

## МЕДИЦИНА ПРАЦІ

УДК [575.113: 577.21 : [622+666.961. 006.3]-057 (477)

*Т.А. Андрущенко*

*ГУ «Институт медицины труда им. Ю.И. Кундиева НАМН Украины», г. Киев*

**АЛЛЕЛЬНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ ДНК  
И ВЕРОЯТНОСТЬ РАЗВИТИЯ БРОНХОЛЁГОЧНОЙ ПАТОЛОГИИ  
У ШАХТЁРОВ И РАБОТНИКОВ АСБЕСТОЦЕМЕНТНЫХ ЗАВОДОВ УКРАИНЫ**

Представлены результаты исследования полиморфизма генов репарации ДНК у шахтёров и работников асбестоцементных заводов с профессионально обусловленной бронхолёгочной патологией. Изучено распределение частот генотипов генов *XRCC1* (rs25487) и *XRCC3* (rs861539) у работников асбестоцементных заводов и шахтёров для выявления маркёров риска развития бронхолёгочной патологии. Методом полимеразной цепной реакции в реальном времени определяли генотипы генов репарации ДНК. Установлено, что генотип *XRCC1•AA* ассоциирован с риском развития бронхолёгочной патологии в популяции работников асбестоцементных заводов и шахтёров Украины. Выявлена протективная роль генотипа *XRCC1•GA* в риске развития заболеваний бронхолёгочной системы у названных работников.

**Ключевые слова:** молекулярно-генетические маркёры, *XRCC1*, *XRCC3*, бронхолёгочная патология.

**Введение**

Заболевания органов дыхания от воздействия промышленных аэрозолей занимают центральное место в структуре профессиональной патологии и продолжают оставаться важнейшей проблемой медицины труда [1].

Важным направлением молекулярной биологии и медицины на современном этапе развития является разработка молекулярных основ профилактической медицины, фундаментом которой является генетический полиморфизм. Известны несколько десятков генных полиморфизмов, вовлечённых в разные виды системы репарации [2]. Установлено, что нарушения в системе контроля за процессами репарации ДНК и апоптоза вызваны не только генетическими и эпигенетическими нарушениями, но и вариабельностью функционирования генов, которая обусловлена генетическим полиморфизмом [3].

Среди вредных и опасных профессиональных факторов, приводящих к развитию бронхолёгочной патологии, следует назвать те, которые могут обуславливать нарушения

в системе репарации ДНК, а именно промышленные аэрозоли, химические вещества, физические факторы, вызывающие индукцию мутагенеза. Поэтому поиск маркёров индивидуальной чувствительности, ассоциированных с бронхолёгочной патологией среди полиморфных вариантов генов репарации, представляется актуальным.

Цель работы – изучить распределение частот генотипов генов *XRCC1* (rs25487) и *XRCC3* (rs861539) у работников асбестоцементных заводов и шахтёров для выявления маркёров повышенного риска развития бронхолёгочной патологии.

**Материал и методы**

В исследование вошли рабочие асбестоцементных заводов (АЦЗ) (n=94) и шахтёры угольных шахт Украины (n=120). Первая категория респондентов исследования – это рабочие АЦЗ, ООО «Балаклейский шиферный комбинат» и ООО «Краматорский шифер». Их средний возраст – (42,9±6,7) лет, средний вредный стаж – (15,8±4,9) лет. Для сравнительного ана-

лиза были сформированы две группы: опытная и контрольная. В опытную группу вошли рабочие АЦЗ с бронхолегочной патологией (хронический бронхит, хроническое обструктивное заболевание лёгких (ХОЗЛ), пневмокониоз); контрольную группу составили работники без бронхолегочной патологии, но их стаж и условия труда были идентичны с таковыми опытной группы.

Второй категорией респондентов исследования стали шахтёры из Донецкой, Луганской и Львовской областей Украины. Шахты, на которых они работали, были подобными по горно-геологическим условиям добычи угля. Средний возраст шахтёров составлял (52,5±7,3) лет, средний стаж работы под землёй – (22,04±5,9) лет. В опытную группу вошли шахтёры с бронхолегочной патологией (хронический бронхит, ХОЗЛ, пневмокониоз), контрольную группу составили горняки без бронхолегочной патологии, но их возраст, подземный стаж и условия труда были идентичны. Характеристика групп исследования приведена в табл. 1.

