

**ISSN:** 2308-6513

**E-ISSN:** 2310-3434

**Founder:** Academic Publishing House *Researcher*

**DOI:** 10.13187/issn.2308-6513

Has been issued since 2013.

**European Journal of Medicine**



UDC 575.113+613.952+574.2/477.86

## **Peculiarities of Polymorphism in Glutathione S-transferase Genes in Newborns From Different Ecological Zones of Ivano-Frankivsk region**

<sup>1</sup>Natalia H. Horovenko

<sup>2</sup>Svitlana V. Podolska

<sup>3</sup>Zoryana R. Kocherha

<sup>1</sup> National Medical Academy of Post-Graduate Education named after P.L. Shupyk, Ukraine

Dorogozhytska st. 9, Kyiv, 04112

Doctor of Medical Science

<sup>2</sup> National Medical Academy of Post-Graduate Education named after P.L. Shupyk, Ukraine

Dorogozhytska st. 9, Kyiv, 04112

PhD (Biology)

E-mail: svpodolskaya@mail.ru

<sup>3</sup> State Higher Educational Establishment «Ivano-Frankivsk National Medical University», Ukraine

Halytska st. 2, Ivano-Frankivsk, 76018

PhD

E-mail: zory72@mail.ru

**Abstract.** It has been established that the frequency of polymorphic variants of GSTM1 "+" genes was 43.70 % and the frequency of polymorphic variants of GSTM1 "-" genes made up 56.30 % correspondingly in all newborns in the region, without division into ecological zones. Speaking about GSTT1 genes the frequencies of polymorphic variants of GSTT1«+» and GSTT1«-» were 80.67 % and 19.33 % correspondingly. Positive micro-nucleus test was found in none of the carriers of GSTT1«-» polymorphic variant. GSTT1«+» allelic variant was found in all newborns with negative micro-nucleus test. 78.38 % predominance in associations of GSTM1«+»/GSTT1 genotypes is characteristic of newborns with negative micro-nucleus test. Our studies have shown the diagnostic value of molecular-genetic testing in conjunction with the micro-nucleus testing for predicting newborns' genome sensitivity to total exposure of environmental factors.

**Keywords:** allelic polymorphism; detoxication of xenobiotics; micro-nucleus test; newborns; ecological zones.

### **Введение.**

Одним из последствий влияния загрязнения окружающей среды является ухудшение состояния здоровья новорожденных. Чувствительность организма ребенка к действию экзогенных факторов на стадии внутриутробного развития и в первые 6 месяцев жизни имеет значительные различия с реакцией организма на антропогенную нагрузку в другие возрастные периоды: «Новорожденные и дети не маленькие взрослые», для большинства химических веществ показано, что физиологические особенности, в том числе и незрелость системы биотрансформации ксенобиотиков ребенка, как правило, являются причиной повышения концентрации токсиканта в крови и удлинения периода выведения вещества из организма по сравнению со взрослыми [1, 2]. Многочисленными исследованиями доказано, что токсические воздействия во время внутриутробного и неонатального периодов вызывают нарушение адаптивных механизмов, патологические изменения в постнатальном

морфогенезе, влияют на частоту мутаций, риск развития онкологической патологии и состояние здоровья в дальнейшей жизни [3, 4, 5]. В ряде случаев новорожденные и дети первого года жизни могут быть более восприимчивы к токсическому действию факторов окружающей среды и фармакологическому воздействию, чем дети более старшего возраста и взрослые, однако, информация о различиях генотоксических эффектов, связанных с возрастом, полом и состоянием здоровья ограничена, хотя имеет большое значение для разработки системы коррекции последствий повреждающего действия факторов окружающей среды. Микроядерный тест (МЯ) является достаточно новым, но уже доказано эффективным методом мониторинга внешнесредовых воздействий, и довольно давно используется на культивируемых лимфоцитах для обследования в первую очередь у взрослых, как в рамках проекта Human Micronucleus Biomonitoring (HUMN.org), так и в других экологических исследованиях [6, 7, 8]. Исследованиями разных авторов было показано, что возраст, пол, диета и статус курения являются важными факторами, влияющими на наблюдаемую частоту МЯ в культивированных лимфоцитах человека. Кроме того, проспективные исследования продемонстрировали, что средняя или высокая частота МЯ была ассоциирована с повышенным риском возникновения рака через несколько лет [8]. Из этических соображений на педиатрических когортах более приемлемыми являются исследования, выполненные на эпителиальных клетках буккального эпителия слизистой оболочки полости рта, однако таких данных, особенно для новорожденных и детей первого года жизни, пока немного. В целом по результатам опубликованных исследований можно сделать вывод, что частота МЯ является относительно низкой у новорожденных и увеличивается с возрастом, влияние загрязняющих факторов окружающей среды и радиационного облучения приводит к увеличению частоты МЯ. При исследовании частот МЯ у детей в возрасте от 0 до 18 лет не было обнаружено достоверной разницы по полу, однако процент клеток с микроядрами у девочек по сравнению с мальчиками был выше [9, 10]. Разработка стратегии профилактики заболеваний на основе снижения частоты МЯ, одного из наиболее проверенных биомаркеров повреждения ДНК у человека, требует учета всех доказанных значимых факторов, таких как питание, количество макро- и микроэлементов в диете, влияния рутинных радиологических медицинских осмотров, в том числе компьютерной томографии, воздействия ультрафиолетового излучения и др. [11]. Отличие результатов, полученных в различных исследованиях, может быть объяснено генетическими особенностями обследованных лиц. Проведенные исследования продемонстрировали зависимость высокой частоты МЯ от статуса курения только у тех курильщиков, которые имели рак легких, что было ассоциировано с определенными полиморфными генетическими маркерами [12]. Проанализировано семьдесят два исследования, посвященные измерению частоты МЯ в лимфоцитах периферической крови или буккального эпителия и зависимости этих показателей от полиморфизма генов, продукты которых участвуют в метаболизме ксенобиотиков, репарации ДНК и фолатном метаболизме. Была показана роль полиморфных вариантов генов EPHX, GSTT1 и GSTM1 в модуляции частоты хромосомных повреждений у лиц, подвергшихся воздействию генотоксических агентов [13].

