

ОЦЕНКА ИНДИВИДУАЛЬНОГО ДЕТОКСИКАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ОРГАНИЗМА У ПОЖАРНЫХ И СПАСАТЕЛЕЙ МЧС РОССИИ

Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никитина МЧС России
(Россия, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 4/2)

Введение. Профессиональная деятельность пожарных и спасателей осуществляется, как правило, в условиях агрессивного воздействия химических факторов на фоне повышенной физической нагрузки и выраженного психологического напряжения. В связи с этим представляется необходимым как в процессе профессионального отбора, так и в ходе мониторинга за состоянием здоровья сотрудников МЧС России оценивать активность в печени изоферментов цитохрома P450, непосредственно участвующих в ее детоксикационной способности.

Цель – методами фенотипирования определить активность фермента CYP3A4 и установить частоту аллельных вариантов гена данного фермента (полиморфизмы rs2740574 и rs4987161) у пожарных и спасателей МЧС России для целенаправленного проведения лечебно-профилактических и реабилитационных мероприятий.

Методология. В ходе периодических медицинских осмотров спасателей и пожарных МЧС России на базе поликлиники Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никитина МЧС России анализировали полиморфизмы гена CYP3A4 rs2740574 и rs4987161, а также оценивали уровень активности CYP3A4 в соответствии с величиной соотношения 6-β-гидроксикортизола/кортизол в моче. Обследованы 64 сотрудника МЧС России, средний возраст – (29,8 ± 5,5) лет, из них 30 – спасатели Северо-Западного регионального поисково-спасательного отряда и 34 – пожарные территориальных пожарных частей Санкт-Петербурга.

Результаты. По результатам генотипирования полиморфизма rs2740574 гена CYP3A4, в зависимости от наличия или отсутствия минорного аллеля, сотрудники МЧС России были разделены на 2 условные группы – «медленных» и «немедленных» метаболизаторов (9,4 и 80,6 % соответственно). По результатам генотипирования полиморфизма rs4987161 гена CYP3A4 обследованные были условно отнесены к «немедленным» метаболизаторам, так как пациенты с наличием минорного аллеля не были выявлены. В зависимости от величины отношения 6-β-гидроксикортизола/кортизол в моче уровни активности CYP3A4 у сотрудников МЧС России были разделены на три типа: нормальная – 67 %, низкая – 13 %, высокая – 20 %.

Наблюдалась тенденция к нарастанию значений соотношения 6-β-гидроксикортизола/кортизол в моче у обследованных пожарных и спасателей МЧС России с увеличением возраста и стажа работы.

Данных о связи исследованных полиморфных вариантов гена CYP3A4 с установленной активностью фермента не получено.

Заключение. Методы генотипирования позволили выявить аллельные варианты гена CYP3A4, которые могли повлиять на функциональные возможности фермента, однако связь исследованных полиморфизмов с активностью фермента не обнаружена. В подобных случаях при отсутствии информативных генетических маркеров рекомендуется проводить оценку активности фермента методами фенотипирования.

Ключевые слова: пожарный, спасатель, генотипирование, полиморфизм, фенотипирование, цитохром P450, CYP3A4, метаболизатор кортизола, 6-β-гидроксикортизол.

Шантырь Игорь Игнатьевич – д-р мед. наук проф., зав. науч.-исслед. отд. биоиндикации, Всерос. центр экстрен. и радиац. медицины им. А.М. Никитина МЧС России (Россия, 190044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 4/2);

Родионов Геннадий Георгиевич – д-р мед. наук доц., зав. науч.-исслед. лаб. токсикологии и лекарственного мониторинга науч.-исслед. отд. биоиндикации, Всерос. центр экстрен. и радиац. медицины им. А.М. Никитина МЧС России (Россия, 190044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 4/2), e-mail: rodgengeor@yandex.ru;

Неронова Елизавета Геннадьевна – канд. биол. наук, зав. науч.-исслед. лаб. генетической диагностики и биодозиметрии науч.-исслед. отд. биоиндикации, Всерос. центр экстрен. и радиац. медицины им. А.М. Никитина МЧС России (Россия, 190044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 4/2), e-mail: neliner@yandex.ru;

✉ Ушал Инна Эдвардовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. науч.-исслед. лаб. токсикологии и лекарственного мониторинга науч.-исслед. отд. биоиндикации, Всерос. центр экстрен. и радиац. медицины им. А.М. Никитина МЧС России (Россия, 190044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 4/2), e-mail: innaushal@mail.ru;

Колобова Екатерина Алексеевна – канд. хим. наук, ст. науч. сотр. науч.-исслед. лаб. токсикологии и лекарственного мониторинга науч.-исслед. отд. биоиндикации, Всерос. центр экстрен. и радиац. медицины им. А.М. Никитина МЧС России (Россия, 190044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 4/2), e-mail: ekatderyabina@mail.ru

Введение

Профессиональная деятельность пожарных и спасателей осуществляется, как правило, в условиях агрессивного воздействия химических факторов на фоне повышенной физической нагрузки и выраженного психологического напряжения. По данным Международной организации труда, профессия пожарный входит в десять самых опасных. Экстремальные условия деятельности способствуют развитию чрезмерного напряжения функциональных резервов организма данных специалистов и могут приводить к формированию расстройств здоровья или даже смерти.

