



ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА

¹ О.В. Кочетова (Макарова),
¹ Т.В. Викторова, ² Л.К. Каримова

¹ Институт биохимии и генетики
Уфимского научного центра РАН
² Институт медицины труда и экологи-
гии человека, г. Уфа

✿ Проведен анализ частот полиморфных вариантов генов *CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP2E1*, *EPHX1*, *NAT2* у рабочих производств гептила и этилбензола–стирола с диагнозом профессиональный токсический гепатит, в группе риска по развитию токсического гепатита и у здоровых работающих. Анализ полиморфизма гена *CYP1A1* показал существенное повышение частоты гетерозиготного генотипа Ile/Val в группе рабочих с токсическим гепатитом до 11,27% (OR = 5,8), в группе риска до 9,8% (OR = 5,3) по сравнению со здоровыми рабочими, у которых частота данного генотипа составила 2,1%. Изучение полиморфизма T337C 3-го экзона гена *EPHX1*, ассоциированного с пониженной активностью эпоксидгидролазы, показало существенное увеличение частоты гетерозиготного генотипа (Tyr/His) у больных токсическим гепатитом до 48,0% OR = 2,5, у рабочих группы риска до 50,3% OR = 2,8 по сравнению со здоровыми рабочими, у которых частота данного генотипа составила 27,0%. У больных профессиональным токсическим гепатитом установлены генетические маркеры предрасположенности к развитию токсического гепатита. Выявлены варианты генетического полиморфизма, ассоциированные с устойчивостью к действию гепатототропных ядов.

✿ **Ключевые слова:** рабочие; профессиональный токсический гепатит; полиморфизм; цитохром P 450; микросомальная эпоксидгидролаза; N-ацетилтрансфераза-2.

РОЛЬ ГЕНОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ В ФОРМИРОВАНИИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ТОКСИЧЕСКОМУ ГЕПАТИТУ У РАБОЧИХ ПРОИЗВОДСТВ ГЕПТИЛА И ЭТИЛБЕНЗОЛА–СТИРОЛА

ВВЕДЕНИЕ

Опасность влияния окружающей среды на организм человека состоит в ее негативном воздействии как на здоровье отдельных индивидов, так и на приспособленность популяции в целом (Гичев, 2002). В связи с тем, что производственная среда является частью окружающей, и основываясь на принципе моделирования, мы предприняли попытку изучить воздействие производственных факторов на работающего в качестве модели взаимодействия организм–среда.

Известно, что профессиональные заболевания при одних и тех же условиях труда и продолжительности стажа возникают не у всех работающих (Кузьмина, 2001; Пай и соавт., 2003). Разные индивидуумы могут сохранять устойчивость или обнаруживать повышенную чувствительность к поступающим в организм токсичным веществам. При этом генетические особенности индивидуумов могут быть фактором, предрасполагающим к развитию у чувствительных людей различных патологических изменений (Баранов и соавт., 2000; Гичев, 2001). В настоящее время известно существование генетического полиморфизма ферментов, ответственных за биотрансформацию в организме чужеродных химических соединений. Учитывая немаловажную роль системы детоксикации в обезвреживании вредных веществ, поступающих в организм рабочих в процессе производственной деятельности, поиск генетических маркеров индивидуальной чувствительности рабочих, подвергающихся воздействию токсичных веществ, на основе анализа полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков представляется актуальным (Ревазова, Журков, 2002). Ранее нами проводились работы по изучению генов метаболизма ксенобиотиков у рабочих (Макарова и соавт., 2003). Целью данного исследования заключалась в оценке индивидуального риска развития профессионального токсического гепатита у рабочих производств гептила и этилбензола–стирола на основе изучения полиморфизма генов биотрансформации ксенобиотиков.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве модельного объекта для клинических, санитарно-гигиенических и молекулярно-генетических исследований были изучены работающие производства ОАО «Салаватнефтеоргсинтез»: твердого топлива (гептила) (N = 160) и этилбензола–стирола (N = 170). Возраст обследованных рабочих варьировал от 24 до 60

лет (средний возраст $45,60 \pm 8,35$ лет). Стаж работы на данных производствах варьировал от 8 до 40 лет (средний стаж работы $15 \pm 7,57$ лет). В обследованную выборку рабочих вошли 73 больных с профессиональным токсическим гепатитом, 163 больных группы риска по развитию токсического гепатита и 94 практически здоровых работающих.

Контрольную группу составили 335 практически здоровых лиц, жителей Республики Башкортостан. Основным критерием отбора в контрольную группу служило отсутствие профессионального контакта с вредными химическими веществами. Средний возраст индивидов контрольной группы составил $45,12 \pm 10,57$ лет. Группы обследованных рабочих и контроля были сопоставимы по возрасту, полу и этнической принадлежности.

