

DOI: <http://dx.doi.org/10.31089/1026-9428-2020-60-1-12-18>

УДК 575.224.2

© Коллектив авторов, 2020

Рыжкова А.В.¹, Минина В.И.¹, Соколова А.О.², Баканова М.Л.¹, Титов Р.А.¹, Тимофеева А.А.¹**Полиморфизмы генов ферментов репарации ДНК и показатели нестабильности генома у рабочих угольных шахт**¹ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», Советский пр-т, 18, Кемерово, Россия, 650000;²ФГБОУ ВПО «Кемеровский государственный университет», Красная ул., 6, Кемерово, Россия, 650000

Введение. Угольная промышленность — одна из основных сфер экономики многих стран мира. Однако данная сфера деятельности представляет опасность для окружающей среды и здоровья человека. Поскольку Кемеровская область является регионом с развитой промышленностью, проблема поддержания генетического гомеостаза является актуальной. Горнорабочие подвергаются воздействию различных вредных факторов, которые могут выступать в качестве генотоксикантов и тем самым вызывать различные повреждения ДНК.

Цель исследования — изучение ассоциаций полиморфных вариантов генов репарации ДНК с хромосомной нестабильностью у работников угледобывающей промышленности.

Материалы и методы. Проведен молекулярно-генетический анализ полиморфных вариантов генов ферментов репарации ДНК (*XPB* (*rs13181*), *XPG* (*rs17655*), *XRCC2* (*rs3218536*), *XRCC3* (*rs861536*), *XRCC4* (*rs2075685*), *XRCC4* (*rs1805377*)), и выполнен цитогенетический анализ хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови у 307 работников угольных шахт Кузбасса и 338 жителей Кемеровской области, не работающих на промышленных предприятиях.

Результаты. Установлено, что частота aberrаций хромосом в группе шахтеров ($4,01 \pm 0,14$) была значимо выше, чем в группе лиц, не работавших на производстве ($1,67 \pm 0,06$, $p < 0,0000005$). Выявлены варианты генов, ассоциированные с наиболее высоким уровнем хромосомных повреждений у шахтеров: *XPB* (*rs13181*), *XRCC3* (*rs861536*), *XRCC4* (*rs2075685*).

Выводы. Угольное производство оказывает негативное воздействие на геном рабочих и способно привести к формированию цитогенетических нарушений, что определяет необходимость разработки мер комплексной профилактики заболеваний, обусловленных накоплением повреждений ДНК. Результаты исследования позволят расширить имеющиеся представления о формировании индивидуальной чувствительности генетического аппарата человека к воздействию генотоксических факторов, а также сформулировать рекомендации для работников угледобывающего производства в соответствии с их генетическими характеристиками.

Ключевые слова: шахтеры; хромосомные aberrации; гены ферментов репарации ДНК

Для цитирования: Рыжкова А.В., Минина В.И., Соколова А.О., Баканова М.Л., Титов Р.А., Тимофеева А.А. Полиморфизмы генов ферментов репарации ДНК и показатели нестабильности генома у рабочих угольных шахт. *Мед. труда и пром. экол.* 2020; 60 (1). <http://dx.doi.org/10.31089/1026-9428-2020-60-1-12-18>

Для корреспонденции: Рыжкова Анастасия Владимировна, вед. инженер-технолог ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук». E-mail: A.V.Ryzhkova@yandex.ru

Финансирование. Исследование было поддержано государственным заданием на 2019–2021 гг. №ГЗ 0352–2019–0011 (ЕГИСУ НИОКР АААА-А17–117041410052–4).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Anastasiya V. Ryzhkova¹, Varvara I. Minina¹, Anastasiya O. Sokolova², Marina L. Bakanova¹, Ruslan A. Titov¹, Anna A. Timofeeva¹**Polymorphisms of genes of DNA repair enzymes and indicators of genome instability in coal mine workers**¹The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 18, Sovetsky Ave., Kemerovo, Russia, 650099;²Kemerovo state University, 6, Krasnaya str., Kemerovo, Russia, 650000

Introduction. Coal industry is one of the main economy sectors of many countries. However, it poses a danger to the environment and human health. Since the Kemerovo region is a region with a developed industry, the problem of maintaining genetic homeostasis is highly relevant. Miners are exposed to various harmful factors that can act as genotoxicants and cause various DNA damage.

The aim of the study was to explore the associations of polymorphic variants of DNA repair genes with chromosomal instability in coal mining workers.

Materials and methods. Polymorphic variants of genes of enzymes of reparation DNA (*XPB* (*rs13181*), *XPG* (*rs17655*), *XRCC2* (*rs3218536*), *XRCC3* (*rs861536*), *XRCC4* (*rs2075685*), *XRCC4* (*rs1805377*)) and chromosomal aberrations in blood lymphocytes of 307 miners of coal mines in Kuzbass, 338 residents of the Kemerovo region who did not work in industrial enterprises were analyzed.

Results. The frequency of chromosomal aberrations in the group of miners (4.01 ± 0.14) was significantly higher than in the group of individuals who did not work in production (1.67 ± 0.06 , $p < 0.0000005$). We found that allelic variants in genes *XPB* (*rs13181*), *XRCC3* (*rs861536*), *XRCC4* (*rs2075685*), are associated with the increased chromosomal damage in miners.