Проведенные ранее в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» (ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова) МЧС России исследования [6] показали наличие у них оксидативного стресса различной степени выраженности, развивающегося в процессе профессиональной деятельности. В дальнейшем со временем он может реализоваться или проявиться в виде различной соматической патологии. Одной из причин этого, вероятно, является необходимость систематически метаболизировать попадающие в их организм химические соединения, которые содержатся в продуктах горения (оксиды, диоксиды, фториды и различные токсические химические элементы) и обладают мембрано-повреждающим свойством. В связи с этим представляется необходимым как в процессе профессионального отбора, так и в ходе мониторинга за состоянием здоровья сотрудников МЧС России оценивать активность в печени изоферментов цитохрома P450, активно участвующих в ее детоксикационной способности. Ферменты цитохрома P450 локализованы, главным образом, в печени, легких и тонкой кишке. Наиболее представлен в организме CYP3A4. В печени на его долю приходится от 30 до 60 %, а в кишечнике – 70 % от всех цитохромов P450, экспрессирующихся в нём, и 50 % от содержания в печени. Методы генотипирования получили широкое применение, поскольку были определены гены, кодирующие последовательность аминокислот основных изоферментов печени, и установлена связь ряда генетических вариантов с функциональными особенностями фермента. Однако генотипирование устанавливает генетические характеристики индивида, но не обязательно его функциональные возможности в любой момент времени. По этой

причине фенотипы в разных условиях сильно отличаются друг от друга и не всегда согласуются с соответствующим генотипом. Таким образом, для определения точной картины ферментной активности нужно оценивать текущую активность изофермента цитохрома P450. Очевидно, что безопасность при профессиональной деятельности сотрудников МЧС России зависит от индивидуальных особенностей организма, что требует персонализированного подхода к каждому конкретному человеку.

Цель исследования – методами фенотипирования определить активность фермента CYP3A4 и установить частоту аллельных вариантов гена (полиморфизмы rs2740574 и rs4987161) у пожарных и спасателей МЧС России для целенаправленного проведения лечебно-профилактических и реабилитационных мероприятий.

Материал и методы

В исследуемую группу вошли 64 человека. Из них 30 человек – спасатели Северо-Западного регионального поисково-спасательного отряда и 34 сотрудника территориальных пожарных частей МЧС России Санкт-Петербурга, непосредственно участвующие в пожаротушении. Все обследованные – лица мужского пола, средний возраст ($29,8 \pm 5,5$) лет. При анализе данных все обследованные разделены на группы в зависимости от стажа работы по специальности – 0–4 года (7 спасателей, 6 пожарных), 5–9 лет (14 спасателей, 16 пожарных), 10 лет и больше (9 спасателей, 12 пожарных).

Для генотипирования брали кровь из локтевой вены в вакутейнер с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) в качестве антикоагулянта. В пробирку типа «эппендорф» отбирали 100 мкл крови для последующего выделения ДНК. Пробы крови хранили при -40°C до момента выделения ДНК. Генотипирование состояло из трех основных этапов – выделение ДНК, проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием соответствующих праймеров и анализ результатов. ПЦР проводили в режиме «реального времени» на термоциклере CFX96 (BIORAD). Выделение ДНК проводили с использованием наборов фирмы «ДНК-технологии» по прилагаемой методике. ПЦР и анализ результатов проводили с использованием тест-систем производства фирмы «Синтол»:

– «Набор реагентов для определения полиморфизма Phe189Ser гена CYP3A4 (rs 4987161)»;

– «Набор реагентов для определения полиморфизма A/G гена CYP3A4_3 (rs2740574)».

Результаты анализировали по пороговому циклу, учитывая показатели реакций положительных контрольных образцов.

В данном исследовании в качестве метода фенотипирования использована следующая закономерность: имеется субстратная специфичность определенного фермента для метаболизма конкретного ксенобиотика, индивидуальную активность которого можно оценить лабораторным методом. Активность конкретного изофермента определяется по фармакокинетике его специфического субстрата путем измерения концентрации непосредственно субстрата, а также его метаболита в биологических образцах (плазма крови, моча) и расчета «метаболического» индекса, равного отношению концентраций субстрата и его метаболита [2].

Перспективными являются методики, основанные на определении эндогенных веществ и их метаболитов, позволяющие оценить активность изоферментов без введения пациенту специфических маркеров. Примером такой методики является оценка активности CYP3A4 *in vivo* с использованием соотношения эндогенного кортизола и одного из его метаболитов 6-β-гидроксикортизола. Данный метод предложен в Рекомендациях для фармацевтических компаний по изучению биотрансформации и транспортеров новых лекарственных средств [5].

Определение концентрации кортизола и 6-β-гидроксикортизола в утренней порции мочи проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в сочетании со спектрофотометрическим детектированием с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа «1200» («Agilent Technologies», США) с диодно-матричным детектором на основе методики [4]. Хроматографическое разделение 6-β-гидроксикортизола и кортизола выполнялось с помощью колонки для обращено-фазовой хроматографии Zorbax Eclipse Plus C 18 100 мм×4,6 мм×3,5 мкм с соответствующей предколонкой в градиентном режиме со скоростью элюирования 0,6 мл/мин. В качестве подвижной фазы А использовался 0,1% водный раствор муравьиной кислоты, в качестве подвижной фазы В – ацетонитрил. Идентификацию кортизола и 6-β-гидроксикортизола осуществляли по времени удерживания и спектру, регистрируемому с помощью диодно-матричного детектора в диапазоне длин волн 190–400 нм. Их

количественное определение проводили методом абсолютной градуировки.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью пакета программ Статистика 6.0, в том числе использовали описательную статистику, непараметрическое сравнение по критериям Краскела–Уоллеса, Манна–Уитни и Фишера, многомерные регрессии и корреляции. Значения считали достоверными на уровне $p < 0,05$. В таблицах представлены медианы (Me) и 25–75-центильные интервалы (Q_1 ; Q_3) показателей.

