

«8D05104 - Генетика» оқу бағдарламасы бойынша

Гаршин Александр Андреевичтің

философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін жасалған зерттеу жұмысына

АННОТАЦИЯ

Тақырыбы: «Органохлорлы пестицидтердің Алматы облысындағы халықтың генетикалық жағдайына әсері»

Жұмыстың жалпы сипаттамасы

Зерттеу жұмысы, ұзақ уақыт бойы пестицидтермен ластанған Алматы облысында тұратын адамдардың генетикалық жағдайын және денсаулығына пестицидтермен ластанудың әсерін зерттеуге арналған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі

2011 жылғы мониторинг нәтижелері бойынша облыс аумағында 64 қараусыз қалдырған пестицидтер қоймасы анықталды, жалпы қалдырылған органикалық ластаушы заттардың (БТОЛЗ) құрамы шамамен 6931,4 тоннаны құрады. Жерді жекешелендіруге байланысты 10 жыл бойы топырақта ыдырап, өсімдіктерді және жануарларды ластап, осы аумақтарда тұратын халыққа әсер етуі мүмкін пайдаланылмаған пестицидтер туралы ақпарат белгісіз болып қалды.

Адам денсаулығына осы пестицидтердің және олардың ыдырау өнімдерінің уытты әсері ұзақ уақыт бұрын расталған және олардың қолданылуына тыйым салынған. Пестицидтер қаупі сондай-ақ, бастапқыда уытсыз болып көрінгенімен қосылыстар топырақта ыдырап, тұрақты және уытты метаболиттерді түзгенде және кейіннен олар тағам өнімдерінде жиналғанда артады. Пестицидтік ластанудың қауіптілігін бағалаудың қабылданған әдістерімен адамға қауіпін есептеуге мүмкіндік береді. Дегенмен, бұл әдістер аймақтық орташа мәліметтерді пайдаланғандықтан, ал тұтыну нормалары және жеке ерекшеліктері әр адамда әр түрлі болғандықтан, пестицидтердің әсерінің толық бағасын алу үшін адамның жеке ерекшеліктерінің кең ауқымын ескере отырып басқа тәсілдер ұсыну қажет болды.

Зерттеудің мақсаты – Алматы облысының елді мекендерінде тұратын адамдар арасында пестицидтердің ұзақ мерзімді әсерінің қауіпін когорттық және жеке деңгейлерде бағалау.

Зерттеу міндеттері:

1. Қызылқайрат, Бесқайнар, Белбұлақ, Амангелді, Еңбекші, Қаракестек және Үмбетәлі ауылдарында пестицидтермен ластанған аумақтарда тұратын халықтың цитогенетикалық талдауы.
2. Адам популяцияларында ксенобиотиктердің детоксикациясы гендерінің (*GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *CYP1A1* және т.б.), ДНҚ репарация (*XRCC1*, *XRCC3*, *XPB* және т.б.) және антиоксиданттық қорғаныс (*SOD1*, *GCLC*, *GCLM*, *GPX4*, *NFE2L3* және т.б.) полиморфизмдерінің болуына молекулярлық-генетикалық талдау.
3. Зерттелетін ауылдардың тамақ өнімдерінің ластану қауіпін когорттық талдау.
4. Тұрғындар генетикалық жағдайына және денсаулығына пестицидтердің әсерін зерттеу үшін корреляциялық талдау.
5. Адамның генетикалық статусына және денсаулығына пестицидтермен ұзақ мерзім бойы ластаудың әсерін жеке бағалау әдістерін әзірлеу.

Зерттеу объектісі: Алматы облысының Қызылқайрат, Бесқайнар, Белбұлақ, Амангелді, Еңбекші, Қаракестек және Үмбетәлі ауылдарында тұратын аралас ұлтты тұрғындар (249 адам), ұзақ уақыт бойы хлорорганикалық пестицидтердің әсеріне ұшыраған. Бақылау тобы ретінде пестицидтермен ластанбаған аумақтардан 343 адам таңдалды.

