

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр угля и углехимии сибирского отделения
российской академии наук»

на правах рукописи

Марущак Анна Владимировна

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ
ФОРМИРОВАНИЯ ГЕНОМНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ У РАБОТНИКОВ
УГОЛЬНЫХ ТЕПЛОЭЛЕКТРОСТАНЦИЙ**

1.5.7 – Генетика

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических
наук, профессор
Минина Варвара Ивановна

Кемерово – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	18
1.1. Источники генотоксического риска у работников угольных теплоэлектростанций	18
1.2. Использование микроядерного теста для оценки генотоксических эффектов угольных предприятий.....	22
1.3. Изучение эпигенетических эффектов воздействия производственной среды.....	26
1.4. Вклад генетического полиморфизма в индивидуальную чувствительность к факторам среды	28
1.4.1. Полиморфные варианты генов систем репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков	29
1.4.2. Роль генетических вариантов в формировании индивидуальной чувствительности к факторам среды угольных предприятий	32
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	37
2.1. Дизайн исследования	37
2.2. Характеристика обследованных групп	40
2.3. Методы анализа	43
2.3.1. Микроядерный тест в лимфоцитах периферической крови с блокировкой цитокинеза.....	43
2.3.2. Экстракция ДНК.....	45
2.3.3. Определение полиморфных вариантов генов систем репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков	47
2.3.4. Анализ статуса метилирования промоторных областей изученных генов...	53
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	75
3.1. Показатели микроядерного теста у рабочих угольных теплоэлектростанций	75
3.1.1. Общая характеристика цитогенетических и пролиферативных показателей в изученных группах.....	75

3.1.2. Оценка роли возможных конфаундеров в формирование цитогенетических и пролиферативных показателей микроядерного теста в изученных группах.....	78
3.2. Статус метилирования промоторных областей ключевых генов систем репарации ДНК и метаболизма ксенобиотиков у работников угольных теплоэлектростанций и в группе сравнения.....	98
3.2.1. Профиль метилирования промоторных областей изученных генов	98
3.2.2. Изучение возможного влияния пола, возраста, статуса курения, стажа работы и конкретного производственного цеха на изменение статуса метилирования промоторных регионов изученных генов у работников угольных теплоэлектростанций	103
3.2.3. Анализ цитогенетических повреждений в связи с уровнем метилирования промоторных областей изученных генов	119
3.3. Анализ аллельных вариантов генов ферментов репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков в исследуемых группах	129
3.3.1. Полиморфизм изученных генов	129
3.3.2. Анализ накопления цитогенетических повреждений в связи с индивидуальными вариантами генов систем репарации ДНК и метаболизма ксенобиотиков	135
3.3.3. Оценка распределения степени метилирования промоторных областей в связи с индивидуальными вариантами изученных генов	141
3.4. Поиск ассоциаций цитогенетических нарушений и изученных эпигенетических характеристик с аллельными вариантами генов, контролирующих системы репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков у работников угольных теплоэлектростанций	146
3.5. Выявление ассоциаций совокупности генетических и средовых факторов с цитогенетическими и эпигенетическими характеристиками работников угольных теплоэлектростанций	173
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	180
ВЫВОДЫ	186
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	189

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	192
ПРИЛОЖЕНИЕ А	252
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	254

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Поддержание постоянства наследственного материала является ключевым условием обеспечения нормальной жизнедеятельности организмов. Известно, что практически все патологии связаны с воздействием на ядерный аппарат клеток организма (Юркин, 2002). Выявление профилей генетического риска особенно актуально в группах, профессионально контактирующих с комплексом мутагенных факторов.

Известно, что работа угольных теплоэлектростанций (ТЭС) связана с появлением большого количества загрязнителей, способных непосредственно воздействовать на геном и здоровье человека (Минина и др., 2019; Hendryx, Zullig, Luo, 2020; Tong et al., 2020; Zhao et al., 2022). В воздухе рабочих зон угольных ТЭС находятся пылевые частицы разного размера, зола, тяжёлые металлы, бензол, полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), фенол, оксид углерода, радон и продукты его распада и пр. Воздействие на организм перечисленных мутагенов обуславливает высокую генотоксическую опасность для работников (Donbak et al., 2005; Kvitko et al., 2012; León-Mejía et al., 2016; da Silva et al., 2021; Muller et al., 2022; Wang et al., 2023; Wultsch et al., 2024). Высокая опасность производственной среды для здоровья работников стала причиной практически полного отказа многих стран от эксплуатации угольных теплоэлектростанций. Однако для угольных регионов мира всё ещё преобладает высокая экономическая эффективность, и число действующих угольных ТЭС остается довольно высоким. В связи с этим крайне важна задача снижения генотоксических рисков у действующих работников угольной энергетики, поскольку она имеет не только фундаментальное, но и прикладное значение.

Анализ нарушений ДНК проводится при использовании целого комплекса цитогенетических и молекулярно-генетических методик. Высокой точностью отличаются современные подходы с использованием полногеномного

секвенирования, позволяющие выявлять новые мутационные паттерны в клетках, включающие замены оснований, небольшие вставки и делеции (Pleguezuelos-Manzano et al., 2020; Pan et al., 2021). Однако подобный анализ опирается на математические модели, чей профиль чувствителен к методу анализа, что обуславливает практическую ценность рутинных цитогенетических исследований (анализ хромосомных aberrаций, микроядерный тест, метод ДНК-комет и др.), которые обеспечивают прямую и интерпретируемую визуальную цитологическую картину.

Анализ микроядер широко применяется для изучения кластогенных эффектов воздействия химических соединений, тяжёлых металлов (Jayawardena, Wickramasinghe, Udagama, 2021; Ek-Huchim et al., 2022; Del Carmen et al., 2023), лекарств (Kishino et al., 2019; Struys et al., 2023), а также для определения последствий оксидативного стресса и риска развития различных патологий (Deo, Fenech, Dhillon, 2021; Vecchiotti et al., 2021; de Souza et al., 2022; Parveen et al., 2023). Микроядерный тест с блоком цитокинеза, выполненный на лимфоцитах крови (cytokinesis blocked micronucleus test, CBMN), имеет целый ряд достоинств по сравнению с другими методами регистрации генотоксических эффектов (Ингель, 2006; Fenech, Bonassi, 2011; Kirsch-Volders et al., 2014) и позволяет определить широкий спектр как цитогенетических повреждений, так и изменений пролиферативной активности клеток.

Помимо учёта непосредственно повреждений ДНК, генотоксические эффекты могут оцениваться методами, направленными на изучение эпигенетического статуса индивида. Широкое распространение получили методы изучения уровней метилирования как генома в целом, так и конкретных маркеров (Ganie et al., 2023; Mamontova et al., 2024).

Индивидуальная чувствительность к действию генотоксических факторов внешней и внутренней среды определяется совокупностью унаследованных генетических вариантов, регулирующих молекулярные системы защиты организма. Так, вариабельность генов, контролирующих активность ферментов метаболизма ксенобиотиков, определяет индивидуальные отличия в

чувствительности организма к действию химических токсикантов (Oliveira de Araújo Melo et al., 2020; León-Mejía et al., 2021; Quintana-Sosa et al., 2023), в то время как гены, регулирующие репарационные механизмы ДНК определяют возможности поддержания стабильности генома (Wang et al., 2022). К настоящему времени выявлено достаточно большое количество маркеров, ассоциированных с накоплением повреждений ДНК в результате действия генотоксических факторов химической и радиационной природы (Sinitsky et al., 2015; Luna-Carrascal, Quintana-Sosa, Olivero-Verbel, 2022; Espitia-Pérez et al., 2024).

Таким образом, изучение генотоксических эффектов у работников угольных теплоэлектростанций сохраняет высокую целесообразность, обусловленную стойким противоречием между экономической выгодой и доказанными рисками для здоровья. Комплексный анализ, сочетающий чувствительные цитогенетические методы (например, микроядерный тест) с современными молекулярно-генетическими подходами, позволяет не только оценить уровень и спектр повреждений ДНК, но и выявить индивидуальные профили генетического риска, связанные с полиморфными вариантами генов метаболизма ксенобиотиков и репарации ДНК. Результаты подобного исследования могут способствовать пониманию механизмов действия комплексных производственных мутагенов и стать основой для разработки систем биомониторинга, профилактических мероприятий и персонализированных подходов к охране здоровья работников в угольной энергетике, особенно в регионах, где её эксплуатация продолжается.

Степень разработанности темы исследования

Несмотря на актуальность проблемы, на настоящий момент имеется ограниченное число работ, посвящённых детальному изучению генотоксических эффектов у работников угольных тепловых электростанций (Celik et al., 2007; Савченко, 2015; Федосеев, Степанов, Минина, 2021). Был изучен уровень и спектр хромосомных aberrаций и выявлены генотипы, ассоциированные с возрастанием уровня хромосомных повреждений у рабочих (*GSTT1 (del)*, *XRCC1 (rs25489)*)

(Савченко, 2015). В небольшом пилотном исследовании с использованием микроядерного теста было отмечено увеличение частоты лимфоцитов с микроядрами, мостами, протрузиями у работников угольной ТЭС (Федосеев, 2021). Целесообразно верифицировать эти данные на репрезентативной выборке.

Практически неизученными остаются такие вопросы как эпигенетический статус, интенсивность пролиферации и показатели апоптоза в лимфоцитах крови рабочих ТЭС в связи с индивидуальными унаследованными вариантами генов, кодирующих ферменты репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков.

Цель исследования

Установить молекулярно-генетические особенности формирования геномной нестабильности у работников угольных теплоэлектростанций на основе комплексного анализа показателей микроядерного теста, статуса метилирования промоторов генов репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков и полиморфизма генов-кандидатов.

Задачи исследования

1. Охарактеризовать показатели микроядерного теста с блоком цитокинеза в лимфоцитах периферической крови у работников угольных теплоэлектростанций в сравнении с контрольной группой с учётом известных конфаундеров (возраст, пол, статус курения, стаж, производственный участок, хронические заболевания).

2. Оценить статус метилирования промоторных регионов генов репарации ДНК (*XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*) и биотрансформации ксенобиотиков (*GSTP1*, *CYP1A1*, *GSTT1* – у носителей функционального аллеля) у работников угольных ТЭС и лиц контрольной группы; проанализировать связь уровня метилирования с производственными (стаж, производственный участок) и индивидуальными (пол, возраст, статус курения, хронические заболевания) факторами.

3. Провести сравнительный анализ частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов репарации ДНК (*XRCC1 rs25489*, *XRCC2 rs3218536*, *XRCC3 rs861539*, *ERCC2 rs13181*, *ERCC5 rs17655*) и биотрансформации ксенобиотиков (*GSTP1 rs1138272*, делеция *GSTT1*, *CYP1A1 rs4646903*) у работников угольных ТЭС и лиц контрольной группы.

4. Установить ассоциации показателей микроядерного теста со статусом метилирования промоторов генов-кандидатов и с полиморфными вариантами генов репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков у работников угольных ТЭС; идентифицировать маркерные комбинации, ассоциированные с повышенным риском геномной нестабильности, методами логистической регрессии и анализа межлокусных взаимодействий.

5. Построить функциональную сеть взаимодействий генов-кандидатов, интегрирующую пути детоксикации ксенобиотиков и репарации ДНК, с целью обоснования кооперативного вклада изученных генов в единую систему защиты генома при воздействии производственных поллютантов.

6. Оценить относительный вклад производственных (стаж, производственный участок), индивидуальных (пол, возраст, статус курения, хронические заболевания) и молекулярных (генетический полиморфизм, статус метилирования промоторов генов-кандидатов) факторов в формирование геномной нестабильности у работников угольных ТЭС методами многофакторного регрессионного анализа.

Научная новизна работы

Впервые осуществлена комплексная (цитогенетическая, эпигенетическая и генетическая) оценка состояния генома работников угольных ТЭС, показавшая сочетанное негативное влияние производственной среды на разные уровни его стабильности.

На репрезентативной выборке жителей промышленного региона (n=936) впервые у рабочих теплоэлектростанций верифицировано повышение (по

сравнению с неработающими на производстве индивидами) частоты встречаемости ядерных повреждений (двухядерных клеток с микроядрами, мостами и протрузиями), частоты клеточной гибели (апоптоз) и зарегистрировано снижение пролиферативной активности лимфоцитов. Впервые определены цеха, сотрудники которых обладают наибольшей частотой цитогенетических нарушений и уровня метилирования изученных генов: топливно-транспортный, тепловой автоматики и измерений, ремонтный и химический.

У рабочих угольных теплоэлектростанций установлена большая распространённость гиперметилованного статуса промоторов генов *XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*, *GSTP1*, *GSTT1*, *CYP1A1* по сравнению с не работающими на производстве индивидами.

Показано, что эпигенетические изменения (в частности, гиперметилирование промотора гена *ERCC2*) выступают значимым связующим звеном между стажем работы и увеличением частоты цитогенетических повреждений, формируя основу для модели «производственный стаж → эпигенетические модификации → геномная нестабильность».

У работников ТЭС выявлены генетические маркеры как повышенного риска (*XRCC1*, *XRCC2*, *CYP1A1*, *GSTT1*), так и пониженного риска (*ERCC5*) развития цитогенетических повреждений, что расширяет понимание механизмов индивидуальной устойчивости.

Впервые выявлена ассоциация между полиморфизмом генов репарации (*XRCC1*, *ERCC5*) и гиперметилованием их собственных промоторов, указывающая на наличие генетически-контролируемой эпигенетической реакции на профессиональную экспозицию.

С использованием методов системной биологии (анализ белковых сетей STRING, функциональное обогащение KEGG/Reactome) построена и охарактеризована функциональная сеть взаимодействия белков, кодируемых изученными генами, что позволило обосновать их кооперативное действие в единой системе защиты генома и идентифицировать *XRCC1* и *ERCC2* как ключевые интегративные узлы.

Впервые методами многофакторного регрессионного анализа установлены значимые детерминанты геномной нестабильности у работников угольных ТЭС: производственный стаж, принадлежность к производственному участку и гиперметиличирование промотора гена *ERCC2*.

Теоретическая и практическая значимость

Проведённое исследование расширяет знания в области генетической токсикологии промышленных производств относительно особенностей накопления ядерных повреждений у работников угольных теплоэлектростанций с учётом возраста, пола, производственного участка, генетического полиморфизма и эпигенетических характеристик. Полученные результаты по метилированию промоторных областей генов репарации ДНК *XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5* и биотрансформации ксенобиотиков *GSTP1*, *GSTT1*, *CYP1A1* формируют представления о возможности влияния производственной среды теплоэлектростанций на эпигенетический статус изученных генов. Результаты комбинаторного анализа вносят вклад в понимание природы геномной нестабильности, демонстрируя, что синергическое взаимодействие нескольких аллельных вариантов и эпигенетических статусов оказывает более сильное влияние на геномную стабильность, чем каждый фактор в отдельности. Впервые предложена и экспериментально обоснована функциональная модель взаимодействия генов репарации и детоксикации (*XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*, *CYP1A1*, *GSTP1*, *GSTT1*) в ответ на продолжительное действие сложной смеси соединений, присутствующих в угольных ТЭС, что углубляет понимание фундаментальных механизмов адаптации и клеточной защиты. Выявленные протективные аллельные варианты (*ERCC5* GG) вносят вклад в развитие представлений генетической устойчивости к неблагоприятным факторам среды угольных предприятий. Полученные данные показывают, как эпигенетические изменения могут определять цитогенетический ответ на воздействие сложной смеси факторов производственной среды угольных

теплоэлектростанций в связи с унаследованными вариантами генов систем репарации ДНК и метаболизма ксенобиотиков. Проведенное исследование вносит вклад в развитие молекулярной эпидемиологии, демонстрируя, что метилирование промоторных регионов генов систем репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков и наличие цитогенетических нарушений являются биомаркерами ранних, доклинических эффектов у работников угольных предприятий. Такой многоуровневый анализ может стать моделью для изучения профессиональных рисков в других промышленных отраслях.

Практическая значимость исследования состоит в потенциальной возможности использования полученных результатов для разработки способов профилактики и коррекции накопления повреждений ДНК у работников угольных производств. Полученные результаты могут быть полезны для разработки стратегий поддержания здоровья и работоспособности лиц, подвергающихся воздействию факторов производственной среды угольных предприятий. Комплексная оценка генетических вариантов и эпигенетических изменений позволяет персонифицировать уязвимость к воздействию факторов производственной среды (ротация, более частый мониторинг). Разработанные многофакторные модели риска (включающие комбинации генотипов, статус метилирования и стаж работы) могут служить основой для создания персонализированных алгоритмов прогноза развития геномной нестабильности и формирования среди работников ТЭС групп риска, нуждающихся в первоочередных профилактических мероприятиях. Обнаруженная протективная комбинация генотипов позволяет не только выявлять уязвимых, но и идентифицировать работников с потенциально более высокой устойчивостью к воздействию производственных факторов, что важно для профессионального отбора. Предложенная панель из восьми генов (*XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*, *GSTP1*, *GSTT1*, *CYP1A1*) для комбинированной оценки генетического и эпигенетического статуса может быть предложена для включения в программы углублённых медицинских осмотров работников угольной энергетики. Полученные данные обосновывают необходимость дифференцированного

подхода к медицинскому наблюдению за работниками из разных цехов (ТТЦ, ХЦ, ЦТАИ) с наибольшей частотой выявленных нарушений.

Результаты проведённого исследования могут быть также полезны при подготовке современных биомедицинских специалистов (акты о внедрении в учебный процесс кафедры генетики и фундаментальной медицины Кемеровского государственного университета (б/н от 13 ноября 2025г.), кафедры молекулярной и клеточной биологии Кемеровского государственного медицинского университета (№ 2021 от 26.11.2025г.), а также института экологии человека Федерального исследовательского центра угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук (№15538133 от 23.01.2026г.)).

Методология и методы исследования

Изучены отечественные и зарубежные исследования по теме диссертации в области оценки эффектов комплексного воздействия промышленной среды на организм работников угольных предприятий. В работе были использованы данные анкетирования обследуемых доноров, принимавших участие в исследовании. Были проведены лабораторные исследования (микроядерный тест в лимфоцитах крови, выделение ДНК и анализ её качества, бисульфитная обработка, полимеразная цепная реакция), регистрация полученных данных и статистический анализ результатов.

Положения, выносимые на защиту

1. Профессиональное действие комплекса генотоксических факторов угольных теплоэлектростанций обуславливает достоверное повышение частоты микроядер, нуклеоплазменных мостов, протрузий, апоптоза и снижение пролиферативной активности лимфоцитов периферической крови. Выраженность цитогенетических нарушений прямо зависит от стажа работы (максимальна при стаже более 20 лет) и производственного участка – наибольшие значения

зарегистрированы у работников топливно-транспортного, химического цехов и цеха тепловой автоматики и измерений.

2. Индивидуальная чувствительность к геномным повреждениям у работников угольных ТЭС имеет генетическую составляющую. Полиморфные варианты *XRCC1 rs25489*, *XRCC2 rs3218536*, *CYP1A1 rs4646903* и делеция *GSTT1* ассоциированы с повышенной частотой цитогенетических нарушений, тогда как гомозиготный по референсному аллелю генотип *ERCC5 rs17655* ассоциирован с протективным эффектом. Синергические межлокусные взаимодействия усиливают риск: максимальная частота нарушений зарегистрирована при сочетанном носительстве рискованных аллелей *ERCC2*, *XRCC1*, *CYP1A1* и делеции *GSTT1*; комбинация *XRCC2 GG* × *GSTT1(+)* ассоциирована со статистически значимым протективным эффектом в отношении цитогенетических нарушений.

3. Производственная среда угольных ТЭС ассоциирована с формированием специфического профиля гиперметилирования промоторных регионов генов репарации ДНК (*XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*) и биотрансформации ксенобиотиков (*CYP1A1*, *GSTP1*, *GSTT1*), степень выраженности которого нарастает при стаже более 20 лет и достигает максимума у работников топливно-транспортного, ремонтного и химического цехов. Гиперметилирование промотора *ERCC2* является значимым независимым предиктором частоты цитогенетических нарушений в многофакторной модели ($p < 0,001$) и представляет собой ранний эпигенетический биомаркер профессионального генотоксического воздействия. Выявленные ассоциации генотипов *XRCC1 rs25489* и *ERCC5 rs17655* со статусом метилирования соответствующих промоторов указывают на генотип-зависимый характер эпигенетических изменений при профессиональной экспозиции.

4. Многоуровневый анализ геномной нестабильности у работников угольных ТЭС позволил установить иерархическую модель её детерминации: ведущий вклад вносят производственные факторы (стаж, производственный участок) и эпигенетические изменения (гиперметилирование *ERCC2*), тогда как прямой независимый вклад генетического полиморфизма в многофакторной

модели статистически не значим. Функциональная сеть белок-белковых взаимодействий продуктов изученных генов характеризуется высокой интеграцией путей репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков с ключевой координационной ролью *ERCC2* и *XRCC1* как топологических хабов, что объясняет эпигенетическую уязвимость этих локусов при профессиональной экспозиции.

Степень достоверности и апробация результатов

Основные материалы диссертационной работы были доложены и обсуждены на Ежегодной конференции молодых ученых ФИЦ УУХ СО РАН «РАЗВИТИЕ» (Кемерово, 2023, 2024, 2025, 2026), Инновационном конвенте «КУЗБАСС: ОБРАЗОВАНИЕ, НАУКА, ИННОВАЦИИ» (Кемерово, 2022, 2024, 2025), Межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием (Кемерово, 2021, 2022, 2023, 2024, 2025, 2026), Международном конгрессе «Новейшие достижения в области медицины, здравоохранения и здоровье сберегающих технологий» (Кемерово, 2022, 2023, 2024, 2025), Всероссийской конференции с международным участием «Информационная школа молодого учёного» (Екатеринбург, 2023, 2024), IV Национальном конгрессе с международным участием по экологии человека, гигиене и медицине окружающей среды «Сысинские чтения-2024 (Москва, 2024), XI Съезде Российского общества медицинских генетиков с международным участием (Санкт-Петербург, 2025).

Личный вклад автора в проведенные исследования

Все этапы подготовки диссертационной работы выполнены лично автором. Автором проведён анализ отечественной и зарубежной литературы, обозначены цели и задачи исследования. Автор самостоятельно проводил 90 % молекулярно-генетических и цитогенетических исследований. Автор лично подготавливал

публикации по теме диссертации, осуществлял анализ анкетных данных, статистическую обработку результатов с последующей интерпретацией и формулированием выводов, а также написал и оформил данную рукопись.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 18 печатных работ, из них 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, 2 статьи в журналах, индексируемых в базах Web of Science или Scopus.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Основные выводы и положения диссертационной работы соответствуют специальности 1.5.7. – Генетика (п. 5. Мутационная изменчивость. Радиационный и химический мутагенез. Геномные и хромосомные перестройки. Модификационная изменчивость; п. 8. Эпигенетика: эпигеном; п. 20 – Популяционная генетика. Генетическая структура популяций).

Структура и объём диссертации

Диссертационная работа изложена на 254 страницах машинописного текста и включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и обсуждения, заключение, выводы, список условных обозначений и сокращений, список литературы, приложения. Список литературы состоит из 429 источников, из которых 33 отечественных и 396 зарубежных. Работа иллюстрирована 41 таблицей и 32 рисунками и дополнена приложениями.

Благодарности

Автор выражает благодарность сотрудникам ТЭЦ и донорам биоматериала, добровольно принимавшим участие в исследовании. Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю, доктору биологических наук, профессору Мининой Варваре Ивановне за постановку цели и задач, рекомендации и всестороннюю поддержку на всех этапах проведения исследования. Автор выражает благодарность коллективу лаборатории цитогенетики ФИЦ УУХ СО РАН, в частности, ведущим инженерам-технологам Титову Руслану Александровичу, Рыжковой Анастасии Владимировне, Соболевой Ольге Александровне и Тимофеевой Анне Александровне за помощь в освоении цитогенетического анализа и генотипирования. Автор также выражает благодарность коллективу лаборатории биотехнологии ФИЦ УУХ СО РАН, в частности, ведущему научному сотруднику, кандидату биологических наук Студенникову Артему Евгеньевичу за полезные рекомендации в постановке молекулярно-генетических методов и ведущему инженеру-технологу Елисейкину Алексею Михайловичу за помощь в выполнении цитогенетического и эпигенетического анализов.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Источники генотоксического риска у работников угольных теплоэлектростанций

Уголь является важнейшим топливно-энергетическим ресурсом (Ku et al., 2021), необходимым для химического производства, чёрной металлургии и пр. (Панайотти, Суржилов, 2007; Панков, Кулешова, 2019). Энергетический уголь применяется при выработке тепловой энергии на угольных электростанциях, где пылевидный или порошкообразный уголь вдувают в камеры сгорания котлов и сжигают при высоких температурах. Около 26 % мирового энергетического баланса приходится на уголь в связи с его дешевизной (Madhavi, Nuttall, 2019).

В период с 2000 по 2023 год добыча угля увеличилась в примерно в два раза за счёт увеличения его потребления в Китае и Индии (совокупная доля 46 %) и Индонезии (34 %), являющейся крупнейшим поставщиком. Доля России увеличилась с 6 до 15% (Москворецкий, 2024). Около 40 % тепловой энергии в мире производится из энергетического угля, однако, спрос для угля для её использования составляет 83 % (Kruitwagen et al., 2017).

В секторе теплоэнергетики сжигание ископаемых топливных ресурсов преобладает в объёме выбросов парниковых газов, где 44 % приходится на сжигания угля (Schernikau, 2017). В государствах, где высоко развита угольная теплоэнергетика (Китай, США, Индия, Япония, Россия), регистрируются высокие показатели загрязнения воздуха. Использование угля предоставляет энергию, при этом производятся опасные вещества и их смеси (Deng et al., 2014): углекислый газ, оксиды серы и азота (Madhavi, Nuttall, 2019), золошлаковые отходы, токсичная вода, загрязненная радионуклидами (Dmitrienko, Strizhak, 2018).

Высокотемпературная обработка угля на угольных теплоэлектростанциях способствует перепадам температуры, вибрации в помещениях, а также высвобождению и распространению различных химических соединений (Caballero-Gallardo, 2016; Bloch et al., 2018). Наиболее опасными факторами,

присутствующими в воздухе угольных теплоэлектростанций, являются угольная пыль (Sinha, Nag, 2011) и зола (Ku et al., 2021). Угольная пыль является сложной смесью химических соединений, которые способны оказывать угнетающее воздействие на организм. К числу таких соединений относятся тяжёлые металлы (Mn, Cr, Co, Zn, Ni, Cu, Hg, As, Se, Pb, Cd), аммиак, оксиды углерода и азота и пр. (Isidro Montes et al., 2004; Graber et al., 2014). Помимо этого, частицы угольной пыли способствуют долговременному процессу образования активных форм кислорода в организме человека, вследствие чего происходит активация перекисной ионизации липидов (Мун, Глушков, 2014). Угольная зола представляет собой твёрдые отходы после сжигания угля (Santhanam et al., 1979) и представляет серьёзную угрозу для экологии ввиду содержания различных загрязняющих веществ (Brandt et al., 2019), среди которых тяжёлые металлы.

Тяжёлые металлы являются загрязнителями окружающей среды из-за их накопления в биологических системах (León-Mejía et al., 2018; Vig, Ravindra, Mor, 2023). В работах (Medda, De, Maiti, 2021; Peana et al., 2022; Wang, Gan, Tang, 2024; Guo et al., 2019; Skalny et al., 2022) установлено, что ртуть, никель, а также кадмий и мышьяк ингибируют репарационные механизмы ДНК. Установлено, что тяжёлые металлы влияют на профиль метилирования ДНК, что способствует изменению уровня экспрессии генов (Zawia, Lahiri, Cardozo-Pelaez, 2009). Долгосрочное влияние подобных соединений повышает риски развития различных заболеваний, среди которых нейродегенеративные расстройства, патологии дыхательной, сердечно-сосудистой систем, органов пищеварения (Landrigan et al., 2020; Wang et al., 2022; Vig, Ravindra, Mor, 2023).

Углекислый газ (CO_2) представляет собой бесцветный газ с резким запахом, который при реакции с другими элементами может образовывать такие соединения, как серная кислота и сульфатные частицы (Romana et al., 2022). В районах, связанных с энергетикой, наблюдается огромное количество выбросов CO_2 , что представляет угрозу для здоровья населения (Romanello et al., 2023).

Диоксид азота (NO_2) входит в группу высоко реактивных газов, выделяемых в основном в процессах сгорания, связанных с автомобильным транспортом и

тепловыми электростанциями, создавая угрозу для здоровья человека и окружающей среды (Palacio et al., 2023).

На стабильность генетического материала также могут влиять полициклические ароматические углеводороды (Tang et al., 2022). ПАУ образуются при сжигании ископаемого топлива, древесины и других органических материалов. Помимо этого, полициклические ароматические углеводороды, в частности, бенз[а]пирен, оказывают генотоксическое воздействие на генетический материал человека (Arif, Adams, Johnson, 2024). Профессиональное воздействие ПАУ, включая B[a]P, происходит в основном при вдыхании и кожном контакте (Bukowska, Mokra, Michałowicz, 2022). На угольных электростанциях, в среднем, отмечено содержание ПАУ в воздухе объёмом 1 мг/м³ (IARC Working Group Benzo[a]Pyrene Iarc Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans, 2010).

Известно, что B[a]P способствует окислительному стрессу. Активируя ответ на повреждение ДНК, данное вещество ингибирует транскрипцию генов репарации неспаренных оснований (*MSH2*, *MSH6* и *EXO1*) и гена гомологичной рекомбинационной репарации *RAD51* (Allmann et al., 2020). Также утверждается, что репарация ДНК может подавляться в результате необратимой остановки клеточного цикла, вызванной p53/p21, что приводит к клеточному старению (Bukowska, Mokra, Michałowicz, 2022). Помимо этого, бенз[а]пирен может нарушать процессы метилирования генома в целом (Bukowska, Sicińska, 2021; Pandelides et al., 2023), а также изменять уровни метилирования промоторных областей генов (Tian et al., 2016, Liu et al., 2022), включая гены-супрессоры опухолей и протоонкогены, что приводит онкогенезу (Zhang et al., 2016).

Кузбасс является горячей точкой добычи, переработки и утилизации угля из-за наличия приповерхностных угольных пластов, которые являются подходящими для открытой добычи и являются экономически эффективными (Cherdantsev, Thurner, 2017). Негативное воздействие угольной промышленности на окружающую среду в Кузбассе подтверждается данными о 2,5 млрд тонн отходов, составляющих 50 % твердых отходов в России, из которых 98%

приходится на горнодобывающую промышленность (Kopytov, Manakov, Kupriyanov, 2020).

Ещё одной промышленной отраслью Кузбасса является топливно-энергетический комплекс, на долю которого приходится 36 % в производственной структуре области (Захаренков, Кислицына, 2014).

При оценке условий труда работников угольной теплоэлектростанции на юге Кузбасса (Захаренков, Кислицына, 2014) установлено превышение допустимых величин общей вибрации, высокие концентрации угольной пыли, превышающих ПДК в несколько раз. Также сообщается, что шум на различных участках носил постоянный, широкополосный характер.

Согласно литературным данным (Крылов, 2017), в Кузнецком бассейне находятся месторождения с аномальным содержанием таких токсичных элементов, как мышьяк, хром, кадмий, таллий. Более того, при сжигании добытого из этого месторождения угля в г/т летучей золы содержится 23,6 кадмия, 33,1 кобальта, 41,1 меди, 33,1 никеля и 100,1 цинка. Вдыхание таких сложных смесей повышает риск развития заболеваний дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта и сердечно-сосудистой системы, патологий кожного покрова, генетических мутаций (Badman and Jaffe, 1996; de Souza et al., 2020; Vig, Ravindra, Mor, 2023). Также, в работе (Wang et al., 2021) установлено влияние сверхнормативного уровня шума (44,07 %) на развитие глухоты у 295 работников 11 угольных теплоэлектростанций.

Исследований, посвящённых оценке мутагенного риска у работников угольных тепловых электростанций, в настоящее время немного, но все они подтверждают негативное воздействие угольных продуктов на генетическую стабильность работников на углеперерабатывающем производстве (Leng et al., 2005; Fan et al., 2017).

Генотоксические эффекты формируются в результате сложного взаимодействия между различными токсичными детерминантами эндогенного и экзогенного происхождения (Zhang et al., 2019). На геномную стабильность влияет огромное количество физических и химических факторов,

способствующих развитию болезней цивилизации (Sommer, Buraczewska, Kruszewski, 2020). Оценка генотоксичности позволяет изучить степень влияния перечисленных факторов на человека и биоту (Ladeira, Smajdova, 2017; Turkez, Arslan, Ozdemir, 2017). Продукты сгорания угля, такие как тяжёлые металлы, ПАУ и диоксид кремния (Rubin, 1999; Borm, 1997; Fisher, 1983, Vouk, Piver, 1983; Stamm et al., 1994; IARC. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, 1997), на теплоэлектростанциях демонстрируют генотоксические эффекты. Для изучения генотоксичности различных соединений используют бактериальные биосенсоры (Abilev et al., 2023), методы определения статуса метилирования ДНК (de Souza et al., 2018), количества копий митохондриальной ДНК (Carugno et al., 2012) и пр.

1.2. Использование микроядерного теста для оценки генотоксических эффектов угольных предприятий

Цитогенетические методы позволяют определять влияние средовых факторов, промышленных факторов на здоровье человека в целом, а также выявлять ранние генетические изменения, которые могут привести к развитию различных патологических состояний (Sommer, Buraczewska, Kruszewski, 2020). Широко применяемыми методами *in vivo* являются анализ ДНК-комет, микроядерный тест, анализ хромосомных aberrаций.

Особые виды хромосомных повреждений удаётся зафиксировать при помощи микроядерного теста. Данный анализ хорошо зарекомендовал себя в генетической токсикологии, биомониторинге, оценке риска развития рака (Sommer, Buraczewska, Kruszewski, 2020; Rincón, Sánchez, 2021).

Микроядерный анализ с блоком цитокинеза является наиболее стандартизированным видом цитогенетического анализа. В качестве объекта исследования могут выступать лимфоциты или клеточные линии человека, грызунов, рыб, приматов и пр. (Sommer, Buraczewska, Kruszewski, 2020). Отличительной чертой теста является остановка цитокинеза при помощи

цитохалазина В, который блокирует полимеризацию актиновых филаментов (Scherlach et al., 2010). При этом кариокинез не останавливается, вследствие чего образуются полиядерные клетки с различными типами нарушений (Sommer, Buraczewska, Kruszewski, 2020): микроядра, мосты, протрузии, являющиеся объектом цитогенетического изучения (Fenech, 2007).

Микроядерный тест с блокировкой цитокинеза в лимфоцитах является одним из ключевых методов биодозиметрии (Depuydt et al., 2016). Данный метод является стандартизированным, позволяет проводить быстрый анализ ядерных повреждений (Vral, Fenech, Thierens, 2011). Однако, существуют и некоторые ограничения, ключевыми из которых являются трудоёмкость и субъективность анализа (Nelson et al., 2017). Тем не менее, разрабатываются новые протоколы анализа микроядер, позволяющие упростить процесс проведения теста и конечного анализа (Nelson et al., 2017; Rincón, Sánchez, 2021). При помощи микроядерного теста возможно выявить такие типы цитогенетических повреждений, как микроядра, нуклеоплазменные мосты, протрузии (ядерные почки) (Fenech et al., 2021), а также изучить пролиферативную активность клеточных популяций, регистрируя клетки на стадии митоза / апоптоза (Fenech, 2007).

Анализ микроядер может способствовать пониманию механизмов взаимодействия генетических факторов и эффектов окружающей среды, поскольку он считается маркером воздействия мутагенов внешней среды и генетической нестабильности (Varinderpal et al., 2011).

Микроядерный тест позволяет изучать генотоксические эффекты таких соединений, как твёрдые частицы (Corrêa et al., 2016), инсектициды (Stivaktakis et al., 2017), строительная пыль (Leonardi et al., 2020), лекарственные препараты (Struys et al., 2023), тяжёлые металлы (Nersesyan et al., 2016), полициклические ароматические углеводороды (Hongzhen et al., 2017). Подобные данные позволяют диагностировать и определять риски развития различных заболеваний (Fenech et al., 2024).

Тепловые электростанции, использующие в качестве топлива уголь, также, как и коксохимическая индустрия, относятся к углеперерабатывающей промышленности. Исследований, посвящённых оценке мутагенного риска у работников угольных тепловых электростанций, в настоящее время немного, но все они подтверждают негативное воздействие угольных продуктов на генетическую стабильность работников на углеперерабатывающем производстве (Leng et al., 2005; Fan et al., 2017).

Celic с соавт. (Celik et al., 2007) изучали генотоксический риск при помощи анализа хромосомных aberrаций, сестринский хроматидных обменов и микроядер для 48 мужчин, работающих на угольной теплоэлектростанции в Турции по сравнению с 30 контрольными донорами. Средняя частота по всем методам была выше у работников ($p < 0,05$). При этом с увеличением стажа работы наблюдалось повышение частот хромосомных aberrаций и микроядер ($p < 0,05$). Влияние возраста на цитогенетические параметры выявлено не было ($p > 0,05$).

В выполненном отечественными авторами исследовании (Minina et al., 2015) у 100 работников угольных шахт Кузбасса со стажем более 15 лет обнаружена максимальная частота структурных хромосомных повреждений (5,37 %) по сравнению со 194 донорами без опыта работы на производстве, составивших группу контроля. При этом у работников угольных теплоэлектростанций также наблюдалось увеличение частоты хромосомных повреждений (4,23 %) по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$), но не с работниками шахт.

Целью исследования (Kaur et al., 2013) являлось измерение перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности у 50 работников угольных теплоэлектростанций по сравнению с 50 электриками того же предприятия. Уровень малонового диальдегида был значительно выше у работников угольных теплоэлектростанций ($p < 0,001$). При этом наблюдался рост уровней супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы у электриков по сравнению с работниками угольных теплоэлектростанций ($p < 0,001$). Таким образом, авторы

заклучили, что окислительный стресс, вызываемый повышением перекисного окисления липидов и уменьшением антиоксидантной активности, может возникать под воздействием производственной среды угольных теплоэлектростанций.

В другом исследовании (Horvat, Bauman, Racić, 1980) установлено повышение процента хромосомных aberrаций и данных радиохимических анализов у работников, подверженных воздействию продуктов сгорания угля в отличие от контрольной группы.

Помимо изучения генотоксических эффектов, связанных с угольными теплоэлектростанциями, в лимфоцитах крови работников, имеются данные, полученные на различных клеточных линиях.

Так, генотоксические эффекты исследовали на клеточных линиях V79, которые обрабатывали угольными частицами с угольной теплоэлектростанции в Бразилии (León-Mejía et al., 2016). Анализ ДНК-комет продемонстрировал формирование первичных повреждений ДНК, в то время как при помощи микроядерного теста получены данные об активации цитотоксических и генотоксических эффектов в клетках V79 при увеличении концентрации угольных частиц.

Генотоксическое влияние ультрадисперсных твёрдых частиц летучей золы различного происхождения (угольные теплоэлектростанции в США, металлургический завод г. Челябинска) также продемонстрировано в работе (Rozhina et al., 2021). Для клеток HeLa и Jurkat наблюдалось дозозависимое снижение жизнеспособности клеток для всех отобранных частиц. Наибольший цитотоксический и генотоксический эффекты для клеток HeLa установлен частицами из Рокдейла, наименьший – частицами из Челябинска. Ультрадисперсные частицы летучей золы из Челябинска оказали наиболее выраженный цитотоксический эффект в клетках Jurkat и генотоксический в клетках HeLa.

Помимо перечисленных методов цитогенетики существует целый ряд современных тестов молекулярной генетики для оценки генотоксичности.

Несмотря на их набирающуюся популярность, цитогенетический анализ всё ещё является наиболее специфичным (Ricoul et al., 2017).

1.3. Изучение эпигенетических эффектов воздействия производственной среды

Одним из широко известных и наиболее часто исследуемых эпигенетических механизмов является метилирование ДНК (Bohacek, Mansuy, 2012). Известно, что метилирование ДНК участвует в регуляции транскрипции, репарации ДНК и поддержании стабильности генома (Dolinoy, Weidman, Jirtle et al., 2007). Установлено, что на профиль метилирования ДНК влияют факторы окружающей среды (тяжёлые металлы (Zeng et al., 2019; Wei et al., 2024), ионизирующее излучение (Goetz, Morgan, Baulch, 2011), курение (Richmond et al., 2018; Herceg, Ambatipudi, 2019) а также возраст (Goel, Garg, 2017; Unnikrishnan et al., 2019). Повреждение свободными радикалами, приводящее к образованию окисленных оснований ДНК, может оказывать пагубное влияние на последующее метилирование участков CpG в ДНК (Cerdeira, Weitzman, 1997).

Существует несколько способов исследования процессов метилирования ДНК, из которых наиболее широко применяющимися являются бисульфитное секвенирование с редуцированной репрезентацией и таргетная бисульфитная обработка с последующей ПЦР. Данные методы позволяют эффективно определять метилированные основания в ограниченном количестве элементов генома при большом числе анализируемых образцов (Meissner et al., 2005). Наименее экономичным, но более эффективным и информативным является полногеномное бисульфитное секвенирование, позволяющее определить степень метилирования всей ДНК и установить статус метилирования выбранной последовательности (Khodadadi et al., 2021). При этом распознаются три состояния метилирования ДНК: состояние гипометилирования (Yano et al., 2022),

состояние индуцированного деметилирования и состояние гиперметилирования (Yu et al., 2024).

Известно, что метилирование ДНК способно подавлять активность определенных генов, при этом деметилирование ДНК приводит к активации и экспрессии генов (Gao, Zhou, Liu, 2024). Так, гипометилирование онкогенов может привести к их повышенной экспрессии (Langie et al., 2015). Основным фактором, который влияет на глобальное гипометилирование ДНК, типичному при большинстве видов рака, является деметилирование tandemных и повторяющихся последовательностей ДНК (Ehrlich, Lacey, 2013).

Многие исследования направлены на анализ статуса глобального уровня метилирования ДНК у работников угольного производства. Так, у работников угольной промышленности наблюдается увеличение глобального метилирования ДНК (Jiménez-Garza et al., 2023). У рабочих подземных шахт повышен уровень глобального метилирования ДНК по сравнению с наземными шахтёрами (Zhang et al., 2023).