Исследования последних лет показали, что функциональная активность ферментов системы детоксикации ксенобиотиков влияет на чувствительность организма к действию негативных факторов окружающей среды и часто ассоциирована с риском развития целого ряда заболеваний. Важную роль в работе системы детоксикации ксенобиотиков играют ферменты семейства глутатион-S-трансфераз (GST), осуществляющие конъюгацию сульфгидрильной группы глутатиона с ксенобиотиками или их метаболитами, образовавшимися в первой фазе биотрансформации. Гены GSTM1 и GSTT1, кодирующие соответствующие ферменты, наиболее часто изучаются в связи с ассоциациями с развитием различных заболеваний. Наиболее частыми полиморфными вариантами для генов GSTT1 и GSTM1 являются большие делеции, которые ассоциированы с отсутствием ферментативной активности, что делает носителей таких аллелей более чувствительными к неблагоприятным экзогенным воздействиям [14, 15]. Таким образом, изучение аллельного полиморфизма генов, отвечающих за активность ферментов, обеспечивающих детоксикацию ксенобиотиков, при проведении микроядерного теста, как показателя

генотоксического действия факторов окружающей среды, приобретает первостепенное значение.

### **Материал и методы.**

Было обследовано 119 новорожденных из разных районов Ивано-Франковской области, из них 57 здоровых доношенных детей и 62 новорожденных с недоношенностью или задержкой внутриутробного развития (ЗВУР). Постнатальную диагностику задержки внутриутробного развития плода и недоношенности осуществляли на основании клинических данных, антропометрических показателей и гестационного возраста [16]. Деление на экологические зоны осуществлено на основе экологического паспорта области и данных исследований экологического состояния Украины [<http://www.menr.gov.ua/content/article/5982>] с выделением зоны умеренного антропогенного воздействия и зоны экологического неблагополучия.

Для определения индивидуальной реакции генома новорожденного на возможный токсическое воздействие использовали микроядерный тест (МЯ). Материалом для исследования послужили эпителиальные клетки буккального эпителия слизистой оболочки среднего слоя полости рта (СОПР). Поскольку самая насыщенность РНК ядрышек отмечается в клетках базального и шиповатого слоев, в отличие от поверхностного, клетки последнего в мазке не учитывались. Повторного взятия соскоба не допускали, чтобы не попадали клетки глубоких слоев, которые имеют признаки недифференцированных эпителиоцитов. Забор материала, изготовления препаратов с последующим окрашиванием по Фельгену в модификации, которая позволяет провести дифференциальное окрашивание ДНК ядра и РНК ядрышек, осуществляли по соответствующей методике [рационализаторское предложение № 30/ 2319, 1997]. Для анализа структурных изменений хромосомного аппарата с МЯ анализировали не менее 500 клеток от каждого ребенка.

Материалом для молекулярно-генетического исследования была пуповинная кровь новорожденных. Аллельный полиморфизм GSTT1 и GSTM1 генов GSTs определяли с использованием модифицированного протокола мультиплексной полимеразной цепной реакции [17]. Амплификацию выделенной ДНК проводили в амплификационной смеси с тремя парами специфических праймеров в автоматическом термоциклере Applied Biosystems 2700 (Великобритания). Амплифицированные фрагменты распределяли с использованием горизонтального электрофореза в 2 % агарозном геле с окраской бромистым этидием. Анализировали полученные ампликоны с помощью трансиллюминатора «Биоком», с последующим архивированием в персональном компьютере с помощью видеосистемы «ViTran» (Российская Федерация). Гомозиготному состоянию делеционного аллеля («нулевому генотипу») соответствовало отсутствие соответствующих амплификатов, что свидетельствовало о наличии генотипов GSTT1«-» и GSTM1«-». Для статистического анализа полученных данных использовали критерий  $\chi^2$  Пирсона, при условии, когда объем выборки не превышал 10 наблюдений, применяли критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса (Программа Statistika 10.0, StatSoft Inc.), и отношение шансов (Odds Ratio (OR)).

### **Результаты исследований и их обсуждение.**

В результате анализа полученных данных установлено, что у всех новорожденных области, без разделения на экологические зоны, частота полиморфного варианта GSTM1«+» составила 43,70 %, частота полиморфного варианта GSTM1«-» - 56,30 %. Для гена GSTT1 частоты полиморфных вариантов GSTT1«+» и GSTT1«-» составили 80,67 % и 19,33 % соответственно, что не отличается от частот, характерных для населения Украины [18]. При сравнении частот аллелей генов GSTM1 и GSTT1 в группах новорожденных из зоны умеренного антропогенного воздействия и зоны экологического неблагополучия наблюдалось повышение частот аллельных вариантов GSTM1«+» и GSTT1«-» в зоне экологического неблагополучия, однако различия не были достоверными (рисунки 1, 2).