Результаты и их анализ

В настоящем исследовании у 64 сотрудников МЧС России анализировались полиморфные варианты гена CYP3A4, полиморфизмы rs2740574 и rs4987161. Минорный аллель (G) полиморфизма rs2740574 известен как CYP3A4*1B. Этот полиморфизм (–392A>G) локализован в 5'-регуляторном регионе гена CYP3A4, что может изменять функциональные характеристики фермента [10].

Полиморфизм rs4987161 известен как 566T>C, 15615T>C или F189S. Минорный (C) аллель полиморфизма rs4987161 принято обозначать как CYP3A4*17. Данный полиморфизм находится в экзонной последовательности гена, что может влиять на функциональную активность фермента.

Результаты генотипирования аллелей гена CYP3A4 у 64 сотрудников МЧС России представлены в табл. 1.

При наличии минорного аллеля, который, как предполагается, способен повлиять на функциональные характеристики фермента, пациентов относили к «медленным» метаболизаторам. При отсутствии в генотипе минорного аллеля пациентов относили к группе «немедленных» метаболизаторов. По результатам генотипирования полиморфизма rs4987161(566T>C) гена CYP3A4 в нашей выборке из 64 обследованных лиц наличие минорного аллеля не было установлено, и все лица были отнесены к «немедленным» метаболизаторам. Результаты нашего исследо-

Таблица 1

Результаты генотипирования гена CYP3A4 у 64 сотрудников МЧС России

Исследованные полиморфизмы	rs2740574, –392A>G			rs4987161, 566T>C		
	A/A	A/G	G/G	T/T	T/C	C/C
Количество сотрудников	58	6	0	64	0	0

Таблица 2

Содержание кортизола, 6-β-гидрокортизола и их соотношение в моче у сотрудников МЧС России

Показатель	Me [Q ₁ ; Q ₃]
Кортизол, нг/мл	202 [117; 430]
6-β-гидрокортизол, нг/мл	322 [174; 591]
Отношение 6-β-гидрокортизола/кортизол, усл.ед.	1,38 [0,72; 3,08]

вания не противоречат данным, полученным в ходе выполнения проекта 1000 Genomes Project. Согласно информации, представленной в базе данных «The Ensembl» (<http://ensembl.org/>), частота минорного аллеля C по результатам нескольких исследований составила 0,02%, что свидетельствует об очень низкой частоте встречаемости данного аллеля. Вероятно, в нашем исследовании объем исследуемой группы оказался недостаточным для выявления минорного аллеля по этому полиморфизму и оценки влияния генотипа полиморфизма rs4987161 на функциональную активность фермента CYP3A4.

По результатам тестов генотипирования полиморфизма rs2740574 (392A>G) гена CYP3A4 обследованные лица были классифицированы как «медленные» (9,4%, 6 сотрудников) и «немедленные» (90,6%, 58 сотрудников) метаболизаторы. Согласно информации, представленной в базе данных «The Ensembl» (<http://ensembl.org/>), частота минорного аллеля G по результатам нескольких исследований составила от 0,23 до 36%. Частота этого аллеля значительно варьирует в различных популяциях мира и составляет среди народов негроидной расы до 80%, у европейцев – до

2–9% и практически отсутствует у лиц азиатского происхождения [7, 8]. Согласно литературным данным, доля минорного аллеля полиморфизма rs2740574*G гена CYP3A4 в популяции русских, татар и башкир составляет 4,0, 0,5 и 0,9% соответственно [3]. Частота минорного аллеля в проведенном нами исследовании составила 5%, что согласуется с представленными данными, полученными при обследовании популяции русских, проживающих в Республике Башкортостан.

В табл. 2 представлено содержание кортизола, 6-β-гидрокортизола и их соотношение в моче у 64 сотрудников МЧС России.

В результате статистического анализа величин коэффициента соотношения 6-β-гидрокортизола/кортизол в моче у 64 сотрудников МЧС России получена следующая log-нормальная гистограмма распределения (рис. 1).

Величина коэффициента соотношения 6-β-гидрокортизола/кортизол в моче подчиняется log-нормальному распределению, поэтому в дальнейшем мы оперировали его log-преобразованными значениями, представленными на рис. 2.

Из полученных данных построен график нормальной вероятности величины коэффициента соотношения 6-β-гидрокортизола/кортизол в моче (рис. 3).

На основании полученных данных стало возможным разделить уровни активности CYP3A4 у пожарных и спасателей МЧС России на три типа в зависимости от величины отношения 6-β-гидрокортизола/кортизол в моче (табл. 3).

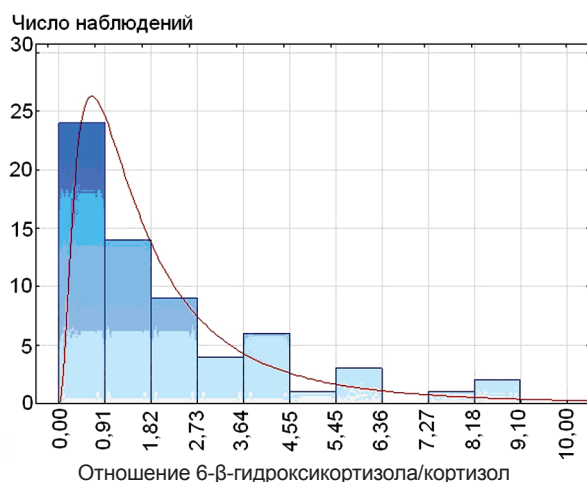


Рис. 1. Гистограмма log-нормального распределения величины коэффициента соотношения 6-β-гидрокортизола/кортизол в моче у сотрудников МЧС России.

