

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

DOI: <http://dx.doi.org/10.31089/1026-9428-2019-59-11-966-969>

УДК 613.6:502.3:616.097

© Коллектив авторов, 2019

Старкова К.Г., Долгих О.В., Кривцов А.В., Казакова О.А., Мазунина А.А.

Особенности генетического полиморфизма генов eNOS и HTR2A у работников предприятия по подземной добыче руд с заболеваниями сердечно-сосудистой системы

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», ул. Монастырская, 82, Пермь, Россия, 614045

Выявление маркерных показателей генетической variability, определяющих формирование профессионально обусловленных заболеваний сердечно-сосудистой системы, позволит выделить потенциальные группы риска среди работающих и оптимизировать программы профилактических и диагностических мероприятий.

Цель исследования — анализ особенностей полиморфизма генов eNOS и HTR2A и регуляторных показателей у работающих на предприятии по шахтной добыче рудных ископаемых с заболеваниями сердечно-сосудистой системы.

Обследованы мужчины, работающие на предприятии по шахтной добыче рудных ископаемых, с патологией сердечно-сосудистой системы. Для выявления генотипов применялся метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени и метод аллельной дискриминации. Регуляторные маркеры оксид азота и серотонин определялись методом иммуноферментного анализа.

В группе наблюдения выявлено повышение частотности полиморфных вариантов eNOS G894T генотипа GG в 1,4 раза и аллеля G в 1,2 раза, достоверно ассоциированных с развитием сердечно-сосудистой патологии (OR=3,16; CI 95%=1,14–8,76), а также наличие избыточной частоты минорного аллеля G гена HTR2A (rs7997012) относительно группы сравнения (в 1,8 раза) за счет мутантного гомозиготного генотипа GG (в 2,7 раза) (OR=2,45; CI 95%=1,03–5,87), выступающие факторами риска развития сердечно-сосудистых нарушений в группе горнорабочих. При этом полиморфность вариантов генов eNOS и HTR2A сочеталась с дисбалансом уровня регуляторных маркеров ССС — оксида азота и серотонина.

Генетические вариации генов eNOS G894T и HTR2A (rs7997012) могут быть рекомендованы в качестве маркеров чувствительности в рамках мониторинга и выявления групп риска среди работающих в условиях подземной добычи рудных ископаемых.

Ключевые слова: сердечно-сосудистая система; генетический полиморфизм; ген eNOS; ген HTR2A; оксид азота; серотонин

Для цитирования: Старкова К.Г., Долгих О.В., Кривцов А.В., Казакова О.А., Мазунина А.А. Особенности генетического полиморфизма генов eNOS и HTR2A у работников предприятия по подземной добыче руд с заболеваниями сердечно-сосудистой системы. *Мед. труда и пром. экол.* 2019; 59 (10). <http://dx.doi.org/10.31089/1026-9428-2019-59-11-966-969>

Для корреспонденции: Долгих Олег Владимирович, зав. отделом иммунобиологических методов диагностики ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», д-р мед. наук. E-mail: oleg@fcrisk.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Ksenia G. Starkova, Oleg V. Dolgikh, Aleksandr V. Krivtsov, Olga A. Kazakova, Alena A. Mazunina

Features of eNOS and HTR2A genetic polymorphism in the implementation of the production-induced cardiovascular pathology in workers at the underground mining enterprise

Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 82, Monastyrskaya str., Perm, Russia, 614045

Introduction. Identification of markers of genetic variability that determine the formation of professionally caused diseases of the cardiovascular system will allow to identify potential risk groups among workers and optimize the program of preventive and diagnostic measures.

The aim of the study was to analyze the features of polymorphism of eNOS and HTR2A genes and regulatory indicators in workers at the mine mining enterprise with diseases of the cardiovascular system.

Materials and methods. The men working at the enterprise on mine extraction of ore minerals, with pathology of cardiovascular system are examined. Real-time polymerase chain reaction and allelic discrimination were used to identify genotypes. Regulatory markers nitric oxide and serotonin were determined by enzyme immunoassay.

Results. In the observation group, an increase in the frequency of polymorphic variants of eNOS G894T genotype GG 1.4 times and allele G 1.2 times, significantly associated with the development of cardiovascular disease (OR=3.16; CI 95%=1.14–8.76), as well as the presence of excessive frequency of minor allele G gene HTR2A (rs7997012) relative to the comparison

group (1.8 times) due to mutant homozygous genotype GG (2.7 times) (OR=2.45; CI 95%=1.03–5.87), acting as risk FACTORS for cardiovascular disorders in the group of miners. At the same time, polymorphism of eNOS and HTR2A gene variants was combined with an imbalance in the level of CCC regulatory markers — nitric oxide and serotonin.