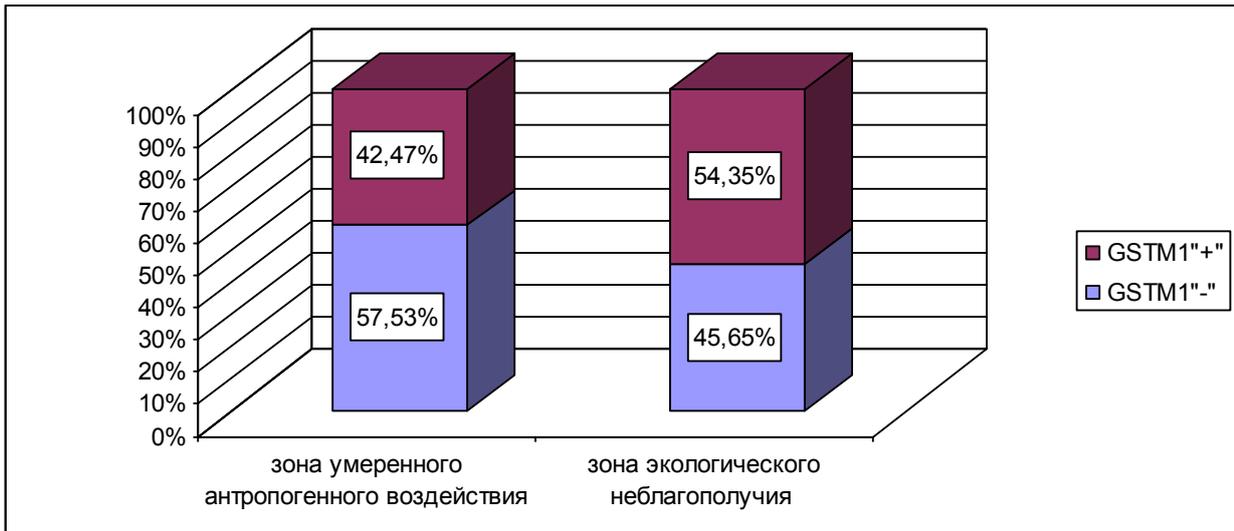


Рис. 1. Частота аллелей гена GSTM1 у новорожденных Прикарпатья из разных экологических зон

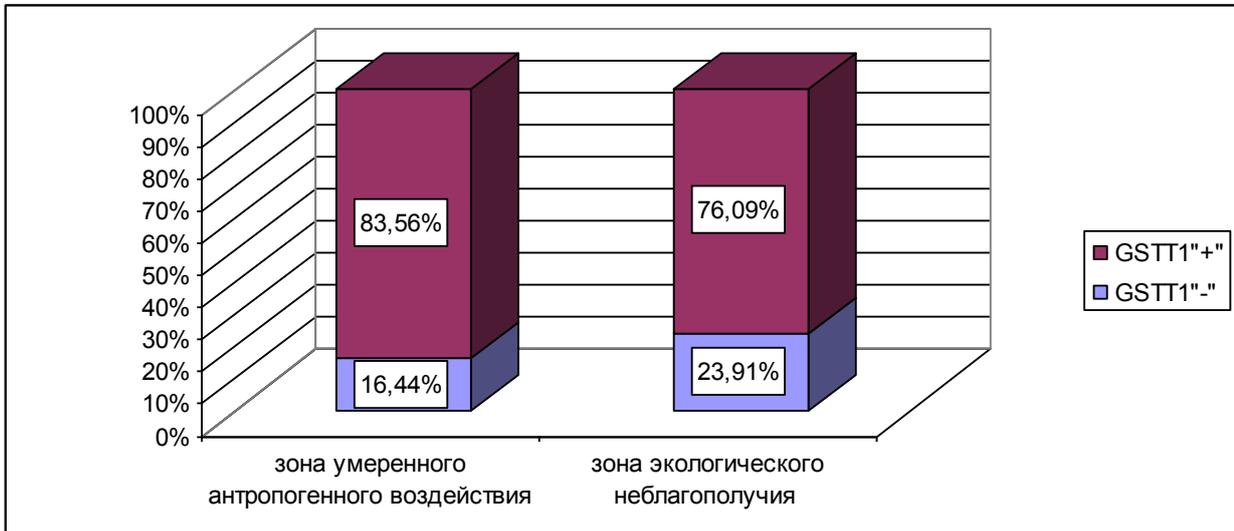


Рис. 2. Частота аллелей гена GSTT1 у новорожденных Прикарпатья из разных экологических зон

При сравнении частот аллелей генов GSTM1 и GSTT1 в группах здоровых новорожденных и новорожденных со ЗВУР из зоны умеренного антропогенного воздействия и зоны экологического неблагополучия достоверной разницы также обнаружено не было. Были обнаружены высокодостоверные различия между частотами аллелей генов GSTM1 и GSTT1 при сравнении групп новорожденных, у которых микроядерный тест был положительным или отрицательным.

Таблица 1.

**Распределение частот аллельных вариантов генов GSTM1, GSTT1 у новорожденных Прикарпатья в зависимости от наличия или отсутствия микроядер в исследуемом материале**

Ген	Генотип	Микроядра выявлены N=82		Микроядра не выявлены N=37		$\chi^2$	OR	95%CI	p
		n	%	n	%				
GSTM1	GSTM1«-»	59	71,95	8	21,62	24,24*	9,30	3,71-23,31	0,00001
	GSTM1«+»	23	28,05	29	78,38	24,24*	0,11	0,04-0,27	0,00001

GSTT1	GSTT1 «-»	23	28,05	0	0	11,13*	-	-	0,0009
	GSTT1 «+»	59	71,95	37	100	11,13*	-	-	0,0009

\* - различия достоверны.

Положительный микроядерный тест у новорожденных был ассоциирован с нефункциональным аллелем гена GSTM1 – 71,95 % случаев по сравнению с 21,62 % при отрицательном микроядерных тестах, различия высокодостоверны (табл. 1). При изучении ассоциаций аллельных вариантов гена GSTT1 с положительным или отрицательным микроядерных тестом ни в одном случае не был выявлен положительный микроядерный тест у носителей нефункционального аллеля гена GSTT1, у всех новорожденных с отрицательным микроядерных тестом был обнаружен аллельный вариант GSTT1«+», различия достоверны. Эта тенденция сохранялась и для сочетаний генотипов (табл. 2). У новорожденных с отрицательным микроядерных тестом в 78,38 % случаев выявили сочетание генотипов GSTM1«+»/GSTT1«+», различия высокодостоверны. Для сочетания генотипов GSTM1«-»/GSTT1«+» разница также была достоверной. Сочетания генотипов GSTM1«+»/GSTT1«-» и GSTM1«-»/GSTT1«-» у новорожденных с отрицательным микроядерным тестом не были выявлены.

Таблица 2.

