

УДК 575.1

СОПРЯЖЕННОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *NQ01* С ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИМИ ЭФФЕКТАМИ У ДЕТЕЙ ЧЕЧЕНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

© 2013 А. М.-Х. Солтаева, П.М. Джамбетова, М.М. Ацаева, З.И. Бисултанова,
З.Р. Бисултанова

Чеченский государственный университет, г. Грозный

Поступила в редакцию 30.09.2013

Оценена однородность чеченской популяции в загрязненных и экологически благополучных районах по полиморфным вариантам гена *NQ01* rs1800566. Изучена взаимосвязь между полиморфизмом гена детоксикации ксенобиотиков *NQ01* с частотой микроядер в букальных эпителиоцитах у детей чеченской популяции (529 человек), проживающих в разных районах Чеченской республики, с различной степенью загрязнения нефтепродуктами. Увеличенная частота микроядер отмечена у носителей мажорного генотипа С/С гена *NQ01*, однако данное различие статистически не значимо.

Ключевые слова: *дети, чеченская популяция, загрязненные районы, микроядра, полиморфизм генов, гены детоксикации ксенобиотиков*

Загрязнение окружающей среды нефтью и нефтепродуктами – одна из серьезнейших экологических проблем многих регионов России, в том числе и Чеченской республики (ЧР). ЧР – крупнейший в прошлые десятилетия регион нефтедобычи, в настоящее время остается зоной повышенного экологического риска. По данным специалистов Центра Госсанэпиднадзора по ЧР основные источники загрязнения окружающей среды на территории республики – это кустарная переработка нефти и нефтепродуктов, работа автотранспорта и др. [7]. Среди комплекса проблем, связанных с загрязнением окружающей среды нефтью и нефтепродуктами, особое место занимает оценка возможных генетических последствий на организм человека. Актуальность этой проблемы связана с тем, что многие вещества, образующиеся при перегонке нефти, обладают генотоксичным действием. Одним из

наиболее чувствительных генетических тестов техногенного загрязнения территории является цитогенетический анализ. Многочисленные исследования, включающие идентификацию и регистрацию клеток, имеющих в своем составе микроядра, показывают, что данные структуры часто встречаются при изменении условий существования организма и при различных заболеваниях. Высокий уровень частоты клеток с микроядрами может быть показателем различных патологических состояний организма: предраковых и раковых заболеваний [5, 11, 13, 15-17], нарушений сердечно-сосудистой системы [14]. Это позволяет использовать их в качестве своеобразного маркера патологических изменений в организме.

Важным фактором индивидуальной чувствительности людей в ответ на действие различных мутагенов является генетический полиморфизм [8]. Вклад генетического полиморфизма в формирование индивидуальной чувствительности генома человека к действию мутагенных факторов окружающей и производственной среды активно изучается во всем мире и концентрируется, преимущественно, в отношении изучения роли генов, кодирующих ферменты биотрансформации ксенобиотиков [6]. Система ферментов метаболизма и детоксикации ксенобиотиков имеет довольно широкий изоморфный спектр, что определяется полиморфизмом кодирующих их генов. Большое значение в чувствительности клеток к мутагенам имеют гены I и II фаз метаболизма и детоксикации ксенобиотиков [4].

Солтаева Арбият Магомед-Ханиповна, научный сотрудник. E-mail: soltaeva81@mail.ru

Джамбетова Петимат Махмудовна, кандидат биологических наук, доцент кафедры клеточной биологии, морфологии и микробиологии. E-mail: petimatlg@rambler.ru

Ацаева Марет Махмудовна, ассистент кафедры клеточной биологии, морфологии и микробиологии. E-mail: acaeva-mm@mail.ru

Бисултанова Зура Исановна, старший преподаватель кафедры клеточной биологии, морфологии и микробиологии. E-mail: zura_sun@mail.ru

Бисултанова Зарина Руслановна, ассистент кафедры гуманитарных, естественнонаучных и социальных дисциплин. E-mail: bis-zarina@yandex.ru

Цель исследования: анализ связи полиморфизма гена детоксикации ксенобиотиков *NQ01* с частотой микроядер в клетках буккального эпителия детей чеченской популяции, проживающих в загрязненной нефтепродуктами и условно «чистой» зонах.

