

Н.В. Журахівська, Т.А. Остапенко, А.В. Басанець

АНАЛІЗ АСОЦІАЦІЇ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ GST ТА TNF- α З РИЗИКОМ РОЗВИТКУ ПНЕВМОФІБРОЗУ ТА ХНЗЛ У РОБІТНИКІВ АЗБОЦЕМЕНТНИХ ПІДПРИЄМСТВ УКРАЇНИ

ДУ "Інститут медицини праці АМН України"

Групу хвороб, розвиток яких обумовлений взаємодією певних спадкових чинників та чинників середовища, називають мультифакторіальними захворюваннями (МФЗ) або хворобами із спадковою схильністю. До зазначеної групи відносяться серед інших професійні та виробничо-обумовлені захворювання [1].

Проблеми медицини праці, пов'язані з видобутком, переробкою, використанням азбесту, набули гострої актуальності та дискутуються вченими понад декілька десятиліть. Азбест включений до першої групи канцерогенів (доведено дію на людину) за класифікацією Міжнародного агентства з вивчення раку ВООЗ [http://www — der.iarc.fr., http://monographs.iarc.fr.]. Відомо, що мінерали азбесту відрізняються за хімічною структурою та фізичними властивостями, а отже, їх дія на організм людини в залежності від виду волокон також різна. Доведено, що хризотилевий азбест має менше виражену токсичну, фіброгенну і канцерогенну дію, ніж азбест амфіболової групи [2, 3].

Азбестообумовлені захворювання відносяться до МФЗ, що розвиваються внаслідок поєднаного впливу генетичних та екзогенних факторів — пилу азбесту. Підтвердженням мультифакторіальної природи азбестозу та хронічних неспецифічних запальних захворювань легень (ХНЗЛ) служить той факт, що далеко не всі робітники, які контактують з азбестним пилом, хворіють на дані захворювання.

Виходячи з сучасних знань про

природу МФЗ, вважається, що сукупність генів, що відповідають за формування схильності до цих захворювань, утворює систему зв'язаних між собою елементів, ефекти взаємодії яких на рівні білкових продуктів визначають біохімічну індивідуальність людини. Залежно від цього у індивідуума формується властивий йому високий або низький ступінь схильності до того або іншого захворювання, яке в разі дії відповідних чинників зовнішнього середовища реалізується патологічним фенотипом. Таким чином, для розуміння спадкової природи азбестообумовлених захворювань, як й інших МФЗ, необхідно встановити, яке саме "несприятливе" поєднання поліморфних варіантів генів призводить до високої вірогідності розвитку патології.

Дані літератури останніх 10 років свідчать про можливу асоціацію азбестозу та ХНЗЛ, що виникає від дії пилу азбесту з декількома поліморфними генами-кандидатами, серед них такі, що кодують TNF- α , IL-8, IL-6, ферменти родини GST, TGF- β , CYP450, P53 та інші [4 — 7]. Виходячи з цього, а також з механізмів патогенезу азбестозу та ХНЗЛ, слід зазначити, що найреальнішими біомаркерами спадкової схильності до вказаних захворювань можуть бути гени родини глутатіон-S-трансферази (GST) — GSTT1, GSTM1 і фактор некрозу пухлин α (TNF- α).

Родина GST — це велика група ферментів, що відіграє важливу роль у захисті клітин від продуктів перекисного окислення ліпідів: переки-

су водню та органічних (ліпідних) пероксидів. Також вона є одним з ферментів другої фази детоксикації ксенобіотиків, що каталізує процеси знешкодження гідрофобних ксенобіотиків та канцерогенів, переводячи їх у гідрофільну форму, після чого вони легко виводяться з організму [8].

TNF- α — прозапальний цитокін, потужний медіатор запалення та імунної відповіді. При надлишковій секреції TNF- α діє як фактор активації макрофагів і нейтрофілів, індукуючи синтез каскаду інтерлейкінів (IL), із яких найбільш значимим для патогенезу пневмоконіозів є IL1, IL6, IL8, IL10 [9-11].

Визначення біомаркерів генетичної схильності до розвитку азбестообумовлених захворювань у працівників азбоцементного виробництва відкриває нові шляхи до первинної профілактики зазначеної патології, що й стало метою нашого дослідження.

Матеріали та методи дослідження

Для вивчення асоціації розвитку пневмофіброзу та ХНЗЛ від впливу пилу азбесту з певними генотипами за генами GSTM1, GSTT1 та TNF- α були проведені молекулярно-генетичні дослідження особам з ознаками фіброзу, ХНЗЛ і особам, що не мають бронхолегеневої патології. Всі обстежені були працівниками азбоцементних підприємств і мали стаж роботи не менше 5 років (табл. 1 та табл. 2). Досліджувані групи були однорідні за статтю, віком, стажем роботи в умовах впливу азбестовмісного пилу, концентрації якого на основних робочих місцях перевищували граничнодопустимі до 10 та більше разів за "Гигиенической классификацией труда. № 4137 — 86", з масовою часткою хризотилового азбесту 50 — 100% [12] і стажем паління ($p > 0,05$).