Генетический материал (ДНК) выделяли из лейкоцитов периферической крови. Методом полимеразной цепной реакции в реальном времени определяли генотипы генов *XRCC1* (rs25487), *XRCC3* (rs861539). Полученные результаты статистически обрабатывали с помощью программ Orion 7.0, Statistica, Excel 2000. При этом вероятность отличий определяли по  $\chi^2$ -критерию, значение  $p < 0,05$  считали достоверным.

#### Результаты и их обсуждение

Индивидуальный набор полиморфных вариантов генов способен существенно влиять на адаптационные возможности организма, в связи с чем активно изучается роль генов репарации ДНК в формировании индивидуальной чувствительности генома к повреждающим мутагенным влияниям [4–8]. Гены эксцизионной репарации основ (BER-base-

excision repair) кодируют белки, принимающие участие в большинстве повреждений ДНК [3, 6, 7, 9, 10]. Для них характерен высокий уровень полиморфизма, который может влиять на индивидуальную чувствительность к действию различных генотоксических агентов.

Ген *XRCC1* (x-ray-repair cross-complementing group 1) локализуется на хромосоме 19 (19q13.2); белок, который он кодирует, является регулятором системы репарации молекул ДНК. В данном исследовании изучали полиморфизм *XRCC1*(Arg399Gln), который расположен в 10-м экзоне и связан с его центральным доменом, необходимым для активации системы BER. Есть данные, что указанный полиморфизм ассоциирован с риском развития рака лёгких [9, 10]. Учёные Великобритании провели исследования полиморфизма *Arg399Gln* и *Arg194Trp* гена *XRCC1* методом случай-контроль. Результаты показали, что определённые кодоны *XRCC1* 399 и 194 могут негативно влиять на предрасположенность к раку лёгких [8, 11].

Ген *XRCC3* принимает участие в процессах репарации двуниевых разрывов ДНК и рекомбинационной репарации ДНК [5, 11]. Его полиморфизм в 7-м экзоне *XRCC3* приводит к замене аминокислоты в кодоне 241 (Thr241Met), которая может затронуть функцию фермента и взаимодействие с другими белками, вовлечёнными в процесс репарации ДНК [9]. Во многих литературных источниках речь идёт о существенном снижении риска развития рака лёгких в европейской популяции для носителей доминантного генотипа *XRCC3*•CC. Однако исследования данного полиморфизма, которые были проведены в азиатских популяциях, не выявили достоверной ассоциации между полиморфизмом *XRCC3* T241M и развитием рака лёгких [5, 11, 12].

Для изучения ассоциации определённых генотипов генов *XRCC1* (rs25487) и *XRCC3* (rs861539) системы BER с риском развития

Таблица 1. Общая характеристика респондентов исследования

Показатель	Величина показателя (M±m)	
	контрольная группа	опытная группа
<b>Работники АЦЗ</b>	n=48	n=46
Средний возраст	41,5±7,1	44,3±7,3
Средний стаж вредной работы	14,1±5,1	17,6±5,6
Средний возраст начала воздействия вредных факторов	24,2±6,1	25,1±6,4
<b>Шахтёры угольных шахт</b>	n=76	n=44
Средний возраст	48,5±7,3	56,7±7,4
Средний стаж вредной работы	19,8±5,8	24,4±6,5
Средний возраст начала воздействия вредных факторов	28,7±7,3	32,3±7,3

бронхолёгочной патологии были определены частоты их генотипов. Следует отметить, что полученные значения частот генотипов изучаемых полиморфизмов были близки к популяционным частотам европейской популяции, что, по данным литературы, составляет:

- по гену *XRCC1* (rs25487) доминантные гомозиготы *XRCC1•GG* – 33%, гетерозиготы *XRCC1•GA* – 50%, минорные гомозиготы *XRCC1•AA* – до 17%;

- *XRCC3* (rs861539) доминантные гомозиготы *XRCC3•CC* – 53,1%, гетерозиготы *XRCC3•CT* – 30,1%, минорные гомозиготы *XRCC3•TT* – 16,8% [5, 8, 11, 12].

У респондентов, представляющих АЦЗ Украины, были определены частоты генотипов гена *XRCC1* (rs25487): частота минорных гомозигот *XRCC1•AA* в опытной группе со-

*AA* и риском развития бронхолёгочной патологии в опытной группе (OR=8,44; 95%CI: 0,97–19,38).

