

ПОЛИМОРФНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ СИСТЕМЫ ДЕТОКСИКАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ CYP2E1, GSTM1, GSTT1, EPHX1 КАК БИОМАРКЕРЫ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ЭКСПОЗИЦИИ ПОБОЧНЫМИ ПРОДУКТАМИ ВОДОПОДГОТОВКИ (НА ПРИМЕРЕ ХЛОРОФОРМА)

Е.В. Дроздова¹, Е.В. Колеснева¹, В.Э. Сяхович², Н.А. Долгина¹

¹Научно-практический центр гигиены, Республика Беларусь, 220012, г. Минск, ул. Академическая, 8

²Национальная антидопинговая лаборатория, Республика Беларусь, 223040, Минский район, аг. Лесной, 31

Установлено, что накопление хлороформа в организме и повышение его равновесных концентраций в крови экспонированного населения ассоциировано с наличием в генотипе полиморфизмов генов ферментов, участвующих в метаболизме побочных продуктов дезинфекции воды (A415G гена EPHX1, C1091T гена CYP2E1, нулевых мутаций генов глутатионтрансферазы GSTT1 и GSTM1) ($p < 0,000001$). Наличие в генотипе указанных полиморфизмов генов коррелирует с более высоким уровнем содержания хлороформа в крови населения, использующего хлорированную воду: для полиморфизма гена GSTM1 на 43,8 % и выше, GSTT1 – на 68,2 % и выше, EPHX1 – на 80,4 % и выше ($p < 0,01$). Наличие полиморфизма гена EPHX1 существенно повышает вероятность накопления хлороформа (концентрации в крови $\geq P75$), что наиболее выражено в сочетании с полиморфизмом гена GSTT1.

Полученные результаты позволяют рассматривать гетеро- и гомозиготные полиморфные генотипы AG/GG по гену EPHX1, CT/TT по гену CYP2E1, а также наличие нулевого аллеля в генах GSTT1 и GSTM1 как факторов генетической предрасположенности к накоплению хлороформа в организме, что способствует повышению вероятности реализации рисков здоровью, ассоциированных с хроническим воздействием данного побочного продукта дезинфекции. В качестве наиболее информативных биомаркеров чувствительности при оценке рисков, ассоциированных с воздействием тригалометанов (хлороформа) на уровнях, не превышающих ПДК в воде, предлагается использовать полиморфизм A415G гена EPHX1 и делецию гена GSTT1, их комбинации, в том числе в сочетании с делецией гена GSTM1 и / или полиморфизмом C1091T гена CYP2E1.

Ключевые слова: гены CYP2E1, GSTM1, GSTT1, EPHX1, продукты дезинфекции воды, питьевая вода, полиморфизм генов, биомониторинг, оценка риска здоровью, биомаркеры чувствительности.

Обеззараживание воды является неотъемлемым этапом водоподготовки, который позволяет обеспечить подачу населению безопасной в эпидемиологическом отношении питьевой воды, что особенно актуально для менее защищенных от внешних воздействий поверхностных источников водоснабжения. В то же время применение реагентных методов обеззараживания воды сопровождается образованием в воде до 400 побочных продуктов дезинфекции (далее – ППД), ряд которых обладает отдаленными эффектами воздействия. Композиционный состав и уровни содержания ППД в обработанной питьевой воде существенно варьируются в зависимости от содержания в исходной воде природных органиче-

ских веществ и применяемого способа обеззараживания [1, 2]. При наиболее широко используемых в централизованных системах водоснабжения способах хлорирования индикаторными ППД являются тригалометаны – хлороформ, дихлорбромметан, хлордибромметан и бромформ. Являясь летучими органическими соединениями, они поступают из воды не только перорально, но и ингаляционным и кожно-резорбтивным путями, которые при высокой интенсивности хозяйственно-бытового водопользования (прием душа, ванной, купание детей, уборка, стирка и др.) вносят существенный вклад в формирование суммарной суточной нагрузки ППД [3–5]. Несмотря на присутствие данных веществ в воде

© Дроздова Е.В., Колеснева Е.В., Сяхович В.Э., Долгина Н.А., 2023

Дроздова Елена Валентиновна – кандидат медицинских наук, доцент, заместитель директора по научной работе (e-mail: drozdovaev@mail.ru; тел.: 8 (017) 370-50-15; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3032-0895>).

Колеснёва Екатерина Владимировна – старший научный сотрудник (e-mail: kolesneva_kate@mail.ru; тел. +375-17-388-48-22; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1605-4786>).

Сяхович Виталий Эдуардович – заведующий научно-исследовательской лабораторией (e-mail: rlab.head@antidoping.by; тел.: +375-17-265-58-88; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2558-6824>).

Долгина Наталья Алексеевна – научный сотрудник (e-mail: dlginan@rambler.ru; тел. +375-17-351-23-84; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4012-2507>).

в относительно низких и следовых концентрациях, их одновременное воздействие определяет риски здоровью населения при водопользовании, особенно при длительном поступлении [1–11]. Использование воды, содержащей смесь тригалометанов, повышает риски развития нарушений течения беременности у женщин (задержка внутриутробного развития плода, снижение массы тела новорожденных, преждевременные роды, врожденные дефекты развития плода) [1, 6]. По степени доказанности канцерогенного действия на человека хлороформ, бромформ и дихлорбромметан Международным агентством по изучению рака (МАИР) отнесены к группе 2В (возможный канцероген для человека) на основании доказательств в экспериментах на животных [1, 2, 7–9]. Эпидемиологические исследования показали связь между воздействием тригалометанов и раком мочевого пузыря, раком прямой кишки [1, 10, 11]. Учитывая новые данные об опасности тригалометанов, на международном уровне наметилась тенденция к ужесточению нормативов для содержания данной группы ППД в питьевой воде. Однако пересмотр национальных нормативов требует формирования надежной доказательной базы с учетом условий водопользования в республике и особенностей чувствительности популяции к экзогенным загрязнителям, что может быть достигнуто за счет применения ряда методических подходов [12].

Из-за сложного химического состава смесей ППД и множественных путей поступления оценка фактического воздействия тригалометанов на организм человека является очень сложной задачей. Повышение точности и объективности количественной оценки рисков здоровью населения идет в том числе по пути применения данных о внутренней экспозиции – содержании загрязнителей (их метаболитов) во внутренних средах организма вещества [13–16]. Доказано, что уровни содержания хлороформа в крови могут расцениваться как биомаркеры экспозиции тригалометанами с водой. Концентрация хлороформа в крови повышается сразу после сеанса душа / ванной, мытья посуды вручную, употребления приготовленных на водопроводной воде горячих напитков (наибольшие уровни отмечаются после душа / ванной) и быстро снижается [17–20]. Однако и через 8 ч в крови можно обнаружить незначительные количества хлороформа. Постепенное его высвобождение из депо в жировой ткани при интенсивном воздействии (частый прием душа или ванной и т.д.) приводит к формированию «установившихся» концентраций хлороформа в крови (*steady-state level*). Исследование образца крови без привязки к факту водопользования позволяет установить эти концентрации и более точно оценить внутреннюю экспозицию для последующей оценки рисков здоровью [21].

В то же время, помимо интенсивности воздействия и массы тела, на уровни содержания тригалометанов в крови человека влияет комплекс факто-

ров, важнейшим из которых является активность системы детоксикации ксенобиотиков. Межиндивидуальные различия в способности к биотрансформации ксенобиотиков (их метаболитов) могут быть обусловлены полиморфизмом генов, кодирующих как сами ферменты, так и рецепторы и / или факторы транскрипции, регулирующие их экспрессию. Кроме того, полиморфизмы в нескольких областях генов могут привести к изменению сродства к лиганду, активности трансактивации или уровня экспрессии рецептора, что впоследствии влияет на экспрессию генов-мишеней [22–24]. Как следствие, замедление выведения токсичных веществ и / или увеличение образования токсичных метаболитов, их накопление в организме повышают вероятность реализации негативных биологических эффектов и, соответственно, развития экологически детерминированных хронических неинфекционных заболеваний. Таким образом, наличие в генотипе полиморфизмов генов системы детоксикации ксенобиотиков может быть основой различий в индивидуальной восприимчивости к воздействию химических факторов окружающей среды, а аномальные аллели генов (полиморфизмы) ферментов, принимающих участие в метаболизме ксенобиотиков, являясь предикторами риска развития указанных выше заболеваний, могут использоваться как маркеры чувствительности организма к воздействию токсикантов [24–27].

Цитохром P450 2E1 (CYP2E1) – основной фермент, катализирующий процесс детоксикации тригалометанов в организме людей и крыс. Относительная значимость второстепенных путей метаболизма продуктов деструкции – фосгена – зависит от наличия глутатиона, других тиолов и других нуклеофильных соединений (гистидин и цистеин). Восстановленный глутатион способен элиминировать практически все метаболиты хлороформа, образующиеся при не слишком высоких концентрациях хлороформа. Баланс между окислительным и восстановительным путями детоксикации тригалометанов (и хлороформа в частности) зависит от вещества, ткани, дозы и выраженности окислительного стресса. Для гена CYP2E1 наиболее часто рассматриваются тесно сцепленные полиморфизмы по рестрикционным эндонуклеазам PstI/RsaI, при которых мутантный аллель способствует повышенной транскрипционной и ферментативной активности. Частота встречаемости этого аллеля отличается в разных популяциях: у азиатов 6 % жителей являются носителями гомозиготного аллеля, 35 % – гетерозиготны, тогда как среди европейцев гетерозиготами является менее 6 % индивидуумов.

Полиморфизм локализованного в хромосоме 1 гена GSTM1 (глутатион-S-трансфераза класса μ) обусловлен наличием двух аллелей: функционально активного GSTM(+) и неактивного «нулевого» GSTM(-), имеющего обширную делецию, из-за чего синтез белкового продукта не происходит вообще.