Визначення генотипу хворих і осіб групи контролю за геном TNF- α проводили у чотири етапи, а за генами GSTM1 та GSTT1 — у три:

1. Виділення ДНК. ДНК для молекулярно-генетичних досліджень виділяли з лейкоцитів периферійної крові стандартним методом за допомогою комерційної тест-системи "DNA PCR test" (ООО Лабораторія Ізоген, Росія).
2. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) — з використанням реагентів фірми Fermentas (USA)

Таблиця 1

Характеристика груп обстежених

Група	n	Стать чол./жін (%)	Середній вік (роки)	Середній стаж (роки)	Паління (%)
Особи з ознаками фіброзу	71	79/21	45,47 ± 5,90	19,6 ± 4,71	57,0 ± 5,88
Контрольна	64	73/27	46,97 ± 6,24	18,48 ± 4,80	46,0 ± 6,23

Таблиця 2

Характеристика груп обстежених

Група	n	Стать чол./жін (%)	Середній вік (роки)	Середній стаж (роки)	Паління (%)
Хворі на ХНЗЛ		62/38	45,54 ± 7,42	19,42 ± 5,9	34,7 ± 7,1
Контрольна		51/49	43,77 ± 5,14	20,14 ± 4,16	28,7 ± 4,69

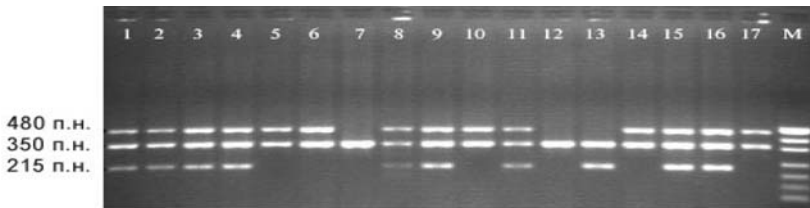


Рис. 1. Електрофореграма продуктів ампліфікації при аналізі генотипів за генами GSTT1 та GSTM1.

Примітка: зразки 7 і 12 – GSTM1(-/-);GSTT1(-/-), зразки 1-4, 8, 9 11, 15, 16 – GSTM1(+);GSTT1(+), зразки 5, 6, 10, 14, 17 – GSTM1(-/-);GSTT1(+), та зразок 13 – GSTM1(+);GSTT1(-/-). М – маркер молекулярної маси.

Для вивчення генотипів по GSTM1 та GSTT1 було застосовано мультиплексну ПЛР з використанням олігонуклеотидних праймерів, запропонованих у роботі Arand M. et al. [13]. При цьому внутрішнім контролем при проведенні ПЛР був фрагмент гена альбуміна. Аелі А та G гена TNF- α визначалися методом класичної ПЛР (праймери за Yucesoy V. et al.) [11], з наступним аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ).

Для забезпечення відповідного температурного режиму ампліфікації використовувався ампліфікатор Perkin-Elmer 2700.

3. Аналіз поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ). Аналіз ПДРФ проводився для визначення мутантних та нормальних аелів гена TNF- α у позиції -308. Продукти ампліфікації фрагментів ДНК гена TNF- α підлягали гідролітичному розщепленню за допомогою ендонуклеази рестрикції NcoI.

В залежності від наявності або відсутності відповідних сайтів рестрикції у ампліфікованій ділянці ДНК продукти рестрикції мали різну молекулярну

вагу. Це дало змогу проаналізувати результати гідролітичного розщеплення за допомогою методу гель-електрофорезу.

4. Аналіз продуктів ампліфікації та рестрикції. Візуалізація продуктів ампліфікації та гідролітичного розщеплення фрагментів ДНК генів GSTM1, GSTT1 та TNF- α (-308) здійснювалась у 2,5 % агарозному гелі.

Фрагменти ДНК 215 і 480 п.н. свідчили про наявність не мутантних аелів GSTM1 і GSTT1 відповідно. Відсутність зазначених фрагментів вказувала на гомозиготність індивідуума по делетованих (мутантних) аелях.

Фрагменти гідролітичного розщеплення з молекулярною масою 107 п. н. вказували на генотип TNF- α (-308)*A/A, з молекулярною масою 87 та 20 п. н. – генотип TNF- α (-308)*G/G. Молекулярна маса фрагментів 107, 87 та 20 п. н. свідчила про наявність генотипу TNF- α (-308)*A/G.

Для статистичного аналізу отриманих даних використовували стандартний метод χ^2 , метод критерію Фішера-Ірвіна.

Результати дослідження

Відомо, що у генів GSTT1 та

GSTM1, які кодують відповідно глутатіонтрансферази θ_1 і μ_1 , виявлений поліморфізм за, так званими, нульовими аелями, що являють собою делеції, внаслідок яких утворюються скорочені білкові продукти без вираженої ферментативної активності. Для гомозигот за нульовими формами аелів є характерною повна відсутність детоксуючої дії ферменту, чого не можна сказати про гетерозиготи, у яких нормальний аель компенсує дію делетованого. Таким чином, для виявлення патогенетичного значення поліморфізму за нуль-аелями генів GSTT1 та GSTM1 ми об'єднали гомозиготи за нормальними аелями (+) з гетерозиготами (+/-) у спільну групу – (+).

Для вивчення асоціації певних генотипів за генами GSTT1 та GSTM1 з ризиком розвитку пневмофіброзу та ХНЗЛ нами були визначені їх частоти в усіх групах обстежених. Генотипування зразків ДНК проводили із застосуванням методу мультиплексної ПЛР (рис. 1).

