

СООТНОШЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ И АНТРОПОГЕННОЙ СРЕДЫ. АНТРОПОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ И ВОЗНИКНОВЕНИЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

В.А. Спицын¹, Н.Х. Спицына²

¹ ФГБУ «Медико-генетический научный центр РАМН», Москва

² ФГБУ «Институт этнологии и антропологии им. Н.Н. Миклухо-Маклая РАН», Москва

Настоящее обзорное сообщение посвящено актуальным проблемам генетического вклада в развитии профессиональной патологии среди лиц, работающих с различными ксенобиотиками, а также связи заболеваемости с возрастающим уровнем глобального загрязнения среды. Ксенобиотики (вредоносные внешнесредовые вещества, лекарства и их промежуточные метаболиты, пестициды, пищевые добавки, косметические средства) являются инородными агентами для нормального обмена веществ и могут привести к профессиональным или мультифакторальным болезням. Приведены собственные сравнительные характеристики дискретного генетического полиморфизма в репрезентативных выборках больных асбестозом, силикозом, флюорозом, производственников, устойчивых к развитию рассматриваемых патологических состояний, а также в контрольных выборках из гг. Егорьевска, Асбеста, Новокузнецка и др. Исследованы полиморфизмы в генах, ассоциирующихся с дифференциальной восприимчивостью людей к воздействию отдельных металлов и их соединений. Обсуждаются также генетические эффекты, проявляющиеся при совместном действии ксенобиотиков. Была установлена поляризация в генных частотах между больными с профессиональной патологией и рабочими с высоким стажем работы. Молекулярно-генетические методы позволяют определить специфические полиморфизмы ДНК, ассоциирующиеся с восприимчивостью/устойчивостью к ряду профессиональных ядов. Эти результаты позволяют установить патогенез профессиональных болезней и открывают новые возможности для превентивной медицины. Формулируются следующие основные выводы: 1) существует дифференциальная чувствительность индивидов к различным средовым и антропогенным воздействиям; 2) функциональная неравнозначность аллелей конкретного гена обуславливает количественные различия в генной экспрессии; 3) выявлен эффект полифункциональности определенного белка; 4) дифференциальная чувствительность также связана с наличием и числом редких аллелей у индивидов.

Ключевые слова: экологическая генетика, профессиональные болезни, дифференциальная восприимчивость/резистентность, профессиональный отбор

Введение

В настоящее время неослабевающий интерес к проблемам профессиональной патологии поддерживается не только все расширяющимися контактами континентов, работающих с различными веществами, но и возрастающим уровнем глобального загрязнения среды. На современном этапе экономического развития в мире насчиты-

вается свыше 10 млн химических соединений, из которых более 30 тысяч используются весьма широко. Для каждого человека взаимодействие с внешней средой – это, прежде всего, бесчисленное множество химических реакций, протекающих в процессе метаболизма различного рода веществ, поступающих в организм из окружающей среды. Особенности их метаболизма в организме определяются сложной системой фермента-

тивных реакций. Этот факт сопряжен с существованием дискретного биохимического полиморфизма и сводится к наличию разных изоферментов в пределах каждого класса ферментов, разнообразия фракций любого белка в целом. Такая изменчивость в обычных естественных условиях относится к разряду нормальной генетической вариабельности, определяющей дисперсию в протекании биохимических реакций. Однако аллели некоторых локусов с нормальным полиморфизмом в естественных средовых условиях, могут стать «патологическими» при резком изменении окружающей среды, а также при контакте людей с продуктами производственной деятельности. Систематические медицинские наблюдения показывают, что возможность человека заниматься определенными формами трудовой деятельности во многом определяется наследственными особенностями. Существующее многообразие внешнесредовых агентов, с которым сталкивается человек, можно считать новым для него, если принять во внимание весь огромный предшествующий период исторического развития *Homo sapiens sapiens*. И в первую очередь это относится к ксенобиотикам – инородным для нормального обмена веществ с потенциальным биологическим эффектом (лекарства и их промежуточные метаболиты, инсектициды, пищевые добавки, косметические средства и др.). В результате длительных контактов с ними, наблюдаемая дифференциальная чувствительность индивидов к средовым факторам, связанная с индивидуальными наследственными особенностями, приводит к формированию адаптивных комплексов или, напротив, к дезадаптации, сопровождающейся развитием профессиональных или мультифакториальных болезней. Весь масштаб генетической дифференциации населения под влиянием средовых факторов демонстрируется на внутригрупповом уровне изменчивости.

Настоящая работа посвящена актуальной проблеме исследования антропогенетических ассоциаций индивидуальной генетической чувствительности индивидов с развитием профессиональной и мультифакториальной патологии при длительном воздействии ксенобиотиков.

Материалы и методы

Были изучены больные асбестозом и профессиональным пылевым бронхитом (163 чел.), а также бывшие работники производств: а) завода асбесто-технических изделий г. Егорьевск Московской

области и б) комбината «Ураласбест» г. Асбест Свердловской области. Анализировался контингент лиц, соприкасавшихся с асбестом на производстве (производственники с разным стажем работы завода АТИ 294 чел. г. Егорьевск и комбината «Ураласбест» – 206 чел.). Репрезентативная выборка рабочих подразделялась на две подгруппы: В – рабочие с пылевым стажем работы свыше 10 лет и М – рабочие со стажем менее 10 лет. В качестве контрольных групп были обследованы случайные выборки жителей из городов Егорьевск (222 чел.) и Асбест (334 чел.) [Спицын, Цурикова, Афанасьева, 1992].