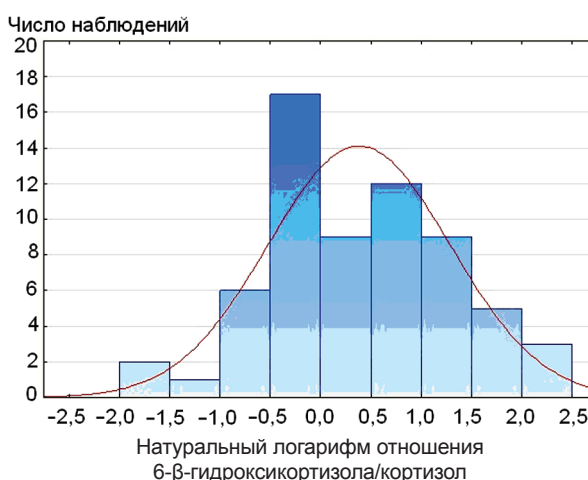


Рис. 2. Распределение log-преобразованных значений величины коэффициента соотношения 6-β-гидрокортизола/кортизол в моче у сотрудников МЧС России.

Из всех обследованных 67% оказались с нормальным уровнем активности CYP3A4, с низким уровнем активности – 13%, а с высоким уровнем активности – 20%.

Сходные данные получены в работе В.В. Смирнова [4], в которой пациенты были разделены на 3 группы. Пациенты 1-й группы принимали индукторы изофермента CYP3A4, что привело к увеличению отношения 6-β-гидроксикортизола к кортизолу в моче в 3,8 раза. Обследованные 2-й группы принимали ингибиторы того же изофермента, в результате отношение 6-β-гидроксикортизола к кортизолу в моче снизилось в 14,9 раза. У пациентов 3-й группы (контроль), которые не получали ни индукторов, ни ингибиторов изофермента CYP3A4, отношение 6-β-гидроксикортизола к кортизолу в моче осталось неизменным.

Статистически значимых различий величины коэффициента соотношения 6-β-гидроксикортизола/кортизол в моче у сотрудников ГПС МЧС России в зависимости от возраста, стажа работы и вида деятельности не выявлено (табл. 4). Однако обращает на себя внимание тенденция к увеличению в 1,8 раза коэффициента соотношения 6-β-гидроксикортизола/кортизол в моче в зависимости от возраста и стажа работы.

Несмотря на существующие фармакогенетические тесты [1], позволяющие определить предрасположенность пациентов к различной скорости метаболизма лекарственных препаратов, исходя из их генетического профиля, в рамках персонализированной медицины необходимо использовать и фенотипические тесты. Это обусловлено модификационной или фенотипической изменчивостью под влиянием ингибиторов и индукторов изоферментов цитохрома P450, поступающих в организм из окружающей среды, с пищей и сопутствующей лекарственной терапией, а также с отсутствием во многих случаях прямой связи между активностью фермента и его генетическими полиморфными вариантами [10].

Наиболее наглядно масштабы модификационной изменчивости и ограничения в применении фармакогенетических методов продемонстрированы в работе S.H. Preskorn и соавт. [9]. В данном исследовании почти у четверти участников установленная фенотипическая активность изоферментов цитохрома P450 отличалась от генетической.

Сходные данные получены в нашем исследовании при сравнении результатов генотипирования гена CYP3A4 и фенотипирования его активности. Так, по результатам анализа

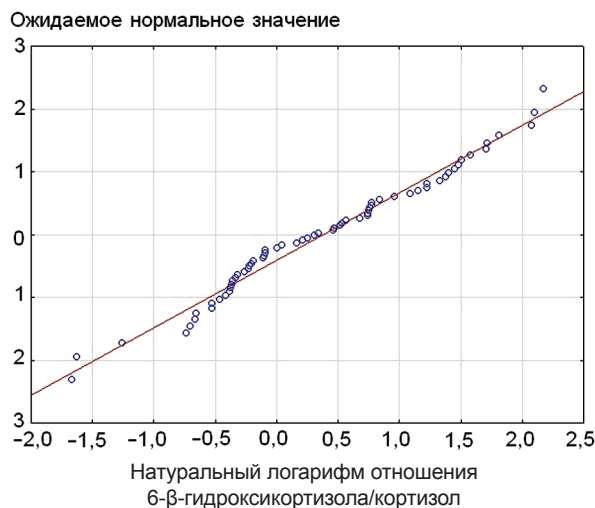


Рис. 3. График нормимальной вероятности коэффициента соотношения 6-β-гидроксикортизола/кортизол в моче у сотрудников МЧС России.

аллелей локуса гена CYP3A4 rs2740574 обследованные лица были условно классифицированы на генотипы «медленных» метаболизаторов (9,4%) и «немедленных» (90,6%), а по результату отношения 6-β-гидроксикортизола/кортизол в моче уровни активности CYP3A4 были классифицированы на фенотипы с низкой (13%) и нормальной и высокой активностью фермента (87%). При этом только один человек с установленным на этапе исследования генотипированием с «медленным» ме-

Таблица 3

Соотношение 6-β-гидроксикортизола/кортизол в моче у сотрудников МЧС России в зависимости от уровня активности CYP3A4 (усл. ед.)

Активность CYP3A4	Отношение 6-β-гидроксикортизола/кортизол, усл. ед.	%
Нормальная (n = 43)	0,59–3,27	67
Низкая (n = 8)	Менее 0,59	8
Высокая (n = 13)	Более 3,27	20

Таблица 4

Соотношение 6-β-гидроксикортизола/кортизол в моче у сотрудников МЧС России в зависимости от возраста, вида деятельности и стажа работы (усл. ед.)