Локализованный на хромосоме 22 ген GSTT1 (глутатион-S-трансфераза (GST) тета-1) также представлен двумя аллелями: функционально активным GSTT1(+) и неактивным «нулевым» GSTT1(-), соответствующим частичной или полной делеции, приводящей к снижению активности белка или к его отсутствию. Зарубежными учеными L.C. Backer et al. (2008) было установлено, что участники исследования с GSTT1(-) имели более высокий уровень хлороформа в крови после душа, чем GSTT1(+)-участники [20]. Исследование Kenneth P. Cantor et al. (2010) подтвердило гипотезу о связи рака мочевого пузыря у человека с генетическим полиморфизмом GSTM1, GSTZ1 [28]. В ряде статей приводятся доказательства задержки роста плода при наличии у матерей генетических полиморфизмов генов: CYP2E1, MTHFR [29], CYP2E1 и GSTZ1 [30], CYP2E1 [31]. В кросс-секционном исследовании P. Yang et al. (2016) показана связь между качеством спермы у мужского населения одной из территорий в условиях экспозиции ТГМ с водой и наличием полиморфизмов генов CYP2E1 и GSTZ1 и GSTT1 [32]. Распространенность нулевых генотипов GSTM1(-) и GSTT1(-) среди лиц европеоидной расы – 40–50 и 10–20 % соответственно [33].

Для гена микросомальной эпоксидгидролазы, являющейся важным компонентом процессов метаболизма чужеродных соединений (EPHX1), известны два функционально значимых полиморфизма, приводящие к изменению свойств фермента: в 3-м экзоне (T337C – замена тирозина на гистидин в 113-м положении (Tyr113His)) и в 4-м экзоне (A415G – замена гистидина на аргинин в 139-м положении (His139Arg)). Полиморфизм T337C отвечает за снижение активности фермента на 50 % («медленный» аллель), а полиморфизм A415G – за повышение активности примерно на 25 % («быстрый» аллель). Ускоренное превращение производных эпоксидов в высокоактивные метаболиты приводит к повреждению ДНК, что способствует увеличению количества хромосомных aberrаций и является одной из причин развития ряда патологий.

В Республике Беларусь исследования уровней ТГМ в крови населения на территориях с водоснабжением из поверхностных источников, а также влияния генетической вариабельности популяции на их формирование до настоящего времени не проводились. Рабочая гипотеза нашего исследования состояла в том, что наличие в генотипе полиморфизмов генов системы детоксикации ксенобиотиков, принимающих участие в метаболизме хлороформа, может иметь следствием формирование потенциально более высоких уровней его содержания в биологических средах экспонированного населения при длительном воздействии, что обуславливает в конечном счете более высокую вероятность реализации рисков, ассоциированных с неблагоприятным воздействием побочных продуктов дезинфекции на организм.

Цель исследования – изучить влияние полиморфизма генов ферментов CYP2E1, GSTM1, GSTT1, EPHX1 на метаболизм побочных продуктов дезинфекции и обосновать биомаркеры индивидуальной чувствительности экспонированного населения к воздействию тригалометанов (на примере хлороформа).

Материалы и методы. В рамках работы были сформированы две группы добровольцев из числа населения г. Минска: группа наблюдения – экспонированное население, проживающее в Московском и Фрунзенском районах, снабжаемых водой из поверхностного источника, прошедшей дезинфекцию хлорированием (150 человек); контрольная группа (группа сравнения) – неэкспонированное население, проживающее в Первомайском районе, снабжаемом водой из подземных источников без применения хлорирования (47 человек). Группы были сопоставимы по возрасту (18–40 лет) и полу.

Содержание хлороформа в водопроводной воде на территории наблюдения в период, предшествующий исследованию, и во время исследования было в пределах нормативных требований – от 0,49 до 0,52 ПДК (ПДК $\leq 0,2$ мг/дм³). На территории сравнения хлороформ в воде разводящей сети в пределах чувствительности метода не определялся ($< 0,0125$ мг/дм³). Определение хлороформа в воде проводили методом газовой хроматографии (LOD для хлороформа 0,0125 мг/дм³).

Проведен забор периферической крови у добровольцев на базе поликлинических медицинских учреждений г. Минска в весенний период в утренние часы. Все стадии исследования соответствовали этическим нормам, у всех участников исследования было получено информированное согласие на участие в исследованиях, а также проведено анкетирование по индивидуальному водопользованию.

В качестве биомаркеров экспозиции во всех образцах крови определяли концентрации хлороформа. Исследование проводилось на базе учреждения здравоохранения «Национальная антидопинговая лаборатория» методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии низкого разрешения, разработанным в рамках настоящего задания (СОП LM 174-2020 «Метод определения тригалометанов (хлороформа) в биологических средах»), на газовом хроматографе AGILENT 7890 с масс-спектрометрическим детектором типа «тройной квадруполь» AGILENT 7000 (Thermo Fisher Scientific, США) [34].

Также генотипы всех добровольцев были исследованы на наличие полиморфизмов A415G гена EPHX1, C1091T гена CYP2E1 и нулевых мутаций генов глутатион S-трансферазы класса μ и θ (GSTT1(-) и GSTM1(-)). Выбор генов-кандидатов для исследования основывался на особенностях метаболизма тригалометанов (хлороформа) в организме. Генотипирование проводилось на базе Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены». ДНК выделяли из

образцов крови с помощью коммерческого набора для выделения ДНК «Нуклеосорб», комплектация «В» производства ОДО «Праймтех» (Беларусь) согласно протоколу фирмы-изготовителя. Для установления генотипов по целевым локусам применяли метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с использованием прибора «С1000» (BioRad, США). Полученные результаты в последующем анализировались с применением соответствующего программного обеспечения. Информация о характеристиках полиморфизмов, локализации анализируемых генов и используемых ферментах рестрикции приведена в табл. 1.

Статистический анализ. Различия в распределении частот генотипов и аллелей среди лиц из группы наблюдения и лиц в группе сравнения анализировались с помощью критерия χ^2 . Характер распределения наблюдаемых частот генотипов и аллелей генов в популяции оценивали на соответствие уравнению Харди – Вайнберга. Качественные показатели представлены в виде абсолютного значения и доли. При описании количественных признаков (содержание хлороформа в крови) использовались общепринятые показатели: *max* – максимальные значения, *min* – минимальные значения; *Me* – медиана, значения верхнего и нижнего квартилей (интерквартильный размах) – [P25; P75], 10, 90-го и 95-го перцентилей (P10, P90, P95), доверительный интервал – 95 % ДИ. При анализе количественных данных использовались методы статистической обработки с учетом вида распределения данных: при сравнении несвязанных выборок по изучаемому признаку применялся *t*-тест для независимых выборок, *U*-критерий Манна – Уитни. При сравнении показателя в нескольких независимых группах применяли непараметрический критерий Краскела – Уоллиса (*H*). Для каждого полиморфизма и их комбинаций были рассчитаны отношения шансов (ШО, RO) с учетом 95%-ного доверительного интервала выявления в крови более высоких ($\geq P75$) концентраций хлороформа у лиц с определенными полиморфизмами в сравнении с лицами без полиморфизмов.

В исследовании значение $p < 0,05$ считали статистически значимым. Анализ данных проводился

с использованием стандартного пакета прикладных статистических программ Statistica 12.0 и Microsoft Office Excel.

Распределение генотипов и аллелей полиморфизмов исследованных генов среди добровольцев в двух группах представлено в табл. 2, оно соответствовало равновесию Харди – Вайнберга.

Полученные результаты изучения распределения полиморфных вариантов генов биотрансформации ксенобиотиков в группах наблюдения и сравнения в целом согласуются с литературными данными о распределении полиморфных вариантов генов системы метаболизма ксенобиотиков в европейской популяции. При изучении распределения частоты генотипов полиморфного локуса C1091T гена CYP2E1 гетерозиготные генотипы СТ были выявлены у 10 % лиц из группы наблюдения и у 4,3 % лиц из группы сравнения, остальные генотипы индивидуумов по данному локусу соответствовали гомозиготному генотипу дикого типа СС. Распределение нулевых генотипов GSTM(-) и GSTT1(-) составило соответственно 36,7 и 23,3 % в группе наблюдения и 36,2 и 17,0 % в группе сравнения. Анализ распределения полиморфизма 4-го экзона A415G гена EPHX1 показал, что частота встречаемости полиморфного аллеля G в опытной группе составляет 15,7 %, мутантных гомозигот GG – 9,3 %, гетерозиготного генотипа AG – 12,7 %, в то время как в контрольной группе – 8,7; 4,2 и 12,8 % соответственно.

58,7 % лиц из группы наблюдения и 51,1 % из группы сравнения имели мутантный гомо- и гетерозиготный генотипы хотя бы по одному из четырех генов: GSTM1, GSTT1, EPHX1, CYP2E1. В группе сравнения полиморфизм одного из четырех генов отмечен в 32,9 % случаев, полиморфизмы двух генов – в 18,7 %, трех генов – в 7,3 %. Встречаемость одновременно полиморфизмов нескольких генов в группах наблюдения и сравнения составила соответственно для GSTM1+EPHX1 – 6,7 и 8,5 %, GSTM1+GSTT1 – 5,3 и 4,3 %, GSTT1+EPHX1 – 2,7 и 0,0 %, для GSTT1+CYP2E1 – 2,0 и 2,1 %, EPHX1+CYP2E1 – 2,7 и 2,1 %, GSTM1+GSTT1+EPHX1 – 2,7 и 2,1 %, GSTM1+GSTT1+CYP2E1 – 2,0 и 2,1 %, GSTT1+EPHX1+CYP2E1 – 2,7 и 0,0 %.