В качестве объектов исследования были также выбраны: 1) 172 человека больных флюорозом, работавших на Новокузнецком алюминиевом заводе (НКАЗ); 2) 54 незаболевших рабочих НКАЗ при контакте с соединениями фтора более 10 лет; 3) контрольная выборка из г. Новокузнецка, сопоставимая по возрасту в количестве 71 человек [Макаров, 1998]. Индивиды, включенные в контрольную группу жителей Новокузнецка, не соприкасались с фтором в своей трудовой деятельности. Сравнительные данные указывают, что в когорте пациентов с симптоматикой, характерной для хронической фтористой интоксикации, в основной девиантной подгруппе оказались тяжелобольные с диагнозом флюороз II (костной стадии). В этой связи представлялось целесообразным проведение последующего анализа лиц с рентгенологически верифицированным диагнозом с проявлением специфической для профессиональной хронической фтористой интоксикации – остеопатией.

В исследованной выборке свыше 270 больных силикозом, работавших на металлургических предприятиях г. Новокузнецка, изучено генетическое разнообразие пятнадцати серологических и генетико-биохимических маркеров (ABO, MN, RH, P, Se, Le, HP, GC, PI, TF, GM, ACP1, PGM1, ESD, и Cerumen). Также изучены биологические образцы от групп больных с интоксикацией тяжелыми металлами, полученные из Института медицины труда РАМН.

Состав выборок характеризовался субъектами молодого и среднего возраста (20–60 лет), преимущественно мужчинами, большинство из которых восточнославянского происхождения.

Обработка образцов цельной крови и ДНК осуществлялась с помощью методов, изложенных в монографии «Экологическая генетика человека» [Спицын, 2008].

Таблица 1. Распределение частот фенотипов и аллелей системы Резус в изученных группах г. Егорьевск (I) и Асбест (II)

Группы	N	Численности фенотипов		Частоты аллелей	
		RH +	RH -	D	d
Б (I)	33	27	6	.5736	.4264
В (I)	82	75	7	.7078	.2922
М (I)	212	195	17	.7168	.2832
К (I)	209	178	31	.6149	.3851
Б (II)	129	108	21	.5965	.4035
В (II)	113	99	14	.6480	.3520
М (II)	85	81	4	.7831	.2169
К (II)	334	289	45	.6329	.3671

Обозначение. Б – больные. В – рабочие с высоким стажем работы. М – лица с малым стажем работы. К – контрольная выборка

Результаты и обсуждение

В статье рассматриваются основные результаты антропогенетического исследования, касающиеся генетических аспектов профессиональной деятельности.

Асбестоз и генетически обусловленные различия людей в чувствительности к воздействию асбеста и его производных

Всесторонняя оценка отрицательного воздействия асбеста на организм человека является весьма актуальной ввиду его повсеместной распространенности в РФ. Несмотря на очевидность вредоносного воздействия на организм (индукция пылевого бронхита, асбестоза, рака легкого), производство асбеста и его производных в нашей стране не только не сокращается, но и имеет тенденцию к возрастанию.

Особое значение в настоящее время приобретает задача выявления лиц с врожденной высокой специфической чувствительностью к асбестовой пыли, поскольку на производственных процессах уже исчерпаны возможности дальнейшего снижения ее концентрации с помощью технологических и санитарно-технических средств. Медико-статистические оценки свидетельствуют, что при соприкосновении с асбестом заболевают от 3 до 12% от общего числа работающих. При этом отсутствует строгая корреляция между продолжительностью и интенсивностью контакта (пылевая нагрузка), с одной стороны, и развитием заболевания у конкретного индивида – с другой.

Учитывая важность рассматриваемой проблемы, комплексный анализ оценки вклада генетической компоненты в развитие асбестоза может послужить основой для разработки нового подхода, методов и практических рекомендаций в отношении профессионального отбора и профилактики пневмокониозов.

В образцах крови от обследованных лиц определены группы крови АВ0, RH, полиморфизм сывороточных белков HP, TF, GC, PI, C'3 и эритроцитарных ферментов ACP1, PGM1, GLO1. Сравнительная характеристика дискретного генетического полиморфизма среди больных асбестозом, рабочих асбестотехнической промышленности и контрольных выборок жителей городов Егорьевск (I) и Асбест (II), не контактирующих с производственной вредностью представлена в табл. 1–3.

Полученные в табл. 1 распределения факторов системы Резус в выборках индивидов как из Егорьевска, так и из Асбеста определяют характерные особенности больных и производственных когорт. Обе выборки больных отличаются возрастанием пропорции рецессивного аллеля d резус-отрицательности. Напротив, среди групп рабочих частота этого аллеля минимальна, а контроль в этом отношении занимает промежуточную позицию.

Из рассмотрения материалов табл. 2 становится очевидным возрастание пропорции фенотипа HP 1-1 и соответствующего аллеля HP*1 в выборках больных асбестозом. Напротив, полярную позицию занимают рабочие с большим стажем работы г. Егорьевска и Асбеста, у которых преобладает частота альтернативного фенотипа HP 2-2 и соответствующего аллеля HP*2. Выяв-

Таблица 2. Распределение фенотипических и аллельных частот НР в изученных выборках г. Егорьевск (I) и Асбест (II)

Группы	N	Численности фенотипов			Частоты аллелей	
		1-1	2-1	2-2	НР*1	НР*2
Б (I)	34	13	12	9	.5588	.4412
В (I)	82	11	26	45	.2927	.7073
М (I)	212	27	99	86	.3608	.6104
К (I)	222	33	107	82	.3896	.6104
Б (II)	129	25	63	41	.4380	.5620
В (II)	113	6	51	56	.2788	.7212
М (II)	93	15	38	40	.3656	.6344
К (II)	328	39	45	144	.3929	.6071

