

УДК: 616.36–002:575.174.015.3

РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ В РАЗВИТИИ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ПОРАЖЕНИЙ ПЕЧЕНИ У РАБОТНИКОВ НЕФТЕХИМИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ

Валеева Э. Т., Бакиров А. Б., Галимова Р. Р., Мухаммадиева Г. Ф.
ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека» (Уфа, Россия)

THE ROLLE OF GENETIC PREDISPOSITION FOR OCCUPATIONAL LIVER DISEASES IN WORKERS OF PETROCHEMICAL PLANTS

Valeeva Je. T., Bakirov A. B., Galimova R. R., Mukhammadiyeva G. F.
Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology (Ufa, Russia)

Для цитирования: Валеева Э. Т., Бакиров А. Б., Галимова Р. Р., Мухаммадиева Г. Ф. Роль генетической предрасположенности в развитии профессиональных поражений печени у работников нефтехимических производств. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2018;154(6): 64–68.

For citation: Valeeva Je. T., Bakirov A. B., Galimova R. R., Mukhammadiyeva G. F. The rolle of genetic predisposition for occupational liver diseases in workers of petrochemical plants. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2018;154(6): 64–68.

**Валеева
Эльвира Тимерьяновна**
Valeeva Jelvira T.
oozr@mail.ru

Валеева Э. Т. — отдел охраны здоровья работающих, заведующий отделом, д.м.н.
Бакиров А. Б. — директор ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», д.м.н., профессор
Галимова Р. Р. — отдел охраны здоровья работающих, старший научный сотрудник, к.м.н.
Мухаммадиева Г. Ф. — лаборатория молекулярно-генетических исследований отдела токсикологии и генетики, заведующий лабораторией, к.б.н.
Valeeva Je. T. — Department of workers' health protection, head of the department, doctor of medical sciences
Bakirov A. B. — Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, director, doctor of medical sciences, professor
Galimova R. R. — Department of workers' health protection, senior researcher, candidate of medical sciences
Mukhammadiyeva G. F. — Laboratory of molecular genetic studies of the division of toxicology and genetics, head of the laboratory, candidate of biological sciences

Резюме

Цель исследования: Изучение ассоциации полиморфизма генов ферментов глутатион-S-трансфераз с предрасположенностью к развитию профессиональных поражений печени у работников нефтехимических производств.

Материалы и методы. Образцы ДНК 544 работников нефтехимического производства и 322 здоровых лиц использовались для генотипирования методом полимеразной цепной реакции и анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов.

Результаты. Установлено, что у больных токсическим гепатитом генотип Val/Val полиморфного локуса rs1695 гена *GSTP1* встречается реже ($\chi^2=4,405$, $p=0,036$), чем у здоровых работников. Анализ ассоциации полиморфных локусов *GSTM1* и *GSTT1* с развитием профессиональных поражений печени не выявил статистически значимых результатов.

Заключение. Полученные данные дают основание предполагать, что гомозиготный генотип Val/Val полиморфного локуса rs1695 гена *GSTP1* является протективным в отношении развития профессионального токсического гепатита.

Ключевые слова: нефтехимические производства, профессиональный токсический гепатит, полиморфизм генов

Summary

The aim of this study was to investigate the association of polymorphism of the glutathione-S-transferase genes with the risk of occupational liver diseases in workers of petrochemical plants.

Materials and Methods. 544 DNA samples of petrochemical workers and 322 healthy persons DNA sample were used for genotyping by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism.

Results. It was found that the genotype Val/Val of polymorphic locus rs1695 of *GSTP1* gene is less common in patients with toxic hepatitis ($\chi^2=4,405$, $p=0,036$) than in healthy workers. Analysis of the association of polymorphic loci *GSTM1* and *GSTT1* with the development of occupational liver lesions revealed no statistically significant results.

Conclusion. The data obtained suggest that the homozygous genotype Val/Val of polymorphic locus rs1695 of the *GSTP1* gene is protective of the development of occupational toxic hepatitis.

