

УДК 575: 613.62

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ И РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К ПРОФЕССИОНАЛЬНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ У РАБОТНИКОВ УГЛЕДОБЫВАЮЩИХ ПРЕДПРИЯТИЙ КУЗБАССА: АНТРАКОСИЛИКОЗ

© 2011 В.В. Захаренков, Н.И. Гафаров

Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены  
и профессиональных заболеваний СО РАМН, г. Новокузнецк

Поступила в редакцию 04.10.2011

Изучено распределение биохимических маркеров генов *HP*, *GC*, *EsD*, *AcP*, полиморфизм нуль-аллелей ферментов биотрансформации – трансфераз *GSTT1* (*GST-θ1*), *GSTM1* (*GST-μ1*), а также полиморфизм *VNTR4* гена *NOS3* у больных антракосиликозом и у здоровых лиц. Показано, что наиболее подвержены заболеванию обладатели генотипов *HP 1-1*, *GC 2-2*, *EsD 1-2*, *AcP bb*, а резистентны обладатели *HP 2-2*, *GC 1-1*, *EsD 1-1*, *AcP aa*, *AcP bc*. В старшей возрастной группе больных лиц в большинстве случаев частота генотипов риска ниже, а частота генотипов резистентности выше, чем в младшей возрастной группе, что может указывать на профессиональный отбор у работников угледобывающих предприятий.

Ключевые слова: генетические маркеры, генотип, генетическая предрасположенность, резистентность

Угольная отрасль до настоящего времени остается одной из важнейших в промышленности России, а Кузбасс является ведущим угольным районом страны. В структуре профессиональной заболеваемости работников угледобывающей промышленности болезни органов дыхания занимают одно из первых мест. Наряду с таким способом снижения профессиональной заболеваемости, как исключение неблагоприятного производственного фактора, важное место занимает разработка методов ранней диагностики профессиональных заболеваний, основанная на изучении наследственной предрасположенности к профессиональным болезням. Анализ ассоциаций генетических маркеров с заболеваниями позволяет выявить среди населения группы лиц повышенного риска к отдельным заболеваниям, а это дает возможность разработки мер своевременной профилактики [1]. Это направление является приоритетным в современной медицине труда [4].

**Цель работы:** изучить связь биохимического и молекулярно-генетического полиморфизма с предрасположенностью к антракосиликозу – профессиональному заболеванию органов дыхания у работников угледобывающих шахт Кузбасса

**Материалы и методы.** Обследование проводилось в клинике НИИ КППЗ СО РАМН, г.Новокузнецк. В ходе работы было обследовано

307 работников угледобывающих предприятий Кузбасса, больных антракосиликозом (АС), и 69 человек – контрольная группа здоровых лиц, работающих в тех же санитарно-гигиенических условиях, но не имеющих профессиональной патологии. Все обследованные лица по национальной принадлежности – русские, возраст – 20-59 лет. Материалом для исследования служили образцы венозной крови и результаты клинических исследований. Сывороточные маркеры – гаптоглобин *HP* (аллели  $Hp^1$  и  $Hp^2$ ) и группоспецифический компонент *GC* (аллели  $Gc^1$  и  $Gc^2$ ) определяли методом электрофореза в полиакриламидном геле, эритроцитарные изоферменты – флуоресцентная эстераза *EsD* (аллели  $EsD^1$  и  $EsD^2$ ), кислая фосфатаза *ACP* (аллели *AcPa*, *AcPb*, *AcPc*) – определялись электрофорезом в крахмальном геле [8].