Зерттеу пәні: Адамдардың қолданатын тамақтарының пестицидтермен ластанудың ұзақ мерзімді әсерінің генотоксиндік және токсиндік әсерлері.

Зерттеу әдістері: ДНҚ-ын бөліп алу, полимеразды тізбекті реакциясы, гель-электрофорез, рестрикциялық фрагменттердің ұзындығының полиморфизмін талдау, адамның перифериялық қан лимфоциттерін өсіру, рутиндік әдіспен кариограммалық талдау,

толық геномдық микрочиптік генотиптеу, биоақпараттық талдау, Спирменнің рангтік корреляциясы, жеке сауалнамалық әдіспен сауалнама, қауіпті когорттық талдау үшін күнделікті тұтыну мөлшерін (EDI) есептеу әдісі, жеке қауіпті талдау үшін көптік регрессия әдісі.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы

Пестицидтердің әсерінен репродуктивтік қызметінің бұзылуы және канцерогенез, сирек кездесетін нейродегенеративті және жүрек-қан тамырлары ауруларының көріністері, тіпті генетикалық зақымданулар және хромосомалық өзгерістердің индукциясы сияқты көптеген зиянды зардаптарға байланысты екендігі белгілі.

Бірқатар популяцияларда пестицидтердің әсеріне байланысты хромосомалық зақымданулар анықталды. Кейбір зерттеушілер зерттелген когорттарда хромосомалық аберрациялардың жиілігінде бақылау тобына қарағанда маңызды айырмашылықтарды байқады, алайда басқа зерттеулер мұндай байланысты растамады. Бұл қайшылықтар тұрақсыз хромосомалық аберрациялар (дицентриктер, ацентриктер, интерстициальдық делециялар және т.б.) жасушалардың пролиферациясы кезінде жойылуы мүмкін екендігімен байланысты болуы мүмкін. Пестицидтердің мутагендік әсері, қан лимфоциттеріндегі тұрақсыз хромосомалық аберрациялардың жиілігі бойынша өлшенеді, тек пестицидтердің әсерінен 2–3 ай өткеннен кейін, жасушалар бөлінгеннен кейін ғана анықталуы мүмкін. Пестицидтер салдарынан созылмалы әсерге ұшыраған популяциялардың кейбір цитогенетикалық талдауларында, зерттеушілер пестицидті тағамдарды жеке тұтыну күні және қан алу уақыты арасындағы уақыт айырмашылығын есептей алмады деп санаймыз. Сондықтан, тұрақсыз хромосомалық аберрациялардың деңгейі денсаулық қаупінің сенімді көрсеткіші ретінде пайдаланылуы мүмкін емес. Пестицидтердің мутагендік токсиканттар метоболизмін және ДНҚ репарациясын реттейтін бірқатар гендердің экспрессиясы да әсер етуі мүмкін. Зерттеулер ДНҚ репарациясына, ксенобиотиктердің детоксикациясына және антиоксиданттық қорғанысқа қатысатын гендердің мутацияларының және полиморфизмдерінің бірқатар көпфакторлы аурулардың дамуымен маңызды ассоциацияларын анықтайды. Бұл гендердің генетикалық полиморфизмі пестицидтердің әсеріне сезімталдығының және олардың уыттылығының детерминантасы болуы мүмкін. Бұл гендердің генетикалық статусын пестицидтердің токсиндік әсерін бағалау кезінде ұзақ уақыт бойы қоршаған ортадағы пестицидтердің әсеріне ұшыраған популяциялар топтарын ескеру керек.

