

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СЫВОРОТОЧНЫХ И ЭРИТРОЦИТАРНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЁРОВ У БОЛЬНЫХ С ВИБРАЦИОННОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

© 2014 Н.И. Гафаров, В.В. Захаренков, Т.К. Ядыкина, А.С. Казицкая

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

Поступила 22.02.2014

Изучено распределение сывороточных и эритроцитарных генетических маркёров у шахтёров, страдающих вибрационной болезнью. Были выявлены типы белков и ферментов, которые достоверно чаще встречались у больных лиц по сравнению со здоровыми. Изучены концентрации НР и Нв у лиц разного возраста и с разными генотипами. Полученные данные обсуждаются.

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

Кузбасс – это регион с развитой добывающей и металлургической промышленностью. Это в значительной мере обуславливает и профессиональный состав населения, где его значительную часть составляют шахтёры и металлурги. Как следствие, в структуре заболеваемости большая доля приходится на профессиональные болезни. Наиболее распространены они у шахтёров, например, болезни опорно-двигательного аппарата, нейросенсорная тугоухость, болезни органов дыхания. Развитию этих заболеваний способствуют неблагоприятные факторы при добыче полезных ископаемых. К таким факторам относятся воздействие вибрации, шума, пыли с содержанием различных химических элементов, а также физическое перенапряжение и статические нагрузки в условиях охлаждающего микроклимата. Эти факторы в комплексе после 10-15 лет стажа работы у шахтёров приводят к развитию у них нейроортопедической патологии и болезней органов дыхания [1, 5].

Хотя профессиональные заболевания у шахтёров развиваются не изолированно, а в разных сочетаниях, вибрационная болезнь (ВБ) встречается в этих сочетаниях чаще всего. Это касается в первую очередь работников, занимающихся добычей угля и других ископаемых не только в шахтах, но и разрезах.

В основе формирования ВБ лежит сложный механизм нервно-рефлекторных и нейрогуморальных нарушений, приводящих к появлению очагов застойного возбуждения в различных отделах центральной нервной системы и симпатических ганглиях, изменениям периферического кровообращения и иннервации, развитию гипок-

сии и дистрофических поражений внутренних органов [1, 5]. ВБ характеризуется полиморфностью клинической симптоматики и своеобразием течения.

Больные в основном жалуются на боли в руках ноющего характера, чувство онемения, «ползания мурашек». Снижается вибрационная чувствительность, кожная температура кистей (ниже 25°C), часто развивается цианоз, а также дистрофические нарушения в мышцах и астено-невротические реакции в виде головной боли, общей слабости, повышенной утомляемости, раздражительности. При этом клиника и характер течения ВБ определяются основными физическими параметрами вибрации, суммарным временем её воздействия, местом и площадью соприкосновения с вибрирующим источником, положением тела, а также сопутствующими гигиеническими факторами – шумом, физическим напряжением, микроклиматом и др.

Однако известно, что у лиц, работающих на одном и том же предприятии в однотипных условиях труда, ВБ может существенно различаться по срокам развития, степени тяжести и характеру своего течения [5]. Вероятно, это зависит от биологических особенностей организма, определяющих неодинаковую чувствительность людей к действию производственной вибрации. Такое предположение подкрепляется известным фактом, что различия в течении ВБ могут быть обусловлены особенностями анатомической конституции человека. В связи с этим исследование индивидуальных генетических систем у больных ВБ является актуальным. Целью данной работы было изучение особенностей генетического статуса лиц, страдающих вибрационной болезнью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основную группу составили шахтёры, работающие в контакте с вибрацией, у которых была диагностирована ВБ той или иной степени выраженности. Контрольную группу составили работники шахт, не страдающие ВБ. Возраст обследованных – от 30 до 60 лет, наиболее представлен возраст 40-50 лет, пол мужской. Материалом для

Гафаров Николай Исмаилович, кандидат биологических наук, руководитель лаборатории популяционной генетики, genlab_nk@mail.ru; *Захаренков Василий Васильевич*, доктор медицинских наук, профессор, директор, zacharenkov@nvkz.kuzbass.net; *Ядыкина Татьяна Константиновна*, научный сотрудник лаборатории популяционной генетики, genlab_nk@mail.ru; *Казицкая Анастасия Сергеевна*, биолог лаборатории популяционной генетики, genlab_nk@mail.ru

исследования служили образцы венозной крови. Белки и изоферменты разделяли методом электрофореза в полиакриламидном и крахмальном геле [6]. Ингибитор протеаз α -I-антитрипсин разделялся методом изоэлектрофокусирования в полиакриламидном геле [8]. По этой системе регистрировали 6 генотипов MM, а также редкие генотипы MS и MZ, которые объединялись в один класс MR. Разделение изоферментов кислой фосфатазы АсР эритроцитов проводилось в крахмальном геле, в трис-цитратной системе, рН – 6,8 [7]. Статистическая обработка материала проводилась по стандартным алгоритмам биометрии. Достоверность различий в распределении полиморфных вариантов между больных лицами и контролем оценивали по критерию χ^2 с поправкой Йетса [3]. Об ассоциации разных генотипов с заболеванием судили по величине OR [8] при уровне значимости $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлены данные по распределению частот генотипов НР, GC, EsD, АсР, PI в выборке здоровых и больных лиц. В группе шахтеров, больных ВБ, и в группе здоровых лиц по большинству изученных маркеров (НР, GC, EsD) наблюдаемое распределение генотипов соответствовало ожидаемому исходя из равновесия Харди-Вайнберга, за исключением локусов АСР и PI, по которым показано статистически значимое отклонение от равновесия Харди-Вайнберга в