При этом оценка степени метилирования повторяющихся tandemных последовательностей *Alu*, *LINE-1* демонстрирует, в основном, их гипометилирование у работников угольной промышленности (для *LINE-1* (Duan et al., 2013; Yang et al., 2018)) при воздействии бензола (для *LINE-1* (Carugno et al., 2012; Ren et al., 2019)). Однако, имеются данные об увеличении метилирования *LINE-1* и *Alu* у работников коксовых печей (Pavanello et al., 2010).

Большое количество публикаций посвящено изучению метилирования промоторов отдельных генов у работников различных производств. Известно, что при воздействии низких доз бензола повышался уровень метилирования *p15* (Bollati et al., 2007; Carugno et al., 2012), *p16* (Xing et al., 2012), *ERCC3* (Xing et al., 2013; Zheng et al., 2017), *GNAI1* (Yang et al., 2014), *MGMT*, *hMLH1* (Ren et al., 2019), *CSF3R* (Ren et al., 2020), *IL6* (Jiménez-Garza et al., 2017), при этом понижался *MAGE-1* (Bollati et al., 2007), *STAT3* (Yang et al., 2014), *UCA1* (Pan et al., 2021), *CYP2E1* (Jiménez et al., 2017). Также, имеются данные о снижении уровня метилирования митохондриальной субъединицы цитохром с-оксидазы I (*MT-COI*)

у лиц с хроническим отравлением бензолом (Wang et al., 2020). В исследовании (Carmona et al., 2014) продемонстрировано изменение метилирования промоторных областей 14 генов пути МАРК в условиях воздействия твёрдых частиц, источником которых являются транспорт и угольные теплоэлектростанции.

При профессиональном контакте со свинцом наблюдается дозозависимое увеличение метилирования *p16* (Kovatsi et al., 2010), *ALAD* (Li et al., 2011), уменьшение метилирования *GSTM1* (Zhang et al., 2019), *RRAGC* и *USP* (Meng et al., 2022).

У работников коксовых печей наблюдается увеличение метилирования *TP53* (Pavanello et al., 2010; Pavanello et al., 2013), *P16* (Yang et al., 2012), *P14*, *P15* (Zhang et al., 2015), *hOGG* (Fu et al., 2019), уменьшение метилирования *MGMT* (Duan et al., 2013), *IL10* (Zhao et al., 2020), *H3K79* (Zhang et al., 2021).

Изменения паттернов метилирования ДНК могут являться маркерами риска для здоровья работников, способствуя определению группы риска.

1.4. Вклад генетического полиморфизма в индивидуальную чувствительность к факторам среды

Генетические варианты влияют на фенотип человека (Langie et al., 2015), что сказывается на предрасположенности к различным заболеваниям: диабет (Alharbi et al., 2019; Li et al., 2012; Mager et al., 2006), сердечно-сосудистые (Stajszczyk, Gmiński, 1997; Škrlec et al., 2023; Mastana et al., 2024), рак (Al-Shaheri et al., 2020; Shi et al., 2020; Ritambhara et al., 2022). Помимо этого, не менее важна роль однонуклеотидных замен в индивидуальной чувствительности к различным физическим агентам и химическим соединениям (Espitia-Pérez et al., 2016; Jiménez-Garza et al., 2023). Известно, что на стабильность генома могут влиять варианты генов, кодирующих ферменты системы репарации ДНК (Krupa et al., 2011; Ginsberg et al., 2011; Bukowski, Woźniak, 2018; Smolarz et al., 2019), контроля клеточного цикла и апоптоза (Bahassi et al., 2007; Gohari et al., 2016; Okamoto et

al., 2017; Bernard et al., 2020), метаболизма ксенобиотиков (Norppa, 2004; Espitia et al., 2016).

1.4.1. Полиморфные варианты генов систем репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков

Семейство генов *XRCC* включает в себя важный класс генов восстановления повреждения ДНК, кодирующих белки, которые играют важную роль в разрыве одной цепи ДНК и восстановлении повреждения оснований ДНК. Это семейство включает несколько генов, в частности, *XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, каждый из которых участвует в различных механизмах репарации ДНК. Мутации в *XRCC* и их аномальная экспрессия приводят к дисфункции восстановления повреждения ДНК, что способствует злокачественному прогрессированию опухолевых клеток (Liu et al., 2023).

XRCC1 расположен на хромосоме 19q13.2-13.3 и содержит 17 экзонов. Данный ген кодирует каркасный белок, который способствует сборке комплексов репарации ДНК в местах повреждения, принимая участие в предотвращении генетической нестабильности и онкогенеза. *XRCC1* является важнейшим геном репарации ДНК, участвующим в эксцизионной репарации оснований и репарации одноцепочечных разрывов (Nissar et al., 2014; Liu et al., 2017). Известно, что полиморфизм гена *XRCC1 rs25489* связан с заменой аргинина (Arg) на гистидин (His) в 280 кодоне. Известно, что данная замена снижает сродство белка к многокомпонентному белковому комплексу, участвующему в процессе репарации, и, предположительно, уменьшает скорость сборки комплекса (Savas et al., 2004). Выдвинуто предположение, что данный полиморфный вариант повышает чувствительность к мутагенам (Tuimala et al., 2002), что может нарушать механизмы репарации ДНК, и связан с повышенной восприимчивостью к различным видам рака (Guo et al., 2013; Xu et al., 2015; Kirnap et al., 2021).

Ген *XRCC2* расположен на хромосоме 7q36.1 и содержит 3 экзона (Romanowicz et al., 2010). Данный ген кодирует белок, который является

важнейшим членом семейства паралогов RAD51 и участвует в репарации двухцепочечных разрывов ДНК путем гомологичной рекомбинации (Andreassen, Hanenberg, 2019). Полиморфизм гена *XRCC2 rs3218536* характеризуется заменой аргинина (Arg) на гистидин (His) в положении 188 и влияет на механизмы репарации ДНК, которые обладают важным значением для поддержания целостности генома. Установлено, что данный полиморфизм может быть фактором риска развития некоторых видов рака (Zhang et al., 2014; Smolarz et al., 2015; Balkan et al., 2020; Dastgheib et al., 2024).

Ген *XRCC3* расположен на хромосоме 14q32.3 и кодирует белок, участвующий в восстановлении двойных разрывов ДНК (Liu et al., 2023). Полиморфизм гена *XRCC3 rs861539* характеризуется заменой треонина (Thr) на метионин (Met) в положении 241 и может влиять на индивидуальные факторы риска развития нескольких типов рака (Ahmed et al., 2022; Tan et al., 2022; Rahman et al., 2024; Wu et al., 2024;).

Семейство генов *ERCC* кодирует белки, участвующие в восстановлении повреждений ДНК, вызванных в том числе факторами окружающей среды, посредством эксцизионной репарации нуклеотидов (Lu, Hou, 2024). В данное семейство входит комплекс генов, в том числе *ERCC2 (XPD)* и *ERCC5 (XPG)*. Мутации в *ERCC2* и *ERCC5* связаны с пигментной ксеродермией. Эти мутации могут привести к дисфункции механизмов эксцизионной репарации нуклеотидов, что способствует появлению тяжелых клинических фенотипов (Bui et al., 2020; Zhang et al., 2024). Мутации гена *ERCC5* связаны с повышенным риском рака молочной железы и влияют на клинические результаты. Некоторые полиморфные варианты способствуют увеличению общей выживаемости, однако, другие ассоциируются с плохим ответом на химиотерапию (Khan, Masood, Yasmin, 2023).

Ген *ERCC2* локализован в хромосоме 19q13.3 и кодирует белок XPD, играющий роль в эксцизионной репарации ДНК посредством связывания с конкретными участками генома и принятии участия в раскручивании нитей (Заварыкина и др., 2015). Мутации гена *ERCC2* ассоциированы с риском различных типов рака (Shao, Kou, 2021; Adico et al., 2023). Часто выявляемым

полиморфизмом гена *ERCC2* является замена тимина (Т) на гуанин (G) в локусе 751 (*rs13181*). Данный вариант может влиять на ферментативную активность некоторых кодируемых белков и связан с некоторыми видами рака (Wu et al., 2017; Tavares et al., 2021).

Ген *ERCC5* расположен в хромосоме 13q33.1 и кодирует структурно-специфическую эндонуклеазу, участвующую в эксцизионной репарации ДНК и процессах транскрипции (Марущак и др., 2024). Полиморфизм гена *ERCC5 rs17655* представляет собой замену аспарагиновой кислоты (Asp) на гистидин (His) в позиции 102 875 652 (Бреннер и др., 2022). В некоторых работах установлена ассоциация данного варианта с развитием некоторых видов рака (Joo et al., 2016; Zuo et al., 2022).

Семейство генов глутатион-S-трансфераз (*GST*) включает ферменты, участвующие в детоксикации веществ посредством катализации конъюгации глутатиона с различными соединениями (Nebert, Vasiliou, 2004).

Ген *GSTP1* локализуется на хромосоме 11q13.2 и содержит 7 экзонов. Ген кодирует фермент, участвующий в детоксикации ксенобиотиков (Cui et al., 2020). Один из наиболее распространенных полиморфизмов гена *GSTP1* характеризуется заменой аланина на валин в 114-м положении (*rs1138272*) (Мухаммадиева и др., 2017) и, по некоторым данным, связан с риском развития некоторых видов рака (Ding et al., 2019; Santric et al., 2020).

Ген *GSTT1* локализован на хромосоме 22q11.2 (Parl, 2005) и кодирует один из важных ферментов детоксикации ксенобиотиков (Safarinejad et al., 2012). Для гена *GSTT1* и характерны протяжённые делеции, наличие которых приводит к тому, что синтезируются укороченные белковые продукты без выраженной ферментативной активности (Приходченко и др., 2023). Это повышает чувствительность организма к воздействию токсинов и канцерогенов (Sprenger et al., 2000; Корчагина и др., 2011).

Семейство *CYP* включает группу генов, которые кодируют ферменты, принимающие участие в окислительном метаболизме эндогенных и экзогенных соединений. Полиморфизмы в генах *CYP* влияют на активность ферментов, что

может приводить к отсутствию, уменьшению или повышению активности фермента, а также к изменению скорости метаболизма лекарственных средств (Руденкова и др., 2022).

Ген *CYP1A1* локализован на 15-й хромосоме в локусе 15q24.1 и включает 7 экзонов (Yousefian et al., 2022). Ген кодирует фермент детоксикации ксенобиотиков, в особенности, содержащихся в табачном дыме (Цепокина, Понасенко, Шабалдин, 2020). Один из известных полиморфизмов гена *CYP1A1* – *rs4646903* – характеризуется нуклеотидной заменой Т на С в положении 6235, что приводит к увеличению каталитической активности фермента (Manfredi et al., 2007).

1.4.2. Роль генетических вариантов в формировании индивидуальной чувствительности к факторам среды угольных предприятий

Некоторые исследования посвящены поиску ассоциаций генетических вариантов различных генов с риском развития профессиональных заболеваний и рака у работников угольной промышленности. Ряд исследований демонстрируют связь полиморфных вариантов генов *XPB* (у мужчин), гена *ATM* (у женщин и некурящих), гена *APEX1* (у курильщиков), гена *NBS1* (у тех, кто работает в угольной промышленности) (Minina et al., 2019), а также *APEX1 rs1130409*, *XPB rs13181* (у шахтёров) (Minina et al., 2022) с риском развития рака лёгкого, генетического варианта гена *hOGG1 rs1052133* и *LIG4 rs1805388* с повышенной частотой лимфоцитов с микроядрами у подземных шахтёров по сравнению со здоровыми мужчинами (Sinitsky et al., 2017). В исследовании Sinitsky с коллегами (2017) была предложена трёхлокусная модель взаимодействий: *hOGG1 rs1052133* х *ADPRT rs1135410* х *XRCC4 rs6869366*, ассоциированная с высоким генотоксическим риском у шахтёров.

В мировой литературе сообщается о ранней активации гена *ATM* при развитии пневмокониоза у работников угольной промышленности, при этом *rs189037* может быть функциональным локусом, влияющим на его экспрессию

(Deng et al., 2022), а также определении генотипов СС и СА гена *ERCC1 rs3212986* как биомаркеров для диагностики пневмокониоза у работников (Deng et al., 2024).

Большое количество исследований посвящено изучению влияния полиморфных вариантов генов системы репарации ДНК на цитогенетические повреждения у работников коксохимических печей. Так, установлено, что у работников повышается частота микроядер и снижается способность к репарации ДНК гена *XRCC1* по сравнению с контрольной группой. При этом, полиморфные варианты *rs25487* коррелировали с уменьшением способности к репарации ДНК и у работников, и в контроле (Cheng et al., 2009). В другом исследовании (Wang et al., 2010) определена связь полиморфного варианта *XPC rs3731055* и *XPA rs1800975* с накоплением повреждений ДНК у работников. Работники с аллелем G *XRCC1 rs25489* имеют значительно более высокий риск повреждения ДНК, чем носители варианта А, а работники, обладающие аллелем Т *GSTP1 rs1695* имеют более высокий риск повреждения ДНК, чем обладатели аллеля А (Cheng et al., 2005). Аналогичные результаты влияния полиморфного варианта АА гена *XRCC1 rs25489* на формирование геномных повреждений в лимфоцитах работников угольного производства получены в работах (Leng et al., 2004; Zhang et al., 2017). Полиморфизмы *ERCC1 rs11615*, *ERCC6 rs2228526* и *ERCC2 rs1799793* ассоциированы с частотами микроядер у работников коксохимических печей, кроме того, наиболее выраженными эти ассоциации были с повышением возраста работника (Cheng et al., 2006). В работе (de Souza et al., 2020) сообщается о снижении частоты протрузий в лимфоцитах работников угольных теплоэлектростанций, обладающих генотипом *XRCC4 rs28360135*.

В исследовании (Sureshkumar et al., 2013) определены значительные отличия в частоте аллелей полиморфного варианта гена *XRCC1 rs25487* между работниками коксовых печей и контрольными донорами. Помимо этого, обнаружена корреляция накопления микроядер со стажем и возрастом работника. Также, в другой работе было установлено, что разные варианты *ERCC6 rs3793784*

по-разному функционируют в зависимости от возраста работников коксовых печей (He et al., 2013).

При этом имеются данные об отсутствии связи однонуклеотидной замены гена *ERCC4* и формирования повреждений ДНК в лимфоцитах у работников коксовых печей, при этом в контрольной группе установлена ассоциация варианта TG и уровня геномных повреждений (Yang et al., 2007). Ассоциации вариантов *rs25489*, *rs25487* и *rs3547* гена *XRCC1* с накоплением цитогенетических повреждений также не было выявлено (Leng et al., 2005). Однако, авторы указывают на пограничную связь формирования микроядер в лимфоцитах с полиморфным вариантом *rs1799782 XRCC1*. Также авторами установлена связь гаплотипов TGGG и CGAG гена *XRCC1* с увеличением геномных повреждений и гаплотипа CGGG с уменьшением частот микроядер в лимфоцитах работников.

Была продемонстрирована связь увеличения уровней аддуктов анти-B[a]PDE-ДНК с концентрацией ПАУ, делецией *GSTM1* и низкой способностью к репарации ДНК *XPC-PAT*^{+/+} у работников коксохимических печей (Pavanello et al., 2005). Касаясь аддуктов ДНК, в работе (Samir et al., 2019) установлены ассоциации варианта *XRCC1 rs25487* с повышением уровней аддуктов ДНК и низким уровнем экспрессии гена *CYP2E1*. Помимо этого, стаж работы и экспрессия гена *CYP2E1* являлись предикторами уровня аддуктов ДНК.

У работников угольных шахт без делеции гена *GSTT1* установлено увеличение частоты микроядер в лимфоцитах. При этом повышение частоты протрузий выявлено у носителей генотипа m1/m2, m2/m2 *CYP1A1 rs4646903* (Espitia-Pérez et al., 2016).

Комплексная оценка влияния различных факторов на формирование микроядер в лимфоцитах работников угольной промышленности малоизучена, однако, проведена в работе (Qiu et al., 2007) у работников коксовых печей. Наиболее значимыми факторами стали продолжительность воздействия, концентрация гидроксипирена в моче, возраст работника, полиморфизм гена *EPHX1 rs2234697*, полиморфизм гена *ERCC2 rs13181* и полиморфизм гена *XRCC1 rs1799782*. Таким образом, индивидуальная чувствительность к факторам

производственной среды угольных предприятий способна оказывать значительное подавляющее влияние на геномную стабильность работников.

Биомониторинг генотоксичности у лиц, подверженных угольному воздействию, является полезным инструментом для оценки генетических рисков комплексного воздействия сложных смесей (de Souza et al., 2018).

Образ жизни может влиять на индивидуальную восприимчивость к производственным факторам. Такие переменные, как пол, возраст, статус курения, количество выкуриваемых сигарет в день, употребление алкоголя, режим питания способствуют проявлению эффектов воздействия окружающей среды, приводящих к нестабильности генома и эпигенома индивида (Fenech, Bonassi, 2011).

Также, известно, что продолжительность воздействия представляет наибольшую опасность для геномной стабильности, чем одномоментное (острое) воздействие мутагенных соединений (Chulenbayeva et al., 2022; Zhang et al., 2023). Согласно накопленным данным литературы, у работников со стажем работы больше 15 лет в 16 раз превышает риск развития рака лёгких (Redmond et al., 1983).

Человек подвергается воздействию различных химических соединений на протяжении жизни, однако, образ жизни или профессиональная специализация обуславливают наиболее опасное воздействие на организм. Важным является определение влияния промышленной среды угольных теплоэлектростанций на генетический аппарат работника. Биомониторинг таких популяционных групп позволит вовремя определить риск развития различных заболеваний, в том числе и рака (Langie et al., 2015).

Исследования, направленные на поиск маркеров риска работы на угольных теплоэлектростанциях, а также определение генетических характеристик адаптации рабочих к условиям промышленной среды, необходимы для понимания ответных механизмов генетических факторов на воздействие факторов окружающей среды, а также для формирования инструментов для выявления

групп риска с повышенной чувствительностью к соединениям, обладающих генотоксическим эффектом.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн исследования

В настоящем исследовании изучалось влияние промышленной среды угольных теплоэлектростанций на частоту цитогенетических нарушений, пролиферативных и эпигенетических параметров в связи с генетическими вариантами генов системы репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков у работников. Было проведено исследование по типу «случай – контроль». Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Первым этапом исследования являлась оценка цитогенетических и пролиферативных характеристик лимфоцитов работников угольных теплоэлектростанций г. Кемерово и не работающих жителей той же местности. У исследуемых индивидов проведён забор периферической крови, из которой после культивирования в условиях блокировки цитокинеза получены окрашенные рутинным способом препараты двуядерных лимфоцитов для оценки частоты цитогенетических повреждений и пролиферативной активности при помощи микроядерного теста.

На основании полученных данных проведён анализ уровня и спектра регистрируемых цитогенетических и пролиферативных параметров микроядерного теста в лимфоцитах работников угольных теплоэлектростанций в сравнении с не связанными с производством донорами. Объектом исследования стали 445 работников угольных ТЭС (основная группа) и 491 индивид, не связанный с промышленным производством (группа сравнения). Проведён сравнительный анализ частот цитогенетических нарушений (микроядра, нуклеоплазменные мосты, протрузии) и показателей пролиферативной активности (лимфоциты на стадии митоза, клетки в апоптозе, индексы репликации и пролиферации). Выполнена оценка влияния потенциальных факторов (пол, возраст, статус курения, хронические заболевания, стаж работы, производственный цех) на изученные параметры. Методом ROC-анализа

определены пороговые уровни цитогенетических показателей для дискриминации групп.

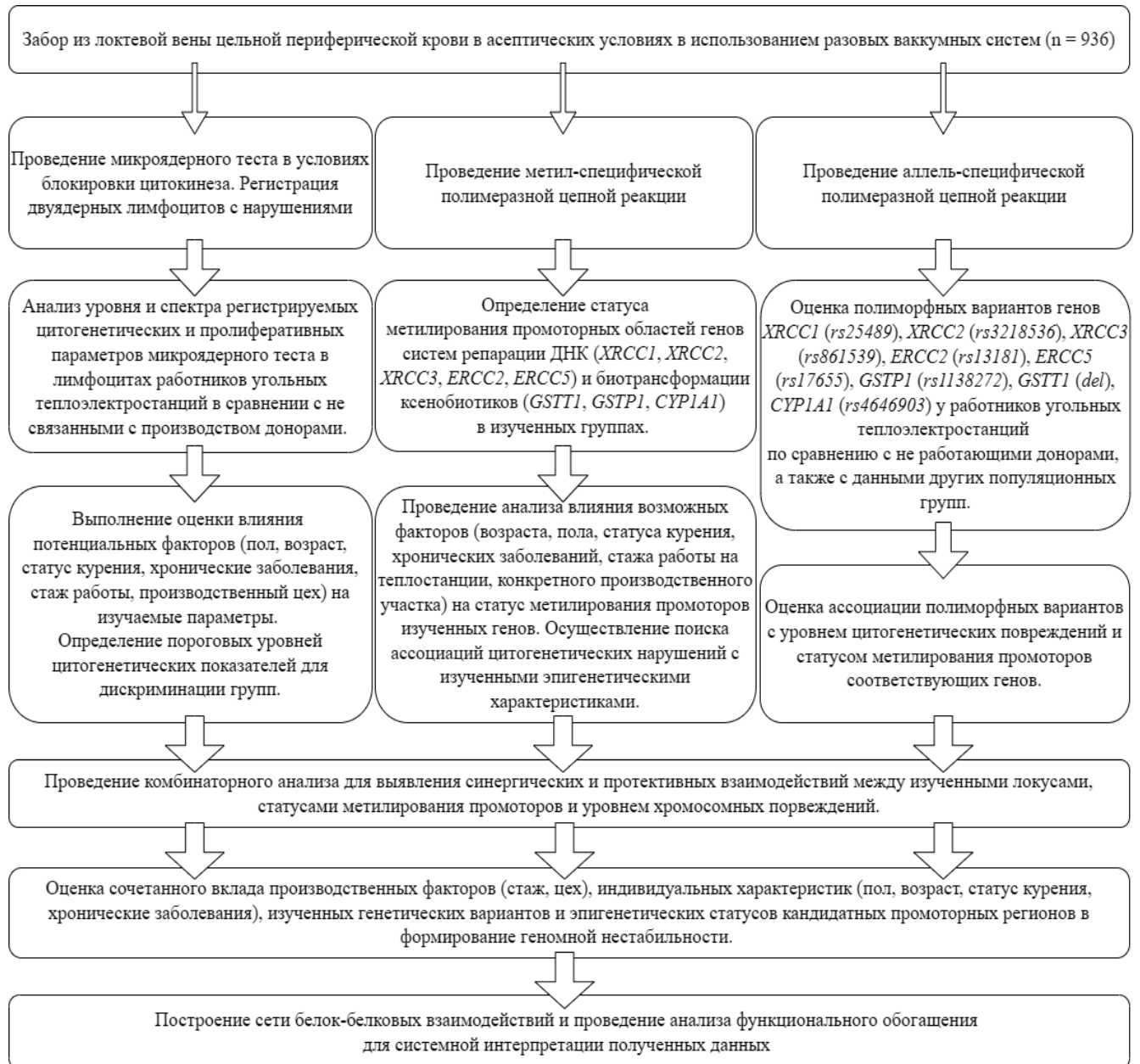


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Для оценки эпигенетического статуса промоторных областей изучаемых генов (*XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*, *GSTP1*, *GSTT1*, *CYP1A1*) работников угольных теплоэлектростанций выделенная фенол-хлороформным

методом ДНК подвергалась бисульфитной конверсии и использовалась в метил-специфической полимеразной цепной реакции.

В результате определён статус метилирования промоторных областей генов систем репарации ДНК (*XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*) и биотрансформации ксенобиотиков (*GSTT1*, *GSTP1*, *CYP1A1*) у работников угольных теплоэлектростанций. Проведён сравнительный анализ распространенности гиперметилованного, частично метилированного и деметилированного статусов промоторов изученных генов в группах работников ТЭС и сравнения. Проведён анализ влияния возможных факторов (возраста, пола, статуса курения, хронических заболеваний, стажа работы на теплоэлектростанции, конкретного производственного участка) на статус метилирования промоторов изучаемых генов. Осуществлён поиск ассоциаций цитогенетических нарушений с изученными эпигенетическими характеристиками.

Следующим этапом являлось генотипирование выделенной фенол-хлороформным методом ДНК в нескольких локусах: генов ферментов репарации ДНК: *XRCC1* *rs25489*, *XRCC2* *rs3218536*, *XRCC3* *rs861539*, *ERCC2* *rs13181*, *ERCC5* *rs17655*; генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков: *GSTP1* *rs1138272*, *GSTT1* *del*, *CYP1A1* *rs4646903*. Гены и локусы для генотипирования выбирались с учётом распространения аллельных вариантов, функционального характера полиморфного локуса, ассоциированного с уровнем хромосомной нестабильности в условиях генотоксической нагрузки (Ji et al., 2009; Dhillon et al., 2011; Qiu et al., 2011; Xu et al., 2014; Milić et al., 2015; Sinitsky et al., 2015; Huang et al., 2016; Marín et al., 2024; Espitia-Pérez et al., 2024).

Выполнена сравнительная оценка полиморфных вариантов генов ферментов репарации ДНК (*XRCC1* (*rs25489*), *XRCC2* (*rs3218536*), *XRCC3* (*rs861539*), *ERCC2* (*rs13181*), *ERCC5* (*rs17655*)) и биотрансформации ксенобиотиков (*GSTP1* (*rs1138272*), *GSTT1* (*del*), *CYP1A1* (*rs4646903*)) у работников угольных теплоэлектростанций по сравнению с контролем. Проведён сравнительный анализ частот аллелей и генотипов между группами, а также с данными других

популяционных групп. Оценены ассоциации полиморфных вариантов с уровнем цитогенетических повреждений и статусом метилирования промоторов соответствующих генов.

На четвертом этапе осуществлён комплексный анализ с использованием многофакторных статистических моделей. Методом порядковой регрессии и общей линейной модели (GLM) проведена оценка сочетанного вклада производственных факторов (стаж, цех), индивидуальных характеристик (пол, возраст, статус курения, хронические заболевания), изученных генетических вариантов и эпигенетических статусов кандидатных промоторных регионов в формирование геномной нестабильности. Проведен комбинаторный анализ для выявления синергических и протективных взаимодействий между изученными локусами и статусами метилирования. Для системной интерпретации полученных данных с использованием биоинформатических ресурсов (STRING, KEGG, Reactome) построена функциональная сеть взаимодействия белков, кодируемых изученными генами.

2.2. Характеристика обследованных групп

Исследование проводилось в соответствии с рекомендациями Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации» (утверждёнными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 2660). Дизайн исследования (исследование случай-контроль) был одобрен локальным этическим комитетом Федерального исследовательского центра угля и углехимии СО РАН (г. Кемерово). Участие людей в исследовании базировалось на принципах добровольности и информированности о целях, методах и результатах работы. Все участники подписывали бланк добровольного информированного согласия на участие в исследовании.

Критерии включения для группы работников ТЭС: работа в условиях угольной теплоэлектростанции не менее 1 года до обследования; проживание на территории Кемеровской области на протяжении минимум трёх поколений; европеоиды (русская национальность).

Критерии включения для группы контроля: проживание на территории Кемеровской области на протяжении минимум трёх поколений; европеоиды (русская национальность), отсутствие опыта работы в условиях промышленного производства.

Критериями исключения из исследования (для всех групп) стали: приём лекарственных препаратов, рентгенологические обследования за 3 месяца и менее до исследования, наследственные, онкологические, инфекционно-воспалительные, аллергические заболевания. Диагностированные профессиональные заболевания также являлись основанием для исключения из обследования.

Было обследовано 936 человек, из которых 445 являются действующими работниками угольных теплоэлектростанций г. Кемерово, проходящие ежегодные профилактические медицинские осмотры. В составе группы контроля был обследован 491 человек – все жители г. Кемерово, активные доноры крови Кемеровской станции переливания крови, регулярно сдающие кровь или её компоненты (три раза и более в течение года), не работающие на промышленных предприятиях, не имеющие по данным медицинских карт диагностированных хронических заболеваний (таблица 1).

В группе рабочих угольных теплоэлектростанций были установлены следующие неинфекционные заболевания: болезни системы кровообращения (гипертония, варикоз вен – 36 доноров), органов дыхания (бронхит, астма – 8 человек), пищеварения (язвенная болезнь, гастрит – 25), болезни эндокринной (различные операции щитовидной железы – 16), мочеполовой (пиелонефрит, мочекаменная болезнь – 6 человек), костно-мышечной систем (остеохондроз, артроз – 21), болезни глаза и его придаточного аппарата и болезни уха и сосцевидного отростка – 6 человек.

Таблица 1 – Характеристика исследуемых групп

Характеристика		Работники ТЭС	Контроль
Пол	Мужчины	347	352
	Женщины	98	139
Возраст, $\mu \pm \text{SEM}$		$51,6 \pm 0,4$	$47,7 \pm 0,5$
Статус курения	Курящие	167	163
	Некурящие	278	328
Стаж работы, $\mu \pm \text{SEM}$		$21,8 \pm 0,5$	-
Рабочие цеха	АУП	38	-
	ТТЦ	201	-
	ПУОРОСО	32	-
	ЦТАИ	73	-
	ХЦ	36	-
	ЭЦ	65	-
Всего		445	491

Примечание: μ – среднее значение, SEM – стандартная ошибка среднего. ТТЦ – топливно-транспортный цех, ЦТАИ – цех тепловой автоматики и измерений, ПУОРОСО – ремонтно-строительный цех, ХЦ – химический цех, ЭЦ – электрический цех, АУП – административно-управленческий персонал.

Материалом исследования послужила цельная периферическая кровь, забиравшаяся из локтевой вены в асептических условиях с использованием разовых вакуумных систем (пробирки «Вакутейнер»). Для постановки клеточных культур кровь распределялась в пробирку с Na-гепарином, а для выделения образцов геномной ДНК в пробирку с K2-ЭДТА. Образцы крови транспортировали в лабораторию цитогенетики раИститута экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН в термоконтейнере (+4 °C).

2.3. Методы анализа

2.3.1. Микроядерный тест в лимфоцитах периферической крови с блокировкой цитокинеза

Цитогенетический анализ повреждений ДНК проводили при помощи CBMN-метода – микроядерный тест в лимфоцитах периферической крови с блоком цитокинеза (Fenech, 2007). Для каждого обследованного готовилось минимум по два образца.

Реактивы

- Среда RPMI 1640 (ООО ПанЭко, Москва, Российская Федерация)
- Гентамицин (ООО ПанЭко, Москва, Российская Федерация)
- L-глутамин (ООО ПанЭко, Москва, Российская Федерация)
- Эмбриональная телячья сыворотка (ООО ПанЭко, Москва, Российская Федерация)
- Фитогемагглютинин (ООО ПанЭко, Москва, Российская Федерация)
- Диметилсульфоксид (АО Татхимфармпрепараты, Москва, Российская Федерация)
- Цитохалазин В (Applichem GmbH, Германия)
- Калий хлористый (ООО НПФ Хеликон, Москва, Российская Федерация)
- Метанол (АО Вектон, Санкт-Петербург, Российская Федерация)
- Ледяная уксусная кислота (АО Реахим, Москва, Российская Федерация)
- Краситель Гимза (ООО ПанЭко, Москва, Российская Федерация)

Цельная кровь собиралась в вакутейнеры с гепарином из локтевой вены в асептических условиях и затем хранилась при 4 °С. Далее образцы крови

инкубировали в культуральных флаконах в смеси следующего состава: 250 мкл цельной крови, 3 мл среды RPMI-1640 со 100 ед / мл гентамицина и 146 мг L-глутамина, 0,8 мл эмбриональной телячьей сыворотки и 30 мкл фитогемагглютинина. На 44 часу культивирования для остановки цитокинеза в культуру добавляли цитохалазин В в концентрации 6 мкг / мл и инкубировали ещё 28 ч при 37 °С. Полученные клеточные культуры переносили в фальконы объёмом 15 мл и центрифугировали 10 мин при 1000 об / мин. Убирали супернатант, разбивали осадок и добавляли 6 мл охлаждённого гипотонического раствора (0,125 М калий хлористый) для лизиса эритроцитов, перемешивали и добавляли 1 мл фиксатора Карнуа (3 объёма метанола на 1 объём ледяной уксусной кислоты), перемешивали и центрифугировали 10 мин при 1000 об / мин. Удаляли супернатант, разбивали осадок и вносили 9 мл ледяного метанол-уксусного фиксатора, перемешивали и выдерживали при 4 °С в течение 20 мин, центрифугировали 10 мин при 1000 об / мин. Избавлялись от супернатанта, разбивали осадок и вносили 9 мл ледяного метанол-уксусного фиксатора, перемешивали и выдерживали экспозицию при 4 °С на протяжении 50 мин. Центрифугировали 10 мин, удаляли супернатант и переносили полученный осадок во флаконы объёмом 1,5 мл. Полученные суспензии переносили на предварительно обезжиренные и замороженные предметные стёкла, выдерживали ночь и окрашивали 3 % красителем Гимза.

Полученные препараты просматривали на микроскопах Axio Scope.A1 (Zeiss, Германия) и Eclipse E100 (Nikon, Япония). Регистрировались 500 клеток любой ядерности, на стадии митоза и апоптоза, нарушения (микроядра, мосты, протрузии), после учитывали только двухъядерные лимфоциты и их нарушения, набирая количество данных клеток до 1000. На рисунке 2 представлены примеры регистрируемых лимфоцитов. Критерии отбора двуядерных лимфоцитов, включаемых в анализ, и критерии для регистрации цитогенетических нарушений соответствовали общепринятым рекомендациям (ГОСТ 32635-2014 Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека.

Микроядерный тест на клетках млекопитающих *in vitro* (Переиздание)). Расчёт индекса репликации проводили по формуле, предоставленной там же:

$$IP = \frac{\% \text{ одноядерных кл.} \pm (2 \times \% \text{ двуядерных кл.}) + (3 \times \% \text{ 3-ядерных кл.}) + (4 \times \% \text{ 4-ядерных кл.})}{100}$$

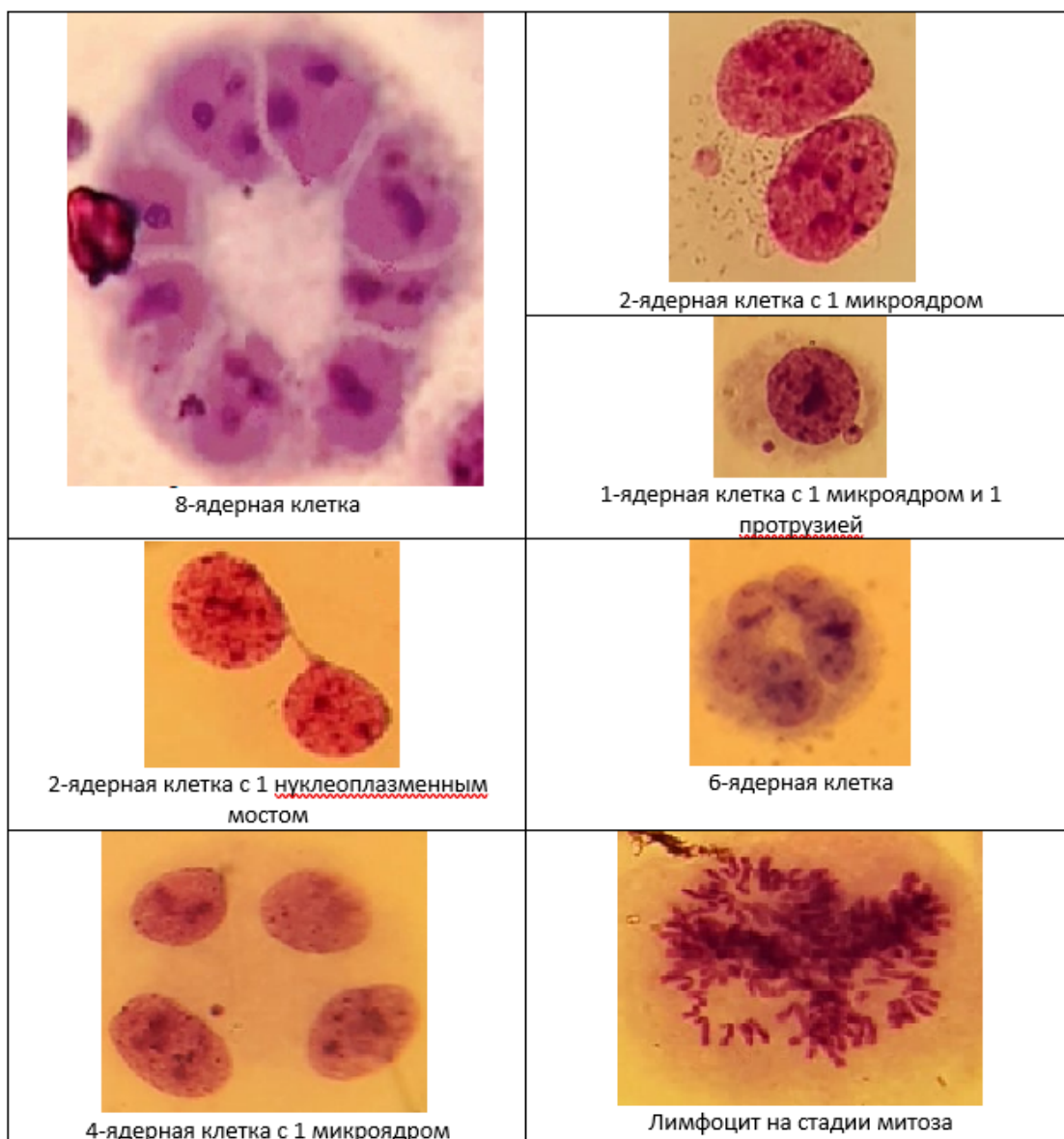


Рисунок 2 – Пример лимфоцитов, включённых в анализ

2.3.2. Экстракция ДНК

Экстракция ДНК проводилась фенол-хлороформным методом согласно протоколу (Sambrook, Russell, 2006). Для каждого обследованного готовили по два образца ДНК.

Реактивы

- Сахароза (АО Реахим, Москва, Российская Федерация)
- Тритон X-100 (ООО НПФ Хеликон, Москва, Российская Федерация)
- $MgCl_2$ (водный) (ООО НПФ Хеликон, Москва, Российская Федерация)
- Tris-Cl (ООО ПанЭко, Москва, Российская Федерация)
- EDTA- Na_2 (ООО ПанЭко, Москва, Российская Федерация)
- NaCl (ООО НПФ Хеликон, Москва, Российская Федерация)
- Додецилсульфат натрия (SDS) (ООО НПФ Хеликон, Москва, Российская Федерация)
- Протеиназа К (ООО НПФ Синтол, Москва, Российская Федерация)
- РНКаза (ООО НПФ Синтол, Москва, Российская Федерация)
- Фенол (ООО Алькор Современные Технологии, Кемерово, Российская Федерация)
- Хлороформ (ООО Торговый дом красная звезда, Вологда, Российская Федерация)
- Изоамиловый спирт (АО ЭКОС-1, Москва, Российская Федерация)
- В-меркаптоэтанол (ООО НПФ Хеликон, Москва, Российская Федерация)
- Гидрохинон (АО Реахим, Москва, Российская Федерация)
- Этиловый спирт 96 % (ОАО Кемеровская фармацевтическая фабрика, Кемерово, Российская Федерация)
- Этиловый спирт 70 % (ОАО Кемеровская фармацевтическая фабрика, Кемерово, Российская Федерация)

В пробирки объемом 1,5 мл вносили: 700 мкл цельной венозной крови и 700 мкл сахарозного буфера (320 мМ Сахароза, 1 % Тритон X-100, 5 мМ $MgCl_2$, 10 мМ Tris-HCl, dH_2O), центрифугировали 3 мин 12000 об / мин при 3 °С.

Супернатант удаляли, вновь вносили 700 мкл сахарозного буфера, разбивали осадок и инкубировали 30-40 мин при +4 °С.

После удаляли надосадочную жидкость, и вносили 151 мкл буфера SE (25 мМ EDTA-Na₂, 75 мМ NaCl, dH₂O), центрифугировали 20 мин 3500 об / мин при 3 °С. Далее в образцы вносили 60 мкл 10 % SDS, 10 мкл Протеиназы К и 10 мкл РНКазы, инкубировали не более 22 ч при 37 °С.

По истечению инкубации в образцы вносили 1 объём фенола (кристаллизованный фенол расплавляли на водяной бане, вносили 50 мл 30 мМ хинолина и 1 объём промывочного буфера (50 мМ Tris-HCl pH 8.0), перемешивали и удаляли верхнюю водную фазу; повторяли минимум 5 раз), центрифугировали 7 мин 12000 об / мин. Верхнюю водную фазу переносили в чистые пробирки объёмом 1,5 мл, вносили 1 объём смеси фенол-хлороформа (в соотношении фенол: хлороформ : изоамиловый спирт : В-меркаптоэтанол 25:24:1:0,25), центрифугировали 7 мин 12000 об / мин. Верхнюю водную фазу переносили в чистые пробирки объёмом 1,5 мл, вносили 1 объём хлороформа и центрифугировали 7 мин 12000 об / мин. Верхнюю водную фазу переносили в чистые пробирки и осаждали в два этапа: 1) 2 объёмами 96 % этанола с добавлением 10 мкл 4 М NaCl, центрифугировали 3 мин 12000 об / мин, сливали надосадочную жидкость; 2) 2 объёмами 70 % этанола, центрифугировали 3 мин 12000 об / мин, удаляли супернатант. Сушили образцы 2 ч при 55 °С.

2.3.3. Определение полиморфных вариантов генов систем репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков

) и гены, кодирующие ферменты метаболизма ксенобиотиков (*GSTP1 rs1138272*,

. Функциональная значимость отобранных для исследования полиморфных вариантов исследовалась по базам PolyPhen-2

^HПредставляет собой миссенс мутацию в 9 экзоне с незначительным («benign») ^Yэффектом (вероятность патогенности замены 0, чувствительность 1, ^P

E

R

I

специфичность 0, PolyPhen-2), расположен в участке ДНК, маркированном гистонами, характерными для энхансеров. Находится в сильной связи с вариантами, которые располагаются в регионах, связывающих гистоны промоторов и энхансеров в 24 типах тканей, а также в сайтах, гиперчувствительных к ДНКазе I в 40-51 ткани. Варианты в LD-блоке (Linkage Disequilibrium) попадают в сайты связывания ключевых регуляторных белков TBP, POL2 и TCF4, а также изменяют мотивы для факторов транскрипции Foxo, Pou2f2, Sox и SP1 (согласно данным HaploReg). Согласно RegulomeDB, данный локус имеет регуляторный ранг 1f и коэффициент 0,55436, что говорит о возможном влиянии на экспрессию гена и нарушении регуляторных последовательностей в экзоне.