Санитарно-гигиеническими методами установлено, что комплекс вредных производственных факторов в изученных производствах одинаков и включает вредные вещества, шум, тяжесть и напряженность труда. Ведущим производственным фактором в исследуемых производствах является химический. Действие вредных веществ носит комбинированный характер при интермитирующем режиме. Средние концентрации вредных веществ (гептил, стирол, этилбензол, бензол) колеблются в пределах ПДК, максимально разовые достигают 10 ПДК. По характеру действия токсичные вещества, присутствующие в воздухе рабочей зоны, обладают наркотическим, общетоксическим, гепатотоксическим действиями, а также являются канцерогенами и мутагенами.

Выделение ДНК из лимфоцитов периферической крови работающих и лиц контрольной группы осуществляли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции (Mathew, 1984). Полиморфизм генов: 7-го экзона (A4889G) гена *CYP1A1* (Oyama et al., 1991), 1-го экзона (C188T) гена *CYP2D6* (Kubota et al., 2000), 5' области (C1091T) гена *CYP2E1* (El-Zein et al., 1997), двух полиморфных локусов 3-го (T337C) и 4-го (A415G) экзонов гена *EPHX1* (Smith et al., 1997) и трех полиморфизмов гена *NAT2* (C481T, G590A, G857A) (Rochaet et al., 1999) изучали методом ПЦР и ПДРФ-анализа.

Продукты амплификации анализировались электрофоретически в ПААГ после окрашивания гелей бромистым этидием с последующей визуализацией ДНК-фрагментов в УФ-свете.

Статистическая обработка результатов исследования проведена с использованием компьютерной программы Statistica V.5.5. Разницу в структуре исходных данных определяли по критерию χ^2 с использованием программ (Rows x Columns RxC).

Показатель отношения шансов развития заболеваний (OR) при определенной комбинации генотипов рассчитывали по стандартной формуле: $OR = a/b*d/c$ (Schlesselman, 1982).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основными ферментами метаболизма токсичных промышленных веществ в печени являются ферменты цитохрома P 450 (CYP), микросомальной эпоксидгидролазы и N-ацетилтрансфераз (Зимин, 2003). Характерной особенностью CYP1A1 является его способность окислять плоские молекулы полициклических ароматических углеводородов в конформационных закрытых позициях. Фермент *CYP2D6* играет важную роль в метаболизме более чем 30 лекарственных веществ и промышленных соединений (нитрозоаминов, никотина и полиароматических углеводородов) (Orphanides, 2003). Изоформа *CYP2E1* является ключевым ферментом, который осуществляет окисление большинства промышленных химических соединений низкомолекулярной природы (Their et al., 2002). Известно, что зачастую образовавшиеся интермедиаты являются более токсичными для клетки и вызывают повреждение ДНК или мембран клетки, что приводит к канцерогенезу или развитию токсического процесса. В дальнейшем образовавшиеся эпоксиды вступают во взаимодействие с эпоксидгидролазой с формированием дигидродиолов или конъюгируют с глутатионом. Ариламин-N-ацетилтрансфераза (*NAT2*) контролирует фазу детоксикации ксенобиотиков путем их ацетилирования. *NAT2* — главный фермент биотрансформации соединений, содержащих гидразогруппу (ариламины, гидразины, гетероциклические амины). В кодирующей области гена *NAT2* обнаружено множество точковых мутаций, в результате которых значительно снижается стабильность и активность фермента, а также изменяется субстратная специфичность (Cascorbi et al., 1995). Мы исследовали три наиболее важных полиморфизма, в сумме влияющих на фенотип ацетилирования (Викторова и соавт., 2003).

В ходе работы нами было изучено восемь полиморфных локусов генов *CYP1A1*, *CYP2E1*, *CYP2D6*, *EPHX1*, *NAT2* у рабочих производств гептила и этилбензола—стирола и среди индивидов, не подвергающихся промышленному воздействию токсическими веществами.

При сравнительном анализе полиморфных вариантов генов I фазы биотрансформации ксенобиотиков (*CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP2E1*, *EPHX1*) в общей выборке рабочих и в контрольной группе, су-

шественных различий в распределении аллелей и генотипов выявлено не было (табл. 1). Обнаружена тенденция к повышению частоты быстрого фенотипа микросомальной эпоксидгидролазы в группе работающих до 32,79% по сравнению с 29,00% в контрольной группе ($\chi^2 = 3,69$; $p = 0,05$), что может указывать на большую адаптационную способность лиц, имеющих быстрый фенотип эпоксидгидролазы (см. табл. 1). Учитывая, что основная функция микросомальной эпоксидгидролазы состоит в гидролизе аренов, алкенов и алифатических эпоксидов и защите клеток от высокоактивных эпоксидных метаболитов, нельзя исключить, что лица, обладающие активными формами фермента *EPHX1*, имеют преимущество при контакте с вредными веществами гепатотропного действия.