Аналіз поширеності генотипів за геном GSTT1 у групі осіб з ознаками пневмофіброзу та в контрольній групі показав відсутність статистично вірогідної різниці ($p=0,785$) в частотному розподілі гомозигот за мутантним геном GSTT1 у осіб з пневмофіброзом та обстежених з групи контролю: 11 (15,5 %) і 12 осіб (18,8 %) відповідно (рис.2). Частота генотипу була близькою до популяційної частоти кавказької популяції, що за даними літератури становить 14 – 20 % [14].

Аналіз частоти генотипів за геном GSTM1 також не виявив статистично вірогідних відмінностей за генотипами GSTM1(-/-) і GSTM1(+) серед пацієнтів з пневмофіброзом та в контрольній групі ($p=0,137$). Серед обстежених з ознаками пневмофіброзу генотип GSTM1(-/-) був виявлений у 32 осіб, що становило 45%, а в контрольній групі – у 38 (59,4 %). Частота генотипу GSTM1(+) була 55 % та 40,6 % відповідно (рис. 3).

Також була проаналізована частота комбінованих генотипів GSTT1;GSTM1 у обох групах (рис. 4). При порівнянні поширеності генотипу GSTT1(+);GSTM1(+) серед осіб з ознаками пневмофіброзу (35 осіб, що становило 49,3 %), та осіб контрольної групи (17 осіб – 26,6 %)

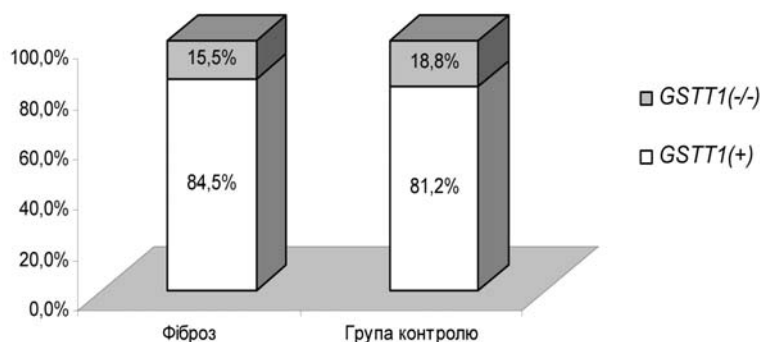


Рис. 2. Розподіл частоти генотипів GSTT1(-/-) і GSTT1(+) в групі осіб з ознаками пневмофіброзу та в контрольній групі

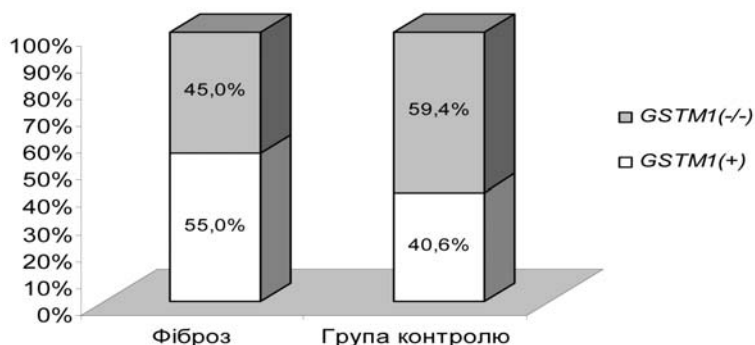


Рис. 3. Розподіл частоти генотипів GSTM1(-/-) і GSTM1(+) в групі осіб з ознаками пневмофіброзу та в контрольній групі

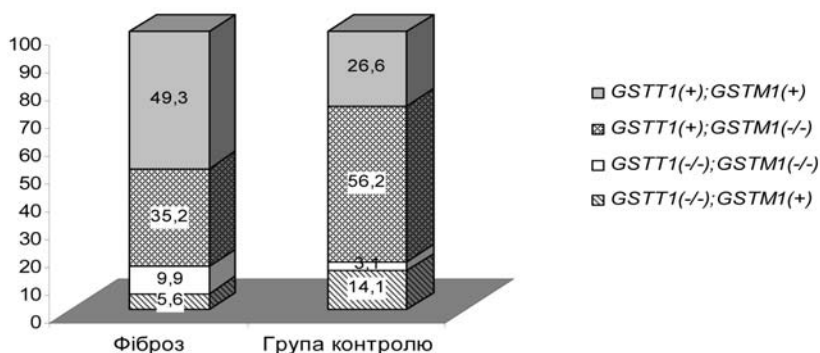


Рис. 4. Розподіл частоти комбінованих генотипів GSTT1 і GSTM1 в групі осіб з ознаками пневмофіброзу та в контрольній групі

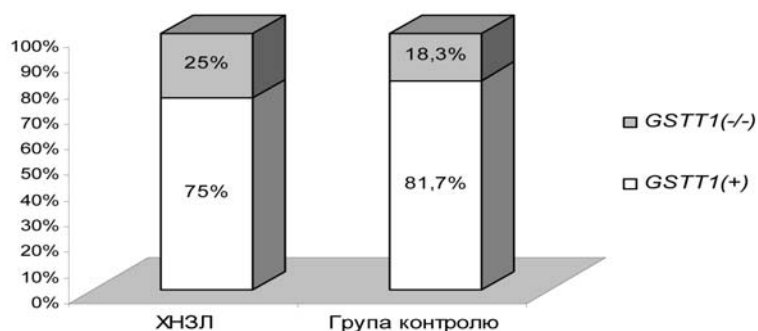


Рис. 5. Розподіл частоти генотипів GSTT1(-/-) і GSTT1(+) в групі хворих на ХНЗЛ та в контрольній групі

