УДК [613.6:575.113] : 338.4 (477) : 005

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА *XPD* (RS799793) І БРОНХОЛЕГЕНЕВА ПАТОЛОГІЯ В ПРАЦІВНИКІВ ШКІДЛИВИХ І НЕБЕЗПЕЧНИХ ГАЛУЗЕЙ ПРОМИСЛОВОСТІ УКРАЇНИ

Андрущенко Т. А.[1], Гончаров С. В.[2], Долінчук Л. В.[3], Досенко В. Є.[2]

[1]Державна установа «Інститут медицини праці імені Ю. І. Кундієва Національної академії медичних наук України», м. Київ

[2]Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, м. Київ

[3]Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

Вступ. Найпоширенішими серед професійних захворювань в Україні є хвороби бронхолегеневої системи. У структурі шкідливих і небезпечних виробничих чинників, які призводять до їхнього розвитку, наявні такі, що обумовлюють порушення в системі репарації ДНК та можуть обумовлювати індукцію мутагенезу.

Мета дослідження – вивчити розподіл частот алелів і генотипів гена репарації *XPD* (rs799793) у хворих з патологією бронхолегеневої системи серед працівників пилових професій азбоцементних підприємств і вугільних шахт України.

Матеріали та методи дослідження. У дослідження увійшли дві категорії працівників: робітники азбестоцементних підприємств України (n = 92) і шахтарі (n = 98). Методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі визначали генотипи гена *XPD* (rs799793). Отримані результати обробляли статистично з використанням програм Orion 7.0, Statistica та Excel 2000.

Результати. У результаті виконаного дослідження встановлені частоти генотипів гена *XPD* (rs799793) у професійних групах шахтарів і працівників азбестоцементної промисловості України. Величина OR мінорного алеля *XPD*Asn* у працівників азбестоцементних підприємств вказувала на кореляцію порушень у системі ексцизійної репарації нуклеотидів з ризиком розвитку бронхолегеневої патології (OR = 1,34; 95 % CI: 0,69–2,59), у той час, як домінантний алель *XPD*Asp* чинив протективну дію для його носіїв (OR = 0,75; 95 % CI: 0,39–1,44). При вивченні частот генотипів гена *XPD* (rs799793) встановлено, що генотип *XPD*Asn/Asn* асоційований з ризиком розвитку бронхолегеневої патології та пригніченням ефективності ексцизійної репарації нуклеотидів у популяції працівників азбестоцементних підприємств України (OR = 2,15; 95 % CI: 1,71–2,70, $p \le 0,01$, $\chi^2 = 6,35$).

Висновки. У результаті виконаного молекулярно-генетичного дослідження поліморфізму гена *XPD* (rs799793) встановлено, що генотип *XPD*Asn/Asn* асоційований з ризиком розвитку бронхолегеневої патології та пригніченням ексцизійної репарації нуклеотидів у популяції працівників азбестоцементних підприємств України. Виявлено, що серед працівників азбестоцементних підприємств носії алеля *XPD*Asn* мають підвищений ризик розвитку бронхолегеневої патології, а носійство алеля *XPD*Asp* чинить протективну дію до розвитку зазначеної патології.

Ключові слова: бронхолегенева патологія, молекулярно-генетичні маркери, *XPD*

Вступ

Щороку в Україні реєструється близько 6 тисяч випадків професійних захворювань, найпоширенішими серед них є хронічні хвороби бронхолегеневої системи (БЛС) – пневмоконіози, хронічні бронхіти, хронічне обструктивне захворювання легень, рак легень тощо. Домінуюче значення захворювань БЛС у структурі професійної патології обумовлює необхідність розробки нових методів первинної профілактики та ранньої діагностики групи хвороб БЛС [2].