По гену *NAT2* определено повышение частоты нормального генотипа *NAT2* *4/*4 в производственной группе до 16,06% при сравнении с контролем, где на долю этого генотипа приходилось 5,74% ($\chi^2 = 14,07$; $p = 0,0008$) (см. табл. 1).

Для идентификации генотипов, ассоциированных с предрасположенностью к токсическому поражению печени, проводили сравнение между больными токсическим гепатитом и здоровыми работающими. Для выявления генотипов ассоциированных с развитием гепатоза, сравнивали группу риска по развитию токсического гепатита со здоровыми рабочими.

Анализ полиморфизма гена *CYP1A1* показал существенное повышение частоты гетерозиготного генотипа Ile/Val в группе рабочих с токсическим ге-

Таблица 1

Распределение генотипов и фенотипов генов биотрансформации ксенобиотиков у рабочих

Частота генотипов и фенотипов		Рабочие в целом	Контроль		p
		p ± s _p (%)	p ± s _p (%)		
CYP1A1	Ile/Ile	91,08 ± 1,36	92,18 ± 1,56	0,151	0,698
	Ile/Val	8,70 ± 1,35	7,48 ± 1,53	0,198	0,657
	Val/Val	0,22 ± 0,23	0,34 ± 0,34	0,001	1,001
CYP2E1	C1C1	95,83 ± 1,13	93,65 ± 1,23	0,714	0,3989
	C1C2	4,17 ± 1,13	6,45 ± 1,23		
	C2C2	0	0	—	—
CYP2D6	Pro/Pro	76,36 ± 4,05	73,46 ± 2,45	0,227	0,634
	Pro/Ser	12,73 ± 3,18	13,58 ± 1,90	0,005	0,949
	Ser /Ser	10,91 ± 2,97	12,96 ± 1,87	0,158	0,692
EPHX 3 экзона	Tyr/Tyr	56,11 ± 2,36	59,62 ± 2,78	0,783	0,377
	Tyr/His	43,21 ± 2,35	38,14 ± 2,75	1,74	0,188
	His/His	0,68 ± 0,39	2,24 ± 0,83	2,332	0,127
EPHX 4 экзона	His/His	76,24 ± 2,02	75,16 ± 2,44	0,067	0,797
	His/Arg	22,17 ± 1,98	21,34 ± 2,31	0,034	0,854
	Arg/Arg	1,58 ± 0,59	3,50 ± 1,04	2,143	0,143
Фенотип EPHX	Норма	54,74 ± 2,87	56,00 ± 2,86	0,024	0,879
	Медленный	12,01 ± 1,56	12,67 ± 1,92	1,018	0,314
	Быстрый	32,79 ± 2,26	29,00 ± 2,62	3,691	0,055
	Очень медленный	0,46 ± 0,32	2,33 ± 0,87	5,985	0,115
NAT2	*4/*4	16,06 ± 1,87	5,74 ± 1,49	14,065	0,0008
	*4/*5	16,58 ± 1,89	17,21 ± 2,42	0,01	0,923
	*4/*6	7,25 ± 1,32	9,43 ± 1,87	0,679	0,411
	*4/*7	3,63 ± 0,95	4,92 ± 1,38	0,346	0,557
	*5/*5	10,62 ± 1,57	14,75 ± 1,38	2,01	0,157
	*5/*6	17,36 ± 1,93	17,62 ± 2,44	0,0005	1,001
	*5/*7	7,77 ± 1,36	9,43 ± 1,87	0,338	0,561
	*6/*6	5,44 ± 1,15	4,92 ± 1,38	0,011	0,919
	*6/*7	3,89 ± 0,98	2,87 ± 1,06	0,207	0,649
*7/*7	1,29 ± 0,57	0,40 ± 0,40	0,482	0,488	
Фенотип NAT2	Быстрый	42,45 ± 2,85	35,53 ± 2,76	3,519	0,067
	Медленный	57,55 ± 2,49	64,47 ± 2,68		

Таблица 2

Распределение генотипов и фенотипов генов биотрансформации ксенобиотиков у рабочих с учетом статуса здоровья