Conclusions. Coal production has a negative impact on the genome of workers and can lead to the formation of cytogenetic disorders, which determines the need to develop measures for the comprehensive prevention of diseases caused by the accumulation of DNA damage. The results of the study will expand the existing understanding of the formation of the human genetic apparatus individual sensitivity to the effects of genotoxic factors, as well as formulate recommendations for coal mining workers in accordance with their genetic characteristics.

Keywords: miners; chromosomal aberrations; DNA repair enzyme genes

For citation: Ryzhkova A.V., Minina V.I., Sokolova A.O., Bakanova M.L., Titov R.A., Timofeeva A.A. Polymorphisms of genes of DNA repair enzymes and indicators of genome instability in coal mine workers. *Med. truda i prom. ekol.* 2020; 60 (1). <http://dx.doi.org/10.31089/1026-9428-2020-60-1-12-18>

For correspondence: Anastasia V. Ryzhkova, leading process engineer of the Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of the Siberian branch of the Russian Academy of Sciences. E-mail: A.VRyzhkova@yandex.ru

Funding. The study was supported by State task to 2019–2021 years. No. GZ 0352–2019–0011 (EGIS R & d AAAA-A17–117041410052–4).

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

Введение. Угольная промышленность — одна из основных сфер экономики многих стран мира. В то же время на современном этапе развития данная сфера деятельности представляет немалую опасность для окружающей среды и здоровья человека. Поскольку Кемеровская область является регионом с развитой промышленностью, проблема поддержания генетического гомеостаза является актуальной, так как постоянно генетического материала является основой существования любого организма.

Известно, что горнорабочие подвергаются различным вредным воздействиям: радиация, контакт с угольно-породной пылью, изменение газового состава воздуха (снижение содержания кислорода, увеличение концентрации углекислого газа, поступление в атмосферу шахты метана, оксида углерода, сероводорода, сернистого газа, оксидов азота, взрывных газов и т. д.) [1].

Все вышеперечисленные неблагоприятные факторы могут выступать в качестве генотоксикантов и тем самым вызывать различные повреждения ДНК. В настоящее время существуют методы оценки мутагенной чувствительности и обнаружения изменений в геноме, происходящих под воздействием мутагенных агентов [2]. Одним из наиболее широко применяемых методов оценки воздействия факторов окружающей среды на геном человека является микроскопический анализ aberrаций хромосом в метафазных клетках культивируемых лимфоцитов, что позволяет оценивать крупные структурные нарушения ДНК, приводящие к дисбалансу большого числа копий множества генов. Хромосомные aberrации могут привести к разрушению генов, изменению экспрессии онкогенов и генов супрессоров опухолей [3].

Реализация патологических процессов на молекулярно-генетическом уровне у лиц, подверженных высокой канцерогенной нагрузке, определяется механизмами клеточной защиты, деактивирующей генотоксические вещества и восстанавливающей целостность генетического материала. Ферменты репарации ДНК являются важнейшим ком-

понентом системы поддержания геномной стабильности, обеспечивающими баланс между повреждениями генома под действием мутагенов и его восстановлением [4].

Цель исследования — изучение ассоциаций полиморфных вариантов генов репарации ДНК с хромосомной нестабильностью у работников угледобывающей промышленности.

Материалы и методы. В программу исследования были включены 307 шахтеров, работающих на шахтах Кемеровского и Ленинск-Кузнецкого районов Кемеровской области без профессионально обусловленных патологий. В группу контроля вошли 338 человек старше 40 лет, не работающих на промышленных предприятиях и являющихся донорами областной станции переливания крови. Участие в исследовании проводилось на добровольной основе, все участники были проинформированы о целях, методах и результатах работы. Все обследованные заполняли анкеты, подписывали форму информированного согласия. Характеристика обследованных групп представлена в таблице 1.

Средний стаж работы на угольном производстве у обследованных шахтеров составил $21,2 \pm 0,52$ лет. Для выполнения исследований у всех обследованных доноров в асептических условиях была забрана венозная кровь в системы «Вакутейнер» с Li — гепарином и с ЭДТА.

Подготовка препаратов хромосом и учет хромосомных aberrаций (ХА) проводилась в соответствии с требованиями, описанными ранее [5]. Учет ХА осуществлялся на зашифрованных препаратах.

Выделение ДНК проведено из периферической крови с помощью метода фенол-хлороформной экстракции.

Типирование локусов XRCC2 (*rs3218536*) и XRCC3 (*rs861539*) проводилось методом real-time ПЦР с использованием технологии конкурирующих TaqMan-зондов и наборов реактивов СибДНК (ООО «СибДНК», г. Новосибирск). Каждый образец амплифицировался с использованием пары специфических праймеров и двух зондов, несущих «гаситель» на 3'-конце (BHQ) и флуоресцентный

Таблица 1 / Table 1

Характеристика обследованных групп Characteristics of the surveyed groups

Выборка	Шахтеры (n=307)		Группа контроля (n=338)	
	Число	%	Число	%
Возраст, лет (Mean±St. err)	48,6± 0,51		49,9±0,32	
Мужчин	303	98,6	315	93,2
Женщин	4	1,4	23	6,8
Курящие	146	47,5	141	41,7
Некурящие	161	52,5	197	58,3

краситель (FAM и R6G) на 5'-конце. Анализ полиморфных вариантов генов *XPG* (*rs17655*), *XPB* (*rs13181*), *XRCC4* (*rs2075685*), *XRCC4* (*rs1805377*) проведен методом аллель-специфической ПЦР с использованием наборов реактивов

«SNP-экспресс» (НПФ «Литех», г. Москва). Анализ продуктов полимеразной реакции проводили разделением гелем электрофореза с последующей визуализацией фрагментов ДНК в ультрафиолетовом свете.

