ риска здоровью. – 2013. – № 1. – С. 73–81.
9. Полиморфизм генов белков ангиогенеза в условиях шумовой и химической техногенной экспозиции / О.В. Долгих, А.В. Кривцов, О.А. Бубнова, Е.Д. Данилова, О.О. Синицина, Р.А. Предеина, Д.Г. Дианова, Т.С. Лыхина // Здоровье населения и среда обитания. – 2013. – № 11 (248). – С. 42–44.
10. Рахманин Ю.А., Новиков С.М., Иванов С.И. Современные научные проблемы совершенствования методологии оценки риска здоровью населения // Гигиена и санитария. – 2005. – № 2. – С. 3–8.
11. Approaches to the evaluation of chemical-induced immunotoxicity / K Krzystyniak [et. al.] // Environ Health Perspect. – 1995. – Vol. 103, suppl 9. – P. 17–22.
12. Assessment of immunotoxic effects in humans / J. Descotes [et al.] // Clin. Chem. – 1995. – Vol. 41, № 12. – P. 1870–1873.

13. Caverzasio J., Thouverey C. Activation of FGF receptors is a new mechanism by which strontium ranelate induces osteoblastic cell growth // *Cell. Physiol. Biochem.* – 2011. – Vol. 27 (3–4). – P. 243–250.
14. Descotes J., Vial Th. Immunotoxic effects of xenobiotics in humans: A review of current evidence // *Toxicology in Vitro.* – 1994. – Vol. 8, № 5. – P. 963–966.
15. Molecular markers of apoptosis in industrial workers / O. Dolgikh, N. Zaitseva, D. Dianova, A. Krivtsov // *In vivo: international Journal of Experimental and Clinical Pathophysiology and Drug Research.* – 2011. – Vol. 25, № 3. – P. 523–524.
16. Dolgikh O.V., Kharakhorina R.A., Dianova D.G., Gugovich A.M. State of cell regulation in children exposed to phenols. Proceedings of the 3rd International Academic Conference «Applied and Fundamental Studies». – 2013. – C. 149–152.
17. Fromigué O., Haÿ E., Barbara A. Calcium sensing receptor-dependent and receptor-independent activation of osteoblast replication and survival by strontium ranelate // *JCMM.* – 2009. – Vol. 13 (8B). – P. 2189–2199.
18. Switching Akt: From survival signaling to deadly response / M. Los, S. Maddika, B. Erb, K. SchulzeOsthoff // *BioEssays.* – 2009. – Vol. 31 (5). – P. 492–495.
19. Mulder G.J. Metabolic Activation of Industrial Chemicals and Implications for Toxicity // *Toxicology of industrial compounds.* Taylor & Francis Ltd. UK. – 1995. – P. 37–44.
20. Strontium enhances osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and in vivo bone formation by activating Wnt/catenin signaling / F. Yang, D. Yang, J. Tu, Q. Zheng, L. Cai, L. Wang // *Stem cells.* – 2011. – doi: 10.1002/stem.646.
21. The calcium-sensing receptor is involved in strontium ranelate-induced osteoclast apoptosis. New insights into the associated signaling pathways / A.S. Hurtel-Lemaire, R. Mentaverri, A. Caudrillier, F. Cournarie, A. Wattel, S. Kamel, E.F. Terwilliger, E.M. Brown, M. Brazier // *JBC.* – 2009. – Vol. 284. – P. 575–584.
22. Van Bladeren P.J., van Ommen B. Metabolism of Reactive Chemicals // *Toxicology of industrial compounds.* Taylor & Francis Ltd. – 1995. – P. 61–72.
23. 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.
24. Yurchenko M., Shlapatska L.M., Sidorenko S.P. The multilevel regulation of CD95 signaling outcome // *Exp. oncol.* – 2012. – Vol. 34 (3). – P. 200–2011.
25. 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. – № 1. – C. 7–8.