Частота генотипов, аллелей и фенотипов		Токсический гепатит	Группа риска	Здоровые рабочие	p*	p**
		абс (%)	абс (%)	абс (%)		
<i>CYP1A1</i>	Ile/Ile	63 (88,73)	146 (89,57)	91 (97,85)	0,036	0,029
	Ile/Val	8 (11,27)	16 (9,82)	2 (2,15)	0,036	0,029
	Val/Val	0 (0)	1 (0,61)	0 (0)	—	0,765
	Ile	134 (94,37)	308 (94,48)	184 (98,92)	0,04	0,024
<i>CYP2E1</i>	Val	8 (5,63)	18 (5,52)	2 (1,08)	0,04	0,024
	C1C1	59 (90,77)	149 (92,55)	89 (94,68)	0,524	0,69
	C1C2	6 (9,23)	12 (7,45)	5 (5,32)	0,524	0,69
	C2C2	0	0	0	0	0
<i>EPHX1</i> 3- экзон	C1	124 (95,38)	310 (96,27)	183 (97,34)	0,524	0,69
	C2	6 (4,62)	12 (3,73)	5 (2,66)	0,531	0,695
	Tyr/Tyr	37 (50,68)	79 (48,47)	69 (73,40)	0,005	0,0008
	Tyr/His	35 (47,95)	82 (50,31)	25 (26,60)	0,008	0,001
	His/His	1 (1,37)	2 (1,23)	0 (0)	0,238	0,4
<i>EPHX1</i> 4- экзон	Tyr	109 (74,66)	240 (73,62)	163 (86,70)	0,009	0,002
	His	37 (25,34)	86 (26,38)	25 (13,30)	0,008	0,228
	His/His	47 (74,60)	131 (76,16)	74 (79,57)	0,593	0,576
	His/Arg	14(22,22)	39 (22,67)	16 (17,20)	0,566	0,375
	Arg/Arg	2 (3,17)	2 (1,16)	3 (3,23)	1,000	0,481
<i>EPHX1</i> фенотип	His	108 (85,71)	301 (87,50)	164 (88,17)	0,642	0,932
	Arg	18 (14,29)	43 (12,50)	22 (11,83)	0,642	0,932
	Норма	31 (44,93)	85 (52,47)	59 (63,44)	0,019	0,076
	Медленный	28 (40,58)	59 (36,42)	22 (23,66)	0,018	0,026
	Быстрый	9 (13,04)	17 (10,49)	12 (12,90)	1,001	0,662
<i>NAT2</i>	Очень медленный	1 (1,45)	1 (0,62)	0 (0)	0,228	0,777
	*4/*4	10 (14,29)	21 (15,22)	15 (17,86)	0,705	0,742
	*4/*5	8 (11,43)	21 (15,22)	17 (20,24)	0,21	0,208
	*4/*6	4 (5,71)	19 (13,77)	6 (7,14)	0,977	0,733
	*4/*7	3 (4,29)	8 (5,80)	0 (0)	0,015	0,007
	*5/*5	9 (12,86)	14 (10,14)	7 (8,33)	0,515	0,834
	*5/*6	10 (14,29)	25 (18,12)	17 (20,24)	0,451	0,83
	*5/*7	7 (10,00)	9 (6,52)	8 (9,52)	1,001	0,578
	*6/*6	3 (4,29)	5 (3,62)	5 (5,95)	0,922	0,634
	*6/*7	3 (4,29)	8 (5,79)	1 (1,19)	0,488	0,182
<i>NAT2</i> фенотип	*7/*7	2 (2,86)	0 (0)	2 (2,38)	1,001	0,027
	Редкие комбинации (*5/*6/*7, *5/*6/*6, *5/*5/*7)	11 (15,7)	16 (11,59)	6 (7,14)	0,153	0,398
<i>NAT2</i> фенотип	Быстрый	25 (34,72)	59 (41,84)	38 (44,71)	0,268	0,778
	Медленный	47 (65,28)	82 (58,16)	47 (55,29)		

Примечание: * — p при сравнении здоровых рабочих с группой профессиональных больных; ** — p при сравнении здоровых рабочих с «группой риска».

патитом до 11,27% (OR = 5,8 (CI95% 1,08–40,85)), в группе риска до 9,8% (OR = 5,3 (CI95% 1,13–33,95)) по сравнению со здоровыми рабочими, у которых частота данного генотипа составила 2,1% (табл. 2). Это позволяет рассматривать гетерозиготный генотип данного гена в качестве маркера повышенной чувствительности организма к воздействию токсичных веществ производств гептила и этилбензола–стирола.

В литературных данных существует указание, что лица, имеющие контакт с ПАУ и являющиеся носителями гетерозиготного генотипа гена

CYP1A1, имеют повышенную частоту хромосомных aberrаций (Thier et al., 2003). Так, у рабочих алюминиевого производства и производства кокса было обнаружено достоверное повышение уровня метаболитов ПАУ в моче среди индивидов с генотипом Ile/Val, особенно в сочетании с делецией по гену *GSTM1* (Pan et al., 1998; Merlo, 1998). Тогда как в исследовании Пай с соавт. (2003) ассоциации с пылевым бронхитом по полиморфным вариантам гена *CYP1A1* получено не было.

