

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ У ЖЕНЩИН С НАРУШЕНИЯМИ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ, ЭКСПОНИРОВАННЫХ ФЕНОЛАМИ

Казакова О. А., Долгих О. В., Кривцов А. В.,
Синицына О. О., Мазунина А. А.

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», Пермь, Россия

Проведен анализ полиморфных вариантов кандидатных генов ассоциированных с иммунной системой, нарушением репродуктивной функции женщин, а также метаболизмом фенолов. Исследование показало, что в обследуемой группе, характеризующейся высоким содержанием фенолов в крови, установлены более высокие частоты гетерозиготных генотипов генов *VEGF G634C*, *PPARD A/G*, *PPARA G2528C*, вариантных гомозиготных генотипов генов *TERT C309G* и *PPARGC1A G1444A*. Отмечается, что ген *PPARD A/G* ($p < 0,05$), характеризует особенности данной когорты обследованных женщин. Анализ систем «гап-тен-генотип», показал ассоциацию между уровнем фенола, о- и п-крезола и генотипами генов: *MTHFR C677T*, *PPARD A/G*, *ESR1 G2014A*. Исследованные гены могут быть использованы в качестве маркеров чувствительности, характеризующих условия формирования иммуноопосредованных нарушений репродуктивной функции у женщин с повышенным содержанием фенолов в крови.

Ключевые слова: иммуногенетические маркеры, нарушения репродуктивной функции, фенолы

Введение. Рядом авторов проведены исследования по содержанию фенола в плаценте беременных женщин, который оказывал влияние на продолжительность гестационного периода и толщину плаценты. При проникновении в клетку, фенол подвергается активной биотрансформации при помощи оксидаз, что может привести к увеличению токсичности отдельных метаболитов, которые можно связать с повреждением как ферментов, так и ДНК. Вредное влияние фенолов и их производных связано с их иммунотропностью, мутагенностью и канцерогенностью. Фенольное кольцо, входящее в состав органических соединений, структурно подобно эстрогену, способно оказывать негативное влияние на развитие репродуктивных органов человека. Однако на сегодняшний день отсутствуют подтверждения о возможном воздействии фенола и крезолов на репродуктивное здоровье женщин при их хроническом аэрогенном поступлении. [1, 2]

Показатели женского здоровья зависят не только от условий внешней среды, но прежде

всего, детерминированы генетическим статусом, определяющим предрасположенность человека к заболеваниям. Особую актуальность представляет изучение влияния на репродукцию иммунорегуляторных генов, таких как PPARs (рецепторы активирующие пролиферацию пероксисом), которые могут явиться причиной каскада метаболических и гормональных нарушений, оказывая воздействие на яичники и плаценту. В пероксисомах присутствуют ферменты, продуктом реакции которых является перекись водорода, используемая клетками для окисления этанола, фенола, формальдегида и других субстратов. [3]

Актуальным является выделение генетических маркеров состояния репродуктивной функции женщин детородного возраста, подверженных аэрогенному воздействию средовых факторов, в том числе фенолу, о- и п-крезолу.

Цель – изучение иммуногенетических особенностей у женщин с невынашиванием, проживающих в условиях аэрогенной экспозиции фенолами.

Проведено обследование двух групп женщин детородного возраста, с нарушенной репродуктивной функцией, проявляющейся в невынашивании беременности. Группу наблюдения составили женщины, средний возраст которых $32,27 \pm 0,23$ года, проживающие в условиях аэрогенной экспозиции фенолами (56 женщин). Группу сравнения составили женщины, средний возраст которых $30,76 \pm 0,24$ лет, проживающие вне зоны аэрогенного воздействия фенолов (54 женщины). Содержание фенолов в атмосферном воздухе территории проживания исследуемых групп, а также содержание фенолов в крови исследуемых пациентов определялось методом газовой хроматографии на приборе Кристалл-5000. Оценка генетического полиморфизма была осуществлена с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) и аллельной дискриминации на приборе BioRAD CFX96 в режиме реального времени. Статистическая обработка результатов проводилась в программах: Statistica 6.0, онлайн программах SNPStats и ГенЭксперт, Microsoft Excel. В исследовании оценивались следующие показатели: содержание фенола, о-крезола, п-крезола в атмосферном воздухе; содержание фенола, о-крезола, п-крезола в крови пациенток; генетические полиморфизмы 9 кандидатных генов (*ESR1 G2014A rs2228480*, *MTHFR C677T rs1801133*, *MTNR1A C/T rs34532313*, *PPARA G2528C rs4253778*, *PPARD A/G rs2016520*, *PPARGC1A G1444A rs8192678*, *SOD C14510A*

rs2758330, *TERT C309G rs10054203*, *VEGF G634C rs2010963*).

В результате оценки качества атмосферного воздуха на территории проживания группы наблюдения было обнаружено превышение гигиенических нормативов по фенолу (до 2,3 ПДК с.с.), о-крезолу (до 2,0 ПДК с.с.), п-крезолу (до 7,4 ПДК с.с.). Территория группы сравнения характеризовалась допустимым содержанием фенолов в атмосферном воздухе.

Результаты химического анализа крови пациентов группы наблюдения позволили установить значения, превышающие фоновый уровень. Установлены достоверные ($p < 0,05$) межгрупповые различия содержания фенола и крезолов по отношению к группе сравнения (превышения в 1,3 раза по о-крезолу; в 2,1 раза по п-крезолу; в 1,5 раза по фенолу).