Conclusions. Genetic variations of the eNOS *g894t* and HTR2A (*rs7997012*) genes can be recommended as sensitivity markers in monitoring and identification of risk groups among workers in underground mining.

Keywords: cardiovascular system; genetic polymorphism; eNOS gene; *htr2a* gene; nitric oxide; serotonin

For citation: Starkova K.G., Dolgikh O.V., Krivtsov A.V., Kazakova O.A., Mazunina A.A. Features of eNOS and HTR2A genetic polymorphism in the implementation of the production-induced cardiovascular pathology in workers at the underground mining enterprise. *Med. truda i prom. ekol.* 2019; 59 (10). <http://dx.doi.org/10.31089/1026-9428-2019-59-11-966-969>

For correspondence: Oleg V. Dolgikh, Head of Department of immunobiological methods of diagnostics of Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies. Dr. of Sci. (Med.). E-mail: oleg@fcrisk.ru

Funding. The study had no funding.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Введение. Решение задачи сохранения здоровья трудоспособного населения определяет необходимость проведения научно-исследовательских работ по выявлению маркерных показателей индивидуальной генетической вариабельности формирования профессионально обусловленных заболеваний для определения потенциальных групп риска и своевременного проведения профилактико-диагностических мероприятий по минимизации развития патологических тенденций состояния здоровья [1,2].

Заболевания сердечно-сосудистой системы у работающих на подземной добыче рудных ископаемых относятся к производственно обусловленной патологии и связаны с воздействием производственного шума, вибрации, тяжестью трудового процесса, которые оказывают значительное влияние на развитие нейроциркуляторного синдрома, нарушения гемодинамики, микроциркуляции, изменения сосудистого тонуса и сердечной деятельности [3,4].

Цель работы — исследовать особенности генетического полиморфизма генов eNOS и HTR2A и регуляторных показателей у работающих на предприятии по шахтной добыче рудных ископаемых с заболеваниями сердечно-сосудистой системы.

Обследованы 68 человек, мужчины, работающие в условиях подземной добычи хромовых руд, средний возраст $43,76 \pm 1,60$ года, с патологией сердечно-сосудистой системы, относящейся по МКБ–10 к классу болезней I00–I99, занятые на рабочих местах проходчика, бурильщика шпуров, горнорабочего, дробильщика, машиниста буровой установки, машиниста скреперной лебедки. Группу сравнения составили 42 человека, мужчины, условно здоровые работники предприятия без проявления признаков сердечно-сосудистой патологии, средний возраст $35,69 \pm 1,92$ года. Группы были сопоставимы по возрасту и стажу, рабочие места характеризовались наличием вредных производственных факторов (химический фактор, пыль, шум, вибрация, тяжесть труда, охлаждающий микроклимат) и одинаковыми режимами работы (скользящий трехсменный график с продолжительностью смены восемь часов).

Генетический анализ проводился с использованием биоматериала со слизистой оболочки ротоглотки; выделялось ДНК сорбентным методом путем разрушения клеток. Полиморфизмы эндотелиальной NO-синтазы eNOS G894T (*rs1799983*) и 5-HT2A-рецептора серотонина HTR2A A/G (*rs7997012*) генотипировались с использованием наборов «SNP-скрин» («Синтол», Россия). Для определения генотипов применялся метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на термоциклере CFX96 («Bio-Rad», США) и метод аллельной дискриминации для выявления групп по генотипам. Полученные данные обрабатывались с помощью программы «Ген Эксперт» с расчетом частот генотипов по равновесию Харди-Вайнберга

на основе диагностики однонуклеотидных полиморфизмов (SNP). Достоверность различий в распределении частот генотипов и аллелей изучаемых признаков между группами определялась по критерию χ^2 , использовались аддитивная и мультипликативная модели наследования, данные по частотам генотипов и аллелей анализировались с расчетом отношения шансов (OR, CI 95%). Различия между группами считались достоверными при $p < 0,05$.

Определялись регуляторные маркеры оксид азота и серотонин методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем («RnD Systems», США, «DRG», Германия) на анализаторе «Elx808IU» (BioTek, США).

Полученные результаты обрабатывались методом вариационной статистики, использовался пакет статистического анализа Statistica 6.0 (StatSoft, США), рассчитывались среднее арифметическое и его стандартная ошибка ($M \pm m$) и t-критерий Стьюдента для сравнения групп по количественным признакам. Различия между группами считались достоверными при $p < 0,05$.