Таблица 1

Последовательности праймеров и ферменты рестрикции, используемые при ПЦР-анализе полиморфизма целевых генов-кандидатов

Ген, локализация	Полиморфизм	Последовательность праймеров, (5' > 3')	Длина продукта, пн	Фермент рестрикции	Аллель, пн
CYP2E1 10q24.3	5'-регуляторная область C1091T	F CCAGTCGAGTCTACATTGTCA R TTCATTCTGTCTTCTAACTGG	411	RsaI	C (412) T (351, 61)
GSTM1 1q13.3	Делеция	F GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC R GTTGGGCTCAAATATACGGTGG	219	-	норма (219) делеция (0)
GSTT1 22q11.2	Делеция	F TCACCGGATCATGGCCAGCA R TTCCTTACTGGTCTCATATCTC	459	-	норма (459) делеция (0)
EPHX1 1g42.1	4-й экзон A415G (His139Arg)	F ACATCCACTTCATCCACGT R ATGCCTCTGAGAAGCCAT	210	RsaI	A (210) G (163, 47)

Таблица 2

Распределение аллелей и генотипов полиморфизмов A415G гена EPHX1 (His139Arg), C1091T гена CYP2E1, GSTT1(-) и GSTM1(-) в группах наблюдения и сравнения

Генотипы/ аллели*	Частота генотипов, %		Значение <i>p</i> (для различных групп)
	Группа наблюдения (опытная)	Группа сравнения (контроль)	
C1091T CYP2E1			
CC	90,0	95,7	0,225
CT	10,0	4,3	
TT	0,0	0,0	
C	95,0	97,9	0,393
T	5,0	2,1	
GSTT1			
n	76,7	83,0	0,361
del	23,3	17,0	
GSTM1			
n	63,3	63,8	0,951
del	36,7	36,2	
A415G EPHX1			
AA	78,0	83,0	0,461
GA	12,7	12,8	0,986
GG	9,3	4,2	0,263
A	84,3	91,3	0,228
G	15,7	8,7	

Примечание: *AA, CC – гомозиготный генотип дикого типа; AG, CT – гетерозиготный генотип; GG, TT – гомозиготный мутантный генотип; A, C – аллель дикого типа; G, T – мутантный аллель; n – дикий тип гена; del – гомозиготная делеция.

Статистически значимые различия встречаемости относительных частот мутантного гомозиготного, гетерозиготного и нормального гомозиготного генотипа по изученным генам в группах наблюдения и контроле отсутствовали по всем парам сравнения ($p > 0,05$), что свидетельствует о сопоставимости сформированных выборок по группам.

Результаты и их обсуждение. В 100 % проб крови обеих групп был выявлен хлороформ: в группе наблюдения – в концентрациях от 0,03 до 0,54 нг/мл, P95 – 0,27 нг/мл, в контрольной группе – от 0,004 до 0,37 нг/мл, P95 – 0,13 нг/мл. Различия содержания в крови хлороформа у экспонируемого и неэкспонируемого населения (через воду) статистически значимы ($U = 2336$, $p < 0,01$) [34]. Выявленные концентрации хлороформа в крови не превышали (за исключением одного образца) реперные концентрации (0,0004 мг/л), предложенные российскими учеными по повышению содержания в крови аспаратаминотрансферазы [16].

На следующем этапе оценивали наличие ассоциаций между наличием полиморфизмов соответствующих генов, кодирующих ферменты системы детоксикации ксенобиотиков, и уровнями хлороформа в крови населения. Далее в статье описаны выявленные ассоциации и закономерности только по группе наблюдения, поскольку статистически значимые различия между распределением аллелей в группах наблюдения и сравнения отсутствовали, а установленные статистически значимые отличия по основным ассоциациям полиморфизмов изучаемых генов с концентрациями хлороформа в крови лиц контрольной группы соответствовали тенденциям в группе наблюдения.

Для анализа ассоциаций результаты определения концентраций хлороформа в крови добровольцев группы наблюдения были обобщены по 42 условным подгруппам (вариантам) в зависимости от наличия / отсутствия полиморфизмов изучаемых генов: отсутствие в генотипе изучаемых полиморфизмов генов (подгруппа № 2), наличие в генотипе изучаемых полиморфизмов (№ 3), наличие в генотипе одного из изучаемых полиморфизмов генов (моно) (№ 4–7), наличие в генотипе полиморфизма гена в сочетании с полиморфизмами других генов (№ 8–11), наличие в генотипе полиморфизмов двух или трех генов в различных сочетаниях (№ 12–22), отсутствие в генотипе полиморфизмов конкретных генов (№ 23–26) или их определенных сочетаний (№ 27–42). Учитывая, что лишь в части подгрупп распределение концентраций соответствовало нормальному, в дальнейшем для анализа данных применялись непараметрические методы. По каждой подгруппе были рассчитаны число проб и их доля от общего числа проб в группе наблюдения, концентрации – max, min, Me, P25, P75, P10, P90, а также число проб в подгруппе (абсолютные значения и доля в % от проб в подгруппе) с содержанием хлороформа \geq значений P75 и P90, \leq значений P10, P25, P75 и P90 для группы наблюдения в целом.

Обобщенные данные по подгруппам по содержанию хлороформа в крови добровольцев группы наблюдения в зависимости от наличия (отсутствия) полиморфизмов представлены в табл. 3 (26 подгрупп, представляющих наибольший исследовательский интерес), а визуализация результатов в виде диаграммы размаха по основным 19 подгруппам – на рис. 1.

Уровни хлороформа в крови волонтеров в группе наблюдения, нг/мл

№ п/п	Подгруппа по наличию/отсутствию полиморфизмов (пояснение)	N набл.	% от всех проб	Me [P25 ÷ P75]	P10	P90	Число проб (%) с концентрацией хлороформа более (менее) соответствующего процента по группе наблюдения в целом			
							≥ P75	≥ P90	< P10	< P25
1	В целом группа наблюдения	150	100,0	0,1488 [0,1118 ÷ 0,2035]	0,0819	0,2392	25,3	10,0	10,0	25,3
2	Нет полиморфизмов	62	41,3	0,1082 [0,0822 ÷ 0,1341]	0,0628	0,1568	4,8	0,0	24,2	56,5
3	Есть полиморфизмы	88	58,7	0,1892 [0,1495 ÷ 0,2281]	0,1310	0,2660	60,2	17,0	0,0	23,9
4	Полиморфизм GSTM1 (моно)	30	20,0	0,1903 [0,1480 ÷ 0,2105]	0,1279	0,2351	30,0	6,7	0,0	26,7
5	Полиморфизм GSTT1 (моно)	9	6,0	0,1826 [0,1497 ÷ 0,2257]	0,1178	0,2440	44,4	11,1	0,0	22,2
6	Полиморфизм EPHX1 (моно)	8	5,3	0,1951 [0,1387 ÷ 0,2478]	0,1081	0,2862	50,0	37,5	0,0	37,5
7	Полиморфизм CYP2E1 (моно)	2	1,3	0,1581 [0,1333 ÷ 0,1829]	0,1333	0,1829	0,0	0,0	0,0	50,0
8	Полиморфизм GSTM1 (не только моно)	55	36,7	0,1869 [0,1455 ÷ 0,2105]	0,1272	0,2387	30,9	9,1	0,0	27,3
9	Полиморфизм GSTT1 (не только моно)	35	23,3	0,1930 [0,1711 ÷ 0,2440]	0,1451	0,3061	48,6	28,6	0,0	14,3
10	Полиморфизм EPHX1 (не только моно)	33	22,0	0,2040 [0,1494 ÷ 0,2422]	0,1310	0,3061	54,5	30,3	0,0	24,2
11	Полиморфизм CYP2E1 (не только моно)	15	10,0	0,1869 [0,1778 ÷ 0,2385]	0,1455	0,3061	40,0	20,0	0,0	13,3
12	Полиморфизмы GSTM1+GSTT1	8	5,3	0,1873 [0,1745 ÷ 0,2268]	0,1243	0,2586	37,5	12,5	0,0	12,5
13	Полиморфизмы GSTM1+EPHX1	10	6,7	0,1556 [0,1326 ÷ 0,2039]	0,1219	0,2230	30,0	0,0	0,0	40,0
14	Полиморфизмы GSTT1+EPHX1	4	2,7	0,2512 [0,2346 ÷ 0,2643]	0,2294	0,2660	100,0	75,0	0,0	0,0
15	Полиморфизмы GSTT1+CYP2E1	3	2,0	0,1819 [0,1514 ÷ 0,2832]	0,1514	0,2832	33,3	33,3	0,0	0,0
16	Полиморфизмы EPHX1+CYP2E1	3	2,0	0,2222 [0,1839 ÷ 0,2237]	0,1839	0,2237	66,7	0,0	0,0	0,0
17	Полиморфизмы GSTM1+GSTT1+EPHX1	4	2,7	0,2597 [0,1550 ÷ 0,4383]	0,1272	0,5401	50,0	50,0	0,0	25,0
18	Полиморфизмы GSTM1+GSTT1+CYP2E1	3	2,0	0,1869 [0,1455 ÷ 0,1930]	0,1455	0,1930	0,0	0,0	0,0	33,3
19	Полиморфизмы GSTT1+EPHX1+CYP2E1	4	2,7	0,2723 [0,2082 ÷ 0,3128]	0,1778	0,3195	75,0	75,0	0,0	0,0
20	Полиморфизмы более 1 гена	39	26,0	0,1930 [0,1617 ÷ 0,2385]	0,1325	0,3061	46,2	23,1	0,0	17,9
21	Полиморфизмы 2 генов	28	18,7	0,1944 [0,1565 ÷ 0,2325]	0,1325	0,2626	46,4	17,9	0,0	17,9
22	Полиморфизм 3 генов	11	7,3	0,1930 [0,1778 ÷ 0,3195]	0,1455	0,3366	45,5	36,4	0,0	18,2
23	Нет полиморфизмов GSTM1	95	63,3	0,1310 [0,0935 ÷ 0,1829]	0,0718	0,2398	22,1	10,5	15,8	63,2
24	Нет полиморфизма GSTT1	115	76,7	0,1363 [0,1013 ÷ 0,1872]	0,0773	0,2222	18,3	4,3	13,0	57,4
25	Нет полиморфизма EPHX1	117	78,0	0,1414 [0,1025 ÷ 0,1869]	0,0773	0,2225	17,1	4,3	12,8	57,3
26	Нет полиморфизма CYP2E1	135	90,0	0,1446 [0,1084 ÷ 0,2000]	0,0812	0,2378	23,7	8,9	11,1	50,4

У экспонированных лиц из группы наблюдения, в генотипе которых присутствовал полиморфизм хотя бы одного изучаемого гена, хлороформ определялся в концентрациях от 0,1025 до 0,5401 нг/мл, Me = 0,1892 нг/мл [0,1495; 0,2281], P90 – 0,2660 нг/мл. У экспонированных лиц без изучаемых полиморфизмов генов в генотипе концентрации хлороформа находились в диапазоне от 0,0321 до 0,2087 нг/мл, Me = 0,1082 нг/мл [0,0822; 0,1341], P90 – 0,1568 нг/мл. Оценка достоверности установленных различий в содержании хлороформа в крови между подгруппами с наличием полиморфизмов генов и их комбинаций (№ 3–22) и подгруппой с отсутствием полиморфизмов (подгруппа № 2) по U-критерию Манна – Уитни показала, что различия статистически значимы ($p < 0,01$) для всех групп, за исключением подгруппы № 7 «полиморфизм CYP2E1 (моно)» (двустороннее $p > 0,05$), что

может быть обусловлено малочисленностью данной группы. Дополнительно проведена оценка значимости различий между подгруппами с наличием полиморфизмов (№ 3–22) и подгруппами с отсутствием соответствующих полиморфизмов или их комбинаций (подгруппы № 23–26 и еще 16 подгрупп с отсутствием комбинаций полиморфизмов), различия статистически значимы для подгрупп № 3–6, 8–11, 14, 19–22 ($p < 0,05$) и статистически не значимы для подгрупп № 7, 12–13, 15–18 ($p > 0,05$).