обеих изученных группах (табл. 1). В то же время по всем изученным маркерам в обследованных выборках частоты аллелей и генотипов находились в границах значений, показанных для европейского русского населения РФ и Сибири [2, 4, 6].

К генотипам риска относится НР 1-1. С возрастом (от 40 до 60 лет и старше) частота этого генотипа снижается с 17,6% до 11,1%. С увеличением возраста и стажа работы частота развития ВБ возрастает [5]. Таким образом, в данной ситуации наблюдается сопряженный процесс. С одной стороны, с возрастом возрастает число больных ВБ, и при этом наиболее подвержены ВБ обладатели генотипов НР 1-1. С другой стороны, по мере увеличения возраста (и, соответственно, стажа работы) убывает число обладателей таких генотипов именно в силу их большей подверженности ВБ и более быстрому выбыванию с производства.

Концентрация белка гаптоглобина НР в выборке обследованных лиц колебалась от 90 до 360 мг%, но в основном её значения составляли 150-200 мг%, т.е. в пределах нормы. Соотношение концентраций гаптоглобина по генотипам НР1-1 / НР1-2 / НР 2-2 в изученной нами выборке (табл. 2) составляет 183:185:161 мг%. В табл. 3 представлены данные по концентрации НР и Нв в 3-х возрастных группах больных лиц.

Таблица 1. Частоты генотипов и аллелей биохимических маркеров генов в группе больных вибрационной болезнью (ВБ) и в контроле

Локус	Генотип	Сравниваемые группы		OR	p
		Больные ВБ	Контроль		
1	2	3	4	5	6
НР	1-1	0,1297	0,0704	1,97	0,02
	1-2	0,4616	0,4648	0,99	0,99
	2-2	0,4087	0,4648	0,80	0,17
	N	663	213		
	Частота аллеля Нр ² χ^2	0,6395 0	0,6972 2,16		
GC	1-1	0,4838	0,4714	0,95	0,80
	1-2	0,4336	0,4449	1,05	0,82
	2-2	0,0826	0,0837	1,01	0,93
	N	678	227		
	Частота аллеля Gc ² χ^2	0,7001 0,76	0,6938 0,51		
EsD	1-1	68,99	81,78	0,50	0
	1-2	24,39	16,71	1,61	0,005
	2-2	6,62	1,51	4,63	0
	N	287	862		
	Частота аллеля EsD ¹ χ^2	0,8118 11,67	0,9014 3,13		
AcP	AA	4,19	9,57	0,41	0,005
	AB	27,97	35,25	0,71	0,02
	BB	51,06	39,08	1,63	0,0003
	AC	0,69	5,31	0,13	0,001
	BC	12,94	9,57	1,40	0,12
	CC	3,15	1,21	2,63	0,03
	N	286	11,49		
	Частота аллеля a	0,1853	0,2985		

Окончание таблицы 1

1	2	3	4	5	6
	Частота аллеля b	0,7150	0,6149		
	χ^2	21,36	6,38		
PI	M1M1	48,98	58,98	0,67	0,001
	M1M2	30,41	22,17	1,53	0,002
	M2M2	4,39	4,17	1,06	0,98
	M1M3	8,11	7,47	1,09	0,79
	M2M3	1,01	2,79	0,36	0,11
	M3M3	1,69	1,98	0,85	0,91
	MR (M1S, M2S)	5,41	2,44	2,28	0,007
	N	296	1967		
	Частота аллеля M1	0,6824	0,7379		
	Частота аллеля M2	0,201	0,1665		
	Частота аллеля M3	0,0625	0,0712		
Частота аллелей R	0,0541	0,0244			
	χ^2	30,56	138,4		

Примечания: N – объём выборки; χ^2 – тест для оценки соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому исходя из равновесия Харди-Вайнберга; OR – отношение шансов; p – уровень значимости значения χ^2 при сравнении различий в распределении генотипов между больными и контролем

Таблица 2. Распределение генотипов гаптоглобина HP и его концентрация в мг% у здоровых и больных лиц

Контингент	Генотипы			Количество лиц
	HP 1-1	HP 1-2	HP 2-2	
Здоровые лица	6,94%	45,83%	45,83%	213
Больные	10,89 %	47,21%	41,90%	358
Концентрация HP у больных ВБ	183,19± 5,49	184,97± 3,03	161,11± 3,72	

Таблица 3. Концентрация белка гаптоглобина HP и гемоглобина Hb у больных ВБ разного возраста