Изучался полиморфизм ДНК. Ген *GSTT1* (ЕС 2.5.1.18, хромосомная локализация – 22q11.23) кодирует глутатион-S-трансферазу класса θ, которая локализована в эритроцитах и связана со II фазой биотрансформации ксенобиотиков. Ген *GSTM1* (ЕС 2.5.1.18, хромосомная локализация – 1p13.3), кодирует глутатион-S-трансферазу класса μ, которая локализована в цитоплазме и метаболизирует ксенобиотики совместно с цитохромами P450 [12]. Из сопутствующих мультифакторных заболеваний в ряде случаев встречались артериальная гипертония, поэтому мы изучили полиморфизм 4-го интрона (аллели A/B) гена *NOS3* (7q35-q6), который кодирует эндотелийную синтазу оксида азота. Выделение ДНК проводилось фенол-хлороформным методом [6]. Генотипирование для генов *GSTT1*, *GSTM1* и *NOS3* проводили с помощью мультиплексной полимеразной цепной реакции [9, 14].

Захаренков Василий Васильевич, академик РАЕН, доктор медицинских наук, директор  
Гафаров Николай Исмаилович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории популяционной генетики. E-mail: genlab\_nk@mail.ru

Для кодоминантных генетических систем оценивали соответствие наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга [2]. Статистическую значимость различий в распределении полиморфных вариантов между группами здоровых и больных лиц оценивали по критерию  $\chi^2$  с поправкой Йетса на непрерывность. Об ассоциации разных генотипов с заболеванием судили по величине OR-отношению шансов [13] при уровне значимости  $p \leq 0,05$ . Вычисления проводили с помощью пакета программ «STATISTICA 6.0», а также по оригинальным программам. В данной работе мы оценивали частоты генотипов и фенотипов в двух возрастных группах больных лиц: 20-49 лет и 50-59 лет.

### Результаты и обсуждение.

#### Биохимические полиморфные системы.

Анализ литературных данных указывает на неодинаковую функциональную активность продуктов разных аллелей ряда генов. Для гаптоглобина это неодинаковое сродство разных генотипов к *Hb*, функции антител продуктов *HP 2-2* и *HP 2-1* против некоторых патогенных микроорганизмов, их большая физиологическая устойчивость по сравнению с *HP 1-1* [8]. Показана роль *HP* как белка «острой фазы» при воспалительных заболеваниях. Для флуоресцентной эстеразы *EsD* обнаружено, что функциональная активность гена *EsD1* на 60% выше, чем *EsD2* [10]. Изучение группоспецифического компонента – основного переносчика витамина  $D_3$  – показало, что полиморфизм *GC* может быть одним из факторов риска хронических обструктивных заболеваний лёгких [11].

Распределение генотипов *HP*, *GC*, *EsD*, *ACP* у больных и у здоровых лиц в большинстве случаев соответствовало правилу Харди-Вайнберга и было сходно с распределением генотипов и генов, изученных у русскоязычного населения Сибири [3]. Статистически значимые различия лицами по значениям  $\chi^2$  и OR между больными АС и здоровыми лицами обнаружены для локусов *GC*, *EsD* и *ACP*. Генотипами риска являются *GC 2-2*, *EsD 1-2*, *ACP bb*, и, возможно, генотип *HP 1-1* (OR=2,02;  $p=0,061$ ). Протективным действием обладают генотипы *GC 1-1*, *EsD 1-1*, *ACP aa*, *ACP bc*, и, возможно, *HP 2-2* (OR=0,57;  $p=0,056$ ). В большинстве случаев у больных старшей возрастной группы (50-59 лет) частота генотипов риска снижена по сравнению с лицами возраста 20-49 лет, что может указывать на довольно позднюю по возрасту элиминацию обладателей этих генотипов вследствие выбывания их с производства по состоянию здоровья. Вероятно, наличие этих генотипов способствует более тяжёлому течению болезни. С другой стороны, частота протективных генотипов в старшей возрастной группе выше, чем у работников 20-49 лет. Возможно, это связано как с более успешной адаптацией их обладателей к неблагоприятным факторам подземной добычи угля, так

и с выбыванием генотипов риска из этой группы работников.