Сравнение различий между 12 основными подгруппами (№ 2, 4–7, 12–19) методом Краскела – Уоллеса и медианным тестом показало их статистическую значимость: $H(12, N+150) = 80,5, p < 0,01, \chi^2 = 63,5, ss = 12, p < 0,01$ (с поправкой Бонферрони). Парные сравнения 16 основных подгрупп (№ 4–19) с использованием теста Манна – Уитни (всего 99 пар сравнения) позволили установить статистически

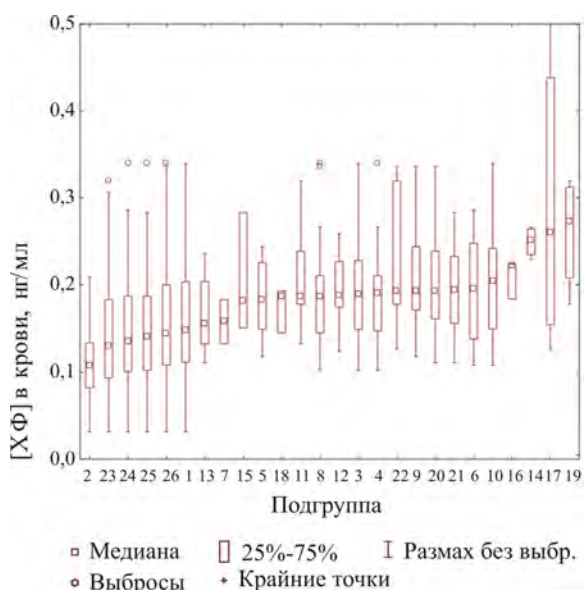


Рис. 1. Диаграмма размаха для содержания хлороформа в крови волонтеров группы наблюдения в зависимости от наличия изучаемых полиморфизмов генов ферментов системы детоксикации ксенобиотиков CYP2E1, GSTM1, GSTT1, EPHX1 (подгруппы приведены в последовательности, отражающей возрастание значений медиан концентраций)

значимые различия между уровнями содержания хлороформа в крови волонтеров в следующих подгруппах: № 4 и 14 ($U = 10$; $Z = -2,66$; $p < 0,01$), № 4 и 19 ($U = 22$; $Z = -2,00$; $p < 0,05$), № 5 и 14 ($U = 3$; $Z = -2,24$; $p < 0,05$), № 12 и 14 ($U = 3$; $Z = -2,12$; $p < 0,05$), № 13 и 14 ($U = 1$; $Z = -2,62$; $p < 0,01$), № 13 и № 19 ($U = 4$; $Z = -2,19$; $p < 0,05$), № 13 и 9 ($U = 100$; $Z = -2,03$; $p < 0,05$), № 8 и 14 ($U = 22$; $Z = -2,64$; $p < 0,01$), № 8 и 19 ($U = 44$; $Z = -1,97$; $p < 0,05$). При этом уровни содержания хлороформа в крови (по медиане) были ниже в подгруппе № 4 (полиморфизм GSTM1 (моно)) на 32 и 43,1 % в сравнении с подгруппами № 14 (полиморфизмы GSTT1+EPHX1) и № 19 (полиморфизмы GSTT1+EPHX1+CYP2E1) соответственно, ниже в группе – № 13 (полиморфизмы GSTM1+EPHX1) – на 24,1; 61,5 и 75,0 %, чем в подгруппах № 9 (полиморфизм GSTT1 (не только моно)), № 14 (полиморфизмы GSTT1+EPHX1) и № 19 (полиморфизмы GSTT1+EPHX1+CYP2E1) соответственно, а также в подгруппе № 8 (полиморфизм GSTM1 (не только моно)) – на 34,4 и 45,7 %, чем в подгруппах № 14 и 19. Концентрации хлороформа в крови экспонированных лиц выше в подгруппе № 14 в сравнении с подгруппами № 4, 5, 12, 13 и 8 от 23,2 до 38,1 %, а также в подгруппе № 19 в сравнении с подгруппами № 4, 8 13 – на 30,2–42,9 % (рис. 2).

Проведен анализ различий между уровнями содержания хлороформа в крови в зависимости от наличия / отсутствия полиморфизма конкретного гена (результаты представлены на рис. 3). Наличие полиморфизмов генов GSTT1 и EPHX1, а также их одновременное присутствие отражаются на уровнях

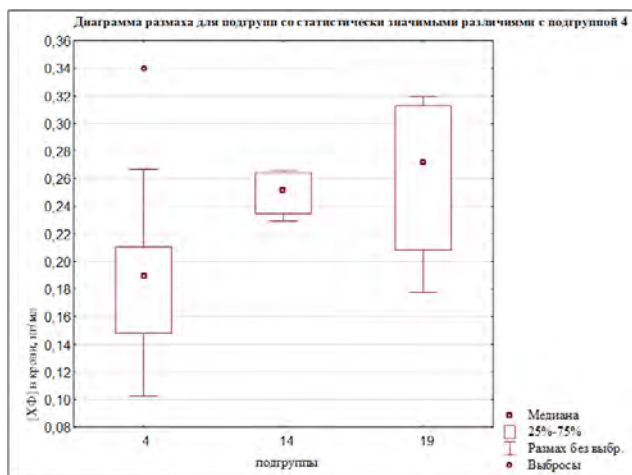
концентраций в сторону их увеличения (подгруппы № 10, 14, 17, 19).

Выполнен сравнительный анализ распределения проб с различными уровнями содержания хлороформа в крови ($< P10$, $< P25$, $\geq P75$, $\geq P90$ группы наблюдения) в подгруппах. Показано, что к подгруппе № 2 «нет полиморфизмов» относились все пробы с содержанием хлороформа в крови $< P10$ (0,0819 нг/мл) (24,2 % проб в подгруппе) и 92,1 % проб с содержанием хлороформа $< P25$ (0,1118 нг/мл) (56,5 % по подгруппе). В то время как в подгруппе № 3 «есть полиморфизмы» доля проб с содержанием хлороформа $< P25$ составила в 2 раза меньше – 23,9 %.

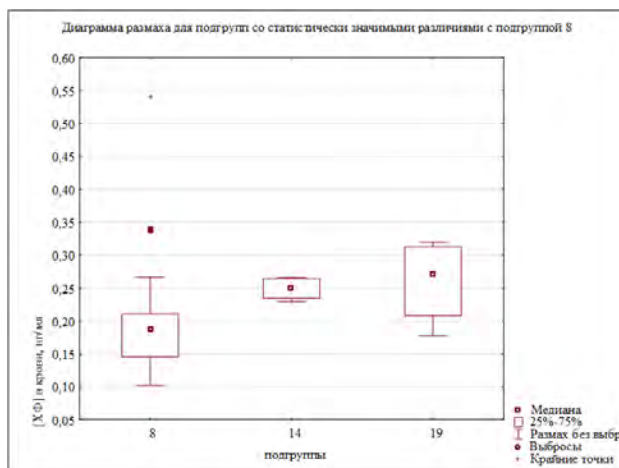
В группе наблюдения из проб крови с содержанием хлороформа \geq верхнего квартиля ($P75$) (0,2035 нг/мл) 44,7 % приходилось на лиц с полиморфизмами генов GSTT1 или GSTM1, 47,4 % – с полиморфизмами EPHX1, 15,8 % – CYP2E1, и только в 7,9 % изучаемые полиморфизмы отсутствовали. Наибольший удельный вес проб с содержанием хлороформа $\geq P75$ отмечался в подгруппах № 5 «полиморфизм GSTT1 (моно)» (44,4 %), № 9 «полиморфизм GSTT1 (не только моно)» – 48,6 %, № 6 «полиморфизм EPHX1 (моно)» и № 17 «полиморфизмы GSTM1+GSTT1+EPHX1» – 50 %, № 10 «полиморфизм EPHX1 (не только моно)» – 54,5 %, № 3 «есть полиморфизмы» – 60,2 %, № 16 «полиморфизмы EPHX1+CYP2E1» – 66,7 %, № 19 «GSTT1+EPHX1+CYP2E1» – 75 %, № 14 «полиморфизмы GSTT1+EPHX1» – 100 %. При этом во всех подгруппах с долей проб $\geq P75$ 50 % и более в генотипах присутствовали полиморфизмы гена EPHX1.

Все пробы с содержанием хлороформа в крови $\geq P90$ (0,2392 нг/мл) соответствовали лицам с наличием в генотипе полиморфизмов, из них 66,7 % имели полиморфизмы генов GSTM1 или EPHX1, 33,3 % – полиморфизмы GSTT1, 20,0 % – CYP2E1 (соответственно 75 % проб подгрупп № 13 «GSTT1+EPHX1» и № 19 «GSTT1+EPHX1+CYP2E1», 50 % проб подгруппы № 17 «GSTM1+GSTT1+EPHX1», 37,5 % проб подгруппы № 6 «полиморфизм EPHX1 (моно)»).