Keywords: petrochemical plants, occupational toxic hepatitis, gene polymorphism

Введение

Токсическое поражение печени объединяет группу заболеваний, развившихся вследствие гепатотоксического воздействия различных химических веществ. В качестве провоцирующего повреждение печени фактора могут выступать профессиональные вредности. В производственных условиях нефтехимических производств применяется и образуется ряд вредных веществ, обладающих гепатотропными свойствами, которые вызывают как острые, так и хронические профессиональные заболевания, в том числе токсические гепатиты. Воздействие химических веществ или их метаболитов приводит к выраженным функциональным и структурным изменениям гепатоцитов, и активации цитотоксичных иммунных Т-клеток. Токсический эффект ксенобиотиков зависит от многих факторов – химической структуры соединения, тока крови в печени, белковых связей, генетических факторов, возраста, особенностей питания, злоупотребления лекарствами и алкоголем [1].

Актуальным направлением медицины труда являются молекулярно-генетические исследования, посвященные поиску маркеров риска развития профессиональных и производственно-обусловленных заболеваний. Полученные данные могут быть использованы для оценки индивидуальной предрасположенности к развитию профессиональной

патологии у работников вредных производств и решения вопросов профилактики.

Известно, что восприимчивость организма к вредным воздействиям окружающей среды во многом зависит от активности ферментов системы детоксикации ксенобиотиков. Процесс детоксикации ксенобиотиков обычно включает две последовательные фазы. Ферменты фазы I связывают ксенобиотики с образованием промежуточных генотоксических метаболитов. Главная функция ферментов фазы II заключается в детоксикации и нейтрализации гидрофильных и токсичных продуктов фазы I. Глютатион-S-трансферазы, характерные представители ферментов II фазы детоксикации, присутствуют в разных тканях и органах [2]. Гены, контролирующие синтез этих ферментов, характеризуются значительным популяционным полиморфизмом. Функционально неполноценные аллели генов глютатион-S-трансфераз играют важную роль в патогенезе многих заболеваний. Показан вклад полиморфизмов данных генов в предрасположенность к развитию гепатита различной этиологии и цирроза печени [3, 4].

Целью исследования было изучение ассоциации полиморфизма генов ферментов глютатион-S-трансфераз с предрасположенностью к развитию профессиональных поражений печени у работников нефтехимических производств.

Материалы и методы

Материалом исследования служили образцы ДНК 544 мужчин, работников нефтехимического производства, из них группу практически здоровых составили 156 работников, группу рабочих с соматическими заболеваниями – 316 человек, работников с токсическим гепатитом – 72 человека. В группу практически здоровых были включены работники, не имеющие клинически объективных данных за то или иное заболевание, но имеющие незначительные отклонения одного – двух показателей гомеостаза, единичное обращение к врачам за последние 3 года по поводу кратковременного заболевания (грипп, ОРЗ). В группу работников с соматической патологией вошли лица с заболеваниями желудочно-кишечного тракта (язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки, хронический гастрит, холецистит, дискинезия желчевыводящих путей) – 150 человек, с заболеваниями

сердечно-сосудистой системы (гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца) – 92 человека, с расстройством вегетативной нервной системы – 74 человека. В качестве контроля были использованы образцы ДНК 322 практически здоровых лиц, не имеющих профессионального контакта с химическими веществами.

ДНК выделяли из лимфоцитов периферической венозной крови методом фенольно-хлороморфной экстракции. Анализ полиморфных локусов генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* проводили методом полимеразной цепной реакции и полиморфизма длин рестриционных фрагментов (ПЦР и ПДРФ) синтеза ДНК с использованием локуспецифических олигонуклеотидных праймеров. Оценку достоверности различий по частотам аллелей и генотипов между исследованными выборками проводили по критерию χ^2 с помощью программы BIOSSTAT.