була виявлена статистично вірогідна різниця ($p=0,011$) між частотою даного генотипу в обстежених групах. Різниця між частотами генотипу GSTT1(-/-);GSTM1(-/-) була статистично невірогідною: у групі хворих з пневмофіброзом генотип GSTT1(-/-);GSTM1(-/-) мали 7 осіб (9,9%), а в контрольній групі — 2 особи (3,1%) ($p=0,203$) (рис. 4). Частота комбінованого генотипу GSTT1(-/-);GSTM1(+) у групі осіб з пневмофіброзом (5,6%) була меншою, ніж в контрольній (14,1%), але ця різниця також не мала статистичної вірогідності ($p=0,172$).

Проте суттєва різниця була встановлена при аналізі генотипу GSTT1(+);GSTM1(-/-). Серед обстежених з ознаками пневмофіброзу було виявлено 25 осіб з вказаним генотипом, що становило 35,2%, в той час, як в групі контролю зазначений генотип мали 36 чоловік (56,2%), тобто на 21% більше ($p=0,023$). Отримані дані вказують на асоціацію генотипів GSTT1(+);GSTM1(+) та GSTT1(+);GSTM1(-/-) з процесом розвитку фіброзної тканини в паренхимі легень від впливу пилу хризотилового азбесту.

При аналізі генотипів за геном GSTT1 в групі ХНЗЛ і контрольній групі не було виявлено статистично вірогідної різниці за генотипами GSTT1(-/-) та GSTT1(+) ($p=0,536$) (рис. 5).

Кількість осіб з генотипом GSTT1(-/-) в групі хворих на ХНЗЛ — 11 чоловік, що становило 25%. У групі контролю цей генотип мали 17 осіб, а частота його відповідно 18,3%.

У ході проведеної роботи у працюючих з ХНЗЛ і без бронхолегеневої патології були визначені генотипи за геном GSTM1 (рис. 6). Статистично вірогідної різниці між частотами за генотипами GSTM1(-/-) та GSTM1(+) встановлено не було ($p=0,543$): у групі ХНЗЛ генотип GSTM1(-/-) мали 20 осіб (44,4%), а в групі контролю — 48 чоловік (51,6%).

Проте значна різниця між досліджуваними групами була виявлена при порівнянні частоти комбінованих генотипів GSTT1;GSTM1 (рис. 7), а саме для генотипу GSTT1(-/-);GSTM1(-/-).

Серед хворих на ХНЗЛ носіями генотипу GSTT1(-/-);GSTM1(-/-) були 6 осіб, що становило 13,3%, а серед працівників без бронхолегеневої патології тільки 2 особи мали

вказаний генотип (частота 2,2 %). Різниця між частотою була статистично вірогідною ($p=0,025$) і становила 11,1 %. За іншими генотипами, які утворюються при комбінації алелів генів GSTT1 та GSTM1, достовірної різниці не встановлено. Кількість осіб із генотипом GSTT1(+);GSTM1(+) у групі хворих на ХНЗЛ та контрольній становила 20 (44,4 %) і 32 (34,4 %), відповідно ($p=0,341$). Генотип GSTT1(+);GSTM1(-/-) мали 14 хворих на ХНЗЛ (частота генотипу 31,2 %) та 46 осіб без бронхолегеневої патології (частота — 49,4 %), $p=0,064$. Носіями генотипу GSTT1(-/-);GSTM1(+) у групі пацієнтів з ХНЗЛ були 5 осіб (11,1 %), а в групі контролю — 13 (14 %), $p=0,842$.

За даними літератури відомі декілька діалельних поліморфізмів гена TNF- α , що тією чи іншою мірою впливають на кількість білкового продукту — прозапального цитокіну. При вивченні ролі гена TNF- α у патогенезі азбестозу та ХНЗЛ робітників азбоцементних підприємств ми зупинилися на поліморфізмі TNF- α -308*G/A, що спричинений заміною гуаніну (G) на аденін (A) у промоторі гена. Хоча цей поліморфізм був виявлений одним із перших, вплив його на патогенез розвитку фіброзу та виникнення хронічних неспецифічних запальних захворювань легень вивчений недостатньо.

Отже, у даному дослідженні за допомогою методів ПЛР та ПДРФ були визначені частоти алелів TNF- α -308*A, TNF- α -308*G та генотипів, що утворюються внаслідок їх комбінацій (рис. 8).

При аналізі розповсюдженості алельних поліморфізмів гена TNF- α серед хворих на пневмофіброз та осіб групи контролю не було виявлено статистично вірогідної різниці у частоті розподілу мутантного алеля TNF- α -308*A (табл. 3). Так, у групі осіб з ознаками пневмофіброзу означена мутація мала місце у 16 випадках (частота 0,113), в той час, як серед осіб групи контролю алель TNF- α -308*A був визначений у 11 випадках (частота 0,086). Доля, що припадала на алель G, становила 0,887 у групі обстежених з ознаками пневмофіброзу, та 0,914 — у контрольній групі.