Обозначение. Б – больные. В – рабочие с высоким стажем работы. М – лица с малым стажем работы. К – контрольная выборка

Таблица 3. Распределение частот фенотипов и аллелей С3 компонента комплемента в изученных группах из г. Асбеста

Группы	N	Частоты фенотипов			Частоты аллелей		χ^2_{HW} d.f.=1
		SS	FS	FF	С3*S	С3*F	
Б	129	<u>Obs 103</u>	<u>18</u>	<u>8</u>	.8682	.1318	19.6***
		<u>Exp 97</u>	<u>30</u>	<u>2</u>			
В	74	57	16	1	.8784	.1216	0.01
М	48	42	5	1	.9271	.0729	2.53
К	329	285	41	3	.9286	.0714	1.10

Обозначение. Б – больные. В – рабочие с высоким стажем работы. М – лица с малым стажем работы. К – контрольная выборка

ленные различия в частотах фенотипов и аллелей статистически достоверны. Наличие выраженного градиента изменчивости аллельных частот в ряду В – М – К – Б может свидетельствовать в пользу существования как самого факта профессионального отбора, так и его динамики.

Сравнительный анализ распределения аллельных частот системы С3 в группах больных асбестозом и производственников с высоким стажем работы демонстрирует значительное сходство. Однако эмпирическое распределение фенотипов С3 компонента комплемента у больных асбестозом значительно отклоняется от теоретически ожидаемого соотношения их концентраций за счет эксцесса относительно редких гомозигот FF и соответственного уменьшения доли гетерозигот FS (табл. 3).

Увеличение частоты фенотипа С3 FF в выборке больных более чем в 4 раза по сравнению с контролем может косвенно свидетельствовать о функциональной недостаточности фактора С3*F по сравнению с экспрессией аллеля С3*S, что подтверждается информацией о высокой степени ассоциаций С3*F с рядом заболеваний различной этиологии [Wyatt, Julian, 1984; Bernal, Papiha, Roberts, 1986]. Таким образом, факты свидетельствуют о дисбалансе в распределении фенотипов С3 в когорте больных, где в селективном отношении гомозиготные носители С3 FF оказываются в менее благоприятном положении в случае давления профессионального фактора асбеста в отличие от потенциально имеющих более высокую адаптивную ценность гомозигот С3 SS.

Силикоз

Пневмокониозы принадлежат к одним из наиболее распространенных профессиональных заболеваний. Среди них силикоз относится к самой часто встречающейся форме болезни, связанной с вдыханием силикатной промышленной пыли и клинически отличающейся наиболее тяжелым течением. Воздействию кварцсодержащей пыли подвергаются десятки тысяч рабочих горнодобывающей промышленности, черной металлургии, строительства. Силикоз с медленно прогрессирующим течением, как правило, развивается при длительном (свыше 10 лет) контакте с кварцсодержащей пылью. Дифференциальная индивидуальная восприимчивость к влиянию профессиональных пылевых нагрузок в отношении риска заболеть пневмокониозом была издавна отмечена эмпирическими наблюдениями. В этой связи представляется перспективным выявление биомаркеров у пациентов для прогнозирования риска развития заболевания. Их поиск является одной из ключевых проблем клинической медицины. Различия в реактивности организма в случае болезни и в случае выздоровления генетически детерминированы фенотипическими вариантами ответной реакции.

Проведено сопоставление генетической структуры изученной когорты пациентов в сравнении с распределением в контрольной репрезентативной группе индивидов из новокузнецкой популяции, без признаков этого заболевания. Совокупность больных силикозом статистически значимо отличается возрастом частот аллелей Se^*d (0.4150), P^*P_2+p (0.7843), Se^*Se (0.7265), Le^*b (0.7252), и $ACP1^*A$ (0.4364) по сравнению с контролем (0.1806; 0.5633; 0.6354; 0.6697 и 0.3501 соответственно). Таким образом, генетическая структура группы больных силикозом характеризуется специфическими особенностями распределения частот изученных маркеров генов. Частоты информативных аллелей в контрольной выборке и в группе больных силикозом наглядно иллюстрируют различия в генетических структурах сравниваемых выборок.

Флюороз и генетические аспекты фтористой интоксикации

Фтор принадлежит к эссенциальному химическому микроэлементу. Однако его избыток кардинально меняет жизненно важную функцию на противоположную – токсическую, со временем приводя к тяжелому заболеванию – флюорозу. Заболевание может быть обусловлено есте-

ственными причинами, например, повышенным содержанием фтора в продуктах питания и воде (эндемический флюороз). Соли фтора концентрируются в костной ткани, поражают зубную систему. Фтор элиминируется из организма с мочой, но зачастую организм не в состоянии справиться с его излишком. Высокий уровень фтора способствует экстракции магния из крови, мобилизует кальций из костей, что в итоге приводит к их обызвествлению. При этом кальций аккумулируется в почках, легких и мышцах. Индустриальная технология в химической промышленности, при производстве алюминия, при добыче криолитовых руд приводят к профессиональному флюорозу. Однако снизить уровень загрязнения на современных производствах применяемыми технологическими методами не удается. При этом производство алюминия (для электролиза используются соли фтора), занимая одно из лидирующих мест по концентрации этого химического элемента (20 ПДК фтористых соединений), отличается присутствием дополнительных вредностей, способных потенцировать токсическое действие фторидов (Al, сильные магнитные поля).