**Распределение частот сочетаний аллельных вариантов генов GSTM1, GSTT1 у новорожденных Прикарпатья в зависимости от наличия или отсутствия микроядер**

Сочетание генотипов	Микроядра выявлены N=82		Микроядра не выявлены N=37		$\chi^2$	OR	95%CI	p
	n	%	n	%				
GSTM1«+»/ GSTT1«+»	10	12,20	29	78,38	43,73*	0,04	0,01-0,11	0,00001
GSTM1«+»/ GSTT1«-»	13	15,85	0	0	5,06*	-	-	0,0245
GSTM1«-»/ GSTT1«+»	49	59,75	8	21,62	13,37*	5,38	2,19-13,22	0,0003
GSTM1«-»/ GSTT1«-»	10	12,20	0	0	3,47	-	-	0,0625

\* - различия достоверны.

При сравнении частот аллельных вариантов генов GSTM1 и GSTT1 у новорожденных из зон умеренного антропогенного воздействия и экологического неблагополучия в зависимости от наличия или отсутствия микроядер выявленные нами зависимости сохранялись. Положительный микроядерный тест был ассоциирован с генотипом GSTM1 «-» и у новорожденных и из зоны умеренного антропогенного воздействия, различия достоверны и из зоны экологического неблагополучия, различия достоверны, тогда как у новорожденных с отрицательным микроядерных тестом обнаруживали только генотип GSTT1«+» [ $\chi^2=5,36$ ;  $p=0,0206$ ] и [ $\chi^2=4,01$ ;  $p=0,0452$ ] соответственно (табл. 3, 5). У новорожденных с отрицательным микроядерных тестом и из зоны умеренного антропогенного воздействия и из зоны экологического неблагополучия в 75,00 % и 84,69 % случаев соответственно выявили сочетание генотипов GSTM1«+»/GSTT1«+», различия высокодостоверны [ $\chi^2=28,41$ ;  $p=0,00001$ ] и [ $\chi^2=16,89$ ;  $p=0,00001$ ]. Достоверные отличия для сочетания генотипов GSTM1«-»/GSTT1«+» были выявлены только для зоны умеренного антропогенного воздействия]. Сочетания генотипов GSTM1«+»/GSTT1«-» и GSTM1 «-»

/GSTT1«-» у новорожденных с отрицательным микроядерным тестом не были выявлены (табл. 4, 6).

Таблица 3.

**Распределение частот аллельных вариантов генов GSTM1, GSTT1 у новорожденных Прикарпатья из зоны умеренного антропогенного воздействия в зависимости от наличия или отсутствия микроядер**

Ген	Генотип	Микроядра выявлены N=49		Микроядра не выявлены N=24		$\chi^2$	OR	95%CI	p
		n	%	n	%				
GSTM1	GSTM1«-»	36	73,47	6	25,00	13,57*	8,31	2,71-25,48	0,0002
	GSTM1«+»	13	26,53	18	75,00	13,57*	0,12	0,04-0,37	0,0002
GSTT1	GSTT1«-»	12	24,49	0	0	5,36*	-	-	0,0206
	GSTT1«+»	37	75,51	24	100	5,36*	-	-	0,0206

\* - различия достоверны.

Таблица 4.

**Распределение частот сочетаний аллельных вариантов генов GSTM1, GSTT1 у новорожденных Прикарпатья из зоны умеренного антропогенного воздействия в зависимости от наличия или отсутствия микроядер**

Сочетание генотипов	Микроядра выявлены N=49		Микроядра не выявлены N=24		$\chi^2$	OR	95% CI	p
	n	%	n	%				
GSTM1«+»/ GSTT1«+»	5	10,20	18	75,00	28,41*	-	-	0,00001
GSTM1«+»/ GSTT1«-»	8	16,33	0	0	2,89	-	-	0,0893
GSTM1«-»/ GSTT1«+»	32	65,31	6	25,00	8,93*	-	-	0,0028
GSTM1«-»/ GSTT1«-»	4	8,16	0	0	0,80	-	-	0,3722

\*- различия достоверны.

У новорожденных со ЗВУР и недоношенностью положительный микроядерный тест был ассоциирован с нефункциональным аллелем гена GSTM1 - 75,47 % случаев по сравнению с 0 % при отрицательном микроядерном тесте, различия достоверны (рис. 3). Для гена GSTT1 достоверные отличия выявлены не были. Достоверные отличия в этой группе выявлены для сочетания генотипов GSTM1«+»/GSTT1«+» и GSTM1«-»/GSTT1«+» (рис. 4).

Формирование МЯ широко используется в молекулярной эпидемиологии в качестве достоверных биомаркеров повреждения хромосом, нестабильности генома, риска развития патологических процессов. Доказано, что возникновение МЯ – это фенотипическое проявление хромосомной нестабильности, изменения жизнеспособности клетки, вызванное генетическими дефектами и/или реакцией на воздействия генотоксичных агентов.

Таблица 5

**Распределение частот аллельных вариантов генов GSTM1, GSTT1 у новорожденных Прикарпатья из зоны экологического неблагополучия в зависимости от наличия или отсутствия микроядер**

Ген	Генотип	Микроядра выявлены N=33		Микроядра не выявлены N=13		$\chi^2$	OR	95%CI	p
		n	%	n	%				
GSTM1	GSTM1«-»	23	69,70	2	15,38	9,01*	12,65	2,36-67,85	0,0027
	GSTM1«+»	10	30,30	11	84,62	9,01*	0,08	0,01-0,42	0,0027
GSTT1	GSTT1 «-»	11	33,33	0	0	4,01*	-	-	0,0452
	GSTT1 «+»	22	66,67	13	100	4,01*	-	-	0,0452

\* - различия достоверны.