Материал и методы. Обследовано 529 детей чеченской популяции в возрасте от 7 до 11 лет, проживающих в 8 селах разных районов ЧР. Из них 3 села с различной степенью загрязнения нефтепродуктами (Долинск, Мескер-Юрт, Николаевская). Дети из 5 сел, где подобного производства не отмечалось, были выбраны в качестве контроля. Эколого-ландшафтная характеристика обследованных территорий детально рассмотрена ранее в нашей статье [3]. Материалом для исследования явились клетки слизистых оболочек полости рта – буккальные эпителиоциты и клетки периферической крови. Кариологический анализ буккального эпителия проводили в соответствии с методическими рекомендациями «Оценка цитологического и цитогенетического статуса слизистых оболочек полости носа и рта у человека» [1] и классификацией Л.П. Сычевой [10]. Для изучения полиморфизма генов из периферической крови выделяли ДНК с помощью наборов Diatom DNA Prep 200, основанных на использовании гуанидинтиоционата и Nucleus-сорбента. Генотипирование осуществлялось с использованием аллельспецифической тетрапраймерной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Продукты амплификации разделяли электрофорезом на агарозном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием и визуализировали в проходящем ультрафиолетовом свете. Статистическую обработку результатов

исследований проводили стандартными методами с помощью пакета WinSTAT 2003.1, интегрированного в Excel.

Результаты исследования. Изучение распределения генотипов полиморфных вариантов гена *NQ01* у детей, проживающих в загрязненной нефтепродуктами селах, и в группе контроля показало однородность частот изученных генотипов в исследуемых группах. Распределение частот генотипов, образованных полиморфными аллелями гена *NQ01*, по группам приведено в табл. 1. Статистически значимых различий между группами в распределении генотипов изученного генетического маркера найдено не было. Полученные частоты генотипов для полиморфных вариантов гена системы детоксикации ксенобиотиков *NQ01* в настоящей работе близки к значениям в других европеоидных популяциях.

Таблица 1. Частота генотипов гена *NQ01* в изученной выборке

Локусы и генотипы		Контроль		Экспонированные	
		N	%	N	%
<i>NQ01</i> rs1800566	C/C	163	57,19	87	60,84
	C/T	105	36,84	48	33,57
	T/T	17	5,96	8	5,59

Примечание: N – количество человек; % – частота встречаемости данного генотипа

Для реализации поставленных задач в рамках данного исследования нами была определена частота микроядер в клетках слизистой оболочки щеки обследуемых детей и ее сопряженность с полиморфизмом гена *NQ01* rs1800566 (табл. 2).

Таблица 2. Частота микроядер в буккальных эпителиоцитах в зависимости от генотипов гена *NQ01* у обследованных детей

Локусы и генотипы		Частота микроядер			
		N	контроль	N	экспонированные
<i>NQ01</i> <i>609C>T</i>	C/C	163	0,58±0,12	87	2,01±0,39
	C/T	105	0,56±0,14	48	1,33±0,38
	T/T	17	0,59±0,55	8	1,75±1,07

Сравнительный анализ частот микроядер в буккальных эпителиоцитах, ассоциированных с генотипами гена *NQ01*, не показал значимых различий в группе детей из чистых районов. Частота микроядер в клетках щеки детей из загрязненных районов выше у носителей генотипа C/C по сравнению с остальными. Однако различия статистически незначимы.

Обсуждение результатов. В последнее время в литературе появилось много публикаций, посвященных изучению влияния генетического

полиморфизма на цитогенетические показатели и состояние здоровья лиц, контактирующих с высокотоксичными мутагенными веществами. Реакция организма человека на мутагенные воздействия различных агентов среды в связи генетическим полиморфизмом рассматривают как один из значимых показателей индивидуальной чувствительности людей к действию различных канцерогенов. Активно изучается вклад генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков в выраженность генотоксических эффектов

воздействия химических мутагенов [2, 8, 9]. Продукт гена *NQ01* (NAD(P)H - dehydrogenase, quinone) относится к ферментам первой фазы детоксикации и катализирует превращение нестабильных хинонов в относительно стабильные гидрохиноны, подвергающиеся конъюгации и выведению. Хиноны, в свою очередь, являются метаболитами в обмене бензола, они повреждают клеточные структуры по свободно-радикальному механизму. Степень активности фермента определяет путь метаболизма бензолов в организме (в совокупности с активностью пероксидазы). Экспрессия *NQ01* имеет место во всех типах клеток организма человека. Полиморфизм *C609T* приводит к появлению сайта узнавания для рестриктазы *HinfI*. В случае аллеля с заменой цитозина на тимин отмечается резкое снижение энзиматической активности фермента.