Таблица 2 / Table 2

Количественные характеристики хромосомных нарушений
Quantitative characteristics of chromosomal disorders

Показатель, %	Шахтеры (n=307)			Контроль (n=338)		
	Me	Min-Max	Mean ± St. err	Me	Min-Max	Mean ± St. err
Аберрантные метафазы	4,0	0–12,5	4,01±0,14*	1,5	0–7,5	1,67±0,06
Аберраций на 100 клеток	4,0	0–13,5	4,19±0,14*	1,5	0–7,5	1,72±0,07
Хроматидные фрагменты	2,0	0–12,0	2,45±0,12*	1,0	0–5,5	1,19±0,05
Хроматидные обмены	0	0–1,0	0,05±0,01***	0	0–1,0	0,02±0,005
Аберрации хроматидного типа	2,0	0–12,0	2,51±0,12*	1,0	0–5,5	1,20±0,05
Парные фрагменты	1,0	0–5,0	1,09±0,05*	0	0–3,5	0,34±0,03
Дицентрики с фрагментами	0	0–1,5	0,06±0,01***	0	0–0,5	0,02±0,005
Дицентрики без фрагментов	0	0–3,0	0,18±0,02*	0	0–1,0	0,03±0,006
Кольцевые хромосомы	0	0–4,0	0,15±0,02***	0	0–1,0	0,05±0,01
Атипичные моноцентрики	0	0–3,0	0,21±0,02**	0	0–2,0	0,07±0,01
Аберрации хромосомного типа	1,5	0–8,0	1,67±0,08*	0,5	0–6,5	0,80±0,29

Примечания. Здесь и далее: Me — медиана, Mean ± St. err среднее значение ± стандартная ошибка. Отличается от аналогичного показателя в группе контроля при * — $p < 0,0000005$; ** — $p < 0,000005$; *** — $p < 0,00005$.

Notes: Here and further: Me — median, Mean ± St. err average value ± standard error. Differs from the same indicator in the control group when * — $p < 0,0000005$; ** — $p < 0,000005$; *** — $p < 0,00005$.

Таблица 3 / Table 3

Распределение изученных полиморфных локусов генов репарации ДНК у шахтеров и в группе контроля
Distribution of the studied polymorphic loci of DNA repair genes in miners and in the control group

Локусы и генотипы	Генотипы и аллели	Шахтеры (n=307)	Контроль (n=338)	χ^2	p (df)
<i>XPB</i> <i>rs13181</i> T>G	TT/TG/GG	142(46,2)/129(42,0)/36(11,8)	146(43,2)/156(46,2)/36(10,6)	0,14	0,70
	T/G	413(67,3)/201(32,7)	448(66,3)/228(33,7)	0,14	0,70
	p^{HWE}	0,44	0,63		
<i>XPG</i> <i>rs17655</i> G>C	GG/GC/CC	127(41,4)/149(48,5)/31(10,1)	165(48,8)/140(41,4)/33(9,8)	2,28	0,13
	G / C	403(65,6)/211(34,4)	470(69,5)/206(30,5)	2,23	0,13
	p^{HWE}	0,20	0,70		
<i>XRCC2</i> <i>rs3218536</i> G>A	GG/GA/AA	277(90,2)/29(9,4)/1(0,4)	303(89,6)/33(9,7)/2(0,7)	0,11	0,73
	G/A	583(95,5)/31(4,5)	639(94,5)/37(5,5)	0,12	0,73
	p^{HWE}	0,55	0,26		
<i>XRCC3</i> <i>rs861536</i> C>T	CC/CT/TT	118(38,4)/149(48,5)/40(13,1)	141(41,7)/159(47,0)/38(11,3)	0,93	0,33
	C/T	385(62,7)/229(37,3)	441(65,2)/235(34,8)	0,90	0,34
	p^{HWE}	0,54	0,55		
<i>XRCC4</i> <i>rs2075685</i> G>T	GG/GT/TT	128(41,7)/141(45,9)/38(12,4)	125(37,0)/155(45,9)/58(17,1)	3,01	0,08
	G/T	397(64,7)/217(35,3)	405(59,9)/271(40,1)	3,08	0,08
	p^{HWE}	1,0	0,42		
<i>XRCC4</i> <i>rs1805377</i> G>A	GG/GA/AA	209(68,1)/94(30,6)/4(1,3)	223(66,0)/101(29,9)/14(4,1)	1,37	0,24
	G/A	512(83,4)/102(16,6)	547(80,9)/129(19,1)	1,34	0,25
	p^{HWE}	0,09	0,59		

Примечания. Здесь и далее: χ^2 — критерий χ^2 с поправкой Йетса; p — значимость различий частоты встречаемости генотипа в группах, p^{HWE} * — значимость отличий распределения частот генотипов от равновесия Харди-Вайнберга (Exacttest for Hardy-Weinberg equilibrium).

Notes: Here and further: χ^2 -Yates-corrected criterion χ^2 ; p-significance of differences in the frequency of genotype occurrence in groups, p^{HWE} * — significance of differences in the distribution of genotype frequencies from the Hardy-Weinberg equilibrium (Exacttest for Hardy-Weinberg equilibrium).