представляет собой миссенс мутацию в 3 экзоне с незначительным («benign») эффектом (вероятность патогенности замены 0,047, чувствительность 0,94, специфичность 0,83, PolyPhen-2). Расположен в регионе, который изменяет мотивы связывания для транскрипционных факторов E2A, Muc и RXRA. Данный вариант находится в сильном LD с множеством вариантов, расположенных в активных регуляторных областях: они маркированы гистонами энхансеров и промоторов в тканях мозга (BRN), жировой ткани (FAT) и других; находятся в участках, гиперчувствительных к ДНКазе I; и изменяют мотивы для широкого спектра регуляторов (Mef2, Pax-3, BHLHE40, TFE, Gfi1, Nkx2, AP-1, ATF3, EGR1). Один из связанных вариантов (*rs3218382*) находится в регионе связывания 33 белков (согласно данным HaploReg). Согласно алгоритму машинного обучения имеет регуляторный ранг 7 и коэффициент 0,18412, что говорит об отсутствии регуляторной функции данной замены. Таким образом, изученный локус является функционально значимой кодирующей миссенс-мутацией, которая не имеет данных о регуляторной активности, но при этом может оказывать существенное влияние на белок и предрасположенность к заболеваниям.

представляет собой несинонимичную миссенс мутацию в 7 экзоне с возможным повреждающим («possibly damaging») эффектом (вероятность патогенности

замены 0,541, чувствительность 0,88, специфичность 0,91, PolyPhen-2). Локализуется в участке ДНК, который маркирован гистонами энхансеров в 15 типах тканей и расположен в регионе, гиперчувствительном к ДНКазе I в тканях крови и тимуса. Вариант изменяет мотивы связывания для транскрипционных факторов EBF, Pax-8 и YY1. В сильном LD с ним находятся варианты, расположенные в промоторах и энхансерах в многочисленных тканях (кровь, кожа, кишечник, молочная железа и др.), в сайтах ДНКазной гиперчувствительности, а также изменяющие мотивы для факторов AP-1, BDP1. Согласно данным RegulomeDB, *XRCC3 rs861539* имеет регуляторный ранг 1f и коэффициент 0,55436, что означает ассоциацию данной замены с изменением уровня экспрессии гена.

представляет собой несинонимичную миссенс мутацию в 23 экзоне с незначительным («benign») эффектом (вероятность патогенности замены 0, чувствительность 1, специфичность 0, PolyPhen-2). Расположен в участке ДНК, который маркирован гистонами энхансеров в мышечной ткани (MUS) и находится в регионе, гиперчувствительном к ДНКазе I в 4 типах тканей. Он входит в состав расширенного гаплотипа, включающего варианты, расположенные в промоторах и энхансерах, в сайтах ДНКазной гиперчувствительности, а также изменяющие мотивы для факторов Klf4, Zfp410, NF-kappaB, SIX5, BDP1 и CTCF. Один из связанных вариантов (*rs9749618*) находится в сайте связывания 6 регуляторных белков (согласно HaploReg). По данным RegulomeDB, *ERCC2 rs13181* имеет регуляторный ранг 1f и коэффициент 0,55436, что указывает на полифункциональность варианта с регуляторным эффектом.

представляет собой миссенс мутацию в 15 экзоне с повреждающим («probably damaging») эффектом (вероятность патогенности замены 0,995, чувствительность 0,68, специфичность 0,97, PolyPhen-2). Локализуется в участке ДНК, маркированном гистонами энхансеров в тканях эмбриональной кожи и мозга. Вариант изменяет мотивы связывания для транскрипционных факторов DEC, GR и Nkx2. Он находится в LD-блоке с вариантами, которые расположены в активных

промоторах и энхансерах, в сайтах ДНКазной гиперчувствительности в множестве тканей, связываются с белками (включая CFOS и ZNF263) и изменяют мотивы для таких регуляторов, как NRSF, Zfp105, Obox6, Foxp3, ERalpha и Esr2 (по данным HaploReg). Согласно алгоритму машинного обучения, *ERCC5 rs17655* имеет коэффициент 0,22271, и, соответственно, низкую предсказанную регуляторную функциональность. Однако, данной замене присвоен регуляторный ранг 1f, что указывает на экспериментально установленную функциональную значимость данного варианта.

представляет собой миссенс мутацию в 5 экзоне с незначительным («benign») эффектом (вероятность патогенности замены 0,424, чувствительность 0,89, специфичность 0,9, PolyPhen-2). Расположен в участке ДНК, который маркирован гистонами энхансеров в 13 типах тканей, находится в регионе, гиперчувствительном к ДНКазе I в 6 тканях, и является сайтом связывания РНК-полимеразы II (POL2). Данный миссенс-вариант изменяет мотивы связывания для 11 различных транскрипционных факторов, что указывает на его высокий потенциал влиять на регуляцию транскрипции (согласно HaploReg) Полученные данные из RegulomeDB, *GSTP1 rs1138272* – регуляторный ранг 1f и коэффициент 0,55436 – демонстрируют полифункциональность варианта с несколькими механизмами воздействия.

локализуется в 3'-нетранслируемой области, входит в гаплотип с вариантами, которые находятся в участках ДНК, маркированных гистонами промоторов и энхансеров в эмбриональных стволовых клетках, мышцах, печени и коже. Связанные варианты располагаются в сайтах ДНКазной гиперчувствительности в 4-11 тканях, являются сайтами связывания 4 регуляторных белков (для *rs4646421*) и изменяют мотивы для фактора ZNF263 (по данным HaploReg). Согласно алгоритму машинного обучения, *CYP1A1 rs4646903* имеет регуляторный ранг 1f и коэффициент 0,05. Данный полиморфный вариант напрямую влияет на уровень экспрессии гена *CYP1A1*.

Таким образом, изученные полиморфные варианты генов систем репарации ДНК и метаболизма ксенобиотиков характеризуются не только заменой

аминокислотной последовательности, но также плеiotропны, могут оказывать более широкое регуляторное влияние на ген, что усиливает их потенциальный вклад в фенотип и риск заболеваний. Функциональная значимость всех изученных локусов располагает к проведению комбинаторного анализа данных генов, что окажется наиболее информативно для оценки индивидуального риска.

Характеристика выбранных вариантов генов (по данным базы National Center for Biotechnology Information (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>)) представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Характеристика выбранных для исследования полиморфных вариантов

Ген	SNP	Локализация (GRCh38)	Замена нуклеотидов
<i>XRCC1</i>	rs25489	chr19:43552259-43552260	G > A
<i>XRCC2</i>	rs3218536	chr7:152648921-152648922	G > A
<i>XRCC3</i>	rs861539	chr14:103699415-103699416	C > T
<i>ERCC2</i>	rs13181	chr19:45351660-45351661	T > G
<i>ERCC5</i>	rs17655	chr13:102875651-102875652	G > C
<i>GSTP1</i>	rs1138272	chr11:67586107-67586108	C > T
<i>GSTT1</i>	(del)	chr22:270308-278486	TG > -
<i>CYP1A1</i>	rs4646903	chr15:74719299-74719300	T > C

Примечание: SNP – однонуклеотидный полиморфизм.

Анализ полиморфных вариантов генов *XRCC1* rs25489, *ERCC2* rs13181, rs17655 проводился с помощью аллель-специфической количественной полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией результатов с помощью тест-систем производства «НПФ Литех» (Москва) согласно инструкции производителя.

Анализ полиморфных вариантов генов *XRCC2* rs3218536, *XRCC3* rs861539, в режиме реального времени (Real-time ПЦР) с флюоресцентной детекцией

результатов в присутствии, конкурирующих TaqMan зондов с помощью тест-систем производства «ООО Синтол» (Москва) и «ООО СибДНК» (Новосибирск) согласно инструкции производителя.

Определение делеции гена *GSTT1* проводилось мультиплексной полимеразной цепной реакцией в режиме реального времени с детекцией кривых плавления в присутствии интеркалирующего красителя SYBR Green с помощью тест-систем производства «ООО СибДНК» (Новосибирск) согласно инструкции производителя.

Электрофорез в агарозном геле

Анализ результатов амплификации осуществляли с помощью разделения продуктов методом горизонтального электрофореза в 3% агарозном геле.

Реактивы

- Трис(гидроксиметил)аминометан гидрохлорид, Tris-HCl, $C_4H_{11}NO_3$ (ООО ПанЭко, Москва, Российская Федерация)
- Динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты, EDTA- Na_2 , $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8$ (ООО НПФ Хеликон, Москва, Российская Федерация)
- Ледяная уксусная кислота, CH_3COOH (АО Реахим, Москва, Российская Федерация)
- Агароза, $C_{12}H_{18}O_9$ (ООО НПФ Хеликон, Москва, Российская Федерация)
- Бромистый этидий, $C_{21}H_{20}BrN_3$ (ООО НПФ Хеликон, Москва, Российская Федерация)

Свежеприготовленный расплавленный агарозный гель (3 г $C_{12}H_{18}O_9$, 100 мл dH_2O , 2 мл 50х ТАЕ-буфера (1,5 М Tris-HCl, 5 мМ EDTA- Na_2 , 100 мл dH_2O , pH 7,6), 5 % $C_{21}H_{20}BrN_3$) помещали в заливочный столик и отливали гелевыми гребёнками, ожидали его застывания. После застывания удаляли гелевые гребёнки и переносили гель в камеру для электрофореза с залитым 1х ТАЕ-

буфером. В каждую полученную лунку заливали 10 мкл ПЦР-продукта и подсоединяли камеру к блоку питания с выставленной программой: 120 В, 12 мин.

Визуализацию результатов (рисунок 3) проводили с помощью универсальной системы гель-документации GelDoc (BioRad, США).

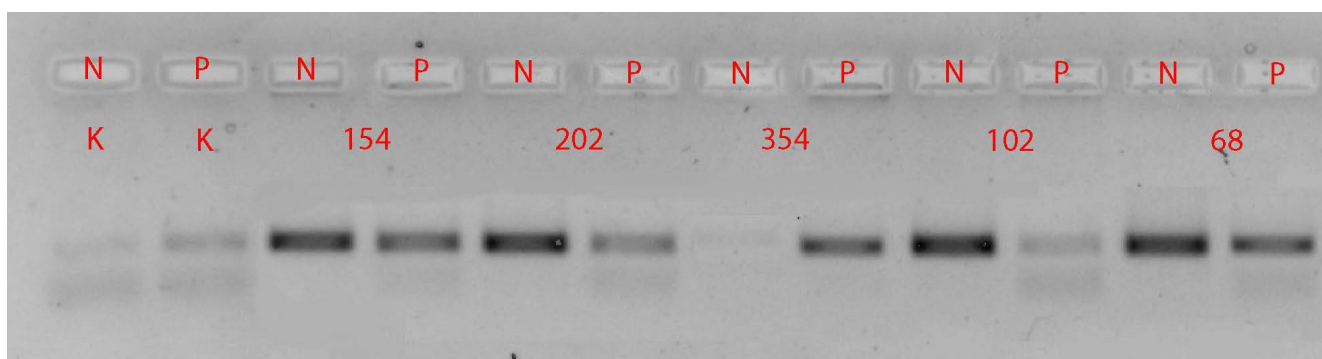


Рисунок 3 – Электрофореграмма ПЦР-продуктов: К – контрольный образец реакции; 154, 68, 202 оценивали как гетерозиготные образцы, 354 – как гомозиготный образец по минорному аллелю, 102 – как гомозиготный образец по мажорному аллелю

2.3.4. Анализ статуса метилирования промоторных областей изученных генов

Бисульфитная обработка ДНК

Реактивы

- Аммоний уксуснокислый $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (АО Реахим, Москва, Российская Федерация)
- Гидроксид натрия NaOH (АО Реахим, Москва, Российская Федерация)
- Гидрохинон $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$ (АО Реахим, Москва, Российская Федерация)
- Пиросернистокислый натрий $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (АО Реахим, Москва, Российская Федерация)

- РНКаза (ООО НПФ Синтол, Москва, Российская Федерация)
- Протеиназа К (ООО НПФ Синтол, Москва, Российская Федерация)
- Додецил сульфат натрия, SDS (ООО НПФ Хеликон, Москва, Российская Федерация)
- Трис(гидроксиметил)аминометан (ООО ПанЭко, Москва, Российская Федерация)
- Соляная кислота (ООО Сигма Тек, Химки, Российская Федерация)
- Этилендиаминтетрауксусная кислота, EDTA (ООО НПФ Хеликон, Москва, Российская Федерация)
- Минеральное масло (НПФ Литех, Москва, Российская Федерация)
- Ледяной этиловый спирт 96 % (ОАО Кемеровская фармацевтическая фабрика, Кемерово, Российская Федерация)

Из основной коллекции выделенной ДНК составляли рабочую коллекцию с объёмом ДНК в каждом образце в 350 нг.

В 20 мкл каждого образца ДНК вносили 18 мкл буфера для лизиса (2 нг РНКазы, 280 нг / мкл Протеиназы К, 1 % SDS-буфер) и инкубировали при 37 °С в течение 1 ч.

Денатурацию проводили внесением в образцы 2 мкл свежего 3 М NaOH и инкубировали при 37 °С 15 мин и 90 °С в течение 2 ч. Образцы центрифугировали при 4 °С 10000 об / мин 10 с.

Для дезаминирования в образцы вносили 12 мкл свежего 10 mM хинола и 208 мкл насыщенного метабисульфита натрия (рН 5,0; 7,6 г $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, 464 мкл 10 М NaOH), кратко откручивали на вортексе, вносили 200 мкл минерального масла и инкубировали 4-16 ч при 55 °С. По истечению инкубации образцы кратко откручивали и забирали из масла.

Щелочное десульфинирование проводили внесением в образцы 5,5 мкл свежего 3 М NaOH и 15 мин инкубацией при 37 °С. Кратко откручивали на вортексе и вносили 1 мкл РНКазы. После нейтрализовали раствор 33 мкл ацетата аммония.

Осаждение и обессоливание образцов проводили в 330 мкл 96 % ледяного этилового спирта. Инкубировали 1-16 ч при -20 °С. Центрифугировали 10 мин 9000 об / мин, удаляли супернатант, вносили 330 мкл 70 % ледяного этилового спирта. Центрифугировали 10 мин 9000 об / мин, удаляли супернатант и сушили 20 мин при 55 °С. Элюировали образцы в 50 мкл dH₂O.

Измеряли концентрацию каждого образца и создавали коллекцию обработанных метабисульфитом натрия образцов ДНК.

Каждую партию конверсии выполняли с внутренним контролем (SssI-обработанная ДНК в качестве контроля метилированной реакции, не конвертированная ДНК человека в качестве контроля деметилированной реакции), позволяющими независимо верифицировать эффективность конверсии.

Дизайн праймеров

Для каждого исследуемого промотора генов были спроектированы две пары праймеров: метил-специфическая (М) и неметил-специфическая (U), комплементарные последовательностям обработанной бисульфитом ДНК. Праймеры подбирали с использованием программного обеспечения MethPrimer (<https://methprimer.com>). После разработки праймеры были проверены *in silico* в программе SnapGene v.3.2.1. Для каждой пары проводили виртуальную ПЦР на соответствующих бисульфит-конвертированных последовательностях ДНК. Оценивали специфичность связывания, отсутствие перекрёстной гибридизации и образование целевого продукта.

Дополнительная проверка специфичности праймеров выполнена с использованием BLAST, NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>). Для каждой олигонуклеотидной последовательности проводили поиск гомологий в референсном геноме человека (GRCh38/hg38). Оценивали комплементарность к целевым последовательностям, отсутствие значимой гомологии к нецелевым участкам, отсутствие предпосылок к образованию неспецифических продуктов

амплификации. Все праймеры показали высокую специфичность и пригодность для проведения метил-специфической ПЦР.

Характеристики праймеров, включая нуклеотидную последовательность праймеров, температуру отжига и размер продукта, представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Характеристика исследованных однонуклеотидных последовательностей

Ген	Последовательность 5'-3'		T _m , °C	Размер, п.н.
<i>XRCC1</i>	M F	ATTTAGGATGGAGTGTAGTGGTACG	58,2	133
	M R	AATCGCTTAAACTAAAAAATTCGAA	55,4	
	U F	TTTAGGATGGAGTGTAGTGGTATGA	55,1	144
	U R	AATCACTTAAACTAAAAAATTCAAA	56,4	
<i>XRCC2</i>	M F	AGTTTGGTTAAAATGGTGAAATTTC	55,4	104
	M R	CTCTACCTCCCTAATTCAAACGAT	56,1	
	U F	AGTTTGGTTAAAATGGTGAAATTTT	52,2	104
	U R	CCTCTACCTCCCTAATTCAAACAA	54,8	
<i>XRCC3</i>	M F	TAGTTATTTGAGAGTTTGGGAGGTC	56,5	109
	M R	ACCTTTAATTCCTTATTACAAAACGTA	55,8	
	U F	TAGTTATTTGAGAGTTTGGGAGGTT	54,8	109
	U R	ACCTTTAATTCCTTATTACAAAACATA	53,2	
<i>ERCC2</i>	M F	TAATTCGTTAGGGTAGAGTTAATCG	54,9	91
	M R	CCAAATTCTAATAAATAAAATCGAA	51,8	

Ген	Последовательность 5'-3'		Tm, °C	Размер, п.н.
	U F	AATTTGTTAGGGTAGAGTTAATTGG	53,0	91
	U R	CCAAATTCTAATAAATAAAATCAAA	50,1	
<i>ERCC5</i>	M F	TTAGGTTGTAGTGAGTTAAGAATGC	54,2	104
	M R	ACTCCGAAAATAAAAAATTTAACG	52,4	
	U F	AGGTTGTAGTGAGTTAAGAATGTGT	53,8	102
	U R	CTCCAAAAATAAAAAATTTAACACC	51,2	
<i>GSTT1</i>	M F	TTTTTTTGGATTTTGTTGAGTC	52,1	148
	M R	TAACACACTTTCAATAAAATTCGTT	53,8	
	U F	TTTTTTTGGATTTTGTTGAGTTG	50,8	148
	U R	TAACACACTTTCAATAAAATTCATT	50,5	
<i>GSTP1</i>	M F	AAAGGTTTTTTTCGGTTAGTTGC	54,8	91
	M R	CGAACCTTATAAAAATAATCCCG	53,5	
	U F	GGAAAGGTTTTTTTGGTTAGTTGT	52,6	93
	U R	CCAAACCTTATAAAAATAATCCCAC	53,1	
<i>CYP1A1</i>	M F	AGGAAGAGAGTTTGGTATGGTTTAGTTGTTG TTTT	59,5	165
	M R	AAGGCTACCTTCCTAACCCCCTTATTTTA	58,2	

Ген	Последовательность 5'-3'		Tm, °C	Размер, п.н.
	U F	CAGTGAAGAGGTGTAGCCCCT	58,4	138
	U R	TAGGAGTCTTGTCTCATGCCT	56,7	

Примечание: М – метил-специфическая последовательность, U – неметил-специфическая последовательность.

Характеристика промоторов генов систем репарации ДНК и метаболизма ксенобиотиков и CpG-островков промоторных регионов изученных генов

Характеристика включённых в исследование промоторных областей генов *XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*, *GSTT1*, *GSTP1*, *CYP1A1*, включая их локализацию, взятую из базы данных EPDnew (<https://epd.expasy.org/epd/>), представлена в таблице 4.

Таблица 4 – Характеристика промоторных регионов изученных генов

Ген	Локализация	n CG-сайтов	% CG-сайтов	n C+G	C+G, %
<i>XRCC1</i>	19q13.31	7	23,3	39	65
<i>XRCC2</i>	7q36.1	8	26,7	39	65
<i>XRCC3</i>	14q32.33	4	13,3	34	56,7
<i>ERCC2</i>	19q13.32	6	20	44	73,3
<i>ERCC5</i>	13q33.1	4	13,3	43	71,7
<i>GSTT1</i>	22q11.23	2	6,7	30	50
<i>GSTP1</i>	11q13.2	6	20	42	70
<i>CYP1A1</i>	15q24.1	2	6,7	36	60

Для оценки структуры CpG-островков, ассоциированных с промоторными областями исследуемых генов, использовали UCSC Genome Browser (GRCh38, <https://genome.ucsc.edu/>). Координаты CpG-островков определяли по базе данных CpGIslandExt. В анализ включали CpG-островки, перекрывающие область старта

транскрипции (TSS) соответствующих генов. Параметры островков (длина, число CG-сайтов, GC-состав, соотношение Obs/Exp) приведены в таблице 5.

Промотор гена *GSTT1* (референсная сборка h38.p14, аннотация NCBI) не содержит классического CpG-островка, удовлетворяющего критериям Gardiner-Garden & Fromm (длина >200 п.н., GC % >50 %, Obs/Exp >0,6). В связи с чем его характеристика в таблицу не включена. Все представленные CpG-островки перекрывают область старта транскрипции (TSS) и распространяются вглубь генов. CG-сайты, изученные в работе, локализованы в пределах промоторных регионов изученных генов и локализуются в выявленных CpG-островках.

Таблица 5 – Характеристика CpG-островков, перекрывающих промоторные области исследованных генов

Ген	chr	Локализация	ID	Длина, п.н.	n CG- сайтов	n G+C	CpG, %	GC, %	Obs/Exp
<i>XRCC1</i>	19	43575430- 43575753	CpG:38	323	38	223	23,5	69	0,99
<i>XRCC2</i>	17	152675895- 152676336	CpG:51	441	51	318	23,1	72,1	0,93
<i>XRCC3</i>	14	103715041- 103716615	CpG:172	1574	172	1018	21,9	64,7	1,04
<i>ERCC2</i>	19	45370081- 45370775	CpG:66	694	66	476	19	68,6	0,82
<i>ERCC5</i>	13	102845750- 102846413	CpG:54	663	54	411	16,3	62	0,86
<i>GSTP1</i>	11	67583457- 67584482	CpG:96	1025	96	725	18,7	70,7	0,75
<i>CYP11A1</i>	15	74725845- 74726995	CpG:103	1150	103	782	17,9	68	0,78

Таким образом, CG-сайты, амплифицируемые в ходе ПЦР, являются частью функциональных промоторных CpG-островков, что позволяет содержательно интерпретировать изменения их метилирования. Объектом исследования

являются промоторные CG-сайты, а статус метилирования, определяемый методом количественной метил-специфической ПЦР, отражает эпигенетическое состояние именно этих функционально значимых регуляторных элементов.

Таргетная метил-специфическая полуколичественная полимеразная цепная реакция

Из коллекции обработанных метабисульфитом натрия образцов ДНК создавали рабочую коллекцию с концентрацией ДНК 150 нг / мкл.

Реактивы

- $MgCl_2$ (ООО НПФ Хеликон, Москва, Российская Федерация)
- Нуклеотиды (ООО НПФ Синтол, Москва, Российская Федерация)
- Taq-полимераза (ООО НПФ Синтол, Москва, Российская Федерация)
- Праймеры (ООО НПФ Синтол, Москва, Российская Федерация)

Для полуколичественной метил-специфической ПЦР создавали две смеси, содержащие: Taq-полимеразу, трифосфаты, $MgCl_2$, пару метил-специфических праймеров для одной смеси и пару неметил-специфических праймеров для другой смеси.

На каждый образец ДНК использовалась пара пробирок для метил-специфической реакции и неметил-специфической реакции соответственно (таблица 3). Общий объём каждой реакции составлял 25 мкл: 20 мкл реакционной смеси и 5 мкл образца обработанной бисульфитом ДНК. В качестве отрицательного контроля для метилированной реакции использовалась ДНК здорового человека без бисульфитной обработки, для неметилированной – dH_2O . В качестве положительного контроля для метилированной реакции использовалась ДНК, обработанная бисульфитом и заведомо метилированная. Программа ПЦР включала следующие этапы: денатурация при температуре 94 °C и времени 6 мин, отжиг при переменной температуре 55-65 °C и времени 45 с, элонгация при температуре 72 °C и времени 11 мин.

Электрофорез в агарозном геле

Анализ результатов амплификации осуществляли с помощью разделения продуктов методом горизонтального электрофореза в 3% агарозном геле.

Реактивы

- Трис(гидроксиметил)аминометан гидрохлорид, Tris-HCl, $C_4H_{11}NO_3$ (ООО ПанЭко, Москва, Российская Федерация)
- Динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты, EDTA- Na_2 , $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8$ (ООО НПФ Хеликон, Москва, Российская Федерация)
- Ледяная уксусная кислота, CH_3COOH (АО Реахим, Москва, Российская Федерация)
- Агароза, $C_{12}H_{18}O_9$ (ООО НПФ Хеликон, Москва, Российская Федерация)
- Бромистый этидий, $C_{21}H_{20}BrN_3$ (ООО НПФ Хеликон, Москва, Российская Федерация)

Свежеприготовленный расплавленный агарозный гель (3 г $C_{12}H_{18}O_9$, 100 мл dH_2O , 2 мл 50х ТАЕ-буфера (1,5 М Tris-HCl, 5 мМ EDTA- Na_2 , 100 мл dH_2O , pH 7,6), 5 % $C_{21}H_{20}BrN_3$) помещали в заливочный столик и отливали гелевыми гребёнками, ожидали его застывания. После застывания удаляли гелевые гребёнки и переносили гель в камеру для электрофореза с залитым 1х ТАЕ-буфером. В каждую полученную лунку заливали 10 мкл ПЦР-продукта и подсоединяли камеру к блоку питания с выставленной программой: 120 В, 12 мин.

Визуализацию результатов (рисунок 4) проводили с помощью универсальной системы гель-документации GelDoc (BioRad, США). Статус метилирования определяли визуальной оценкой интенсивности электрофоретических полос: гиперметилованный – интенсивность полосы «М»,

частично метилированный – одновременная интенсивность полос «М» и «U» в образце, деметилированный – интенсивность полосы «U».

В анализ статуса метилирования промоторной области гена *GSTT1* были включены 355 работников угольных теплоэлектростанций и 434 не связанных с производством жителей той же местности. Это обусловлено наличием делеции данного гена у остальных доноров, принявших участие в исследовании.



Рисунок 4 – Электрофореграмма ПЦР-продуктов:

М: метил-специфичная пара праймеров; U: неметил-специфичная пара праймеров;
 К-м: деметилированный контрольный образец; К+м: гиперметилированный контрольный образец; К: отрицательный контроль.

Таким образом, образцы 133, 254, 271 оценивали как гиперметилированные, образцы 105, 256 и 52 – как частично метилированные

Валидация метода определения статуса метилирования промоторных областей

Для подтверждения аналитической достоверности результатов, полученных методом таргетной полуколичественной метил-специфической ПЦР с электрофоретической детекцией (МСП), была проведена двухэтапная валидация. На первом этапе применялась количественная метил-специфическая ПЦР в реальном времени с TaqMan зондами внутренней гибридизации (MethyLight). На втором этапе из тех же образцов было отобрано 5, которые верифицировались методом полногеномного бисульфитного секвенирования (WGBS) с целью

количественного определения метилирования ДНК с разрешением отдельного CG-сайта.

Применение MethyLight на первом этапе позволяет количественно оценить воспроизводимость МСП на репрезентативной выборке, тогда как WGBS на втором этапе служит независимой верификацией принципиально иным молекулярным методом, не обладающим ограничениями ПЦР.

Размер валидационной выборки ($n = 45$) рассчитывался исходя из условия обеспечения мощности $\geq 80\%$ для выявления каппы Коэна $k \geq 0,80$ при допустимой погрешности $\pm 0,10$ и $\alpha = 0,05$ в соответствии с рекомендациями Sim и Wright (2005).

Из основной выборки исследования ($n = 936$) методом стратифицированной случайной выборки отобрано 45 образцов ДНК. Стратификация проводилась по результатам МСП пропорционально трём категориям статуса метилирования: 15 образцов с гиперметилованным статусом (интенсивная полоса «М» при отсутствии или слабой полосе «U»), 15 образцов с частично метилированным статусом (одновременное присутствие полос «М» и «U» сопоставимой интенсивности) и 15 образцов с деметилированным статусом (интенсивная полоса «U» при отсутствии полосы «М»). Критерии исключения из валидационной выборки: концентрация ДНК после бисульфитной конверсии < 5 нг/мкл, неудовлетворительное соотношение $A260/A280$ ($< 1,7$ или $> 2,1$).

Для каждого из восьми генов-кандидатов (*XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*, *GSTP1*, *CYP1A1*, *GSTT1*) были разработаны наборы метил-специфических и деметил-специфических праймеров с соответствующими TaqMan зондами.

Геномные последовательности промоторных регионов (от -1500 до +500 п.н. относительно TSS) извлекались из базы данных UCSC Genome Browser (сборка hg38). Бисульфитная конверсия *in silico* выполнялась в программе BiSearch (<http://bisearch.enzim.hu>). Дизайн олигонуклеотидов осуществлялся в соответствии с критериями второго поколения MethyLight (Sano et al., 2007): праймеры проектировались на участках без CG-сайтов во избежание зависимости посадки праймера от статуса метилирования; зонды содержали несколько CG-

сайтов внутри последовательности; длина ампликона составляла 80-150 п.н.; T_m праймеров – 58-62 °C; T_m зондов – 65-70 °C; GC-содержание праймеров – 40-60%.

Специфичность последовательностей праймеров проверялась BLAST-поиском против бисульфит-конвертированного генома hg38. Последовательности праймеров и зондов для всех восьми генов представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Последовательности праймеров и TaqMan зондов для метил-специфической ПЦР в реальном времени

Ген	Последовательность 5'-3'		T _m , °C	Размер, п.н.
<i>XRCC1</i>	M F	ATTTAGGATGGAGTGTAGTGGTACG	58,2	133
	M R	AATCGCTTAAACTAAAAAATTCGAA	55,4	
	M	R6G-CGGGGTGC GCCCTGCG-BHQ1	67,1	
	U F	TTTAGGATGGAGTGTAGTGGTATGA	55,1	144
	U R	AATCACTTAAACTAAAAAATTCAAA	56,4	
	U	FAM-TGGGGTGTGTTTTGTG-BHQ1	65,2	
<i>XRCC2</i>	M F	AGTTTGGTTAAAATGGTGAAATTC	55,4	104
	M R	CTCTACCTCCCTAATTCAAACGAT	56,1	
	M	R6G-CGCAGACTCTACGGCCAGTCAAACC-BHQ1	66,4	
	U F	AGTTTGGTTAAAATGGTGAAATTTT	52,2	104
	U R	CCTCTACCTCCCTAATTCAAACAA	54,8	
	U	FAM-TGTAGATTTTATGGTTAGTTAAATT-BHQ1	64,8	
<i>XRCC3</i>	M F	TAGTTATTTGAGAGTTTGGGAGGTC	56,5	109
	M R	ACCTTTAATTCCTTATTACAAAACGTA	55,8	
	M	R6G-CGCCGTCCTGCTCCTCTCGG-BHQ1	65,8	
	U F	TAGTTATTTGAGAGTTTGGGAGGTT	54,8	109
	U R	ACCTTTAATTCCTTATTACAAAACATA	53,2	
	U	FAM-TGTTGTTTTGTTTTTTTTTGG-BHQ1	64,1	
<i>ERCC2</i>	M F	TAATTCGTTAGGGTAGAGTTAATCG	54,9	91
	M R	CCAAATTCTAATAAATAAAATCGAA	51,8	
	M	R6G-CGGACTGTGCAGCGGGGTCGAC-BHQ1	68,2	

	U F	AATTTGTTAGGGTAGAGTTAATTGG	53,0	91
	U R	CCAAATTCTAATAAAATAAAATCAAA	50,1	
	U	FAM-TGGATTGTGTAGTGGGGTTGAT-BHQ1	66,5	
<i>ERCC5</i>	M F	TTAGGTTGTAGTGAGTTAAGAATGC	54,2	104
	M R	ACTCCGAAAATAAAAAATTTAACG	52,4	
	M	R6G-CGCCAACGGCCATTCTCTGGACC-BHQ1	66,9	
	U F	AGGTTGTAGTGAGTTAAGAATGTGT	53,8	102
	U R	CTCCAAAAATAAAAAATTTAACACC	51,2	
	U	FAM-TGTTAATGGTTATTTTTTGGATT-BHQ1	65,3	
<i>GSTT1</i>	M F	TTTTTTTGGATTTTGTGAGTC	52,1	148
	M R	TAACACACTTTCAATAAAATTCGTT	53,8	
	M	R6G-CGTTTTTCGTTTTTCGT-BHQ1	65,4	
	U F	TTTTTTTGGATTTTGTGAGTTG	50,8	148
	U R	TAACACACTTTCAATAAAATTCATT	50,5	
	U	FAM-TGTTTTTGTGTTTTGT-BHQ1	63,2	
<i>GSTP1</i>	M F	AAAGGTTTTTTTCGGTTAGTTGC	54,8	91
	M R	CGAACCTTATAAAAAATAATCCCG	53,5	
	M	R6G-CGGGGCGGGACCACCC-BHQ1	67,5	
	U F	GGAAAGGTTTTTTTGGTTAGTTGT	52,6	93
	U R	CCAAACCTTATAAAAAATAATCCCAC	53,1	
	U	FAM-TGGGGTGGGATTATTT-BHQ1	65,8	
<i>CYP1A1</i>	M F	AGGAAGAGAGTTTGGTATGGTTTAGTTGTTTGTTTT	59,5	165
	M R	AAGGCTACCTTCCCTAACCCCTTATTTTA	58,2	
	M	R6G-ACCTTTATAGGCGGGCTTGTACG-BHQ1	66,2	
	U F	CAGTGAAGAGGTGTAGCCCCT	58,4	138
	U R	TAGGAGTCTTGTCTCATGCCT	56,7	
	U	FAM-ATTTTTTATAGGTGGGTTTGTATG-BHQ1	64,5	
<i>ALU-C4</i> (<i>QC</i>)	F	GGTTAGGTATAGTGGTTTATATTTGTAATTTTAGTA	58,8	98
	R	ATTAACТАААCТААCТТАААCCTACACA	57,4	
	-	Cy5-CCTACACACTATTTTTGTATAGATAGAAATA-BHQ2	64,5	

Примечание: внутренний контроль количества и качества ДНК (*ALU-C4*) в том же эксперименте. М – метилированная реакция; U – деметилированная реакция.

ПЦР в реальном времени проводилась на амплификаторе CFX96 C1000 Touch (Bio-Rad, США) в объёме реакции 25 мкл, содержащей: 12,5 мкл мастер-микса БиоМастер HS-qPCR-Спец 2× (ООО «Биолабмикс», Новосибирск, Россия), по 0,75 мкл каждого праймера (300 нМ), по 0,5 мкл каждого TaqMan зонда (100 нМ) и 5 мкл бисульфит-конвертированной ДНК (50 нг). Амплификация проводилась по следующей программе (таблица 7).

Таблица 7 – Программа амплификации MethyLight

Этап	Температура, °C	Время	Число циклов	Детекция (каналы)
Активация	95	10 мин	1	-
Денатурация	95	15 с	50	-
Отжиг	54	30 с	50	
Элонгация	60	45 с	50	HEX (535/556 нм) – М FAM (494/520 нм) – U Cy5 (650/670 нм) – ALU-C4

Пример результата метил-специфической ПЦР в реальном времени с TaqMan зондами (MethyLight) для промоторного региона гена *ERCC2* показан на рисунке 5 и в приложении А.

Количественная оценка метилирования каждого промотора в каждом образце осуществлялась методом PMR (Percentage of Methylated Reference), предложенным Eads et al. (2000) и адаптированным Ogino et al. (2006).

$$PMR = \frac{2^{-(Ct_{\text{ген.М}} - Ct_{\text{ALU-М}})_{\text{образец}}}}{2^{-(Ct_{\text{ген.М}} - Ct_{\text{ALU-М}})_{\text{SssI}}}} \times 100\%,$$

где: $Ct_{\text{ген.М}}$ – пороговый цикл в М-реакции для исследуемого гена; $Ct_{\text{ALU-М}}$ – пороговый цикл для контрольного локуса *ALU-C4* (нормировочный показатель); *SssI* – положительный контроль (100%-метилированная ДНК).

PMR = 0 % соответствует полному отсутствию метилирования, PMR = 100 % – метилированию, эквивалентному контролю *SssI*. Категориальная классификация по PMR: деметилированный – PMR <20 %; частично метилированный – 20 % ≤ PMR ≤ 70 %; гиперметилированный – PMR >70 %.

Согласие между категориями, определёнными МСП и MethyLight, оценивались взвешенной каппой Коэна (κ_w) с квадратичными весами (Cohen, 1968). Дополнительно рассчитывался общий процент совпадения (OPA) и чувствительность/специфичность MethyLight относительно МСП для каждой категории. Расчёты выполнялись в R v.4.3.1 (пакеты *irr* и *psych*). Значимость различий между генами по частоте расхождений оценивалась критерием Кокрана Q.

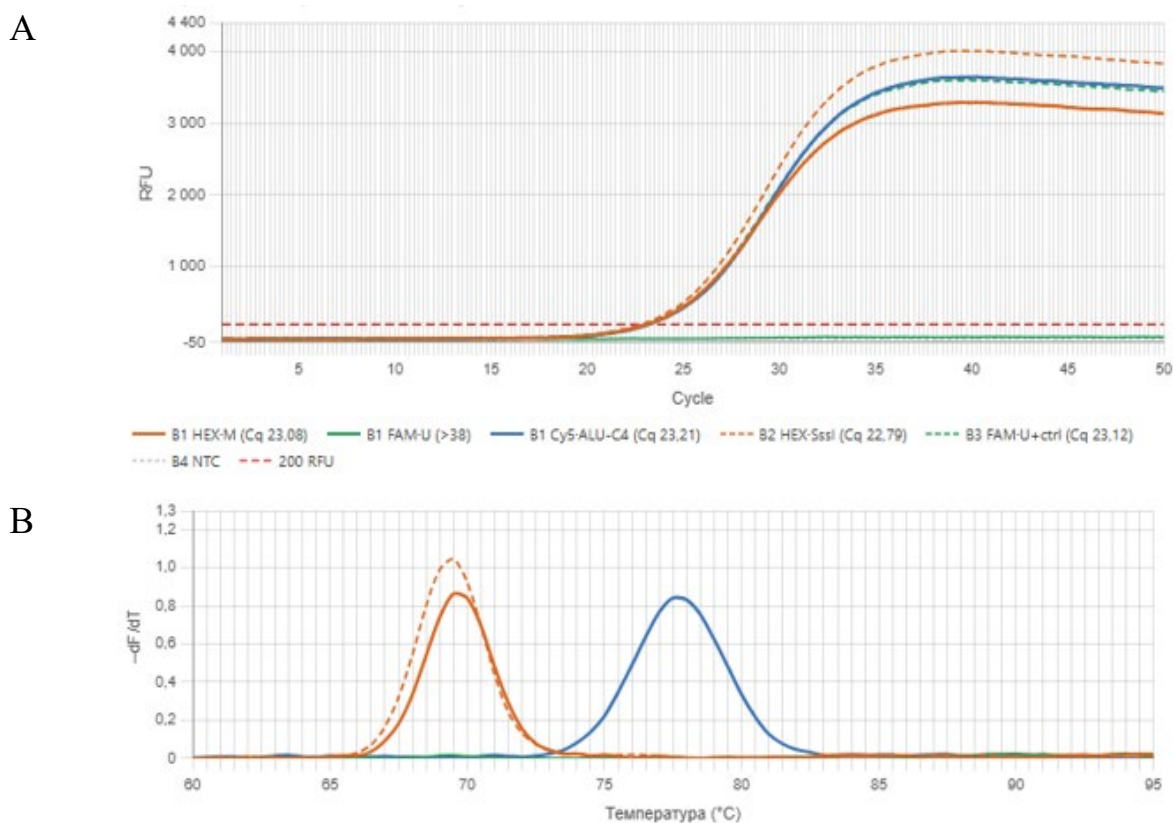


Рисунок 5 – Результаты дуплексной метил-специфической ПЦР в реальном времени с TaqMan зондами для промоторного региона гена *ERCC2* на примере гиперметилированного образца (Н-3). Реакции М (метил-специфическая, зонд R6G-BHQ1) и U (деметил-специфическая, зонд FAM-BHQ1) проводились одновременно в одной лунке; контроль количества ДНК осуществлялся зондом Cy5-BHQ2 (локус *ALU-C4*).

А – Кривые амплификации, В – Кривые плавления

Критерии включения образцов ДНК в WGBS-подвыборку: концентрация ДНК ≥ 1 мкг; соотношение A260/A280: 1,80-2,00; наличие чёткого результата как по МСП, так и по MethyLight. Критерии исключения: недостаточное количество ДНК, признаки деградации, неудовлетворительные результаты контроля качества при подготовке библиотеки. Спектрофотометрический анализ (NanoDrop 2000, Thermo Fisher Scientific) применяли для оценки A260/A280 и A260/A230.

Образцы ДНК были переданы в лабораторию Центра генетики и репродуктивной медицины «Генетико» (Москва, Россия), где проводили бисульфитную конверсию, подготовку библиотек и секвенирование.

Бисульфитная конверсия геномной ДНК (500 нг на образец) проводилась с использованием набора EpiTect Fast DNA Bisulfite Kit (QIAGEN, Германия) согласно инструкции производителя.

Библиотеки готовились из 100 нг бисульфит-конвертированной ДНК с использованием набора EpiArt DNA Methylation Library Kit for Illumina V3 (Vazyme, Китай) в соответствии с протоколом производителя.

Секвенирование выполнялось на платформе Illumina NovaSeq 6000 в режиме парных концов (paired-end, 2×150 п.н.). Целевая глубина покрытия составляла $\geq 30\times$ на образец применительно к промоторным регионам анализируемых генов (Ziller et al., 2015).

Оценку необработанных чтений (raw reads) проводили программой FastQC v.0.11.9. Адаптерные последовательности, низкокачественные нуклеотиды (Phred score < 20) и короткие чтения (< 36 п.н. после тримминга) удаляли программой Trim Galore v.0.6.7. Обрезанные чтения выравнивали на референсный геном человека GRCh38 (hg38) программой Bismark v.0.22.3 (Krueger, Andrews, 2011). Дубликаты ПЦР-амплификации удаляли модулем deduplicate_bismark. Образцы с долей дублицированных чтений более 50% исключались из дальнейшего анализа. CpG-метилование извлекали модулем bismark_methylation_extractor с объединением данных по обеим нитям (CpG context only, --CX не использовали). Для каждого CpG-сайта получено число метилированных (М) и

неметилированных (U) прочтений. К анализу включались только сайты с покрытием $\geq 10\times$.