Частотний розподіл генотипів за TNF- α представлено у вигляді діа-

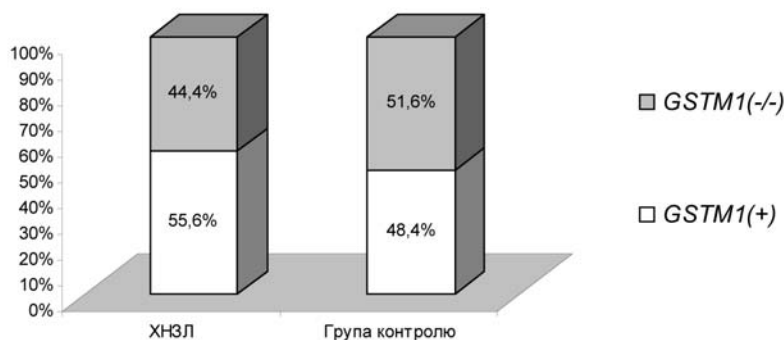


Рис. 6. Розподіл частоти генотипів GSTM1(-/-) та GSTM1(+) в групі хворих на ХНЗЛ і в контрольній групі

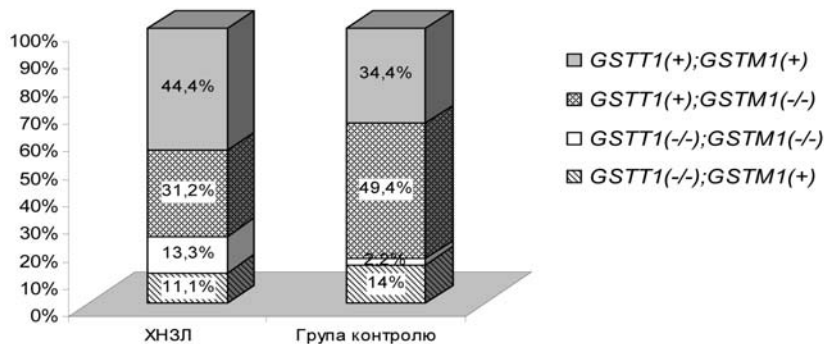


Рис. 7. Розподіл частоти комбінованих генотипів GSTT1;GSTM1 у групі хворих на ХНЗЛ та в контрольній групі

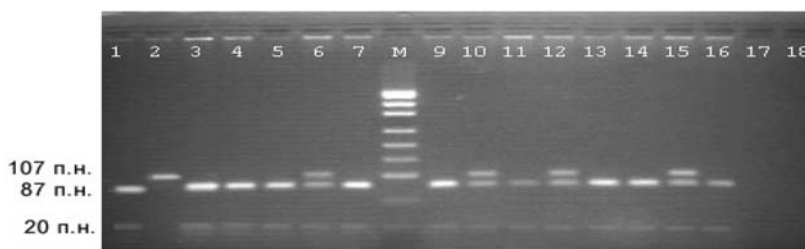


Рис. 8. Електрофореграма продуктів гідролітичного розщеплення при аналізі поліморфізму гена TNF- α у позиції промотору -308
Примітка: зразок 2 — TNF- α (-308)*A/A, зразки 1, 3-5, 7, 9, 11, 13, 14, 16 — TNF- α (-308)*G/G, зразки 6, 10, 12, 15 — TNF- α (-308)*A/G. М. — маркер молекулярної маси

Таблиця 3
Частота розповсюдження алелів А і G гена TNF- α у осіб з ознаками пневмофіброзу та в контрольній групі

Групи обстежених		Алелі гена TNF- α			
		TNF- α -308*A		TNF- α -308*G	
	n	n	частота	n	частота
Особі з ознаками пневмофіброзу	71	16	0,113	126	0,887
Контрольна	64	11	0,086	117	0,914
<i>p</i>		<i>p</i> >0,05		<i>p</i> >0,05	

Примітка: значення частот алелів представлені у вигляді пропорції згідно із законом Харді-Вайнберга.

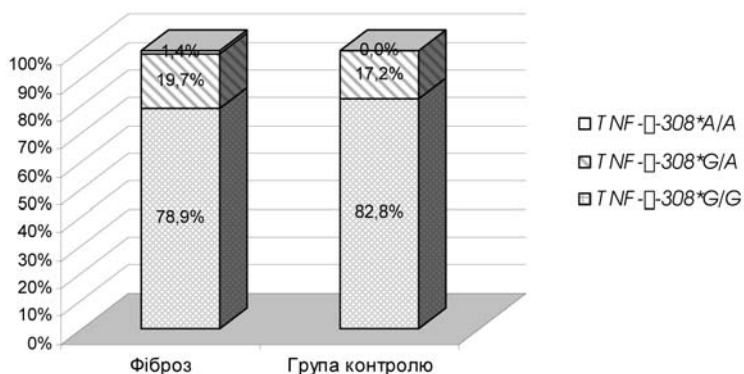


Рис. 9. Розподілення генотипів за геном TNF- α у осіб з ознаками пневмофіброзу та в контрольній групі

Таблиця 3

Частота розповсюдження алелів А і G гена TNF- α у осіб з ознаками пневмофіброзу та в контрольній групі

Групи обстежених		Алелі гена TNF- α			
		TNF- α -308*A		TNF- α -308*G	
	n	n	частота	n	частота
Хворі на ХНЗЛ	45	9	0,100	81	0,900
Контрольна	93	186	0,086	170	0,914
<i>p</i>		<i>p</i> >0,05		<i>p</i> >0,05	

Примітка: значення частот алелів представлені у вигляді пропорції згідно із законом Харді-Вайнберга.