Қабылданған қауіпті есептеу әдістері тұрғындардың пестицидтерге ұшырағаннан кейінгі қысқа мерзімді және ұзақ мерзімді денсаулық қаупін теориялық тұрғыдан бағалауға, сондай-ақ ең қауіпті пестицидтер топтарын анықтауға мүмкіндік береді. Бірақ, бұл әдіс денсаулық қаупін бағалау үшін қабылданғанымен, ол әрбір адамның жеке өзгерістерін ескермейді, тек тұрғындар арасындағы дене салмағы және тамақтанудың орташа мәндерін ғана бағалайды. Тұтыну нормалары және жеке ерекшеліктері әр адамда әр түрлі болғандықтан, пестицидтердің әсерінің қаупін бағалау үшін туа біткен факторлар және қоршаған орта факторларының, сондай-ақ тамақтану әдеттерінің үлесін бағалау маңызды болды.

Бұл жұмыста токсиндік заттарға ұзақ уақыт ұшыраған адамдар когортасының молекулярлық-эпидемиологиялық зерттеуі үшін пестицидтердің әсерінің жеке қаупін бағалау алғаш рет енгізілді. Бұл баға зерттелетін топтың сауалнама барысында анықталған көптеген факторларды қамтиды.

Ғылыми және тәжірибелік маңызы

Зерттеу нәтижелері пестицидтермен ластануының потенциалды медициналық және генетикалық тәуекелдерін егжей-тегжейлі талдау әдістемесін ұсынады, мұнда адамның жеке физиологиялық және өмірлік ерекшеліктері, мысалы, жас, жыныс, салмақ, темекі шегу, алкоголь ішу және т.б. ескеріледі.

Зерттеу нәтижелері әр түрлі ластаушы заттардың қаупін бағалау үшін бар әдістемені жетілдіруге көмектеседі, бұл ретте адамның жеке ерекшеліктерінің кең спектрін,

денсаулыққа токсиканттардың және адамның генетикалық статусы үшін қауіптілігін бағалау мүмкіндігін және халықтың ең осал топтарын анықтау мүмкіндігі ескеріледі.

Қорғауға шығарылатын негізгі ережелер:

1. Зерттелген ауылдарда, әсіресе Белбұлақ ($3,00 \pm 0,33\%$), Қызылқайрат ($2,84 \pm 0,37\%$) және Еңбекші ($3,04 \pm 0,33\%$) ауылдарында хромосомалық аберрациялар деңгейі бақылау ретінде алынған Тауқаратұрық ауылы тұрғындарымен ($0,85 \pm 0,12\%$) салыстырғанда едәуір жоғары ($p < 0,0001$) екендігі анықталды. Хромосомалық аберрациялардың табиғаты мутагендік әсердің химиялық сипатын көрсетеді.

2. XRCC1 Arg399Gln (rs25487), SOD1 (rs1041740, rs138002121), CYP1A1 (rs17861084), CYP2B6 (rs8192718), CYP2D6 (rs186133763), GSTP1 (rs1138272) және GCLC (rs12524550) гендері үшін мутантты аллельдердің жиілігінің артуы байқалды, бұл көрсеткіштер сол сияқты аралас этникалық шығу тегі бар тұрғындардың орташа мәндерімен салыстырғанда жоғары. GSTP1 генінің сирек кездесетін аллелі (rs1871042) зерттелген үлгі үшін популяцияның орташа көрсеткішінен де асып түсті.

3. Ең үлкен қауіп алмалар, қиярлар, болгар бұрышы, сүт және ет өнімдерін тұтынумен байланысты екендігі анықталды, бұл өнімдерде альдрин, эндосульфан және гептахлор тобының пестицидтерінің жоғары мөлшері анықталды және жоғары қауіп индексімен сипатталды (қауіп индексі 3-тен 20-ға дейін және жоғары).