Геномные координаты ампликонов (старт прямого праймера – конец обратного праймера) определяли выравниванием последовательностей праймеров на референсный геном GRCh38 (сборка hg38) инструментом UCSC In-Silico PCR (<https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr>). Индекс метилирования промотора (ИМП) для каждого гена в каждом образце рассчитывался как среднее арифметическое β -значений тех CpG-сайтов по данным WGBS, которые располагались в пределах координат соответствующего ампликона и прошли фильтр минимального покрытия ($\geq 10\times$):

$$\text{ИМП}_{\text{WGBS}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \beta_i, \quad i \in [\text{start}_{\text{ампл.}}, \text{end}_{\text{ампл.}}], \quad \text{покрытие}_i \geq 10 \times$$

где n – число CpG-сайтов в ампликоне, прошедших фильтр покрытия. Такой подход обеспечивает анализ идентичного набора CpG-сайтов обоими методами и исключает смещение оценок, обусловленное различием анализируемых геномных регионов.

Значения ИМП переводились в категориальный статус по порогам, основанным на бимодальном распределении β -значений в нормальных соматических клетках (Bibikova et al., 2006): ИМП $< 0,20$ – деметилированный; $0,20 \leq \text{ИМП} \leq 0,70$ – частично метилированный; ИМП $> 0,70$ – гиперметилированный.

Визуализация профилей метилирования промоторных регионов осуществлялась в программе IGV (Integrative Genomics Viewer, <https://igv.org>, версия 2.16.1) с использованием референсной сборки hg38.

Для изученных образцов строили матрицы согласия МСП×MethyLight, МСП×WGBS и MethyLight×WGBS и рассчитывали все три κ_w . Статистический анализ выполняли в R v.4.3.1 (пакеты irr, psych, ggplot2, blandr). Критический уровень значимости: $\alpha = 0,05$.

Значения PMR в валидационной выборке варьировали от 0 % до 100 % (медиана 43,4 %, межквартильный диапазон 5,2-87,3 %). Распределение PMR

демонстрировало выраженный бимодальный характер с пиками в диапазонах 0-20 % (деметилированные образцы) и 70-100 % (гиперметилированные образцы). Промежуточные значения PMR (20-70 %) регистрировались в образцах, классифицированных МСП как частично метилированные.

Матрица сопоставления категорий метилирования, определённых МСП и MethyLight, представлена в таблице 8.

Таблица 8 – Матрица согласия категорий метилирования по данным МСП и MethyLight

	MethyLight: U	MethyLight: MU	MethyLight: M	Всего
МСП: U	101	19	0	120
МСП: MU	0	120	0	120
МСП: M	0	17	103	120
Всего	101	156	103	360

Примечание. По диагонали – число совпадающих классификаций; вне диагонали – число расхождений. М – гиперметилированный статус, MU – частично метилированный, U – деметилированный.

Общий процент совпадения категорий (OPA) составил 92,8 % (334 из 360 наблюдений; 95 % ДИ: 90,1-95,5 %). Взвешенная каппа Коэна с квадратичными весами составила 0,943 (95 % ДИ: 0,920-0,966), что по шкале Landis, Koch (1977) соответствует почти идеальному согласию ($\kappa > 0,80$). Показатели согласия по отдельным генам представлены в таблице 9.

Из 26 расхождений (7,2 %) между МСП и MethyLight все случаи показали расхождение на одну ступень шкалы (деметилированный и частично метилированный или частично метилированный и гиперметилированный); все они приходились на образцы с PMR в пограничных диапазонах (PMR 15-25 % или PMR 65-75 %).

Таблица 9 – Показатели согласия МСП и MethyLight по изученным генам

Ген	n	OPA, %	κ_w	95% ДИ κ_w
-----	---	--------	------------	-------------------

<i>ERCC2</i>	45	95,6	0,966	0,918-1,000
<i>GSTP1</i>	45	95,6	0,966	0,918-1,000
<i>XRCC1</i>	45	95,6	0,966	0,918-1,000
<i>XRCC2</i>	45	95,6	0,966	0,918-1,000
<i>GSTT1</i>	45	84,4	0,867	0,774-0,960
<i>ERCC5</i>	45	91,1	0,916	0,849-0,984
<i>XRCC3</i>	45	88,9	0,897	0,818-0,976
<i>CYP1A1</i>	45	88,9	0,897	0,818-0,976

Гены *ERCC2*, *GSTP1*, *XRCC1* и *XRCC2* характеризовались наибольшей точностью ($OPA \geq 95,6$ %), что обусловлено биологически чёткой дихотомией статуса метилирования и отсутствием промежуточных значений. *GSTT1*, *CYP1A1* и *XRCC3* показали наименьшую согласованность (OPA 84,4,0-88,9 %), все расхождения концентрировались в пограничных диапазонах PMR. Пример профиля метилирования промоторных регионов изученных генов представлен на рисунке 6. Полные результаты WGBS представлены в приложении Б.

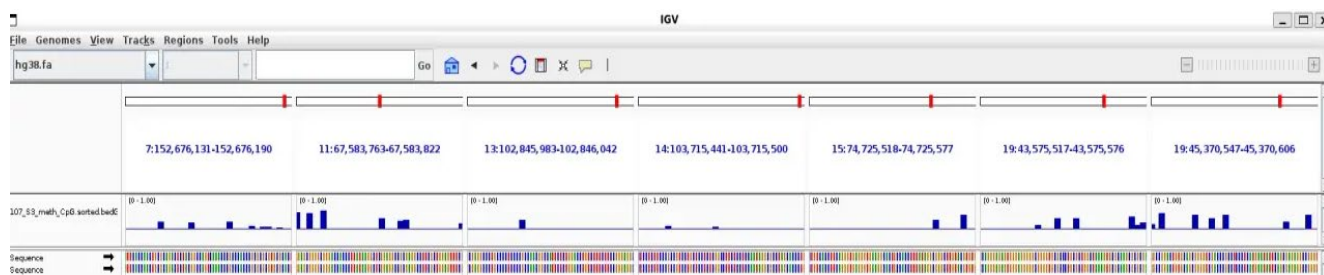


Рисунок 6 – Пример профиля метилирования промоторных регионов изученных генов по данным WGBS (Геномный браузер IGV v.2.16.1, референсная сборка hg38). Каждый вертикальный столбец соответствует отдельному CG-сайту

Деметилированные варианты демонстрировали $\beta \leq 0,08$ на подавляющем большинстве CG-сайтов. Промоторы с частичным метилированием отличались гетерогенным профилем: β -значения варьировали в широком диапазоне (0,20-0,70) без чёткой позиционной закономерности, что характерно для мозаичного метилирования при промежуточных уровнях эпигенетической регуляции. Описанная картина наблюдалась устойчиво во всех образцах с принадлежащей статусной категорией.

Матрица согласия результатов МСП, MethyLight и WGBS представлена в таблице 10.

Таблица 10 – Сводные показатели согласия трёх методов анализа метилирования промоторных регионов изученных генов

Сравнение методов	ОРА, %	95% ДИ (ОРА)	κ^w	95% ДИ (κ^w)
МСП × MethyLight	92,5	79,6-98,4	0,960	0,892-0,966
МСП × WGBS	90,0	76,3-97,2	0,932	0,813-1,000
MethyLight × WGBS	90,0	76,3-97,2	0,943	0,833-1,000

Коэффициент согласия Флейса для трёхстороннего совпадения: $\kappa_F = 0,88$ ($p < 0,001$; 95 % ДИ: 0,81-0,95) – что соответствует почти идеальному межметодному согласию согласно шкале Ландиса-Коха (Landis, Koch, 1977).

Все расхождения концентрировались в образцах с пограничными значениями ИМП (0,15-0,25 или 0,65-0,75), что является ожидаемым ограничением полуколичественного электрофоретического метода. В диапазоне уверенной классификации ($\beta < 0,10$ и $\beta > 0,80$) наблюдалось 100 % согласие всех трёх методов. Систематического смещения ни в одном из сравнений не выявлено (тест Боукера: $p > 0,05$ для всех трёх пар). Распределение расхождений по генам не выявило статистически значимой межгенной неоднородности согласия (тест Кокрана: МСП × MethyLight – $Q = 3,69$, $df = 7$, $p = 0,82$; МСП × WGBS – $Q = 3,50$, $df = 7$, $p = 0,84$; MethyLight × WGBS – $Q = 2,00$, $df = 7$, $p = 0,96$), что свидетельствует об универсальности метода МСП для изученной панели генов-кандидатов.

Таким образом, результаты валидации методами MethyLight и WGBS подтверждают, что метод МСП обеспечивает воспроизводимую и точную трёхкатегориальную классификацию статуса метилирования промоторных регионов генов *XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*, *GSTT1*, *GSTP1* и *CYP1A1*.

2.4. Методы статистической обработки результатов

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью программы StatSoft STATISTICA 13.0. Оценку количественных показателей осуществляли посредством вычисления средних значений (μ), стандартных ошибок средней (SEM), медиан (Me), стандартных отклонений (SD), 25 и 75 перцентилей, а также размахов (Радишевская, 2016). Полученные количественные данные (результаты микроядерного теста) проверялись на нормальность распределения при помощи критерия Колмогорова-Смирнова. Было установлено статистически значимое отклонение распределений от нормального всех изучаемых количественных параметров ($p < 0,05$).

Сравнение групп проводилось с помощью непараметрических критериев: Kruskal-Wallis H-test (для сравнения нескольких групп), Mann-Whitney U Test (для парных сравнений). Корреляцию между показателями для случая непараметрических данных рассчитывали с использованием коэффициента корреляции Спирмена.

При статистической обработке данных по частотам аллелей проводили оценку частоты редкого аллеля, частоты всех вариантов генотипов, проверяли соответствие распределения частот генотипов равновесию Харди–Вайнберга (χ^2). Статистическую значимость различий между группами по частотам аллелей и генотипов для теста χ^2 на гомогенность выборок и значение p-value для теста проводили с помощью онлайн-ресурса: <https://www.had2know.org/academics/hardy-weinberg-equilibrium-calculator-2-alleles.html>.

Оценку прогностической эффективности показателей выполняли с помощью ROC-анализа (рассчитывали показатель AUC – Area Under Curve) в программе MedCalc (Беляев, 2023). Для определения прогностической ценности изученных показателей использовали следующую классификацию значений AUC: плохой классификатор (0,5-0,6), средний классификатор (0,6-0,70), хороший классификатор (0,7-0,8), очень хороший классификатор (0,8-0,9), отличный классификатор ($>0,9$).

Выявление ассоциаций изученных параметров с различными показателями рассчитывалось при помощи критерия Фишера (Халафян, 2008), порядкового

регрессионного анализа (Халафян, 2008), общей линейной модели (GLM) (Халафян, 2008). Для учета множественных сравнений при анализе ассоциаций использовалась поправка FDR Бенджамини-Хохберга (Benjamini, Yekutieli, 2001).

Для оценки чувствительности проведенного статистического анализа данных микроядерного теста в лимфоцитах работников угольных теплоэлектростанций в сравнении с контрольными донорами в программе G-Power 3.1.9.7 была рассчитана апостериорная статистическая мощность, которая составила 0,9. Статистическая мощность для анализа результатов изучения статуса метилирования промоторных областей изученных генов составила 0,9. Полученные коэффициенты указывают на хорошую чувствительность проведенных исследований.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Показатели микроядерного теста у рабочих угольных теплоэлектростанций

3.1.1. Общая характеристика цитогенетических и пролиферативных показателей в изученных группах

Результаты микроядерного теста в группах рабочих ТЭС и жителей той же местности, не занятых на производстве (группа сравнения), представлены на рисунке 7 (А-Б).

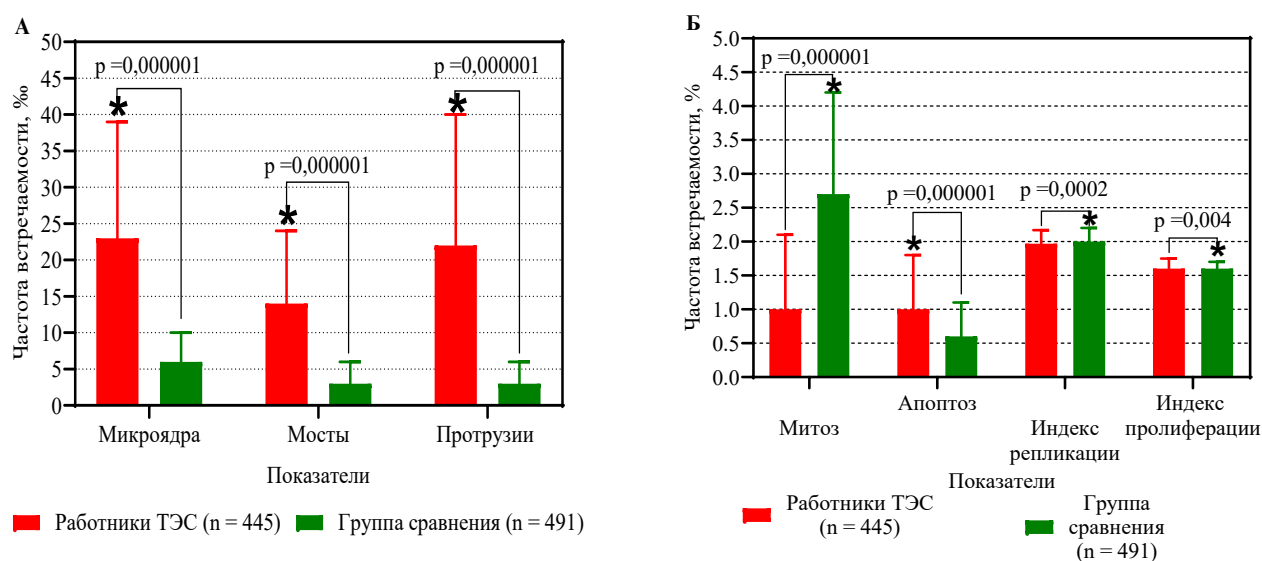


Рисунок 7 – Цитогенетические параметры (А) и показатели пролиферативной активности клеток (Б) в изученных группах. Здесь и далее представлена медиана и стандартное отклонение

У обследованных работников угольных теплоэлектростанций наблюдается увеличение ($p_{adj} = 0,000001$) частоты встречаемости клеток с микроядрами (23 %), мостами (14 %), протрузиями (22 %), а также в апоптозе (1 %) по сравнению с не

работающими на производстве донорами (6 ‰, 3 ‰, 3 ‰ и 0,6 ‰ соответственно). Это указывает на кластогенный характер воздействия производственной среды на организм человека. Повышение частоты микроядер свидетельствует о накоплении в клетках крови рабочих ТЭС хромосомных фрагментов и отставании целых хромосом. При этом мутагенные эффекты частично нейтрализуются механизмами репарации ДНК, вследствие чего наблюдается увеличенная частота клеток с протрузиями (Mesic, Nefic, 2015). Повышение частоты нуклеоплазменных мостов, наблюдаемое у рабочих ТЭС, является биоиндикатором радиационного воздействия (Carlos-Reyes et al., 2021). Известно, что на угольных теплоэлектростанциях огромный объём сжигаемого угля обуславливает повышенный радиационный фон (Mishra, Lalit, 1980).

Цитотоксические эффекты действия факторов производственной среды ТЭС проявлялись в виде снижения у рабочих частоты делящихся лимфоцитов (частота митозов) у работников ТЭС (1 ‰) по сравнению с контрольными донорами (2,7 ‰) ($p_{adj} = 0,000001$). Цитотоксические и генотоксические эффекты обусловлены воздействием комплекса вредных факторов производственной среды – угольной пыли, тяжёлых металлов, полициклических ароматических углеводородов. Эти факторы вызывают повреждения на клеточном уровне, включая нарушение деления клеток, воспаление и клеточную гибель.

Ранее в ряде работ было показано значительное увеличение цитогенетических повреждений в группе работников угольного производства по сравнению с контролем (Leng et al., 2004; Donbak et al., 2005; Ada et al., 2013; Pavanello et al., 2013; Синицкий, 2017; Espitia-Pérez et al., 2018; Vimercati et al., 2020; Xi, et al., 2023). Стоит отметить, что частота встречаемости цитогенетических нарушений в группе сравнения соответствовала ранее проведённым исследованиям у жителей Кемеровской области (Дружинин и др., 2019).

Анализ существующих работ по оценке цитогенетических нарушений у работников угольной промышленности показал небольшое количество исследований, посвящённых данной проблеме. Работы, в которых проводилась

оценка цитогенетических нарушений у работников угольных теплоэлектростанций, ещё более малочисленны. Помимо этого, в существующих работах изучены ограниченные по размеру выборки. Основные регионы, в которых изучается влияние рабочей среды угольной промышленности на геном работников, являются Колумбия, Бразилия и Турция. Во многих ранних работах (Siwińska, Mielzyńska, Kapka, 2004; Donbak et al., 2005; Celik et al., 2007; Ulker et al., 2008; Cheng et al., 2009; León-Mejía et al., 2011; Ada et al., 2013) изучались только микроядра как показатель генотоксичности. В более поздних работах (Rohr et al., 2013; Espitia-Pérez et al., 2016; Sinitsky et al., 2016; De Souza, da Silva, Dohl, 2019) регистрировались нуклеоплазменные мосты и протрузии.

Во всех включённых в анализ работах выявлено значимое увеличение частот цитогенетических нарушений у работников по сравнению с контролем. В некоторых работах при оценке генотоксичности, помимо микроядерного теста, включали анализ хромосомных аберраций (Siwinska et al., 2004; Donbak, Rencuzogullari, Yavuz and Topaktas, 2005; Celik et al., 2007; Ada et al., 2013), сестринский хроматидный обмен (Siwińska, Mielzyńska, Kapka, 2004; Donbak et al., 2005; Celik et al., 2007; Ulker et al., 2008), анализ ДНК-комет (Siwińska, Mielzyńska, Kapka., 2004; Cheng et al., 2009; León-Mejía et al., 2011), изучение однонуклеотидных замен *XRCC1* (Cheng et al., 2009), *CYP1A1*, *CYP1B1*, *EPHX1*, *GSTT1*, *GSTP1* (Kvitko et al., 2012; Ada et al., 2013), анализ химического состава фракций (Espitia-Pérez et al., 2018).

Полученные в Кузбассе данные можно сопоставить с результатами изучения клеток с микроядрами у работников угольных шахт и коксовых печей в Турции (20 ‰, 27,17 ‰ и 12 ‰ соответственно). При этом в Турции и Кузбассе установлены наиболее высокие показатели частоты встречаемости клеток с нарушениями у работников угольных шахт (27,17 ‰ и 11,15 ‰ соответственно).

В ряде работ рассматривается повышенная степень повреждения ДНК у шахтёров угледобывающей индустрии (Минина и др., 2015; Tomaskova et al., 2017). Кроме того, у работников угольных теплоэлектростанций, активно профессионально контактирующих с углём, наблюдалась увеличенная частота

нарушения ДНК (Ларин и др., 2007; Савченко и др., 2008; Volobaev et al., 2016; Минина и др., 2019).

Кроме того, существует множество неопределённостей и несостыковок в процессах регистрации мутагенности и кластогенности различных соединений, воздействующих на организм работников угольной промышленности, а также нет чёткости в соответствии процессов повреждения. Для исследования перечисленных факторов необходимо пользоваться не одним, а целым комплексом подходов и расширением дизайна исследования (включение в анализ стратификацию по полу, статусу курения, учёт возраста, питания, наличия заболеваний и пр.), которые способствовали более полноценной и информативной оценке генотоксических эффектов угольных теплоэлектростанций.

3.1.2. Оценка роли возможных конфаундеров в формирование цитогенетических и пролиферативных показателей микроядерного теста в изученных группах

Цитогенетические и пролиферативные показатели у мужчин и женщин, работающих на угольных теплоэлектростанциях, представлены на рисунке 8 (А-Б).

Цитогенетические и пролиферативные показатели у мужчин и женщин, не связанных с производством, представлены на рисунке 9 (А-Б).

Гендерных особенностей цитогенетических показателей не было выявлено как в группе рабочих ТЭС, так и в контрольной группе. В контрольной группе у мужчин была отмечена повышенная ($p_{adj}=0,0008$) частота встречаемости делящихся клеток, а отличия частоты клеток в апоптозе не достигали статистически значимого уровня. Однако в группе работников ТЭС была отмечена повышенная ($p_{adj}=0,04$) частота встречаемости клеток в апоптозе (1 %) у мужчин по сравнению с женщинами (0,8 %), что может быть связано с более тяжёлыми условиями труда у мужчин. Одновременно с этим полученный

результат свидетельствует о более высокой эффективности элиминации повреждённых клеток у мужчин.

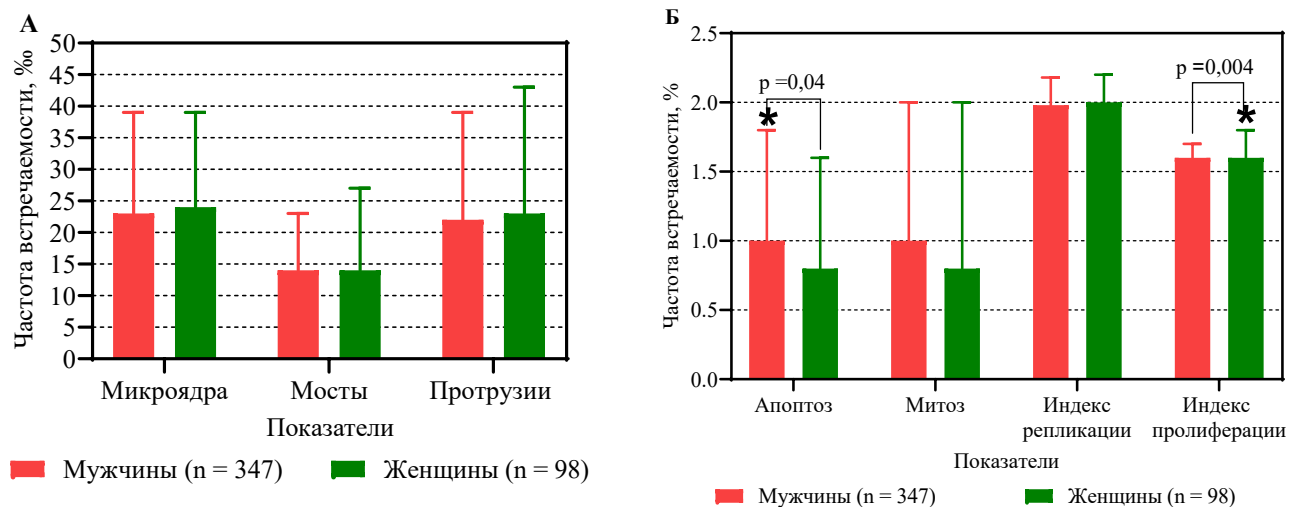


Рисунок 8 – Цитогенетические параметры (А) и показатели пролиферативной активности лимфоцитов (Б) у мужчин и женщин, работающих на угольных теплоэлектростанциях

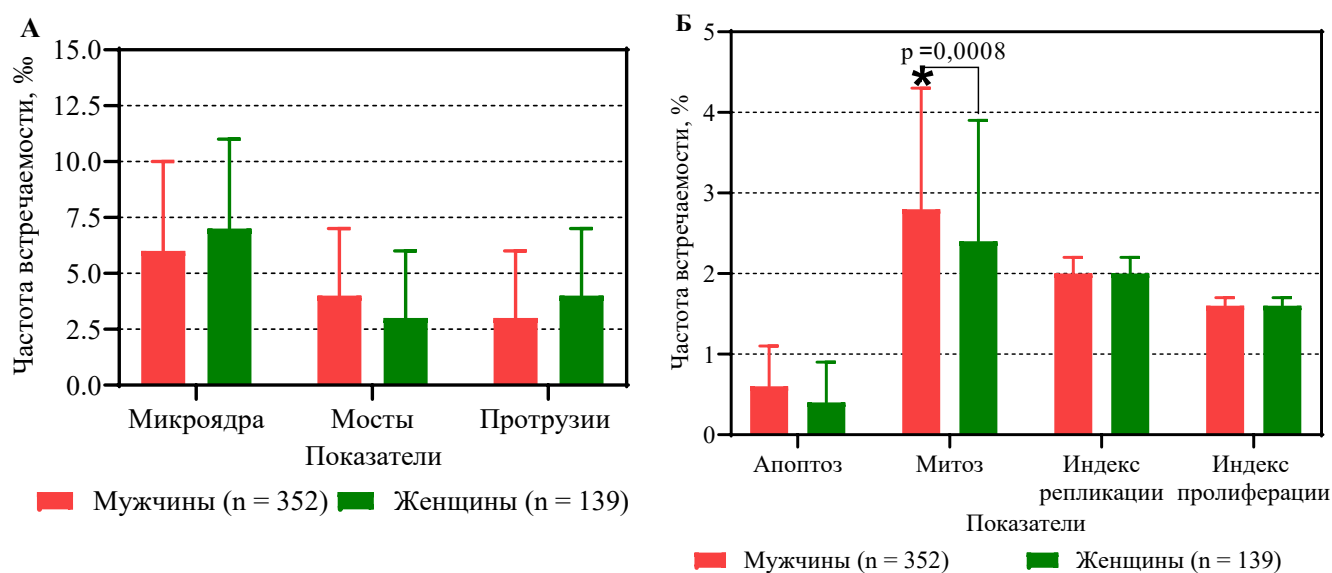


Рисунок 9 – Цитогенетические параметры (А) и показатели пролиферативной активности лимфоцитов (Б) у мужчин и женщин, не работающих на производстве

Многие исследователи, изучающие связь между полом и частотой микроядер, утверждают, что частота микроядер значительно выше у женщин, чем у мужчин (Fenech, 1993; Battershill, Burnett, Bull, 2008; Kopjar et al., 2010), в то время как имеется несколько публикаций, согласно которым пол не влиял на частоту микроядер (Di Giorgio et al. 1994; Duan et al., 2009).

Установлена прямая связь возраста с накоплением микроядер ($p_{adj}=0,00001$, $r^2 = 0,0437$) и нуклеоплазменных мостов ($p_{adj}=0,0492$, $r^2 = 0,0114$) у работников угольных теплоэлектростанций (рисунок 10 (А-Б)), что согласуется с существующими представлениями о накоплении с возрастом генетических повреждений (Ferraz et al., 2016). Аналогичные результаты были получены ранее в том числе и при изучении работников угольной промышленности (Leng et al., 2004; Celik et al., 2007; Da Silva Pinto et al., 2017).

У не работающих на производстве жителей Кемеровской области была выявлена прямая связь возраста с накоплением клеток в апоптозе ($p_{adj}=0,0028$, $r^2 = 0,0206$) и митозе ($p_{adj}=0,0003$, $r^2 = 0,0265$) (рисунок 11).

Показатели микроядерного теста не отличались в зависимости от статуса курения как в группе рабочих, так и в контроле. Среднее количество выкуриваемых сигарет в день в группе работников составило $18 \pm 0,6$, в контрольной – $17 \pm 0,7$. Из всей группы работающих выявлен только один работник, выкуривающий более 30 сигарет в день, в контрольной группе таких активных курильщиков зарегистрировано не было. Не выявлено статистически значимых связей между показателями микроядерного теста и количеством выкуриваемых сигарет в день как в группе рабочих, так и в контроле. Отсутствие влияния курения на показатели микроядерного теста в исследованных выборках может быть связано с отсутствием «заядлых» курильщиков (выкуривающих более 30 сигарет в день) в группах. Аналогичное отсутствие генотоксических эффектов умеренного курения также было отмечено в работах (Bonassi et al., 2003; Ulker et al., 2008).

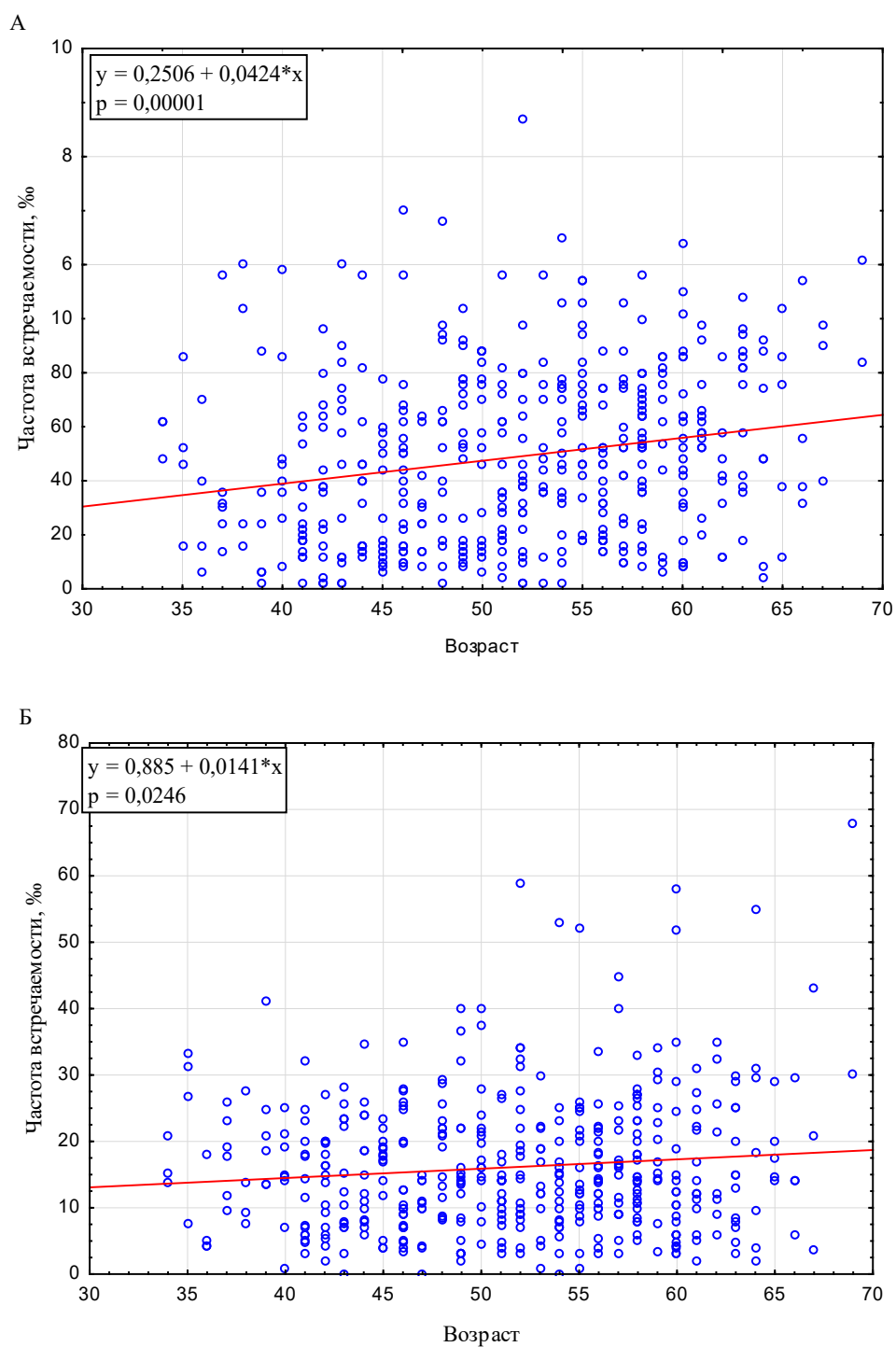


Рисунок 10 – Частота лимфоцитов с микроядрами (А) и нуклеоплазмнными мостами (Б) у рабочих ТЭС разного возраста: на оси Х – возраст, на оси Y – частота встречаемости двуядерных лимфоцитов с нарушениями

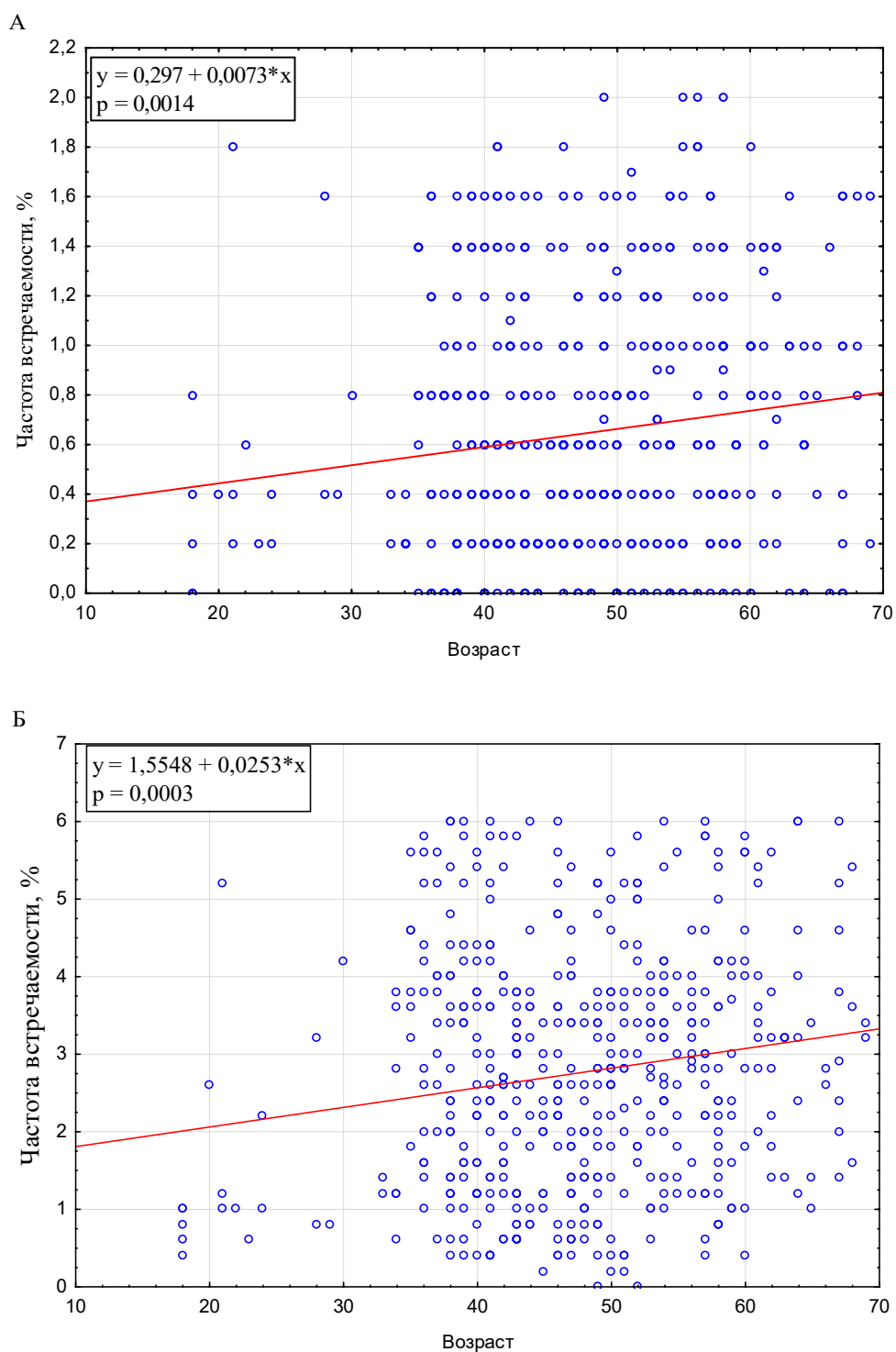


Рисунок 11 – Частота лимфоцитов в апоптозе (А) и митозе (Б) у индивидов группы сравнения разного возраста: на оси X – возраст, на оси Y – частота встречаемости двуядерных лимфоцитов

В ряде работ (Celik et al., 2006; Idrees et al., 2023) были получены свидетельства повышения частоты цитогенетических нарушений у рабочих по мере возрастания стажа работы на производстве. В настоящем исследовании также выявлена прямая корреляция между стажем работы на угольных теплоэлектростанциях (рисунки 12-13) и частотой встречаемости у рабочих клеток с микроядрами ($p_{adj}=0,000001$) и мостами ($p_{adj}=0,0014$).

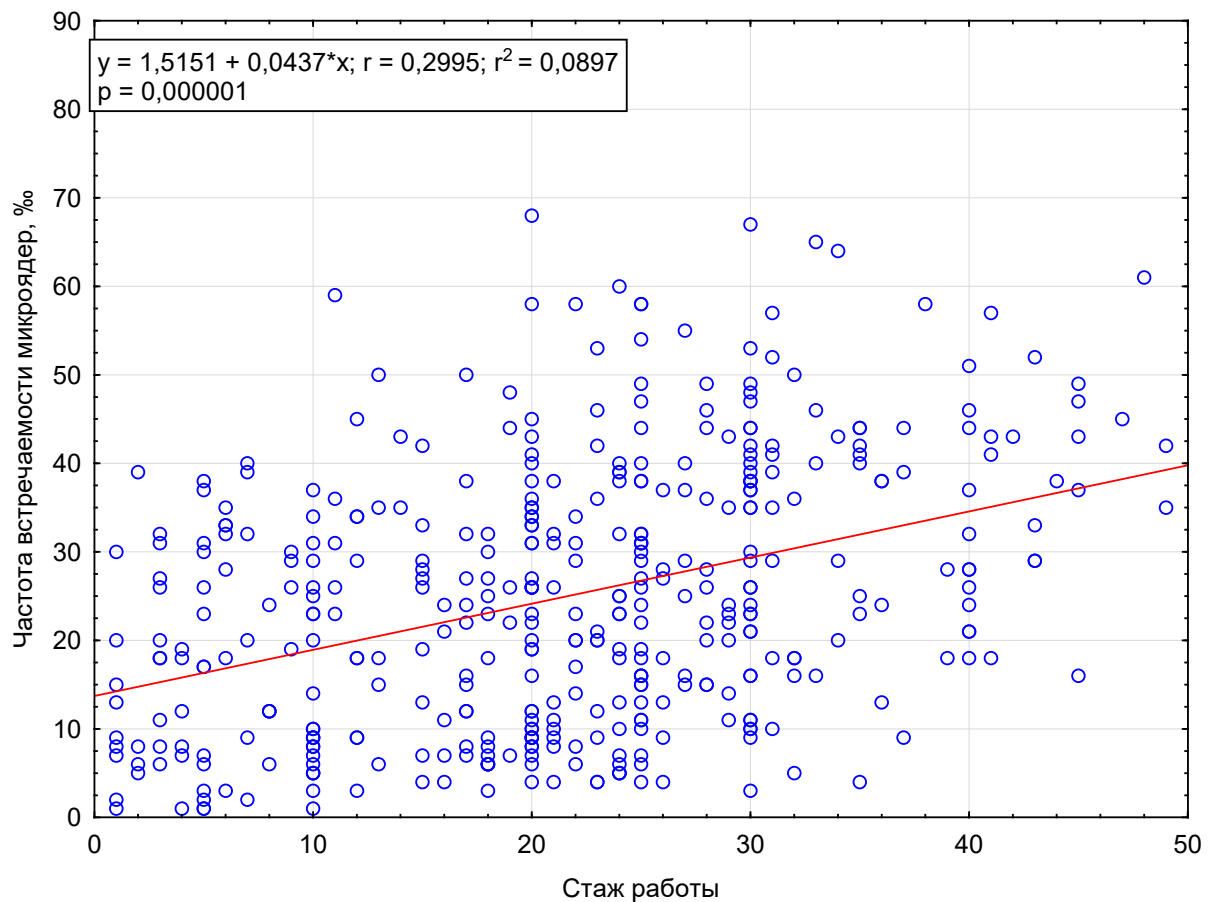


Рисунок 12 – Частота встречаемости двуядерных лимфоцитов с микроядрами у работников угольных теплоэлектростанций с разным стажем работы: на оси X – стаж работы, на оси Y – частота встречаемости двуядерных лимфоцитов с микроядрами

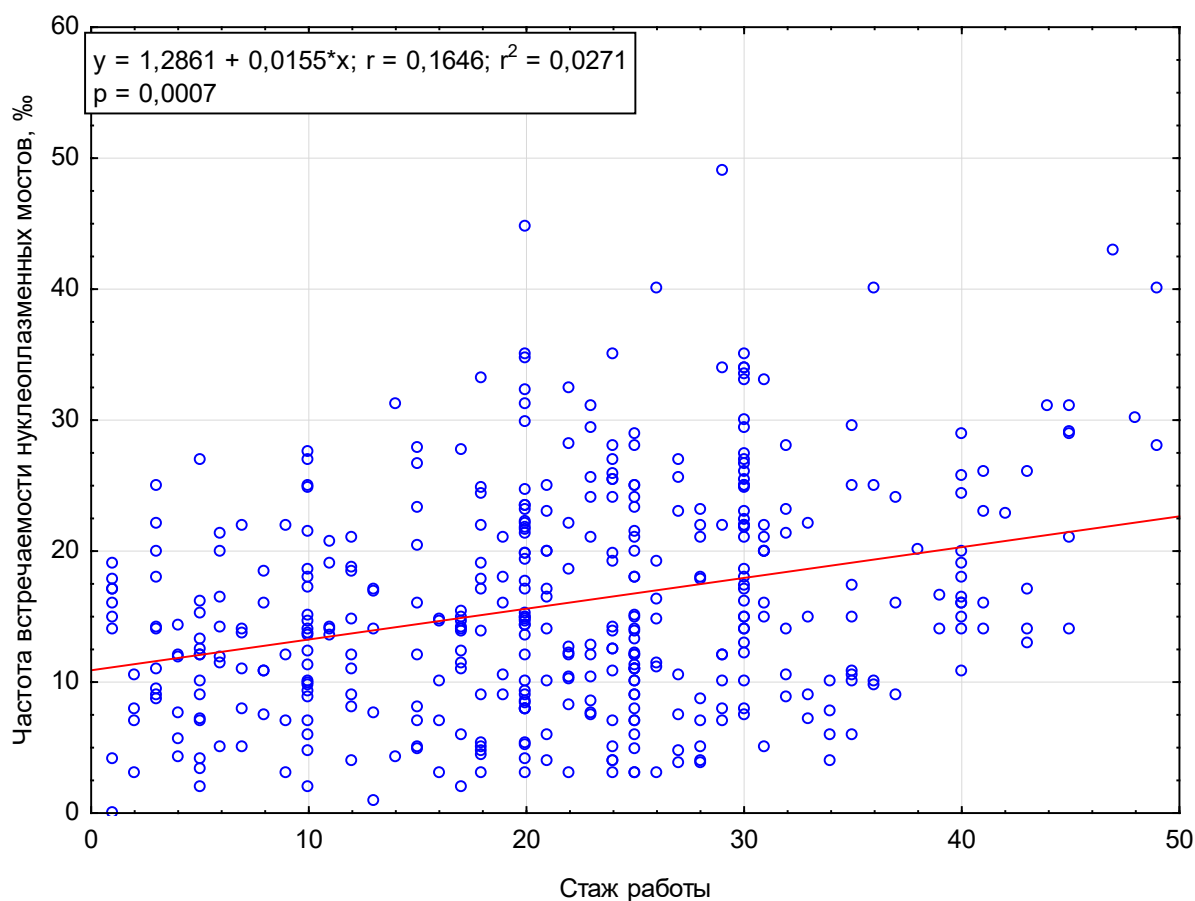


Рисунок 13 – Частота встречаемости двуядерных лимфоцитов с нуклеоплазматическими мостами у работников угольных теплоэлектростанций с разным стажем работы: на оси X – стаж работы, на оси Y – частота встречаемости клеток с мостами

Наиболее часто цитогенетические нарушения регистрировались у работников, выполняющих основные производственные операции в цехе автоматики и измерений, а также в топливно-транспортном и химическом цехах (рисунок 14). У работников топливно-транспортного цеха наблюдается повышенная частота микроядер (26 %, $p_{adj} = 0,00001$). У работников цеха тепловой автоматики и измерений была зарегистрирована повышенная частота микроядер и делящихся клеток (26 %, $p_{adj} = 0,004$ и 1,2 %, $p_{adj} = 0,0006$ соответственно). У работников химического цеха установлена повышенная частота протрузий (25 %, $p_{adj} = 0,03$). Кроме того, у работников этого же цеха наблюдается пониженная частота встречаемости делящихся клеток (0,6 %, $p_{adj} = 0,01$).