В этой ситуации на первый план выходят меры медико-биологической профилактики. Известный факт, что в среднем 7% работающих заболевают явно выраженным флюорозом, указывает на то, что в характере дифференциальной восприимчивости индивидов к воздействию соединений фтора велика доля генетической компоненты. Из них у 30% заболевших отмечается отсутствие эффекта при лечении остеопороза фторидом натрия в качестве средства повышающего плотность костной ткани.

При исследовании генетической предрасположенности/устойчивости лиц, контактирующих с производственными вредностями, как в РФ, так и за рубежом, применяется анализ полиморфизма по отдельным генетическим системам или их комплексу при одновременном количественном определении уровня белков и активности ферментов для выяснения возможной связи между проявлением профессиональной патологии и генетико-биохимической изменчивостью. Преимуществом настоящего исследования является то, что из 11 рассматриваемых генетических маркеров 9 систем являются кодоминантными, это позволяет определенно судить о генотипах обследованных лиц.

Больные флюорозом II стадии имеют наибольшее статистически значимое отклонение от когорты незаболевших рабочих по системе *Segutep*.

Биологическое значение диморфизма ушной серы изучено еще недостаточно полно для понимания ее функциональной роли в организме че-

Таблица 4. Величины показателя относительного риска RR развития флюороза [Макаров, 1998]

Фенотип	Больные (II ст.) – Контроль		Больные (II ст.) – Рабочие	
	RR	χ^2	RR	χ^2
ACP1 AA	3.48	4.14		
ACP1AX			2.21	4.40*
PGM1 1+1+	0.35	7.57**	0.38	5.69*
PGM1 1-X	2.95	7.01**	4.03	8.41**
Cerumen d			6.57	10.70**

Примечание. Уровень значимости: * – $\alpha < 0.05$; ** – $\alpha < 0.01$; *** – $\alpha < 0.001$; X – любой аллель данного локуса

ловека. Известно, что во влажной по консистенции ушной сере содержится больше, чем в сухой, таких компонентов, как лизозим и секреторные иммуноглобулины класса G и A. Это, в свою очередь, может быть сопряжено с более эффективной системой противoinфекционной защиты и общим иммунным статусом организма. Действие фторидов (и особенно фторида алюминия) выражается, в частности, в нарушении внутриклеточного транспорта (дезорганизации везикулярного транспорта между аппаратом Гольджи и эндоплазматическим ретикулумом). Поскольку Cerumen является продуктом секреции, можно предположить, что разные типы консистенции имеют свои особенности в реализации этого сложного процесса межорганелльного взаимодействия.

Проведенное исследование по поиску ассоциации генетических маркеров с хронической фтористой интоксикацией выявило высокий, статистически достоверный показатель относительного риска RR по системе кислой фосфатазы для фенотипа ACP1 AA – наиболее часто встречающегося в когорте больных. Данный вариант кислой фосфатазы проявляет меньшую активность относительно других изоформ локуса. Было бы естественно предположить, что в жестких условиях фтористой интоксикации, именно этот фенотип ACP1, вследствие минимального резерва активности, окажется критически слабым звеном в функционировании организма. Вместе с тем, фенотип ACP1 BB, в силу повышенной активности, может оказаться защитным фактором против развития тяжелой формы профессионального флюороза.

Группа больных флюорозом II стадии статистически значимо отличается более высокой частотой аллеля фосфоглюкомутазы PGM1*1- и соответственно фенотипами имеющими в своем составе

этот аллель: PGM1 1-1-, PGM1 1+1-, PGM1 1-2+ и PGM1 1-2-. Относительный риск для данной совокупности фенотипов оказался статистически значимым (при $\alpha < 0.01$), как при сравнении с когортой незаболевших рабочих с высоким стажем работы, так и при сравнении с популяционным контролем, и составил 4.03 и 2.95 соответственно. Напротив, среди больных наблюдалась пониженная частота фенотипов PGM1 1+1+ и PGM1 2+2+. Обнаруженные ассоциации изученных фенотипов PGM1 могут указывать на биохимические связи между влиянием фтора на организм и функциональным действием этой генетической системы (табл. 4).

Полиморфизмы в разных генах, ассоциирующиеся с дифференциальной восприимчивостью людей на воздействие отдельных металлов: свинец, бериллий, мышьяк, цинк, алюминий, никель и ртуть

Свинцовая интоксикация и роль молекулярно-генетической изменчивости в гене δ -аминолевулинат дегидратазы (ALAD) в биотрансформации свинца и его соединений

Хорошо известно, что свинец является ингибитором δ -аминолевулинат дегидратазы с установленной связью между воздействием свинца на организм и падением активности этого фермента. В наибольшей мере исследовалось соотношение воздействия свинца и его соединений в связи с наследственно обусловленной межиндивидуальной изменчивостью фермента дегидратазы δ -аминолевулиновой кислоты (δ -ALAD). ALAD

(К.Ф. 4.2.1.24) является вторым ферментом в процессе биосинтеза гема. Он катализирует асимметричную конденсацию двух молекул 5-аминолевулиновой кислоты в форму порфириногена, монопиррольного предшественника гема, цитохромов и других гемопротеинов [цит. по: Wetmur et al., 1991]. В состав фермента входят четыре атома цинка, необходимые для его стабильности и ферментативной активности. Под воздействием свинца в структуре фермента ALAD происходит замена катионов цинка катионами свинца в активных сайтах фермента. Попадая в организм, металл депонируется во многие органы и откладывается в виде нерастворимого трехосновного фосфата свинца. Большая его часть аккумулируется в трабекулах костей, что способствует вытеснению солей кальция из костной ткани. Из мест своего накопления свинец элиминируется медленно, подчас в течение нескольких лет после прекращения контакта с ним. В организме происходит также накопление δ -аминолевулиновой кислоты. У лиц с недостаточностью фермента развивается подострая двигательная невропатия с проявлением абдоминальных и психиатрических симптомов. В дальнейшем была подтверждена дифференциальная роль генетического полиморфизма в гене ALAD в подверженности свинцовой интоксикации [Goedde, Lenthal, 1986].