Статистическая обработка данных проведена с использованием программы «Statistica 8.0». Для анализа количественных цитогенетических показателей рассчитывались медианы, размахи, средние величины, стандартные отклонения, стандартные ошибки. Проверка соответствия распределения количественных показателей закону нормального распределения проведена с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Сравнение групп проводилось с помощью непараметрических критериев: Mann-Whitney U Test (для парных сравнений). Оценка частоты редкого аллеля, соответствие распределения частот генотипов равновесию Харди — Вайнберга (χ^2), статистическая значимость различий между группами по частотам аллелей и генотипов для теста χ^2 на гомогенность выборок и значение P-value проводились с помощью доступного онлайн-ресурса: <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>; статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. На первом этапе исследования было проведено сравнение уровня цитогенетических повреждений у работников, занятых на производстве и лиц контрольной группы, не подвергающихся воздействию промышленных генотоксикантов (табл. 2).

Известно, что на формирование цитогенетических нарушений могут оказывать существенное влияние такие показатели, как пол, возраст и статус курения [6]. В исследуемых выборках не было выявлено существенного влияния возраста и пола на процессы хромосомного мутагенеза. Однако было выявлено статистически значимое негативное влияние курения у лиц контрольной группы. Повышение уровня цитогенетических повреждений достигалось за счет

таких показателей, как хроматидные обмены ($p=0,0003$), aberrации хроматидного типа ($p=0,04$) и кольцевые хромосомы ($p=0,05$).

На следующем этапе исследования была проанализирована частота распределения генотипов генов репарации ДНК (табл. 3). Анализ распределения частот генотипов и аллелей изучаемых полиморфных локусов показал соответствие Харди-Вайнбергу как в экспериментальной группе, так и у лиц контрольной группы, не занятых на производстве.

Достоверных различий при сравнении частот аллелей и генотипов исследованных полиморфных локусов между шахтерами и контрольной группой выявлено не было.

Далее был проведен анализ частот встречаемости хромосомных повреждений в зависимости от полиморфных вариантов генов репарации ДНК (табл. 4).

Анализ повреждаемости хромосом с учетом различных генотипов изучаемых локусов позволили выявить существенные отличия между генотипами XPD GG и TT ($5,19 \pm 0,38$ против $3,90 \pm 0,20$; $p=0,006$) и XPD GG и TG ($5,19 \pm 0,38$ против $3,71 \pm 0,20$; $p=0,0006$), а также между генотипами GT и GG ($4,16 \pm 0,26$ против $3,87 \pm 0,16$; $p=0,003$) варианта G-652T (rs2075685) гена XRCC4.

При изучении ассоциаций различных вариантов генов репарации ДНК с формированием отдельных типов ХА были получены следующие результаты (рис. 1–4).

Статистически значимые отличия были выявлены между генотипами TT и GG ($1,66 \pm 0,11\%$ vs $2,32 \pm 0,25\%$; $p=0,01$) и генотипами TG и GG ($1,51 \pm 0,11\%$ vs $2,32 \pm 0,25\%$; $p=0,001$) гена XPD для показателя aberrации хромосомного типа.

Таблица 4 / Table 4

Частота хромосомных aberrаций у индивидов с различными генотипами изучаемых полиморфных локусов генов репарации ДНК

Frequency of chromosomal aberrations in individuals with different genotypes of the studied polymorphic loci of DNA repair genes

Локусы и генотипы		Шахтеры (n=307)			Контроль (n=338)		
		Me	Min-Max	Mean $\pm$ St. err	Me	Min-Max	Mean $\pm$ St. err
XPD rs13181 T>G	TT	4,0	0–10,0	$3,90 \pm 0,20^*$	1,5	0–7,5	$1,67 \pm 0,11$
	TG	3,5	0–11,0	$3,71 \pm 0,20^{**}$	1,5	0–5,5	$1,67 \pm 0,09$
	GG	4,75	1,0–12,0	$5,19 \pm 0,38$	1,5	0–4,0	$1,69 \pm 0,18$
XPG rs17655 G>C	GG	4,0	0,5–11,0	$3,93 \pm 0,21$	1,5	0–5,5	$1,58 \pm 0,09$
	GC	4,0	0–12,5	$4,0 \pm 0,20$	1,5	0–7,5	$1,79 \pm 0,11$
	CC	4,0	0–9,0	$3,96 \pm 0,46$	1,5	0–5,5	$1,61 \pm 0,21$
XRCC2 rs3218536 G>A	GG	4,0	0–12,5	$3,93 \pm 0,15$	1,5	0–7,5	$1,67 \pm 0,07$
	GA	4,0	0–9,0	$4,35 \pm 0,42$	1,5	0–5,5	$1,64 \pm 0,21$
	AA	5,0	5,0	$5,0 \pm 0$	2,0	0–4,0	$2,0 \pm 0$
XRCC3 rs861536 C>T	CC	3,5	0–11,0	$3,88 \pm 0,24$	1,5	0–5,5	$1,67 \pm 0,10$
	CT	4,0	0–12,5	$3,96 \pm 0,19$	1,5	0–7,5	$1,65 \pm 0,10$
	TT	4,25	0,5–9,0	$4,26 \pm 0,33$	1,5	0–4,5	$1,75 \pm 0,20$
XRCC4 rs2075685 G>T	GG	4,0	0–12,5	$3,87 \pm 0,16$	1,5	0–5,0	$1,55 \pm 0,08$
	GT	4,0	0–11,0	$4,16 \pm 0,26^{***}$	1,5	0–7,5	$1,73 \pm 0,12$
	TT	4,25	2,0–8,0	$4,63 \pm 1,43^{****}$	1,84	0–4,5	$1,86 \pm 0,15$
XRCC4 rs1805377 G>A	GG	4,0	0–10,0	$4,22 \pm 0,18$	1,5	0–7,5	$1,74 \pm 0,09$
	GA	3,0	0–11,0	$3,52 \pm 0,21$	1,5	0–5,5	$1,60 \pm 0,11$
	AA	4,0	0,5–12,5	$4,54 \pm 0,48$	1,5	0–3,5	$1,5 \pm 0,25$

Примечания. При сравнении с XPD GG в группе шахтеров * — $p=0,006$; ** — $p=0,0006$. При сравнении с XRCC4 GG в группе шахтеров *** — $p=0,003$; **** — $p=0,05$.