В дальнейшем при анализе частот генотипов гена *XRCC1* (rs25487) установлено, что частота гетерозигот *XRCC1•GA* в опытной группе составила 41,3%, в контрольной группе – 62,5%. При статистической обработке данных установлена достоверная разница частот генотипов *XRCC1•GA* между группой с бронхолёгочной патологией и контрольной группой ( $\chi^2=4,18$ ;  $p\leq 0,04$ ). Выявлена протективная роль генотипа *XRCC1•GA* по отношению к риску развития бронхолёгочной патологии (OR=0,56; 95%CI: 0,31–1,02). Данные анализа частот генотипов генов *XRCC1* (rs25487) и *XRCC3* (rs861539) у работников АЦЗ представлены в табл. 2.

Таблица 2. Анализ частот генотипов *XRCC1* (rs25487) и *XRCC3* (rs861539) в популяции работников асбестоцементных заводов

Генотип	Группы				p	$\chi^2$	OR, 95% CI
	контрольная (n=48)		опытная (n=46)				
	n	%	n	%			
<i>XRCC1</i> (rs25487)							
<i>GG</i>	17	35,4	20	43,5	$\leq 0,4$	4,18	1,40 (0,56–3,50)
<i>GA</i>	30	62,5	19	41,3	$\leq 0,04$		0,56 (0,31–1,02)
<i>AA</i>	1	2,1	7	15,2	$\leq 0,02$		8,44 (0,97–19,38)
<i>XRCC3</i> (rs861539)							
<i>CC</i>	17	35,4	18	39,1	$\leq 0,2$		0,60 (0,25–1,42)
<i>CT</i>	26	54,2	23	50	$\leq 0,6$		0,85 (0,35–2,06)
<i>TT</i>	5	10,4	5	10,9	$\leq 0,9$		1,05 (0,24–4,59)

ставляла 15,2%, в контрольной группе – 2,1%. При статистической обработке результатов методом  $\chi^2$  была установлена статистически достоверная разница частот генотипов *XRCC1•AA* ( $\chi^2=5,15$ ;  $p\leq 0,02$ ), а также определена ассоциация между генотипом *XRCC1•*

Анализ частот изучаемых полиморфизмов, проведённый в популяции шахтёров, показал, что частота минорных гомозигот *XRCC1•AA* в опытной группе составила 18,2%, в группе контроля – 8%. Установлена тенденция к статистически достоверной разнице

Таблица 3. Анализ частот генотипов *XRCC1* (rs25487) и *XRCC3* (rs861539) в популяции шахтёров Украины

Генотип	Группы				p	$\chi^2$	OR, 95% CI
	контрольная (n=75)		опытная (n=44)				
	n	%	n	%			
<i>XRCC1</i> (rs25487)							
<i>GG</i>	31	41,3	18	40,9	$\leq 0,9$	2,75	0,98 (0,43–2,24)
<i>GA</i>	38	50,7	38	50,7	$\leq 0,3$		0,56 (0,31–1,02)
<i>AA</i>	6	8,0	8	18,2	$\leq 0,09$		2,56 (0,73–9,13)
<i>XRCC3</i> (rs861539)*							
<i>CC</i>	33	46,5	18	41,9	$\leq 0,6$		0,83 (0,36–1,91)
<i>CT</i>	31	43,7	19	44,2	$\leq 0,9$		1,02 (0,44–2,35)
<i>TT</i>	7	9,8	6	13,9	$\leq 0,5$		1,48 (0,40–5,41)

\*В контрольной группе 71 чел., в опытной – 43.

частот генотипов *XRCC1•AA* между группами шахтёров ( $\chi^2=2,75$ ;  $p\leq 0,09$ ), а также определена ассоциация между генотипом *XRCC1•AA* и риском развития бронхолёгочной патологии у шахтёров опытной группы ( $OR=2,56$ ;  $95\%CI: 0,73-9,13$ ). Данные анализа частот генотипов генов *XRCC1* (rs25487) и *XRCC3* (rs861539) в популяции шахтёров Украины представлены в табл. 3.