Субъекты с аллелем ALAD*2 оказываются более чувствительными к отравлению свинцом и его соединениями.

В настоящее время аллели ALAD*1 и ALAD*2 идентифицируются на уровне молекулярного анализа амплификацией фрагмента ДНК 916 п.о. и рестрикцией с помощью эндонуклеазы *MspI*, что приводит к образованию продуктов 582 и 511 п.о. соответственно. Аллель ALAD*2 характеризуется трансверзией G \rightarrow C [Wetmur et al., 1991]. Этой же группой исследователей была обнаружена одонуклеотидная замена тимина на цитозин в 168 положении в том же 4-м экзоне, которая идентифицируется по наличию сайта для рестриктазы *RsaI*. Все эти результаты открывают обширную молекулярную основу для дальнейших популяционных исследований при определении людей, чувствительных к воздействию свинца и его соединений.

Нами изучены биологические образцы от групп больных с интоксикацией тяжелыми металлами, полученные из Института медицины труда РАМН. При исследовании 207 образцов контрольной выборки здоровых индивидов были получены следующие частоты аллелей: ALAD*1 = 0.9565 и ALAD*2 = 0.0435. Сравнительная информация о распределении пропорций аллелей сре-

ди 50 больных свинцовой интоксикацией показала следующие результаты: ALAD*1 = 0.9000 и ALAD*2 = 0.1000. Сопоставление двух выборок на гетерогенность в отношении аллельных частот демонстрирует статистически значимые различия между ними при величине $\chi^2 = 4.99$ при 1 ст. св., что свидетельствует о достоверном возрастании частоты аллеля ALAD*2 среди больных со свинцовой интоксикацией.

Результаты сравнительного исследования больных со свинцовой интоксикацией и контрольной группы здоровых подтверждают, что лица с генотипом *Msp1+/+* (ALAD 2-2), определяемые аллелем *MspI+* (ALAD*2) оказываются более восприимчивыми к неблагоприятному воздействию свинца [Спицын, 2008].

Никелевая интоксикация

Генетически обусловленная дифференциальная чувствительность к никелю и его соединениям, связанная с полиморфными генами эндотелиальной синтазы окиси азота (eNOS), фактора некроза опухоли (TNF α) и аполипопротеина E (APOE).

Никель используется для получения сплавов с другими металлами, для покрытия деталей различной аппаратуры и как катализатор многих химических процессов.

Токсичность никеля зависит от пути его поступления в организм. Вредоносность сульфата и хлорида никеля, обладающих хорошей растворимостью в воде, примерно в 30 раз выше, чем токсичность самого металла и его окислов. В действительности никель в качестве ксенобиотика основное значение принадлежит металлу, а анион может изменять этот эффект лишь в незначительной степени.

Местом избирательного накопления никеля служат органы, богатые митохондриальными образованиями, где очень интенсивны биохимические процессы – железы внутренней секреции, печень, почки.

Карбонил никеля представляет собой наиболее агрессивное соединение Ni, вызывающее острые интоксикации в производственных условиях. При этом наибольшие количества никеля аккумулируются в легочной ткани. В основе токсического действия карбонила никеля лежит раздражающий эффект, поражение глубоких дыхательных путей, ведущее в тяжелых случаях к развитию токсической пневмонии и отека легких. Поражение легочной ткани при интоксикации карбонилем никеля

Таблица 5. Распределение частот генотипов и аллелей VNTR 4-го интрона эндотелиальной синтазы окиси азота в выборках больных с никелевой интоксикацией и контроле

Генотипы и аллели eNOS	Больные		Контроль	
	Численности генотипов			
	Наблюдаемые	Ожидаемые	Наблюдаемые	Ожидаемые
BB	47	45.29	151	150.32
AB	21	24.42	36	37.36
AA	5	3.29	3	2.32
χ^2_{HW}	1.4302; P > 0.05		0.2510; P > 0.05	
eNOS*B	0.7877		0.8895	
eNOS*A	0.2123		0.1105	

вызывается молекулами этого соединения при их прохождении через альвеолярный эпителий. Проникновение Ni(CO)₄ в клетку облегчается его высокой липорастворимостью. Причиной летальных исходов может служить поражение легких, а также отек мозга и точечные кровоизлияния в ткани мозга.

Воздействие хлористого никеля на организм приводит к изменению активности щелочной фосфатазы сыворотки крови, а также влияет на функциональное состояние щитовидной железы.

При обследовании рабочих пирометаллургического производства было обнаружено, что под влиянием сульфидных и закисных соединений никеля, развивается особый никелевый пневмокониоз. В течение 8–10 лет контакта с карболином никеля происходит развитие диффузного пневмосклероза как следствие профессионального поражения легких.

Имеется достоверная информация о канцерогенной опасности различных соединений никеля. Показатели смертности от рака легких у рабочих на крупных никелевых заводах в возрастных группах 40–49 лет и старше статистически значимо превышали таковые для тех же возрастных групп, не связанных по роду производственной деятельности с никелем.