Исследование полиморфизма T337C 3-го экзона гена *EPHX1*, ассоциированного с пониженной

активностью эпоксидгидролазы, показало существенное увеличение частоты гетерозиготного генотипа (Tyr/His) у больных токсическим гепатитом до 48,0% OR = 2,5 (CI95% 1,27–5,13), у рабочих группы риска до 50,3% OR = 2,8 (CI95% 1,56–5,04) по сравнению со здоровыми работающими, у которых частота данного генотипа составила 27,0%. Возможно, что вариант Tyr/His маркирует повышенный риск развития токсического поражения печени у работающих в контакте с ядами гепатотропного действия (см. табл. 2).

Согласно данным литературы, два полиморфизма 3 и 4-го экзонов гена *EPHX1* коррелируют с уровнем ферментативной активности микросомальной эпоксидгидролазы (Hassett et al., 1994, Корытина и соавт., 2003). Изучение распределения частот фенотипов микросомальной эпоксидгидролазы в группах рабочих с учетом статуса здоровья показало увеличение до 40,58% частоты медленной формы *EPHX1* в группе рабочих с токсическим гепатитом по сравнению с группой здоровых работающих (21,98%) ($\chi^2 = 5,781$; $p = 0,018$). Показатель отношения шансов (OR) составил 2,5 (CI95% 1,15–5,13), что указывает на рисковую значимость данного фенотипа. Вместе с тем нормальный фенотип чаще встречался в группе здоровых рабочих, и его частота достигала 63,44% по сравнению с больными токсическим гепатитом, у которых доля нормального фенотипа составила 44,93%, ($\chi^2 = 4,78$; $p = 0,03$), OR = 0,44 (CI95% 0,22–0,88). Вероятно, что данный фенотип можно рассматривать как фактор устойчивости к формированию токсического поражения печени.

На сегодняшний день известны работы по выявлению связи аллельных вариантов гена *EPHX1* с повышенной индивидуальной чувствительностью к вредным производственным факторам химической природы. Установлено повышение уровня токсичных метаболитов в крови у носителей делеции генов *GSTT1* и *GSTM1* в сочетании с медленными формами эпоксидгидролазы у рабочих 1,3-бутадиенового производства (Abdel-Rahman et al., 2000; 2003). Вместе с тем по данным Vodicka P. с соавт. (2002) у рабочих производства стирола был обнаружен отбор рабочих с медленной формой микросомальной эпоксидгидролазы и аллелем His полиморфизма 4-го экзона гена *EPHX1* в пользу их большей устойчивости к вредным условиям труда. Возможно, что данное расхождение было получено в силу малочисленности выборок обследованных рабочих и группы сравнения (Vodicka et al., 2002). Было установлено, что у рабочих, экспо-

нированных стиролом, наблюдалось увеличение мутаций гена *HPRT* с преобладанием аллеля His (Hemminki, 1997). Наши результаты согласуются с данными представленных авторов.

Анализ комбинаций генотипов гена *NAT2* у рабочих с учетом статуса здоровья показал, что вариант *NAT2* *4/*7 встречался только среди больных токсическим гепатитом, у которых его частота составила 4,29% ($\chi^2 = 5,28$; $p = 0,02$). У рабочих группы риска на его долю приходилось 5,80% ($\chi^2 = 5,61$; $p = 0,02$), тогда как в группе здоровых работающих данная комбинация не встречалась (см. табл. 2). При сравнении частоты генотипов гена *NAT2* установлено, что в группе риска отсутствует генотип *NAT2* *7/*7, тогда как в группе здоровых рабочих и профессиональных больных его частота составила 2,38% ($\chi^2 = 4,93$; $p = 0,03$).

По литературным данным хорошо изучена связь между фенотипом ацетилирования *NAT2* и предрасположенностью к различным заболеваниям (Баранов и соавт., 2000). При анализе распределения частот фенотипов *NAT2* была определена тенденция к повышению частоты медленных ацетиляторов в группе больных токсическим гепатитом до 65,28% по сравнению со здоровыми рабочими, где на долю медленного фенотипа приходилось 55,29%, однако различия не достигали статистической значимости ($\chi^2 = 3,24$; $p = 0,07$). Также были обнаружены комбинации генотипов гена *NAT2*, определенные как редкие (см. табл. 2) (Викторова и соавт., 2003).

В литературных источниках имеются данные о повышении частоты ДНК-аддуктов, уровня метаболитов ароматических аминов в моче и крови рабочих с фенотипом медленного ацетилирования, подвергающихся воздействию ароматических аминов, выхлопных газов (Indulski, 2000). Напротив, в работе Zhang J. et al., 2000) было определено, что фенотип быстрого ацетилирования предрасполагает к раку прямой кишки у рабочих, экспонированных гетероциклическими аминами. Установлено, что аллель *NAT2* *4 (отвечающий за фенотип быстрого ацетилирования) ассоциируется с повышением ДНК аддуктов в группе рабочих, подвергающихся воздействию высокими концентрациями ПАУ, особенно в сочетании с редкими аллелями гена *CYP1A1* (Zhang et al., 2000). Аналогично другим ферментам биотрансформации ксенобиотиков *NAT2* одновременно с детоксикацией ариламинов участвует в активации ароматических аминов (Zhang et al., 2000). Следовательно, в зависимости от природы вещества может либо обезвреживаться, либо, наоборот, увеличивается его токсич-

ность. У рабочих с фенотипом быстрого ацетилирования метаболизм токсичных веществ происходит быстрее, что может обуславливать резистентность к развитию профессиональных заболеваний гепатобилиарной системы.