4. Азық-түлік өнімдеріндегі пестицидтердің мөлшері негізінде жүргізілген корреляциялық талдау хромосомалық аберрация жиілігі және тағамдық өнімдердегі пестицидтердің мөлшері арасындағы байланыстың бар екенін көрсетті. Талдау нәтижесінде ластанған өнімдерде пестицидтердің ықтимал қауіпті топтары бар екені анықталды. Өсімдік тектес өнімдерден алып зерттелген пестицидтердің барлық топтары үшін аберрация жиілігі және пестицидтердің жинақталуы арасындағы ең күшті тікелей байланыс алмұрт, қызанақ және қиярға тән болды. Корреляция коэффициенті 0,9-дан асты. Жануарлардан алынатын өнімдер үшін мұндай тәуелділік тек ет үлгілерінде байқалды (ДДТ және эндосульфан тобы - Cr 0,84 және альдрин тобы Cr -0,89; NSV Cr -0,99). Алма үшін хромосомалық аберрация жиілігі және пестицидтердің жинақталуы арасындағы күшті корреляция алдрин тобында (Cr -0,94) және ДДТ тобында орташа маңыздылық (Cr -0,69) анықталды. Сүт өнімдерінде гексахлорбензол тобында тек күшті корреляция анықталды.

5. Денсаулыққа жеке қауіптілікті бағалаудың жеке көрсеткіштерін бағалау, тағам өнімдеріндегі пестицидтердің артықшылығы (33%, әсер коэффициенті = 0,8601) және ксенобиотиктерді детоксикациялау жүйесінің жағдайы (26%, әсер коэффициенті = 0,5485) денсаулық жағдайына ең маңызды әсер ететін факторлар екендігі анықталды. Мутациялардың пайда болу қаупіне әсер ететін факторларға тамақ өнімдерінің пестицидтермен ластану деңгейі (29%, әсер ету коэффициенті = 0,8569), темекі шегу (26%, әсер ету коэффициенті = 0,9268) және ДНҚ жөндеу жүйесінің функционалдық жағдайы (24%, әсер ету коэффициенті = 1,1351) жатады.

Зерттеулердің негізгі нәтижелері және қорытындылары.

1. 191 адамға, оның ішінде 141 адам Талғар ауданының бес ауылынан (Қызылқайрат, Бесқайнар, Белбұлақ, Амангелді, Еңбекші ауылдары), ал 50 адам Жамбыл ауданының ауылдарынан (Қаракестек және Үмбетәлі ауылдары) цитогенетикалық талдау жүргізілді. Тағы 50 адам бақылау ретінде Тауқаратұрық ауылынан алынды. Зерттелген елді мекендерде аберрациялар жиілігі бақылау тобымен салыстырғанда айтарлықтай жоғары екендігі анықталды. Барлық зерттелген ауылдар үшін мутагендік әсердің химиялық сипатын көрсететін хроматидтік типтегі мутациялардың үстемдігі байқалды.

2. Жалпы когортада зерттелген аллельдердің жиілігі, хлорорганикалық пестицидтерді биотрансформациялауға қатысатын гендер үшін күтілетін деңгейлерде болды, бұл аралас азиялық-еуропалық популяцияларға тән. XRCC1 Arg399Gln (rs25487), SOD1 (rs1041740, rs138002121), CYP1A1 (rs17861084), CYP2B6 (rs8192718), CYP2D6 (rs186133763), GSTP1 (rs1138272) және GCLC (rs12524550) гендері үшін мутантты аллельдердің жиілігі көтерілген, бұл көрсеткіштер сол сияқты аралас этникалық шығу тегі бар тұрғындардың орташа

мәндерімен салыстырғанда жоғары. GSTP1 генінің сирек кездесетін аллелі (rs1871042) зерттелген үлгі үшін популяцияның орташа көрсеткішінен де асып түсті. GCLC генінің полиморфты нұсқасы (rs524553) орташа популяциялық көрсеткіштен төмен болды. Молекулалық-генетикалық талдау глутатион-S-трансфераз M1 және T1 гендерінің қызметі аллельдер жиілігінің артуын анықтады, бұл гендердің детоксикациялау функцияларының төмендеуіне және зерттелген популяциялардың денсаулық жағдайына әсер етуі мүмкін.