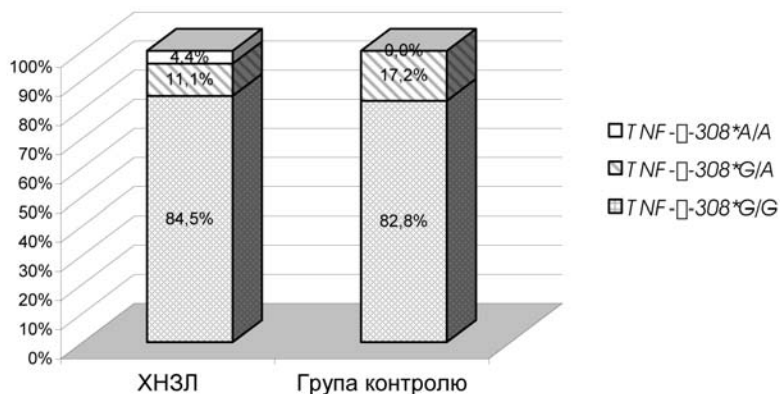


Рис. 10. Розподілення генотипів за геном TNF- α у осіб хворих на ХНЗЛ та в контрольній групі

рами — на рисунку 9. В групі хворих з ознаками пневмофіброзу тільки 1 особа мала генотип TNF- α -308*A/A (1,4 %), 14 осіб (19,7 %) — генотип TNF- α -308*G/A та 56 осіб (78,9 %) були носіями TNF- α -308*G/G генотипу. Для контрольної групи частоти зазначених генотипів становили відповідно: 0 %, 17,2 % та 82,8 %. При обчисленні результатів за критерієм Фішера-Ірвіна не було знай-

дено статистично вірогідної різниці у розподіленні частот для жодного з перерахованих алелів та генотипів ($p > 0,05$).

Частота розповсюдження алелів TNF- α -308*A та TNF- α -308*G серед осіб хворих на ХНЗЛ у порівнянні з контролем також не мала статистично вірогідної різниці (табл. 4).

Результати аналізу розподілення генотипів TNF- α -308*A/A, TNF- α -

308*A/G та TNF- α -308*G/G представлені на рисунку 10. Серед осіб групи ХНЗЛ було виявлено 2 гомозиготи за алелем А (4,4 %), 38 гомозигот за алелем G (84,5 %) та 5 осіб з генотипом А/G (11,1 %). У групі контролю жодна особа не мала генотипу А/А, 78 осіб були носіями генотипу G/G (частота 82,8 %) та 16 осіб були гетерозиготами з генотипом А/G (частота 17,2 %) (рис. 10)

Незначна різниця між описаною частотою генотипів у хворих на ХНЗЛ та осіб контрольної групи була статистично невірогідною.

Отже, у проведеному дослідженні частоти виявлення генотипів TNF- α -308*A/A, TNF- α -308*A/G та TNF- α -308*G/G у групах хворих та в контрольних групах майже не відрізнялись, що свідчить про відсутність зв'язку вказаних генотипів з ризиком розвитку пневмофіброзу або ХНЗЛ. Враховуючи цей факт, а також незначні розбіжності між частотою розподілення алелів А і G, можна зробити висновок про відсутність впливу розглянутих поліморфізмів на патогенез зазначеної патології.

Ця інформація має бути врахована при подальших дослідженнях щодо визначення біомаркерів спадкової схильності до розвитку пневмофіброзу та ХНЗЛ у працівників азбоцементних підприємств.

У результаті різноманітних комбінацій генотипів за генами GSTT1, GSTM1 та TNF- α утворюється 24 різні сполучення, що у деяких асоціаціях можуть, доповнюючи одне одного, сприяти розвитку досліджуваних нами захворювань. У таблиці 5 представлено розподілення частот генотипів за генами GSTT1, GSTM1 та TNF- α .

Незважаючи на велику кількість алельних варіантів, статистично вірогідна різниця між частотами розподілення генотипів у групах хворих на ХНЗЛ або фіброз та контрольних групах була виявлена лише для двох генотипів. А саме:

1. Генотип GSTT1(+); GSTM1(-/-); TNF- α -308*G/G був визначений у 20 осіб серед хворих з ознаками фіброзу, що становило 28,2 %. А у контрольній групі зазначений генотип мали 30 осіб (частота 46,8 %). Величина χ^2 ($\chi^2=4,28$, $p=0,039$) свідчить про статистично вірогідну різницю.