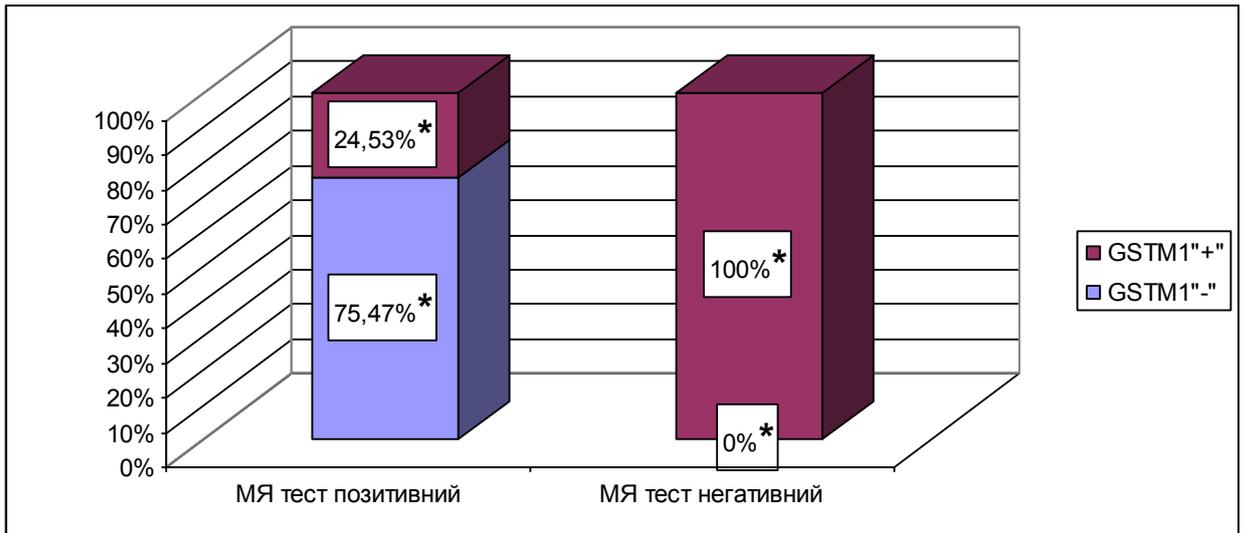
На сегодняшний день многочисленные исследования включают подсчет микроядер для измерения повреждения ДНК и генотоксичности почти всех химических и радиоактивных веществ. [19, 20, 21]. Активно исследуются полиморфные генетические маркеры, в частности, аллельные варианты генов системы детоксикации ксенобиотиков, которые могут влиять на реализацию токсических воздействий на уровне клетки и, таким образом, объяснить механизм индивидуального ответа организма на токсическое воздействие окружающей среды.

Таблица 6

**Распределение частот сочетаний аллельных вариантов генов GSTM1, GSTT1 у новорожденных Прикарпатья из зоны экологического неблагополучия в зависимости от наличия или отсутствия микроядер**

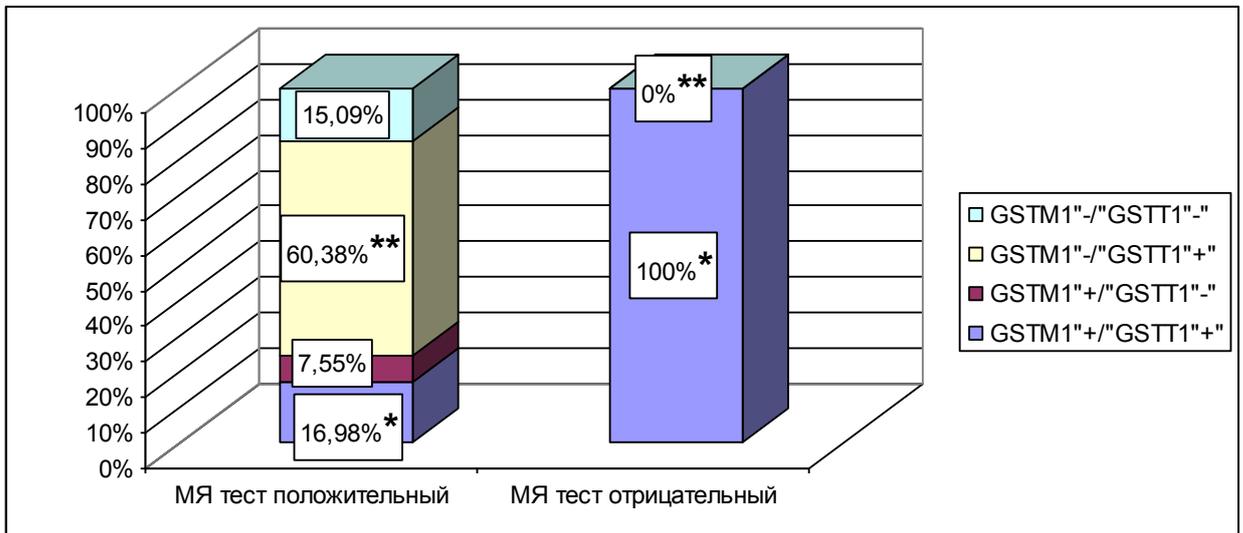
Сочетание генотипов	Микроядра выявлены N=33		Микроядра не выявлены N=13		$\chi^2$	OR	95% CI	p
	n	%	n	%				
GSTM1«+»/ GSTT1«+»	5	15,15	11	84,69	16,89*	-	-	0,00001
GSTM1«+»/ GSTT1«-»	5	15,15	0	0	0,92	-	-	0,3368
GSTM1«-»/ GSTT1«+»	17	51,52	2	15,38	3,64	-	-	0,0564
GSTM1«-»/ GSTT1«-»	6	18,18	0	0	1,35	-	-	0,2450

\* - различия достоверны.



\* - различия достоверны,  $\chi^2 = 15,99$ ;  $p = 0,0001$ .

Рис. 3. Распределение частот аллельных вариантов гена GSTM1 у новорожденных Прикарпатья, которые были недоношенными или имели ЗВУР, в зависимости от наличия или отсутствия микроядер



\* - различия достоверны,  $\chi^2 = 21,86$ ;  $p = 0,00001$ .

\*\* - различия достоверны,  $\chi^2 = 8,94$ ;  $p = 0,0028$ .