Сенсибилизирующее действие никеля и его соединений проявляется в форме никелевых дерматитов у лиц, систематически соприкасающихся с этим металлом и его соединениями. При обследовании рабочих гальванических цехов повышенная чувствительность к никелю развивается у 79% обследованных.

Неодинаковая индивидуальная чувствительность к никелю и его соединениям, избиратель-

ное поражение ими различных органов и тканей разных людей может свидетельствовать о существовании генетических различий в восприимчивости к Ni и его производным. Поскольку никелевая интоксикация, как правило, сопровождается бронхопневмонией, бронхиальной астмой, поражением легочной ткани, нарушением газообмена, особое внимание обращается на явление реактивности бронхов в ответ на воздействие окиси азота [Nijkamp and Folkerts, 1994], а также на связь между уровнем NO и легочной патологией в целом [Barnes and Belvisi, 1993].

В рамках продолжения экогенетических исследований профессиональных заболеваний было проведено изучение полиморфизма переменного числа tandemных повторов (VNTR) в интроне 4 eNOS в выборке 73 больных никелевой интоксикацией и 190 практически здоровых субъектов, не связанных с производством и переработкой никеля и его соединений (табл. 5).

Сравнительный анализ на однородность/гетерогенность распределения аллелей VNTR 4-го интрона эндотелиальной синтазы окиси азота (eNOS) демонстрирует, что в целом «неблагоприятный» аллель eNOS*A представлен в группе больных с никелевой интоксикацией в два раза чаще, чем в контрольной группе (0.2123 против 0.1104 соответственно) при величине $\chi^2 = 9.15$; P < 0.05; 1 ст. св. Следовательно, наличие генотипа eNOS AA и аллеля eNOS*A соответственно у лиц, систематически соприкасающихся с никелем и его соединениями, является фактором риска развития соответствующего профессионального заболевания.

Таблица 6. Распределение генотипических и аллельных частот VNTR полиморфизма гена eNOS среди больных и в контроле

Группы	N	Частоты генотипов			Частоты аллелей		χ^2_{H-W}
		BB	AB	AA	*a	*b	
Никелевая интоксикация	74	48 64.8%	21 28.4%	5 6.8%	.7905	.2095	1.51
Свинцовая интоксикация	70	44 62.9%	21 30.0%	5 7.1%	.7786	.2214	1.79
Контроль	190	151 79.5%	36 18.9%	3 1.6%	.8895	.1105	0.25

Генетические эффекты, проявляющиеся при совместном действии ксенобиотиков

В 1986 г. была осуществлена одна из первых попыток определить кластогенные эффекты воздействия мышьяка, свинца и двуокиси серы, а также защитный эффект селена на культурах лимфоцитов [Beckman, Nordenson, 1986]. Эти ксенобиотики являются основными веществами, с которыми сталкиваются рабочие в процессе медеплавильного производства. Клетки крови были получены от здоровых лиц и подвергались воздействию этих веществ в определенных сочетаниях, включая арсенит натрия, ацетат свинца, сульфат натрия и селенит натрия. Обработанные таким образом клетки анализировались на наличие хромосомных aberrаций и сестринских хроматидных обменов. Оказалось, что селен оказывает противоположное (защитное) действие по отношению к вредоносному влиянию остальных рассматриваемых веществ. В процессе исследования не было обнаружено синергических, дополняющих или усиливающих эффектов одновременного воздействия мышьяка, свинца и двуокиси серы на проявление хромосомных aberrаций. Результаты свидетельствуют о разнонаправленном, противоречивом влиянии комплекса этих генотоксических агентов в отношении кластогенеза. Авторы пришли к выводу, что смешанное воздействие химических веществ при медеплавильном производстве оказывается не столь агрессивным в плане повреждения хромосомного аппарата, чем это ожидалось до проведения данной экспериментальной работы. Интересным представляется рекомендации исследователей о целесообразности введения в систему диеты одного из этих микроэлементов для уменьшения генотоксических эффектов соединений свинца, мышьяка и серы.

Последующие работы в этом направлении требуют оценки генетически обусловленной инди-

видуальной чувствительности к данным ксенобиотикам в зависимости от наследственного полиморфизма по генам, отвечающим за разнообразие ферментных и других белков.

Недавние исследования, проведенные нами, показали существенную роль VNTR полиморфизма эндотелиальной синтазы окиси азота в реакции организма на действие таких металлов как свинец и никель, а также их соединений. В табл. 6 приводятся результаты идентификации частот генотипов и аллелей VNTR eNOS в выборках пациентов с никелевой и свинцовой интоксикацией по сравнению с контролем клинически здоровых субъектов.

Последующий анализ демонстрирует статистически значимые различия в распределении аллельных частот между контрольной выборкой, с одной стороны, и больными с никелевой и свинцовой интоксикацией – с другой при значениях $\chi^2 = 8.01$ и 9.40 соответственно и $P < 0.01$.

Генетико-физиологическая концепция развития мультифакториальных заболеваний

Физиологическая генетика занимается исследованием развития признака, обусловленного геном в конкретных условиях среды, поскольку между первичным эффектом гена и конечными результатами имеется множество промежуточных ступеней. В настоящее время многочисленная когорта исследователей обнаруживает новые связи аллелей полиморфных генов с многофакторными болезнями.