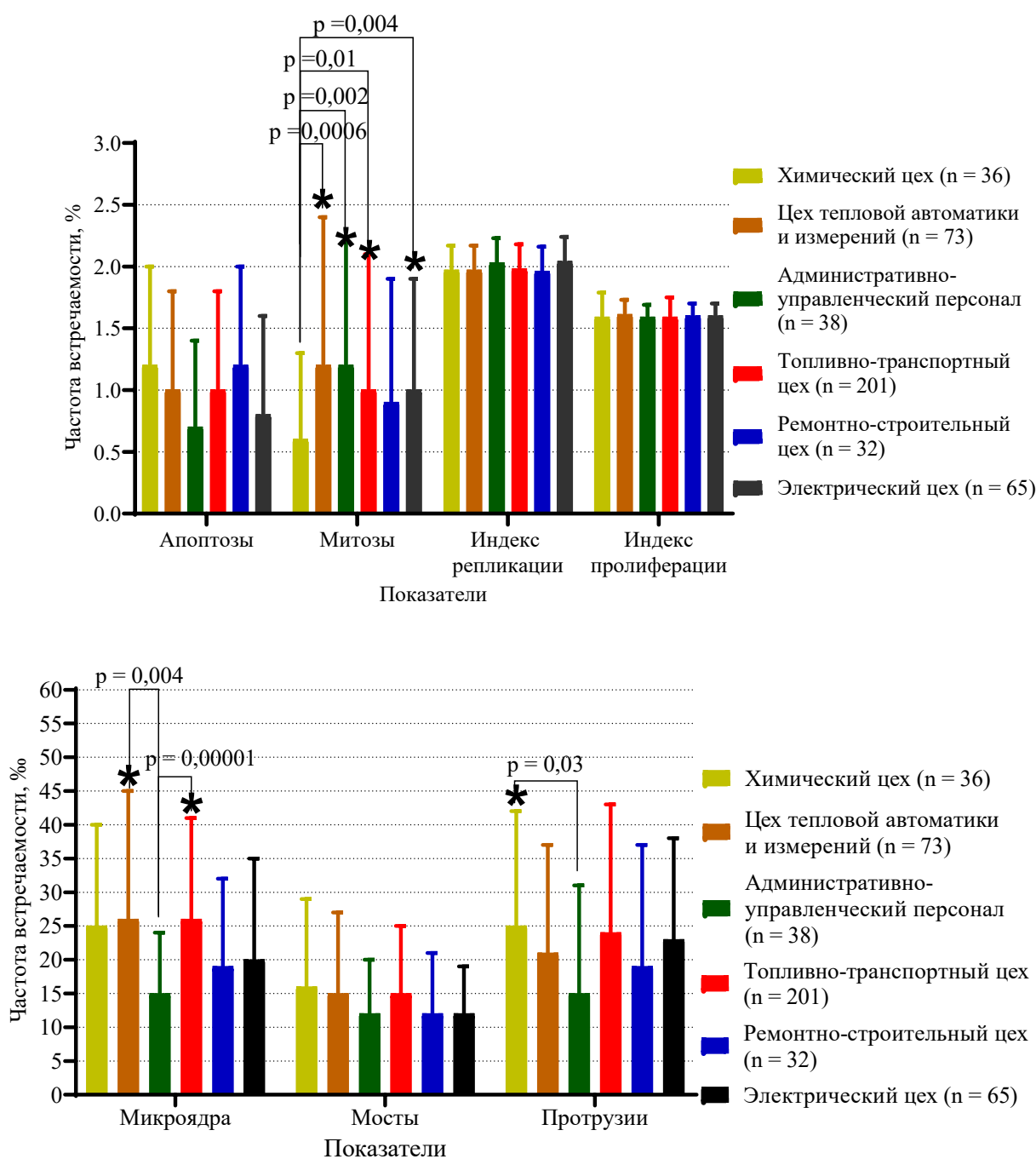


Рисунок 14 – Показатели микроядерного теста у работников угольных теплоэлектростанций в зависимости от места работы на конкретном производственном участке: на оси X – параметры теста, на оси Y – частота встречаемости цитогенетических нарушений.

Наименьшей частотой повреждений ($p < 0,05$) обладает административно-управленческий персонал (микроядра: 15 %; мосты: 12 %; протрузии: 15 %), что

обусловлено наименьшим уровнем контакта со всем комплексом мутагенных эффектов.

Отличия между частотой встречаемости двуядерных лимфоцитов с нарушениями у административно-управленческого персонала (АУП) угольных теплоэлектростанций и у не работающих на производстве доноров представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Результаты микроядерного теста у административно-управленческого персонала и контрольных доноров

Показатель / Частота встречаемости	АУП	Группа сравнения
	Me + SD	Me + SD
Цитогенетические параметры микроядерного теста, ‰		
Клетки с микроядрами	15 ± 9*	6 ± 4
Клетки с мостами	12 ± 8*	3 ± 3
Клетки с протрузиями	15 ± 16*	3 ± 3
Пролиферативные параметры микроядерного теста, %		
Клетки на стадии митоза	1,2 ± 1	2,7 ± 1,5*
Клетки на стадии апоптоза	0,7 ± 0,7*	0,6 ± 0,5
Индекс репликации	2,03 ± 0,2	2 ± 0,2
Индекс пролиферации	1,59 ± 0,1	1,6 ± 0,1

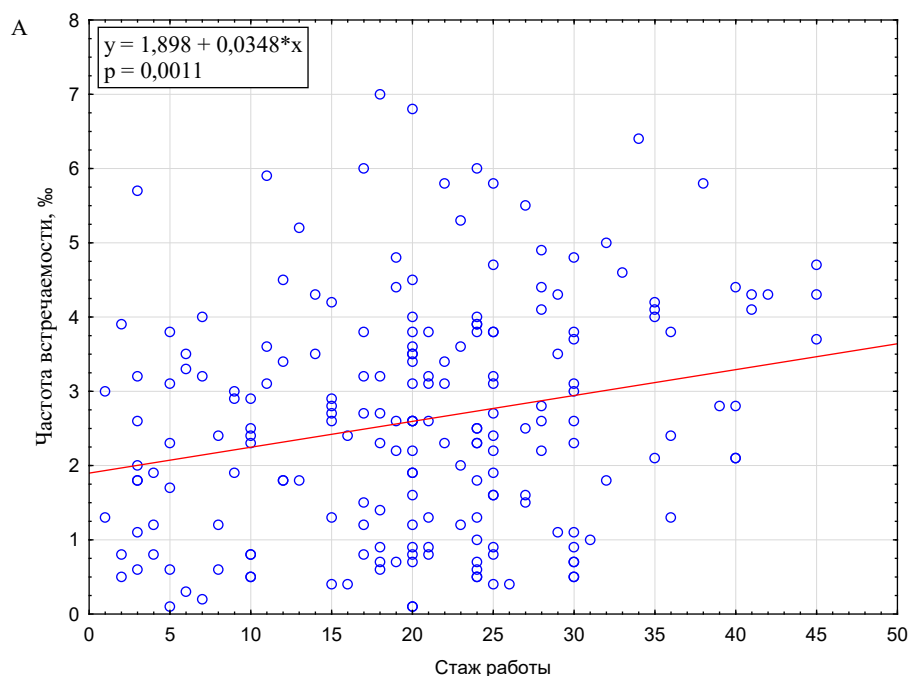
Примечание: АУП – административно-управленческий персонал, Me – медиана, SD – стандартное отклонение; значимо при U-критерии Манна-Уитни: * $p_{adj}=0,000001$.

Согласно полученным данным, АУП угольных теплоэлектростанций обладает большей ($p_{adj}=0,000001$) частотой встречаемости лимфоцитов с микроядрами (15 ‰), нуклеоплазмменными мостами (12 ‰) и протрузиями (15 ‰) по сравнению с не работающими контрольными донорами (6 ‰, 3 ‰ и 3 ‰ соответственно).

Работники топливно-транспортного, химического цехов и цеха тепловой автоматики и измерений наиболее подвержены негативному влиянию различных

химических соединений и угольных производных, что сказывается на повышении частот цитогенетических параметров, в то время как административно-управленческий отдел считается наименее опасным для генетической стабильности работников.

У работников топливно-транспортного (рисунок 15 (А), $p_{adj} = 0,001$), химического (рисунок 15 (Б), $p_{adj} = 0,001$) и электрического (рисунок 15 (В), $p_{adj} = 0,008$) цехов с увеличением стажа работы наблюдается накопление клеток крови с микроядрами. У работников цеха тепловой автоматики и измерений, помимо повышения частоты встречаемости микроядер (рисунок 16 (А), $p_{adj} = 0,004$), наблюдается ассоциация увеличения частоты нуклеоплазменных мостов (рисунок 16 (Б), $p_{adj} = 0,01$) со стажем работы. Таким образом, существует ассоциация стажа работы на угольных теплоэлектростанциях с накоплением цитогенетических нарушений в клетках крови у работников, выполняющих основные производственные операции в топливно-транспортном, химическом цехах, а также цеха тепловой автоматики и измерений.



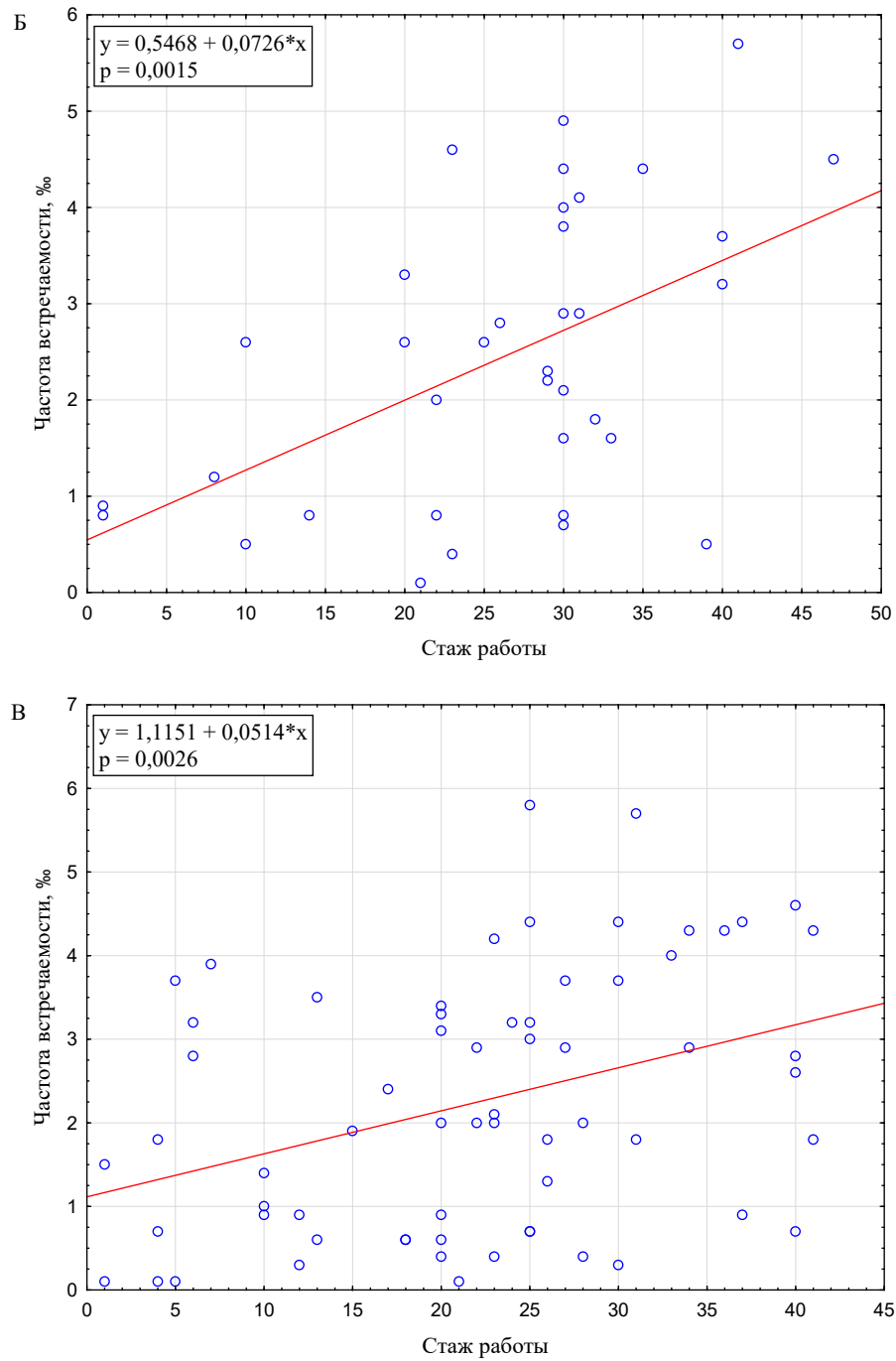


Рисунок 15 – Частота встречаемости микроядер у работников топливно-транспортного (А), химического (Б) и электрического (В) цехов с разным стажем работы

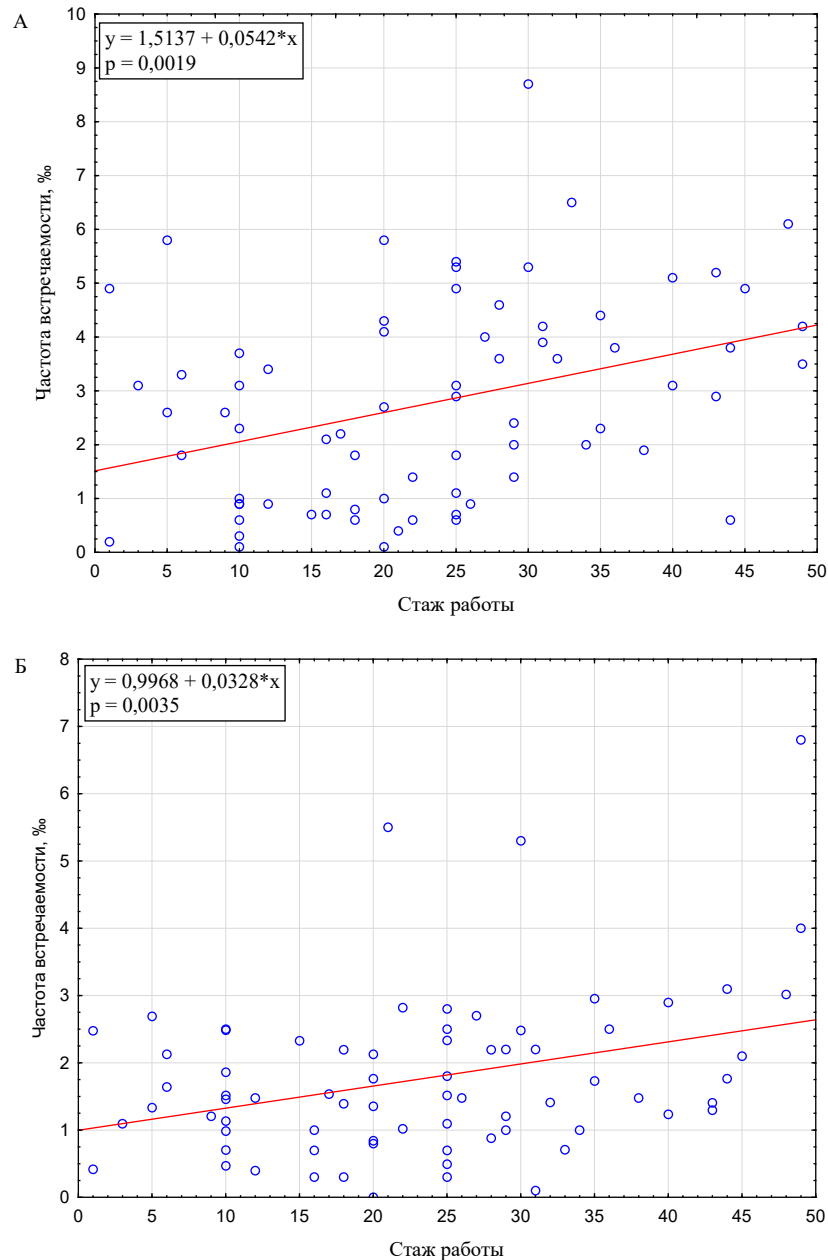


Рисунок 16 – Частота встречаемости микроядер (А) и нуклеоплазмических мостов (Б) у работников цеха тепловой автоматики и измерений с разным стажем работы

Согласно полученным данным, наиболее неблагоприятным рабочим цехом для стабильности генома является топливно-транспортный. Полученные результаты обусловлены наличием в рабочей среде топливно-транспортного цеха массы вредных соединений, таких, как угольная зола (Kaur, Goyal, 2015), свинец, никель, цинк, алюминий, германий, железо, магний, натрий, галлий, кадмий, ртуть, ванадий, торий, радий (Крылов, 2017), асбест, тремолит (Felten, 2010). Окислительный стресс, обусловленный усилением перекисного окисления

липидов и снижением антиоксидантной активности, возникает в результате воздействия угольной пыли и продуктов сгорания угля при работе тепловых электростанций. Помимо пылевых частиц, работающие в топливно-транспортном и химическом цехах подвержены воздействию продуктов сгорания угля, которые содержатся в воздухе рабочей зоны (Kaur, Goyal, 2015). Слесари и машинисты топливоподачи топливно-транспортного цеха активно контактируют с углём и подвергаются воздействию высоких концентраций угольной пыли (по данным заводской промышленной лаборатории концентрация пыли на рабочем месте составляла, в среднем, $23,0 \pm 16,4$ мг / м³), а также аэрозоля масел, шума, вибрации, перепада температур. Это указывает на то, что наблюдаемые нарушения связаны с воздействием факторов производственной среды.

Значительно влияющим фактором на состояние здоровья человека является профессиональный контакт работников с угольными продуктами. Основным путём поступления данных соединений в организм рабочих является вдыхание угольной пыли, содержащей в себе различные генотоксические агенты (Go et al., 2016). Постоянный контакт с такими веществами, как ПАУ, метан, тяжёлые металлы, радионуклеиды и т.д. способствует формированию разнообразных заболеваний, в частности, связанных с лёгкими: массивный фиброз, рак лёгкого, эмфизема, пневмокониоз, бронхит (Дружинин, Минина, Мокрушина, 2000; Захаренков, Кислицына, 2014). Влияние перечисленных генотоксических агентов способно индуцировать деятельность макрофагов, вследствие чего формируется оксидативный стресс и сопряжённые с ним цитогенетические нарушения (Колмакова, 2013). Стоит отметить, что не только нарушение клеток, но и разнообразные цитогенетические маркеры подобного воздействия являются следствием контакта с комплексом веществ, находящихся в воздухе производственной среды и обладающих канцерогенным и мутагенным эффектами (Минина и др., 2006).

Не было установлено отличий в формировании цитогенетических нарушений и показателей пролиферативной активности лимфоцитов у рабочих с хроническими заболеваниями и без ($p > 0,05$). Для исключения гетерогенности

выборки с наличием хронических заболеваний была проведена классификация заболеваний (согласно МКБ-10): болезни системы кровообращения (I00-I99), болезни эндокринной системы, расстройства питания и нарушения обмена веществ (E00-E90), болезни органов дыхания (J00-J99), болезни органов пищеварения (K00-K93), болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани (M00-M99), болезни мочеполовой системы (N00-N99), болезни глаза и его придаточного аппарата и болезни уха и сосцевидного отростка (H00-H95). При этом отличий также выявлено не было (с поправкой на множественные сравнения, таблица 12). Это может быть связано с небольшим объемом выборок с конкретным заболеванием (например, число лиц с патологиями сердечно-сосудистой системы составило 36, пищеварительной системы – 25, опорно-двигательного аппарата – 21). Даже видимые колебания данных (медиана по частоте встречаемости протрузий у рабочих с заболеваниями мочеполовой системы – 38,4 %) оказались не значимы из-за большого разброса значений (стандартное отклонение) и небольшой выборки.

Таким образом, хронические заболевания в исследовании не ассоциированы с дополнительным цитогенетическим риском по сравнению с общей группой рабочих. Само наличие хронического заболевания (любого из исследуемых) не является ведущим фактором, влияющим на цитогенетические показатели и пролиферативную активность лимфоцитов работников. Основное влияние оказывают профессиональные факторы (производственный цех) и показанные ранее общие факторы риска (возраст, стаж), которые действуют на всех работников независимо от наличия хронической патологии. Стоит отметить, что наблюдаемые тенденции в некоторых подгруппах (например, более высокие медианные значения (нуклеоплазменные мосты, 19,7 %) у лиц с болезнями эндокринной системы) необходимо выявлять целевыми исследованиями с увеличенным размером выборки по каждому заболеванию.

Таблица 12 – Параметры микроядерного теста у рабочих с хроническими заболеваниями и без

Наличие хронических заболеваний, МКБ-10 (n)		Микроядра	Мосты	Протрузии	Апоптоз	Митоз
		Me $\pm$ SD, ‰	Me $\pm$ SD, ‰	Me $\pm$ SD, ‰	Me $\pm$ SD, %	Me $\pm$ SD, %
Есть (118)	I00-I99 (36)	17,0 $\pm$ 13,2	14,5 $\pm$ 11,5	21,8 $\pm$ 24,9	1,0 $\pm$ 0,9	0,8 $\pm$ 1,2
	E00-E90 (16)	25,5 $\pm$ 15,6	19,7 $\pm$ 11,5²	19,2 $\pm$ 16,8	1,3 $\pm$ 0,9	0,7 $\pm$ 1,4
	J00-J99 (8)	28,5 $\pm$ 16,1	16,3 $\pm$ 9,3	25,1 $\pm$ 14,3	1,4 $\pm$ 1,1	1,2 $\pm$ 1,1
	K00-K93 (25)	21,0 $\pm$ 14,9	14,0 $\pm$ 12,2	17,2 $\pm$ 13,7	0,4 $\pm$ 1,0	0,8 $\pm$ 1,0
	M00-M99 (21)	25,0 $\pm$ 13,1	13,7 $\pm$ 8,9	18,2 $\pm$ 14,9	1,0 $\pm$ 0,7	1,0 $\pm$ 1,1
	H00-H95 (6)	23,0 $\pm$ 17,2	17,0 $\pm$ 19,0	31,9 $\pm$ 24,6	1,4 $\pm$ 0,9	1,3 $\pm$ 1,4
	N00-N99 (6)	23,5 $\pm$ 11,8	18,1 $\pm$ 12,6	38,4 $\pm$ 12,9¹	0,7 $\pm$ 0,9	1,1 $\pm$ 0,7
Нет (327)		23,0 $\pm$ 16,2	14,1 $\pm$ 9,6	22,2 $\pm$ 17,0	1,0 $\pm$ 0,8	1,0 $\pm$ 1,0

Примечание: значимые отличия: ¹ Наличие заболеваний мочевыделительной системы от не болеющих при $p=0,03$, ² Наличие заболеваний эндокринной системы от не болеющих при $p=0,034$.

Угольная пыль представляет собой гетерогенный комплекс органических и неорганических соединений, которые способны неблагоприятно влиять на организм. Среди них: тяжёлые металлы (Mn, Cr, Co, Zn, Fe, Ni, Cu, Hg, As, Se, Pb, Cd), аммиак, толуол, оксиды азота и углерода, стирол, урановые, ториевые, радоновые радиоактивные изотопы, альдегиды, сероводород и пр. (Isidro Montes et al., 2004; Graber et al., 2014). Кроме того, выявлено обладание угольной пыли особенными процессами негативного воздействия на организм. Основой данных механизмов является способность частиц угольной пыли способствовать продолжительному созданию активных форм кислорода в избыточных концентрациях, присутствующих в лёгких человека. Вследствие это происходят процессы активации перекисной ионизации липидов, локализующихся в клеточных мембранах (Мун, Глушков, 2014). Отмечается, что модификации геномной экспрессии различных ферментативных систем репарации ДНК способствуют тяжёлые металлы, которые являются основными составляющими угля и угольной пыли (Мун и др., 2005).

Из хромосомных фрагментов могут формироваться микроядра в результате кластогенного действия на организм. Известно, что хроматидные и хромосомные фрагменты образуются вследствие ошибок репарации двойных разрывов (Fenech et al., 2011). Ещё один фактор, приводящий к появлению микроядер, заключается в утрате целых хромосом. Некоторые молекулярные механизмы, например, нарушение работы кинетохоры, могут приводить к нерасхождению хромосом в анафазе клеточного деления, вследствие чего формируются микроядра (Krupina, Goginashvili, Cleveland, 2021). Также, выталкивание генетического материала из ядра во время интерфазы является ещё одной причиной образования микроядер (Di Bona, Bakhoun, 2024).

Главной причиной формирования мостов в клетках является радиационное воздействие (Carlos-Reyes et al., 2021). На угольных теплоэлектростанциях объём сжигаемого угля огромен, обуславливающее большое количество угольной радиации, что способствует повышению частоты нуклеоплазмических мостов у рабочих.

Мутагенные эффекты частично нейтрализуются механизмами репарации ДНК, вследствие чего наблюдается увеличенная частота клеток с протрузиями (Mesic, Nefic, 2015). Также сообщается, что протрузии могут образовываться в процессе элиминации амплифицированной ДНК после воздействия облучения (Haaf, 1999).

Повышенная частота апоптотических клеток может быть связана с воздействием тяжёлых металлов на организм работников. Fenech (2006) в своём исследовании также обнаружил увеличенные показатели апоптозов в исследуемых группах по сравнению с контролем. Также автором было выдвинуто предположение, что повышенная частота клеток на стадии апоптоза может быть предиктором риска развития рака.

Использование ROC-анализа позволило установить оптимальные точки отсечения для двуядерных лимфоцитов с микроядрами (13 %), мостами (7 %), протрузиями (8 %), клетками в апоптозе (1,1 %) и на этапе деления (1,8) и выделить подгруппы рабочих с повышенными и пониженными частотами данных

показателей. ROC-кривые для отдельных показателей представлены на рисунке 17.

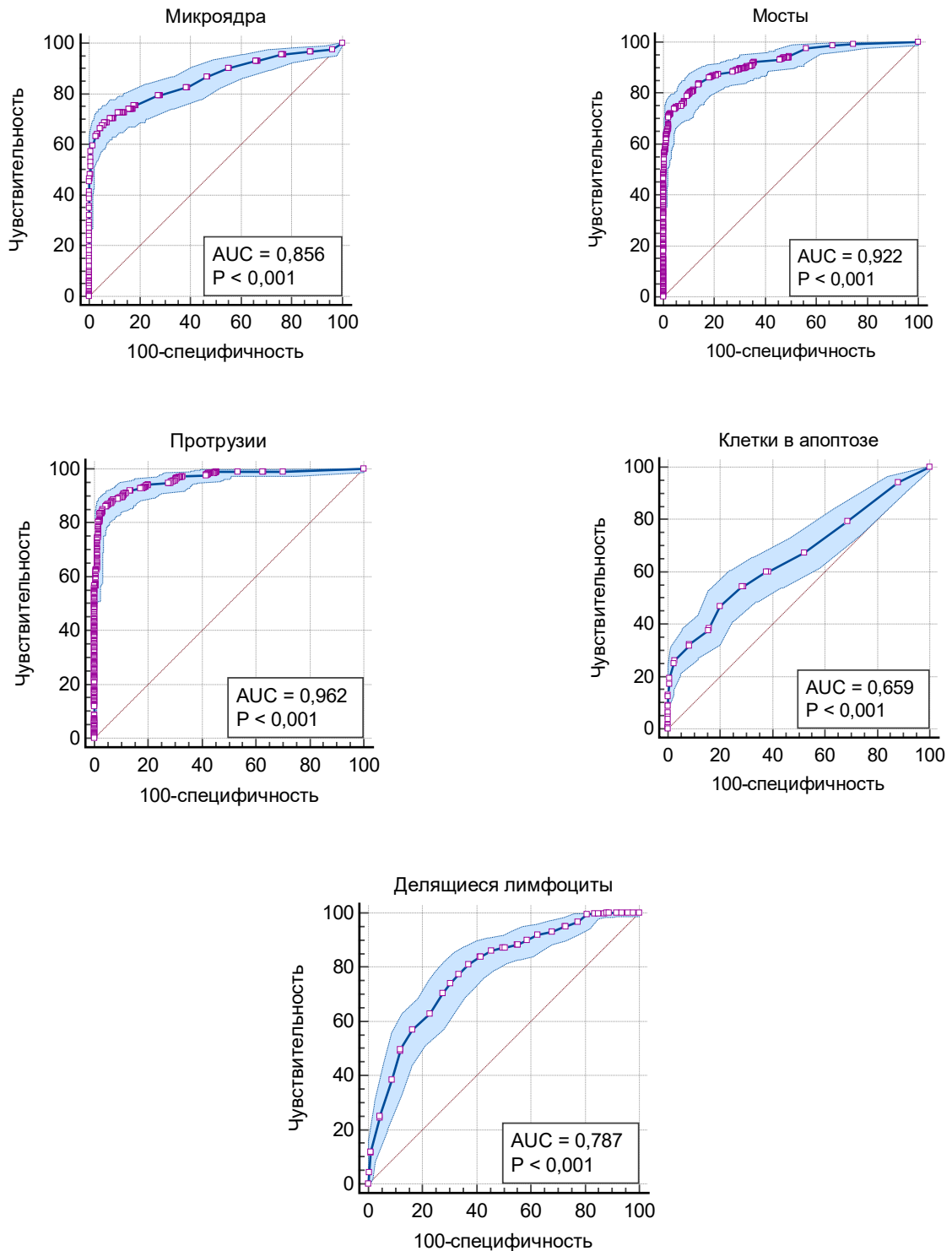


Рисунок 17 – ROC-кривые для показателей уровней цитогенетических повреждений и пролиферативной активности лимфоцитов: по оси X – специфичность анализа, по оси Y – чувствительность

Оценка прогностических возможностей теста проводилась путём анализа площади под ROC-кривой (Area Under Curve - AUC). В результате проведённых расчётов было установлено, что частота выявления клеток с микроядрами обладает свойствами очень хорошего классификатора при точке отсечения 13 % (AUC =0,856; Standard Error =0,0129; 95% Confidence interval: 0,832-0,878; $p < 0,001$). Частота выявления клеток с нуклеоплазменными мостами обладает свойствами отличного классификатора при пороговом значении 7 (AUC =0,922; Standard Error =0,009; 95% Confidence interval: 0,903-0,939; $p < 0,001$). Частота выявления клеток с протрузиями обладает свойствами отличного классификатора при пороговом значении 8 (AUC =0,962; Standard Error =0,006; 95% Confidence interval: 0,948-0,974; $p < 0,001$). Частота выявления клеток в апоптозе обладает свойствами среднего классификатора при пороговом значении 1,1 % (AUC =0,659; Standard Error =0,018; 95% Confidence interval: 0,628-0,689; $p < 0,001$). Частота выявления делящихся лимфоцитов обладает свойствами хорошего классификатора при пороговом значении 1,8 % (AUC =0,787; Standard Error =0,015; 95% Confidence interval: 0,760-0,813; $p < 0,001$).

Современные данные показывают, что микроядра являются не просто «свидетелями» геномного повреждения, но и активными драйверами патогенетических процессов, лежащих в основе широкого спектра заболеваний – нейродегенеративных расстройств (Biglari et al., 2020; Guo et al., 2024), аутоиммунных состояний (Kirsch-Volders et al., 2020; Fenech et al., 2020), сердечно-сосудистых заболеваний (Murgia et al., 2007; Andreassi et al., 2011) и осложнений острых инфекций. Таким образом, анализ микроядер представляет собой интегральный инструмент, позволяющий оценить не только уровень геномной нестабильности, но и вовлечённость ключевых провоспалительных и мутагенных клеточных механизмов в развитие конкретного патологического состояния.

Расширение области исследований микроядер на острые инфекционные процессы подтвердило универсальность их связи с клеточным стрессом. Исследование лиц с COVID-19 выявило, что, помимо изменений в общем анализе

крови (лимфопения, нейтрофилез), в мазках периферической крови присутствуют лимфоциты с микроядрами и другими ядерными аномалиями (Karapetyan et al., 2024). Это является свидетельством, что инфекция SARS-CoV-2 индуцирует хромосомные повреждения в клетках хозяина. Патогенез этого явления, вероятно, многофакторен и включает в себя индукцию мощного окислительного стресса в ходе избыточного иммунного ответа (Domizio et al., 2022).

В крупномасштабном исследовании (Adams et al., 2024) на мышах определено 145 генов, некоторые ортологи которых связаны с заболеваниями человека и могут регулировать образование микроядер (*MCPH1* (первичная микроцефалия), *CENPJ* (синдромы малого размера головы), *SLX4* (синдром Фанкони), *TREX1* (аутоиммунные заболевания)). Это прямое свидетельство того, что молекулярные пути, контролирующие целостность генома и предотвращающие образование микроядер, связаны с механизмами, нарушения в которых ведут к глубоким патологическим состояниям. Особое значение в работе уделяется потере функции гена *DSCC1* в мышинной модели, которая приводила к наиболее значимому увеличению частоты микроядер, а также к комплексу нарушений, напоминающих когезинопатии человека. Последующая валидация на клеточных линиях человека подтвердила, что дефицит *DSCC1* вызывает дефект сестринского хроматидного сцепления и резко повышает микроядерный индекс, что указывает на эволюционную консервативность данного механизма (Fahrer, 2024).

Предполагается, что ядерная оболочка микроядер является структурно неполноценной и крайне подверженной спонтанным разрывам (Gauthier, Comaills, 2021). Это событие может иметь несколько последствий для клетки: 1) выход хромосомной ДНК в цитоплазму распознается сенсорным механизмом cGAS-STING, что запускает каскад реакций, ведущих к продукции интерферонов I типа и других провоспалительных цитокинов (Mackenzie et al., 2017; Motwani et al., 2019); 2) разрушенная оболочка более не защищает заключенный в микроядре генетический материал. Это приводит к фрагментации и хаотичной повторной

сборке хромосом, что является источником геномных перестроек и мутационного взрыва (Zhang et al., 2015).

С эволюционной точки зрения, хромосомная нестабильность может рассматриваться как общий механизм адаптации, поскольку фундаментальные механизмы, ведущие к геномному разнообразию и видообразованию, схожи с теми, что управляют прогрессированием рака и развитием резистентности к терапии (Comaills, Castellano-Pozo, 2023).

Стабильность генетического материала лимфоцитов способна сохраниться в условиях различных механизмов иммунной защиты, например, регуляция митозов и клеточной гибели, системы репарирования и метилирования ДНК, а также различные антиоксидантные процессы и пр. (Chatterjee and Walker, 2017; Huang and Zhou, 2021). Всё это определяет крайнюю необходимость в проведении биомониторинговых мероприятий по выявлению повреждений структур ДНК у рабочих в угольной индустрии (Kvitko et al., 2012) наряду с оценкой генетического полиморфизма защитных систем организма (Ramírez-Lopera et al., 2021). Вовремя установленная низкая резистентность к канцерогенам на промышленных предприятиях, а также согласование лечебно-профилактических мер, применяющихся индивидуально для каждого работника, перевод на менее опасную зону и др., способны в значительной степени понизить реальную мутагенную опасность и канцерогенный риск в угольной индустрии.

Продemonстрирован эффект одновременного воздействия на работников как радиационных (рост числа клеток с мостами), так и химических факторов (все остальные показатели генотоксического воздействия), присутствующих в промышленной среде угольных предприятий. В связи с полученными данными необходима комплексная оценка влияния факторов окружающей среды, эпигеномной и генетической изменчивости на формирование цитогенетических повреждений у работников угольных теплоэлектростанций. Дальнейшие исследования могут быть направлены на уточнение пороговых значений микроядерного теста для разных заболеваний, внедрение данного цитогенетического анализа в другие эпидемиологические проекты, а также

изучение возможности таргетного воздействия на пути образования микроядер как на терапевтическую стратегию.

3.2. Статус метилирования промоторных областей ключевых генов систем репарации ДНК и метаболизма ксенобиотиков у работников угольных теплоэлектростанций и в группе сравнения

3.2.1. Профиль метилирования промоторных областей изученных генов

Известно, что у работников угольной промышленности по сравнению с не работающими на производстве донорами изменяется глобальный уровень метилирования ДНК (de Souza et al., 2018), который может затронуть промоторы различных генов (*ARF*, *CDKN2A* (Wang et al., 2015; Zhang et al., 2015)) и способствовать развитию различных заболеваний. При этом не было обнаружено работ, посвящённых изучению статуса метилирования промоторов генов *XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*, *GSTP1*, *GSTT1*, *CYP1A1* у работников угольных теплоэлектростанций.

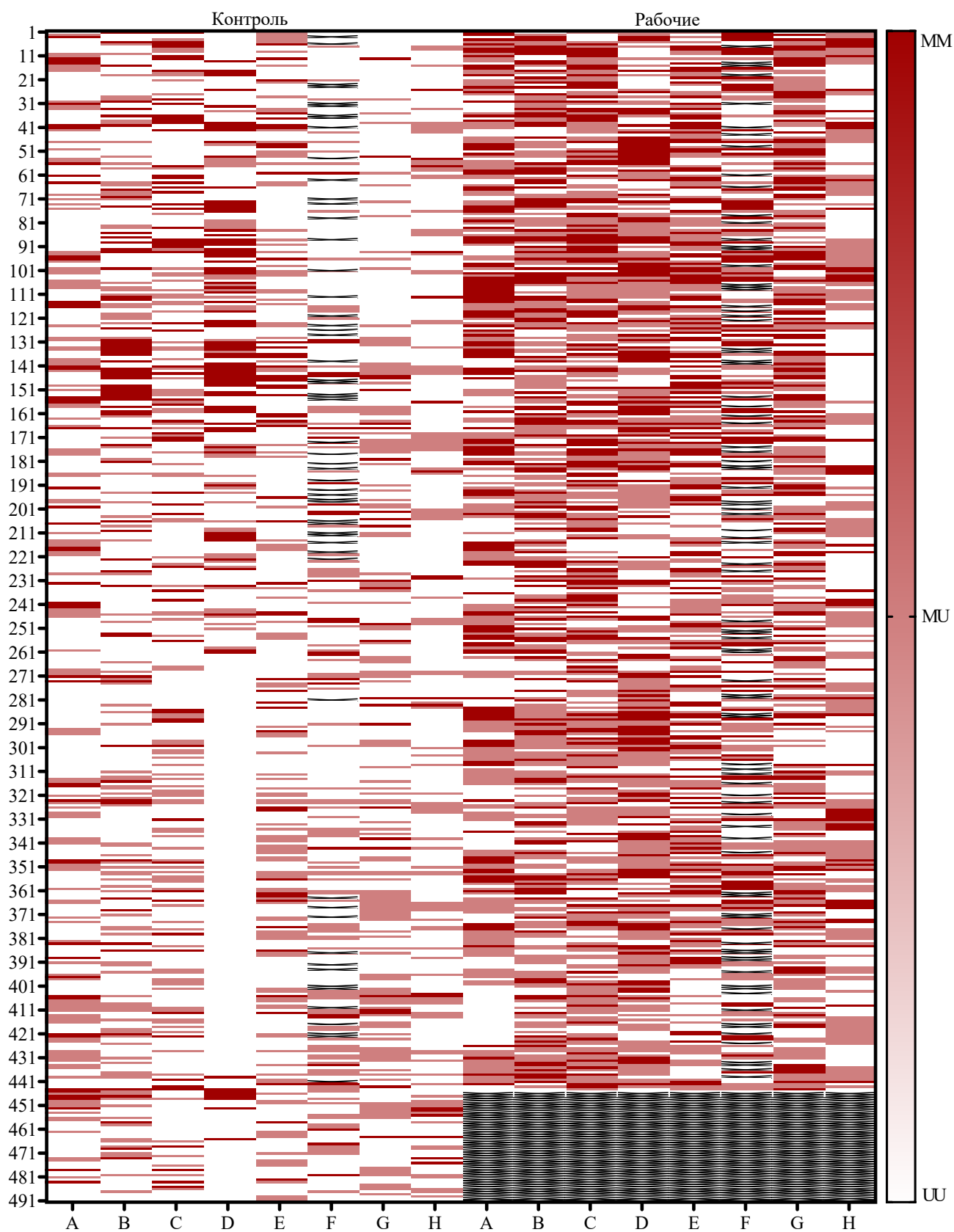


Рисунок 18 – Индивидуальные профили метилирования промоторов изученных генов в обеих группах: по оси X – гены (A – *XRCC1*, B – *XRCC2*, C – *XRCC3*, D –

ERCC2, E – *ERCC5*, F – *GSTT1*, G – *GSTP1*, H – *CYP1A1*; по оси Y – каждая строчка соответствует каждому обследуемому донору. Цветовая шкала определяет статус метилирования промотора: MM – гиперметилованный, MU – частично метилированный, U – деметилированный; чёрным обозначено: в столбце F – делеция гена *GSTT1*, в конце выборки рабочих – отсутствие данных, поскольку число обследованных доноров в обеих группах не одинаково (491 и 445)

На рисунке 18 представлены исходные данные о статусе метилирования промоторов изученных генов для каждого из 936 обследованных доноров, что даёт наглядное представление о структуре полученных данных и позволяет проследить индивидуальные вариации эпигенетических профилей в обеих группах.