Показатель	Me [Q ₁ ; Q ₃]	p =
Возраст, лет		
20–29 (n = 32)	1,21 [0,74; 2,04]	0,085
30 и более (n = 32)	2,12 [0,72; 4,34]	
Вид деятельности		
пожарные (n = 30)	1,44 [0,73; 2,18]	0,980
спасатели (n = 34)	1,38 [0,70; 3,42]	
Стаж работы, лет		
менее 5 (n = 13)	0,91 [0,77; 1,97]	0,245*
5–9 (n = 30)	1,50 [0,70; 2,32]	
более 10 (n = 21)	1,68 [0,73; 4,08]	

*По сравнению с группой со стажем работы менее 5 лет.

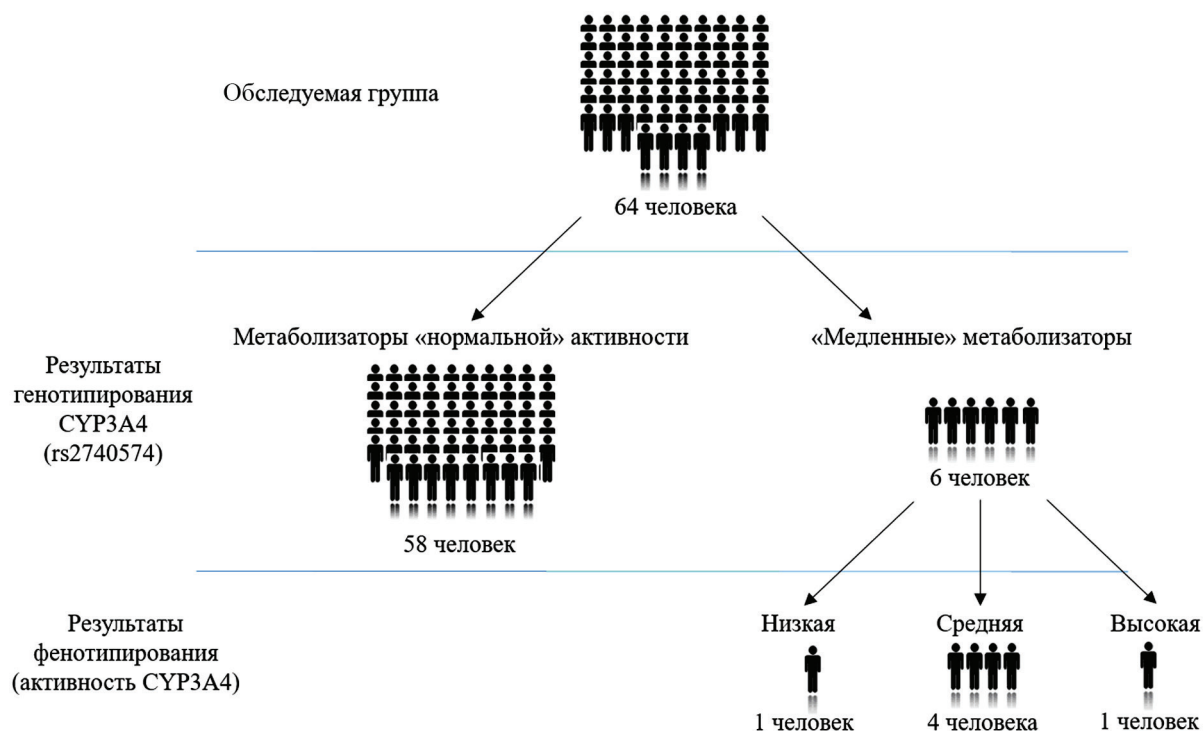


Рис. 4. Фенотипическая изменчивость активности CYP3A4 у сотрудников МЧС России.

таболизмом попал в аналогичную группу по фенотипу (величина отношения 6-β-гидрокортизола/кортизол в моче), а другие 5 сотрудников – в группу с нормальной и высокой активностью (1 человек – в группу с высокой активностью и 4 человека – с нормальной активностью). Таким образом, модификационная изменчивость до фенотипа «немедленного» метаболизатора наблюдалась у 83% сотрудников, обладающих генотипом «медленного» метаболизатора (рис. 4).

Если допустить возможность ситуации, при которой на организм не оказывают какое-либо влияние индукторы и ингибиторы, то в таком случае индивидуальная активность изоферментов будет оставаться стабильна на протяжении всей жизни. В современном мире изолировать от всех факторов, оказывающих влияние на цитохромы, практически невозможно. Активность изоферментов постоянно меняется под действием профессионального и экологического контакта с ксенобиотиками (ароматические амины, биспиридины, фураны, гидразины, нитрозамины, ПАУ, пирролины, фенолы, галогеналканы, соединения тяжелых металлов и др.), лекарственных препаратов (барбитураты, антибиотики т. д.), оральных контрацептивов, различных привычек (прием алкоголя, курение), инфекций, особенностей питания.

Полученные результаты показывают, что отобранные для оценки активности метабо-

лизма генетические полиморфизмы в клинической практике могут быть и не связаны с активностью ферментов у пациентов. В данном исследовании было продемонстрировано ограничение выполненного генотипирования: однако, оказалось, что генетические особенности индивида по двум выбранным полиморфным вариантам гена фермента CYP3A4 не связаны с его функциональными возможностями в любой момент времени, что свидетельствует о необходимости поиска информативных, физиологически значимых генетических маркеров. В отсутствие молекулярно-генетических маркеров подобного рода в настоящее время большую значимость имеют методы функциональной оценки ферментов.

Выводы

1. По результатам тестов генотипирования аллеля rs2740574 гена CYP3A4 обследованные пожарные и спасатели МЧС России были классифицированы на генотипы «медленных» метаболизаторов (9,4%) и «немедленных» (90,6%). По результатам тестов генотипирования аллеля rs4987161 гена CYP3A4 обследованные сотрудники МЧС России были отнесены к «немедленным» метаболизаторам.

