

Н.В. Зайцева, О.В. Долгих, А.А. Субботина, А.В. Ярома

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА МИКРОСОМАЛЬНОЙ ЭПОКСИДГИДРОЛАЗЫ *EPHX1* (RS1051740) У ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В ПРОМЫШЛЕННОМ РЕГИОНЕ ЮГА СИБИРИ

DOI 10.25789/YMJ.2023.83.16

УДК: 575.164

Проведено изучение частоты полиморфизма гена *EPHX1* (rs1051740) у детского населения промышленного региона юга Сибири с заболеваниями верхних дыхательных путей. Проведенное исследование позволило установить, что у детей с частыми заболеваниями верхних дыхательных путей (группа наблюдения) наблюдаются превышение референтного уровня содержания марганца в крови, низкое содержание сывороточного цитохрома С, ассоциированные с повышенной частотой встречаемости аллеля С и генотипа СС гена *EPHX1* (rs1051740). Полученные результаты свидетельствуют, что у детей промышленного региона юга Сибири полиморфизм кандидатного гена микросомальной эпоксидгидролазы 1 приводит к нарушению процессов детоксикации, накоплению неконъюгированных химических экзогенных факторов (марганец), угнетению процессов антиоксидации (цитохром С), а сами маркеры (аллель С и генотип СС гена *EPHX1* (rs1051740)) следует отнести к предикторам формирования у детей статуса часто болеющих.

Ключевые слова: заболевания верхних дыхательных путей, полиморфизм гена *EPHX1* (rs1051740), дети, цитохром С, марганец.

The frequency of *EPHX1* gene polymorphism (rs1051740) in the child population of the industrial center of South Siberia with upper respiratory tract diseases was studied. The study allowed to establish that children with frequent upper respiratory tract diseases (observation group) have excess of reference level of blood manganese content, low serum cytochrome C content associated with increased frequency of C allele and CC genotype of *EPHX1* (rs1051740) gene. The obtained results indicate that in children of the industrial center of South Siberia the polymorphism of the candidate gene of microsomal epoxide hydrolase 1 leads to impaired detoxification processes, accumulation of unconjugated chemical exogenous factors (manganese), inhibition of antioxidation processes (cytochrome C), and the markers themselves (allele C and genotype CC of *EPHX1* gene (rs1051740)) should be attributed to the predictors of formation of the status of frequently ill children.

Key words: upper respiratory tract diseases, polymorphism of *EPHX1* gene (rs1051740), children, cytochrome C, manganese.

Введение. В настоящее время большое внимание уделяется проблеме изучения вклада экзогенных химических факторов в формирование заболеваемости населения, в том числе детей. Возникновение и рост числа экологически обусловленных заболеваний, таких как болезни органов дыхания, зависят от качества, загрязненности воздушной среды [8]. Состав атмосферного воздуха промышленных регионов юга Сибири характеризуется широким спектром загрязняющих веществ [3,11]. Одним из компонентов выбросов источников цветной металлургии является марганец, который в форме аэрозоли проявляет тропность по отношению к органам дыхания [7]. Марганец играет важную роль во многих ферментативных процессах организма, однако поступая ингаляционно

в избыточном количестве, оказывает кумулятивный, токсический эффект [10].

Не менее актуальной остается проблема взаимодействия генетических и внешнесредовых факторов. Диапазон реакций индивидов на одинаковые внешнесредовые воздействия варьируется и колеблется от сохранения состояния здоровья до развития заболеваний. Поэтому необходима разработка критериев риска развития заболеваний различных органов, в том числе дыхания. В защите легких от вдыхаемых токсичных продуктов и активных форм кислорода основную функцию выполняют гены и ферменты системы биотрансформации ксенобиотиков. Ген микросомальной эпоксидгидролазы 1 – *EPHX1*, расположен на 1-й хромосоме (1q42.1), полиморфизм rs1051740 которого приводит к замене тирозина на гистидин в 113-м положении (Tyr113His), снижает активность фермента на 50% у гомозигот С/С и на 25% у гетерозигот, играет ключевую роль как в процессах детоксикации (с помощью цитохрома), так и в формировании хронических болезней дыхательных путей, служит защитным ферментом против потенциально вредных малых молекул, полученных из внешней среды [9,11].

Цель исследования – изучение частоты полиморфизма гена *EPHX1* (rs1051740) у детского населения промышленного региона юга Сибири с частыми заболеваниями верхних дыхательных путей.

Материалы и методы исследования

В исследование включены дети 4-7 лет, проживающие на территории промышленного региона юга Сибири с градообразующим предприятием цветной металлургии. Исследование проводилось в соответствии с международными нормами согласно Хельсинской декларации – законные представители детей подписали добровольное медицинское согласие. Группа наблюдения – 60 длительно и часто болеющих детей. В группе сравнения – 39 условно здоровых детей.