2. Генотип GSTT1(-/-); GSTM1(-/-); TNF- α -308*G/G мали

Розподілення частот генотипів за генами GSTT1, GSTM1 та TNF- α у осіб з ознаками фіброзу або ХНЗЛ та в контрольних групах

Генотипи	Обстежені групи			
	Хворі на ХНЗЛ, кількість осіб (частота генотипу, %)	Група контролю для ХНЗЛ, кількість осіб (частота генотипу, %)	Особі з ознаками фіброзу, кількість осіб (частота генотипу, %)	Група контролю для фіброзу, кількість осіб (частота генотипу, %)
GSTT1;TNF-308				
(+);A/A	1 (2,2)	0 (0)	1 (1,4)	0 (0)
(-/-);A/A	1 (2,2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
(+);A/G	5 (11,1)	14 (15,1)	12 (16,9)	9 (14,1)
(-/-);A/G	0 (0)	2 (2,2)	2 (2,8)	2 (3,1)
(+);G/G	28 (62,3)	64 (68,7)	47 (66,2)	44 (68,7)
(-/-);G/G	10 (22,2)	13 (14,0)	9 (12,7)	9 (14,1)
GSTM1;TNF-308				
(+);A/A	1 (2,2)	0 (0)	1 (1,4)	0 (0)
(-/-);A/A	1 (2,2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
(+);A/G	1 (2,2)	7 (7,5)	8 (11,3)	4 (6,3)
(-/-);A/G	4 (9,0)	9 (9,7)	6 (8,5)	7 (10,9)
(+);G/G	23 (51,1)	38 (40,9)	30 (42,2)	22 (34,4)
(-/-);G/G	15 (33,3)	39 (41,9)	26 (36,6)	31 (48,4)
GSTT1;GSTM1;TNF-308				
(+);(+);A/A	1 (2,2)	0 (0)	1 (1,4)	0 (0)
(+);(-/-);A/A	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
(-/-);(+);A/A	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
(-/-);(-/-);A/A	1 (2,2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
(+);(+);A/G	1 (2,2)	6 (6,5)	7 (9,9)	3 (4,7)
(+);(-/-);A/G	4 (9,0)	8 (8,6)	5 (7,0)	6 (9,4)
(-/-);(+);A/G	0 (0)	1 (1,1)	1 (1,4)	1 (1,6)
(-/-);(-/-);A/G	0 (0)	1 (1,1)	1 (1,4)	1 (1,6)
(+);(+);G/G	18 (40,0)	26 (28,0)	27 (38,0)	14 (21,8)
(+);(-/-);G/G	10 (22,2)	38 (40,8)	20 (28,2) *	30 (46,8)
(-/-);(+);G/G	5 (11,1)	12 (12,8)	3 (4,2)	8 (12,5)
(-/-);(-/-);G/G	5 (11,1) *	1 (1,1)	6 (8,5)	1 (1,6)

5 (11,1 %) хворих на ХНЗЛ працівників та 1 (1,1 %) особа з контрольної групи. Статистична вірогідність різниці між частотами підтверджена за критерієм Фішера-Ірвіна ($p=0,014$).

Проте, у даному випадку різниця між частотами означених комбінованих генотипів у групах хворих на ХНЗЛ або фіброз та контрольних груп обумовлена різницею у частотах, що були отримані нами та описані вище для генотипів GSTT1(+);GSTM1(-/-) і GSTT1(-/-);GSTM1(-/-), тому генотипи GSTT1(+); GSTM1(-/-); TNF- α -308*G/G та GSTT1(-/-);GSTM1(-/-); TNF- α -308*G/G не можуть бути маркерами резистентності до роз-

витку пневмофіброзу або схильності до ХНЗЛ.

Висновки

1. Частоти генотипів TNF- α -308*A/A, TNF- α -308*A/G, TNF- α -308*G/G у групах пацієнтів з ознаками пневмофіброзу та хворих на ХНЗЛ робітників істотно не відрізнялись від частот даних генотипів у групах контролю ($p>0,05$). Частоти генотипів за генами GSTT1(-/-) та GSTM1(-/-) також статистично вірогідно не відрізнялись у обстежених групах ($p>0,05$), що вказує на відсутність асоціації між генотипами TNF- α -308*A/A, TNF- α -308*A/G, TNF- α -308*G/G, GSTT1(-/-) і GSTM1

(-/-) та ризиком розвитку патології бронхолегеневої системи від впливу пилу хризотилового азбесту.

- Аналіз частот комбінованих генотипів показав, що генотип GSTT1(+);GSTM1(+) є фактором ризику розвитку пневмофіброзу у працівників азбоцементних підприємств ($p=0,011$), а генотип GSTT1(+);GSTM1(-/-) асоціюється з резистентністю до розвитку даної патології ($p=0,023$).
- Встановлено, що носійство генотипу GSTT1(-/-);GSTM1(-/-) статистично вірогідно ($p=0,025$) асоціюється з ризиком розвитку ХНЗЛ при впливі пилу хризотилового азбесту.