Анализ ассоциации комбинаций полиморфных ДНК-локусов генов биотрансформации ксенобиотиков с предрасположенностью к токсическому гепатиту

Биотрансформация ксенобиотиков является многоступенчатым процессом, в котором одновременно или поочередно участвуют многие ферменты детоксикации (Баранов и соавт., 2000). Поскольку ферменты биотрансформации ксенобиотиков функционируют как единый четко скоординированный комплекс, любые качественные или количественные отклонения функций, его составляющих, неизменно ведут к нарушениям процессов детоксикации с непредсказуемыми, зачастую вредными последствиями для организма (Баранов и соавт., 2000). Эти процессы могут послужить пусковым механизмом развития токсического поражения организма развития профессиональной патологии, в частности токсического гепатита.

В целях комплексного анализа полиморфных вариантов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков при выявлении генетических маркеров, ассоциированных с предрасположенностью или устойчивостью рабочих производств гептила и этилбензола—стирола к токсическому поражению печени, было проведено изучение комбинаций генотипов генов *CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP2E1*, *EPHX1* у больных токсическим гепатитом и больных группы риска по сравнению со здоровыми работающими. При попарном комбинировании генов *CYP1A1* и *CYP2E1* было показано повышение частоты сочетаний гетерозиготного генотипа гена *CYP1A1* и нормального генотипа гена *CYP2E1* (генотип IleVal/C1C1) в группе профессиональных больных. Показатель OR составил 5,81 (CI95% 1,05—41,98), что позволяет отнести данный вариант к маркеру риска токсического поражения печени. Остальные комбинации значимых различий не продемонстрировали.

Мы проанализировали комбинации фенотипов микросомальной эпоксидгидролазы и N-ацетилтрансферазы 2 у больных токсическим гепатитом и в группе здоровых рабочих. Была выявлена комбинация генотипов, ассоциированная с предрасположенностью к токсическому гепатиту (фенотипы медленного метаболизатора по *EPHX1* и

медленного ацетилирования по *NAT2* ($\chi^2 = 5,43$; $p = 0,02$), OR = 3,23 (CI95% 1,18—9,06)).

Комбинациями устойчивости рабочих к влиянию вредных факторов изученных производств являются нормальные аллели и генотипы по двум полиморфным локусам генов *CYP1A1* и *CYP2E1* (генотип IleIle/C1C1), OR составил 0,28 (CI95% 0,09—0,80); ($\chi^2 = 6,02$; $p = 0,02$)).

Выявлено, что комбинация нормальных аллелей и генотипов по генам *CYP1A1*, *CYP2E1*, *CYP2D6* и нормального фенотипа микросомальной эпоксидгидролазы (вариант IleIle/C1C1/CC/N) с частотой 56,0% встречается в группе здоровых работающих, тогда как среди больных профессиональным токсическим гепатитом на долю этого варианта приходится 29,1 и 31,1% в группе риска соответственно. Показатель OR составил 0,32 (CI95% 0,14—0,73) ($\chi^2 = 7,80$; $p = 0,006$), что позволяет отнести данную комбинацию к протективной.

Анализ данных литературы показал, что ассоциации с повышенной чувствительностью к 1,3-бутадиену и его гомологам были получены в исследованиях рабочих производств бутадиена и стирола с медленными формами *EPHX1* (Abdel-Rahman, 2001). Теми же авторами была установлена комбинация риска по генам *EPHX1/GSSM1/GSST1*, которая включала медленный фенотип микросомальной эпоксидгидролазы в сочетании с делецией по генам *GSSM1* и *GSST1*. Других данных по изучению комбинаций полиморфных вариантов генов ферментов I и II фаз биотрансформации ксенобиотиков в группах рабочих в литературе не обнаружено.

Таким образом, в результате изучения полиморфизма пяти генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков у рабочих производств гептила и этилбензола—стирола нами выявлены генетические маркеры риска, ассоциированные с предрасположенностью к токсическому гепатиту и маркеры устойчивости рабочих к влиянию вредных веществ гепатотропного действия. Изучение предрасположенности к развитию профессиональных заболеваний гепатобилиарной системы на основе молекулярно-генетического анализа генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков на молекулярном уровне позволяет установить причинную связь действующего производственного химического фактора с возникающими патологическими изменениями в организме рабочих. В этой связи варианты генетического полиморфизма ферментов биотрансформации ксенобиотиков, ассоциированные с предрасположенностью к развитию токсического поражения

печени, являются основанием для выделения в группе работающих лиц, обладающих повышенной чувствительностью к воздействию производственных химических факторов.