Выполненные натурные исследования показали воздействие эквивалентных уровней шума на рабочих местах основных профессий в диапазоне 65,3–114,9 дБА, превышение допустимого уровня локальной вибрации (127–135 дБ при ПДУ 126 дБ) и общей вибрации (116–127 дБ при ПДУ 115 дБ), которые в сочетании с пониженной температурой 9 °С и запыленностью воздуха рабочей зоны, высокой физической нагрузкой определили вредные условия труда как 3.3–3.4 согласно Руководству Р 2.2.2006–05¹.

Результаты проведенного генетического анализа показали особенности соотношения частот генотипов и аллелей у работающих с заболеваниями сердечно-сосудистой системы (ЗССС) на предприятии по шахтной добыче (таблица 1), которые проявились достоверным межгрупповым различием по распространенности генотипов и аллелей полиморфизма eNOS G894T с появлением вариантного гомозиготного генотипа TT в группе сравнения с частотой 6,3% и повышением встречаемости генотипа GG в группе наблюдения с наличием сердечно-сосудистой патологии в 1,4 раза и аллеля G в 1,2 раза (OR=3,16; CI 95%=1,14–8,76) и выступающего фактором риска развития ЗССС в группе обследованных работающих.

В то же время выявлены достоверные межгрупповые различия по полиморфизму гена HTR2A, связанные с возрастанием распространенности минорного аллеля G в 1,8 раза относительно группы сравнения и определяемые повышением, прежде всего, частоты мутантного гомозигот-

¹ Р 2.2.2006–05 «Руководство по гигиенической оценке факторов рабочей среды и трудового процесса. Критерии и классификация условий труда» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 29 июля 2005 г.)

Таблица 1 / Table 1

Особенности генетического полиморфизма у работающих с сердечно-сосудистой патологией на предприятии по подземной добыче руд
Features of genetic polymorphism at working with cardiovascular pathology at the enterprise on mine production

Ген	Генотип/ аллель	Группа сравнения, %	Группа наблюдения, %	Достоверность различий	OR (CI 95%)
eNOS (rs1799983)	GG	59,4	82,4	$\chi^2=5,07$ $p=0,02$	3,19(1,03–9,88)
	GT	34,4	17,6		0,41(0,13–1,28)
	TT	6,3	0		0,18(0,01–3,83)
	G	76,6	91,2	$\chi^2=5,26$ $p=0,02$	3,16(1,14–8,76)
	T	23,4	8,8		0,32(0,11–0,88)
HTR2A (rs7997012)	AA	54,5	29,2	$\chi^2=3,69$ $p=0,05$	0,34(0,10–1,16)
	AG	36,4	45,8		1,48(0,45–4,83)
	GG	9,1	25		3,33(0,6–18,66)
	A	72,7	52,1	$\chi^2=4,18$ $p=0,04$	0,41(0,17–0,98)
	G	27,3	47,9		2,45(1,03–5,87)

Таблица 2 / Table 2

Особенности изменения регуляторных показателей у работающих с сердечно-сосудистой патологией на предприятии по подземной добыче руд
Peculiarities of changes in the regulatory parameters in working with cardiovascular disease in the company coal mine mining

Показатель	Референтный интервал	Группа сравнения	Группа наблюдения	Достоверность различий
Оксид азота, мкмоль/дм ³	70,4–208,6	130,1±37,053	209,6±45,104	$p=0,04$
Серотонин, нг/см ³	40–400	166,28±65,39	137,37±50,38	$p=0,488$

ного генотипа GG в 2,7 раза. При этом вариантный аллель G также выступал значимым фактором в целевой группе обследованных с сердечно-сосудистыми нарушениями (OR=2,45; CI 95%=1,03–5,87).

Исследование регуляторных показателей у работающих групп наблюдения выявило повышение уровня оксида азота ($p<0,05$) и тенденцию угнетения продукции серотонина в основной группе обследованных горнорабочих (табл. 2). Таким образом, условия производственной среды при подземной добыче руды имеют важное значение для проявления фенотипических особенностей, определяемых индивидуальной генетической вариабельностью.