Уровень марганца в крови детей определяли методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой в соответствии с МУК 4.1.3230-14 [МУК 4.1.3230-14 «Измерение массовой концентрации химических элементов в биосубстратах (кровь, моча) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой»].

Материалом для определения генотипов пациентов был буккальный эпителий. Выделение ДНК проводи-

ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, г. Пермь: **ЗАЙЦЕВА Нина Владимировна** – д.м.н., научн. руковод., znv@fcrisk.ru. ORCID: 0000-0003-2356-1145, **ДОЛГИХ Олег Владимирович** – д.м.н., зав. отделом, ORCID:0000-0003-4860-3145, **СУББОТИНА Алена Александровна** – м.н.с., ORCID: 0000-0002-3579-4125, **ЯРОМА Алеся Вячеславовна** – м.н.с., ORCID:0000-0002-0932-3063.

Таблица 1

Уровень марганца в крови длительно и часто болеющих детей промышленного региона юга Сибири

Показатель	Референтный диапазон	Группа наблюдения (n=60), X±SD	Группа сравнения (n=39), X±SD	Уровень значимости, p
Марганец, мкг/см ³	0,006-0,014	0,020± 0,005	0,011± 0,002	0,0001

лось с использованием набора «ДНК-Сорб-АМ» ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. Исследование полиморфизма Tgr113His гена *EPHX1* (rs1051740) проводилось методом ПЦР в реальном времени с применением набора реагентов научно-производственной компании «Синтол» на амплификаторе CFX96.

Уровень цитохрома С в сыворотке крови детей определяли методом иммуноферментного анализа набором «Human Cytochrome C Platinum ELISA» (eBioscience) на анализаторе Elx808.

Для статистической обработки результатов исследования использовалась программа STATISTICA 6.1. Результаты представлены в виде среднего значения показателя (X), стандартного отклонения (SD) и стандартной ошибки среднего (SEM), уровень значимости менее 0,05. Для данных генетического анализа использовали онлайн-калькулятор «Gen-Expert». Распределение генотипов проверено на соответствие закону Харди-Вайнберга. Об ассоциации аллелей или генотипов с предрасположенностью к патологии дыхательной системы судили по значению отношения шансов (OR) с 95% доверительным интервалом (95% CI). Значения уровня $p < 0,05$ рассматривались как статистически значимые.

Результаты и обсуждение. В группе наблюдения установленные концентрации марганца в крови превышали референтный уровень и составили от 0,014 до 0,033 мкг/см³, в группе сравнения контаминация крови марганцем не превышала референтный диапазон – от 0,006 до 0,013 мкг/см³. Средний уровень марганца в крови детей группы наблюдения в 1,8 раза превысил значение в группе сравнения ($p = 0,0001$) (табл.1).

При изучении частоты встречаемости полиморфизма Tgr113His гена микросомальной эпоксидгидролазы 1, отвечающей за биотрансформацию ксенобиотиков, отклонения от равновесия Харди-Вайнберга в группах детей обнаружено не было (для группы наблюдения $p = 0,06$; для группы сравнения $p = 1,00$).

Проведенный сравнительный анализ позволил обнаружить статистически значимые различия встречаемости генотипов и аллелей – частота генотипа C/C и аллеля С в группе наблюдения в 3,2 раза и в 1,5 раза соответственно превышала аналогичную в группе сравнения ($p < 0,05$). При этом установлена следующая частота генотипов и аллелей в группе длительно и часто болеющих детей с повышенным

уровнем марганца в крови: T/T – 35%, T/C – 33, C/C – 32, T – 52, C – 48%. В группе условно здоровых детей с уровнем марганца в крови в пределах референтных значений данная частота составила T/T – 46%, T/C – 44, C/C – 10, T – 68, C – 32% соответственно. Наличие генотипа C/C и аллеля С Tgr113His гена *EPHX1* (rs1051740) в группе наблюдения формирует достоверные шансы развития заболеваний дыхательной системы (C/C: OR=4,05, 95% CI=1,26-13,05; C: OR=1,98, 95% CI=1,09-3,60) (табл.2).

Результаты идентификации цитохрома С – протеина-активатора процессов детоксикации ксенобиотиков, участника обмена веществ и клеточного дыхания, позволили выявить снижение его экспрессии у детей группы наблюдения в 2,2 раза относительно группы сравнения ($0,143 \pm 0,012$ нг/мл; $p = 0,004$) (табл.3).

Болезни органов дыхания являются значимой проблемой современной ме-

дицины, занимая одно из лидирующих рейтинговых мест, особенно в детской популяции [1,9]. Особенности строения респираторного тракта детей обуславливают их повышенную восприимчивость к аэрогенному воздействию техногенных химических факторов [3].