Дотепер у світовій літературі накопичено багато даних щодо однонуклеотидних поліморфізмів у генах систем репарації ДНК, пов'язаних з факторами підвищеного ризику багатьох онкологічних патологій різних типів і локалізацій [1, 3]. Встановлено, що порушення в системі контролю за процесами репарації ДНК та апоптозу викликані не тільки генетичними та епігенетичними порушеннями, але й варіабельністю функціонування генів, яка обумовлена генетичними поліморфізмами [6]. У зв'язку з цим активно вивчається вклад генів репарації ДНК у формування індивідуальної чутливості геному до пошкоджуючих мутагенних впливів, уже відомі декілька десятків генних поліморфізмів, залучених до різних систем репарації [4, 5]. У структурі шкідливих і небезпечних виробничих чинників і професійних факторів, які призводять до розвитку хронічних захворювань БЛС, наявні такі, що також обумовлюють порушення в системі репарації ДНК, а саме: пил фіброгенної дії різного походження,

хімічні речовини, фізичні чинники, рівні яких на робочих місцях часто перевищують гігієнічні нормативи: граничнодопустимі концентрації та граничнодопустимі рівні, що може обумовлювати індукцію мутагенезу в працівників певних професійних груп.

Мета дослідження – вивчення розподілу частот алелів і генотипів гена репарації *XPD* (rs799793) у хворих з патологією БЛС серед працівників пилових професій азбестоцементних підприємств (АЦП) і вугільних шахт України.

Матеріали та методи дослідження

У дослідження увійшли дві категорії працівників шкідливих і небезпечних галузей промисловості України (n = 190). Перша категорія це працівники АЦП України, ТОВ «Балаклейський шиферний комбінат» і ТОВ «Краматорський шифер» (n = 92), середній вік яких становить (43,2 ± 6,7) років, середній шкідливий стаж – (15,5 ± 4,9) років. Для порівняльного аналізу були сформовані дві групи: дослідна та контрольна. У дослідну групу (n = 46) увійшли працівники АЦП з патологією БЛС, у контрольну групу (n = 46) – працівники, які не мали патології БЛС, але їхній стаж та умови праці були співпівставні з тими, що були наявні в працівників дослідної групи.

Другою категорією респондентів дослідження стали шахтарі вугільних шахт Донецької, Луганської та Львівської областей України (n = 98). Шахти, на яких вони працювали, були схожими за гірничо-геологічними умовами видобутку вугілля. Середній вік шахтарів у дослідженні становив (49,2 ± 7,3) років, середній підземний стаж – (20,8 ± 5,9) років. У дослідну групу (n = 43) увійшли шахтарі з патологією БЛС, у контрольну групу (n = 55) – гірники без патології БЛС, але їхній вік, підземний стаж та умови праці були порівняні для статистичної обробки.

Генетичний матеріал (ДНК) виділяли з лейкоцитів периферичної крові. Методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі визначали генотипи за геном *XPD* (rs799793). Отримані результати обробляли статистично з використанням програм Orion 7.0, Statistica та Excel 2000. При цьому вірогідність відмінностей визначали за χ^2 -критерієм, значення $p < 0,05$ вважали достовірним.

Результати дослідження та їх обговорення

Білкові продукти генів ексцизійної репарації нуклеотидів (NER) забезпечують видалення пошкоджених нуклеотидів з послідуючим відновленням структури молекули ДНК, шляхом впізнання та виправляння зшивок основ.

У гена *XPD*, що кодує фермент XPD, який має хеліказну та транскрипційну активності й є ключовим білком NER, відомі 2 алельних поліморфізми, які, впливають на ефективність діяльності NER: заміщення G на A в положенні 23591, що викликає заміну в 10 екзоні (312 Asp (D) на Asn (N) амінокислотного обміну), і заміщення A – C у нуклеотидній позиції 35931, що викликає заміщення в 23 екзоні кодона 751 Lys (K) на Gln (Q). Їхнє вивчення триває досить довго, але з точки зору участі порушення репарації в патогенезі розвитку патології БЛС у працівників зі шкідливими та небезпечними умовами праці, на прикладі популяції шахтарів і працівників АЦП України, поліморфізми гена *XPD* не досліджувались.

Аналіз алельного поліморфізму гена *XPD* (rs799793) показав, що частота розподілення мінорного алеля *XPD*Asn* у шахтарів, хворих на БЛП, становила – 32,6 %, а в контрольній групі – 36,4 % (табл. 1). Домінантний алель *XPD*Asp* був виявлений у 67,4 % хворих дослідної групи й 63,6 % – групи контролю відповідно.