У обследованных работников угольных теплоэлектростанций наблюдается изменение профиля метилирования промоторов всех изученных генов ($p=0,000001$, $p_{adj}=0,000001$) по сравнению с не работающими на производстве донорами (таблица 13).

Во всех случаях доля лиц с гиперметилованным статусом промоторов значимо выше в группе работников ТЭС по сравнению с контролем. Особенно выражены различия для генов *GSTP1*, *GSTT1* и *ERCC5*, где частота гиперметилования среди работников превышает в группе сравнения в 4-5 раз. Одновременно в группе не работающих на производстве лиц преобладает деметилированный статус (от 69 до 83% в зависимости от гена), при этом у работников распределение трёх статусов более равномерно, со сдвигом в сторону частичного и полного метилирования. Полученные данные свидетельствуют о сдвиге эпигенетического профиля в условиях факторов производственной среды.

Таблица 13 – Распределение отдельных статусов метилирования промоторных областей генов репарации ДНК и метаболизма ксенобиотиков в изученных группах

Характеристики / Ген	Статус метилирования	Работники ТЭС, % (n) (n=445)	Группа сравнения, % (n) (n=491)	<i>p</i>
<i>XRCC1</i>	M	27,9 (124)	11,5 (51)	0,000001
	MU	35,7 (159)	27,2 (121)	
	U	36,4 (162)	71,7 (319)	
<i>XRCC2</i>	M	29,2 (130)	15,5 (69)	0,000001
	MU	42,3 (188)	22,9 (102)	
	U	28,5 (127)	71,9 (320)	
<i>XRCC3</i>	M	30,1 (134)	14,6 (65)	0,000001
	MU	44,7 (199)	22,7 (101)	
	U	25,2 (112)	73 (325)	
<i>ERCC2</i>	M	28,5 (127)	19,1 (85)	0,000001
	MU	43,4 (193)	9,4 (42)	
	U	28,1 (125)	81,8 (364)	
<i>ERCC5</i>	M	30,3 (135)	11 (49)	0,000001
	MU	33,7 (150)	26,3 (117)	
	U	36 (160)	73 (325)	
<i>GSTP1</i>	M	29,2 (133)	5,8 (26)	0,000001
	MU	38,5 (175)	29 (130)	
	U	30,1 (137)	74,8 (335)	
<i>GSTT1</i>	M	30,1 (107)	6,5 (28)	0,000001
	MU	37,5 (133)	24 (104)	
	U	32,4 (115)	69,6 (302)	
<i>CYP1A1</i>	M	11,9 (54)	4,2 (19)	0,000001
	MU	34,1 (155)	22,3 (100)	
	U	51,9 (236)	83 (372)	

Примечание: M – гиперметилированный, MU – частично метилированный, U – деметилированный.

Общий показатель статуса метилирования (general methylation status index, GMI) рассчитывался путем суммы всех рангов статуса метилирования всех изученных генов (*XRCC1*, *ERCC2*, *ERCC5*, *XRCC2*, *XRCC3*, *GSTP1*, *GSTT1*, *CYP1A1*) по следующей градации: 0 – деметилированный статус, 1 – частично метилированный, 2 – гиперметилированный. Максимальная сумма баллов могла составить 16.

Более чем двукратное увеличение значения GMI у работников соответствует высокому уровню метилирования промоторных регионов изученных генов. Изучение градации индекса метилирования (таблица 14) говорит о существенном отличии распределения изученных выборок практически на всех позициях $p < 0,03$).

Таблица 14 – Распределение индекса статуса метилирования
в исследованных группах

GMI	Группа сравнения, n (%)	Рабочие ТЭС, n (%)	χ^2	ОШ	95% ДИ	p
0	31 (6,3)	2 (0,4)	21,909	0,067	0,016-0,282	0,001
1	77 (15,7)	5 (1,1)	60,092	0,061	0,025-0,153	0,001
2	100 (20,4)	19 (4,3)	53,064	0,174	0,105-0,290	0,001
3	82 (16,7)	28 (6,3)	23,391	0,335	0,214-0,525	0,001
4	76 (15,5)	52 (11,7)	2,533	0,723	0,495-1,055	0,112
5	54 (11)	71 (15,9)	4,538	1,536	1,050-2,245	0,034
6	33 (6,7)	65 (14,6)	14,656	2,374	1,529-3,690	0,001
7	21 (4,3)	64 (14,4)	27,659	3,760	2,254-6,267	0,001
8	5 (1)	60 (13,5)	54,213	15,145	6,019-38,08	0,001
9	4 (0,8)	35 (7,9)	27,321	10,393	3,663-29,48	0,001
10	5 (1)	24 (5,4)	13,460	5,541	2,095-14,65	0,001
11	3 (0,6)	11 (2,5)	4,296	4,123	1,143-14,88	0,039
12	0 (0)	7 (1,6)	5,807	16,81	0,96-295,6	0,016
13	0 (0)	1 (0,2)	0,002	3,317	0,135-81,6	0,961
14	0 (0)	1 (0,2)	0,002	3,317	0,135-81,6	0,961

У работников чаще встречаются высокие значения эпигенетических изменений в отличие от группы сравнения (60,3 % против 14,4 %, согласно границам квартилей в группе сравнения). В основном, у не работающих на производстве доноров наблюдаются пониженные значения метилирования промоторов изученных генов по сравнению с работниками угольных предприятий (доля составила 85,6 % против 39,7 %). Выраженное у работающих на угольных ТЭС гиперметилирование промоторов генов, участвующих в репарации ДНК и детоксикации, может снижать их эффективность и повышать риск накопления геномных повреждений. Таким образом, каждый 2 работник угольных теплоэлектростанций обладает повышенным риском накопления геномных повреждений.

Немногочисленные исследования, посвящённые изучению метилирования генов *XRCC1*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*, подтверждают подавляющее действие метилирования промоторов данных генов на их экспрессию (Chan et al., 2005; Sabatino et al., 2010; Wang et al., 2010; Rieke et al., 2016; Fan et al., 2021). Помимо этого, известно, что метилирование промотора *XRCC2* способствует накоплению геномных повреждений (Roos et al., 2009). Известно, что метилирование промотора *CYP1A1* подавляет экспрессию мРНК этого гена (Hunter et al., 2012; Li et al., 2018). Однако, в ряде работ сообщается, что после обработки бенз[а]пиреном наблюдалось уменьшение уровня метилирования промоторов генов *GSTP1* и *CYP1A1*, а также экспрессия мРНК данных генов (Liu et al., 2022).

3.2.2. Изучение возможного влияния пола, возраста, статуса курения, стажа работы и конкретного производственного цеха на изменение статуса метилирования промоторных регионов изученных генов у работников угольных теплоэлектростанций

В группе не работающих на производстве индивидов наблюдаются отличия в изменении степени метилирования промоторных областей генов *ERCC2* ($p_{adj}=0,009$) у женщин по сравнению с мужчинами, однако, результат оказался

незначим при поправке на множественные сравнения. В группе работников ТЭС гендерных отличий профиля метилирования выявлено не было (таблица 15). При сопоставлении характера метилирования у рабочих ТЭС и в группе сравнения наблюдались отличия как у мужчин ($p_{adj}=0,000001$), так и у женщин ($XRCC2$, $XRCC3$, $ERCC2$, $ERCC5$, $GSTP1$, $GSTT1$, $p_{adj}=0,000001$, $XRCC1$, $p_{adj}=0,000004$).

Таблица 15 – Распределение отдельных статусов метилирования промоторных областей изученных генов у мужчин и женщин в обеих обследуемых группах

Группа / Возраст	Рабочие ТЭС, % (n)			Группа сравнения, % (n)			<i>p</i> *
Ген	<i>XRCC1</i>						
Статус метилирования	M+	M-	U	M+	M-	U	
Мужчины	21,6 (96)	28,3 (126)	28,1 (125)	8,2 (40)	18,3 (90)	45,2 (222)	0,000001
Женщины	6,3 (28)	7,4 (33)	8,3 (37)	2,2 (11)	6,3 (31)	19,8 (97)	0,000002
<i>p</i> **	0,95			0,42			
Ген	<i>XRCC2</i>						
Мужчины	21,1 (94)	33,7 (150)	23,1 (103)	10 (49)	15,7 (77)	46 (226)	0,000001
Женщины	8,1 (36)	8,5 (38)	5,4 (24)	4,1 (20)	5,1 (25)	19,2 (94)	0,000001
<i>p</i> **	0,23			0,71			
Ген	<i>XRCC3</i>						
Мужчины	23,8 (106)	34,2 (152)	20 (89)	7,9 (39)	15,9 (78)	47,9 (235)	0,000001
Женщины	6,3 (28)	10,6 (47)	5,2 (23)	5,3 (26)	4,7 (23)	18,3 (90)	0,000001
<i>p</i> **	0,85			0,08			
Ген	<i>ERCC2</i>						
Мужчины	21,3 (95)	33,9 (151)	22,7 (101)	10 (49)	6,1 (30)	55,6 (273)	0,000001
Женщины	7,2	9,4	5,4	7,3	2,4	18,5	0,000001

Группа / Возраст	Рабочие ТЭС, % (n)			Группа сравнения, % (n)			<i>p</i> *
	(32)	(42)	(24)	(36)	(12)	(91)	
<i>p</i> **	0,61			0,009			
Ген	<i>ERCC5</i>						
Статус метилирования	M+	M-	U	M+	M-	U	
Мужчины	22,7 (101)	26,1 (116)	29,1 (130)	6,3 (31)	17,5 (86)	47,9 (235)	0,000001
Женщины	7,6 (34)	7,6 (34)	6,7 (30)	3,7 (18)	6,3 (31)	18,3 (90)	0,000001
<i>p</i> **	0,49			0,48			
Ген	<i>GSTP1</i>						
Мужчины	23,2 (103)	31,2 (139)	23,6 (105)	3,7 (18)	20,8 (102)	47,3 (232)	0,000001
Женщины	6,7 (30)	8,1 (36)	7,2 (32)	1,6 (8)	5,7 (28)	21 (103)	0,000001
<i>p</i> **	0,89			0,18			
Ген	<i>GSTT1</i>						
Мужчины	22,5 (80)	29,6 (105)	24,8 (88)	4,8 (21)	18,9 (82)	46,5 (202)	0,000001
Женщины	7,6 (27)	7,9 (28)	7,6 (27)	1,6 (7)	5,1 (22)	23 (100)	0,000001
<i>p</i> **	0,83			0,09			
Ген	<i>CYP1A1</i>						
Мужчины	9,7 (43)	28,3 (126)	40 (178)	2,7 (13)	13,4 (66)	55,6 (273)	0,000001
Женщины	2,5 (11)	6,5 (29)	13 (58)	1,2 (6)	6,9 (34)	20,2 (99)	0,11
<i>p</i> **	0,45			0,41			

Примечание: p^* – отличия распределения статуса метилирования между исследуемыми группами. p^{**} – отличия распределения статуса метилирования между мужчинами и женщинами.

Связи возраста с изменением гиперметилированного статуса промоторных областей изученных генов у работников угольных теплоэлектростанций обнаружено не было ($p > 0,05$). В группе сравнения наблюдается ассоциация возраста с изменением гиперметилированного статуса промотора *ERCC2* ($p = 0,025$), однако, при поправке на множественные сравнения оказалась не значима.

Не установлено связи между статусом курения и изменением уровней метилирования промоторных областей генов *XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*, *GSTP1*, *GSTT1*, *CYP1A1* в обеих исследуемых группах (таблица 16). У курящих работников в отличие от группы сравнения установлено увеличение гиперметилированного и частично метилированного статусов промоторов всех изученных генов ($p_{adj} = 0,000001$, для *CYP1A1* $p_{adj} = 0,002$). Аналогичные данные получены у некурящих работников в отличие от группы сравнения ($p_{adj} = 0,000001$).

Таблица 16 – Распределение статусов метилирования промоторных областей изученных генов курящих и некурящих индивидов в обеих обследуемых группах

Группа / Возраст	Работники, % (n)			Группа сравнения, % (n)			<i>p</i>
Ген	<i>XRCC1</i>						
Статус метилирования	M+	M-	U	M+	M-	U	
Курит	11,0 (49)	15,1 (67)	11,5 (51)	2,8 (14)	8,4 (41)	22,0 (108)	0,000001
Не курит	16,8 (75)	20,7 (92)	24,9 (111)	7,5 (37)	16,3 (80)	43,0 (211)	0,000001
<i>p</i>	0,16			0,76			
Ген	<i>XRCC2</i>						
Статус метилирования	M+	M-	U	M+	M-	U	
Курит	12,1 (54)	15,7 (70)	9,7 (43)	4,3 (21)	6,7 (33)	22,2 (109)	0,000001

Группа / Возраст	Работники, % (n)			Группа сравнения, % (n)			<i>p</i>
Не курит	17,1 (76)	26,5 (118)	18,9 (84)	9,8 (48)	14 (69)	43 (211)	0,000001
<i>p</i>	0,52			0,90			
Ген	<i>XRCC3</i>						
Статус метилирования	M+	M-	U	M+	M-	U	
Курит	13,3 (59)	15,3 (68)	9 (40)	3,5 (17)	7,9 (39)	21,8 (107)	0,000001
Не курит	16,8 (75)	29,4 (131)	16,2 (72)	9,8 (48)	12,6 (62)	44,4 (218)	0,000001
<i>p</i>	0,22			0,32			
Ген	<i>ERCC2</i>						
Статус метилирования	M+	M-	U	M+	M-	U	
Курит	11,4 (51)	14,4 (64)	11,7 (52)	5,1 (25)	2,7 (13)	25,4 (125)	0,000001
Не курит	17,1 (76)	29 (129)	16,4 (73)	12,2 (60)	5,9 (29)	48,7 (239)	0,000001
<i>p</i>	0,30			0,75			
Ген	<i>ERCC5</i>						
Статус метилирования	M+	M-	U	M+	M-	U	
Курит	12,4 (55)	12,1 (54)	13 (58)	2,4 (12)	9,2 (45)	21,6 (106)	0,000001
Не курит	18 (80)	21,6 (96)	22,9 (102)	7,5 (37)	14,7 (72)	44,6 (219)	0,000001
<i>p</i>	0,73			0,28			
Ген	<i>GSTP1</i>						
Статус метилирования	M+	M-	U	M+	M-	U	
Курит	8,8 (39)	17,1 (76)	11,7 (52)	1,2 (6)	9 (44)	23 (113)	0,000001
Не курит	21,1	22,2	19,1	4,1	17,5	45,2	0,000001

Группа / Возраст	Работники, % (n)			Группа сравнения, % (n)			<i>p</i>
	(94)	(99)	(85)	(20)	(86)	(222)	
<i>p</i>	0,054			0,66			
Ген	<i>GSTT1</i>						
Статус метилирования	M+	M-	U	M+	M-	U	
Курит	14,1 (50)	13 (46)	11 (39)	2,5 (11)	7,1 (31)	24,2 (105)	0,000001
Не курит	16,1 (57)	24,5 (87)	21,4 (76)	3,9 (17)	16,8 (73)	45,4 (197)	0,000001
<i>p</i>	0,12			0,66			
Ген	<i>CYP1A1</i>						
Статус метилирования	M+	M-	U	M+	M-	U	
Курит	3,8 (17)	11,9 (53)	21,8 (97)	0,8 (4)	7,1 (35)	25,3 (124)	0,001
Не курит	8,3 (37)	22,9 (102)	21,2 (139)	3,1 (15)	13,2 (65)	50,5 (248)	0,000001
<i>p</i>	0,31			0,65			

Примечание: p^* – отличия распределения статуса метилирования между исследуемыми группами. p^{**} – отличия распределения статуса метилирования внутри исследуемых групп.

Для изучения потенциальной роли статуса метилирования в развитии хронических заболеваний у рабочих был проведён анализ ассоциаций между наличием хронических заболеваний и статусом метилирования промоторных регионов генов репарации ДНК (*XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*) и биотрансформации ксенобиотиков (*GSTT1*, *GSTP1* и *CYP1A1*).

На первом этапе оценивалась связь наличия или отсутствия хронического заболевания со статусом метилирования изученных промоторов. На втором этапе патологии были классифицированы в соответствии с МКБ-10. Весь анализ проводился при помощи порядковой регрессионной модели.

Проведённое исследование не выявило значимых ассоциаций статуса метилирования промоторов генов *XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*,

GSTT1, *GSTP1* и *CYP1A1* с хроническими патологиями у работников угольных теплоэлектростанций ($p > 0,05$).

Установлено отличие распределения гиперметилирования промоторов изученных генов у работников со стажем работы до 20 лет в отличие от 20 лет и более. При этом у работников со стажем больше 20 лет частота встречаемости гиперметилированных промоторов генов *ERCC2*, *XRCC1* и *XRCC3* выше ($p_{adj} = 0,001$; $p_{adj} = 0,004$; $p_{adj} = 0,02$ соответственно) по сравнению с рабочими со стажем менее 20 лет (рисунок 19). Обнаружена связь стажа работы на угольных теплоэлектростанциях с изменением статуса метилирования промоторных зон генов *ERCC2* (рисунок 20 (А), $p_{adj} = 0,002$; $N = 12,4784$), *XRCC1* (рисунок 20 (Б), $p_{adj} = 0,01$; $N = 9,9679$), *XRCC3* (рисунок 20 (В), $p_{adj} = 0,01$; $N = 10,5865$).

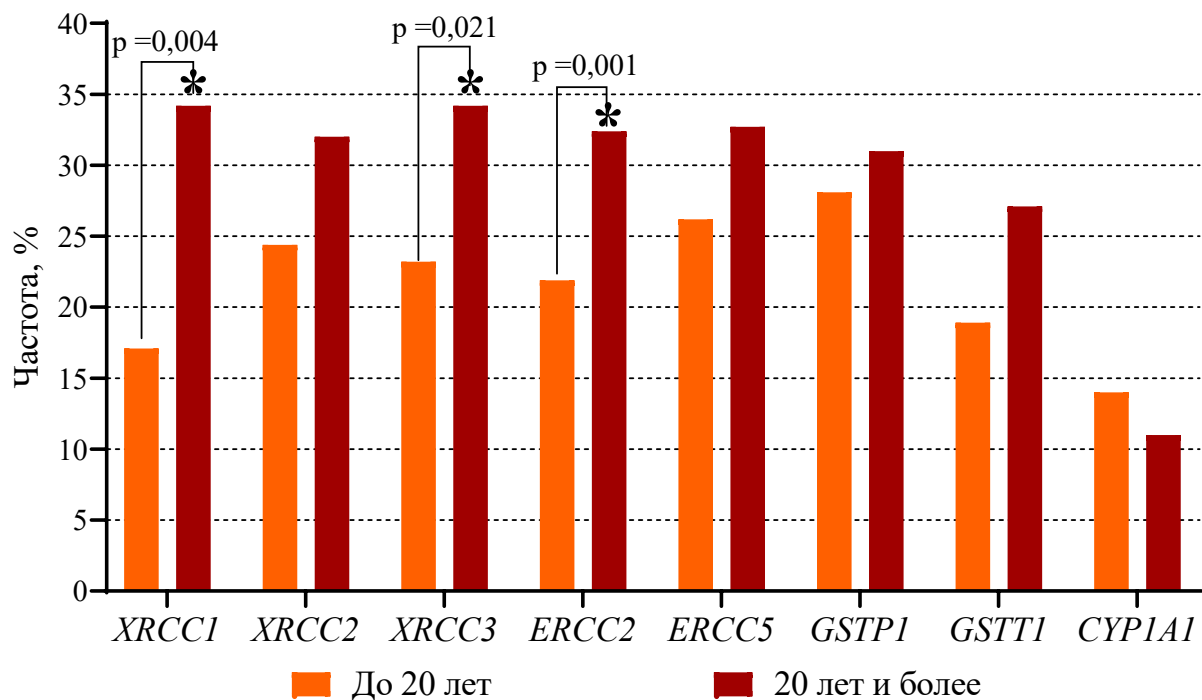
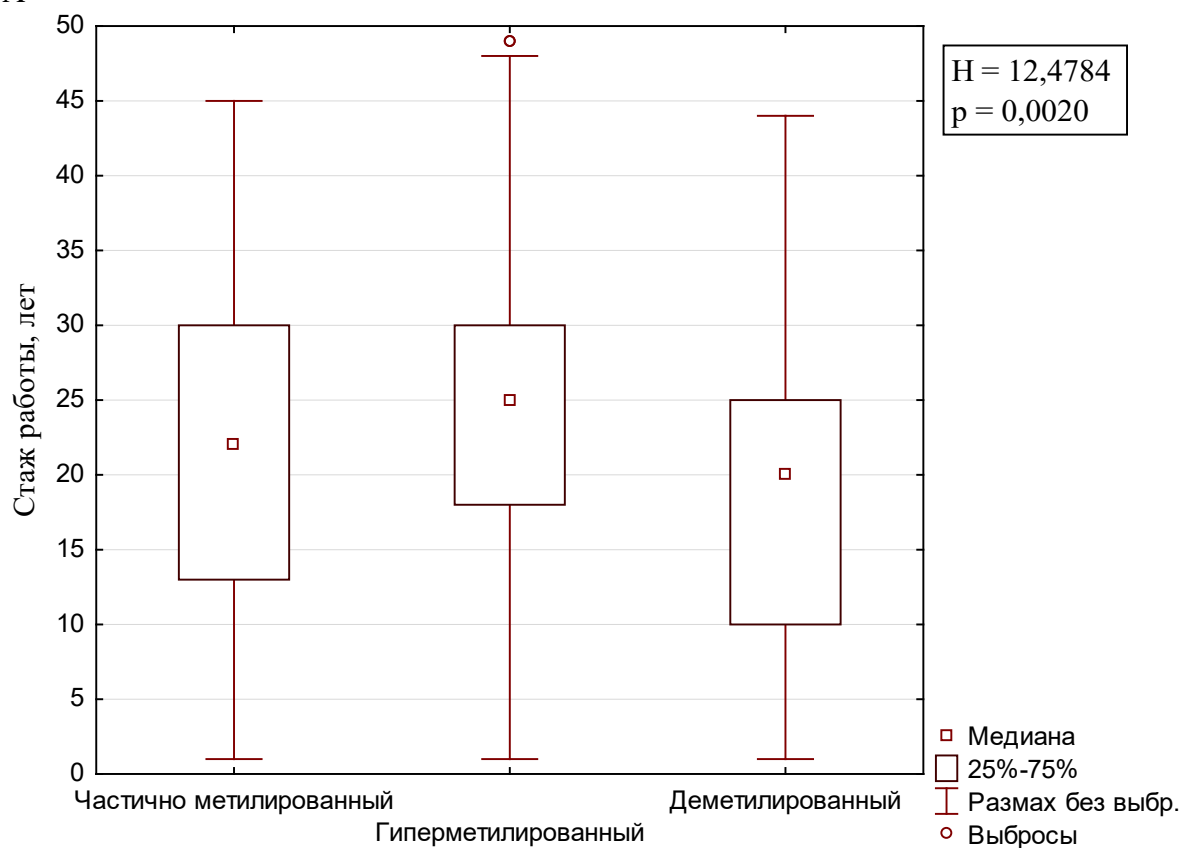
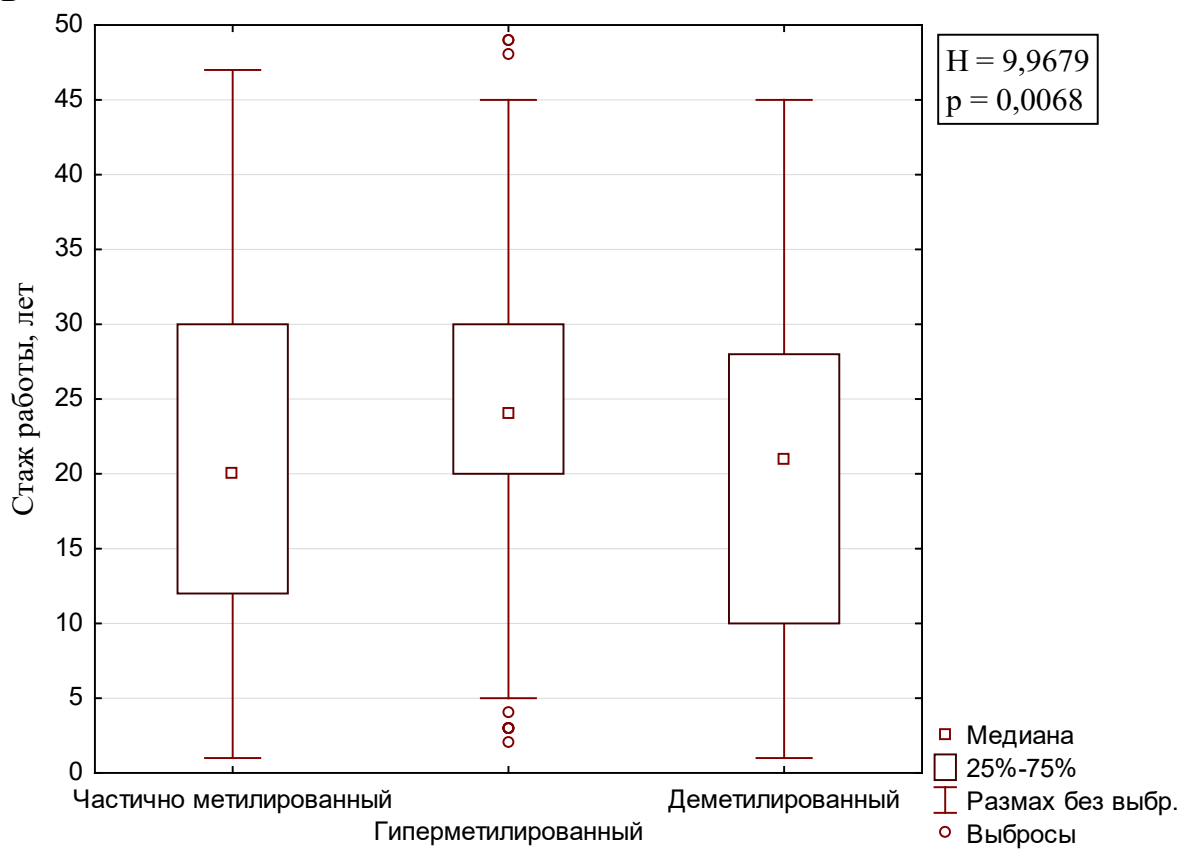


Рисунок 19 – Распределение гиперметилированного статуса промоторных областей изученных генов в группах рабочих с разным стажем

А



Б



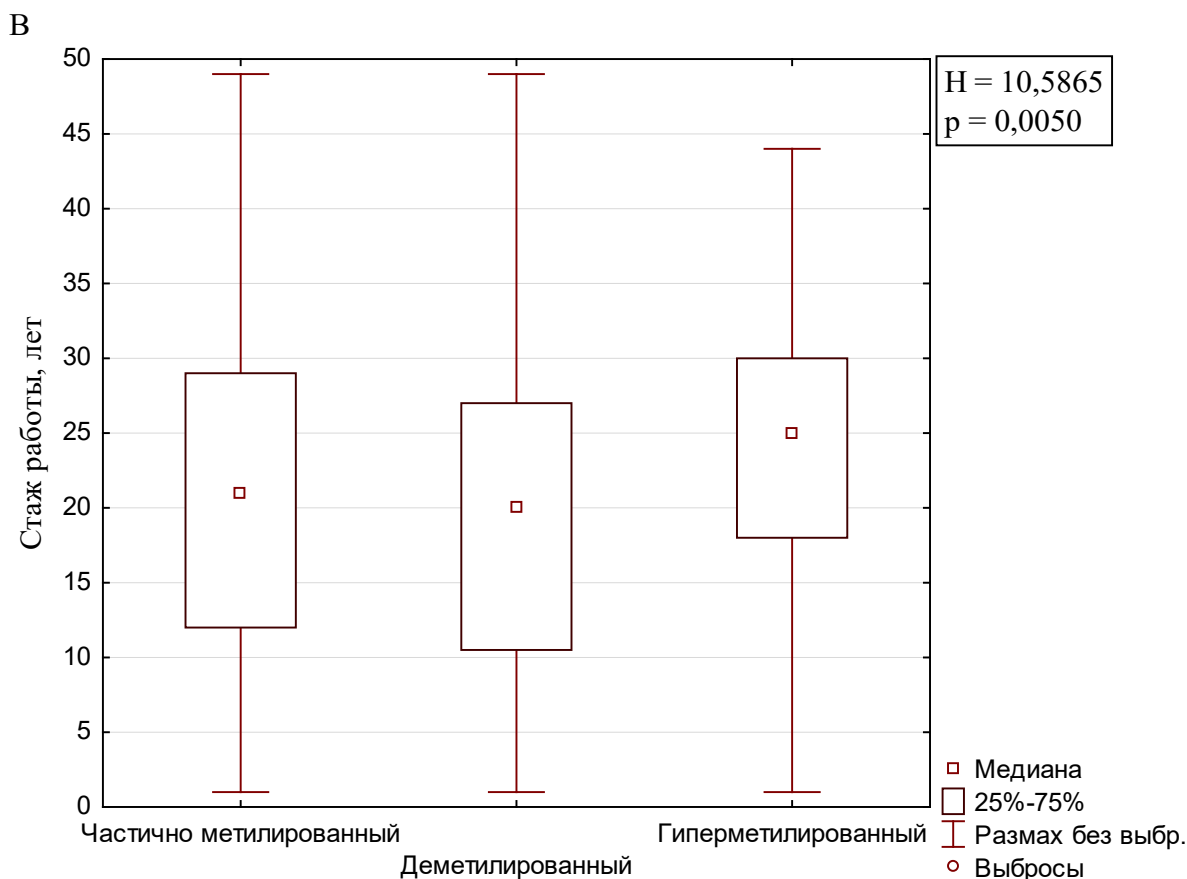


Рисунок 20 – Распределение стажа работы в связи со статусом метилирования промоторной области генов *ERCC2* (А), *XRCC1* (Б) и *XRCC3* (В)

Стаж работы демонстрировал ассоциацию с распределением статуса метилирования генов *XRCC1*, *XRCC3* и *ERCC2* у лиц в возрастной группе до 55 лет (рисунок 21, $p_{adj} = 0,04$, $p_{adj} = 0,008$, $p_{adj} = 0,04$ соответственно). У лиц старшего возраста ассоциация стажа работы со статусом метилирования оказалась статистически не значима ($p = 0,51$).

При изучении профессиональной специализации (производственный цех) в связи со статусом метилирования изученных генов (таблица 17) установлено, что работники топливно-транспортного цеха, цеха тепловой автоматики и измерений, ремонтного и химического цехов обладают повышенной частотой гиперметилированного и частично метилированного статуса промоторных областей генов *ERCC2*, *ERCC5* и *GSTT1* ($p_{adj} < 0,02$) в отличие и работников электрического цеха и административно-управленческого персонала.

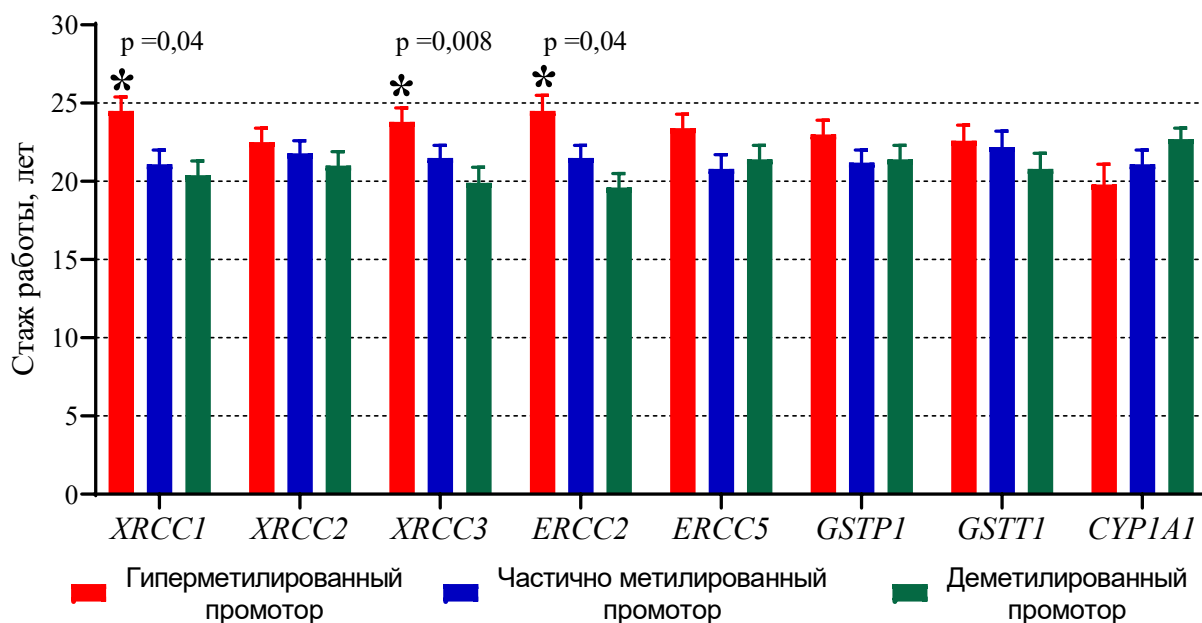


Рисунок 21 – Распределение стажа работы у рабочих в возрасте до 55 лет в связи со статусом метилирования промоторной области изученных генов

Таблица 17 – Значимость распределения степени метилирования изученных генов у работников разных цехов

<i>XRCC1</i>						
	ТТЦ	ЦТАИ	ПУОРОСО	ХЦ	ЭЦ	АУП
ТТЦ	-	0,9	0,6	0,9	0,2	0,2
ЦТАИ	0,9	-	0,8	0,9	0,3	0,3
ПУОРОСО	0,6	0,8	-	0,8	0,5	0,5
ХЦ	0,9	0,9	0,8	-	0,3	0,3
ЭЦ	0,2	0,3	0,5	0,3	-	0,9
АУП	0,2	0,3	0,5	0,3	0,9	-
<i>XRCC2</i>						
	ТТЦ	ЦТАИ	ПУОРОСО	ХЦ	ЭЦ	АУП
ТТЦ	-	0,7	0,5	0,06	0,6	0,5
ЦТАИ	0,7	-	0,9	0,2	1	0,9
ПУОРОСО	0,5	0,9	-	0,3	0,7	0,9
ХЦ	0,06	0,2	0,3	-	0,2	0,3
ЭЦ	0,6	1	0,7	0,2	-	1
АУП	0,5	0,9	0,9	0,3	1	-

<i>XRCC3</i>						
	ТТЦ	ЦТАИ	ПУОРОСО	ХЦ	ЭЦ	АУП
ТТЦ	-	0,9	0,2	0,9	1	0,4
ЦТАИ	0,9	-	0,1	0,9	1	0,6
ПУОРОСО	0,2	0,1	-	0,1	0,2	0,02
ХЦ	0,9	0,9	0,1	-	1	0,6
ЭЦ	1	1	0,2	1	-	0,5
АУП	0,4	0,6	0,02	0,6	0,5	-
<i>ERCC2</i>						
	ТТЦ	ЦТАИ	ПУОРОСО	ХЦ	ЭЦ	АУП
ТТЦ	-	1	0,003	0,9	0,02	0,02
ЦТАИ	1	-	0,005	0,8	0,02	0,02
ПУОРОСО	0,003	0,005	-	0,002	0,7	0,7
ХЦ	0,9	0,8	0,002	-	0,008	0,008
ЭЦ	0,02	0,02	0,7	0,008	-	0,9
АУП	0,02	0,02	0,7	0,008	0,9	-
<i>ERCC5</i>						
	ТТЦ	ЦТАИ	ПУОРОСО	ХЦ	ЭЦ	АУП
ТТЦ	-	0,5	0,003	0,3	0,7	0,3
ЦТАИ	0,5	-	0,001	0,04	0,9	0,9
ПУОРОСО	0,003	0,001	-	0,08	0,001	0,001
ХЦ	0,3	0,04	0,08	-	0,09	0,02
ЭЦ	0,7	0,9	0,001	0,09	-	0,7
АУП	0,3	0,9	0,001	0,02	0,7	-
<i>GSTP1</i>						
	ТТЦ	ЦТАИ	ПУОРОСО	ХЦ	ЭЦ	АУП
ТТЦ	-	0,9	0,2	0,09	0,9	0,5
ЦТАИ	0,09	-	0,9	0,9	0,4	0,2
ПУОРОСО	0,2	0,9	-	0,9	0,3	0,6
ХЦ	0,09	0,9	0,9	-	0,2	0,4
ЭЦ	0,9	0,4	0,3	0,2	-	0,7
АУП	0,5	0,2	0,6	0,4	0,7	-
<i>GSTT1</i>						
	ТТЦ	ЦТАИ	ПУОРОСО	ХЦ	ЭЦ	АУП

ТТЦ	-	0,3	0,2	0,08	0,07	0,001
ЦТАИ	0,3	-	1	0,003	0,6	0,01
ПУОРОСО	0,2	1	-	0,002	0,7	0,05
ХЦ	0,08	0,003	0,002	-	0,001	0,001
ЭЦ	0,07	0,6	0,7	0,001	-	0,2
АУП	0,001	0,01	0,05	0,001	0,2	-
<i>СУРІАІ</i>						
	ТТЦ	ЦТАИ	ПУОРОСО	ХЦ	ЭЦ	АУП
ТТЦ	-	0,7	0,4	0,6	0,2	0,6
ЦТАИ	0,7	-	0,1	0,3	0,6	0,9
ПУОРОСО	0,4	0,1	-	0,9	0,03	0,2
ХЦ	0,6	0,3	0,9	-	0,07	0,3
ЭЦ	0,2	0,6	0,03	0,07	-	0,6
АУП	0,6	0,9	0,2	0,3	0,6	-

Примечание: ТТЦ – топливно-транспортный цех, ЦТАИ – цех тепловой автоматики и измерений, ПУОРОСО – ремонтно-строительный цех, ХЦ – химический цех, ЭЦ – электрический цех, АУП – административно-управленческий персонал. В таблице представлен р-уровень, полужирным выделены значимые уровни с учетом поправки на множественные сравнения.

С увеличением стажа работы у работников различных цехов наблюдается увеличение степени метилирования промоторов генов *XRCC1* (ремонтный, $p_{adj}=0,02$), *XRCC3* (тепловой автоматики и измерений, $p_{adj}=0,002$), *ERCC2* (тепловой автоматики и измерений, $p_{adj}=0,04$, ремонтный, $p_{adj}=0,03$), *ERCC5* (тепловой автоматики и измерений, $p_{adj}=0,00001$), *GSTP1* (тепловой автоматики и измерений, $p_{adj}=0,03$; административно-управленческий персонал $p_{adj}=0,009$), *СУРІАІ* (химический, $p_{adj}=0,00001$) (таблица 18).

Установлена ассоциация стажа работы с изменением степени метилирования генов *XRCC1* ($H = 8,7503$, $p_{adj}=0,01$) и *XRCC3* ($H = 8,4618$, $p_{adj}=0,01$) у работников цеха тепловой автоматики и измерений (рисунок 22 (А-Б)).

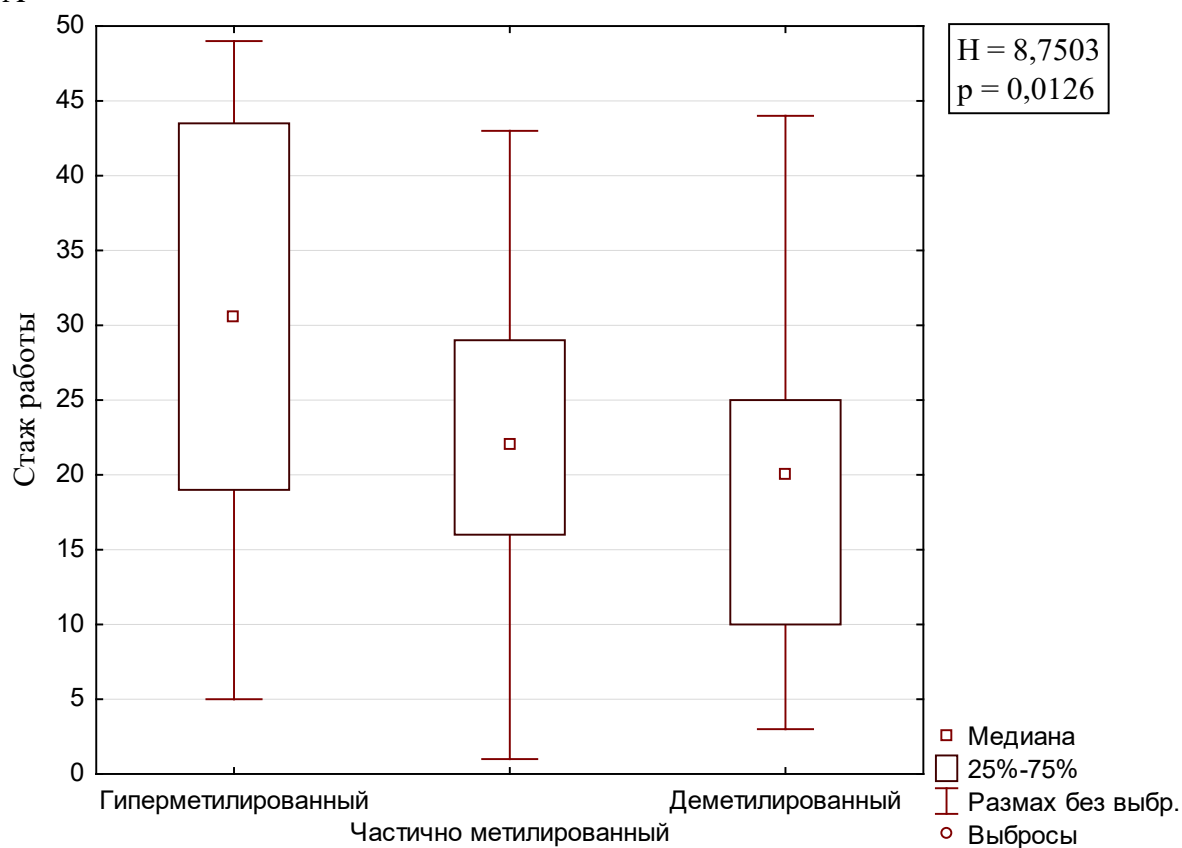
Таблица 18 – Результат порядкового регрессионного анализа для рабочих различных цехов с разным стажем работы

Параметры		<i>XRCC1</i>	<i>XRCC2</i>	<i>XRCC3</i>	<i>ERCC2</i>	<i>ERCC5</i>	<i>GSTT1</i>	<i>GSTP1</i>	<i>CYP1A1</i>
Все работники	χ^2	62,6	42,7	52,9	64,1	68,5	56,4	58,8	49,5
	<i>p</i>	0,06	0,6	0,3	0,049	0,02	0,2	0,1	0,4
ТТЦ	χ^2	49,2	65,3	51,3	62,9	59,7	52,6	44,8	52,9
	<i>p</i>	0,18	0,009	0,13	0,01	0,03	0,1	0,3	0,1
ЦТАИ	χ^2	46,8	41,6	63,9	54,9	71,8	48,7	55,4	54,8
	<i>p</i>	0,044	0,1	0,002	0,04	0,00001	0,03	0,03	0,04
ПУОРОСО	χ^2	36,9	29,2	29,6	36,3	25,6	33,4	31,5	24,4
	<i>p</i>	0,02	0,046	0,041	0,03	0,1	0,01	0,02	0,1
ХЦ	χ^2	36,2	28,6	25,9	26	32,9	26,4	24,5	48,7
	<i>p</i>	0,01	0,07	0,1	0,1	0,02	0,1	0,2	0,00001
ЭЦ	χ^2	42,5	40,9	27,3	28,7	36,2	36,3	35,9	32,6
	<i>p</i>	0,03	0,042	0,5	0,4	0,1	0,1	0,1	0,2
АУП	χ^2	35,5	37,8	32,9	36,4	45	24,6	49,4	42,9
	<i>p</i>	0,08	0,05	0,1	0,06	0,008	0,5	0,009	0,01

Примечание: ТТЦ – топливно-транспортный цех, ЦТАИ – цех тепловой автоматики и измерений, ПУОРОСО – ремонтный цех, ХЦ – химический цех, ЭЦ – электрический цех, АУП – административно-управленческий персонал. В таблице представлен *p*-уровень, полужирным выделены значимые уровни с учетом поправки на множественные сравнения.