По системе *ACP* также наблюдалось соответствие наблюдаемого и ожидаемого распределения генотипов как в основной, так и в контрольной группах. Но к генотипам риска относятся генотип *ACP bb* – самый распространенный среди остальных генотипов. Его частота (0,402) достоверно выше, чем в контроле (0,1739). С другой стороны, с возрастом у больных лиц его частота увеличивается с 0,233 до 0,4431. Возможно, наличие этого генотипа обуславливает лишь повышенный риск заболевания АС.

#### Молекулярно-генетический полиморфизм.

Частота нуль-аллелей глутатионтрансфераз *GSTT1* и *GSTM1*, генотипов *VNTR* гена *NOS3* в основном соответствовали уже опубликованным данным по России [5, 7]. «Нуль-аллель» гена *GSTT1* в гомозиготном состоянии обуславливает отсутствие активности его продукта. Частота «нуль-аллеля» у европеоидов достигает 38%. Полиморфизм *GSTT1* может приводить к индивидуальным различиям в скорости метаболизма некоторых ксенобиотиков [12]. Отсутствие активности *GSTM1* может быть фактором риска раковых заболеваний, например, рака лёгких [15], атопической бронхиальной астмы [5].

Ни по одному из указанных полиморфизмов не было обнаружено статистически достоверных различий по частотам гено - и фенотипов между больными антракосиликозом и здоровыми лицами. Возможно, это связано с большим количеством генов, участвующих в процессах детоксикации, с перекрывающейся субстратной специфичностью. Определённое значение играет и тяжесть заболевания: обследованные нами лица относятся к работающему населению. Не было также обнаружено связи полиморфизма *VNTR* с наличием гипертонии ни у больных антракосиликозом, ни по сравнению с контрольной группой.

**Выводы:** проведенное исследование показало, что в развитии профессионального антракосиликоза у шахтёров-угольщиков определённую роль играют эндогенные факторы, в частности, особенности генетического статуса. Это было показано для 3 биохимических полиморфных систем из 4 изученных. Эндогенными факторами риска развития антракосиликоза у шахтёров-угольщиков юга Кузбасса является наличие маркёров *HP 1-1*, *GC 2-2*, *EsD 1-2*, *ACP bb*. Эндогенными факторами резистентности к развитию антракосиликоза является наличие маркёров *HP 2-2*, *GC 1-1*, *Es D 1-1*, *ACP aa*, *ACP bc*. Вероятно, есть смысл изучать сочетания генотипов риска профессиональных заболеваний. Этот анализ будет проведён в дальнейшем. При условии интегрирования экзогенных и эндогенных факторов риска профессионального заболевания возможно создание системы оценки риска, которая будет максимально приближена к реальным условиям производства и обладать прогностической