Результаты

С целью выявления генотипов, определяющих чувствительность организма работника к действию токсичных производственных факторов, группу здоровых работников сравнивали с контрольной группой лиц, не имеющих профессиональной токсической нагрузки. Для идентификации генотипов, ассоциированных с предрасположенностью к формированию токсического гепатита, проводили сравнение между профессиональными больными и здоровыми работниками. Для выявления генотипов, ассоциированных с развитием общесоматической патологии, сравнивали группу работников с соматической патологией со здоровыми работниками.

Нами проведен анализ частоты встречаемости делеции гена *GSTM1* среди работников по сравнению с индивидами контрольной группы, не подвергающимися промышленному воздействию токсическими веществами. Результаты представлены в табл. 1.

Анализ делеционного полиморфизма гена *GSTM1* показал статистически значимое снижение частоты делеции в группе здоровых работников до 43,6% против 55,3% в контроле ($\chi^2=5,29$; $p=0,022$).

Данные сравнительного анализа особенностей распределения частот генотипов делеционного полиморфизма гена *GSTM1* среди больных токсическим гепатитом, работников с соматическими заболеваниями и здоровых работников приведены в таблице 2. Среди профессиональных больных встречается частота делеции равная 42,25%, что сопоставимо с частотой нулевого генотипа в группе здоровых работников (43,6%, $\chi^2=0,0005$; $p=1,005$) и в группе работников с соматической патологией (41,13%, $\chi^2=0,027$; $p=0,86$).

При сравнительном анализе распределения генотипов полиморфного локуса гена *GSTM1* среди работников с соматической патологией и здоровыми работниками различий не обнаружено ($\chi^2=0,167$; $p=0,68$) (табл. 2).

Анализ распределения генотипов полиморфного локуса гена *GSTT1* в группе здоровых работников и контрольных лиц, не подвергающихся промышленному воздействию токсическими веществами представлен в таблице 3.

Изучение делеционного полиморфизма гена *GSTT1* выявило снижение частоты носителей делеции в группе здоровых работников до 16,7% по сравнению с контрольной группой, у которой частота делеции составила 23,0% ($\chi^2=2,13$; $p=0,145$).

Анализ распределения частоты делеционного полиморфизма гена *GSTT1* у больных токсическим гепатитом, в группе работников с соматическими заболеваниями по сравнению со здоровыми работниками представлен в таблице 4. Установлено, что среди здоровых работников частота делеции составила 16,7%, тогда как в группе больных с токсическим гепатитом – 16,42%, ($\chi^2=0,0005$; $p=1,0005$). Анализ полиморфного локуса гена *GSTT1* в группе работников с соматической патологией показал отсутствие различий в распределении делеции гена *GSTT1* по сравнению со здоровыми работниками ($\chi^2=0,29$; $p=0,58$).

В таблице 5 продемонстрированы результаты распределения частот генотипов и аллелей полиморфного локуса rs1695 гена *GSTP1* в группе здоровых работников и среди лиц контрольной группы, не подвергающихся профессиональному воздействию токсических веществ.

Показано, что распределение генотипов полиморфного локуса rs1695 гена *GSTP1* при сравнении группы работников и контроля имеет существенные различия ($\chi^2=8,58$; $p=0,004$). Эти различия обусловлены повышением частоты гомозиготного генотипа Val/Val до 7,69% среди здоровых работников по сравнению с 1,69% в контрольной выборке.

Изучение распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs1695 гена *GSTP1* у работников в зависимости от статуса здоровья продемонстрировано в таблице 6. В ходе исследования было установлено существенное снижение частоты гомозиготного генотипа Val/Val до 0% среди больных токсическим гепатитом по сравнению с 7,69% в группе здоровых работников ($\chi^2=4,405$; $p=0,036$). Анализ распределения частот генотипов полиморфного локуса rs1695 гена *GSTP1* показал снижение частоты гомозигот Val/Val в группе работников с соматической патологией до 4,43% по сравнению со здоровыми работниками, однако эти различия не достигли статистической значимости ($\chi^2=1,55$; $p=0,21$).