Рис. 4. Распределение частот сочетаний аллельных вариантов генов GSTM1, GSTT1 у новорожденных Прикарпатья, которые были недоношенными или имели ЗВУР в зависимости от наличия или отсутствия микроядер

Исследования ассоциаций полиморфизма генов GSTM1, GSTT1 и частоты МЯ на культивируемых лимфоцитах периферической крови взрослых людей, имеющих профессиональный контакт с известными или потенциально опасными вредными воздействиями (всего 644 лица), проводила группа авторов во главе с Kirsch-Volders M. [22]. Было обнаружено, что у носителей генотипа GSTT1«-» частота микроядер была достоверно ниже, но этот эффект менялся на противоположный с увеличением возраста.

Ильинских Н.Н. с соавторами (2011) исследовали полиморфные генетические маркеры и уровень цитогенетических нарушений в клетках буккального эпителия у 209 рабочих – нефтяников в возрасте от 21 до 39 лет, страдавших различными формами аллергического профессионального дерматита (АПД). 207 лиц с отсутствием АПД в анамнезе составили группу контроля. Было выявлено достоверно более высокое содержание эпителиоцитов с

микроядрами у носителей генотипа GSTM1«-» [23]. В другой работе этого же авторского коллектива при обследовании вахтовых рабочих-нефтяников Западной Сибири (333 обследованных) наблюдались четко выраженные различия в уровне цитогенетических aberrаций в клетках крови в зависимости от их генотипа. Было выявлено достоверно повышенное число клеток с хромосомными нарушениями у лиц с генотипом GSTM1«-», при сочетании генотипов GSTM1«-»/GSTT1«-» и GSTM1«-»/GSTT1«+». Среди наблюдаемых aberrаций наиболее часто встречались клетки с хроматидными фрагментами [24]. У лиц, имеющих делецию одновременно по генам GSTM1 и GSTT1, выявлено более высокий уровень хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов периферической крови при нагрузке митомицином С по сравнению с лимфоцитами испытуемых, имевших функционально активные гены [25].

Таким образом, показана зависимость уровня повреждения хромосомного аппарата от генотипа обследуемого по генам GSTM1 и GSTT1. Проведенные нами исследования доказали высокую диагностическую ценность молекулярно-генетического тестирования в сочетании с микроядерным тестом для прогнозирования чувствительности генома новорожденного к суммарному воздействию факторов окружающей среды. Отклонения во внутриутробном развитии плода, вызванные воздействиями факторов окружающей среды, влияют на возникновение перинатальных потерь и заболеваний, которые осложняют течение раннего неонатального периода и адаптацию в течение первого года жизни, влияют на состояние здоровья в последующие годы. Раннее выявление степени чувствительности организма новорожденного к повреждающему действию факторов окружающей среды позволит учитывать эти индивидуальные особенности в выборе стратегии лечения и профилактики.

### Выводы.

1. У всех новорожденных области, без разделения на экологические зоны, частота полиморфного варианта GSTM1«+» составляла 43,70%, частота полиморфного варианта GSTM1 «-» - 56,30 %;
2. Для гена GSTT1 частоты полиморфных вариантов GSTT1«+» и GSTT1«-» составляли 80,67 % и 19,33 % соответственно;
3. Частота микроядер в клетках эксфолиативного эпителия новорожденных была ассоциирована с генетическим полиморфизмом генов II фазы детоксикации ксенобиотиков;
4. Положительный микроядерный тест у новорожденных был ассоциирован с полиморфным вариантом GSTM1«-» - 71,95 % случаев по сравнению с 21,62 % при отрицательном микроядерном тесте [ $\chi^2=24,24$ ; OR=9,30 (3,71-23,31),  $p=0,00001$ ];
5. У носителей полиморфного варианта GSTT1«-» ни в одном случае не было выявлено положительного микроядерного теста, у всех новорожденных с отрицательным микроядерным тестом был обнаружен аллельный вариант GSTT1 «+» [ $\chi^2=11,13$ ;  $p=0,0009$ ];
6. У новорожденных с отрицательным микроядерным тестом в 78,38 % случаев была выявлена ассоциация генотипов GSTM1«+»/GSTT1«+» [ $\chi^2=43,73$ ; OR=0,04 (0,01-0,11),  $p=0,00001$ ];
7. Сочетания генотипов GSTM1«+»/GSTT1«-» и GSTM1«-»/GSTT1«-» у новорожденных с отрицательным микроядерным тестом не были обнаружены [ $\chi^2=5,06$ ;  $p=0,0245$ ] и [ $\chi^2=3,47$ ;  $p=0,0625$ ] соответственно.

### Примечания:

1. Children's health and the environment: public health issues and challenges for risk assessment / P.J. Landrigan, C.A. Kimmel, A. Correa, B. Eskenazi // Environ Health Perspect. 2004. Vol. 112, № 2. P. 257-265.
2. Scheuplein R. Differential sensitivity of children and adults to chemical toxicity / R. Scheuplein G. Charnley, M. Dourson. // I Biological basis. Regul. Toxicol. Pharmacol. 2002. Vol.35, № 3. P. 429-447.
3. Somers C.M. Air pollution and mutations in the germline: are humans at risk/ C. M. Somers, D. N. Cooper // Hum Genet. 2009. Vol. 125, № 2. P. 119-130.
4. Sharp N. P. Evidence for elevated mutation rates in low-quality genotypes / N.P. Sharp, A. F. Agrawal // Proc Natl Acad Sci U S A. 2012. Vol. 109, № 16. P. 6142-6146.