Работа получила частичную финансовую поддержку Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ № 04-04-48318-а, 2004, грант Президента Российской Федерации МК-2755.2004, РГНФ № 04-06-00016а, 2004).

Литература

1. Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко Т.Е. Геном человека и «гены предрасположенности». Введение в предиктивную медицину. — СПб.: Интермедика, 2000. — 272 с.
2. Пичев Ю.П. Загрязнение окружающей среды и здоровье человека (Печальный опыт России). — Новосибирск: СО РАМН. — 2002. — 230 с.
3. Викторова Т.В., Корытина Г.Ф., Макарова О.В. и др. Полиморфизм гена арилами-*N*-ацетилтрансферазы-2 у народов Волго-Уральского региона // Молек. биол. — 2003. — Т. 37, № 6. — С. 971–974.
4. Зимин Ю.В. и др. Молекулярные механизмы метаболической адаптации патологически измененной печени при токсическом гепатите // Вопр. мед. химии. — 2001. — № 3. — С.29–33.
5. Корытина Г.Ф., Янбаева Д.Г., Бабенкова Л.И. и др. Ассоциации полиморфных вариантов в генах биотрансформации ксенобиотиков с тяжестью легочной патологии у больных муковисцидозом // Мед. генет. — 2003. — Т. 2, № 5. — С.227–232.
6. Кузьмина Л.П. Генетико-биохимические исследования в медицине труда // Вестн. РАМН. — 2001. — № 10. — С.89–91.
7. Макарова О.В., Викторова Т.В., Янбаева Д.Г. и др. Полиморфизм генов метаболизма ксенобиотиков у рабочих нефтехимических производств // Генетика. — 2003. — Т. 39, № 9. С. 1268–1274.
8. Пай Г.В., Кузьмина Л.П., Ковчан О.В. и др. Генетические маркеры бронхолегочных заболеваний профессионального генеза на примере полиморфных генов глутатин-S-трансферазы M1 и цитохрома P-4501A1 // Мед. генет. — 2003. — Т. 2, № 5. — С. 223–226.
9. Ревазова Ю.А., Журков В.С. Генетические подходы к оценке безопасности факторов среды обитания человека // Вестн. РАМН. — 2001. — № 10. — С. 77–80.
10. Abdel-Rahman S.Z., Salama S.A., Au W.W. et al. Role of polymorphic CYP2E1 and CYP2D6 genes in NNK-induced chromosome aberrations in cultured human lymphocytes // Pharmacogenetics. — 2000. — Vol. 10, N 3. — P. 239–49.
11. Abdel-Rahman S.Z., El-Zein R.A., Ammenheuser M.M. et al. Variability in human sensitivity to 1,3-butadiene: influence of the allelic variants of the microsomal epoxide hydrolase gene // Environ. Mol. Mutagen. — 2003. — Vol. 41, N 2. — P. 140–6.
12. Cascorbi I., Drakoulis N., Brockmoller J. et al. Arylamine N-acetyltransferase (NAT2) mutations and their allelic linkage in unrelated Caucasian individuals: correlation with phenotypic activity // Am. J. Human. Genet. — Vol. 57, N 3. — P. 581–592.
13. El-Zein R., Zwischenberger J.B., Wood T.G. et al. Combined genetic polymorphism and risk for development of lung cancer // Mutat. Res. — 1997. — Vol. 381, N 2. — P. 189–200.
14. Hassett C., Robinson K.B., Beck N.B. et al. The human microsomal epoxide hydrolase gene (EPHX1): complete nucleotide sequence and structural characterization // Genomics. — 1994. — Vol. 23, N 2. — P. 433–42.
15. Hemminki K. DNA adducts and mutations in occupational and environmental biomonitoring // Environ Health Perspect. — 1997. — Vol. 105, N 4. — P. 823–7.
16. Indulski J.A., Lutz W. Metabolic genotype in relation to individual susceptibility to environmental carcinogens // Int. Arch. Occup. Environ. Health. — 2000. — Vol. 73, N 2. — P. 71–85.
17. Kubota T., Yamaura Y., Ohkawa N. et al. Frequencies of CYP2D6 mutant alleles in a normal Japanese population and metabolic activity of dextromethorphan O-demethylation in different CYP2D6 genotypes // Br. J. Clin. Pharmacol. — 2000. — Vol. 50, N 1. — P. 31–4.
18. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA // Methods in molecular biology / Ed. Walker J.M. — N.Y.: Haman Press, 1984. — P. 31–34.
19. Merlo F., Andreassen A., Westin A. Urinary excretion of 1-hydroxypyrene as a marker for exposure urban air levels of polycyclic aromatic hydrocarbons // Cancer Epidem. Biomarkers. Prev. — 1998. — Vol. 7, N 2. — P. 147–155.
20. Orphanides G., Kimber I. Toxicogenetics: Applications and opportunities // Toxicol. Sci. — 2003. — Vol. 75. — P. 1–6.
21. Oyama T., Mitsudomi T., Kawamoto T. et al. Detection of CYP1A1 gene polymorphism using designed RFLP and distributions of CYP1A1 genotypes in Japanese // Int. Arch. Occup. Environ. Health. — 1995. — Vol. 67, N 4. — P. 253–6.
22. Pan G., Hanaoka T., Yamano Y. et al. A study of multiple biomarkers in coke oven workers — a cross-sectional study in China // Carcinogenesis. — 1998. — Vol. 19, N 11. — P. 1963–8.
23. Rocha L., Garcia C., Mendonca A. N-acetyltransferase (NAT2) genotype and susceptibility to sporadic Alzheimer's disease // Pharmacogenetics. — 1999. — N 9. — P. 9–15.
24. Schlesselman J. Case-control studies. Design, conduct, analysis. — New York, Oxford: Oxford University Press, 1982. — P. 58–96.
25. Smith C.A., Harrison D.J. Association between polymorphism in gene for microsomal epoxide hydrolase and susceptibility to emphysema // Lancet. — 1997. — Vol. 350, N 9078. — P. 630–3.
26. Thier R., Golka K., Bruning T. et al. Genetic susceptibility to environmental toxicants: the interface between human and experimental studies in the development of new toxicological concepts // Toxicol. Lett. — 2002. — Vol. 127, N 1–3. — P. 321–7.
27. Thier R., Bruning T., Roos P.H. 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, N 3. — P. 149–71.
28. Vodicka P., Stetina R., Koskinen M. et al. New aspects in the biomonitoring of occupational exposure to styrene // Int. Arch. Occup. Environ. Health. — 2002. — Vol. 75. — P. 75–85.
29. Zhang J., Ichiba M., Feng Y. et al. Aromatic DNA adducts in coke-oven workers, in relation to exposure, lifestyle and genetic polymorphism of metabolic enzymes // Int. Arch. Occup. Environ. Health. — 2000. — Vol. 73, N 2. — P. 127–35.