Оксиду азота принадлежит значительная роль в физиологической регуляции, в том числе и сосудистого тонуса, которая реализуется путем вазодилатации и атеропротекторного действия на эндотелиальные клетки, определяя нормальное функционирование сердечно-сосудистой системы и ее адаптации в условиях патологии [5]. Полиморфизм G894T гена эндотелиальной NO-синтазы, фермента, отвечающего за синтез оксида азота эндотелиальными клетками, может быть связан с изменением уровня его продукции и выступать фактором риска развития эндотелиальной дисфункции, причем данные о патологическом варианте аллеля достаточно неоднозначны и указывают на разнонаправленное изменение уровня оксида азота [6,7]. Достоверные изменения в продукции оксида азота, полученные в настоящем исследовании, могут указывать на развитие декомпенсаторных адаптивных изменений, которые проявляются вегетососудистой дистонией по гипертоническому типу как результат вазоспастических эффектов симпат-адреналовой системы и сужения просвета сосудов в результате их ремоделирования [8].

Участие серотонинергической системы в развитии сосудистых нарушений как на уровне генетических полиморфизмов, так и механизмов его реализации также активно обсуждается. Дисбаланс содержания серотонина вызывает значительные колебания сосудистого тонуса, поскольку серотонин способен оказывать констрикторное или релаксирующее действие на гладкомышечные клетки путем активации соответствующих рецепторов 5-HT_{2a} и 5-HT_{2b}. Эндотелиальные клетки способны накапливать серотонин и через 5-HT₁ и 5-HT_{2b} активировать NO-синтазу и высвобождение оксида азота, оказывая вазодилатирующие эффекты, в то время как при нарушении функции эндотелия, напротив, преобладает вазоспастическое действие серотонина [9, 10]. Генетические вариации гена рецептора серотонина HTR2A связывают с функцией белка-транспортера серотонина 5-HTT и эффективностью механизма серотонинергической передачи сигнала, поэтому могут ассоциироваться с сосудистыми нарушениями, особенно с учетом изменения уровня серотонина [11].

Заключение. По результатам проведенного обследования работающих на предприятии по подземной добыче рудных ископаемых с заболеваниями сердечно-сосудистой системы выявлены ассоциации полиморфных вариантов генов eNOS и HTR2A, а также вариабельность уровня регуляторных маркеров оксида азота и серотонина, которая проявлялась повышением уровня оксида азота ($p<0,05$) и тенденцией угнетения продукции серотонина.

Генетические вариации генов eNOS G894T и HTR2A (rs7997012) могут рекомендоваться в качестве маркеров чувствительности для задач выявления групп риска формирования сердечно-сосудистой патологии среди работников предприятий по подземной добыче руд.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Долгих О.В., Старкова К.Г., Кривцов А.В., Бубнова О.А. Вариабельность иммунорегуляторных и генетических маркеров в условиях комбинированного воздействия факторов производственной среды. *Гигиена и санитария*. 2016; 95(1): 45–48. DOI: 10.18821/0016-9900-2016-95-1-45-48.
2. Измеров Н.Ф., Бухтияров И.В., Прокопенко Л.В., Кузьмина Л.П. Сбережение здоровья работающих и предиктивно-превентивно-персонифицированная медицина. *Мед. труда и пром. экол.* 2013; 6: 7–12.
3. Зайцева Н.В., Устинова О.Ю., Алексеев В.Б., Уланова Т.С., Носов А.Е., Вознесенский Н.К. Особенности производственно обусловленных заболеваний у шахтеров, занятых подземной добычей хромовых руд. *Медицина труда и экология человека*. 2018; 1: 13–23.
4. Устинова О.Ю., Власова Е.М., Носов А.Е., Костарев В.Г., Лебедева Т.М. Оценка риска развития сердечно-сосудистой патологии у шахтеров, занятых подземной добычей хромовой руды. *Анализ риска здоровью*. 2018; (3): 94–103. DOI: 10.21668/health.risk/2018.3.10.
5. Пожилова Е.В., Новиков В.Е. Синтаза оксида азота и эндогенный оксид азота в физиологии и патологии клетки. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2015; 14(4): 35–41.
6. Жадько Д.Д., Зинчук В.В. Полиморфизм гена эндотелиальной синтазы монооксида азота. Часть 1. полиморфный вариант G894T (GLU298ASP, rs1799983). *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2017; 1: 5–12.
7. Mahmoodi K., Nasehi L., Karami E., and Soltanpour M.S. Association of nitric oxide levels and endothelial nitric oxide synthase G894T polymorphism with coronary artery disease in the iranian population. *Vasc. Specialist Int.* 2016; 32(3): 105–12. DOI: 10.5758/vsi.2016.32.3.105.
8. Метельская В.А. Оганов Р.Г., Евсиков Е.М., Теплова Н.В. Связь между уровнем оксида азота в сыворотке периферической крови и характером патологии сердечно-сосудистой системы и внутренних органов у больных первичной артериальной гипертензией. *Российский кардиологический журнал*. 2011; 4(90): 23–31.
9. Садыкова Д. И., Нигматуллина Р.Р., Афлятумова Г.Н. Роль серотонинергической системы в развитии заболеваний сердца и сосудов у детей. *Казанский медицинский журнал*. 2015; 96(4): 665–9.
10. Афлятумова Г.Н. Садыкова Д.И., Нигматуллина Р.Р., Шагвалеева З.М., Чибирева М.Д., Сергеева Е.В. и др. Состояние вазомедиаторных систем у подростков с эссенциальной артериальной гипертензией. *Практическая медицина*. 2016; 7(99): 20–24.
11. Laje G., Cannon D.M., Allen A.S., Klaver J.M., Peck S.A., Liu X. et al. Genetic variation in HTR2A influences serotonin transporter binding potential as measured using PET and [¹¹C]DASB. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2010; 13(6): 715–24. DOI: 10.1017/S1461145709991027.