В рамках этой программы нами было исследовано до 14 генетических полиморфизмов в репрезентативных выборках пациентов с асбестозом, флюорозом, витамин-Д-дефицитным рахитом, скуамоидным раком легкого, генитальным эндо-

Таблица 7. Статистически значимые ассоциации аллелей 12 полиморфных локусов с 9 мультифакториальными болезнями

Локус	Заболевания и ассоциирующиеся с ними аллели								
	ВДР	АСБ	ФЛР	tbc	ХПВ	СРЛ	ЭНМ	ТЦП	ОМЗ
ABO	p(A)	p(A)			p(A)			p(A)	
RH		d			D				d
HP	1	1				2			
TF	C2	C2, B, D		C3	C3	C3	C2	C2, C3	
GC				1S 1F*	1S	1F			
C'3		F		F			F	F	F
PI				Z	M2			M3, Z, S	M2
ACP1			A	C		A		C	
PGM1		2-	1-, 2-		1+	1+	1+	1+	
ESD							5, 7		
GLO1					2				
Cerumen			d						d

Примечание: ВДР – витамин-Д дефицитный рахит; АСБ – асбестоз; ФЛР – флюороз; tbc – туберкулез легких; ХПВ – хроническая пневмония с бронхоэктазами; СРЛ – скуамозидный рак легкого; ЭНМ – генитальный эндометриоз; ТЦП – токсический цирроз печени; ОМЗ – онихомироз

метриозом, туберкулезом легких, алкогольным гепатитом, хронической пневмонией с бронхоэктазами и онихомирозом. Исследование комплекса дискретного генетического разнообразия вместе с непрерывно варьирующей клинико-биохимической и физиологической изменчивостью в группах больных с девятью различными формами мультифакториальных патологий при сравнении с контрольными выборками позволило прийти к следующим выводам:

1. Аллели различных полиморфных генов, независимо от локализации на разных хромосомах могут быть связанными с одним и тем же мультифакториальным заболеванием.
2. Заболевания с разной этиологией могут ассоциироваться с одними и теми же полиморфизмами.

Предложенная нами концепция формирования мультифакториальной патологии исходит из признания факта о функциональной неравнозначности аллелей. В организме человека существуют различия между аллелями большей части локусов в проявлении количественных признаков, которые определяют функциональную неравнозначность фенотипов в отношении транспортной функции аллопротеинов, ферментативной активности, реактивности иммунной системы и других свойств геной экспрессии. Развитие подавляющего большинства мультифакториальных болезней не связано с каким-либо дефектным аллелем гена, а зависит от функционального состояния совокупности аллелей множества генов.

Классическим примером функциональной неравнозначности между аллелями в определении уровня белка и транспортной активности служит, например, система гаптоглобина. Так, аллель HP*1, независимо от расовой и территориальной принадлежности популяции контролирует более высокий уровень белка и повышенную эффективность в связывании гемоглобина. Различия между аллелями других генов не столь существенны, но строго постоянны. И если в цепи метаболизма проявляется одновременное действие аллелей разных генов, контролирующих пониженную ферментативную активность, меньший уровень белка и более слабую реактивность иммунной системы, то такая ситуация с большой вероятностью будет способствовать развитию у индивида мультифакториального заболевания. Случайное сочетание таких неблагоприятных «квазигаплотипов» при прочих равных условиях будет увеличивать регрессивные состояния одного или нескольких фрагментов метаболических путей.

Подтверждением этому служит обнаружение в выборках больных с девятью изученными формами патологией относительно редких аллелей, определяющих пониженный уровень белка и пониженную ферментативную активность по сравнению с контрольной группой (табл. 7). Каждый из рассматриваемых генов обнаруживает ассоциации с двумя- семью многофакторными заболеваниями и наоборот, любое из девяти возможных патологических состояний оказываются связанным с тремя- семью аллелями разных локусов.

Таким образом, выявлена положительная корреляция между объемом функциональных нагрузок белка и вероятностью развития мультифакториальной патологии [Спицын, 2008].

Живая природа не терпит пустоты, она крайне экономна, скупа и весьма рациональна. Современное представление о функциональных нагрузках разнообразных белков противоречит с ранее распространенным мнением о монофункциональности каждого из них. Многие из полиморфных генов оказываются полифункциональными, что важно с эволюционной точки зрения. Появляются сообщения о существовании межаллельных и межлокусных взаимодействий между генами, расположенными на разных хромосомах, например, между генами кислой эритроцитарной фосфатазы-1 (ACP1) и аденозин дезаминазы (ADA), локализующихся на второй и двадцатой хромосомах соответственно. Дальнейшее изучение таких связей будет способствовать определению функционирования генома на разных отрезках метаболических путей, что также может иметь непосредственное отношение к пониманию этиологии и патогенеза мультифакториальных заболеваний.

Следует обратить внимание, что некоторые полиморфные гены включают аллеломорфы, отвечающие за достаточно резкую функциональную недостаточность. К ним принадлежат, например, аллели PI*Z, PI*S ингибитора протеиназ, GSTM1*0 глутатион-S-трансферазы и ряд других аллелей иных генов, определяющих низкий уровень того или иного транспортного белка, низкую активность фермента, резко измененную реактивность иммунной системы и т.д. Именно такие полиморфные системы следует характеризовать как, так называемые, главные гены, определяющие патологические состояния.

Заключение

В статье осуществлен обзор собственных и литературных данных объединенных проблемой поиска антропогенетических ассоциаций индивидуальной генетической чувствительности индивидов с развитием профессиональной и мультифакториальной патологии при воздействии ксенобиотиков. Исследования показали, что средовые факторы в генетическом отношении оказывают на организм человека влияния различного характера:

1. Контакт с внешнесредовым агентом может приводить к генотоксическим повреждениям, вызывая мутации в соматических и половых клетках.