3. Жеке сауалнама барысында 151 адамнан толық сұралды, олардың әрқайсысы пестицид қоймаларының жанында тұрады. Әрбір сауалнама толтырушыдан тамақтану ерекшеліктері туралы жеке мәліметтер (күніне тұтынылатын тамақтың мөлшері мен түрі), сондай-ақ созылмалы аурулар, зиянды әдеттер және тамақ өнімдерінің келу көздері туралы ақпарат алынды. Зерттеу мәліметтері бойынша, халықтың тамақтану әдеттері ауылға байланысты әр түрлі, бұл белгілі бір орташа мәндерді пайдаланған кезде нақты қауіптерді есептеуді қиындатады. Адамдардың медициналық жағдайы клиникалық тексеру және сауалнама арқылы бағаланды. Жүрек-қан тамырлары аурулары (гипертония, ишемия, атеросклероз және т.б.) үстемдік етті (38 адам, 25,17%). Екінші орында 10 сауалнама толтырушыда анықталған тыныс алу органдарының созылмалы аурулары болды (6,62%). Бес адамда онкологиялық аурулар анықталды (3,31%), бүйрек, қалқанша безі және қант диабеті ауруларының жекелеген жағдайлары тіркелді, ал он тоғыз адам (12,58%) денсаулығына әр түрлі шағымдар жасады.

4. Корреляциялық талдау адам лимфоциттеріндегі хромосомалық аберрациялардың (ХА) жоғары жиілігі алма, алмұрт, қияр, қызанақ және еттегі ДДТ пестицидтерінің мөлшерімен айтарлықтай сәйкес келетінін көрсетті. Гексахлорбензол тобындағы пестицидтер алма, алмұрт, қызанақ, қияр, ет және сүтті тұтынатын популяцияларда ХА индукциясы жоғары болатындығын көрсетті. Азық-түлік өнімдеріндегі ГХГЦ тобындағы пестицидтер алма, алмұрт, қияр, қызанақ, болгар бұрышы үшін адам лимфоциттеріндегі ХА индукциясымен корреляцияны анықтады. Алма, алмұрт, қызанақ, қияр, ет және сүттегі альдрин тобының пестицидтерінің мөлшері және ХА жиілігінің жоғарылауы арасында маңызды корреляция анықталды. Пестицидтердің эндосульфанды тобы алмұрт, қияр, қызанақ және болгар бұрышы, сондай-ақ Бесқайнар ауылынан алынған ет өнімдері үшін адам лимфоциттерінің ХА жиілігімен анықталды. Азық-түлікте гептахлор тобы пестицидтерінің болуы алмұрт, алма, қызанақ және қияр өнімдері үшін адам лимфоциттеріндегі ХА индукциясымен корреляциясы анықталды. Жануарлардан алынатын өнімдер бойынша гептахлор тобының айтарлықтай орташа корреляциясы тек Амангелді және Қызылқайрат ауылының ет өнімдерінен ғана байқалды. Бұл деректер зерттелетін популяциядағы хромосомалық аберрацияларға әсер ететін факторларды жақсырақ түсінуге ықпал ететін белгілі бір тағамдарды тұтыну және пестицидтердің белгілі бір топтарының болуы арасындағы ықтимал байланыстарды көрсетеді.

5. Қысқа мерзімді және ұзақ мерзімді қауіптердің когорттық талдауы ең үлкен қауіп алмалар, қиярлар, болгар бұрышы, сүт және ет өнімдерін тұтынумен байланысты екендігін анықтады, өйткені бұл өнімдерде альдрин (HQ = 20%, HI > 20%), эндосульфан (HQ = 4%; HI = 14%) және гептахлор (HQ = 4%; HI = 9%) тобының пестицидтерінің жоғары мөлшері анықталды. Еңбекші ауылында қауіп коэффициенті 20% асады, әсіресе болгар бұрышы және сүтте, бұл пестицидтердің ұзақ мерзімді әсерінің қауіпі жоғары екендігін көрсетті.