Таблица 1
Распределение частот генотипов полиморфного локуса гена *GSTM1* у здоровых работников и в контроле

Группа	Генотипы		N
	«0/0» (делеция), (%)	«+» (норма), (%)	
Здоровые работники	68 (43,6)	88 (56,4)	156
Контроль	178 (55,3)	144 (44,7)	322

Таблица 2
Распределение частот генотипов полиморфного локуса гена *GSTM1* у обследованных работников с учетом статуса здоровья

Группа	Генотипы		N
	«0/0 (делеция)», (%)	«+» (норма), (%)	
Здоровые работники	68 (43,6)	88 (56,4)	156
Группа работников с соматической патологией	130 (41,13)	186 (58,86)	316
Группа работников с токсическим гепатитом	31 (42,25)	41 (57,75)	72

Группа	Генотипы		N
	«0/0» (делеция), (%)	«+» (норма), (%)	
Здоровые работники	26 (16,7)	130 (83,3)	156
Контроль	69 (23,0)	231 (77,0)	300

Таблица 3

Распределение частот генотипов полиморфного локуса гена *GSTT1* у здоровых работников и в контроле

Группа	Генотипы		N
	«0/0 (делеция)», (%)	«+» (норма), (%)	
Здоровые работники	26 (16,7)	130 (83,3)	156
Группа работников с соматической патологией	45 (14,28)	270 (85,72)	315
Группа работников с токсическим гепатитом	11 (16,42)	56 (83,58)	67

Таблица 4

Распределение частот генотипов полиморфного локуса гена *GSTT1* у обследованных работников с учетом статуса здоровья

Группа	Генотипы			N ₁	Аллели		N ₂
	Ile/Ile	Ile/Val	Val/Val		Ile	Val	
Здоровые работники	102 (65,38)	42 (26,92)	12 (7,69)	156	246 (78,84)	66 (22,15)	312
Контроль	219 (73,99)	72 (24,32)	5 (1,69)	296	510 (86,15)	82 (13,85)	592

Таблица 5

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного локуса rs1695 гена *GSTP1* у здоровых работников и в контроле

Группа	Генотипы			N ₁	Аллели		N ₂
	Ile/Ile	Ile/Val	Val/Val		Ile	Val	
Здоровые работники	102 (65,38)	42 (26,92)	12 (7,69)	156	246 (78,84)	66 (22,15)	312
Группа работников с соматической патологией	199 (62,97)	103 (32,59)	14 (4,43)	316	501 (79,27)	131 (20,73)	632
Группа работников с токсическим гепатитом	49 (68,06)	23 (31,94)	0	72	121 (84,03)	23 (15,97)	144

Таблица 6

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного локуса rs1695 гена *GSTP1* у обследованных работников с учетом статуса здоровья

Обсуждение

Семейство глутатион-S-трансфераз (GSTs) относится к ферментам II фазы биотрансформации ксенобиотиков. Наиболее важными представителями глутатион-S-трансфераз являются GSTM1, GSTT1 и GSTP1, которые широко представлены во всех органах и тканях. Особенностью генов *GSTM1* и *GSTT1* является наличие «нулевых» аллелей, имеющими протяженные делеции, при которых не образуются полноценные ферменты [5].

Известно, что фермент GSTM1 вовлечен в антиокислительную систему защиты организма. Наличие двух «нулевых» аллелей гена *GSTM1* приводит к отсутствию белкового продукта этого гена, что способствует развитию окислительного стресса, обуславливает повышение уровня аддуктов ДНК и может провоцировать развитие различных патологий печени [6, 7]. В ряде работ показана его важная прогностическая значимость в развитии профессиональных заболеваний [8]. В нашем случае различий в распределении генотипов гена *GSTM1* у работников в зависимости от наличия или отсутствия патологии соматической и профессиональной обнаружено не было.