References

1. Vengerovskij A.I., Hlusov I.A., Nechaev K.A. Molekuljarnye mehanizmy dejstvija bisfosfonatov i stroncija ranelata [Molecular mechanisms of bisphosphonates' and strontium ranelate's action]. *Jekcpep. i klin. Fapmak*, 2014, vol. 77 (9), pp. 43–46. (in Russian).
2. Zaitseva N.V., Dolgikh O.V. Osobennosti kletochnogo zvena immuniteta u detej v uslovijah vneshnesredovoj jekspozicii toluolom, formal'degidom, fenolom [Features of children's cellular immunity in conditions of environmental exposure by toluene, formaldehyde, phenol]. *Izvestija Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk*, 2012, vol. 14, no. 5 (2), pp. 341–343. (in Russian).
3. Zaitseva N.V., May I.V. K voprosu ustanovlenija i dokazatel'stva vreda zdorov'ju naselenija pri vyjavlenii nepriemlemogo riska, obuslovlennogo faktorami sredy obitanija. [On the issue of establishing and evidence of harm dealt to public health by identifying unacceptable risk caused by environmental factors]. *Analiz riska zdorov'ju*, 2013, no. 2, pp. 14–27. (in Russian).
4. Dolgikh O.V. [et al.]. Immunnye i DNK-markery vozdejstvija tehnogennoj nagruzki [Immune and DNA markers of the anthropogenic load's impact]. *Vestnik Ural'skoj medicinskoj akademicheskoj nauki*, 2012, no. 4, pp. 240–241. (in Russian).
5. Dolgikh O.V., Krivcov A.V., Gugovich A.M., Harahorina R.A., Lanin D.V., Lyhina T.S., Safonova M.A. [Immunological and genetic markers of aromatic hydrocarbons' exposure to the workers]. *Medicina truda i promyshlennaja jekologija*, 2012, no. 12, pp. 30–33. (in Russian).
6. Gorshkova K.G., Bubnova O.A., Maerova E.D., Dolgikh O.V. Immunologicheskie i geneticheskie markery vneshnesredovoj jekspozicii stronciem [Immunological and genetic markers of environmental exposure to strontium]. *Sanitarnyj vrach*, 2014, no. 3, pp. 72–74. (in Russian).
7. Kucenko S. A. Osnovy toksikologii [Bases of toxicology]. St. Petersburg.: Voenno-medicinskaja akademija im. S.M. Kirova, 2002, 395 p. (in Russian).
8. Lanin D.V. Analiz koreguljaccii immunnoj i nejroendokrinnnoj sistem v uslovijah vozdejstvija faktorov riska [Analysis of the immune and neuroendocrine systems' regulation in terms of exposure to risk factors]. *Analiz riska zdorov'ju*, 2013, no. 1, pp. 73–81. (in Russian).

9. Dolgikh O.V., Krivcov A.V., Bubnova O.A., Danilova E.D., Sinicina O.O., Predeina R.A., Dianova D.G., Lyhina T.S. Polimorfizm genov belkov angiogeneza v uslovijah shumovoj i himicheskoj tehnogennoj jekspozicii [Gene polymorphism of angiogenesis protein in conditions of noise and chemical anthropogenic exposition]. *Zdorov'e naselenija i sreda obitanija*, 2013, no. 11 (248), pp. 42–44. (in Russian).

10. Rahmanin Ju.A., Novikov S.M., Ivanov S.I. Sovremennye nauchnye problemy sovershenstvovanija metodologii ocenki riska zdorov'ju naselenija [Modern scientific problems of improving the methodology for assessing the risk to human health]. *Gigiena i sanitarija*, 2005, no. 2, pp. 3–8. (in Russian).

11. Krzystyniak K. [et al.]. Approaches to the evaluation of chemical-induced immunotoxicity. *Environ Health Perspect*, 1995, vol. 103, suppl 9, pp. 17–22.

12. Descotes J. [et al.]. Assessment of immunotoxic effects in humans. *Clin. Chem*, 1995, vol. 41, no. 12, pp. 1870–1873.

13. Caverzasio J., Thouverey C. Activation of FGF receptors is a new mechanism by which strontium ranelate induces osteoblastic cell growth. *Cell. Physiol. Biochem*, 2011, vol. 27 (3–4), pp. 243–250.

14. Descotes J., Vial Th. Immunotoxic effects of xenobiotics in humans: A review of current evidence. *Toxicology in Vitro*, 1994, vol. 8, no. 5, pp. 963–966.

15. Dolgikh O.V., Zaitseva N., Dianova D., Krivtsov A. Molecular markers of apoptosis in industrial workers. In vivo: *international Journal of Experimental and Clinical Pathophysiology and Drug Research*, 2011, vol. 25, no. 3, pp. 523–524.

16. Dolgikh O.V., Kharakhorina R.A., Dianova D.G., Gugovich A.M. State of cell regulation in children exposed to phenols. Proceedings of the 3rd International Academic Conference «Applied and Fundamental Studies», 2013, pp. 149–152.

17. Fromigué O., Haÿ E., Barbara A. Calcium sensing receptor-dependent and receptor-independent activation of osteoblast replication and survival by strontium ranelate. *JCMM*, 2009, vol. 13 (8B), pp. 2189–2199.

18. Los M., Maddika S., Erb B., SchulzeOsthoff K. Switching Akt: From survival signaling to deadly response. *BioEssays*, 2009, vol. 31 (5), pp. 492–495.