REFERENCES

1. Dolgikh O.V., Starkova K.G., Kryvtsov A.V., Bubnova O.A. Variability of immunoregulatory and genetic markers in conditions of the combined effects of industrial environmental factors. *Gig. Sanit.* 2016; 95(1): 45–8. DOI: 10.18821/0016-9900-2016-95-1-45-48 (in Russian).
2. Izmerov N.F., Boukhtiarov I.V., Prokopenko L.V., Kouzmina L.P. Protecting health of workers and predictive preventive personalized medicine. *Med. truda i prom. ekol.* 2013; 6: 7–12. (in Russian).
3. Zaitseva N.V., Ustinova O.Yu., Alexeev V.B., Ulanova T.S., Nosov A.E., Voznesenskiy N.K. Features of work-related diseases in chrome ore miners. *Med. truda i ekologiya cheloveka*. 2018; 1: 13–23. (in Russian).
4. Ustinova O.Yu., Vlasova E.M., Nosov A.E., Kostarev V.G., Lebedeva T.M. Assessment of cardiovascular pathology risk in miners employed at deep chrome mines. *Health Risk Analysis*. 2018; (3): 94–103. DOI: 10.21668/health.risk/2018.3.10 (in Russian).
5. Pozhilova E.V., Novikov V.E. Physiological and pathological value of cellular synthase of nitrogen oxide and endogenous nitrogen oxide. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii*. 2015; 14(4): 35–41 (in Russian).
6. Zhad'ko D.D., Zinchuk V.V. Polymorphism of endothelial synthase gene of nitrogen monoxide. Part 1. The polymorphic variant of G894T (GLU298ASP, rs1799983). *Zhurnal Grodnen'skogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2017; 1: 5–12 (in Russian).
7. Mahmoodi K., Nasehi L., Karami E., Soltanpour M.S. Association of nitric oxide levels and endothelial nitric oxide synthase G894T polymorphism with coronary artery disease in the iranian population. *Vasc. Specialist Int.* 2016; 32(3): 105–12. DOI: 10.5758/vsi.2016.32.3.105.
8. Metel'skaya V.A., Oganov R.G., Yevsikov Ye.M., Teplova N.V. The relationship between the level of nitric oxide in the serum of peripheral blood and the nature of the pathology of the cardiovascular system and internal organs in patients with primary arterial hypertension. *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal*. 2011; 4(90): 23–31 (in Russian).
9. Sadykova D.I., Nigmatullina R.R., Aflyatunova G.N. The role of serotonergic system in cardiovascular diseases development in children. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2015; 96(4): 665–9. (in Russian)
10. Aflyatunova G.N., Sadykova D.I., Nigmatullina R.R., Shagvaleeva Z.M., Chibireva M.D., Sergeeva E.V. et al. State of vasomediator systems in adolescents with essential hypertension. *Prakticheskaya meditsina*. 2016; 7(99): 20–4 (in Russian).
11. Laje G., Cannon D.M., Allen A.S., Klaver J.M., Peck S.A., Liu X. et al. Genetic variation in HTR2A influences serotonin transporter binding potential as measured using PET and [¹¹C]DASB. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2010; 13(6): 715–724. DOI: 10.1017/S1461145709991027.

Дата поступления / Received: 16.08.2019

Дата принятия к печати / Accepted: 01.11.2019

Дата публикации / Published: 11.2019