Возраст	Концентрация HP, мг%	Концентрация Hb, мг%
До 40 лет	171,04±6,38	155,61±2,15
41-50 лет	178,48±2,96	150,41±1,07
Больше 50 лет	186,72±3,59	147,65±1,28
Количество больных	384	384

По мере уменьшения количества гемоглобина в крови возрастает количество HP, который связывает свободный гемоглобин, таким образом, частично компенсирует потерю организмом железа. Это тем более важно, так как с возрастом интенсивность гемопоэза снижается, уменьшается количество как связанного, так и свободного гемоглобина. Такой компенсаторный механизм может играть определённую роль при ВБ, когда нарушается микроциркуляция и ухудшается трофика и газообмен в тканях конечностей и соединительной ткани. Это не единственное объяснение этого феномена. Нельзя исключать возрастание концентрации HP как белка «острой фазы» при воспалительных процессах, которые, как правило, сопровождают ВБ. Наконец, это может быть и чисто возрастным процессом, не связанным с ВБ. Для выяснения этого необходимы исследования на больших выборках здоровых людей.

По системе GC не обнаружено каких-либо значимых различий по частотам отдельных генотипов между здоровыми и больными лицами ни по отдельным выборкам, ни суммарно (табл. 1). В целом распределение генотипов характерно для русского и европеоидного населения. В дальнейшем анализе в качестве контроля использовались

данные, полученные для практически здорового взрослого населения г. Новокузнецка.

Среди генотипов флуоресцентной эстеразы (табл. 1) самым распространённым оказался EsD 1-1, который достоверно чаще ($p < 0,001$) встречается в выборке населения города по сравнению с больными ВБ. Показана положительная ассоциативная связь EsD 1-2 с ВБ. Третий полиморфный вариант этой системы (EsD 2-2) достоверно чаще встречается и у больных лиц и может рассматриваться как генотип риска.

По системе ингибитора протеаз (табл. 1) к генотипам риска относятся редкие варианты, главным образом M1S и M2S, связанные с пониженной ингибиторной ёмкостью крови. К генотипам резистентности можно отнести наиболее распространённый вариант M1M1. Генотип M1M2 показывает положительную ассоциативную связь с ВБ.

По системе AcP были обнаружены все возможные полиморфные варианты (табл. 1). Генотипами риска оказались гомозиготные варианты AcP bb и AcP cc, генотипами резистентности – AcP aa, AcP ab, AcP ac. По распределению генотипов население Новокузнецка в основном сходно с населением других регионов Сибири и России.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведённое исследование выявило статистическую сопряжённость некоторых маркёров, или генотипов, с вибрационной болезнью. К ним относятся HP 1-1, EsD 2-2, AcP bb и AcP cc, MS и MZ ингибитора протеаз PI. Выявлены генотипы, которые, наоборот, реже встречаются у больных лиц, чем у здоровых. Это EsD 1-1, M1M1 ингибитора протеаз PI, изоферменты кислой фосфатазы AcP aa, AcP ab, AcP ac. Полученные результаты можно использовать для своевременной профилактики развития этой профессиональной патологии у работников угольной промышленности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Артамонова В.Г., Шаталова В.Н. Профессиональные болезни. М.: Медицина, 1996. 431 с.
2. Балановская Е.В. Генофонд и геногеография населения СССР // Генетика. 1992. Т. 28. № 1. С. 52-75.
3. Вейр Б. Анализ генетических данных. М.: Мир, 1995. 400 с.
4. Генофонд и геногеография народонаселения. Т. 1. Генофонд населения России и сопредельных стран // Под ред. Ю.Г. Рычкова. СПб.: Наука, 2000. 611 с.
5. Дранник Г.Н., Дизик Г.М. Генетические системы крови человека и болезни. Киев: Здоровья. 1990. С. 6-97.
6. Измеров Н.Ф., Каспаров А.А. Медицина труда. Введение в специальность. М.: Медицина. 2002. 392 с.
7. Спицын В.А. Биохимический полиморфизм человека (антропологические аспекты). М: МГУ, 1985. 216 с.
8. Троицкий Г.В., Ажицкий Г.В. Изоэлектрофокусирование белков в самоорганизующихся и искусственных pH-градиентах. Киев.: Наукова Думка. 1984. 220 с.
9. Pearce N. What does the odds ratio estimate in a case-control study? // Int. J. Epidemiol. 1993. Vol. 26, № 6. P. 1189-1192.

DISTRIBUTION OF SERUM AND ERYTHROCYTE GENETIC MARKERS IN THE PATIENTS WITH VIBRATION PATHOLOGY

© 2014 N.I. Gafarov, V.V. Zakharenkov, T.K. Yadykina, A.S. Kazitskaya

Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases under Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Novokuznetsk

The distribution of serum and erythrocyte genetic markers in the miners suffering from vibration disease is investigated. The types of proteins and enzymes significantly occurred in sick and healthy subjects are revealed. HP and Hb concentrations of in the subjects of different age and with different genotypes are studied. The received data are being discussed.

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