19. Mulder G.J. Metabolic Activation of Industrial Chemicals and Implications for Toxicity. Toxicology of industrial compounds. *Taylor & Francis Ltd.*, 1995, pp. 37–44.

20. Yang F., Yang D., Tu J., Zheng Q., Cai L., Wang L. Strontium enhances osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and in vivo bone formation by activating Wnt/catenin signaling. *Stem cells*, 2011, doi: 10.1002/stem.646.

21. Hurtel-Lemaire A.S., Mentaverri R., Caudrillier A., Cournaire F., Wattel A., Kamel S., Terwilliger E.F., Brown E.M., Brazier M. The calcium-sensing receptor is involved in strontium ranelate-induced osteoclast apoptosis. New insights into the associated signaling pathways. *JBC*, 2009, vol. 284, pp. 575–584.

22. Van Bladeren P.J., van Ommen B. Metabolism of Reactive Chemicals. Toxicology of industrial compounds. *Taylor & Francis Ltd.*, 1995, pp. 61–72.

23. 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.

24. Yurchenko M., Shlapatska L.M., Sidorenko S.P. The multilevel regulation of CD95 signaling outcome. *Exp. Oncol*, 2012, vol. 34 (3), pp. 200–211.

25. 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.

POLYMORPHISM'S ASSESSMENT OF CHILDREN'S CANDIDATE GENES ASSOCIATED WITH LOW-LEVEL LONG-TERM EXPOSURE TO STRONTIUM IN DRINKING WATER

N.V. Zaitseva^{1,2,3}, O.V. Dolgikh^{1,2,3}, A.V. Krivtsov¹, K.G. Starkova¹, V.A. Luchnikova¹, O.A. Bubnov^{1,3}, E.A. Otavina¹, N.V. Bezruchenko^{1,3}, N.A. Vdovina¹

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

² FSBEI "Perm State National Research Polytechnical University", Russian Federation, Perm, 29 Komsomolsky Prospect St., 614990

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

A sequencing of the candidate genes of the pupils, exposed to strontium by the method of targeted resequencing has been performed. It is shown, that under conditions of increased revenues of strontium in drinking water the number of polymorphonuclear altered portions of candidate genes increases. As a result of the targeted resequencing in conditions of strontium exposure, the maximum polymorph modifications of the following genes are defined: sulfotransferase 1A1 (SULT1A1) and methylenetetrahydrofolate. It was shown that the structure of the mutations in conditions of the strontium exposure was characterized by the formation of defects in the gene mapping detoxification (38.5 % of all mutations) and immunoregulation (22.5 %). Analysis of the cause-effect relationships in the system "factor - the number of mutations" revealed that candidate genes reflecting strontium exposure conditions (content of strontium in drinking water is 1.3 MAC), are genes: cytochrome P450, glutathione - transaminase (detoxification); dopamine (CNS), interleukin 17 and the major histocompatibility complex (immune system), methylene-tetra-hydro-folate-reductase (reproduction).

Key words: sequencing, strontium, candidate genes, gene polymorphism, detoxification genes.

© Zaitseva N.V., Dolgikh O.V., Krivtsov A.V., Starkova K.G., Luchnikova V.A., Bubnov O.A., Otavina E.A., Bezruchenko N.V., Vdovina N.A., 2015

Zaitseva Nina Vladimirovna – Professor, DSc in Medicine, Fellow of the Russian Academy of Medical Sciences, Director (e-mail: root@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 237-25-34).

Dolgikh Oleg Vladimirovich – Professor, DSc in Medicine, Head of the Department of Immunobiological Diagnostics, professor of environmental, Professor of Human Ecology and Safety (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30).

Krivtsov Alexander Vladimirovich – PhD in Medicine, Head of the Immunogenetics Laboratory (e-mail: krivtsov@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30).

Starkova Ksenia Gennadievna – PhD in medicine, Head of the Laboratory of Immunology and Allergy (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30).

Luchnikova Victoria Alexandrovna – Junior Researcher at the Department of immunobiological diagnostic methods (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30).

Bubnova Olga Alekseevna – PhD in Medicine, Junior Researcher, the Immunogenetics Laboratory (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30).

Otavina Elena Alekseevna – Junior Researcher of the Laboratory of cell diagnostic methods (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30).

Bezruchenko Nadezhda Vladimirovna – immunologist of the department of immunobiological diagnostic methods, the student of the Magistracy of biological faculty (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30).

Vdovina Nadezhda Alekseevna – Junior Researcher at the Department of immunobiological diagnostic methods (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30).