5. Lynch M. Rate, molecular spectrum, and consequences of human mutation / M. Lynch // Proc Natl Acad Sci U S A. 2010. Vol. 107, № 3. P. 961–968.
6. The HUMAN MicroNucleus Project: an international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. /M. Fenech, N. Holland, W. P. Chang [at al.] // Mutat Res. 1999. Vol. 428. P. 271–283.
7. The HUMN and HUMNxL international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells-past, present and future/ M. Fenech, N. Holland, E. Zeiger [at al.] // Mutagenesis. 2011. Vol. 26, № 1. P. 239-245.
8. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans / S. Bonassi, A. Znaor, M. Ceppi [at al.] // Carcinogenesis. 2007. Vol. 28, № 3. P. 625–631.
9. Micronuclei in neonates and children: effects of environmental, genetic, demographic and disease variables / N. Holland, A. Fucic, D. F. Merlo [at al.] // Mutagenesis. 2011. Vol. 26, № 1. P. 51–56.
10. Соболев М. В. Частота микроядер в клетках буккального эпителия у школьников Украины разного возраста и пола / М.В. Соболев, В.Ф. Безруков // Цитология и генетика. 2007. Т.41, № 4. С. 56–58.
11. Fenech M. The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes / M. Fenech, S. Bonassi // Mutagenesis. 2011. Vol. 26, № 1. P. 43–49.
12. Cytokinesis-blocked micronucleus assay as a novel biomarker for lung cancer risk / R.A. El-Zein, M. B. Schabath, C. J. Etzel [at al.] // Cancer Res. 2006. Vol. 66. P. 6449–6456.
13. Genetic polymorphisms and micronucleus formation: a review of the literature/ G. Iarmarcovai, S. Bonassi, A. Botta [at al.] // Mutat Res. 2008. Vol. 658, № 3. P. 215–233.
14. Glutathione transferases / J. D. Hayes, J. U. Flanagan, I. R. Jowsey [at al.] //Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2005. Vol. 45. P. 51–88.
15. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / Под общ. ред. В.С.Баранова. СПб., 2009. 527 с.
16. Наказ МОЗ України № 584 від 29.08.2006р. «Про затвердження Протоколу медичного догляду за новонародженою дитиною з малою масою тіла при народженні».
17. A multiplex polymerase chain reaction protocol for the simultaneous analysis of the glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 polymorphisms / M. Arand, R. Muhlbauer, J. Hengstler [et al.] // Anal. Biochem. 1996. Vol. 236. P. 184–186.
18. Горovenko Н.Г. Роль спадкових факторів у розвитку перинатальної патології новонароджених / Н.Г. Горovenko, З.І. Россоха, С.В. Подольська // Сучасна педіатрія. 2007. Т.14, №1. С. 162–168.
19. Perera F. Prenatal environmental exposures, epigenetics, and disease/ F. Perera, J. Herbstman // Reprod Toxicol. 2011. Vol. 31, №3. P. 363–373.
20. Сычева Л.П. Применение полиорганного микроядерного теста в эколого-генетических исследованиях / Л.П. Сычева, В.С. Журков, Ю.А. Рахманин [и др.]//Полиорганний микроядерний тест в еколого-гігієнічних дослідженнях / Под ред. Ю.А. Рахманіна, Л.П. Сычевой. М.: Гениус, 2007. С. 277–286.
21. Biomonitoring of genotoxicity using micronuclei assay in native population of *Astyanax jacuhiensis* (Characiformes: Characidae) at sites under petrochemical influence/ C. T. De Lemos, F. de A. Irango., N. C. de Oliveira [at al.]// Sci Total Environ. 2008: № 406, (1–2). P. 337–343.
22. The effects of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms on micronucleus frequencies in human lymphocytes in vivo/ M. Kirsch-Volders, R.A. Mateuca, M. Roelants [at al.] // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2006. Vol. 15, №5. P. 1038–1042.
23. Ильинских Н. Н. Роль мутаций в генах FLG, GSTM1 и цитогенетических аберраций в развитии аллергического профессионального дерматита у рабочих-нефтяников севера Сибири / Н.Н. Ильинских, Б.В. Шилов, И.Н. Ильинских // Российский аллергологический журнал. 2011. № 4. С. 40–44.
24. Влияние генетического полиморфизма на цитогенетические последствия условий труда у рабочих на нефтепромыслах Сибири / Н.Н. Ильинских, И.Н. Ильинских, Е.Н. Ильинских [и др.] // Токсикологический вестник. 2011. № 5. С. 10–14.

25. Григорьева С.А. Изучение генетически обусловленной чувствительности к действию мутагенов окружающей среды в индуцированном мутагенезе на клетках человека: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2007. 26 с.