Notes. When compared with XPD GG in the group of miners * — $p=0,006$; ** — $p=0,0006$. When compared with XRCC4 GG in the group of miners *** — $p=0,003$; **** — $p=0,05$.

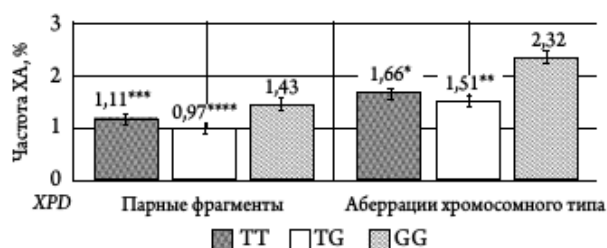


Рис. 1 Частота парных фрагментов и аберраций хромосомного типа у шахтеров с различными генотипами гена *XPD* (*rs13181*)

Fig. 1. Frequency of paired fragments and chromosomal aberrations in miners with different genotypes of the *XPD* gene (*rs13181*)

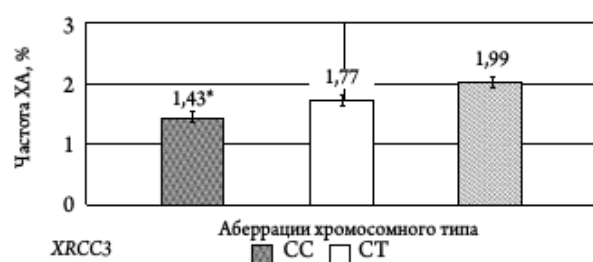


Рис. 3. Частота аберраций хромосомного типа у шахтеров с различными генотипами гена *XRCC3* (*rs861536*)

Fig. 3. Frequency of chromosomal aberrations in miners with different genotypes of the *XRCC3* gene (*rs861536*)

Также в группе шахтеров были выявлены отличия по таким показателям, как парные фрагменты между генотипами *XPD* TT и *XPD* GG ($1,11 \pm 0,08\%$ vs $1,43 \pm 0,13\%$; $p=0,02$) и *XPD* TG против *XPD* GG ($0,97 \pm 0,08\%$ vs $1,43 \pm 0,13\%$; $p=0,0004$).

При исследовании влияния различных генотипов *XPD* на частоту встречаемости цитогенетических повреждений также были выявлены отличия по таким параметрам, как хроматидные обмены между генотипами *XPD* TT и GG ($0,06 \pm 0,02\%$ vs $0,03 \pm 0,02\%$; $p=0,04$) и дицентрические хромосомы без фрагментов между следующими генотипами: *XPD* TT и TG ($0,19 \pm 0,03\%$ vs $0,15 \pm 0,04\%$; $p=0,05$); *XPD* TG и GG ($0,15 \pm 0,04\%$ vs $0,26 \pm 0,06\%$; $p=0,04$).

Анализ показал статистически значимые отличия в частоте встречаемости аберраций хромосомного типа между генотипами *XRCC3* CC и TT ($1,43 \pm 0,10\%$ vs $1,99 \pm 0,21\%$; $p=0,03$).

Выявлено, что у носителей варианта гена *XRCC4* TT частота клеток с аберрациями хромосомного типа была статистически значимо выше по сравнению с носителями GG ($1,73 \pm 0,23\%$ vs $1,59 \pm 0,12\%$; $p=0,04$).

Обсуждение. Оценка уровня хромосомных повреждений показала увеличение числа всех изучаемых цитогенетических параметров у шахтеров по сравнению с контрольной группой. Таким образом, настоящее исследование подтверждает данные о мутагенном характере воздействия производственных факторов угольных шахт [7]. Полученные результаты сопоставимы с данными, опубликованными ранее другими учеными при изучении эффектов влияния производственной среды угольных шахт на цитогенетический статус работников данного типа производства [8].

Не было отмечено влияния возраста, пола, статуса курения на уровень цитогенетических повреждений у работников

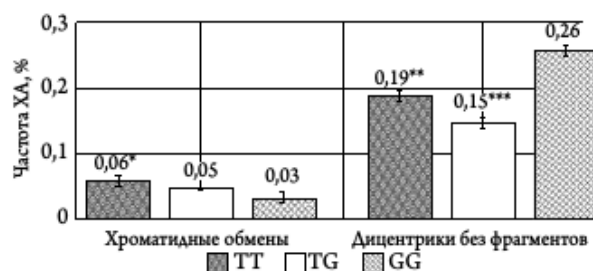


Рис. 2. Частота хроматидных обменов и дицентриков без фрагментов у шахтеров с различными генотипами гена *XPD* (*rs13181*)

Fig. 2. Frequency of chromatid exchanges and dicentric chromosomes without fragments in miners with different genotypes of the *XPD* gene (*rs13181*)