2. Аллели многих локусов, обнаруживающие нормальный полиморфизм в естественных средовых условиях могут стать «патологическими» в контакте с условиями профессиональной деятельности и продуктами производства.

В свою очередь, дифференциальная чувствительность людей к различным средовым воздействиям, включая антропогенные факторы, связана с функциональной неравнозначностью аллелей одного гена, обуславливающих количественные различия в экспрессии (концентрация, активность ферментных и др. белков, степень иммунного статуса зависят от генотипической принадлежности). Выявлен эффект полифункциональности определенного белка, контролируемого одним геном (одновременное включение структурной, транспортной, иммунной функций), а также связь дифференциальной чувствительности с наличием и числом редких аллелей. Установлено явление поляризации частот генотипов и аллелей по ряду локусов между когортами резистентных и восприимчивых людей по отношению к средовым агентам в сравнении с популяционным контролем.

Введенные в научный оборот новые данные антропогенетического исследования могут быть использованы для решения задач практического характера в рамках диагностики широко распространенных и профессиональных болезней на доклиническом уровне, прогнозе развития заболевания, превентивного лечения, а также проблемы профессионального отбора и профориентации в РФ.

Благодарность

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантов РФФИ № 12-06-00265 и РГНФ: № 12-01-00063а.

Библиография

- Макаров С.В. Генетические аспекты хронической фтористой интоксикации (флюороза). Дис. ... канд. мед. наук. М., 1998. 215 с.
- Спицын В.А., Цурикова Г.В., Афанасьева И.С. Проявление генов в условиях негативной антропогенной среды: избирательная генетически обусловленная чувствительность к асбесту // Вестник РАМН, 1992. Т. 4. С. 46–52.
- Спицын В.А. Экологическая генетика человека. М.: Наука, 2008. 503 с. (монография).
- Barnes P.J. and Belvisi M.G. Nitric oxide and lung disease // Thorax, 1993. Vol. 48. P. 1034–1043.

Beckman L., Nordenson I. Interaction between some common genotoxic agents // Hum. Hered., 1986. Vol. 36. N 6. P. 397–401.

Bernal T., Papiha S., Roberts D. C3 variants and diseases // Hum. Hered., 1986. Vol. 36. N 2. P. 97–100.

Goedde H.W. and Lenthal C. Pharmacogenetics and Ecogenetics // CIBA-GEIGY. Ltd, Basle. Eighth ed. 1986. Vol. 4. P. 288–300.

Nijkamp F.P. and Folkerts G. Nitric oxide and bronchial reactivity // Clin. Exp. Allergy, 1994. Vol. 24. P. 905–914.

Wetmur J.G., Kaya A.H., Plewinska M., Desnick R.J. Molecular characterization of the human delta-aminolevulinic acid dehydratase: 2 (ALAD*2) allele: implications for molecular screening of individuals for genetic susceptibility to lead poisoning // Amer. J. Hum. Genet., 1991. Vol. 49. P. 757–763.

Wyatt R., Julian B. Increased frequency of C3 fast alleles in IgA nephropathy // Dis. Markers, 1984. N 2/3. P. 419–428.

Контактная информация:

Спицын Виктор Алексеевич: e-mail: spitsyns@yandex.ru,

Спицына Наиля Хаджиевна: e-mail: nailya.47@mail.ru.

CORRELATION OF GENETIC VARIABILITY AND THE ANTHROPOGENOUS ENVIRONMENT. ANTHROPOGENETIC ASPECTS OF OCCUPATIONAL WORK AND OCCURRENCE OF OCCUPATIONAL ILLNESSES

V.A. Spitsyn¹, N.H. Spitsyna²

¹ Federal state budgetary institution «Research Centre for medical genetics»
of Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

² Federal state budgetary institution «Institute of ethnology and anthropology»
of Russian Academy of Sciences, Moscow

The present article concerns the actual problems of the genetic contribution in development of an occupational pathology among the persons working with various xenobiotics, and also communication of disease with increasing level of global pollution of environment. Xenobiotics (harmful environmental substances, medicines and their intermediate metabolites, pesticides, food additives, cosmetic means) are heterogeneous agents for a normal metabolism and can lead to occupational or multifactorial illnesses. Own comparative characteristics of discrete genetic polymorphism in representative samples sick of an asbestosis, silicosis, fluorosis, production workers of considering pathological conditions steady against their development, and also in control samples from Egoryevsk, Asbests, Novokuznetsk towns are resulted, etc. Polymorphisms in the genes associating with a differential susceptibility of people to influence of separate metals and their connections are investigated. The genetic effects shown at joint action of xenobiotics are discussed also. The effect of polarization of frequencies of genotypes and alleles of a number of loci between cohorts of subjects resistant and susceptible to environmental agents is revealed. The polarization in gene frequencies in patients with occupational diseases and in healthy long-term workers should be emphasized. The methods of molecular genetics allow to detect specific DNA-polymorphisms associated to sensitivity/resistance to some occupational hazards. These results help to understand the pathogenesis of occupational diseases and open new possibilities for preventive medicine. Following basic conclusions are formulated: 1) there is a differential sensitivity of individuals to various environmental and to anthropogenous influences; 2) functional inadequacy alleles of a concrete gene, causes quantitative distinctions in a gene expression; 3) the effect of polyfunctionality of certain protein is revealed; 4) differential sensitivity also is connected with presence and number rare alleles at individuals.

Keywords: ecological genetics, occupational illnesses, differential susceptibility/resistance, occupational selection