При аналізі частоти розподілення мінорного алеля *XPD*Asn* у працівників АЦП України виявлено, що в дослідній групі вона становила – 37,0 %, а в контрольній групі – 30,4 % (табл. 2). Визначена величина OR мінорного алеля *XPD*Asn* у хворих на БЛП працівників АЦП відносно контрольної групи

Таблиця 1

Частота алелів *Asp* і *Asn* гена *XPD* у популяції шахтарів

Група обстежених	n	Частота алелів гена XPD, %			
		Asp		*Asn*	
		n	M ± m, %	n	M ± m, %
Дослідна	43 (алелів 86)	58	67,40 ± 5,05	28	32,60 ± 5,05
Контроль	55 (алелів110)	70	63,60 ± 4,50	40	36,40 ± 4,50
p, χ^2		p ≤ 0,5			
OR, 95 % CI		1,18 (0,63–2,24)		0,84 (0,45–1,60)	

(OR = 1,34; 95 %CI: 0,69–2,59) вказує на кореляцію порушень у системі NER з відносним ризиком розвитку БЛП у даному дослідженні.

Домінантний алель *XPD*Asp* був виявлений у 63,0 % хворих дослідної групи й 69,6 % – контрольної. За допомогою методу співвідношення шансів було визначено величину OR для алеля *XPD*Asp* (OR = 0,75; 95 % CI: 0,39–1,44), вона свідчить на користь протективної ролі алеля *XPD*Asp* для його носіїв відносно пригнічення ефективності NER і ризику розвитку БЛП.

Для вивчення асоціації певних генотипів за геном *XPD* (*Asp312Asn*) з пригніченням репарації NER та ризиком розвитку БЛП у подальшому були визначені частоти генотипів гена *XPD* (*Asp312Asn*) у респондентів дослідження. Слід відзначити, що отримані значення частот генотипів гена *XPD* (*Asp312Asn*) були близькими до популяційних частот європеоїдів, що за даними літератури досягає: домінантні гомозиготи – *XPD*Asp/Asp* – до 30 %; гетерозиготи –*XPD*Asp/Asn* – 50–53 %, мінорні гомозиготи – *XPD*Asn/Asn* – 17 % [7].

У виборці обстежених шахтарів дослідної та контрольної груп були визначені частоти генотипів гена *XPD* (*Asp312Asn*): частота мінорних гомозигот *XPD*Asn/Asn* становила в групі хворих шахтарів 6,9 %; у контрольній групі – 18,2 % (табл. 3).

Серед респондентів дослідження, які представляли популяцію працівників АЦП України, розподіл частот генотипів гена *XPD* (*Asp312Asn*) був представлений відповідно: частота мінорних гомозигот *XPD*Asn/Asn* становила в групі хворих на БЛП 13,1 %; а в контрольній групі даний генотип не зустрічався (табл. 4).

При обчисленні результатів за допомогою методу χ^2 було встановлено статистично достовірну різницю частот генотипів *XPD*Asn/Asn* між працівниками АЦП дослідної та контрольної груп (χ^2 = 6,35, $p \le 0,01$). Крім того, було визначено асоціацію між зазначеним генотипом і пригніченням у NER та підвищеним ризиком розвитку БЛП у дослідній групі відносно контролю (OR = 2,15; 95 %CI: 1,71–2,70).