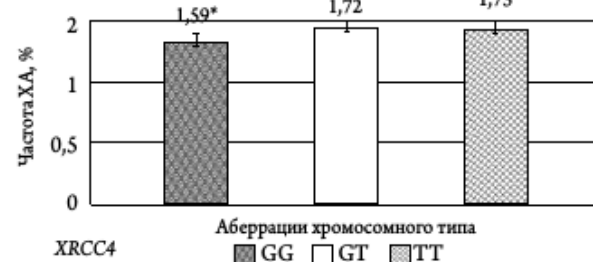


Рис. 4. Частота аберраций хромосомного типа у шахтеров с различными генотипами гена *XRCC4* (*rs2075685*)

Fig. 4. Frequency of chromosomal aberrations in miners with different genotypes of the *XRCC4* gene (*rs2075685*)

шахт, что может свидетельствовать о наличии связи наблюдаемых эффектов именно с воздействием производственных генотоксикантов на рабочих.

В данном исследовании было установлено, что формирование повышенного уровня аберраций хромосом у шахтеров главным образом связано с генетическими вариантами: *XPD* *rs13181* и *XRCC4* *rs2075685*.

Ген *XPD/ERCC2* локализован в хромосоме 19q32.2. и кодирует фермент хеликазу с 5'→3' концевой активностью, принимает участие в эксцизионной репарации нуклеотидов. В составе комплекса ТФИП *XPD* раскручивает двойную цепь ДНК, делая доступным поврежденный участок для эндонуклеаз. Замена *Lys* на *Gln* в 751 позиции (*rs13181*) приводит к изменениям конфигурации белка и влияет на его взаимодействие с хеликазным активатором p44 [9].

Ген *XRCC4* расположен на хромосоме 5q14.2. *XRCC4* участвует в процессе нехомологичного соединения концевых участков ДНК в комплексе с ДНК-лигазой IV и ДНК-зависимой протеинкиназой. Присоединяясь к обоим концам ДНК на последнем этапе V(D)J рекомбинации, данный комплекс восстанавливает двухцепочечные разрывы [10]. Варианты *XRCC4* (*rs2075685*) G>T и (*rs1805377*) G>A активно изучаются в связи с различными онкологическими заболеваниями.

При обследовании работников шахт было установлено, что формирование повышенного уровня отдельных типов ХА связано с вариантами генов: *XPD* *rs13181*, *XRCC3* *rs861536*, *XRCC4* *rs2075685*.

Из данных литературы известно, что носительство *Gln*-аллеля полиморфного варианта гена *XPD* *rs13181* ассоциировано с возрастанием уровня аддуктов ДНК и разрывов [11]. Результаты работы группы ученых из Китая, проведенной на модели *in vitro*, оказались сопоставимы

полученным результатам. Они показали, что наличие варианта дикого типа *TT* ассоциировано с более высокой способностью к репарации ДНК по сравнению с *GG* при действии бензо(а)пирена [12]. Проведенное исследование подтверждает и результаты, полученные ранее при изучении ассоциаций генов репарации ДНК с хромосомной нестабильностью на меньшей выборке [13].

Белок *XRCC3*, кодируемый одноименным геном, локализованным на хромосоме 14q32.3, принимает участие в процессе репарации, осуществляемым путем гомологичной рекомбинации. Замена *Thr* на *Met* в 241 кодоне приводит к перемещению сайта фосфорилирования в аденозинтриптофансвязывающем домене, что может нести за собой изменение репаративной функции синтезируемого белка [14].

Ранние исследования показывают, что полиморфный вариант *XRCC3* 722 *C>T* оказывает непосредственное влияние на повреждение ДНК у носителей минорного аллеля [15].

В ряде исследований не было выявлено влияния варианта *XRCC4* (*rs2075685*) *G>T* ни на повышение уровня хромосомных aberrаций [16], ни на риск развития рака легкого в тайваньской популяции [17]. Однако исследование ученых из Китая показало, что данный полиморфизм может играть роль в восприимчивости к раку поджелудочной железы, при этом рисковым выступает генотип *TT* [18]. В данном исследовании повышенный уровень частоты клеток с ХА имели лица с генотипом *GT* ($p=0,003$) и *TT* ($p=0,05$) по сравнению с носителями варианта *GG* *XRCC4*. Кроме того, установлено увеличение частоты встречаемости клеток с aberrациями хромосомного типа у носителей *TT* варианта по сравнению с *GG* *XRCC4* ($p=0,04$).

Таким образом, данное исследование показывает, что полиморфные варианты генов *XPB* (*rs13181*) *T>G*, *XRCC3* (*rs861536*) *C>T* и *XRCC4* (*rs2075685*) *G>T* вносят свой вклад в формирование индивидуального ответа на воздействие факторов производственной среды и могут играть роль в накоплении потенциально опасных цитогенетических повреждений, что особенно актуально для населения промышленных регионов.

Выводы:

1. Угльное производство оказывает значительное негативное воздействие на геном рабочих и способно привести к формированию цитогенетических нарушений, что свидетельствует о мутагенном характере воздействия факторов производственной среды на шахтеров и указывает на необходимость разработки мер комплексной профилактики заболеваний, обусловленных накоплением повреждений ДНК. При этом интенсивность накопления хромосомных aberrаций зависит не только от факторов среды, но и от конститутивных особенностей организма, определяемых, в том числе, генетическими полиморфизмами генов репарации ДНК.