Важную роль в защите легких от токсичных продуктов среды обитания играют ферменты системы биотрансформации ксенобиотиков и антиоксидантной защиты. Для выяснения роли генов в развитии заболеваний используется методология, основанная на исследовании однонуклеотидных полиморфных вариантов – SNP. Именно однонуклеотидные замены отвечают за новые функциональные свойства протеинов. Неслучайна актуальность выявления специфических генетических маркеров предрасположенности или устойчивости к возникновению патологий дыхательной системы как предикторов нарушений [5].

Согласно многочисленным иссле-

Таблица 2

Частота встречаемости полиморфизма Tgr113His гена микросомальной эпоксидгидролазы у длительно и часто болеющих детей промышленного региона юга Сибири

Ген	Генотип/аллель	Группа наблюдения (n=60)	Группа сравнения (n=39)	OR (95% CI)	Уровень значимости, p
<i>EPHX1</i> (rs1051740)	T/T	0,35	0,46	0,63 (0,28-1,43)	0,04
	T/C	0,33	0,44	0,65 (0,28-1,48)	
	C/C	0,32	0,10	4,05 (1,26-13,05)	
	T	0,52	0,68	0,50 (0,28-0,91)	0,02
	C	0,48	0,32	1,98 (1,09-3,60)	

Таблица 3

Экспрессия белка цитохрома С в сыворотке крови длительно и часто болеющих детей промышленного региона юга Сибири

Показатель	Референтный диапазон	Группа наблюдения (n=60), X±SEM	Группа сравнения (n=39), X±SEM	Уровень значимости, p
Цитохром С, нг/мл	0,1-0,5	0,143±0,012	0,316±0,067	0,004

дованиям к таким маркерам следует отнести ген микросомальной эпоксидгидролазы 1 и его полиморфные варианты, например rs1051740, который ассоциирован с заболеваниями дыхательных путей – бронхиальной астмой, пневмонией [2], хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) [12], бронхолегочной дисплазией и обычными респираторными заболеваниями. Нашими исследованиями подтверждена ассоциация полиморфизма Tyr113His в гене *EPHX1* (rs1051740) с частыми заболеваниями верхних дыхательных путей у детского населения техногенной провинции, сопряженных с избыточной контаминацией биосред марганцем.

К маркерам выраженности энергетических и детоксикационных нарушений следует отнести уровень цитохрома С, который необходим для функционирования дыхательной цепи. Цитохром С – сложный белок, который находится на внутренней митохондриальной мембране и участвует в переносе электронов дыхательной цепи, подавляет процессы перекисного окисления липидов и участвует в процессах обезвреживания ксенобиотиков [4]. Установленное нами содержание цитохрома С в сыворотке крови детей с повышенным уровнем марганца имело статистически значимые различия с уровнем группы сравнения ($p < 0,05$).

Марганец обладает высокой комплексобразующей способностью, связывая сульфгидрильные группы глутатиона и белков плазмы крови и запуская процессы перекисного окисления липидов клеточных мембран. В результате образуются свободные формы кислорода, что приводит к развитию оксидативного стресса и нарушает функциональное состояние органов. Проведенными нами исследованиями показана реализация избыточной контаминацией биосред марганцем риска развития частых респираторных нарушений у детей, проживающих в промышленном регионе юга Сибири, с генотипом С/С и аллелем С гена *EPHX1* (rs1051740) Tyr113His [6].

Заключение. Проведенное обследование часто болеющего детского контингента промышленного региона юга Сибири позволило выявить избыточную по сравнению с условно здоровыми детьми частоту полиморфизма гена *EPHX1* (rs1051740).

У детей группы наблюдения установлена достоверно повышенная частота встречаемости генотипа С/С (OR=4,05, 95% CI=1,26-13,05) и аллеля

С (OR=1,98, 95% CI=1,09-3,60) гена *EPHX1* (rs1051740), что может являться фактором риска развития заболеваний дыхательной системы. Сопряженность заболеваний дыхательных путей с SNP кандидатного гена сочеталась с избыточным уровнем контаминации биосред марганцем и дефицитом цитохрома С (патогенетически ассоциированных с экспрессией микросомальной эпоксидгидролазы) по отношению к группе условно здоровых детей, содержание марганца в биосредах которых находится в диапазоне референтных значений.

Таким образом, идентификация полиморфизма гена *EPHX1* (rs1051740) отражает риск развития частых респираторных заболеваний у детей, проживающих в промышленном регионе юга Сибири, позволяет рекомендовать замену Tyr113His гена *EPHX1* (rs1051740) с генотипом С/С и аллелем С в качестве диагностического индикаторного показателя для задач планирования и реализации комплекса профилактических мер для снижения заболеваемости детского населения болезнями дыхательной системы и в дальнейшем предотвращения развития тяжелых клинических форм и патологических процессов респираторного тракта (бронхиальная астма, ХОБЛ, пневмония).