1. Баранів В.С. "Гени схильності" і генетичний паспорт / В.С. Баранів, М.В. Асєєв, В.Е. Баранова // Природа. — 1999, № 3. — С. 13 — 17.
2. Kamp D.W. The molecular basis of asbestos induced lung injury / D.W. Kamp, S.A. Weitzman // Thorax. — 1999. — Vol. 54. — P. 638 — 652.
3. Bernstein D.M. The biopersistence of canadian chrysotile asbestos following inhalation / D.M. Bernstein, R. Rogers, P. Smith // Inhal. Toxicol. — 2003. — Vol. 15, № 13. — P.1247 — 1274.
4. Strange R.C. Glutathione-S-transferase: genetics and role in toxicology — a review / R.C. Strange, P.W. Jones, A.A. Fryer // Toxicol Lett. — 2000. — Vol. 112 — 113. — P. 357 — 363.
5. Effect of TNF and LTA polymorphisms on biological markers of response to oxidative stimuli in coal miners: a model of gene-environment interaction. Tumour necrosis factor and lymphotoxin alpha / R. Nadif, A. Jedlicka, M. Mintz [et al.] // J. Med. Genet. — 2003 — Vol. 40, № 2. — P. 96 — 103.
6. A profibrotic function of IL-12p40 in experimental pulmonary fibrosis / F. Huaux, M. Arras, D. Tomasi [et al.] // J. Immunol. — 2002. — Vol. 169, № 5. — P. 2653 — 2661.
7. Izmerov N.F. Genetic-biochemical criteria for individual sensitivity in development of occupational bronchopulmonary diseases / N.F. Izmerov, L.P. Kuzmina, L.A. Tarasova // Cent. Eur. J. Public Health. — 2002. — Vol. 10, № 1-2. — P.35 — 41.
8. Detection of the GSTM1*0 allele by long polymerase chain reaction / R. Kerb, J. Brockmoller, C. Sachse // Pharmacogenetics. — 1999. — № 9. — P. 89 — 94.
9. D'Alfonso S. An intragenic polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha (TNFA) chain-encoding gene / S. D'Alfonso, P.M. Richiardi // Immunogenetics. — 1996. — Vol. 44. — P. 321 — 322.
10. Polymorphism in the promoter region of tumor necrosis factor-alpha gene is associated with severe meliodosis / S. Nuntayanuwat, T. Dharakul, W. Chaowagul [et al.] // Hum. Immunol. — 1999. — Vol. 60. — P. 979 — 983.
11. Association of tumor necrosis factor- α and interleukin-1 gene polymorphisms with silicosis / B.Yucesoy, Vallyathan Van, P.Douglas [et al.] // Toxicology and Applied Pharmacology. — 2001. — Vol. 173. — P. 75 — 82.
12. П'ятниця-Горпинченко Н.К. / Регулювання експозиційних доз пилу як засіб контрольованого безпечного використання хризотилового азбесту / Н.К. П'ятниця-Горпинченко // Український журнал з проблем медицини праці. — 2008, №1 (13). — С. 48 — 53.
13. A multiplex polymerase chain reaction protocol for the simultaneously analysis of the Glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 polymorphisms / M. Arand, R. Muhlbauer, F. Oesch [et al.] // Analytical Biochemistry. — 1996. — Vol. 236. — P. 184 — 186.
14. Lung cancer risk in nonsmokers and GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphism / N. Malats, F.V. Camus-Radon, F. Nyberg [et al.] // Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. — 2000. — Vol. 9 — P. 827 — 833.

Н.В. Жураховская, Т.А. Остапенко, А.В. Басанец

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ GST И TNF- α С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ПНЕВМОФИБРОЗА И ХНЗЛ У РАБОЧИХ АСБОЦЕМЕНТНЫХ ПРЕПРИЯТИЙ УКРАИНЫ

В статье приведены результаты изучения ассоциации развития пневмофиброза и хронических неспецифических заболеваний легких (ХНЗЛ) от воздействия пыли хризотилового асбеста с генотипами по генам GSTM1 и GSTT1, и TNF- α . Молекулярно-генетические исследования были проведены у рабочих, которые контактируют с хризотил содержащей пылью с признаками пневмофиброза, ХНЗЛ, и рабочих без бронхолегочной патологии.

Установлено, что генотип GSTT1(+);GSTM1(+) является фактором риска развития пневмофиброза у рабочих асбоцементных производств, а генотип GSTT1(+);GSTM1(-/-) ассоциируется с резистентностью к развитию данной патологии. Доказано, что носительство генотипа GSTT1(-/-);GSTM1(-/-) статистически достоверно ассоциируется с риском развития ХНЗЛ при воздействии пыли хризотилового асбеста.

Ключевые слова: хризотильный асбест, ХНЗЛ, фиброз, резистентность, предрасположенность.

N.V Zhurakhivska., T.A. Ostapenko, A.V. Basanets

ANALYSIS OF POLYMORPHISM GST AND TNF- α ASSOCIATION WITH RISK OF THE DEVELOPMENT OF PULMONARY FIBROSIS AND CHRONIC NONSPECIFIC PULMONARY DISEASES IN WORKERS OF ASBESTOS-CEMENT ENTERPRISES OF UKRAINE

The results of study association of the development of pulmonary fibrosis and chronic nonspecific pulmonary diseases from exposition of chrysotil asbestos dust with genotypes GSTM1, GSTT1 and TNF- α gene - are presented in the article. Molecular-genetic investigations were made in workers with pulmonary fibrosis, chronic nonspecific pulmonary diseases and workers without diseases of bronchial-pulmonary system.

We determined that the genotype GSTT1(+);GSTM1(+) as a factor of risk of development of pulmonary fibrosis in workers of asbestos-cement enterprises, but genotype GSTT1(+);GSTM1(-/-) associated with resistance for development of this pathologic. The genotype GSTT1(-/-);GSTM1(-/-) associated with risk of the development of chronic nonspecific pulmonary diseases from exposition of chrysotil asbestos dust.

Key words: chrysotile asbestos, chronic nonspecific pulmonary disease, pulmonary fibrosis, resistance, predisposition.

Надійшла до редакції: 24.02.10