2. Установлено, что полиморфные варианты генов *XPB* (*rs13181*) *T>G*, *XRCC3* (*rs861536*) *C>T* и *XRCC4* (*rs2075685*) *G>T* ассоциированы с риском возрастания цитогенетических повреждений, в связи с чем данные полиморфизмы можно рассматривать как биомаркеры индивидуальной чувствительности к воздействию неблагоприятных факторов производственной среды.

3. Результаты данной работы позволяют расширить имеющиеся представления о формировании индивидуальной чувствительности генетического аппарата человека к воздействию генотоксических факторов, а также сформулировать рекомендации для работников угледобывающего производства в соответствии с их генетическими характеристиками.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хорошилова А.С., Табакаева А.М., Харин Д.В. О профессиональной заболеваемости работников угольной отрасли промышленности Кузбасса. *Безопасность труда в промышленности*. 2008; 10.
2. Hsu T.C. Genetic instability in the human population: a working hypothesis. *Hereditas*. 1998; 4: 1–9.
3. Kloosterman WP, Hochstenbach R. Deciphering the pathogenic consequences of chromosomal aberrations in human genetic disease. *Mol Cytogenet*. 2014; 7: 100–12. DOI: 10.1186/s13039-014-0100-9.
4. Сальникова А.Е., Чумаченко А.Г., Лаптева Н.Ш., Веснина И.Н., Кузнецова Г.И., Рубанович А.В. Аллельные варианты полиморфных генов, сопряженные с повышенной частотой хромосомных aberrаций. *Генетика*. 2011; 47 (11): 1536–44.
5. Минина В.И., Неаюбова Ю.А., Савченко Я.А., Тимофеева А.А., Астафьева Е.А., Баканова М.А. и др. Оценка повреждений хромосом у рабочих угольных теплоэлектростанций. *Мед труда и пром. экол*. 2019; 3: 149–54.
6. Бочков Н.П., Чеботарев А.Н., Катосова Л.Д., Платонова В.И. База данных для анализа количественных характеристик частоты хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов периферической крови человека. *Генетика*. 2001; 37 (4): 549–57.
7. Дружинин В.Г. Количественные характеристики частоты хромосомных aberrаций в группе жителей крупного промышленного региона Западной Сибири. *Генетика*. 2003; 39 (10): 1373–80.
8. Минина В.И., Кулемин Ю.Е., Толочко Т.А., Мейер А.В., Савченко Я.А., Волобаев В.П. и др. Генотоксические эффекты воздействия производственной среды у шахтеров Кузбасса. *Мед труда и пром. экол*. 2015; 5: 4–8.
9. Monaco R., Rosal R., Dolan M.A., Pincus M.R., Freyer G., Brandt R. Conformational effects of a common codon 751 polymorphism on the C-terminal domain of the xerodermapigmentosum D protein. *J. Carcinog*. 2009; 8: 12. DOI:10.4103/1477-3163.54918.
10. Junop M.S., Modesti M., Guarné A., Ghirlando R., Gellert M., Yang W. Crystal structure of the *XRCC4* DNA repair protein and implications for end joining. *EMBO J*. 2000; 19 (22): 5962–70. DOI:10.1093/emboj/19.22.5962.
11. Wlodarczyk M., Nowicka G. *XPB* gene *rs13181* polymorphism and DNA damage in human lymphocytes. *Biochem. Genet*. 2012; 50 (11–12): 860–70. DOI: 10.1007/s10528-012-9526-0.
12. Xiao S., Cui S., Lu X., Guan Y., Li D., Liu Q. et al. The *ERCC2/XPB* Lys751Gln polymorphism affects DNA repair of benzo(a)pyrene induced damage, tested in an in vitro model. *Toxicol In Vitro*. 2016; 34: 300–8. DOI: 10.1016/j.tiv.2016.04.015.
13. Соколова А.О. Вклад полиморфизма генов *XPB* и *XPB* в формирование хромосомных aberrаций у здоровых шахтеров. *Материалы симпозиума XIV: Международной научно-практической конференции «Образование, наука, инновации: вклад молодых исследователей»*. Кемерово, 22–24 апр., 2019 г.
14. Matullo G., Palli G., Matullo D., Guarrera S., Carturan S., Celentano E. et al. *XRCC1*, *XRCC3*, *XPB* gene polymorphisms, smoking, and (32) P-DNA adducts in a sample of healthy subjects. *Carcinogenesis*. 2001; 22(9): 1437–45. DOI:10.1093/carcin/22.9.1437.
15. Shakeri M., Zakeri F., Changizi V., Rajabpour M.R., Farshidpour M.R. Cytogenetic effects of radiation and genetic polymorphisms of the *XRCC1* and *XRCC3* repair genes in industrial radiographers. *Radiat Environ Biophys*. 2019; 58(2): 247–55. DOI:10.1007/s00411-019-00782-5.
16. Уржумов П.В., Возилова А.В., Донов П.Н., Блинова Е.А., Аклев А.В. Связь полиморфизма генов систем репарации ДНК

с повышенным уровнем хромосомных aberrаций у облученных лиц. *Медико-биологические проблемы жизнедеятельности*. 2014; 1(11): 59–64.

17. Hsu N.Y., Wang H.C., Wang C.H. Lung cancer susceptibility and genetic polymorphism of DNA repair gene XRCC4 in Taiwan. *Cancer Biomark.* 2009; 5(4): 159–65. DOI:10.3233/CBM-2009-0617.

18. Ding Y, Li LN. Association between single nucleotide polymorphisms of X-ray repair cross-complementing protein 4 gene and development of pancreatic cancer. *Genetics and Molecular Research.* 2015; 14(3): 9626–32. DOI: 10.4238/2015.august.14.25.