Таблиця 2

Частота алелів *Asp* і *Asn* гена *XPD* у популяції працівників азбестоцементних підприємств

Група обстежених	n	Частота алелів гена XPD, %			
		Asp		*Asn*	
		n	M ± m, %	n	M ± m, %
Дослідна	46 (алелів 92)	58	63,0 ± 5,03	34	37,0 ± 5,03
Контрольна	46 (алелів 92)	64	69,60 ± 4,80	28	30,40 ± 4,80
p, χ^2		$p \le 0,3$			
OR, 95 % CI		0,75 (0,39–1,44)		1,34 (0,69–2,59)	

Таблиця 3

Частота генотипів гена *XPD* у популяції шахтарів

Група обстежених	n	Частота генотипів гена XPD, %						p, χ^2
		Asp /Asp		*Asp/ Asn*		*Asn/ Asn*		
		n	M ± m, %	n	M ± m, %	n	M ± m, %	
Дослідна	43	18	41,9 ± 7,5	22	51,2 ± 7,6	3	6,9 ± 3,8	
Контрольна	55	25	45,4 ± 6,7	20	36,3 ± 6,4	10	18,2 ± 5,2	$p \le 0,1$
p, χ^2		$p \le 0,7$		$p \le 0,1$		$p \le 0,1$		
OR, 95% CI		0,86 (0,36–2,09)		1,83 (0,75–4,49)		0,34 (0,07–1,47)		

Таблиця 4

Частота генотипів гена *XPD* у популяції працівників азбестоцементних підприємств

Група обстежених	n	Частота генотипів гена XPD, %						p, χ^2
		Asp /Asp		*Asp/ Asn*		*Asn/ Asn*		
		n	M ± m, %	n	M ± m, %	n	M ± m, %	
Дослідна	46	18	39,1 ± 7,1	22	47,8 ± 7,3	6	13,1 ± 4,9	
Контрольна	46	18	39,1 ± 7,1	28	60,9 ± 7,1	0	-	$p \le 0,3$
p, χ^2		$p \le 0,8$		$p \le 0,2$		$p \le 0,01$, χ^2 = 6,35		
OR, 95% CI		1,0 (0,40–2,51)		0,59 (0,24–1,46)		2,15 (1,71–2,70)		

Висновки

У результаті виконаного дослідження встановлено, що генотип *XPD*Asn/Asn* асоційований з ризиком розвитку бронхолегеневої патології та пригніченням ефективності системи NER у популяції працівників АЦП України (OR = 2,15; 95 %CI: 1,71–2,70, p ≤ 0,01, χ^2 = 6,35).

Література

1. Измеров Н. Ф., Динисов Э. Н., Кузьмина Л. П. Биохимические и генетические показатели индивидуальной чувствительности к профессиональным вредностям: Профессиональный риск для здоровья работников (руководство); под ред. Н. Ф. Измерова. Москва. 2003. 334 с.

2. Кундієв Ю. І., Нагорна А. М. Професійна захворюваність в Україні у динаміці довгострокового спостереження. Український журнал з проблем медицини праці. 2005. № 1. С. 3–11.

3. Уржумов П. В., Погодина А. В., Аклеев А. В. Полиморфизмы генов NBS1 и PARP1 и эффективность репарации ДНК. Вестник Челябинского государственного университета. 2013. № 7 (298). Биология. Вып. 2. С. 107–108.

4. Kiffmeyer W. R., Langer E., Davies S. M. et al. Genetic Polymorphisms in the Human Population. Cancer. 2004. V. 100. № 2. P. 411–417.

5. Kuschel B., Auranen A., McBride S., Novik K. L., Antoniou A. et al. Variants in double-strand break repair genes and breast cancer susceptibility. Hum Mol Genet 11. 2002. P. 1399–440.

6. Pavanello S., Clonfero E. Individual susceptibility to occupational carcinogens: the evidence from biomonitiring and molecular epidemiology studies. G Ital Med Lav Ergon. 2004. Oct-Dec. 26 (4). P. 311–21.

7. Shin A., Lee K. M., Ahn B., Park C. G., Noh S. K. et al. Genotype-phenotype relationship between DNA repair gene genetic polymorphisms and DNArepair capacity. Asian Pac J Cancer. 2008. Prev. 9. P. 501–5.