Ген *GSTT1* принимает участие в процессах превращения активных токсических метаболитов в их неактивные формы. По литературным данным, значимость гена *GSTT1* в процессах детоксикации

остается противоречивой и дискуссионной [9]. В нашем исследовании различия в частоте нулевого генотипа по гену *GSTT1* у работников с токсическим гепатитом и здоровых работников оказались статистически незначимыми. В ряде работ также не выявлено ассоциации нулевого генотипа по гену *GSTT1* с заболеваниями печени [10, 11].

Ген *GSTP1* имеет несколько полиморфных вариантов. Функционально значимой является замена аденина на гуанин в 5-м экзоне гена, которая приводит к замене изолейцина на валин в 105-м положении пептида. Полиморфизм гена *GSTP1* может вызывать снижение его активности и, следовательно, увеличение накопления в организме токсичных веществ [12, 13]. Известны исследования, посвященные изучению полиморфного локуса rs1695 гена *GSTP1* в производственных группах, подвергающихся воздействию бензидина и стирола. В них показана роль ферментов метаболизма ксенобиотиков в формировании индивидуальной чувствительности работников в условиях вредных производств [14, 15]. В работе Q. Ma с соавт. было обнаружено, что генотипы Ile/Val и Val/Val ассоциируются с предрасположенностью к раку мочевого пузыря, вызванного действием бензидина [16]. Результаты нашей работы могут указывать на отбор гомозиготного генотипа Val/Val в группе здоровых работников возможно в пользу

его протективности, что подтверждают исследования С. Е. Марр с соавт., указывающие на протективное значение генотипа Val/Val у работников, подвергающихся воздействию изоцианата [17].

Ген *GSTP1* характеризуется избирательной экспрессивной активностью и субстратной специфичностью,

что выражается в активации полициклических ароматических углеводородов с образованием более реактивных метаболитов, вероятно поэтому в случае экспонирования ароматическими углеводородами предпочтительным является наличие аллеля Val, снижающего каталитическую активность фермента.

Заключение

1. У работников нефтехимического производства носительство генотипа Val/Val полиморфного локуса rs1695 гена *GSTP1* может выступать протективным фактором в отношении развития токсического гепатита.
2. Изучение роли генов системы глутатион-S-трансфераз в формировании ответных реакций организма работников на воздействие

химических факторов производственной среды является перспективным научным направлением, в целях обоснования критериев индивидуального риска развития профессиональных и общих заболеваний работников, а также при решении вопросов профилактики, медицинского контроля и рационального трудоустройства.