Выявленные в настоящем исследовании частоты генотипов гена хиноноксидоредуктазы 1 *NQ01* показали однородность сравниваемых групп детей чеченской популяции по аллельным вариантам полиморфного гена биотрансформации ксенобиотиков. Показано, что частота микроядер в клеточных популяциях буккального эпителия у детей, проживающих в условиях загрязнения окружающей среды нефтепродуктами, достоверно выше по сравнению с контрольной группой и указывает на генотоксичное действие нефтепродуктов на организм детей. Сопряженность с повышенной частотой микроядер выявлена у носителей мажорного генотипа *C/C* гена *NQ01*, однако, в данном случае данные отличаются недостоверно. Наблюдаемый повышенный уровень частот микроядер в клетках буккальных эпителиоцитов у детей гомозиготных по мажорному аллелю гена *NQ01* (*C*), проживающих в загрязненных селах, противоречит литературным данным: высокий уровень цитогенетических аномалий в клетках коррелировал у рабочих с *T/T* генотипом гена *NQ01* [12]. Это может быть связано как с различиями в экологических условиях, так и со спецификой генофонда изученных популяций.

Выводы: результаты, полученные нами для чеченской популяции, свидетельствуют об отсутствии значимой роли аллелей гена *NQ01* в оценке загрязнения окружающей среды нефтью и нефтепродуктами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Беляева, Н.Н. Медико-биологические критерии оценки влияния загрязнения окружающей среды на здоровье населения / Н.Н. Беляева, Л.Х. Мухамбетова, И.В. Петрова и др. // Гигиена и санитария. 2003. №6. С. 77-79.
2. Волков, А.Н. Уровень хромосомных aberrаций у лиц с различными фенотипами ацетилирования и генотипами NAT2, проживающих в условиях комплексного воздействия радона и тяжелых металлов / А.Н. Волков, А.Н. Глушков, Т.А. Головина и др. // Медицинская генетика. 2009. № 7. С. 24-29.
3. Джамбетова, П.М. Оценка влияния загрязнения почв нефтепродуктами на цитогенетический статус, показатели пролиферации и апоптоза у детей / П.М. Джамбетова, Л.Г. Молочаева, А.Б. Махмиева, Л.П. Сычева // Экологическая генетика. 2009. Т. 7. №4. С. 34-40.
4. Засухина, Г.Д. Механизмы устойчивости клеток человека к мутагенам // Успехи современной биологии. 2011. Т. 131. №3. С. 244-259.
5. Ловачева, О.В. Значение определения частоты ядерных протрузий в клетках бронхиального эпителия для дифференциальной диагностики туберкулеза и опухолей легких / О.В. Ловачева, Л.П. Сычева, Г.В. Евтущенко // Медицинская генетика. 2005. Т. 4. №5. С. 220.
6. Минина, В.И. Изучение вклада генетического полиморфизма в формирование индивидуальной чувствительности генома у рабочих теплоэнергетики / В.И. Минина, А.Я. Савченко, В.И. Баканова и др. // Гигиена и санитария. 2011. №5. С. 30-32.
7. Муслуева, Э.З. Анализ врожденных пороков развития у новорожденных в Чеченской республике / Э.З. Муслуева, И.И. Куценко // Материалы конференции «Успехи современного естествознания». 2006. №2. С. 64.
8. Ревазова, Ю.А. Генетический полиморфизм и частота спонтанных и индуцированных хромосомных aberrаций в лимфоцитах жителей Москвы / Ю.А. Ревазова, Л.В. Хрипач, И.Е. Сидорова и др. // Медицинская генетика. 2009. №4. С. 26-35.
9. Сидорова, И.Е. Изучение генетического полиморфизма и цитогенетических нарушений у лиц, имевших контакт с токсическими химическими соединениями / И.Е. Сидорова, Ю.А. Ревазова, В.В. Сафронов // Гигиена и санитария. 2004. №6. С. 59-62.
10. Сычева, Л.П. Полиорганный микроядерный тест на эксфолиативных клетках человека / Л.П. Сычева, М.А. Коваленко, С.М. Шереметьева и др. // Медицинская генетика. 2005. Т. 4. №6. С. 273.
11. Bonassi, S. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans / S. Bonassi, A. Znaor, M. Ceppi et al. // Carcinogenesis. 2007. V. 28. P. 625-631.
12. Kim, Y.J. Association of the *NQ01*, *MPO*, and *XRCC1* polymorphisms and chromosome damage among workers at a petroleum refinery / Y.J. Kim, J.Y. Choin, D. Paek, H.W. Chung // J. Toxicol. Environ. Health. 2008. V. 71. №5. P. 333-341.
13. Leal-Garza, C.H. Micronuclei in cervical smears and peripheral blood lymphocytes from women with and without cervical uterine cancer / C.H. Leal-Garza, R.M. Cerda-Flores, C.H. Leal-Elizondo et al. // Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2002. V. 515. №1-2. P. 57-62.
14. Murgia, E. Micronuclei, genetic polymorphisms and cardiovascular disease mortality in a nested case-control study in Italy / E. Murgia, V. Maggini, R. Barale et al. // Mutat. Res. 2007. V. 621. P. 113-118.