REFERENCES

1. Khoroshilova L.S., Tabakaeva L.M., Kharin D.V. On the occupational morbidity of workers in the coal industry of Kuzbass. *Bezopasnost truda v promyshlennosti*. 2008; 10. (in Russian)

2. Hsu T.C. Genetic instability in the human population: a working hypothesis. *Hereditas*. 1998; 4:1–9.

3. Kloosterman WP, Hochstenbach R. Deciphering the pathogenic consequences of chromosomal aberrations in human genetic disease. *MolCytogenet.* 2014; 7: 100–12. DOI: 10.1186/s13039-014-0100-9.

4. Salnikova L.E., Chumachenko A.G., Lapteva N.S., Vesnina I. N., Kuznecova G. I., Rubanovich A.V. Allelic variants of polymorphic genes associated with a higher frequency of chromosome aberrations. *Genetika*. 2011; 47 (11): 1364–71 (in Russian).

5. Minina V.I., Nelyubova Y.A., Savchenko Y.A., Timofeeva A.A., Astaf'eva E.A., Bakanova M.L. et al. Estimation of chromosome disorders in workers at coal thermal power plant. *Med. truda i prom. ekol.* 2019; 3: 149–54. DOI:10.31089/1026-9428-2019-3-149-154 (in Russian).

6. Bochkov N.P., Chebotarev A.N., Katosova L.D., Platonova V.I. Database for the analysis of quantitative characteristics of the frequency of chromosomal aberrations in a culture of human peripheral blood lymphocytes. *Genetika*. 2001; 37(4): 549–57 (in Russian).

7. Druzhinin V.G. Quantitative characteristics of the frequency of chromosomal aberrations in the group of residents of a large industrial region of Western Siberia. *Genetika*. 2003; 39(10): 1373–80 (in Russian).

8. Minina V.I., Kulemin Y.E., Tolochko T.A., Mejer A.V., Savchenko Y.A., Volobaev V.P. et al. Genotoksicheskie efekty vozdeystviya proizvodstvennoj sredy u shahterov Kuzbassa. *Med. truda i prom. ekol.* 2015; 5: 4–8 (in Russian).

9. Monaco R., Rosal R., Dolan M.A., Pincus M.R., Freyer G., Brandt R. Conformational effects of a common codon 751 poly-

morphism on the C-terminal domain of the xerodermapigmentosum D protein. *J. Carcinog.* 2009; 8: 12. DOI:10.4103/1477-3163.54918.

10. Junop M.S., Modesti M., Guarné A., Ghirlando R., Gellert M., Yang W. Crystal structure of the XRCC4 DNA repair protein and implications for end joining. *EMBO J.* 2000; 19 (22): 5962–70. DOI: 10.1093/emboj/19.22.5962.

11. Wlodarczyk M, Nowicka G. XPD gene rs13181 polymorphism and DNA damage in human lymphocytes. *Biochem. Genet.* 2012; 50 (11–2): 860–70. DOI: 10.1007/s10528-012-9526-0.

12. Xiao S., Cui S., Lu X., Guan Y., Li D., Liu Q. et al. The ERCC2/XPD Lys751Gln polymorphism affects DNA repair of benzo[a]pyrene induced damage, tested in an in vitro model. *Toxicol In Vitro*. 2016; 34: 300–8. DOI: 10.1016/j.tiv.2016.04.015.

13. Sokolova AO. Vklad polimorfizma genov XPD i XPC v formirovanie hromosomnykh aberracij u zdorovykh shahterov. *Materialy simpoziuma XIV: Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii "Obrazovanie, nauka, innovacii: vklad molodyh issledovatelei"*. Kemerovo, 22–24 apr., 2019. (in Russian)

14. Matullo G., Palli G., Matullo D., Guarrera S., Carturan S., Celentano E. et al. XRCC1, XRCC3, XPD gene polymorphisms, smoking, and (32) P-DNA adducts in a sample of healthy subjects. *Carcinogenesis*. 2001; 22(9):1437–1445. DOI:10.1093/carcin/22.9.1437.

15. Shakeri M., Zakeri F., Changizi V., Rajabpour M.R., Farshidpour M.R. Cytogenetic effects of radiation and genetic polymorphisms of the XRCC1 and XRCC3 repair genes in industrial radiographers. *Radiat Environ Biophys.* 2019; 58(2): 247–255. DOI:10.1007/s00411-019-00782-5.

16. Urzhumov P.V., Vozilova A.V., Donovan P.N., Blinova E.A., Akleev A.V. The relationship of DNA polymorphism of DNA repair systems with an increased level of chromosome aberrations in irradiated individuals. *Mediko-biologicheskie problem zhiznedeyatel'nosti*. 2014; 1(11): 59–64 (in Russian)

17. Hsu N.Y., Wang H.C., Wang C.H. Lung cancer susceptibility and genetic polymorphism of DNA repair gene XRCC4 in Taiwan. *Cancer Biomark.* 2009; 5(4): 159–65. DOI:10.3233/CBM-2009-0617.

18. Ding Y, Li LN. Association between single nucleotide polymorphisms of X-ray repair cross-complementing protein 4 gene and development of pancreatic cancer. *Genetics and Molecular Research.* 2015; 14(3): 9626–32. DOI: 10.4238/2015.august.14.25.

Дата поступления / Received: 01.10.2019

Дата принятия к печати / Accepted: 14.10.2019

Дата публикации / Published: 24.01.2020