Литература | Reference

1. Соркина Н. С., Измерова Н. И., Иванова Л. А. и соавт. Профессиональные заболевания с преимущественным поражением гепатобилиарной системы // Измеров Н. Ф. Профессиональная патология: национальное руководство – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 784 с.
Sorkina N. S., Izmerova N. I., Ivanova L. A. i soavt. Professional'nye zabolevaniya s preimushchestvennym porazheniem gepatobiliarnoy sistemy // Izmerov N. F. Professional'naya patologiya: nacional'noe rukovodstvo – M.: GENOTAR-Media, 2011. – 784 s.
2. Стицын В. А. Экологическая генетика человека. – М.: Наука, 2008. – 503 с.
Spitsyn V. A. Ekologicheskaya genetika cheloveka. – M.: Nauka, 2008. – 503 s.
3. Гусманова Г. Т., Калимуллина Д. Х., Бакиров А. Б., Хусаинова Р. И. Поиск генетических факторов предрасположенности к развитию цирроза печени в исходе вирусного гепатита В у больных из Республики Башкортостан // Казанский медицинский журнал. – 2012. – Т. 93, № 2. – С. 197–203.
Gusmanova G. T., H. D. Kalimullina, Bakirov A. B., Khusainova R. I., the Search for genetic factors predisposing to the development of liver cirrhosis in the outcome of viral hepatitis b In patients from the Republic of Bashkortostan // Kazan medical journal. – 2012. – T. 93, No. 2. – P. 197–203.
4. Лукманова Л. И., Давлетишин Р. А., Юлдашев В. Л. и соавт. Поиск клинико-генетических ассоциаций при алкогольной болезни печени // Практическая медицина. – 2012. – № 3 (58). – С. 72–74.
Lukmanova, L. I., Davletshin R. A., Yuldashev V. L. et al. Search of clinical and genetic associations in alcoholic liver disease // Practical medicine. – 2012. – № 3 (58). – P. 72–74.
5. Hayes J., Strange R. C. Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences // Pharmacology. – 2000. – Vol. 61, № 3. – P. 154–166.
6. White D. L., Li D., Nurgalieva Z., El-Serag H. B. Genetic variants of glutathione S-transferase as possible risk factors for hepatocellular carcinoma: A HuGE systematic review and meta-analysis // Am. J. Epidemiol. – 2007. – Vol. 167, № 4. – P. 377–389.
7. Stickel F., Osterreicher C. The role of genetic polymorphisms in alcoholic live disease // Alcohol Alcohol. – 2006. – Vol. 41, № 3. – P. 209–224.
8. Пай Г. В., Кузьмина Л. П., Ковчан О. В. и соавт. Генетические маркеры бронхолегочных заболеваний профессионального гезеза на примере полиморфных генов глутатион-S-трасферазы M1 и цитохрома P-4501A1 // Медицинская генетика. – 2003. – Т. 2, № 5. – С. 223–226.
Pai G. V., Kuzmina L. P., Movchan O. V. et al. Genetic markers of bronchopulmonary diseases of professional Genesis on the example of polymorphic genes glutathione-S-trasferase M1 and cytochrome p-4501A1 // Medical genetics. – 2003. – Vol. 2, № 5. – P. 223–226
9. Thier R., Lewalter J., Kempkes M. et al. Haemoglobin adducts of acrylonitrile and ethylene oxide in acrylonitrile workers, dependent on polymorphisms of the glutathione transferases GSTT1 and GSTM1 // Arch. Toxicol. – 1999. – Vol. 73, № 4–5. – P. 197–202.
10. Гончарова И. А., Рачковский М. И., Белобородова Е. В. и соавт. Патогенетика цирроза печени: полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз // Молекулярная биология. – 2010. – Т. 44, № 3. – С. 431–438.
Goncharova I. A., Rachkovsky M. I., Beloborodova E. V. et al. Pathogenetics of liver cirrhosis: polymorphism of glutathione-S-transferase genes // Molecular biology. – 2010. – Vol. 44., No. 3. – P. 431–438.
11. Hashemi M., Eskandari-Nasab E., Fazaeli A. et al. Association of genetic polymorphisms of glutathione-S-transferase genes (GSTT1, GSTM1, and GSTP1) and susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease in Zahedan, Southeast Iran // DNA Cell Biol. – 2012. – Vol. 31, № 5. – P. 672–677.
12. Vasieva O. The many faces of glutathione transferase pi // Curr Mol Med. – 2011. – Vol. 11, № 2. – P. 129–139.
13. Strange R. C., Spiteri M. A., Ramachandran S., Fryer A. A. Glutathione-S-transferase family of enzymes // Mutat Res. – 2001. – Vol. 482, № 1–2. – P. 21–26.
14. 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.
15. Haufroid V., Jakubowski M., Janasik B. et al. Interest of genotyping and phenotyping of drug-metabolizing enzymes for the interpretation of biological monitoring of exposure to styrene // – 2002. – Vol. 12, № 9. – P. 691–702.
16. Ma Q., Lin G., Qin Y. et al. GSTP1 A1578G (Ile105Val) polymorphism in benzidine-exposed workers: an association with cytological grading of exfoliated urothelial cells // Pharmacogenetics. – 2003. – Vol. 13, № 7. – P. 409–15.
17. Mapp C. E., Fryer A. A., De Marzo N. et al. Glutathione S-transferase GSTP1 is a susceptibility gene for occupational asthma induced by isocyanates // J. Allergy Clin. Immunol. – 2002. – Vol. 109, № 5. – P. 867–72.