6. Жеке сипаттамалардың кең ауқымын ескере отырып, тәуекелді бағалаудың жеке көрсеткіштерін есептеу нұсқасы ұсынылды, оның ішінде әрбір жеке тұлға үшін нақты тәуелдік тұтыну (ADI) мөлшерінің пестицидтің белгілі бір түрінің рұқсат етілген тәуелдік тұтыну мөлшерінен (EDI) артық дәрежесін есептеу. Денсаулыққа жеке қауіптілікті бағалаудың жеке көрсеткіштерін бағалау көрсеткендей, денсаулық жағдайына ең көп әсер ететін факторлар тағам өнімдеріндегі пестицидтердің артықшылығы (әсер коэффициенті = 0,8601) және ксенобиотиктерді детоксикациялау жүйесінің жағдайы (әсер коэффициенті = 0,5485) болды. Т-тест пестицидтердің және ауыр металдардың артықшылығын денсаулық үшін қауіпін есептеу кезінде маңыздылығын растайды (T3 = 2,562 (>2,263), T4 = 2,962

(>2,263)). Мутация қаупіне ең көп әсер ететін факторлар тағам өнімдеріндегі пестицидтердің ластану деңгейі (әсер коэффициенті = 0,8569), темекі шегу (әсер коэффициенті = 0,9268) және ДНҚ жөндеу жүйесінің функционалдық жағдайы (әсер коэффициенті = 1,1351) болды. Дегенмен, ДНҚ жөндеу гендері факторының сенімділігі расталмады ($T5 = 1,905$ (<2,693)), ал пестицидтердің ластану факторы расталды ($T2 = 3,028$ (>2,693)).

Автордың жеке үлесі

Автор зерттеудің барлық кезеңдеріне тікелей қатысты: мақсаттарды және міндеттерді анықтау, жобаны әзірлеу, биоматериал жинау, ДНҚ бөліп алу, тұрғындардан жеке сауалнама жасау, одонуклеотидті полиморфизмдерді анықтау, деректер базасын құру, деректерді статистикалық өңдеу, алынған нәтижелерді түсіндіру және қорытындыларды тұжырымдау, жеке қауіптерді бағалау әдісін әзірлеу.

Ғылыми жұмыстар жоспарымен байланыс

Зерттеу BR05236379 “Алматы облысындағы пайдаланылмаған және қолдануға тыйым салынған пестицидтердің генетикалық статусын және тұрғындар денсаулығына әсерін кешенді бағалау” және AP09260631 “Пестицидтік ластануға ұзақ уақыт ұшыраған адамдардың антиоксиданттық қорғаныс және иммундық жауап гендерінің полиморфизмін зерттеу” жобалары аясында орындалды.

Жұмыстың апробациясы

Зерттеу нәтижелері ғылыми конференцияларда ұсынылды:

1. The 46th FEBS Congress “The Biochemistry Global Summit” (Лиссабон, Португалия, 9-14 шілде 2022 ж.)
2. The 47th FEBS Congress “Together in bioscience for a better future” (Тур, Франция, 8-12 шілде 2023 ж.)
3. BIO Web of Conferences “International Scientific Forum “Modern Trends in Sustainable Development of Biological Sciences” (Алматы, Қазақстан, 27-28 наурыз 2024 ж.)

Зерттеудің негізгі нәтижелері жыл сайын Генетика және физиология институтының молекулярлық генетика зертханасының ғылыми семинарларында, сондай-ақ Генетика және физиология институтының аралық зертханалық семинарында ұсынылды. Диссертациялық жұмыс нәтижелері ПЦФ BR05236379 жобасы бойынша жыл сайынғы ҒЗЖ есептеріне (2018–2020 жж.) және гранттық жоба AP09260631 бойынша (2021–2023 жж.) енгізілді.

Жарияланымдар

Зерттеу тақырыбы бойынша 10 ғылыми еңбек жарияланды, оның ішінде:

Web of Science базасындағы 1-2 квартильдерге кіретін ғылыми басылымдарда 3 мақала, ғылым және жоғары білім саласындағы сапаны қамтамасыз ету комитеті ұсынған отандық журналдарда 3 мақала; халықаралық конференцияларға 3 тезис және 1 әдістемелік нұсқаулық.