Андрущенко Т. А.[1], Гончаров С. В.[2], Долинчук Л. В.[3], Досенко В. Е.[2]

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *XPD* (RS799793) И БРОНХОЛЕГОЧНАЯ ПАТОЛОГИЯ У РАБОТНИКОВ ВРЕДНЫХ И ОПАСНЫХ ОТРАСЛЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ УКРАИНЫ

[1]Государственное учреждение «Институт медицины труда имени Ю. И. Кундиева Национальной академии медицинских наук Украины», г. Киев

[2]Институт физиологии имени А. А. Богомольца НАН Украины, г. Киев

[3]Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев

Вступление. Самыми распространенными среди профессиональных заболеваний в Украине являются болезни бронхолегочной системы. В структуре вредных и опасных производственных и профессиональных факторов, которые приводят к их развитию в наличии такие, которые обуславливают нарушения в системе репарации ДНК, и могут обуславливать индукцию мутагенеза.

Цель исследования – изучить распределение частот аллелей и генотипов гена репарации *XPD* (rs799793) у больных с патологией бронхолегочной системы среди работников пыльных профессий асбестоцементных предприятий и угольных шахт Украины.

Материалы и методы исследования. В исследование вошли две категории работников: работники асбестоцементных предприятий Украины (n = 92) и шахтеры (n = 98). Методом полимеразной цепной реакции в реальном времени определяли генотипы гена *XPD* (rs799793). Полученные результаты статистически обрабатывали с использованием программ Orion 7.0, Statistica и Excel 2000.

Результаты. В результате проведенного исследования установлены частоты генотипов гена *XPD* (rs799793) в профессиональных группах шахтеров и работников асбестоцементной промышленности Украины. Величина OR минорного аллеля *XPD*Asn* у работников асбестоцементных предприятий указывала на корреляцию нарушений в системе эксцизионной репарации нуклеотидов с риском развития бронхолегочной патологии (OR = 1,34; 95 % CI: 0,69–2,59), в то время как доминантный аллель *XPD*Asp* способствовал протективному действию для его носителей (OR = 0,75; 95 %CI: 0,39–1,44). При изучении частот генотипов гена *XPD* (rs799793) установлено, что генотип *XPD*Asn/Asn* ассоциирован с риском развития бронхолегочной патологии и угнетением эффективности эксцизионной репарации нуклеотидов в популяции работников асбестоцементных предприятий Украины (OR = 2,15; 95 %CI: 1,71–2,70, p ≤ 0,01, χ^2 = 6,35).

Выводы. В результате проведенного молекулярно-генетического исследования полиморфизма гена *XPD* (rs799793) установлено, что генотип *XPD*Asn/Asn* ассоциирован с риском развития бронхолегочной патологии и угнетением эффективности эксцизионной репарации нуклеотидов в популяции работников асбестоцементных предприятий Украины. Установлено, что среди работников асбестоцементных предприятий носители аллеля *XPD*Asn* имеют повышенный риск развития бронхолегочной патологии, а носительство аллеля *XPD*Asp* способствует протективному действию относительно развития вышеуказанной патологии.

Ключевые слова: бронхолегочная патология, молекулярно-генетические маркеры

Andrushchenko T. A.[1], Goncharov S. V.[2], Dolinchuk L. V.[3], Dosenko V. E.[2]

POLYMORPHISM OF *XPD* GENE (RS799793) AND BRONCHOPULMONARY PATHOLOGY IN WORKERSOF HARMFUL AND DANGEROUS BRANCHES OF INDUSTRY IN UKRAINE

[1]State institution «Kundiiev institute of occupational health of the National academy of medical sciences of Ukraine», Kyiv

[2]Bogomoletz institute of physiology of the NAS of Ukraine, Kyiv

[3]Bogomolets National Medical University, Kyiv

Introduction. The most common among occupational diseases in Ukraine are diseases of the bronchopulmonary system. In the structure of harmful and dangerous work-related and occupational factors there are available diseases, which can cause disorders in the system of DNA repair and inducing mutagenesis.

Purpose of the study was to investigate the distribution of frequencies of alleles and genotypes of the repair gene *XPD* (rs799793) in patients with pathology of the bronchopulmonary system in workers of dusty professions at cement enterprises and coal mines of Ukraine.