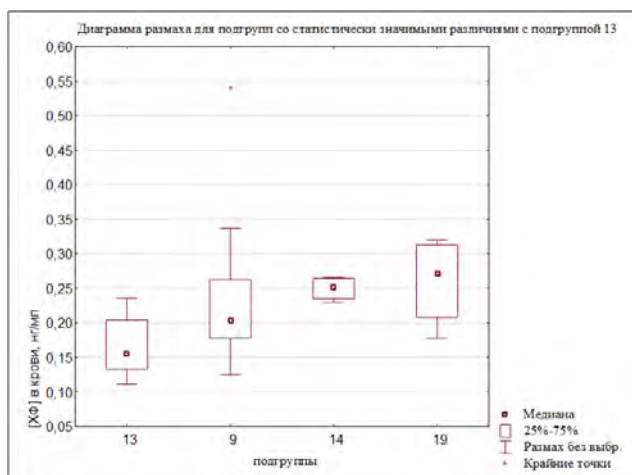
Расчет отношений шансов (OR) для наблюдаемой популяции показал (табл. 4), что для экспонированных лиц с наличием в генотипе исследуемых полиморфизмов генов (их комбинаций) относительные шансы (OR) содержания в крови хлороформа в концентрации $\geq P75$ значительно выше, чем у лиц без полиморфизмов ($OR = 29,8$; 95 % ДИ: 8,7–102,5). В зависимости от наличия конкретных полиморфизмов отношение шансов варьируется от 8,4 раза (подгруппа № 4 «полиморфизм GSTM1 (моно)») до 59 раз (подгруппа № 19 «GSTT1+EPHX1+CYP2E1») в сравнении с отсутствием в генотипе изучаемых полиморфизмов. Исключение – подгруппы № 7 «полиморфизм CYP2E1 (моно)» и № 18 «полиморфизмы GSTM1+GSTT1+CYP2E1» (концентрация хлороформа $< P75$). Наблюдаемые зависимости статистически значимы ($p < 0,05$) за исключением



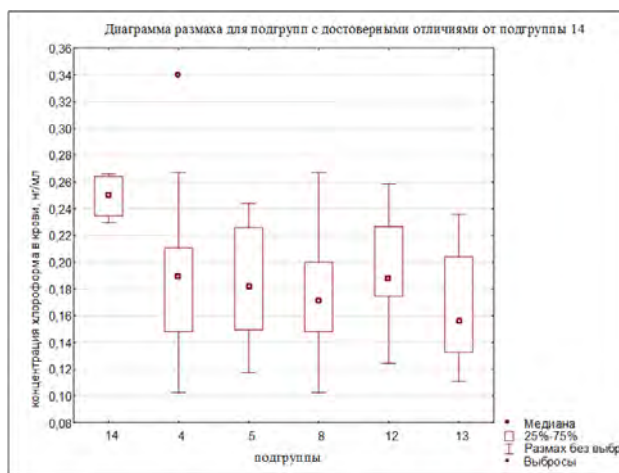
а



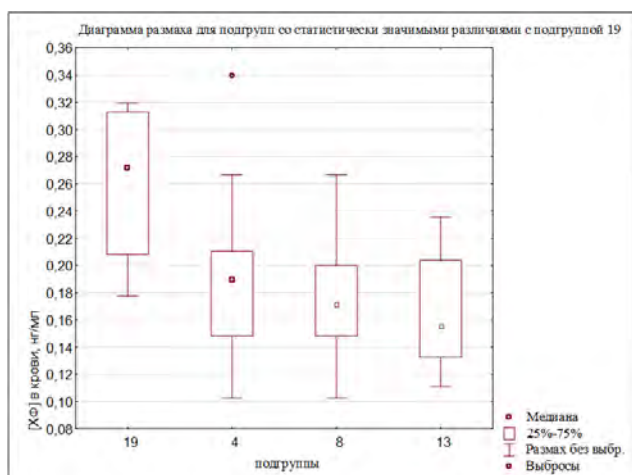
б



в



г



д

Рис. 2. Уровни хлороформа в крови добровольцев группы наблюдения: диаграммы размаха для подгрупп со статистически значимыми различиями: а – с подгруппой № 4; б – с подгруппой № 8; в – с подгруппой № 13; г – с подгруппой № 14; д – с подгруппой № 19

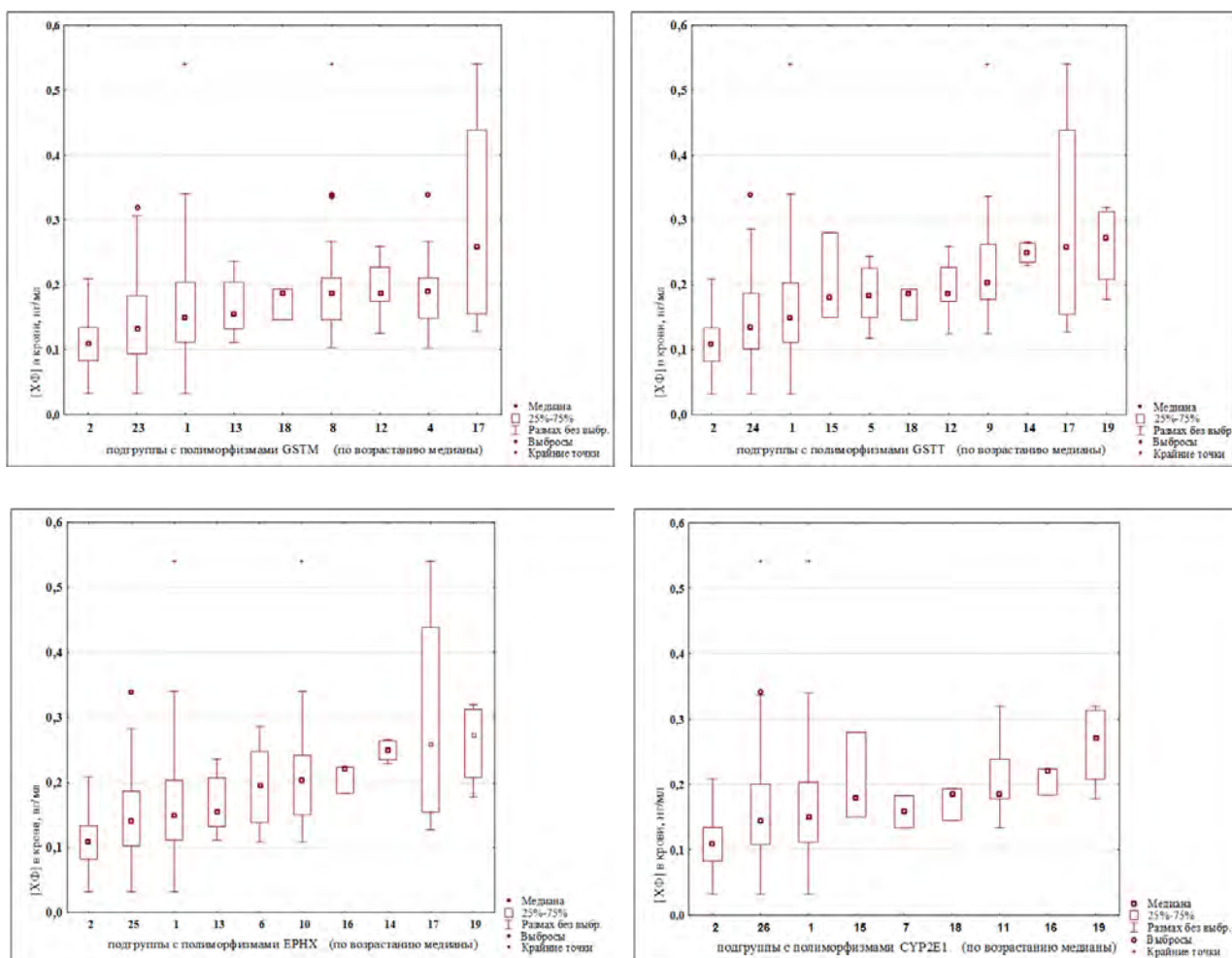


Рис. 3. Уровни хлороформа в крови добровольцев группы наблюдения: диаграммы размаха для подгрупп с наличием / отсутствием полиморфизмов генов CYP2E1, GSTM1, GSTT1, EPHX1 (последовательности подгрупп представлены возрастанию значений медиан концентраций)

подгруппы № 15. При этом наиболее высокая вероятность того, что в крови экспонированного лица хлороформ содержится в относительно более высокой концентрации ($\geq P75$), отмечается при наличии в генотипе полиморфизма гена EPHX1, особенно в сочетании с полиморфизмом гена GSTT1 (различия по всем комбинациям статистически значимы, $p < 0,05$) (табл. 4).

Выводы. В группе наблюдения частота генотипов полиморфного локуса C1091T гена CYP2E1 составила 10 %, встречаемости нулевых генотипов GSTM1 и GSTT1 – 36,7 и 23,3 % соответственно, полиморфизма 4-го экзона A415G гена EPHX1 – 15,7 % (мутантных гомозигот GG – 9,3 %, гетерозиготного генотипа AG – 12,7 %).

Наличие в генотипе изученных полиморфизмов (A415G гена EPHX1, C1091T гена CYP2E1, нулевые мутации генов глутатионтрансферазы GSTT1 и GSTM1) ассоциировано с замедлением выведения и биотрансформации хлороформа, его накоплением в организме и повышением равновесных концентраций хлороформа в крови населения, подвергавшегося длительному воздействию побочных продуктов дезин-

фекции с водой. При содержании хлороформа в воде в пределах ПДК ($0,2 \text{ мг/дм}^3$) концентрации хлороформа в крови экспонированного населения составили: $Me = 0,1892 \text{ нг/мл}$ [0,1495; 0,2281] у лиц с наличием полиморфизма / полиморфизмов и $Me = 0,1082 \text{ нг/мл}$ [0,0822; 0,1341] в группе с нормальными генотипами анализируемых генов ($U = 492$; $Z = 8,53$; $p < 0,0000001$). При этом концентрации хлороформа в крови (по медиане) были выше на 80,4 % и более при наличии в генотипе полиморфизма A415G гена EPHX1, на 68,2 % и более – нулевого аллеля гена GSTT1, на 43,8 % и более – нулевого аллеля гена GSTM1 (различия статистически значимы при $p < 0,01$).