2. В зависимости от величины отношения 6-β-гидрокортизола/кортизол в моче стало возможным разделить уровни активности

СYP3A4 у сотрудников ГПС МЧС России на три типа: нормальная – 67 %, низкая – 13 %, высокая – 20 %.

3. Статистически значимых различий величины коэффициента соотношения 6-β-гидрокортизола/кортизол в моче у сотрудников МЧС России в зависимости от возраста, стажа работы и вида деятельности не выявлено. Наблюдается тенденция увеличения в 1,8 раза соотношения 6-β-гидрокортизола/кортизол в моче у пожарных и спасателей МЧС России в зависимости от возраста и стажа работы (группы сравнения менее 5 и более 9 лет).

4. Статистически значимых различий величины соотношения 6-β-гидрокортизола/кортизол в моче у 34 пожарных и 30 спасате-

лей МЧС России в зависимости от возраста и стажа работы не выявлено.

5. Установлено, что модификационная изменчивость СYP3A4 до фенотипа «немедленного» метаболизатора наблюдалась у 83 % пожарных и спасателей МЧС России, обладающих генотипом «медленного» метаболизатора.

6. При сравнении данных генотипирования исследованных полиморфизмов и фенотипирования активности СYP3A4 у 64 сотрудников МЧС России связь установленных генетических маркеров с активностью фермента не выявлена. Поэтому для определения точной картины ферментной активности СYP3A4 нужно оценивать его фенотипирование или использовать более информативные генетические маркеры.

Литература

1. Абдрашитов Р.Х., Гильдеева Г.Н., Раменская Г.В. [и др.]. Обзор существующих методик оценки активности CYP2D6 с применением экзогенных и эндогенных маркеров // Фармакокинетика и фармакодинамика. 2015. № 1. С.4–11.
2. Кулес В.Г. Метаболизм лекарственных средств: клинико-фармакологические аспекты. М. : Рио-фарм, 2004. 144 с.
3. Мустафина О.Е., Туктарова И.А., Каримов Д.Д. [и др.]. Полиморфизм генов CYP2D6, CYP3A5 и CYP3A4 в популяциях русских, татар и башкир // Генетика. 2015. Т. 51, № 1. С. 109–119.
4. Смирнов В.В. Разработка методики определения кортизола и 6-β-гидрокортизола в моче с целью установления активности изофермента CYP 3A4 : автореф. дис. ... канд. фарм. наук. М., 2011. 24 с.
5. Сычев Д.А. Рекомендации для фармацевтических компаний по изучению биотрансформации и транспортеров новых лекарственных средств: дизайн исследований, анализ данных и внесение информации в инструкции по применению / под ред. В. Г. Кулес. М., 2009. URL: <http://www.regmed.ru/Content/Doc.aspx?id=26a9128c-ee32-4469-9c64-5c666339049e>.
6. Формирование стандарта диагностики оксидативного стресса при обследовании сотрудников ГПС МЧС России / под ред. С.С. Алексанина. СПб. : ВЦЭРМ им. А.М. Никитина МЧС России, 2019. 40 с.
7. Drogemoller B., Plummer M., Korkie L. [et al.]. Characterization of the genetic variation present in CYP3A4 in three South African populations // Front. Genet. 2013. Vol. 4, N 17. DOI: 10.3389/fgene.2013.00017.
8. McGraw J., Waller D. Cytochrome P450 variations in different ethnic populations // Expert. Opin. Drug. Metab. Toxicol. 2012. Vol. 8, N 3. P. 371–382. DOI: 10.1517/17425255.2012.657626.
9. Preskorn S.H. [et al.]. Cytochrome P450 2D6 Phenoconversion Is Common in Patients Being Treated for Depression: Implications for Personalized Medicine // J. Clin. Psychiatry. 2013. Vol. 74, N 6. P. 614–621. DOI: 10.4088/JCP.12m07807.
10. Werk A. N., Cascorbi I. Functional gene variants of CYP3A4 // Clin. Pharmacol. 2014. Vol. 96, N 3. P. 340–348. DOI: 10.1038/clpt.2014.129.
11. Zhou L.P., Yao F., Luan H. [et al.]. CYP3A4*1B polymorphism and cancer risk: a HuGE review and meta-analysis // Tumour Biol. 2013. Vol. 34, N 2. P. 649–660. DOI: 10.1007/s13277-012-0592-z.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией статьи. Поступила 22.05.2020

Участие авторов: Г.Г. Родионов – методология и дизайн исследования, интерпретация полученных данных, написание первого варианта статьи; И.И. Шантырь – разработка концепции исследования, поиск и анализ литературных данных, интерпретация полученных данных; Е.Г. Неронова – разработка дизайна исследования, получение данных генетических исследований; И.Э. Ушал – получение фенотипических данных, их анализ и интерпретация, подготовка и редактирование последнего варианта статьи, перевод, транслитерация списка литературы; Е.А. Колобова – получение лабораторных данных фенотипических исследований, их статистический анализ, оформление иллюстративного материала.

Для цитирования. Шантырь И.И., Родионов Г.Г., Неронова Е.Г., Ушал И.Э., Колобова Е.А. Оценка индивидуального детоксикационного потенциала организма у пожарных и спасателей МЧС России // Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях. 2020. № 3. С. 87–95. DOI: 10.25016/2541-7487-2020-0-3-87-95

Evaluation of the individual detoxification potential in the firefighters and rescuers of EMERCOM of Russia

Rodionov G.G., Shantyr' I.I., Neronova E.G., Ushal I.E., Kolobova E.A.