Materials and methods. The study covered two categories of workers: workers of the cement-concrete enterprises of Ukraine (n = 92) and coal miners (n = 98). A real-time polymerase chain reaction method was used to determine genotypes of the *XPD* gene (rs799793). The results were statistically processed using programs of Orion 7.0, Statistica, and Excel 2000.

Results. The frequencies of genotypes of *XPD* gene (rs799793) were established in occupational groups of miners and workers of the cement industry of Ukraine. The OR value of the minor allele *XPD*Asn* in workers of the cement enterprises indicated the correlation of disorders in the excitatory repair system of nucleotides with the risk of bronchopulmonary pathology development (OR = 1.34, 95 % CI: 0.69–2.59), whereas the dominant *XPD*Asp* allele promoted a protective actiont for its carriers (OR = 0.75, 95 % CI: 0.39–1.44). When studying the frequencies of genotypes of the *XPD* gene (rs799793) it is established that the *XPD*Asn/Asn* genotype is associated with a risk of the bronchopulmonary pathology and the inhibition of the efficiency of the excision repair of nucleotides in the population of workers at Ukrainian cement plants (OR = 2.15, 95% CI: 1.71–2.70, $p \le 0.01$, $\chi^2 = 6.35$).

Conclusions. As a result of the molecular genetic study of polymorphism of the *XPD* gene (rs799793) it was established that the *XPD*Asn/Asn* genotype was associated with the risk of developing the bronchopulmonary pathology and suppressing the efficiency of the excision repair of nucleotides in the population of workers at cement-concrete enterprises of Ukraine. Among the employees of the asbestocement enterprises the carriers of allele *XPD*Asn* promoted the increased risk of development of the bronchopulmonary pathology, and the carriage of allele *XPD*Asp* caused a protective actiont on development of the above pathology.

Key words: bronchopulmonary pathology, molecular-genetic markers

References

1. Kuzmina L. P., Izmerov N. F., Dinisov E. N. (2003), «Biochemical and genetic indicators of individual sensitivity to occupational hazards: Occupational health risk for workers», Guide, Trovant, Moscow, Russia, 329–334.

2. Kundiiev Y. I. and Nahorna A. (2005), «Occupational morbidity in Ukraine in the dynamics of a long-term examination», Ukr. J. Occup. Health, 1, 3–11.

3. Urzhumov P. V., Pogodina A. V. and Akleev A. V. (2013), «Polymorphisms of NBS1 and PARP1 genes and DNA repair efficiency», Vestnik Chelyabinskogo gosudarstvennogo universiteta, 298 (7), Biologiya, 2, 107–108.

4. Kiffmeyer W. R., Langer E. and Davies S. M. (2004), «Genetic Polymorphisms in the Human Population», Cancer, 100, 2, 411–417.

5. Kuschel B., Auranen A., McBride S., Novik K. L. and Antoniou A. (2002), «Variants in double-strand break repair genes and breast cancer susceptibility», Hum Mol Genet, 11, 1399–440.

6. Pavanello S. and Clonfero E. (2004), «Individual susceptibility to occupational carcinogens: the evidence from biomonitoring and molecular epidemiology studies», G Ital Med Lav Ergon, 26, Oct-Dec., 4, 311–21.

7. Shin A., Lee K. M., Ahn B., Park C. G., and Noh S. K. (2008), «Genotype-phenotype relationship between DNA repair gene genetic polymorphisms and DNA repair capacity», Asian Pac J Cancer Prev, 9, 501–505.

ORCID ID співавторів та їхній внесок у підготовку та написання статті:
Андрущенко Т. А. (ORCID ID 0000-0003-2858-8267) – збір первинного матеріалу, участь у реалізації дослідження, статистична обробка результатів;
Гончаров С. В. – участь у реалізації дослідження;
Долінчук Л. В. – аналіз сучасної світової і вітчизняної літератури;
Досенко В. Е. – вибір методів і програми дослідження.

Надійшла: 15 січня 2018 р.

Контактна особа: Андрущенко Т. А., ДУ «Інститут медицини праці імені Ю. І. Кундієва НАМН України», буд. 75, вул. Саксаганського, м. Київ, 01033. Тел.: + 38 0 44 289 43 05.