15. *Rajeswari, N.* Risk assessment in first degree female relatives of breast cancer patients using the alkaline Comet assay / *N. Rajeswari, Y.R. Ahuija, U. Malini et al.* // *Carcinogenesis*. 2000. V. 21, № 4. P. 557-561.
16. *Rosin, M.P.* The use of the micronucleus test on exfoliated cells to identify anti-clastogenic action in humans: a biological marker for the efficacy of chemopreventive agents // *Mutat. Res.* 1992. V. 267. №2. P. 265-276.
17. *Suhas, S.* Application of the micronucleus test to exfoliated epithelial cells from the oral cavity of beedi smokers, a high-risk group for oral cancer / *S. Suhas, K.S. Ganapathy, C. Gayatrivedi et al.* // *Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2004. V. 561. №1-2. P. 15-21.

ASSOCIATIVITY OF GENETIC POLYMORPHISM OF NQ01 GENE TO THE CYTOGENETIC EFFECTS AT CHILDREN OF CHECHEN POPULATION

© 2013 A.M.-H. Soltayeva, P.M. Dzhambetova, M.M. Atsayeva, Z.I. Bisultanova,
Z.R. Bisultanova

Chechen State University, Grozny

Uniformity of Chechen population in polluted and ecologically safe areas by polymorphic options of NQ01 rs1800566 gene is estimated. The interrelation between polymorphism of xenobiotics detoxication NQ01 gene with a frequency of microkernels in buccal epitheliocytes at children of Chechen population (529 children), living in different areas of Chechen republic, with various extent of pollution by oil products is studied. The increased frequency of microkernels is noted at carriers of major genotype of C/C of NQ01 gene, however this distinction statistically isn't significant.

Key words: children, Chechen population, polluted areas, microkernels, polymorphism of genes, xenobiotics detoxication genes

Arbiyat Soltaeva, Research Fellow. E-mail: soltaeva81@mail.ru
Petimat Dzgambetova, Candidate of Biology, Associate Professor
at the Department of Cell Biology, Morphology and Microbiology.
E-mail: petimat-lg@rambler.ru
Maret Atsaeva, Assistant at the Department of Cell Biology,
Morphology and Microbiology. E-mail: acaeva-mm@mail.ru
Zura Bisultanova, Senior Teacher at the Department of Cell
Biology, Morphology and Microbiology. E-mail: zura_sun@mail.ru
Zarina Bisultanova, Assistant at the Department of Humanitarian,
Natural-Scientific and Social Disciplines. E-mail:
bis-zarina@yandex.ru