Для экспонированных лиц с наличием в генотипе исследуемых полиморфизмов генов (их комбинаций) относительные шансы (OR) содержания в крови хлороформа в концентрации $\geq P75$ значительно выше, чем у лиц без полиморфизмов (в 29,8 раза). Присутствие полиморфизма гена EPHX1 существенно увеличивает вероятность содержания хлороформа в крови в более высокой концентрации ($\geq P75$, $\geq P90$), особенно в сочетании с полиморфизмом гена GSTT1.

Отношения шансов (*OR*) для полиморфных генов и их комбинаций для концентраций $\geq P75$ содержания хлороформа в крови

Подгруппа по наличию / отсутствию мутантных аллелей (полиморфизмов) (<i>пояснение</i>)	<i>OR</i> (95 % ДИ) (для проб с концентрациями хлороформа в крови $\geq P75$ с полиморфизмами к таковым и без полиморфизмов)	Отношение рисков (<i>RR</i>)
3. Есть полиморфизмы	29,8 (8,7–102,5)	12,4
4. Полиморфизм <i>GSTM1</i> (<i>моно</i>)	8,4 (21–34,1)	6,2
5. Полиморфизм <i>GSTT1</i> (<i>моно</i>)	15,7 (2,7–90,8)	9,2
6. Полиморфизм <i>EPHX1</i> (<i>моно</i>)	19,7 (3,2–119,9)	10,3
7. Полиморфизм <i>CYP2E1</i> (<i>моно</i>)	0*	0,0
8. Полиморфизм <i>GSTM1</i> (<i>не только моно</i>)	8,8 (2,4–32,1)	6,4
9. Полиморфизм <i>GSTT1</i> (<i>не только моно</i>)	18,6 (4,9–70,7)	10,0
10. Полиморфизм <i>EPHX1</i> (<i>не только моно</i>)	23,6 (6,1–90,8)	11,3
11. Полиморфизм <i>CYP2E1</i> (<i>не только моно</i>)	13,1 (2,8–62,0)	8,3
12. Полиморфизмы <i>GSTM1+GSTT1</i>	11,8 (1,9–74,5)	7,8
13. Полиморфизмы <i>GSTM1+EPHX1</i>	8,4 (1,4–50,1)	6,2
14. Полиморфизмы <i>GSTT1+EPHX1</i>	–**	20,7
15. Полиморфизмы <i>GSTT1+CYP2E1</i>	9,8 (0,7–141,4)***	6,9
16. Полиморфизмы <i>EPHX1+CYP2E1</i>	39,3 (2,7–565,8)	13,8
17. Полиморфизмы <i>GSTM1+GSTT1+EPHX1</i>	19,7 (2,0–191,8)	10,3
18. Полиморфизмы <i>GSTM1+GSTT1+CYP2E1</i>	0*	0,0
19. Полиморфизмы <i>GSTT1+EPHX1+CYP2E1</i>	59,0 (4,6–750,5)	15,5
20. Полиморфизмы более 1 гена	16,9 (4,5–63,1)	9,5
21. Полиморфизмы двух генов	51,1 (10,8–241,5)	14,9
22. Полиморфизмы трех генов	24,6 (4,3–141,9)	11,5

Примечание: * – в подгруппе с наличием данных полиморфизмов все пробы крови содержали хлороформ ниже $P75$, ** – ОШ невозможно рассчитать, поскольку в подгруппе с наличием полиморфизмов все пробы содержат хлороформ $> P75$, *** – установленные различия недостоверны, $p > 0,05$.

Установленные особенности позволяют рассматривать гетеро- и гомозиготные полиморфные генотипы AG/GG по гену *EPHX1*, CT/TT по гену *CYP2E1*, а также наличие нулевого аллеля в генах *GSTT1* и *GSTM1* в качестве факторов генетической предрасположенности к накоплению хлороформа в организме, что способствует повышению вероятности реализации рисков здоровью, ассоциированных с хроническим воздействием данного побочного продукта дезинфекции. Учитывая вышеизложенное, указанные полиморфизмы могут выступать в качестве биомаркеров индивидуальной чувствительности при оценке подверженности населения воздействию хлороформа, поступающего в организм с водой централизованных систем хозяйственно-питьевого водоснабжения, и применяться для совершенствования мер профилактики.

В качестве наиболее информативных биомаркеров чувствительности при оценке рисков, ассоциированных с воздействием хлороформа на уровнях, не

превышающих ПДК в воде, предлагается использовать полиморфизм A415G гена *EPHX1* и делецию гена глутатионтрансферазы *GSTT1*, а также их комбинации, в том числе с делецией гена *GSTM1* и / или полиморфизмом C1091T гена *CYP2E1*.

Перспективным направлением дальнейших исследований представляется изучение ассоциаций между воздействием тригалометанов и бременем патогенетически обусловленных заболеваний с учетом генетической восприимчивости популяции.

Финансирование. Работа выполнялась в рамках задания 01.01. «Разработать метод гигиенической оценки летучих химических веществ в питьевой воде» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 годы (рег. № НИОКР 20190177).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Guidelines for Drinking-water Quality, 4th ed. with adds. – Geneva: World Health Organization, 2017. – 564 p.
- Sharma V.K., Zboril R., McDonald T.J. Formation and toxicity of brominated disinfection byproducts during chlorination and chloramination of water: a review // J. Environ. Sci. Health B. – 2014. – Vol. 49, № 3. – P. 212–228. DOI: 10.1080/03601234.2014.858576
- Егорова Н.А., Букшук А.А., Красовский Г.Н. Гигиеническая оценка продуктов хлорирования питьевой воды с учетом множественности путей поступления в организм // Гигиена и санитария. – 2013. – Т. 92, № 2. – С. 18–24.
- EPA/600/R-06/087. Exposures and internal doses of trihalomethanes in humans: multi-route contributions from drinking water [Электронный ресурс]. – URL: <http://nepis.epa.gov/Adobe/PDF/.pdf> (дата обращения: 15.01.2018).