Литература

1. Аликина И.Н., Долгих О.В. Модификация параметров жизнеспособности иммунцитов у детей, ассоциированная с сочетанным воздействием химических техногенных и экстремальных климатических факторов // Анализ риска здоровью. 2021. №3. С. 129-135.
2. Аликина И.Н., Долгих О.В. Modification of immunocytes viable parameters in children associated with combined exposure to chemical technogenic and extreme climatic factors // Health Risk Analysis. 2021. No.3. P. 129-135.
3. Зайцева Н.В., Май И.В., Клейн С.В. К вопросу установления и доказательства вреда здоровью населения при выявлении неприемлемого риска, обусловленного факторами среды обитания // Анализ риска здоровью. 2013. №2. С. 14-26.
4. Zaitseva N.V., May I.V., Klein S.V. To the issue of establishing and proving harm to the health of the population in detecting unacceptable risk caused by environmental factors. // Health Risk Analysis. 2013. No.2. P. 14-26.
5. Зуева И.Б., Ким Ю.В. Применение цитохрома С в реальной клинической практике на современном этапе // Современная медицина. 2019. №4 (16). С. 22-26.

Zueva I.B., Kim Yu.V. Application of Cytochrome C in real clinical practice at the present stage // Modern medicine. 2019. No. 4 (16). P. 22-26.

5. Иммуногенетические маркеры у населения южных регионов Сибири, подвергающихся воздействию техногенных факторов / О.В. Долгих [и др.] // Якутский медицинский журнал. 2019. № 2 (66). С. 53-55.

Immunogenetic markers of the Siberian southern regions' population under the exposure of technogenous factors / O.V. Dolgikh [et al.] // Yakut medical journal. 2019. No. 2 (66). P. 53-55.

6. Мазунина Д.Л. Негативные эффекты марганца при хроническом поступлении в организм с питьевой водой // Экология человека. 2015. №3. С. 25-31.

Mazunina D.L. Manganese negative effects in body chronic intake with drinking water // Human ecology. 2015. No. 3. P. 25-31.

7. Оценка риска нарушений состояния здоровья у детей, проживающих в зоне влияния производства металлургического глинозема / Ю.В. Кольдибекова [и др.] // Гигиена и санитария. 2019. Т. 98. № 2. С. 135-141. DOI:10.18821/0016-9900-2019-98-2-135-141.

Assessment of the risk for health disorders in children who live in a territory of the zone of exposure to production of metallurgical aluminum / Yu.V. Koldibekova [et al.] // Hygiene and sanitation. 2019. Vol. 98. No. 2. P. 135-141. DOI:10.18821/0016-9900-2019-98-2-135-141.

8. Пережогин А.Н., Сафронов Н.П. Гигиеническая оценка качества окружающей среды в городе Шелехов (Иркутской области) // Бюлл. Восточно-Сибирского научн. центра Сибирского отделения Российской академии наук. 2013. №3-1 (91). С. 109-113.

Perezhogin A.N., Safronov N.P. Hygienic assessment of quality of environment in Shelekhov (Irkutsk region) // Bulletin of the East Siberian Scientific Center. 2013. No. 3-1 (91). P. 109-113.

9. Роль генов биотрансформации ксенобиотиков семейства глутатион-S-трансфераз (GSTs) в формировании предрасположенности к заболеваниям бронхолегочной системы (обзор литературы) / Е.В. Книжников [и др.] // Бюлл. физиологии и патологии дыхания. 2020. No. 75. С. 115-125. DOI: 10.36604/1998-5029-2020-75-115-125.

Polymorphisms of xenobiotic biotransformation genes of the glutathione-s-transferase family (GTSS) (review) / E.V. Knizhnikova [et al.] // Bulletin physiology and pathology of respiration. 2020. No. 75. P. 115-125. DOI: 10.36604/1998-5029-2020-75-115-125.

10. Токсические эффекты марганца как фактор риска для здоровья населения / Г.В. Шестова [и др.] // Медицина экстремальных ситуаций. 2014. №4 (50). С. 59-65.

Manganese toxic properties and manganese toxicity as a threat to public health / G.V. Shestova [et al.] // Medicine of extreme situations. 2014. No. 4 (50). P. 59-65.

11. Chelakova Yu., Dolgikh O. Technogenic geochemical province of Southern Siberia and features of the immune and genetic status of the adult population of the region // 20th International Multidisciplinary Scientific GeoConference - SGEM 2020. Conference Proceedings. 2020. P. 145-150.

12. *EPHX1* Y113H polymorphism is associated with increased risk of chronic obstructive pulmonary disease in Kazakhstan population / A. Akparova, B. Abdрахmanova, N. Banerjee, R. Bersimbaev // Mutation Research – Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2017. Apr. Vol. 816-817. P. 1-6. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2017.02.004.