The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia
(4/2, Academica Lebedeva Str., St. Petersburg, 194044, Russia)

Gennadii Georgievich Rodionov – Dr. Med. Sci. Associate Prof., Head of the Research Laboratory of Toxicology and Drug Monitoring, the Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia (4/2, Academica Lebedeva Str., St. Petersburg, 194044, Russia), e-mail: rodgengeor@yandex.ru;

Igor Ignat'evich Shantyr' – Dr. Med. Sci. Prof., Head of Department of Bioindication, the Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia (4/2, Academica Lebedeva Str., St. Petersburg, 194044, Russia);

Neronova Elizaveta Gennad'evna – PhD Biol. Sci., Head of the Research Laboratory of Genetic Diagnostics and Biodosimetry, the Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia (4/2, Academica Lebedeva Str., St. Petersburg, 194044, Russia), e-mail: neliner@yandex.ru;

✉ Inna Edvardovna Ushal – PhD Biol. Sci., Senior Researcher of the Research Laboratory of Toxicology and Drug Monitoring, the Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia (4/2, Academica Lebedeva Str., St. Petersburg, 194044, Russia), e-mail: innaushal@mail.ru;

Ekaterina Alekseevna Kolobova – PhD Chem. Sci., Senior Researcher of the Research Laboratory of Toxicology and Drug Monitoring, the Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia (4/2, Academica Lebedeva Str., St. Petersburg, 194044, Russia), e-mail: ekatderyabina@mail.ru.

Abstract

Relevance. Professional activities of firefighters and rescuers are usually associated with aggressive chemical exposure with increased physical exertion and psychological stress. Therefore, for professional selection and monitoring the health status of firefighters and rescuers of EMERCOM of Russia it is necessary to evaluate the activity of cytochrome P450 isoenzymes that are directly involved in detoxification pathways in the liver.

Intention. To evaluate the activity of the CYP3A4 enzyme by phenotyping methods and to establish the frequency of allelic variants of the gene of this enzyme (rs2740574 and rs4987161 polymorphisms) in firefighters and rescuers of EMERCOM of Russia for targeted treatment, rehabilitation and prevention.

Methodology. Polymorphisms (rs2740574 and rs4987161) of the CYP3A4 gene and also CYP3A4 activity by the ratio of 6- β -hydroxycortisol / cortisol in the urine were determined during routine periodical medical examination of 64 rescuers and firefighters of rescue units of EMERCOM of Russia. The average age of examined persons was (29.8 \pm 5.5) years; 30 of them are rescuers of the North-West Regional Search and Rescue Squad and 34 are firefighters of the territorial fire departments of St. Petersburg.

Results and Discussion. According to the results of genotyping of rs2740574 polymorphism of the CYP3A4 gene, EMERCOM employees were divided into 2 groups depending on the presence or absence of a minor allele: "poor" and "rapid" metabolizers (9.4% and 80.6%, respectively). According to the results of genotyping of the rs4987161 polymorphism of the CYP3A4 gene, the examined were classified as "rapid" metabolizers, because patients with a minor allele were not identified. Depending on the ratio of 6- β -hydroxycortisol / cortisol in the urine, the activity level of CYP3A4 was "normal" in 67 %, "poor" in 13 % and "rapid" in 20 % of cases. The ratio of 6- β -hydroxycortisol / cortisol in the urine tended to increase with an increase in work experience and age. No relationship between the studied polymorphic variants of the CYP3A4 gene and the established enzyme activity was observed.

Conclusion. Genotyping methods made it possible to identify allelic variants of the CYP3A4 gene that could affect the functionality of the enzyme; however, no association of the studied polymorphisms with enzyme activity was found. In such cases, in the absence of informative genetic markers, it is recommended to evaluate the enzyme activity by phenotyping methods.

Keywords: firefighter, rescuer, genotyping, polymorphisms, phenotyping, cytochrome P450 or CYP3A4, metabolizers, cortisol, 6- β -hydroxycortisol.

References

1. Abdrashitov R.KH., Gil'deyeva G.N., Ramenskaya G.V. [et al.]. Obzor sushchestvuyushchikh metodik otsenki aktivnosti CYP2D6 s primeneniym ekzogennykh i endogennykh markerov [A review of existing methods for assessing the activity of CYP2D6 using exogenous and endogenous markers]. *Farmakokinetika i farmakodinamika* [Pharmacokinetics and pharmacodynamics]. 2015. N 1. Pp. 4–11. (In Russ.)
2. Kukes V.G. Metabolizm lekarstvennykh sredstv: kliniko-farmakologicheskiye aspekty [Drug metabolism: clinical and pharmacological aspects]. Moskva. 2004. 144 p. (In Russ.)
3. Mustafina O.Ye., Tuktarova I.A., Karimov D.D. [et al.]. Polimorfizm genov CYP2D6, CYP3A5 i CYP3A4 v populyatsiyakh russkikh, tatar i bashkir [CYP2D6, CYP3A5 and CYP3A4 gene polymorphisms in populations of Russians, Tatars and Bashkirs] *Genetika* [Genetics]. 2015. Vol. 51, N 1. Pp. 109–119. (In Russ.)
4. Smirnov V.V. Razrabotka metodiki opredeleniya kortizola i 6- β -gidroksikortizola v moche s tsel'yu ustanovleniya aktivnosti izofermenta CYP 3A4 [Development of a method for determination of cortisol and 6- β -hydroxycortisol in urine in order to establish the activity of the CYP 3A4 isoenzyme]: Abstract dissertation PhD pharm. Sci. Moskva. 2011. 24 p. (In Russ.)
5. Sychev D.A. Rekomendatsii dlya farmatsevticheskikh kompaniy po izucheniyu biotransformatsii i transporterov novykh lekarstvennykh sredstv: dizayn issledovaniy, analiz dannykh i vneseniye informatsii v instruksii po primeneniyu [Recommendations for pharmaceutical companies for the study of biotransformation and transporters of new drugs: research design, data analysis and entering information in the instructions for use]. Ed. V.G. Kukes. Moskva. 2009. (In Russ.) URL: <http://www.regmed.ru/Content/Doc.aspx?id=26a9128c-ee32-4469-9c64-5c666339049e>. (In Russ.)