ценностью. Необходимы дальнейшие исследования в этом чрезвычайно перспективном направлении, с использованием современных молекулярно-генетических технологий и анализа физиолого-биохимических показателей у здоровых и больных лиц.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Вейр, Б. Анализ генетических данных / Б. Вейр. – М.: Мир, 1995. 400 с.
2. Баранов, В.С. Геном человека и гены «предрасположенности» / В.С. Баранов, Е.В. Баранова, Т.Э. Иващенко, М.В. Асеев. – СПб.: Интермедика, 2000. 272 с.
3. Генофонд и геногеография народонаселения. Т.1. Генофонд населения России и сопредельных стран / Под ред. Ю.Г. Рычкова. – СПб.: Наука, 2000. 611 с.
4. Измеров, Н.Ф. Медицина труда. Введение в специальность / Н.Ф. Измеров, А.А. Каспаров – М.: Медицина, 2002. 392 с.
5. Молекулярная клиническая диагностика. Методы: Пер. с англ. / Под ред. С. Херрингтона, Дж. Макги. – М.: Мир, 1999. 558 с.
6. Мустафина, О.Е. Полиморфизм минисателлита гена эндотелиальной синтазы оксида азота: исследование в популяциях Волго-Уральского региона и анализ ассоциаций с инфарктом миокарда и эссенциальной гипертензией / О.Е. Мустафина, Е.И. Шагисултанова, Т.Р. Насибуллин и др. // Генетика. 2001. Т. 37, № 5. С. 668-674.
7. Прокоп, О. Группы крови человека: Пер. с нем. / О. Прокоп, В.М. Геллер. – М.: Медицина, 1991. 511 с.
8. Ляхович, В.В. Роль ферментов биотрансформации ксенобиотиков в предрасположенности к бронхиальной астме и формировании особенностей её клинического фенотипа / В.В. Ляхович, В.А. Вавилин, С.И. Макарова и др. // Вест. РАМН. 2000. № 12. С. 36-41.
9. Ishii, T. Association of Gc-globulin variation with susceptibility to COPD and diffuse panbronchiolitis / T. Ishii, N. Keicho, S. Teramoto et al. // Eur. Respir. J. 2001. Vol. 18, N 5. P. 753-757.
10. Novoradovsky, A. Endothelial nitric synthase as a potential susceptibility gene in the pathogenesis of emphysema in alpha-1-antitrypsin deficiency / A. Novoradovsky, M.L. Brantly, M.A. Waclawiw et al. // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. 1999. Vol. 20. P. 441-447.
11. Horai, S. Differential enzyme activities in human esterase D phenotypes / S. Horai, E. Matsunaga // Hum Genet. 1984. Vol. 66, N 2-3. P. 168-170.
12. Seidegard, J. Isoenzyme(s) of glutathione transferases (class mu) as a marker for susceptibility to lung cancer: a follow up study / J. Seidegard, R.W. Pero, M.M. Markowitz et al. // Carcinogenesis. 1990. Vol. 11. P. 33-36.
13. Mannervik, B. The isozymes of glutathione transferase // Adv. Enzym. Relat. Areas Molec. Biol. 1985. Vol. 57. P. 357-417.
14. Pearce, N. What does the odds ratio estimate in case-control study? // Int. J. Epidemiol. 1993. Vol. 26, N 6. P. 1189-1192.
15. Spurdle, A.B. Polymorphisms at the glutathione-S-transferase GSTM1, GSTT1 and GSTP1 loci: risk of ovarian cancer by histological subtype / A.B. Spurdle, P.M. Webb, D.M. Purdie et al. // Carcinogenesis. 2001. Vol. 22. P. 67-72.

**GENETIC PREDISPOSITION AND RESISTANCE TO OCCUPATIONAL DISEASES OF RESPIRATORY ORGANS AT WORKERS OF KUZBAS COAL-MINING ENTERPRISES: ANTRACOSILICOSIS**

© 2011 V.V. Zaharenkov, N.I. Gafarov

Scientific Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases  
RAMS, Novokuznetsk

Distribution of biochemical markers of genes HP, GC, EsD, AcP, polymorphism zero-alleles of biotransformation enzymes – transferases GSTT1 (GST – θ1), GSTM1 (GST - μ 1), and also polymorphism of VNTR4 gene NOS3 at patients with antracosilicosis and at healthy one are studied. It is shown that owners of genotypes HP 1-1, GC 2-2, EsD 1-2, AcP bb are most subject to disease, and resistant – the owners of HP 2-2, GC 1-1, Es D 1-1, AcP aa, AcP bc. In the senior age group of patients in most cases frequency of genotypes of risk is more lower, and frequency of genotypes of resistance higher, than in younger age group that can specify in professional selection at workers of the coal-mining enterprises.

Key words: *genetic markers, genotype, genetic predisposition, resistance*

Vasiliy Zakharenkov, Academician of RANS, Doctor of Medicine, Director  
Nikolay Gafarov, Candidate of Biology, Leading Research Fellow, Chief of the Population Genetics Laboratory. E-mail: genlab\_nk@mail.ru