### Литература

1. Измеров Н.Ф. Профессиональные заболевания органов дыхания (Национальное руководство) / под ред. Н.Ф. Измерова, А.Г. Чучалина. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – С. 119–148.
2. Кузьмина Л.П. Биохимические и генетические показатели индивидуальной чувствительности к профессиональным вредностям: Профессиональный риск для здоровья работников (руководство) / под ред. Н.Ф. Измерова, Э.Н. Динисова. – Москва: Тривант, 2003. – С. 329–334.
3. Pavanello S. Individual susceptibility to occupational carcinogens: the evidence from biomonitoring and molecular epidemiology studies / S. Pavanello, E. Clonfero // *G. Ital. Med. Lav. Ergon.* – 2004; Oct-Dec. – Vol. 26 (4). – P. 311–321.
4. Variants in double-strand break repair genes and breast cancer susceptibility / B. Kuschel, A. Auranen, S. McBride et al. // *Hum. Mol. Genet.* – 2002. – Vol. 11. – P. 1399–1440.
5. Genotype-phenotype relationship between DNA repair gene genetic polymorphisms and DNA repair capacity / A. Shin, K.M. Lee, B. Ahn et al. // *Asian Pac. J. Cancer.* – 2008. – Prev 9. – P. 501–505.
6. Correction of chromosomal instability and sensitivity to diverse mutagens by a cloned cDNA of the *XRCC3* DNA repair gene / R.S. Tebbs, Y. Zhao, J.D. Tucker et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 1995. – 1995. – Vol. 92. – P. 6354–6358.
7. Thacker J. The *XRCC* genes: expanding roles in DNA double-strand break repair / J. Thacker, M.Z. Zdzienicka // *DNARepair (Amst.)*. – 2004. – № 3. – P. 1081–1090.
8. Zienolddiny S. Polymorphisms of DNA repair genes and risk of non-small cell lung cancer / S. Zienolddiny, D. Campa, H. Lind // *Carcinogenesis.* – 2006. – Vol. 27, № 3. – P. 560–567.
9. A novel T-77C polymorphism in DNA repair gene *XRCC1* contributes to diminished promoter activity and increased risk of non-small cell lung cancer / B. Hao, X. Miao, Y. Li et al. // *Oncogene.* – 2006. – № 25. – P. 3613–3620.
10. Reconstitution of DNA base excision repair with purified human proteins: Interaction between DNA polymerase beta and the *XRCC1* protein / Y. Kubota, R.A. Nash, A. Klungland et al. // *EMBO.* – 1996. – Vol. 15; is. 23. – P. 6662–6670.
11. Rodriguez S. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Ascertainment for Mendelian Randomization Studies / S. Rodriguez, T.R. Gaunt, I.N.M Day // *Am. J. Biological Epidemiology.* – 2009: Feb 15. – Vol. 169 (4). – P. 505–514. DOI 10.1093/aje/kwn359.
12. Association between X-ray repair cross complementing group 1 codon 399 and 194 polymorphisms and lung cancer risk: a meta-analysis / Y. Wang, H. Yang, H. Li et al. // *Cancer Lett.* – 2009. – Vol. 285. – P. 134–140.

### References

1. Izmerov N.F. (2015). Professionalnyie zabolovaniia organov dykhaniia (Natsionalnoie rukovodstvo) [Occupational diseases of the respiratory system (National guidelines)] (eds. N.F. Izmerov, A.G. Chuchalina). Moscow: GEOTAR-Media, 119–148 [in Russian].
2. Kuzmina L.P. (2003). Biokhimicheskie i geneticheskie pokazateli individualnoi chuvstvitelnosti k professionalnym vrednostiam: Professionalnyi risk dlia zdorovia rabotnikov (rukovodstvo) [Biochemical and genetic indicators of individual sensitivity to occupational hazards: Occupational health risk for workers (guidance)](eds. N.F. Izmerov, E.N. Denisov). Moscow: Trovant, 329–334 [in Russian].
3. Pavanello S., Clonfero E. (2004). Individual susceptibility to occupational carcinogens: the evidence from biomonitoring and molecular epidemiology studies. *G. Ital. Med. Lav. Ergon.* Oct-Dec. 26 (4): 311–321.
4. Kuschel B., Auranen A., McBride S., Novik K.L., Antoniou A. (2002) Variants in double-strand break repair genes and breast cancer susceptibility. *Hum. Mol. Genet.* 11: 1399–1440.