### References:

1. Children's health and the environment: public health issues and challenges for risk assessment / P.J. Landrigan, C.A. Kimmel, A. Correa, B. Eskenazi // *Environ Health Perspect.* 2004. Vol. 112, № 2. R. 257-265.
2. Scheuplein R. Differential sensitivity of children and adults to chemical toxicity / R. Scheuplein G. Charnley, M. Dourson. // *I Biological basis. Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2002. Vol.35, № 3. R. 429-447.
3. Somers C.M. Air pollution and mutations in the germline: are humans at risk/ C. M. Somers, D. N. Cooper // *Hum Genet.* 2009. Vol. 125, № 2. R. 119-130.
4. Sharp N. P. Evidence for elevated mutation rates in low-quality genotypes / N.P. Sharp, A. F. Agrawal // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012. Vol. 109, № 16. R. 6142-6146.
5. Lynch M. Rate, molecular spectrum, and consequences of human mutation / M. Lynch // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010. Vol. 107, № 3. R. 961-968.
6. The HUMAN MicroNucleus Project: an international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. /M. Fenech, N. Holland, W. P. Chang [at al.] // *Mutat Res.* 1999. Vol. 428. R. 271-283.
7. The HUMN and HUMNxL international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells-past, present and future/ M. Fenech, N. Holland, E. Zeiger [at al.] // *Mutagenesis.* 2011. Vol. 26, № 1. R. 239-245.
8. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans / S. Bonassi, A. Znaor, M. Ceppi [at al.] // *Carcinogenesis.* 2007. Vol. 28, № 3. R. 625-631.
9. Micronuclei in neonates and children: effects of environmental, genetic, demographic and disease variables / N. Holland, A. Fucic, D. F. Merlo [at al.] // *Mutagenesis.* 2011. Vol. 26, № 1. R. 51-56.
10. Sobol' M. V. Chastota mikroyader v kletkakh bukkal'nogo epiteliya u shkol'nikov Ukrainy raznogo vozrasta i pola / M.V. Sobol', V.F. Bezrukov // *Tsitologiya i genetika.* 2007. T.41, № 4. S. 56-58.
11. Fenech M. The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes / M. Fenech, S. Bonassi // *Mutagenesis.* 2011. Vol. 26, № 1. R. 43-49.
12. Cytokinesis-blocked micronucleus assay as a novel biomarker for lung cancer risk / R.A. El-Zein, M. B. Schabath, C. J. Etzel [at al.] // *Cancer Res.* 2006. Vol. 66. R. 6449-6456.
13. Genetic polymorphisms and micronucleus formation: a review of the literature/ G. Iarmarcovai, S. Bonassi, A. Botta [at al.] // *Mutat Res.* 2008. Vol. 658, № 3. R. 215-233.
14. Glutathione transferases / J. D. Hayes, J. U. Flanagan, I. R. Jowsey [at al.] // *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2005. Vol. 45. R. 51-88.
15. Geneticheskii pasport – osnova individual'noi i prediktivnoi meditsiny / Pod obshch. red. V.S.Baranova. SPb., 2009. 527 s.
16. Nakaz MOZ Ukraïni № 584 vid 29.08.2006r. «Pro zatverdzhennya Protokolu medichnogo doglyadu za novonarodzhenoju ditinoju z maloyu masoyu tila pri narodzhenni».
17. A multiplex polymerase chain reaction protocol for the simultaneous analysis of the glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 polymorphisms / M. Arand, R. Muhlbauer, J. Hengstler [et al.] // *Anal. Biochem.* 1996. Vol. 236. P. 184-186.
18. Gorovenko N.G. Rol' spadkovikh faktoriv u rozvitku perinatal'noi patologii novonarodzhenikh / N.G. Gorovenko, Z.I. Rossokha, S.V. Podol's'ka // *Suchasna pediatriya.* 2007. T.14, №1. S. 162-168.
19. Perera F. Prenatal environmental exposures, epigenetics, and disease/ F. Perera, J. Herbstman // *Reprod Toxicol.* 2011. Vol. 31, №3. R. 363-373.
20. Sycheva L.P. Primenenie poliorgannogo mikroyadernogo testa v ekologo-geneticheskikh issledovaniyakh / L.P. Sycheva, V.S. Zhurkov, Yu.A. Rakhmanin [i dr.]//*Poliorgannyi*

mikroyadernyi test v ekologo-gigienicheskikh issledovaniyakh / Pod red. Yu.A. Rakhmanina, L.P. Sychevoi. M.: Genius, 2007. S. 277–286.

21. Biomonitoring of genotoxicity using micronuclei assay in native population of Astyanax jacuhiensis (Characiformes: Characidae) at sites under petrochemical influence/ C. T. De Lemos, F. de A. Irango., N. C. de Oliveira [at al.]// Sci Total Environ. 2008: № 406, (1–2). R. 337–343.

22. The effects of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms on micronucleus frequencies in human lymphocytes in vivo/ M. Kirsch-Volders, R.A. Mateuca, M. Roelants [at al.] // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2006. Vol. 15, №5. R. 1038–1042.

23. Il'inskikh N. N. Rol' mutatsii v genakh FLG, GSTM1 i tsitogeneticheskikh aberratsii v razvitii allergicheskogo professional'nogo dermatita u rabochikh-neftyanikov severa Sibiri / N.N. Il'inskikh, B.V. Shilov, I.N. Il'inskikh // Rossiiskii allergologicheskii zhurnal. 2011. № 4. S. 40–44.

24. Vliyanie geneticheskogo polimorfizma na tsitogeneticheskie posledstviya uslovii truda u rabochikh na neftepromyslakh Sibiri / N.N. Il'inskikh, I.N. Il'inskikh, E.N. Il'inskikh [i dr.] // Toksikologicheskii vestnik. 2011. № 5. S. 10–14.

25. Grigor'eva S.A. Izuchenie geneticheski obuslovennoi chuvstvitel'nosti k deistviyu mutagenov okruzhayushchei sredy v indutsirovannom mutageneze na kletkakh cheloveka: avtoref. dis. ... kand. med. nauk. M., 2007. 26 s.

УДК 575.113+613.952+574.2/477.86

### **Особенности полиморфизма генов глутатион-S-трансферазы у новорожденных различных экологических регионов Ивано-Франковской области Украины**

<sup>1</sup> Н.Г. Горovenko

<sup>2</sup> С.В. Подольская

<sup>3</sup> З.Р. Кочерга

<sup>1</sup> Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, Украина

доктор медицинских наук

04112, Киев, ул. Дорогожицкая 9

<sup>2</sup> Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, Украина

кандидат биологических наук

04112, Киев, ул. Дорогожицкая 9

E-mail: svpodolskaya@mail.ru

<sup>3</sup> Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина

Кандидат медицинских наук

ул. Галицкая 2, Ивано-Франковск, 76018

E-mail: zory72@mail.ru

**Аннотация.** Установлено, что у всех новорожденных области, без разделения на экологические зоны, частота полиморфного варианта GSTM1 «+» была 43,70 %, частота полиморфного варианта GSTM1 «-» – 56,30 %. Для гена GSTT1 частоты полиморфного варианта GSTT1 «+» и GSTT1 «-» были 80,67 % и 19,33 % соответственно. У носителей полиморфного варианта GSTT1 «-» ни в одном случае не было выявлено положительного микроядерного теста, у всех новорожденных с отрицательным микроядерным тестом был обнаружен аллельный вариант GSTT1 «+». Для новорожденных с отрицательным микроядерным тестом характерно преобладание 78,38 % ассоциации генотипов GSTM1«+»/GSTT1. Проведенные нами исследования показали диагностическую ценность молекулярно-генетического тестирования в сочетании с микроядерным тестом для прогнозирования чувствительности генома новорожденного к суммарному воздействию факторов окружающей среды.

**Ключевые слова:** аллельный полиморфизм; детоксикация ксенобиотиков; микроядерный тест; новорожденные; экологические зоны.