5. Kujlu R., Mahdavianpour M., Ghanbari F. Multi-route human health risk assessment from trihalomethanes in drinking and non-drinking water in Abadan, Iran // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2020. – Vol. 27. – P. 42621–42630.
6. Health impacts of long-term exposure to disinfection by-products in drinking water in Europe: HIWATE / M.J. Nieuwenhuijsen, R. Smith, S. Golfopoulos, N. Best, J. Bennett, G. Aggazzotti, E. Righi, G. Fantuzzi [et al.] // *J. Water Health*. – 2009. – Vol. 7, № 2. – P. 185–207. DOI: 10.2166/wh.2009.073
7. Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection byproducts in drinking water: a review and roadmap for research / S.D. Richardson, M.J. Plewa, E.D. Wagner, R. Schoeny, D.M. Demarini // *Mutat. Res*. – 2007. – Vol. 636, № 1–3. – P. 178–242. DOI: 10.1016/j.mrrev.2007.09.001
8. К вопросу об образовании побочных продуктов дезинфекции питьевой воды (регламентируемых и эмерджентных), их генотоксических и канцерогенных свойствах: обзор проблемы и направления дальнейших исследований / Е.В. Дроздова, В.В. Бурая, В.В. Гирина, Т.З. Суворец, А.В. Фираго // *Здоровье и окружающая среда*. – 2016. – № 26. – С. 12–16.
9. Tellez Tovar S.S., Rodriguez Susa M. Cancer risk assessment from exposure to trihalomethanes in showers by inhalation // *Environ. Res*. – 2021. – Vol. 196. – P. 110401. DOI: 10.1016/j.envres.2020.110401
10. Trihalomethanes in Drinking Water and Bladder Cancer Burden in the European Union / I. Evlampidou, L. Font-Ribera, D. Rojas-Rueda, E. Gracia-Lavedan, N. Costet, N. Pearce, P. Vineis, J.J.K. Jaakkola [et al.] // *Environ. Health Perspect*. – 2020. – Vol. 128, № 1. – P. 17001. DOI: 10.1289/EHP4495
11. Colorectal cancer and long-term exposure to trihalomethanes in drinking water: a multicenter case-control study in Spain and Italy / C.M. Villanueva, E. Gracia-Lavedan, C. Bosetti, E. Righi [et al.] // *Environ. Health Perspect*. – 2017. – Vol. 125, № 1. – P. 56–65. DOI: 10.1289/EHP155
12. Экспериментальные модели хронической патологии животных для оценки рисков здоровью чувствительных групп населения / Е.В. Дроздова, С.И. Сычик, В.А. Грынчак, С.Н. Рябцева // *Анализ риска здоровью*. – 2022. – № 2. – С. 185–195. DOI: 10.21668/health.risk/2022.2.17
13. Household exposures to drinking water disinfection by-products: whole blood trihalomethane levels / L.C. Backer, D.L. Ashley, M.A. Bonin, F.L. Cardinali, S.M. Kieszak, J.V. Wooten // *J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol*. – 2000. – Vol. 10, № 4. – P. 321–326. DOI: 10.1038/sj.jea.7500098
14. Опыт установления и доказывания вреда здоровью населения вследствие потребления питьевой воды, содержащей продукты гиперхлорирования / Н.В. Зайцева, И.В. Май, С.В. Клейн, Э.В. Седусова // *Здоровье населения и среда обитания* – ЗНиСО. – 2015. – Т. 273, № 12. – С. 16–18.
15. Биохимические маркерные показатели негативных эффектов у детей при воздействии хлороорганических соединений с питьевой водой / М.А. Землянова, О.В. Пустовалова, Д.Л. Мазунина, А.С. Сбоев // *Гигиена и санитария*. – 2016. – Т. 95, № 1. – С. 97–101. DOI: 10.18821/0016-9900-2016-95-1-97-101
16. Четверкина К.В. К установлению реперного уровня содержания хлороформа в крови детского населения // *Анализ риска здоровью*. – 2018. – № 3. – С. 85–93. DOI: 10.21668/health.risk/2018.3.09
17. Human exposure assessment for DBPs: factors influencing blood trihalomethane levels / B.C. Blount, L.L. Aylward, J. Lakind, L.S. Backer, S.M. Hays // *Encyclopedia of Environmental Health*. – 2011. – Vol. 3. – P. 100–107. DOI: 10.1016/B978-0-444-52272-6.00103-3
18. Changes in blood trihalomethane concentrations resulting from differences in water quality and water use activities / D.L. Ashley, B.C. Blount, P.C. Singer, E. Depaz, C. Wilkes, S. Gordon, C. Lyu, J. Masters // *Arch. Environ. Occup. Health*. – 2005. – Vol. 60, № 1. – P. 7–15. DOI: 10.3200/AEOH.60.1.7-15
19. Influence of tap water quality and household water use activities on indoor air and internal dose levels of trihalomethanes / J.R. Nuckols, D.L. Ashley, C. Lyu, S.M. Gordon, A.F. Hinckley, P. Singer // *Environ. Health Perspect*. – 2005. – Vol. 113, № 7. – P. 863–870. DOI: 10.1289/ehp.7141
20. Exogenous and Endogenous Determinants of Blood Trihalomethane Levels after Showering / L.C. Backer, Q. Lan, B.C. Blount, J.R. Nuckols [et al.] // *Environ. Health Perspect*. – 2008. – Vol. 116, № 1. – P. 57–63. DOI: 10.1289/ehp.10049
21. Predictors of blood trihalomethane concentrations in NHANES 1999–2006 / A.M. Riederer, R. Dhingra, B.C. Blount, K. Steenland // *Environ. Health Perspect*. – 2014. – Vol. 122, № 7. – P. 695–702. DOI: 10.1289/ehp.1306499
22. Xenobiotic sensor- and metabolism-related gene variants in environmental sensitivity-related illnesses: a survey on the Italian population / D. Caccamo, E. Cesareo, S. Mariani, D. Raskovic [et al.] // *Oxid. Med. Cell. Longev*. – 2013. – Vol. 2013. – P. 831969. DOI: 10.1155/2013/831969
23. FOXE1 polymorphisms and chronic exposure to nitrates in drinking water cause metabolic dysfunction, thyroid abnormalities, and genotoxic damage in women / D.D. Gandarilla-Esparza, E.Y. Calleros-Rincón, H.M. Macias, M.F. González-Delgado [et al.] // *Genet. Mol. Biol*. – 2021. – Vol. 44, № 3. – P. e20210020. DOI: 10.1590/1678-4685-GMB-2021-0020
24. Markers of genetic susceptibility in human environmental hygiene and toxicology: the role of selected CYP, NAT and GST genes / R. Thier, T. Brüning, P.H. Roos, H.-P. Rihs [et al.] // *Int. J. Hyg. Environ. Health*. – 2003. – Vol. 206, № 3. – P. 149–171. DOI: 10.1078/1438-4639-00209
25. Autrup H. Genetic polymorphisms in human xenobiotica metabolizing enzymes as susceptibility factors in toxic response // *Mutat. Res*. – 2000. – Vol. 464, № 1. – P. 65–76. DOI: 10.1016/s1383-5718(99)00167-9
26. DNA methylation levels and long-term trihalomethane exposure in drinking water: an epigenome-wide association study / L.A. Salas, M. Bustamante, J.R. Gonzalez, E. Gracia-Lavedan [et al.] // *Epigenetics*. – 2015. – Vol. 10, № 7. – P. 650–661. DOI: 10.1080/15592294.2015.1057672
27. Drinking Water Disinfection By-products, Genetic Polymorphisms, and Birth Outcomes in a European Mother-Child Cohort Study / M. Kogevinas, M. Bustamante, E. Gracia-Lavedán, F. Ballester [et al.] // *Epidemiology*. – 2016. – Vol. 27, № 6. – P. 903–911. DOI: 10.1097/EDE.0000000000000544
28. Polymorphisms in GSTT1, GSTZ1, and CYP2E1, Disinfection By-products, and Risk of Bladder Cancer in Spain / K.P. Cantor, C.M. Villanueva, D.T. Silverman, J.D. Figueroa [et al.] // *Environ. Health Perspect*. – 2010. – Vol. 118, № 11. – P. 1545–1550. DOI: 10.1289/ehp.1002206
29. Infante-Rivard C. Drinking water contaminants, gene polymorphisms, and fetal growth // *Environ. Health Perspect*. – 2004. – Vol. 112, № 11. – P. 1213–1216. DOI: 10.1289/ehp.7003

30. Effect modification of CYP2E1 and GSTZ1 genetic polymorphisms on associations between prenatal disinfection by-products exposure and birth outcomes / B. Zhou, P. Yang, Y.-J. Gong, Q. Zeng, W.-Q. Lu, X.-P. Miao // Environ. Pollut. – 2018. – Vol. 243, Pt B. – P. 1126–1133. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.09.083

31. Prenatal exposure to drinking-water chlorination by-products, cytochrome P450 gene polymorphisms and small-for-gestational-age neonates / S.G. Bonou, P. Levallois, Y. Giguère, M. Rodriguez, A. Bureau // Reprod. Toxicol. – 2017. – Vol. 73. – P. 75–86. DOI: 10.1016/j.reprotox.2017.07.019

32. Interactions between CYP2E1, GSTZ1 and GSTT1 polymorphisms and exposure to drinking water trihalomethanes and their association with semen quality / P. Yang, Q. Zeng, W.-C. Cao, Y.-X. Wang [et al.] // Environ. Res. – 2016. – Vol. 147. – P. 445–452. DOI: 10.1016/j.envres.2016.03.009

33. Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations / S. Garte, L. Gaspari, A.K. Alexandrie, C. Ambrosone [et al.] // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. – 2001. – Vol. 10, № 12. – P. 1239–1248.

34. Содержание хлороформа в крови населения как биомаркер экспозиции побочными продуктами дезинфекции питьевой воды / Е.В. Дроздова, С.И. Сычик, В.Э. Сяхович, Е.Н. Походня [и др.] // Медицинский журнал. – 2023. – Т. 83, № 1. – С. 23–32. DOI: 10.51922/1818-426X.2023.1.23

Полиморфные варианты генов ферментов системы детоксикации ксенобиотиков CYP2E1, GSTM1, GSTT1, EPHX1 как биомаркеры чувствительности к экспозиции побочными продуктами водоподготовки (на примере хлороформа) / Е.В. Дроздова, Е.В. Колеснева, В.Э. Сяхович, Н.А. Долгина // Анализ риска здоровью. – 2023. – № 1. – С. 157–170. DOI: 10.21668/health.risk/2023.1.15

UDC 614.777-047.36

DOI: 10.21668/health.risk/2023.1.15.eng



Read
online

Research article

POLYMORPHISMS OF XENOBIOTIC METABOLISM ENZYME GENES CYP2E1, GSTM1, GSTT1, EPHX1 AS BIOMARKERS OF SENSITIVITY TO EXPOSURE TO WATER DISINFECTION BYPRODUCTS (USING CHLOROFORM AS AN EXAMPLE)

E.V. Drozdova¹, E.V. Kolesneva¹, V.E. Syakhovich², N.A. Dalhina¹

¹Scientific and Practical Center for Hygiene, 8 Akademicheskaya Str., Minsk, 220012, Republic of Belarus

²National Anti-Doping Laboratory, 31 ag. Lesnoi, Minsk region, 223040, Republic of Belarus

Chloroform accumulation in the body and the increase in its steady-state concentrations in blood of exposed people have been established to be associated with polymorphisms of enzyme genes in a genotype involved in metabolism of water disinfection byproducts (A415G of EPHX1 gene, C1091T of CYP2E1 gene, zero mutations of GSTT1 and GSTM1 genes) ($p < 0.000001$). These polymorphisms in a genotype correlate with higher chloroform levels in blood of people consuming chlorinated drinking water: by 43.8 % and higher for GSTM1 gene polymorphism; by 68.2 % and higher for GSTT1; by 80.4 % and higher for EPHX1 ($p < 0.01$). EPHX1 genetic polymorphism makes chloroform accumulation much more probable (levels in blood $\geq P75$), which is the most pronounced when combined with GSTT1 genetic polymorphism.

The study results allow us to consider hetero- and homozygous polymorphic genotypes AG/GG for the EPHX1 gene, CT/TT for the CYP2E1 gene, and the null allele in the GSTT1 and GSTM1 genes as genetic predisposition factors for chloroform accumulation in the body. This increases the probability of health outcomes associated with chronic exposure to this disinfection byproduct.

The A415G polymorphism of the EPHX1 gene and null alleles of GSTT1 gene, their combinations including the combination with the null allele of the GSTM1 gene and/or the C1091T polymorphism of the CYP2E1 gene can be used as the most informative biomarkers of sensitivity when assessing risks associated with exposure to trihalomethanes (chloroform) at levels not exceeding MPC in water.

Keywords: CYP2E1, GSTM1, GSTT1, EPHX1 genes, disinfection byproducts, drinking water, gene polymorphism, biomonitoring, health risk assessment, biomarkers of susceptibility.

© Drozdova E.V., Kolesneva E.V., Syakhovich V.E., Dalhina N.A., 2023

Elena V. Drozdova – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Deputy Director for Science (e-mail: drozdovaev@mail.ru; tel.: +7 (017) 370-50-15; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3032-0895>).

Ekaterina V. Kolesneva – Senior Researcher at the Laboratory of Industrial Toxicology (e-mail: kolesneva_kate@mail.ru; tel.: +375-17-388-48-22; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1605-4786>).

Vitaly E. Syakhovich – Head of the Research Laboratory (e-mail: rlab.head@antidoping.by; tel.: +375-17-265-58-88; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2558-6824>).

Natallia A. Dalhina – Researcher (e-mail: dlginan@rambler.ru; tel.: +375-17-351-23-84; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4012-2507>).