Для работников ремонтного цеха установлена ассоциация стажа работы с изменением метилирования гена *ERCC2* ($N = 8,1945$, $p_{adj} = 0,01$). Средний стаж, при котором наблюдались отличия в степени метилирования промотора, являлся 27,5 лет.

А



Б

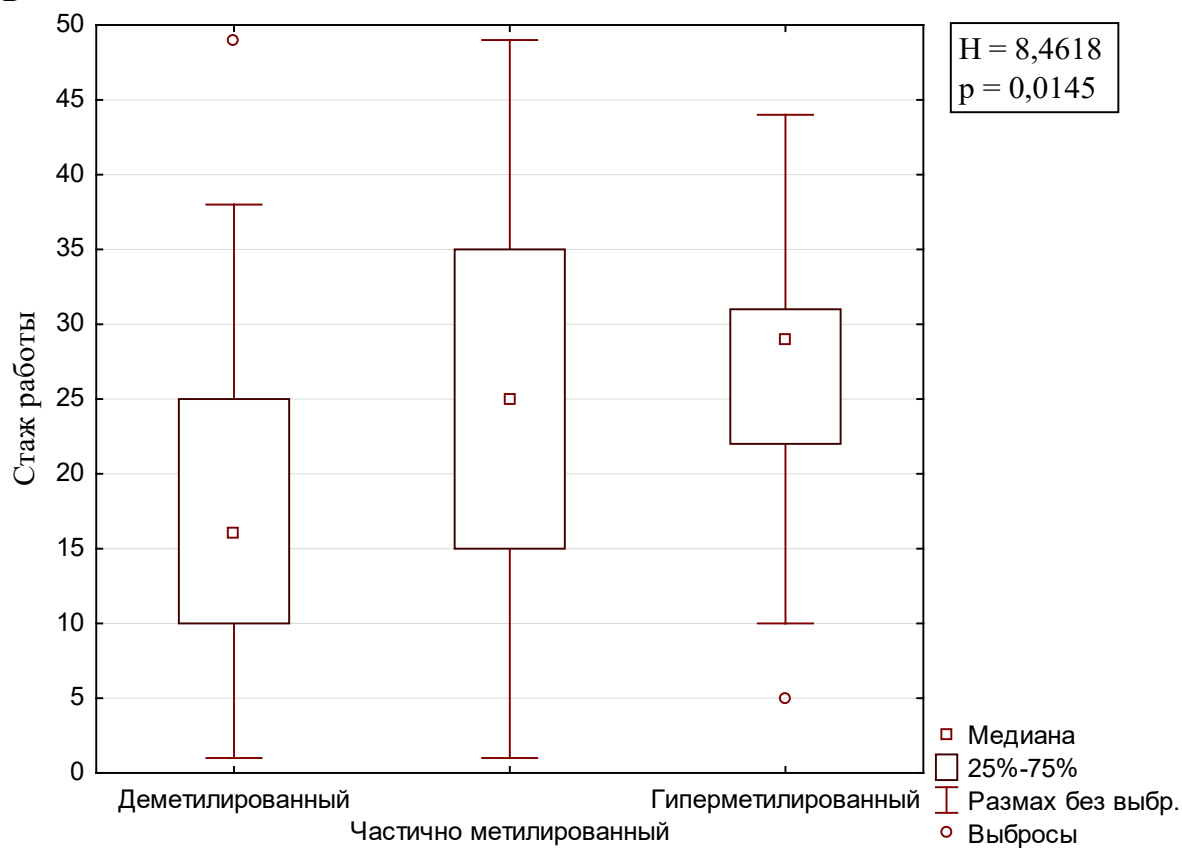
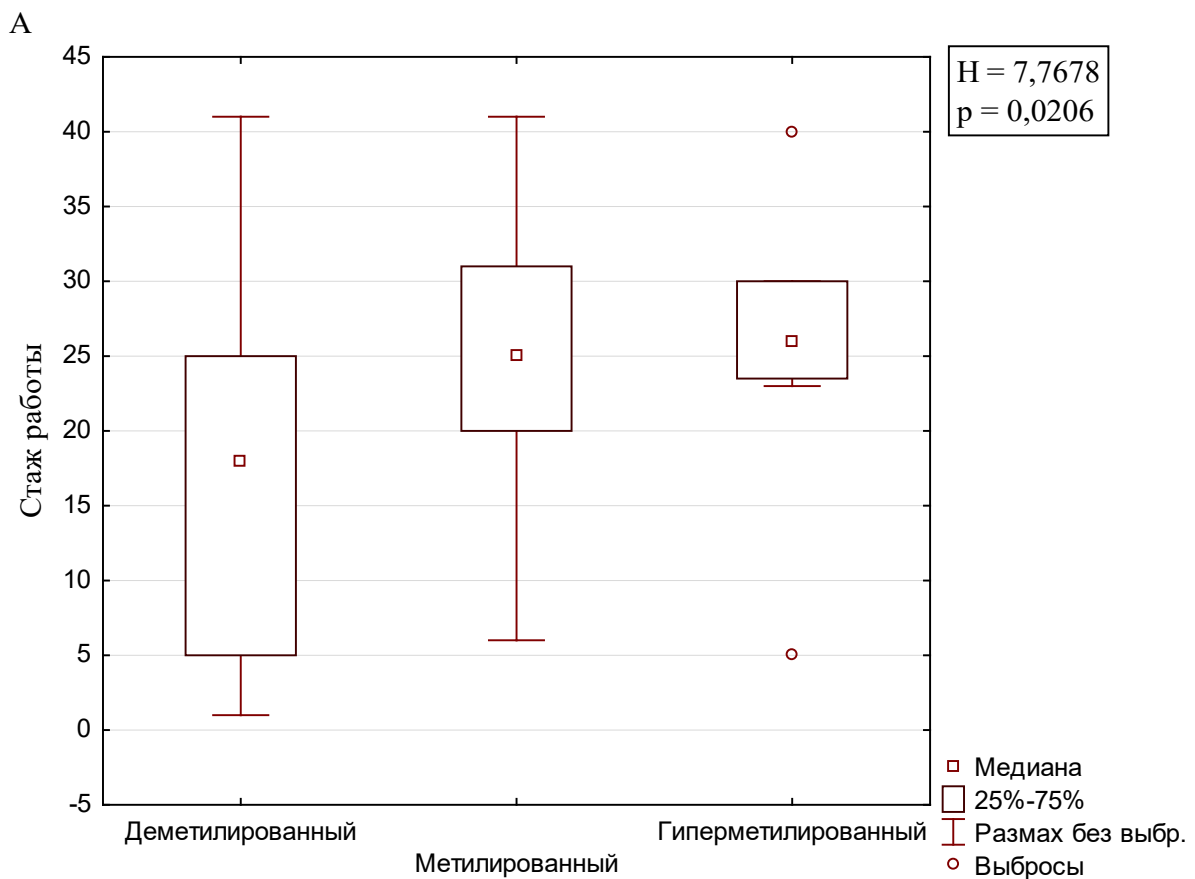


Рисунок 22 – Распределение степени метилирования промоторных областей генов *XRCC1* (А) и *XRCC3* (Б) у рабочих цеха тепловой автоматики и измерений с разным стажем работы

У работников электрического цеха (рисунок 23 (А-Б)) выявлена связь стажа работы с изменением метилирования генов *ERCC2* ($H = 7,7678$, $p_{adj} = 0,04$) и *ERCC5* ($H = 8,8189$, $p_{adj} = 0,01$). Средние стажи, при которых наблюдались отличия степени метилирования промоторов, являлись 25 лет и 24 года соответственно.



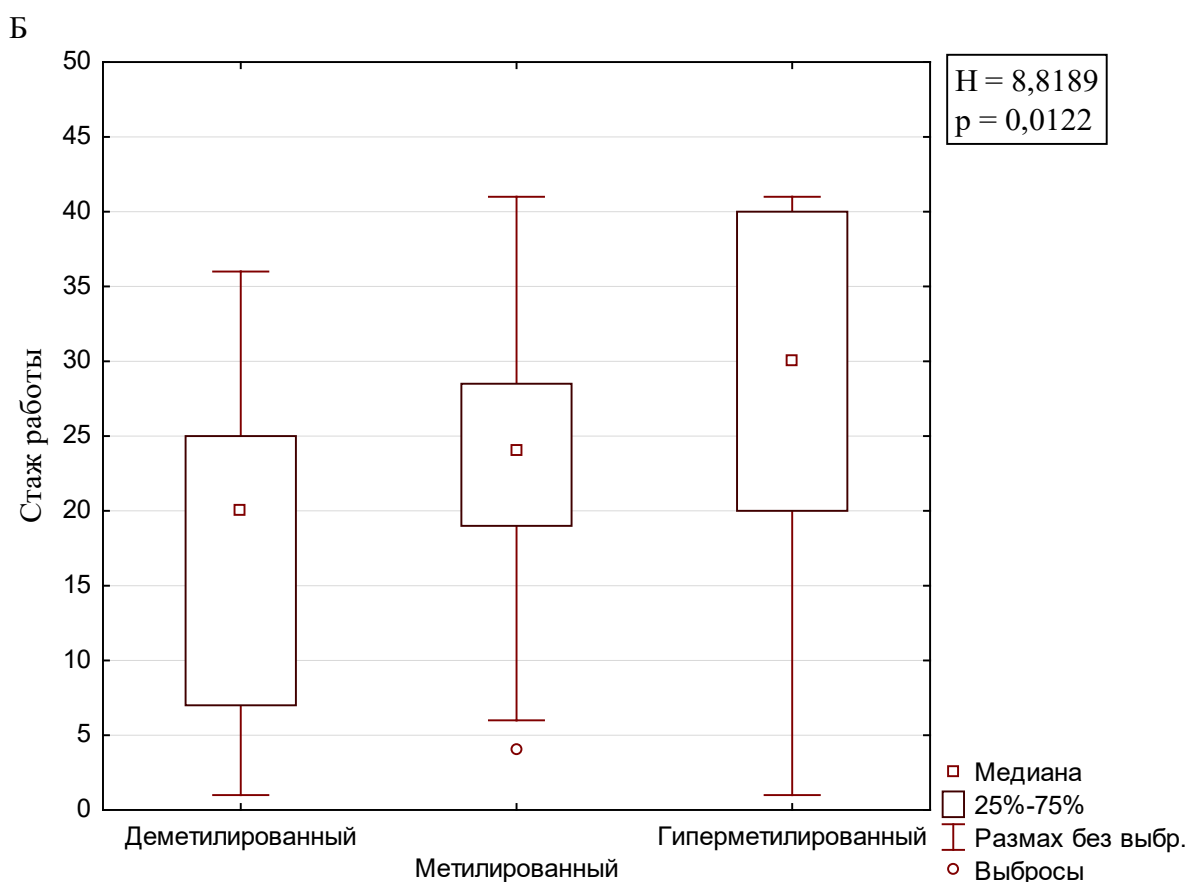


Рисунок 23 – Распределение степени метилирования промоторных областей генов *ERCC2* (А) и *ERCC5* (Б) у рабочих электрического цеха с разным стажем

Производственная среда угольных теплоэлектростанций может оказывать существенное влияние на изменение метилирования ДНК (Li et al., 2021). Химические соединения, присутствующие в воздухе данных предприятий, оказывают прямое действие на функцию ферментов диметилтрансферазы и ферментов диоксигеназы посредством окисления аминокислот или изменения доступности кофакторов, факторов транскрипции, что приводит к специфичным паттернам метилирования (Martin, Fry, 2018; Seiler et al., 2018). Стоит отметить, что вещества группы ПАУ могут действовать через активацию арилуглеводородного рецептора (AhR). Известно, что данный путь способен оказывать прямое воздействие на эпигенетическую регуляцию посредством специфичного связывания с ДНК, приводящего к изменению экспрессии подконтрольных генов (Congues et al., 2024). Подобные механизмы способны

приводить к изменению экспрессии генов и мутационной изменчивости, которые будут передаваться следующим поколениям (Law, Holland, 2019) и способствовать прогрессированию заболеваний (Rieke et al., 2016; Leesang et al., 2024).

Таким образом, в работе продемонстрировано влияние промышленной среды угольных теплоэлектростанций на изменение уровня метилирования промоторных областей генов систем репарации ДНК (*XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*) и биотрансформации ксенобиотиков (*GSTP1*, *GSTT1*, *CYP1A1*) у работников угольных теплоэлектростанций. При этом наиболее значимым фактором, вносящим вклад в изменение статуса метилирования генов *XRCC3*, *ERCC5*, *GSTP1* является рабочий цех (топливно-транспортный, химический, тепловой автоматики и измерений). В изменение статуса метилирования промоторных областей генов *XRCC1*, *XRCC3*, *ERCC2* значимый вклад вносит стаж работы более 20 лет. В связи с полученными данными необходима комплексная оценка влияния факторов генетической изменчивости и окружающей среды на изменение профиля метилирования изучаемых генов у работников.

3.2.3. Анализ цитогенетических повреждений в связи с уровнем метилирования промоторных областей изученных генов

Сравнение цитогенетических нарушений в связи со степенью метилирования генов *XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*, *GSTP1*, *GSTT1*, *CYP1A1* в группе сравнения и работников угольных теплоэлектростанций представлены в таблицах 19-20.

У не работающих на производстве жителей Кузбасса не установлено статистически значимых отличий при сравнении частоты встречаемости цитогенетических нарушений в двуядерных лимфоцитах в связи со статусом метилирования промоторных зон изученных генов ($p > 0,05$).

Таблица 19 – Параметры микроядерного теста (‰) в связи с уровнем метилирования промоторов изученных генов в группе сравнения

Показатели	Медиана $\pm$ SD	Медиана $\pm$ SD	Медиана $\pm$ SD
<i>XRCC1</i>			
Статус метилирования	M (n = 51)	MU (n = 121)	U (n = 319)
Микроядра	6 $\pm$ 3,8	6 $\pm$ 4,1	6 $\pm$ 4,3
Мосты	3 $\pm$ 2,7	3,6 $\pm$ 3,1	3 $\pm$ 3
Протрузии	3,8 $\pm$ 4,5	2 $\pm$ 2,9	3 $\pm$ 3,2
<i>XRCC2</i>			
Статус метилирования	M (n = 69)	MU (n = 102)	U (n = 320)
Микроядра	7 $\pm$ 5	6 $\pm$ 3,9	6 $\pm$ 4,1
Мосты	2 $\pm$ 3,2	3,6 $\pm$ 2,8	3,7 $\pm$ 3
Протрузии	2 $\pm$ 3,8	3 $\pm$ 4,1	3 $\pm$ 2,9
<i>XRCC3</i>			
Статус метилирования	M (n = 65)	MU (n = 101)	U (n = 325)
Микроядра	6 $\pm$ 3,5	6 $\pm$ 3,7	6 $\pm$ 4,5
Мосты	3,8 $\pm$ 2,9	3 $\pm$ 3,4	3 $\pm$ 2,9
Протрузии	2 $\pm$ 4,2	2 $\pm$ 3,7	3 $\pm$ 2,9
<i>ERCC2</i>			
Статус метилирования	M (n = 85)	MU (n = 42)	U (n = 364)
Микроядра	6 $\pm$ 4,4	7 $\pm$ 4	6 $\pm$ 4,2
Мосты	2 $\pm$ 2,7	3 $\pm$ 2,8	3,7 $\pm$ 3,1
Протрузии	2 $\pm$ 2,7	3 $\pm$ 5,2	3 $\pm$ 3,1
<i>ERCC5</i>			
Статус метилирования	M (n = 49)	MU (n = 117)	U (n = 325)
Микроядра	5 $\pm$ 3,5	6 $\pm$ 4,2	6 $\pm$ 4,3
Мосты	3 $\pm$ 3,2	3 $\pm$ 3,1	3 $\pm$ 2,9
Протрузии	3 $\pm$ 2,8	3 $\pm$ 2,9	3 $\pm$ 3,5
<i>GSTP1</i>			
Статус метилирования	M (n = 26)	MU (n = 130)	U (n = 335)
Микроядра	6 $\pm$ 4,6	5 $\pm$ 3,4	6 $\pm$ 4,4
Мосты	3,4 $\pm$ 3,1	3 $\pm$ 3,2	3 $\pm$ 2,9

Показатели	Медиана $\pm$ SD	Медиана $\pm$ SD	Медиана $\pm$ SD
Протрузии	$3 \pm 2,4$	$2 \pm 2,9$	$3 \pm 3,5$
<i>GSTT1</i>			
Статус метилирования	M (n = 28)	MU (n = 104)	U (n = 302)
Микроядра	$4 \pm 3,3$	$6 \pm 3,8$	$6,5 \pm 4,4$
Мосты	$4 \pm 3,3$	$3,8 \pm 3$	$3 \pm 2,9$
Протрузии	$3 \pm 2,7$	$2 \pm 3,5$	$3,5 \pm 3,1$
<i>CYP1A1</i>			
Статус метилирования	M (n = 19)	MU (n = 100)	U (n = 372)
Микроядра	$7 \pm 4,7$	$6 \pm 3,8$	$6 \pm 4,3$
Мосты	$3 \pm 2,5$	$3,4 \pm 2,9$	3 ± 3
Протрузии	$2 \pm 4,4$	$3 \pm 2,7$	$3 \pm 3,4$

Примечание: М – гиперметилированный, MU – частично метилированный, U – деметилированный.

Таблица 20 – Параметры микроядерного теста (%) в связи с уровнем метилирования промоторов изученных генов в группе работников угольных теплостанций

Показатели	Медиана $\pm$ SD	Медиана $\pm$ SD	Медиана $\pm$ SD
<i>XRCC1</i>			
Статус метилирования	M (n = 124)	MU (n = 159)	U (n = 162)
Микроядра	$26 \pm 16,3^{*2}$	$24 \pm 15,8$	$20 \pm 14,8$
Мосты	$15 \pm 10,8$	$14,1 \pm 9,7$	$14 \pm 10,3$
Протрузии	$23,7 \pm 17,4$	$20,8 \pm 15,6$	$22 \pm 19,6$
<i>XRCC2</i>			
Статус метилирования	M (n = 130)	MU (n = 188)	U (n = 127)
Микроядра	$26 \pm 16,1$	$23 \pm 15,6$	$22 \pm 15,5$
Мосты	$13,7 \pm 9,8$	$14,8 \pm 9,7$	$14,3 \pm 11,2$
Протрузии	$22,2 \pm 17,8$	$22,5 \pm 16,9$	$20,5 \pm 18,6$
<i>XRCC3</i>			
Статус метилирования	M (n = 134)	MU (n = 199)	U (n = 112)
Микроядра	$23 \pm 16,9$	$26 \pm 15^{*4}$	$18,5 \pm 15,1$
Мосты	$14,5 \pm 9,2$	$14,2 \pm 9,9$	$14,1 \pm 11,9$

Показатели	Медиана $\pm$ SD	Медиана $\pm$ SD	Медиана $\pm$ SD
Протрузии	23,1 $\pm$ 18,1	23,5 $\pm$ 17,3^{*4}	18,6 $\pm$ 17,6
<i>ERCC2</i>			
Статус метилирования	M (n = 127)	MU (n = 193)	U (n = 125)
Микроядра	33 $\pm$ 13,4^{*1}	24 $\pm$ 15,2	9 $\pm$ 12,6
Мосты	21,6 $\pm$ 12,3^{*1}	14,1 $\pm$ 7,8	9 $\pm$ 7,1
Протрузии	32 $\pm$ 18,9^{*1}	22,2 $\pm$ 15,1	10,8 $\pm$ 13,6
<i>ERCC5</i>			
Статус метилирования	M (n = 135)	MU (n = 150)	U (n = 160)
Микроядра	23 $\pm$ 15,9	23 $\pm$ 14,9	23 $\pm$ 16,4
Мосты	16 $\pm$ 10,4	13,9 $\pm$ 10,3	14 $\pm$ 9,9
Протрузии	22,7 $\pm$ 17,6	21 $\pm$ 15,4	22,6 $\pm$ 19,5
<i>GSTP1</i>			
Статус метилирования	M (n = 133)	MU (n = 175)	U (n = 137)
Микроядра	24 $\pm$ 15,4	20 $\pm$ 16	24 $\pm$ 15,6
Мосты	14,1 $\pm$ 10,7	14,3 $\pm$ 9	14,2 $\pm$ 11,2
Протрузии	23,5 $\pm$ 18,8	20,9 $\pm$ 16,7	22,1 $\pm$ 17,6
<i>GSTT1</i>			
Статус метилирования	M (n = 107)	MU (n = 133)	U (n = 115)
Микроядра	24 $\pm$ 15,9	22 $\pm$ 15,8	22 $\pm$ 16,2
Мосты	14,1 $\pm$ 9,1	14,7 $\pm$ 11,2	14,2 $\pm$ 10,4
Протрузии	19,3 $\pm$ 17,1	22,5 $\pm$ 16,2^{*3}	19,2 $\pm$ 18,7
<i>CYP1A1</i>			
Статус метилирования	M (n = 54)	MU (n = 155)	U (n = 236)
Микроядра	21,5 $\pm$ 16,1	23 $\pm$ 15,8	23,5 $\pm$ 15,6
Мосты	14,1 $\pm$ 9,4	14,1 $\pm$ 9,8	14,7 $\pm$ 10,6
Протрузии	24,1 $\pm$ 21,1	22 $\pm$ 16,4	21,7 $\pm$ 17,6

Примечание: отличия для критерия Краскела-Уоллиса: ^{*1} p = 0,000001; ^{*2} p = 0,002; ^{*3} p = 0,01; ^{*4} p = 0,02.

В группе работников угольных теплоэлектростанций установлено увеличение частоты микроядер при гиперметилированном статусе промотора гена *XRCC1* ($p_{\text{adj}} = 0,004$), микроядер, нуклеоплазменных мостов и протрузий при

гиперметилированном статусе промотора *ERCC2* ($p_{adj}=0,000001$), протрузий при частично метилированном промоторе гена *GSTT1* ($p_{adj}=0,03$). В других исследованиях установлена прямая связь повышенной частоты хромосомных aberrаций с гиперметилированием промоторов генов *GSTP1*, *TP53*, *INK4A*, *ATM*, *SOD3* и *ESR1* (Кузьмина, Лаптева, Рубанович, 2022), а также *APAF1*, *BAX* (Isubakova et al., 2021).

Н-тест позволил сравнить только изолированные группы по статусу метилирования промоторов, но не учёл влияния дополнительных переменных, таких как возраст обследованных, стаж работы, статус курения или воздействие других профессиональных факторов. Эти коварианы могут существенно модифицировать эффект изучаемых видов метилирования. Для преодоления указанных ограничений и углубления анализа был использован метод бинарной логистической регрессии. Данный подход позволяет скорректировать влияние потенциальных конфаундеров (возраст, стаж, курение), включив их в регрессионную модель в качестве независимых переменных. Кроме того, данный анализ дает возможность оценить направление и силу связи между конкретным статусом метилирования и цитогенетическим повреждением.

В ходе исследования был проведён порядковый регрессионный анализ ассоциации статуса метилирования промоторов генов *ERCC2*, *ERCC5*, *XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *GSTP1*, *GSTT1* и *CYP1A1* с частотой цитогенетических повреждений и нарушениями клеточного цикла с поправкой на ковариаты (возраст, профессиональный стаж, пол, статус курения) (таблица 21, рисунок 24). Параметры микроядерного теста в данном анализе были включены как бинарные переменные согласно определенным в ROC-анализе точкам отсечения (микроядра $<13 = 0$, $\geq 13 = 1$, нуклеоплазменные мосты $<7 = 0$, $\geq 7 = 1$, протрузии $<8 = 0$, $\geq 8 = 1$, клетки в апоптозе $<1,1 = 0$, $\geq 1,1 = 1$, делящиеся лимфоциты $>1,8 = 0$, $\leq 1,8 = 1$).

Таблица 21 – Ассоциация статуса метилирования промоторов изученных генов с цитогенетическими повреждениями и пролиферативными параметрами в группе работников ТЭС

Ген	Статус	$b \pm SE$	ОШ	95 % ДИ	p_{adj}	Исход
<i>ERCC2</i>	MM	$1,01 \pm 0,13$	2,734	2,128-3,543	0,000001	Повышение клеток с микроядрами
<i>ERCC2</i>	MM	$0,76 \pm 0,19$	2,135	1,473-3,103	0,00152	Повышение клеток с мостами
<i>ERCC2</i>	MM	$0,42 \pm 0,11$	1,529	1,227-1,888	0,00051	Повышение клеток с протрузиями
<i>XRCC2</i>	MM	$0,55 \pm 0,15$	1,738	1,292-2,326	0,00051	Повышение клеток с мостами
<i>XRCC2</i>	MM	$0,45 \pm 0,15$	1,563	1,169-2,104	0,01536	Повышение клеток с протрузиями

Примечание: MM – гиперметилованный статус промотора (здесь и далее).

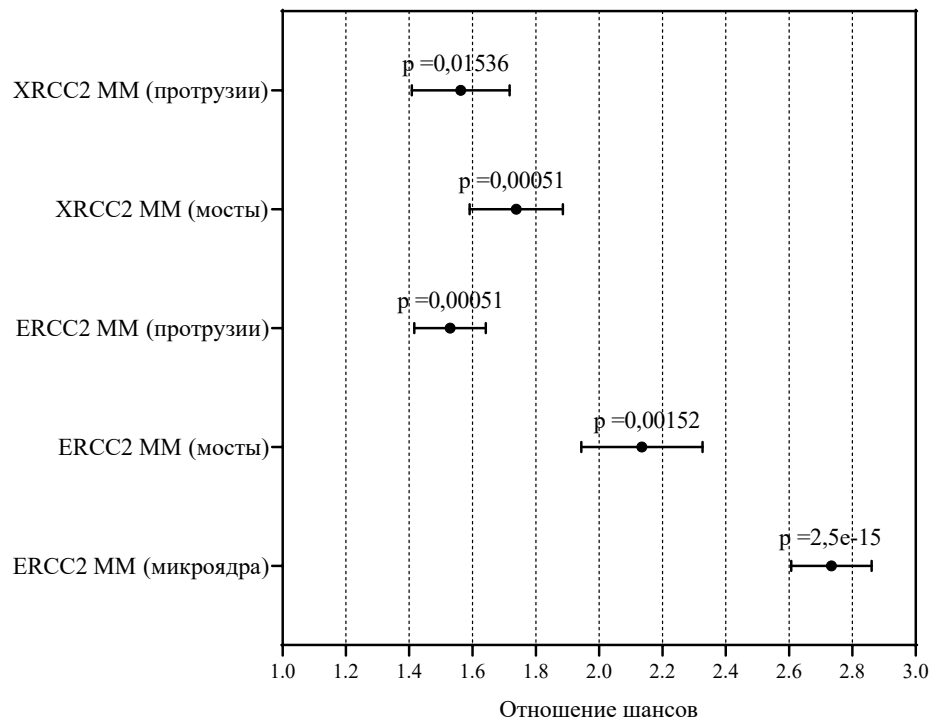


Рисунок 24 – Ассоциация статуса метилирования промоторов изученных генов с цитогенетическими повреждениями и пролиферативными параметрами в группе работников ТЭС: по оси X – отношение шансов, по оси Y – изученные статусы метилирования промоторов, в скобках указаны ассоциирующиеся с ними параметры микроядерного теста. Центральная точка соответствует отношению шансов, горизонтальные линии показывают 95 % доверительный интервал

Гиперметилирование промоторного региона *ERCC2* ассоциировано со значимым повышением всех типов цитогенетических повреждений (микроядра, ОШ =2,734, 95 % ДИ: 2,128-3,543; нуклеоплазменные мосты, ОШ =2,135, 95 % ДИ: 1,473-3,103; протрузии, ОШ =1,529, 95 % ДИ: 1,227-1,888). Это указывает на ключевую роль *ERCC2* в поддержании стабильности генома у рабочих угольных теплоэлектростанций.

Гиперметилирование *XRCC2* нарушает репарацию двунитевых разрывов посредством гомологичной рекомбинации. Это ведёт к образованию в клетках крови работников нуклеоплазменных мостов (ОШ =1,738, 95 % ДИ: 1,292-2,326) и протрузий (ОШ =1,563, 95 % ДИ: 1,169-2,104).

Известно, что микроядро представляет собой маркер хромосомной нестабильности, включающий целые хромосомы или их фрагменты. Современные исследования позволили не только определить молекулярные механизмы формирования и разрушения микроядер, но и проследить их отдаленные последствия для генома и эпигенома, которые могут передаваться по наследству. Важным звеном, предрасполагающим к появлению микроядер, являются эпигенетические изменения, в частности гиперметилирование промоторных регионов генов репарации ДНК и метаболизма ксенобиотиков, наблюдаемое у работников угольных теплоэлектростанций.

Основой для понимания того, как первичные повреждения ДНК ведут к образованию микроядер, служит работа Fenech & Crott (2002). Авторы показали, что дефицит фолиевой кислоты индуцирует в лимфоцитах человека не только микроядра, но и нуклеоплазменные мосты и протрузии. Дицентрические хромосомы, образующиеся в результате слияния фрагментов ДНК с поврежденными теломерами, формируют нуклеоплазменные мосты в анафазе. Разрыв такого моста при цитокинезе является прямым источником образования микроядер и протрузий.

Исследования в профессиональных когортах подтвердили, что метилирование генов репарации является ключевым фактором, предрасполагающим к развитию хромосомных повреждений. В работе Wu et al.

(2013) наблюдалось метилирование промотора гена репарации *MGMT* в группе рабочих, профессионально контактирующих с винилхлоридом, с повышенной частотой встречаемости микроядер и отсутствует в группе работников без повреждений. Данная работа указывает на роль эпигенетического сайленсинга генов репарации в развитии нестабильности генома.

Исследование Hoyos-Giraldo et al. (2016) на малярах, экспонированных органическими растворителями, продемонстрировало, что метилирование промоторов генов *GSTP1* и *p16(INK4a)* ассоциировано с более чем двукратным увеличением риска повышенной частоты микроядер в уротелиальных клетках. Полученные результаты работы показали, что эпигенетический сайленсинг этих генов выступает как фактор, резко усиливающий генотоксическое действие внешних факторов.

Наиболее прямой количественный анализ связи между метилированием генов репарации и частотой микроядер был проведен в работе Zhang et al. (2016) на рабочих, подверженных воздействию выхлопов дизельных двигателей. Авторы продемонстрировали значимую отрицательную ассоциацию между уровнями метилирования промоторов генов *p16*, *RASSF1A* и *MGMT* и показателями микроядерного теста (частота встречаемости микроядер, нуклеоплазменных мостов и протрузий). Помимо этого, была установлена дозозависимая связь: с увеличением уровней метаболитов ПАУ в моче наблюдалось прогрессивное снижение метилирования этих генов, что подчёркивает роль внешнего воздействия в индукции эпигенетических изменений.

Медиационный анализ, проведенный Wang et al. (2021) на рабочих, подверженных воздействию свинца, показал, что метилирование *LINE-1* значимо опосредует 3,6% ассоциации между уровнем экспозиции и частотой микроядер. В исследовании с помощью медиационного анализа было показано, что изменения метилирования выступают в роли промежуточного звена между воздействием и формированием микроядер, а не являются следствием уже возникших повреждений.

Наиболее комплексное исследование, изучающее одновременно метилирование разных классов генов и микроядра в профессиональной когорте, было проведено Silva et al. (2019) у бразильских строителей, подверженных воздействию сложной смеси факторов (кремнезем, асбест, ПАУ, металлы). Авторы обнаружили у рабочих одновременное наличие трёх ключевых изменений: гиперметилирование промоторов генов-супрессоров *CDKN2A/p16*, *MLH1* и *APC*; гипометилирование маркера *LINE-1*; значимо повышенную частоту микроядер. Эта работа показывает многокомпонентный эпигенетический ответ на комплексное профессиональное воздействие, включающее как инактивацию конкретных защитных генов, так и общую геномную дестабилизацию, и демонстрирует их ассоциацию с ростом хромосомных повреждений.

Ключевой вопрос о том, к каким последствиям для генетического материала приводит изоляция хромосомы или её участка в микроядро, был продемонстрирован в работе Zhang et al. (2015). Было впервые экспериментально показано, что именно в микроядрах происходит процесс хромотрипсиса – фрагментации и хаотичной реассоциации хромосом. Авторы показали, что повреждение ДНК в микроядрах возникает при вступлении клетки в S-фазу, когда хромосома начинает реплицироваться в аномальных условиях. Не закончившая дупликацию хромосома из микроядра, будучи возвращенной в основное ядро дочерней клетки, становится источником сложных хромосомных перестроек.

Однако, судьба микроядра зависит от индивидуальных характеристик заключенной в нем хромосомы. Работа Mammel et al. (2021) продемонстрировала, что стабильность оболочки микроядер определяется длиной и плотностью генов хромосомы. Более длинные и богатые генами хромосомы образуют более стабильные микроядра, которые дольше сохраняют целостность, что вносит важное уточнение: риск и последствия образования микроядра зависят от того, какая именно хромосома в него попала.

Механизм самого разрушения оболочки микроядра описан в работе Di Bona et al. (2024). Авторы обнаружили, что митохондрии, тесно контактирующие с микроядрами, выделяют активные формы кислорода, которые вызывают

окисление и агрегацию белка SNMP7, что ведет к необратимому коллапсу оболочки микроядра.

Разрушение оболочки микроядра и попадание его содержимого в цитоплазму запускает не только генетические, но и глубокие эпигенетические нарушения. В работе Agustinus et al. (2023) с помощью масс-спектрометрии и АТАС-seq было показано, что хромосомы, проходящие через микроядра, претерпевают изменения в модификациях гистонов и доступности хроматина, включая парадоксальное перераспределение доступности ДНК. Функциональным итогом этих нарушений является стойкое подавление транскрипции генов на хромосомах, находившихся в микроядрах. Исследование Papathanasiou et al., 2023 (2023) показало, что примерно в 27 % случаев, когда хромосома из микроядра возвращается в ядро дочерней клетки, дефекты экспрессии генов сохраняются и передаются следующим поколениям.

Собственные результаты, полученные на работниках ТЭС, полностью согласуются с описанной выше моделью и значительно расширяют ее. Полученные данные демонстрируют, что гиперметилование промоторных регионов генов *XRCC2* и *ERCC2* ассоциировано со значимым повышением риска всех трёх маркеров нестабильности: микроядер, нуклеоплазменных мостов и протрузий у рабочих. Полученные результаты впервые показывают вовлечённость генов систем репарации ДНК в эпигенетическую дисрегуляцию при профессиональном контакте с углем и его производными и подтверждают, что гиперметилование их промоторных областей является фактором риска развития спектра цитогенетических повреждений.

Таким образом, микроядро выступает не просто как пассивный маркер повреждения, а как активный катализатор, преобразующий первичную метаболическую уязвимость (гиперметилование промоторов генов метаболизма ксенобиотиков и репарации ДНК) в комплексную, самоподдерживающуюся геномную и эпигенетическую нестабильность.

Известно, что метилирование промоторных областей генов может способствовать подавлению их экспрессии (Panagopoulou et al., 2022; Hattori, Liu,

Ushijima, 2023; Sui et al., 2023). В данном исследовании установлено, что работники угольных теплоэлектростанций подвергаются изменению степени метилирования промоторных областей ключевых генов системы репарации ДНК и метаболизма ксенобиотиков, что может приводить к накоплению цитогенетических нарушений в клетках крови. Таким образом, метилирование промоторных областей генов *XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*, *GSTP1*, *GSTT1*, *CYP1A1* может служить важным биомаркером для оценки генотоксического риска на угольном производстве.

3.3. Анализ аллельных вариантов генов ферментов репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков в исследуемых группах

3.3.1. Полиморфизм изученных генов

В таблице 22 представлены частоты аллелей генов системы репарации ДНК: *XRCC1* *rs25489*, *XRCC2* *rs3218536*, *XRCC3* *rs861539*, *ERCC2* *rs13181*, *ERCC5* *rs17655* и биотрансформации ксенобиотиков: *GSTP1* *rs1138272*, *GSTT1* (*del*), *CYP1A1* *rs4646903* у работников угольных теплоэлектростанций и группы сравнения.

Распределение частот аллелей в обеих исследуемых группах соответствует закону Харди-Вайнберга ($p > 0,05$). При сравнении изучаемых групп установлены отличия в распределении частот аллелей и генотипов гена *XRCC3* *rs861539* ($\chi^2 = 28,502$, $p = 0,00001$ и $\chi^2 = 23,718$, $p = 0,00001$ соответственно). При этом группа работников угольных теплоэлектростанций совпадает с популяцией Российской Федерации по распределению частот генотипов данного гена ($p > 0,05$), однако, группа сравнения существенно отличается ($\chi^2 = 46,602$, $p = 0,00001$). Отличий в распределении аллелей и генотипов остальных изучаемых генов между выборками выявлено не было ($p > 0,05$).

Таблица 22 – Частоты аллелей и генотипов изучаемых генов
в исследуемых группах

Ген		XRCC1 rs25489, n (%)					
Параметры		Работники	p*	Группа сравнения	p*	χ²	p**
Аллель	G	824 (92,58)	0,08	905 (92,26)	0,22	0,067	0,8
	A	66 (7,42)		77 (7,74)			
Генотип	GG	384 (86)		419 (85)		0,168	0,92
	GA	56 (13)		67 (14)			
	AA	5 (1)		5 (1)			
Ген		XRCC2 rs3218536, n (%)					
Параметры		Работники	p*	Группа сравнения	p*	χ²	p**
Аллель	G	846 (95,06)	0,27	914 (93,08)	0,1	2,914	0,08
	A	44 (4,94)		68 (6,92)			
Генотип	GG	401 (90)		423 (86)		3,112	0,08
	GA	44 (10)		68 (14)			
	AA	0		0			
Ген		XRCC3 rs861539, n (%)					
Параметры		Работники	p*	Группа сравнения	p*	χ²	p**
Аллель	C	580 (65,17)	0,29	750 (76,37)	0,37	28,502	0,00001
	T	310 (34,83)		232 (23,63)			
Генотип	CC	194 (44)		290 (59)		23,718	0,00001
	CT	192 (43)		170 (35)			
	TT	59 (13)		31 (6)			
Ген		ERCC2 rs13181, n (%)					
Параметры		Работники	p*	Группа сравнения	p*	χ²	p**
Аллель	T	588 (66,07)	0,13	687 (69,96)	0,25	3,079	0,08
	G	302 (33,93)		295 (30,04)			
Генотип	TT	187 (42)		235 (48)		3,113	0,21
	TG	214 (48)		217 (44)			

	GG	44 (10)		39 (8)			
Ген		ERCC5 rs17655, n (%)					
Параметры		Работники	p*	Группа сравнения	p*	χ2	p**
Аллель	G	688 (77,3)	0,27	771 (78,51)	0,93	0,33	0,57
	C	202 (22,7)		211 (21,49)			
Генотип	GG	270 (61)		303 (62)		0,624	0,73
	GC	148 (33)		165 (33)			
	CC	27 (6)	23 (5)				
Ген		GSTP1 rs1138272, n (%)					
Параметры		Работники	p*	Группа сравнения	p*	χ2	p**
Аллель	C	791 (88,9)	0,09	879 (89,51)	0,08	0,135	0,71
	T	99 (11,1)		103 (10,49)			
Генотип	CC	355 (80)		397 (81)		0,083	0,96
	CT	81 (18)		85 (17)			
	TT	9 (2)	9 (2)				
Ген		GSTT1 (del), n (%)					
Параметры		Работники	p*	Группа сравнения	p*	χ2	p**
Аллель	N	355 (79,78)	-	406 (82,69)	-	1,119	0,29
	D	90 (20,22)		85 (17,31)			
Генотип	NN	355 (80)		406 (83)		1,119	0,29
	DD	90 (20)		85 (17)			
Ген		CYP1A1 rs4646903, n (%)					
Параметры		Работники	p*	Группа сравнения	p*	χ2	p**
Аллель	T	845 (94,94)	0,07	913 (92,97)	0,28	2,834	0,09
	C	45 (5,06)		69 (7,03)			
Генотип	TT	403 (91)		426 (87)		2,95	0,23
	TC	39 (8)		61 (12)			
	CC	3 (1)	4 (1)				

Примечание: p^* – значимость отличий распределения частот генотипов от равновесия Харди-Вайнберга; p^{**} – значимость отличий частоты встречаемости генотипа и аллеля в группах работников и сравнения согласно критерию χ^2 с поправкой Йетса.