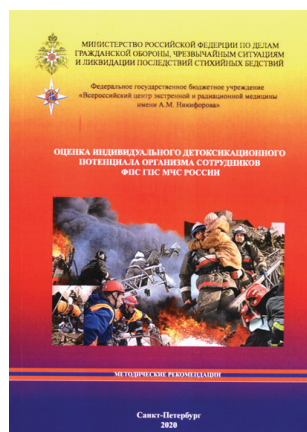
6. Formirovaniye standarta diagnostiki oksidativnogo stressa pri obsledovanii sotrudnikov GPS MCHS Rossii [Formation of a standard for the diagnosis of oxidative stress during the medical examination of employees of the State Fire Service of the EMERCOM of Russia]. Ed. S.S. Aleksanin. St. Petersburg. 2019. 40 p. (In Russ.)
7. Drogemoller B., Plummer M., Korkie L. [et al.]. Characterization of the genetic variation present in CYP3A4 in three South African populations. *Front. Genet.* 2013. Vol. 4, N 17. DOI: 10.3389/fgene.2013.00017.
8. McGraw J., Waller D. Cytochrome P450 variations in different ethnic populations. *Expert. Opin. Drug. Metab. Toxicol.* 2012. Vol. 8, N 3. Pp. 371–382. DOI: 10.1517/17425255.2012.657626.
9. Preskorn S.H. [et al.]. Cytochrome P450 2D6 Phenoconversion Is Common in Patients Being Treated for Depression: Implications for Personalized Medicine. *J. Clin. Psychiatry.* 2013. Vol. 74, N 6. Pp. 614–621. DOI: 10.4088/JCP.12m07807.
10. Werk A. N., Cascorbi I. Functional gene variants of CYP3A4. *Clin. Pharmacol.* 2014. Vol. 96, N 3. Pp. 340–348. DOI: 10.1038/clpt.2014.129
11. Zhou L.P., Yao F., Luan H. [et al.]. CYP3A4*1B polymorphism and cancer risk: a HuGE review and meta-analysis. *Tumour Biol.* 2013. Vol. 34, N 2. Pp. 649–660. DOI: 10.1007/s13277-012-0592-z.

Received 22.05.2020

Forciting. Rodionov G.G., Shantyr' I.I., Neronova E.G., Ushal I.E., Kolobova E.A. Ocenka individual'nogo detoksikatsionnogo potentsiala organizma u pozharnykh i spasateley MCHS Rossii. *Mediko-biologicheskie i sotsial'no-psikhologicheskie problemy bezopasnosti v chrezvychaynykh situatsiyakh.* 2020. N 3. Pp. 87–95. (In Russ.)

Rodionov G.G., Shantyr' I.I., Neronova E.G., Ushal I.E., Kolobova E.A. Evaluation of the individual detoxification potential in the firefighters and rescuers of EMERCOM of Russia. *Medico-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations.* 2020. N 3. Pp. 87–95. DOI: 10.25016/2541-7487-2020-0-3-87-95

Вышли в свет методические рекомендации



Оценка индивидуального детоксикационного потенциала организма сотрудников МЧС России : метод. рекомендации / под ред. С.С. Алексанина ; Всерос. центр экстрен. и радиац. медицины им. А.М. Никифорова МЧС России. СПб. : НПО ПБ АС, 2020. 44 с.

Тираж 100 экз. ISBN 978-5-907116-26-9.

Авторы: Шантырь И.И., Родионов Г.Г., Неронова Е.Г., Ушал И.Э., Колобова Е.А., Светкина Е.В.

Представлены методы оценки индивидуального детоксикационного потенциала организма сотрудников Федеральной противопожарной службы МЧС России по результатам гено- и фенотипирования активности изоферментов цитохрома P450. Методики генодиагностики полиморфизмов CYP3A4 и фенотипирования CYP3A4, исходя из оценки соотношений эндогенных веществ и их метаболитов, абсолютно безопасны для пациентов и не требуют введения в организм экзогенных «маркеров».

Оценка и коррекция нарушений минерального обмена у сотрудников МЧС России и спасателей МЧС России с заболеваниями костно-мышечной системы: метод. рекомендации / Всерос. центр экстрен. и радиац. медицины им. А.М. Никифорова МЧС России. СПб. : НПО ПБ АС, 2020. 29 с.

Тираж 100 экз. ISBN 978-5-907116-31-3.

Авторы: Алексанин С.С., Санников М.В., Яковлева М.В., Неронова Е.Г., Власенко М.А., Фролова М.Ю., Ковязина Н.А., Алхутова Н.А., Макарова Н.В., Шевченко Т.И.

Изложены современные аспекты анализа биоэлементного статуса, обоснована необходимость индивидуального подхода к его коррекции. Проведенные ранее исследования показали наличие нарушений биоэлементного статуса у пожарных и спасателей, а также высокий уровень распространенности болезней костно-мышечной системы. Мероприятия по адресной коррекции дисэлементозов при выявленной патологии и риске развития будут способствовать сохранению здоровья и увеличению профессионального долголетия спасателей и сотрудников Федеральной противопожарной службы МЧС России.