References

1. Guidelines for drinking-water quality, 4th ed. with add. Geneva, WHO, 2017, 564 p.
2. Sharma V.K., Zboril R., McDonald T.J. Formation and toxicity of brominated disinfection byproducts during chlorination and chloramination of water: a review. *J. Environ. Sci. Health B*, 2014, vol. 49, no. 3, pp. 212–228. DOI: 10.1080/03601234.2014.858576
3. Egorova N.A., Bukshuk A.A., Krasovskiy G.N. Hygienic assessment of drinking water chlorination by-products in view of multi-route exposure. *Gigiena i sanitariya*, 2013, vol. 92, no. 2, pp. 18–24 (in Russian).
4. EPA/600/R-06/087. Exposures and internal doses of trihalomethanes in humans: multi-route contributions from drinking water. Available at: <http://nepis.epa.gov/Adobe/PDF/.pdf> (January 15, 2018).
5. Kujlu R., Mahdavianpour M., Ghanbari F. Multi-route human health risk assessment from trihalomethanes in drinking and non-drinking water in Abadan, Iran. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, vol. 27, pp. 42621–42630.
6. Nieuwenhuijsen M.J., Smith R., Golfinopoulos S. [et al.]. Health impacts of long-term exposure to disinfection by-products in drinking water in Europe: HIWATE. *J. Water Health*, 2009, vol. 7, no 2, pp. 185–207. DOI: 10.2166/wh.2009.073
7. Richardson S.D., Plewa M.J., Wagner E.D., Schoeny R., DeMarini D.M. Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection byproducts in drinking water: a review and roadmap for research. *Mutat. Res.*, 2007, vol. 636, no. 1–3, pp. 178–242. DOI: 10.1016/j.mrrev.2007.09.001
8. Drozdova E.V., Buraya V.V., Girina V.V., Suravets T.Z., Firago A.V. On the formation of drinking water disinfection by-products (regulated and emergent), their genotoxicity and carcinogenic effects: review and perspectives for further studies. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda*, 2016, no. 26, pp. 12–16 (in Russian).
9. Tellez Tovar S.S., Rodriguez Susa M. Cancer risk assessment from exposure to trihalomethanes in showers by inhalation. *Environ. Res.*, 2021, vol. 196, pp. 110401. DOI: 10.1016/j.envres.2020.110401
10. Evlampidou I., Font-Ribera L., Rojas-Rueda D., Gracia-Lavedan E. [et al.]. Trihalomethanes in Drinking Water and Bladder Cancer Burden in the European Union. *Environ. Health Perspect.*, 2020, vol. 128, no. 1, pp. 17001. DOI: 10.1289/EHP4495
11. Villanueva C.M., Gracia-Lavedan E., Bosetti C., Righi E. [et al.]. Colorectal cancer and long-term exposure to trihalomethanes in drinking water: a multicenter case-control study in Spain and Italy. *Environ. Health Perspect.*, 2017, vol. 125, no. 1, pp. 56–65. DOI: 10.1289/EHP155
12. Drozdova E.V., Sychik S.I., Hrynychak V.A., Rjabceva S.N. Experimental models of animal chronic pathology in assessing health risks for sensitive population groups. *Health Risk Analysis*, 2022, no. 2, pp. 185–195. DOI: 10.21668/health.risk/2022.2.17.eng
13. Backer L.C., Ashley D.L., Bonin M.A., Cardinali F.L. [et al.]. Household exposures to drinking water disinfection by-products: whole blood trihalomethane levels. *J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol.*, 2000, vol. 10, no. 4, pp. 321–326. DOI: 10.1038/sj.jea.7500098
14. Zaitseva N.V., May I.V., Klein S.V., Sedusova E.V. An experience of establishing and proving of harm to the public health caused by consumption of drinking water containing hyperchlorination products. *ZNiSO*, 2015, vol. 273, no. 12, pp. 16–18 (in Russian).
15. Zemlyanova M.A., Pustovalova O.V., Mazunina D.L., Sbov A.S. Biochemical marker indices of negative impacts in children under the exposure to the chlororganic compounds with drinking water. *Gigiena i sanitariya*, 2016, vol. 95, no. 1, pp. 97–101. DOI: 10.18821/0016-9900-2016-95-1-97-101 (in Russian).
16. Chetverkina K.V. On determination of reference chloroform content in children's blood. *Health Risk Analysis*, 2018, no. 3, pp. 85–93. DOI: 10.21668/health.risk/2018.3.09.eng
17. Blount B.C., Aylward L.L., Kind J.S., Backer L.S., Hays S.M. Human exposure assessment for DBPs: factors influencing blood trihalomethane levels. *Encyclopedia of Environmental Health*, 2011, vol. 3, pp. 100–107. DOI: 10.1016/B978-0-444-52272-6.00103-3
18. Ashley D.L., Blount B.C., Singer P.C. [et al.]. Changes in blood trihalomethane concentrations resulting from differences in water quality and water use activities. *Arch. Environ. Occup. Health*, 2005, vol. 60, no. 1, pp. 7–15. DOI: 10.3200/AEOH.60.1.7-15
19. Nuckols J.R., Ashley D.L., Lyu C., Gordon S.M. [et al.]. Influence of tap water quality and household water use activities on indoor air and internal dose levels of trihalomethanes. *Environ. Health Perspect.*, 2005, vol. 113, no. 7, pp. 863–870. DOI: 10.1289/ehp.7141
20. Backer L.C., Lan Q., Blount B.C., Nuckols J.R. [et al.]. Exogenous and Endogenous Determinants of Blood Trihalomethane Levels after Showering. *Environ. Health Perspect.*, 2008, vol. 116, no. 1, pp. 57–63. DOI: 10.1289/ehp.10049
21. Riederer A.M., Dhingra R., Blount B.C., Steenland K. Predictors of blood trihalomethane concentrations in NHANES 1999–2006. *Environ. Health Perspect.*, 2014, vol. 122, no. 7, pp. 695–702. DOI: 10.1289/ehp.1306499
22. Caccamo D., Cesareo E., Mariani S., Raskovic D. [et al.]. Xenobiotic Sensor- and Metabolism-Related Gene Variants in Environmental Sensitivity-Related Illnesses: A Survey on the Italian Population. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2013, vol. 2013, pp. 831969. DOI: 10.1155/2013/831969
23. Gandarilla-Esparza D.D., Calleros-Rincón E.Y., Macias H.M., González-Delgado M.F. [et al.]. FOXE1 polymorphisms and chronic exposure to nitrates in drinking water cause metabolic dysfunction, thyroid abnormalities, and genotoxic damage in women. *Genet. Mol. Biol.*, 2021, vol. 44, no. 3, pp. e20210020. DOI: 10.1590/1678-4685-GMB-2021-0020
24. Thier R., Brüning T., Roos P.H., Rihs H.P. [et al.]. Markers of genetic susceptibility in human environmental hygiene and toxicology: the role of selected CYP, NAT and GST genes. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 2003, vol. 206, no. 3, pp. 149–171. DOI: 10.1078/1438-4639-00209

25. Autrup H. Genetic polymorphisms in human xenobiotic metabolizing enzymes as susceptibility factors in toxic response. *Mutat. Res.*, 2000, vol. 464, no. 1, pp. 65–76. DOI: 10.1016/s1383-5718(99)00167-9
26. Salas L.A., Bustamante M., Gonzalez J.R., Gracia-Lavedan E. [et al.]. DNA methylation levels and long-term trihalomethane exposure in drinking water: an epigenome-wide association study. *Epigenetics*, 2015, vol. 10, no. 7, pp. 650–661. DOI: 10.1080/15592294.2015.1057672
27. Kogevinas M., Bustamante M., Gracia-Lavedán E., Ballester F. [et al.]. Drinking Water Disinfection By-products, Genetic Polymorphisms, and Birth Outcomes in a European Mother–Child Cohort Study. *Epidemiology*, 2016, vol. 27, no. 6, pp. 903–911. DOI: 10.1097/EDE.0000000000000544
28. Cantor K.P., Villanueva C.M., Silverman D.T., Figueroa J.D. [et al.]. Polymorphisms in GSTT1, GSTZ1, and CYP2E1, Disinfection By-products, and Risk of Bladder Cancer in Spain. *Environ. Health Perspect.*, 2010, vol. 118, no. 11, pp. 1545–1550. DOI: 10.1289/ehp.1002206
29. Infante-Rivard C. Drinking Water Contaminants, Gene Polymorphisms, and Fetal Growth. *Environ. Health Perspect.*, 2004, vol. 112, no. 11, pp. 1213–1216. DOI: 10.1289/ehp.7003
30. Zhou B., Yang P., Gong Y.-J., Zeng Q. [et al.]. Effect modification of CYP2E1 and GSTZ1 genetic polymorphisms on associations between prenatal disinfection by-products exposure and birth outcomes. *Environ. Pollut.*, 2018, vol. 243, pt B, pp. 1126–1133. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.09.083
31. Bonou S.G., Levallois P., Giguère Y., Rodriguez M., Bureau A. Prenatal exposure to drinking-water chlorination by-products, cytochrome P450 gene polymorphisms and small-for-gestational-age neonates. *Reprod. Toxicol.*, 2017, vol. 73, pp. 75–86. DOI: 10.1016/j.reprotox.2017.07.019
32. Yang P., Zeng Q., Cao W.-C., Wang Y.-X. [et al.]. Interactions between CYP2E1, GSTZ1 and GSTT1 polymorphisms and exposure to drinking water trihalomethanes and their association with semen quality. *Environ. Res.*, 2016, vol. 147, pp. 445–452. DOI: 10.1016/j.envres.2016.03.009
33. Garte S., Gaspari L., Alexandrie A.K., Ambrosone C. [et al.]. Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2001, vol. 10, no. 12, pp. 1239–1248.
34. Drozdova E.V., Sychik S.I., Syakhovich V.E., Pakhadnia K.N. [et al.]. Chloroform content in the blood of the population as a biomarker of exposure to drinking water disinfection by-products. *Meditinskii zhurnal*, 2023, vol. 83, no. 1, pp. 23–32. DOI: 10.51922/1818-426X.2023.1.23 (in Russian).

Drozdova E.V., Kolesneva E.V., Syakhovich V.E., Dalhina N.A. Polymorphisms of xenobiotic metabolism enzyme genes CYP2E1, GSTM1, GSTT1, EPHX1 as biomarkers of sensitivity to exposure to water disinfection byproducts (using chloroform as an example). Health Risk Analysis, 2023, no. 1, pp. 157–170. DOI: 10.21668/health.risk/2023.1.15.eng

Получена: 07.10.2022

Одобрена: 13.03.2023

Принята к публикации: 21.03.2023