5. Shin A., Lee K.M., Ahn B., Park C.G., 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.
6. Tebbs R.S., Zhao Y., Tucker J.D., Scheerer J.B., Siciliano M.J. (1995). Correction of chromosomal instability and sensitivity to diverse mutagens by a cloned cDNA of the XRCC3 DNA repair gene. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 92: 6354–6358.
7. Thacker J., Zdzienicka M.Z. (2004). The XRCC genes: expanding roles in DNA double-strand break repair. *DNA Repair (Amst.)*. 3: 1081–1090.
8. Zienolddiny S., Campa D., Lind H. (2006). Polymorphisms of DNA repair genes and risk of non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis*. 27, 3: 560–567.
9. Hao B., Miao X., Li Y., Zhang X., Sun T. (2006). A novel T-77C polymorphism in DNA repair gene XRCC1 contributes to diminished promoter activity and increased risk of non-small cell lung cancer. *Oncogene*. 25: 3613–3620.
10. Kubota Y., Nash R.A., Klungland A., Schar P., Barnes D.E. (1996). Reconstitution of DNA base excision repair with purified human proteins: Interaction between DNA polymerase beta and the XRCC1 protein. *EMBO J.* 15: 6662–6670.
11. Rodriguez S., Gaunt T.R., Day I.N.M. (2009). Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Ascertainment for Mendelian Randomization Studies. *Am. J. Biological Epidemiology*. Feb 15. 169 (4): pp. 505–514. DOI 10.1093/aje/kwn359.
12. Wang Y., Yang H., Li H., Li L., Wang H. (2009) Association between X-ray repair cross complementing group 1 codon 399 and 194 polymorphisms and lung cancer risk: a meta-analysis. *Cancer Lett.* 285: 134–140.

**Т.А. Андрущенко**

#### АЛЛЕЛЬНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ РЕПАРАЦІЇ ДНК І ВІРОГІДНІСТЬ РОЗВИТКУ БРОНХОЛЕГЕНЕВОЇ ПАТОЛОГІЇ У ШАХТАРІВ І ПРАЦІВНИКІВ АЗБЕСТОЦЕМЕНТНИХ ЗАВОДІВ УКРАЇНИ

Представлені результати дослідження поліморфізму генів репарації ДНК у шахтарів і працівників азбестоцементних заводів з професійно обумовленою бронхолегеневою патологією. Вивчено розподіл частот генотипів генів *XRCC1* (rs25487) і *XRCC3* (rs861539) у працівників азбестоцементних заводів і шахтарів для виявлення маркерів ризику розвитку бронхолегеневої патології. Методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі визначали генотипи генів репарації ДНК. Установлено, що генотип *XRCC1*•AA асоційований з ризиком розвитку бронхолегеневої патології в популяції працівників азбестоцементних заводів і шахтарів України. Встановлено протективну роль генотипу *XRCC1*•GA відносно ризику розвитку захворювань бронхолегеневої системи у досліджуваних працівників.

**Ключові слова:** молекулярно-генетичні маркери, *XRCC1*, *XRCC3*, бронхолегенева патологія.

**Т.А. Andrushchenko**

#### ALLELIC POLYMORPHISM OF DNA REPAIR GENES AND LIKELIHOOD OF DEVELOPMENT BRONCHOPULMONARY PATHOLOGY IN MINERS AND WORKERS OF ASBESTOS-CEMENT PLANTS IN UKRAINE

The article presents the results of the investigation on the polymorphism of the DNA repair genes of in miners and workers of asbestos-cement plants with occupational determined respiratory pathology. It was studied the distribution of frequencies of genotypes of genes *XRCC1* (rs25487) and *XRCC3* (rs861539) in workers of harmful and dangerous industries for identifying markers of the risk of bronchopulmonary pathology. The real-time polymerase chain reaction was used to determine genotypes of DNA repair genes. As a result of the study it was established that the *XRCC1*•AA genotype is associated with the risk of bronchopulmonary pathology in the population of workers in asbestos-cement plants and coal miners of Ukraine. The protective role of the genotype *XRCC1*•GA in relation to the risk of developing bronchopulmonary system diseases in workers of asbestos-cement plants and miners of Ukraine has been established.

**Keywords:** molecular-genetic markers, *XRCC1*, *XRCC3*, bronchopulmonary pathology.

Надійшла до редакції 19.02.18

#### Контактна інформація

Андрущенко Тетяна Анатоліївна – кандидат медичних наук, вчений секретар ДУ «Інститут медицини праці ім. Ю.І. Кундієва НАМН України».

Адреса: Україна, 01033, м. Київ, вул. Саксаганського, 75.

Тел.: +380442894305; +380503124814.

E-mail: imp-cys@ukr.net.