При помощи онлайн калькулятора «Ген-эксперт» нами был произведен расчет частот аллелей и генотипов, а также расчет генетических моделей наследования репродуктивной патологии в условиях аэрогенного воздействия фенола и крезолов.

По результатам генетического типирования установлено достоверное различие по частоте A/G гетерозиготного генотипа гена *PPARD* в группе наблюдения, который превышал аналогичный показатель группы сравнения в 2,6 раза, а также превышение частоты минорного аллеля G гена *PPARD* в группе наблюдения относительно группы сравнения в 3,2 раза. Нами был применен тест Харди-Вайн-

Таблица 1. Сравнительная оценка генотипов, ассоциированных с содержанием фенолов в крови (программа «SNPstats»)

Ген	Генотипы	Фенол (мг/куб.см)			о-крезол (мг/куб.см)			п-крезол (мг/куб.см)		
		Н	С	р	Н	С	р	Н	С	р
<i>PPARD</i> A/G	A/A	0,01	0,03	0,48	0,13	0,08	0,00*	0,46	0,41	0,14
	A/G	0,04	0,04		0,05	0,13		0,21	0,67	
	G/G	0,02	-		0	-		0,25	-	
<i>MTHFR</i> C677T	C/C	0,02	0,02	0,03*	0,08	0,09	0,54	0,22	0,29	0,06
	C/T	0,01	0,05		0,12	0,1		1,2	0,65	
	T/T	0,11	-		0,07	-		0,44	-	
<i>ESR</i> G2014A	G/G	0,03	0,02	0,07	0,09	0,09	0,57	0,48	0,32	0,01*
	G/A	0,02	0,05		0,07	0,09		0,1	0,66	
	A/A	0,01	-		0,08	-		0,47	-	

Примечание: Н- группа наблюдения, С-группа сравнения.

*-достоверные различия между исследуемыми когортами ($p < 0,05$)

берга, который подтвердил отсутствие смещения от нормального распределения в исследуемых группах по всем генам, за исключением гена *TERT C309G* и гена *SOD C14510A*.

Тест Харди-Вайнберга позволил нам в дальнейшем использовать мультипликативную и аддитивную модели наследования, согласно которым, носительство аллеля G гена *PPARD A/G rs2016520* (OR=3.86, 95 % CI: 1,16-12,87) а также носительство гетерозиготного генотипа A/G (OR=3.93, 95 % CI: 1.04-14.89) и G/G (OR=3.00, 95 % CI: 0.12-77.32) гена *PPARD*, у женщин с нарушением репродуктивной функции, проживающих в условиях аэрогенного воздействия фенолами, характеризует их достоверные различия с показателями группы сравнения.

Проведенная сравнительная оценка генотипов исследуемых генов, ассоциированных с содержанием фенолов в крови с использованием программы «SNPstats» позволила получить достоверные различия ($p < 0,05$) между группами в системах «фенол – генотип гена *MTHFR C677T*», «о-крезол – генотип гена *PPARD A/G (rs2016520)*», «п-крезол – генотип гена *ESR1 G2014A*» (табл. 1).

Таким образом, иммуногенетические особенности женщин с самопроизвольным прерыванием беременности в анамнезе, проживающих в условиях аэрогенной экспозиции фенолами, характеризуются достоверно большей частотой гетерозиготного, вариантного гомозиготного генотипа и вариантного аллеля гена *PPARD (A/G rs2016520)* по отношению к группе сравнения, что позволяет отнести этот ген к кандидатным, отражающим особенности развития репродуктивных нарушений у женщин в условиях аэрогенной экспозиции фенолами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Marlissa Campbell, Ph.D. Phenol. Reproductive and Cancer Hazard Assessment Section Office of Environmental Health Hazard Assessment. California: Environmental Protection Agency 2003:1-67.
2. Michalowicz J., Duda W. Phenols- Sources and Toxicity. Polish J. Of Environ.Stud. 2007; 16(3): 347-362.
3. Wanders R.J.A., Waterham H.R. Biochemistry of mammalian peroxisomes revised// J. Ann.Rev. Biochem 2006; 75: 295-332.

IMMUNOGENETICAL FEATURES AT VIOLATIONS OF REPRODUCTIVE FUNCTION IN WOMEN EXPOSED TO PHENOLS

Kazakova O. A., Dolgikh O. V., Krivtsov A. V.,
Sinitsyna O. O., Mazunina A. A.

FBUN "Federal scientific center of medico-preventive technologies of risk management to health of the population, Perm, Russia

The polymorphic variants of candidate genes associated with immune system, violation of the women reproductive function, as well as with the metabolism of phenols have been analyzed. The study revealed that in the surveyed group, marked by high content of phenols in the blood, the higher frequencies of heterozygous genotypes of *VEGF G634C*, *PPARD A/G*, *PPARA G2528C*, variant homozygous genotypes of *TERT C309G* and *PPARGC1A G1444A* genes were detected. It has been noted, that the gene *PPARD A/G* ($p < 0.05$) characterizes the features in women of this cohort survey. The analysis of the "hapten-genotype" systems, showed an association between the level of phenol, o- and p-cresol, and genotypes of genes: *MTHFR C677T*, *PPARD A/G*, *ESR1 G2014A*. The studied genes can be used as markers of sensitivity that indicates on the preconditions to the development of immunemediated disorders of reproductive function in women induced by an increased content of phenols in blood.

Key words: immunogenetic markers, violations of reproductive function, phenols