Role of some genes encoding xenobiotic metabolizing enzymes in formation of predisposition to a toxic hepatitis among workers exposed to of hepthyle and ethylebenzene—styrene

¹ Kochetova O.V., ¹ Victorova T. V., ² Karimova L.K.

¹ Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa scientific center of the Russian academy of sciences;

² Research institute of occupational health and human ecology, Ufa

✿ SUMMARY: Introduction: The aim of this study was to estimate the predisposition of influencing possible factors causing chemical induced abnormal liver function on the basis of studying genes encoding xenobiotic metabolizing enzymes. **Methods:** Genotyping of CYP1A1, CYP2D6, CYP2E1, EPHX1, NAT2 was performed using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism on peripheral leucocyte DNA from 73 incident cases of toxic hepatitis, 163 «groups of risk» on development of a toxic hepatitis, 94 healthy workers and 335 controls. **Results and conclusions:** No sig-

nificant association was found between a reference group and petrochemical workers when CYP1A1, CYP2D6, CYP2E1, EPHX1 genotypes were included in the analyses. Among workers was observed the increasing of frequency of a combination *4/*4 genes NAT2 compared with control group. Among the patients with a professional toxic hepatitis are established genetic markers of predisposition to development the disease: Ile/Val gene CYP1A1, Tyr/His gene EPHX1; combinations *4/*7 genes NAT2; and as slow phenotype microsomal epoxide hydrolase; combinations of genotypes IleVal/C1C1 of genes CYP1A1 and CYP2E1; combinations of slow phenotypes microsomal epoxide hydrolase and N-acetyltransferase-2. Our results suggest that genotype Ile/Ile of gene CYP1A1; genotype Tyr/Tyr of

gene EPHX1; and as a normal phenotype microsomal epoxide hydrolase; a combination of genotypes IleIle/C1C1 of genes CYP1A1 and CYP2E1; a combination of genotypes IleIle/C1C1/CC/N of genes CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6 and a normal phenotype microsomal epoxide hydrolase are protective variants. This study demonstrates a significant combined effect of phase I and phase II polymorphisms on the predisposition of professional pathology at workers exposed to heptyle and ethylebenzene-styrene.

✿ KEY WORDS: workers; a professional toxic hepatitis; polymorphism; cytochrome P 450; microsomal epoxide hydrolase; N-acetyltransferase-2.