В таблице 23 представлены частоты встречаемости аллелей генов *XRCC1 rs25489*, *XRCC2 rs3218536*, *XRCC3 rs861539*, *ERCC2 rs13181*, *ERCC5 rs17655*, *GSTP1 rs1138272*, *GSTT1 (del)*, *CYP1A1 rs4646903* у исследуемых жителей Кузбасса и крупных популяционных групп из международных баз данных.

Таблица 23 – Частоты аллелей изученных генов в исследуемой выборке и различных популяциях мира

Популяция	Частота встречаемости	
Локализация	<i>XRCC1 rs25489</i>	
Аллель	G	A
Жители Кузбасса	0,9241	0,0759
Европеоиды (Финны)	0,92451	0,07549
Европеоиды	0,94964	0,05036
Американцы	0,97047	0,02953
Восточная Азия	0,8897	0,1103
Российская Федерация	0,948019	0,051981
Локализация	<i>XRCC2 rs3218536</i>	
Аллель	G	A
Жители Кузбасса	0,9402	0,0598
Европеоиды (Финны)	0,9666	0,03340
Европеоиды	0,92008	0,07992
Американцы	0,98714	0,01286
Восточная Азия	0,9995991	0,0004009
Российская Федерация	0,946914	0,053086
Локализация	<i>XRCC3 rs861539</i>	
Аллель	C	T
Жители Кузбасса	0,7105	0,2895
Европеоиды (Финны)	0,7037	0,2963

Популяция	Частота встречаемости	
Европеоиды	0,6247	0,3753
Американцы	0,8251	0,1749
Восточная Азия	0,94546	0,05454
Российская Федерация	0,660039	0,339961
Локализация	<i>ERCC2 rs13181</i>	
Аллель	T	G
Жители Кузбасса	0,6811	0,3189
Европеоиды (Финны)	0,5901	0,4099
Европеоиды	0,6205	0,3795
Американцы	0,8007	0,1993
Восточная Азия	0,92448	0,07552
Российская Федерация	0,603289	0,396711
Локализация	<i>ERCC5 rs17655</i>	
Аллель	G	C
Жители Кузбасса	0,7794	0,2206
Европеоиды (Финны)	0,7597	0,2403
Европеоиды	0,7797	0,2203
Американцы	0,6704	0,3296
Восточная Азия	0,5056	0,4944
Российская Федерация	0,769556	0,230444
Локализация	<i>GSTP1 rs1138272</i>	
Аллель	C	T
Жители Кузбасса	0,8932	0,1068
Европеоиды (Финны)	0,91509	0,08491
Европеоиды	0,91854	0,08146
Американцы	0,97534	0,02466
Восточная Азия	0,9998464	0,0001536
Российская Федерация	0,907	0,093
Локализация	<i>GSTT1 del</i>	
Аллель	N	D
Жители Кузбасса	0,813	0,187
Европеоиды (Финны)	0,870	0,130

Популяция	Частота встречаемости	
Европеоиды	0,8154	0,1846
Азия	0,530	0,470
Локализация	<i>CYP1A1 rs4646903</i>	
Аллель	Т	С
Жители Кузбасса	0,93955	0,06045
Европеоиды (Финны)	0,8717	0,1283
Европеоиды	0,8969	0,1031
Американцы	0,595	0,4050
Восточная Азия	0,593	0,4074
Российская Федерация	0,868433	0,131567

Примечание: данные по другим популяциями взяты из общедоступных ресурсов: <http://gnomad.sg.org>, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>, <https://gdbpop.nir.cspfmiba.ru>.

Таким образом, частота встречаемости аллелей всех изучаемых генов у жителей Кузбасса соответствует европеоидной популяции и популяции Российской Федерации ($p > 0,05$).

Совокупность генетических вариантов и факторов окружающей среды является предиктором развития целого ряда заболеваний человека. Репарационные механизмы ДНК определяют результаты после выявления нарушений ДНК и необходимы для поддержания стабильности генома (Wang et al., 2022). Под геномной нестабильностью подразумевают склонность генома к формированию мутаций (López-Gil, Pascual-Ahuir, Proft, 2023). Такие процессы происходят при дисфункции механизмов репарации и репликации или увеличении воздействия канцерогенных факторов на организм (Langie et al., 2015).

Целостность генома измеряется увеличенной встречаемостью мутаций в геноме, например, модификациями в нуклеотидных последовательностях (Ferragut Cardoso et al., 2021). К потере стабильности генома может привести экзогенно-индуцированное повреждение ДНК, вызываемое различными

химическими факторами окружающей среды, радиационными агентами, наночастицами (Langie et al., 2015).

Информация об индивидуальной чувствительности к повреждениям ДНК необходима для развития разработки персонализированной профилактики заболеваний у населения, подвергшегося воздействию окружающей среды. Оценка индивидуальной изменчивости имеет решающее значение в выявлении биомаркеров не только для первичной профилактики заболеваний, в том числе рака, и ранней диагностики, но и для их лечения благодаря индивидуально скорректированной терапии (Nagel, Chaim, Samson, 2014). Полученные данные о генетической изменчивости исследуемых доноров позволяют провести оценку индивидуальной чувствительности работников к факторам производственной среды угольных теплоэлектростанций.

3.3.2. Анализ накопления цитогенетических повреждений в связи с индивидуальными вариантами генов систем репарации ДНК и метаболизма ксенобиотиков

Сравнение цитогенетических повреждений в связи с полиморфными вариантами генов *XRCC1 rs25489*, *XRCC2 rs3218536*, *XRCC3 rs861539*, *ERCC2 rs13181*, *ERCC5 rs17655*, *GSTP1 rs1138272*, *GSTT1 del*, *CYP1A1 rs4646903* в группе сравнения и работников угольных теплоэлектростанций представлены в таблицах 24-25.

Таблица 24 – Показатели микроядерного теста в связи с полиморфными вариантами изучаемых генов работников угольных теплоэлектростанций

Показатели	Медиана $\pm$ SD	Медиана $\pm$ SD	Медиана $\pm$ SD
<i>XRCC1 rs25489</i>			
Генотип	GG (n = 384)	GA (n = 56)	AA (n = 5)
Микроядра	23 $\pm$ 15,9	24 $\pm$ 14,6	12 $\pm$ 15,2
Мосты	14,1 $\pm$ 10,4	15,2 $\pm$ 8,9	13,6 $\pm$ 6,8

Показатели	Медиана ± SD	Медиана ± SD	Медиана ± SD
Протрузии	22 ± 18	21,2 ± 14,9	9 ± 10,7
XRCC2 rs3218536			
Генотип	GG (n = 401)	GA (n = 44)	
Микроядра	23 ± 15,7	18 ± 15,6	
Мосты	14,3 ± 10	12 ± 12,2	
Протрузии	21,7 ± 16,8	23,1 ± 23,9	
XRCC3 rs861539			
Генотип	CC (n = 194)	CT (n = 192)	TT (n = 59)
Микроядра	26 ± 15,8	21 ± 15,9	21 ± 14,8
Мосты	14,8 ± 11,2	14,2 ± 9,6	12,3 ± 8,7
Протрузии	22 ± 16,4	22,3 ± 18,7	20,7 ± 18,1
ERCC2 rs13181			
Генотип	TT (n = 187)	TG (n = 214)	GG (n = 44)
Микроядра	22 ± 15,6	23 ± 15,4	25 ± 18,2
Мосты	14,1 ± 10,8	14 ± 9,5	17,6 ± 10,8
Протрузии	22 ± 19,6	22,6 ± 15,5	20,4 ± 18,3
ERCC5 rs17655			
Генотип	GG (n = 270)	GC (n = 148)	CC (n = 27)
Микроядра	22 ± 16,6	23 ± 15,3	28 ± 15,7
Мосты	14,1 ± 10,3	14,2 ± 10,3	17,1 ± 9,6
Протрузии	19,1 ± 18,6	23,6 ± 17	19,7 ± 18,3
GSTP1 rs1138272			
Генотип	CC (n = 355)	CT (n = 82)	TT (n = 8)
Микроядра	23 ± 15,6	23 ± 16,5	25 ± 16
Мосты	14,4 ± 10	14 ± 10,4	13,2 ± 18,6
Протрузии	22,4 ± 18	20,7 ± 16,6	23 ± 14,2
GSTT1 del			
Генотип	NN (n = 355)	DD (n = 90)	
Микроядра	22 ± 15,9	28 ± 14,7	
Мосты	14,2 ± 10,3	14,3 ± 9,8	
Протрузии	20,9 ± 17,3	25,6 ± 18,3* ¹	
CYP1A1 rs4646903			
Генотип	TT (n = 403)	TC (n = 39)	CC (n = 3)

Показатели	Медиана $\pm$ SD	Медиана $\pm$ SD	Медиана $\pm$ SD
Микроядра	26 $\pm$ 9	22 $\pm$ 18,4	23 $\pm$ 15,5
Мосты	14,8 $\pm$ 3,1	16,4 $\pm$ 11,9	14 $\pm$ 10,1
Протрузии	23,7 $\pm$ 8,5	23,6 $\pm$ 18,3	21,7 $\pm$ 17,6

Примечание: значимое отличие для критерия Краскела-Уоллиса: *¹ p = 0,005.

Таблица 25 – Показатели микроядерного теста в связи с полиморфными вариантами изучаемых генов в группе сравнения

Показатели	Медиана ± SD	Медиана ± SD	Медиана ± SD
XRCC1 rs25489			
Генотип	GG (n = 419)	GA (n = 68)	AA (n = 4)
Микроядра	6 ± 4,3	6 ± 3,7	3 ± 2,8
Мосты	3 ± 3	3 ± 2,5	3,5 ± 3,6
Протрузии	3 ± 3,2	3 ± 3,7	3,5 ± 3,6
XRCC2 rs3218536			
Генотип	GG (n = 423)	GA (n = 68)	
Микроядра	6 ± 4,3	6 ± 3,8	
Мосты	3,6 ± 2,9	3 ± 3,2	
Протрузии	3 ± 3,4	3 ± 2,9	
XRCC3 rs861539			
Генотип	CC (n = 290)	CT (n = 170)	TT (n = 31)
Микроядра	7 ± 4,3* ¹	5 ± 3,9	4 ± 3,1
Мосты	3,8 ± 2,7	2 ± 3,3	4 ± 3* ²
Протрузии	3 ± 3,2	3 ± 3,6	3 ± 2,8
ERCC2 rs13181			
Генотип	TT (n = 235)	TG (n = 217)	GG (n = 39)
Микроядра	6 ± 4,5	6 ± 3,9	5 ± 3,8
Мосты	3,7 ± 2,9	3 ± 3,1	2 ± 2,6
Протрузии	3 ± 3,3	3 ± 3,4	2 ± 2,8
ERCC5 rs17655			
Генотип	GG (n = 303)	GC (n = 165)	CC (n = 23)
Микроядра	6 ± 4,3	6 ± 4	4 ± 3,4
Мосты	3 ± 2,9	4 ± 3	3,7 ± 3,1

Показатели	Медиана ± SD	Медиана ± SD	Медиана ± SD
Протрузии	3 ± 3	3 ± 3,7	3,9 ± 3,5
GSTP1 rs1138272			
Генотип	CC (n = 397)	CT (n = 86)	TT (n = 8)
Микроядра	8,2 ± 3	6 ± 4,3	8,2 ± 3
Мосты	3 ± 1,9	3 ± 2,4	3 ± 1,9
Протрузии	3 ± 2,3	4 ± 3,3	3 ± 2,3
GSTT1 del			
Генотип	NN (n = 406)	DD (n = 85)	
Микроядра	6 ± 4,3	6 ± 3,9	
Мосты	3 ± 3	3,7 ± 2,8	
Протрузии	3 ± 3,2	2 ± 3,6	
CYP1A1 rs4646903			
Генотип	TT (n = 4)	TC (n = 61)	CC (n = 426)
Микроядра	6 ± 4,3	5 ± 3,8	8,5 ± 3,9
Мосты	3 ± 3	3 ± 2,9	3,9 ± 2,2
Протрузии	3 ± 3,3	4 ± 3,3	4,9 ± 2

Примечание: значимое отличие для критерия Краскела-Уоллиса: *¹ p = 0,000001, *² p = 0,017.

В группе работников угольных теплоэлектростанций наблюдается повышенная частота встречаемости протрузий в двуядерных лимфоцитах у носителей делеции гена *GSTT1* (p_{adj} = 0,01). В группе сравнения обнаружена повышенная частота встречаемости микроядер у носителей генотипа *CC* гена *XRCC3 rs861539* (p_{adj} = 0,000001), при этом у обладателей минорного варианта *TT* этого же гена наблюдается повышенная частота встречаемости нуклеоплазменных мостов (p_{adj} = 0,017), не значимая при поправке на множественные сравнения. Однако, существуют работы, в которых не установлено влияния полиморфных вариантов гена *GSTP1* (Silva, Gaspar, Duarte Silva, 2004; Eshkoor et al., 2011; Ada et al., 2013; Tumer et al., 2016), а также делеции *GSTT1* (Van Delft et al., 2001; Silva, Gaspar, Duarte Silva, 2004; Ada et al., 2013; Tumer et al., 2016) на формирование геномных нарушений.

Для углубления анализа был использован метод бинарной логистической регрессии. Данный анализ дает возможность оценить направление и силу связи между конкретным генотипом и цитогенетическим повреждением, а также идентифицировать генетические варианты с протективным эффектом, что невозможно при межгрупповом сравнении. В анализ включены изученные полиморфные варианты, цитогенетические и пролиферативные параметры микроядерного теста, а также различные ковариаты (пол, возраст, стаж работы, наличие хронических заболеваний, статус курения, таблица 26, рисунок 25).

Статистически значимое повышение частоты встречаемости клеток с микроядрами у работников ассоциировано с генотипом GA гена *XRCC2 rs3218536* (ОШ =1,311, 95% ДИ: 1,120-1,532). Повышение частоты встречаемости нуклеоплазменных мостов и протрузий наблюдалось у носителей варианта AA гена *XRCC1 rs25489* (ОШ =1,477, 95% ДИ: 1,238-1,762 и ОШ =2,096, 95% ДИ: 1,792-2,452 соответственно) и варианта CC гена *CYP1A1 rs4646903* (ОШ =1,477, 95 % ДИ: 1,238-1,762 и ОШ =2,000, 95% ДИ: 1,704-2,332 соответственно). Так же, как и предыдущем анализе, но с поправкой на пол, возраст и профессиональный стаж, у работников с делецией гена *GSTT1* наблюдалось повышение клеток с протрузиями (ОШ =1,930, 95 % ДИ: 1,654-2,263).

Таблица 26 – Ассоциация генетических вариантов генов репарации ДНК и метаболизма ксенобиотиков с цитогенетическими повреждениями у работников ТЭС

SNP	Генотип	$b \pm SE$	ОШ	95 % ДИ	p_{adj}	Исход
<i>XRCC1 rs25489</i>	AA	$0,39 \pm 0,09$	1,477	1,238-1,762	0,000004	Повышение частоты клеток с мостами
<i>XRCC1 rs25489</i>	GA	$0,74 \pm 0,08$	2,096	1,792-2,452	0,000001	Повышение частоты клеток с протрузиями
<i>XRCC2 rs3218536</i>	GA	$0,27 \pm 0,08$	1,311	1,120-1,532	0,00258	Повышение частоты клеток с микроядрами
<i>ERCC5 rs17655</i>	GG	$-0,39 \pm 0,11$	0,675	0,546-0,840	0,0012	Понижение частоты клеток с мостами

SNP	Генотип	b ± SE	ОШ	95 % ДИ	p _{adj}	Исход
<i>GSTT1</i> +/-	del	0,66 ± 0,08	1,930	1,654-2,263	0,000001	Повышение частоты клеток с протрузиями
<i>CYP1A1</i> <i>rs4646903</i>	CC	0,39 ± 0,09	1,477	1,238-1,762	0,000003	Повышение частоты клеток с мостами
<i>CYP1A1</i> <i>rs4646903</i>	CC	0,69 ± 0,08	2,000	1,704-2,332	0,000001	Повышение частоты клеток с протрузиями

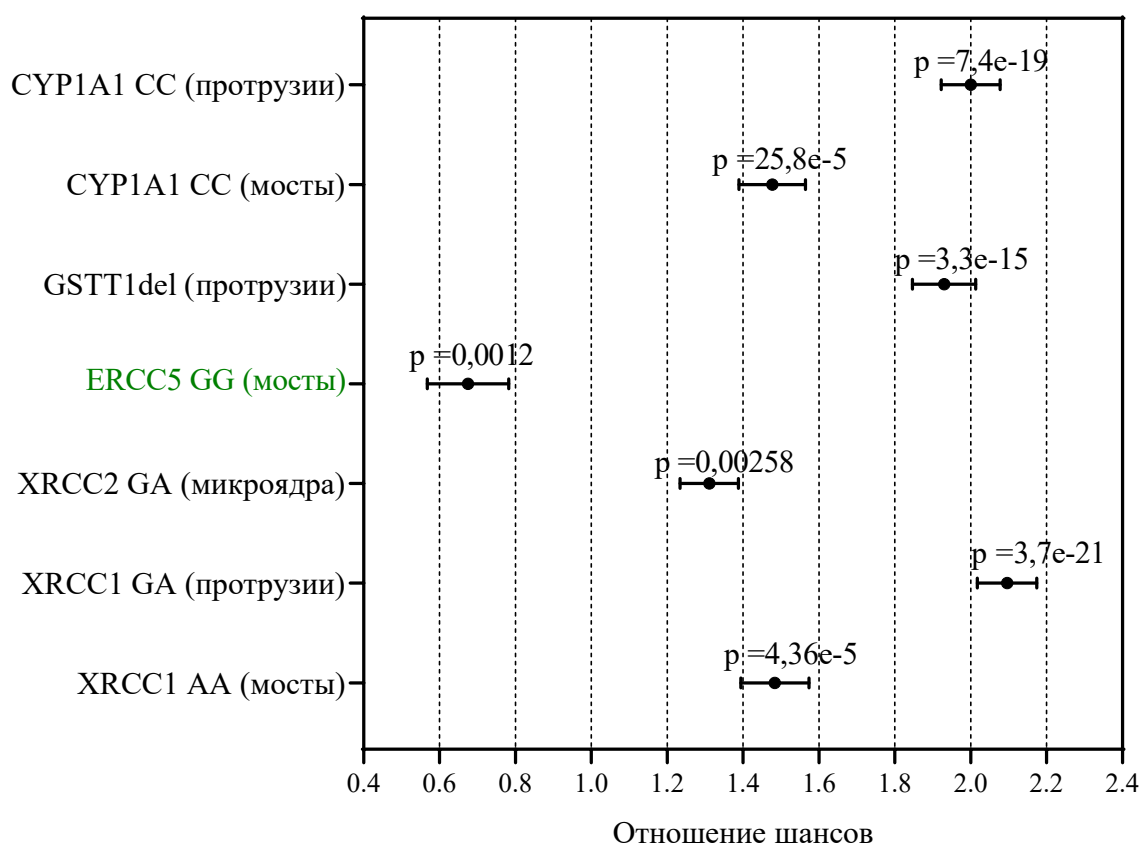


Рисунок 25 – Ассоциация генетических вариантов генов репарации ДНК и метаболизма ксенобиотиков с цитогенетическими повреждениями у работников ТЭС: по оси X – отношение шансов, по оси Y – изученные SNP, в скобках указаны ассоциирующиеся с ними цитогенетические параметры. Центральная точка соответствует отношению шансов, горизонтальные линии показывают 95 % доверительный интервал. Зелёным цветом отмечены замены с протективным эффектом

При этом, в группе рабочих угольных теплоэлектростанций выявлена ассоциация генотипа GG гена *ERCC5 rs17655* с пониженной частотой встречаемости нуклеоплазменных мостов (ОШ = 0,675, 95% ДИ: 0,546-0,840).

Анализ работ, посвящённых поиску ассоциаций между вариантами генов *XRCC1 rs25489*, *XRCC3 rs861539* в группах лиц, подвергавшихся генотоксическому воздействию в производственных условиях, показывает неоднозначные результаты. В работе Milić M. с коллегами (2015) значимых ассоциаций частот микроядер с генетическими вариантами у облученных лиц и контроля обнаружено не было. В исследовании Wang Q. с коллегами (2010) группа рабочих, профессионально подвергшихся воздействию винилхлорида и обладавших минорными вариантами *XRCC1* (*-77CT*, *Arg194Trp*, *Arg280His*, *Arg399Gln*), были зарегистрированы значительно более высокие частоты микроядер, по сравнению с гомозиготами дикого типа. Mateuca R. A. с коллегами (Mateuca et al., 2008) продемонстрированы следующие группы с повышенной частотой микроядер: 1) работники, подвергшиеся профессиональному воздействию, несущие либо генотипы *TT*, либо *CT XRCC3 rs861539* по сравнению с *CC* ($p = 0,001$) и 2) носители генотипа *CC XRCC3 rs861539* по сравнению с носителями *TT XRCC3 rs861539*, если они не подвергаются воздействию.

Таким образом, проведена оценка вклада генетических вариантов в индивидуальную чувствительность организма к воздействию факторов производственной среды. Была обнаружена существенная связь индивидуальной чувствительности с накоплением цитогенетических нарушений в клетках крови работников угольных теплоэлектростанций.

3.3.3. Оценка распределения степени метилирования промоторных областей в связи с индивидуальными вариантами изученных генов

Для анализа ассоциаций полиморфных вариантов изученных генов со статусом метилирования их промоторных областей в выборке работников угольных теплоэлектростанций проведена логистическая регрессия в

доминантных моделях наследования (минорный вариант был объединен с гетерозиготным) с поправкой на ковариаты (пол, возраст, стаж работы) (таблица 27, рисунок 26).

В доминантной модели наследования носительство минорного аллеля А полиморфного варианта *XRCC1 rs25489* ассоциировалось с повышением шансов гиперметилирования промотора *XRCC1* (ОШ = 1,976; 95% ДИ: 1,283-3,038). Аналогично, носительство аллеля С генетического варианта *ERCC5 rs17655* было связано с повышенным риском гиперметилирования промотора *ERCC5* (ОШ = 1,761; 95% ДИ: 1,127-2,775) в группе работников теплоэлектростанций. Для всех остальных изученных генов связей обнаружено не было.

Обнаруженные ассоциации указывают на то, что функциональные полиморфизмы в генах репарации ДНК у рабочих угольных теплоэлектростанций могут влиять на эпигенетический статус их собственных промоторов. Имеются данные о том, что аллель А промотора *MGMT* является ключевым фактором, определяющим метилирование *MGMT* при канцерогенезе легких (Leng et al., 2011). Также, полиморфизмы генов, связанных с метилированием ДНК, например, *MTHFR* и *DNMT*, способны оказывать влияние на его глобальный уровень посредством изменения активности ферментов (Oliveira, Persuhn, dos Santos, 2024). В работе Li R. с соавт. минорные варианты *rs466433*, *rs364048*, *rs364051* ассоциировались с пониженными уровнями метилирования нескольких CpG-сайтов (Li et al., 2023).

Таблица 27 – Ассоциация генетических вариантов изученных генов с гиперметилированием промоторов у работников ТЭС

SNP	Сравнение	b ± SE	ОШ	95 % ДИ	p _{adj}	Исход
<i>XRCC1</i> <i>rs25489</i>	GA+AA vs GG	0,68 ± 0,22	1,976	1,283-3,038	0,0018	Гиперметилирование <i>XRCC1</i>
<i>ERCC5</i> <i>rs17655</i>	GC+CC vs GG	0,57 ± 0,23	1,761	1,127-2,775	0,0256	Гиперметилирование <i>ERCC5</i>

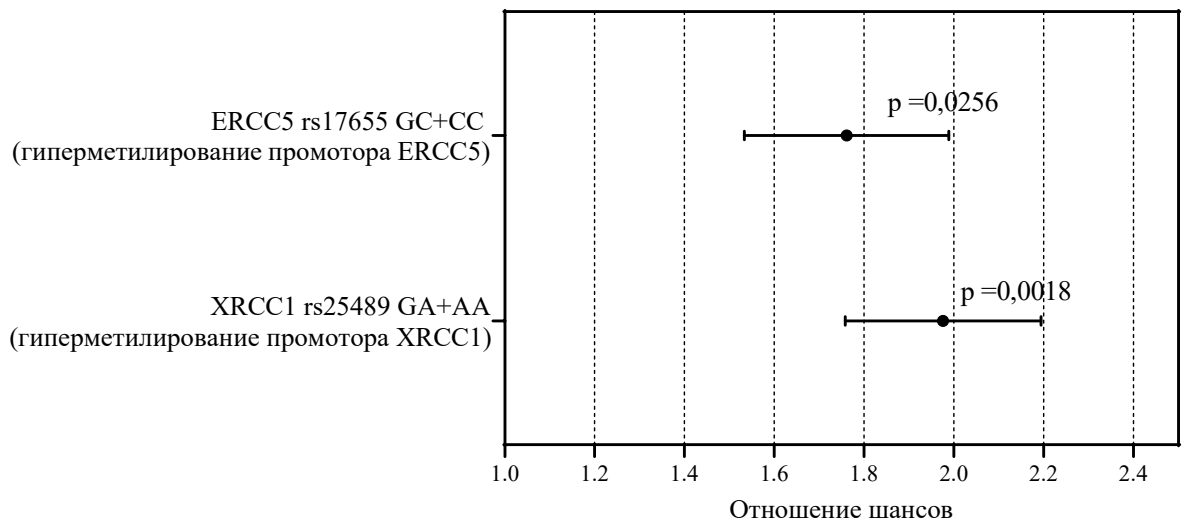


Рисунок 26 – Ассоциация генетических вариантов изученных генов с гиперметилованием промоторов у работников ТЭС: по оси X – отношение шансов, по оси Y – изученные доминантные модели, в скобках указаны ассоциирующийся с ними гиперметилованный статус промотора. Центральная точка соответствует отношению шансов, горизонтальные линии показывают 95 % доверительный интервал

Одним из факторов, определяющих подобные ассоциации, может выступать профессиональное воздействие. Исследование Chen et al. (2024) демонстрирует, что комбинированное воздействие таких поллютантов, как ванадий, ртуть и ПАУ, оказывает сильное влияние на метилирование. В частности, смесь этих трех компонентов была ассоциирована с гипометилированием сайта cg08238319 гена *AHRR*. В настоящем исследовании профессиональная экспозиция также подразумевает комбинированное воздействие сложных смесей химических соединений. Можно предположить, что однонуклеотидные замены генов репарации могут быть чувствительны к клеточному стрессу от факторов промышленной среды.

Наблюдаемые эффекты могут опосредованы генетическими вариантами. В некоторых исследованиях сообщается о локусах, ассоциированных с уровнем метилирования определенных CG-сайтов (methylation Quantitative Trait Loci).

Такие полиморфные варианты могут способствовать метилированию другого гена (Smith et al., 2014; Peng et al., 2024; Zhao et al., 2024). Работы Bell et al. (2011) и Villicaña et al. (2023) на образцах крови демонстрируют, что множество полиморфных вариантов по всему геному являются локусами, ассоциированными с уровнем метилирования расположенных рядом CG-сайтов. В работе Villicaña et al. (2023) установлен генетический контроль 34 % CG-сайтов.

Согласно данным из HaploReg, *XRCC1 rs25489* и *ERCC5 rs17655*, являются миссенс-мутациями, при этом изменяют мотивы для факторов транскрипции и находятся в LD-блоке с другими регуляторными вариантами. Таким образом, минорные аллели *XRCC1 rs25489* и *ERCC5 rs17655* не являются причиной метилирования промоторов собственных генов, а выступают в роли локусов, ассоциированных с уровнем метилирования определенных CG-сайтов.

Одним из механизмов, через который генетические варианты могут влиять на локальное метилирование, это изменение аффинности связывания транскрипционных факторов. Работа Hellman и Chess (2010) показала, что около 10 % полиморфных вариантов, особенно те, что находятся в CG-сайтах, влияют на метилирование близлежащих сайтов. Авторы выдвинули предположение, что данное явление происходит через рекрутирование или блокирование белков, взаимодействующих с ДНК. Так, в исследовании Izzi et al. (2016) установлено, что генетический вариант *rs12041331* гена *PEAR1* создает CG-сайт. В работе было показано, что метилированный G-аллель связывает ядерные белки в 3 раза сильнее, чем неметилированный или A-аллель.

Исследование в гиппокампе (2017) выявило сильное обогащение локус-ассоциированных CG-сайтов в сайтах связывания *CTCF*, белка-инсулятора, связывание которого чувствительно к метилированию ДНК (Schulz et al., 2017, Wang et al., 2019). Работа Villicaña et al. (2023) также подтверждает обогащение локус-ассоциированных CG-сайтов в сайтах связывания *CTCF* и *SMC3*. Анализ последовательностей промоторных областей генов *XRCC1* и *ERCC5* при помощи инструмента MoLoTool (<https://molotool.autosome.org>) показал, что они содержат сайты связывания для *CTCF* и его паралога *CTCF-L* соответственно (таблица 28,

учитывались только уровни значимости $<0,002$). Можно предположить, что в условиях профессионального стресса и при наличии минорного варианта, локальный паттерн метилирования может измениться. Это изменение, в свою очередь, может повлиять на связывание *CTCF/CTCFL*, что, согласно полученным данным о гиперметилировании промоторов у работников ТЭС, блокирует доступ энхансерам к промотору. Это предположение подтверждается в работе Allen et al. (2017): полиморфный вариант *rs34481144* гена *IFITM3* оказывал вклад в связывание *CTCF* и метилирование промотора, изменяя риск тяжелого гриппа. Также, Marjonen et al. (2018) продемонстрировали, что *rs10732516* в сайте связывания *CTCF* в локусе *H19/IGF2* определяет аллель-специфичное метилирование и ассоциирован с весом при рождении.

Таблица 28 – Потенциальные сайты связывания белков семейства *CTCF* в промоторных регионах генов *XRCC1* и *ERCC5*

Ген / параметры мотива	ID	Последовательность	<i>p</i>
<i>XRCC1</i>	CTCF.H14CORE.0.P.B	TAGCCAGCGCAGGGCGCACC	0,0001
	CTCFL.H14CORE.0.P.B	GCCAGCGCAGGGCGCA	0,0001
<i>ERCC5</i>	CTCFL.H14CORE.0.P.B	GCGGGGAGGGGCAGGG	0,002

Однако идентификация таких ассоциаций не позволяет определить, как эти изменения, особенно вызванные внешне средовыми факторами, сохраняются в ряду клеточных поколений. Память о состояниях экспрессии генов, активных или репрессивных, является фундаментальной биологической концепцией, поскольку она контролирует судьбу клеток в развитии, иммунитете и абиотических стрессовых реакциях. Такая память поддерживается посредством деления клеток, представляющего угрозу стабильности эпигенетической памяти, поскольку факторы, кодирующие память, разбавляются между дочерними клетками. Таким образом, долгосрочная эпигенетическая память должна зависеть от петель обратной связи, чтобы поддерживать ее на протяжении поколений клеток (Tomljanović et al., 2025). Wang et al. (2019) описывают роль белка ZFP57,

который связывается только с метилированным мотивом TGCGCG и рекрутирует репрессивный комплекс (*KAP1/SETDB1*), устанавливающий гистоновую метку H3K9me3. Это создает петлю обратной связи, стабилизирующую репрессивный хроматин. Villicaña et al. (2023) показали, что внутри хромосомные ассоциированные с метилированием локусы локализуются в пределах одних и тех же топологически ассоциированных доменов (TADs), что обеспечивает физическую близость регуляторных элементов и генов-мишеней и способствует стабильности регуляции.

Обнаруженные в настоящем исследовании ассоциации генетических вариантов *XRCC1* и *ERCC5* с гиперметилованием их собственных промоторов у работников угольных теплоэлектростанций могут указывать на закрепление эпигенетического статуса изученных генов, способствуя формированию устойчивой эпигенетической памяти о производственном стрессе.

Полученные данные способствуют пониманию, как факторы среды угольных теплоэлектростанций в сочетании с генетическим фоном способны регулировать метилирование ДНК. Подобная информация позволит определить факторы риска развития профессиональных заболеваний в когорте работников угольных теплоэлектростанций.

3.4. Поиск ассоциаций цитогенетических нарушений и изученных эпигенетических характеристик с аллельными вариантами генов, контролирующих системы репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков у работников угольных теплоэлектростанций

Для оценки комбинированного влияния однонуклеотидных полиморфизмов *XRCC1* rs25489, *XRCC2* rs3218536, *XRCC3* rs861539, *ERCC2* rs13181, *ERCC5*, *GSTP1*, *CYP1A1* rs4646903, делеционного варианта *GSTT1*, а также статусов метилирования их промоторных регионов на цитогенетические нарушения (частоту встречаемости клеток с микроядрами, протрузиями,

нуклеоплазменными мостами, клеток в апоптозе и делящихся лимфоцитов) был использован регрессионный анализ с поправкой на ковариаты (возраст, пол, профессиональный стаж, статус курения). Для повышения мощности исследования минорный и гетерозиготный генотипы были объединены в доминантную модель. Анализировались различные комбинации генов систем репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков. В таблице 29 и на рисунке 27 представлены статистически значимые ассоциации с указанием отношения шансов и 95 % доверительного интервала.

Таблица 29 – Результаты порядковой регрессии для оценки влияния комбинаций полиморфных вариантов генов репарации и биотрансформации ксенобиотиков и статусов метилирования их промоторов на показатели микроядерного теста у работников угольных ТЭС

Комбинация	b±SE	ОШ	95 % ДИ	p _{adj}	Исход
1. <i>ERCC2 rs13181</i> TG+GG x <i>XRCC1 rs25489</i> GA+AA x <i>CYP1A1 rs4646903</i> TC+CC x	0,58±0,08	1,783	1,527- 2,089	0,000001	Повышение частоты клеток с микроядрами
<i>XRCC2 rs3218536</i> GA x <i>GSTT1 del</i>	0,72 ± 0,13	2,062	1,531- 2,591	0,000001	Повышение частоты клеток с протрузиями
2. <i>ERCC2 rs13181</i> TG+GG x <i>XRCC1 rs25489</i> GA+AA	0,55±0,11	1,733	1,397- 2,150	0,000001	Повышение частоты клеток с микроядрами
3. <i>XRCC2 rs3218536</i> GG x <i>GSTT1 (+)</i>	-0,68±0,09	0,506	0,425- 0,604	0,000001	Понижение частоты клеток с протрузиями
4. <i>XRCC1 rs25489</i> GA+AA x <i>CYP1A1 rs4646903</i> CC+TC x <i>XRCC2</i> MM x <i>ERCC2</i> MM	0,58±0,12	1,789	1,412- 2,260	0,000001	Повышение частоты клеток с мостами
5. <i>XRCC1 rs25489</i> GA+AA x <i>CYP1A1 rs4646903</i> TC+CC x <i>ERCC2</i> MM	0,57±0,16	1,768	1,292- 2,420	0,003	Повышение частоты клеток с протрузиями

Примечание: ММ – гиперметилированный статус промотора. Полужирным шрифтом выделены протективные ассоциации.

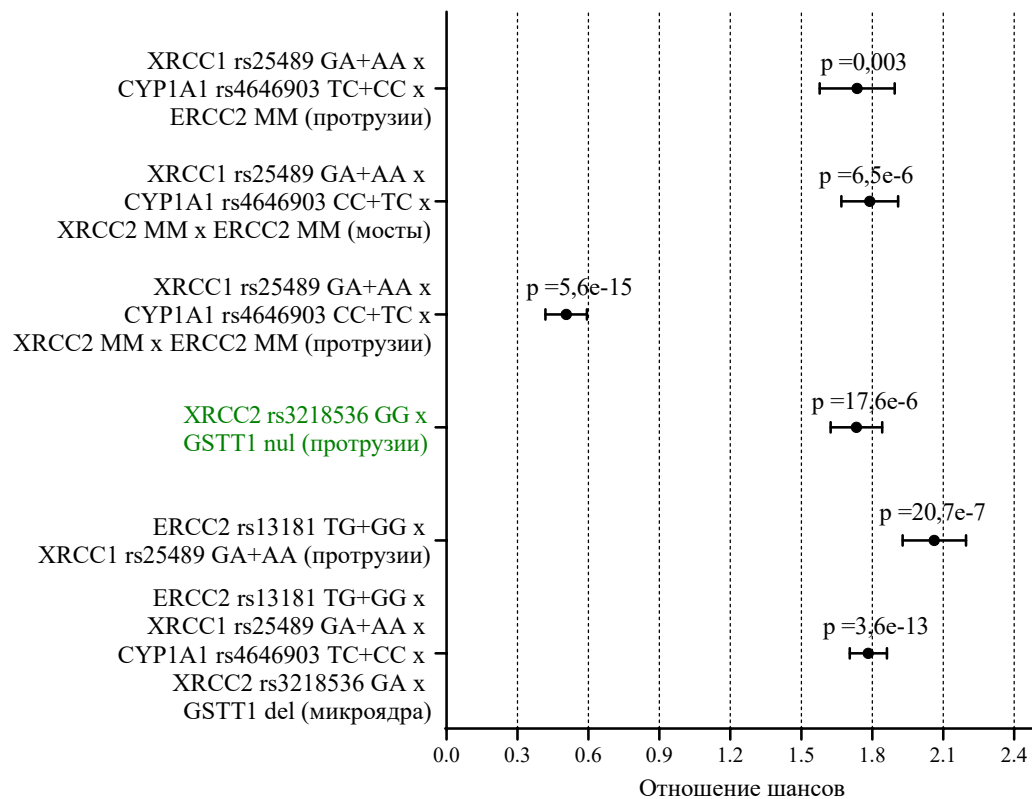


Рисунок 27 – Результаты порядковой регрессии для оценки влияния комбинаций полиморфных вариантов генов репарации и биотрансформации ксенобиотиков и статусов метилирования их промоторов на показатели микроядерного теста у работников угольных ТЭС: по оси X – отношение шансов, по оси Y – изученные комбинации, в скобках указаны ассоциирующиеся с ними цитогенетические параметры. Центральная точка соответствует отношению шансов, горизонтальные линии показывают 95 % доверительный интервал. Зелёным цветом отмечены замены с протективным эффектом

Анализ выявил ряд статистически значимых комбинаций генетических и эпигенетических факторов, ассоциированных с изменением частоты цитогенетических повреждений. Наиболее сильный эффект в отношении повышения уровня клеток с микроядрами и протрузиями наблюдается для комбинации *ERCC2* rs13181 (TG+GG) × *XRCC1* rs25489 (GA+AA) × *CYP1A1*

rs4646903 (TC+CC) × *XRCC2 rs3218536* (GA) × *GSTT1 del* (ОШ =1,783, 95 % ДИ: 1,527-2,089 и ОШ =2,062, 95 % ДИ: 1,531-2,591 соответственно). Такой комбинацией генотипов обладают 5 работников (частота встречаемости микроядер составила 20,9±16,6 ‰, протрузий 23±20,8 ‰). Это наиболее высокие показатели отношения шансов среди всех анализируемых исходов, что может свидетельствовать о специфическом вкладе данной комбинации в процессы формирования геномных повреждений как раннего маркера генотоксичности.

Высокий риск повышения частоты встречаемости клеток с микроядрами также ассоциирован с комбинацией *ERCC2 rs13181* (TG+GG) × *XRCC1 rs25489* (GA+AA) (ОШ =1,733, 95 % ДИ: 1,397-2,150). Подобная комбинация наблюдается у 39 рабочих (частота встречаемости микроядер составила 23±15,9 ‰).

Наблюдается две комбинации, включающие статус метилирования промоторов изученных генов и ассоциированные с повышением частоты встречаемости клеток с цитогенетическими нарушениями. Повышенная частота встречаемости клеток с нуклеоплазменными мостами была ассоциирована с доминантными моделями *XRCC1 rs25489* GA+AA × *CYP1A1 rs4646903* CC+TC, а также гиперметилованным статусом промоторов генов *XRCC2* × *ERCC2* (ОШ =1,789, 95 % ДИ: 1,412-2,260). Такая комбинация наблюдалась у 5 рабочих (частота встречаемости нуклеоплазменных мостов составила 12,8 ± 5 ‰). Доминантные модели *XRCC1 rs25489* GA+AA × *CYP1A1 rs4646903* TC+CC и гиперметилованный статус промотора *ERCC2* были значимо ассоциированы с увеличением частоты встречаемости клеток с протрузиями (ОШ =1,768, 95 % ДИ: 1,292-2,420). Всего 5 работников обладали данной комбинацией (частота встречаемости протрузий составила 26,5±20,2 ‰).

Помимо этого, установлена комбинация, ассоциированная со сниженной частотой встречаемости клеток с протрузиями: *XRCC2 rs3218536* GG × *GSTT1* (+) (ОШ =0,506, 95 % ДИ: 0,425-0,604). Наблюдалось 319 работников с такой комбинацией (частота встречаемости протрузий составила 12±13,8 ‰).

Проведённый порядковый регрессионный анализ позволил количественно оценить вклад комбинации генотипов изученных генов и статусов метилирования

их промоторных регионов в формирование цитогенетических повреждений в лимфоцитах периферической крови рабочих угольных производств. Выявленные ассоциации демонстрируют важность комплексного подхода: изолированное рассмотрение однонуклеотидных замен может быть менее информативным и не дать результата, тогда как комбинации вариантов генов различных путей могут определить выраженный синергизм.

Стоит отметить роль делеции *GSTT1* в формирование цитогенетических повреждений у рабочих угольных ТЭС. Данный вариант демонстрирует увеличение частоты встречаемости цитогенетических повреждений как в комбинации с другими полиморфными вариантами, так и отдельно.

Включение в модель статусов метилирования промоторных областей генов систем репарации ДНК и метаболизма ксенобиотиков значимо усилило предсказательную способность моделей для нуклеоплазменных мостов и протрузий, что говорит о важной роли эпигенетической регуляции в изменение эффектов однонуклеотидных замен на геномную стабильность работников.

Наиболее значимое повышение хромосомных повреждений ассоциировано с полиморфными вариантами *XRCC1 rs25489*, *ERCC2 rs13181*, *CYP1A1 rs4646903* и делеции *GSTT1*, а также гиперметилование промоторных регионов *ERCC2* и *XRCC2*. Выявленная протективная комбинация говорит о закономерном проявлении генетической устойчивости рабочих.

Полученные данные могут быть использованы для выделения групп работников угольных предприятий с повышенным риском хромосомной нестабильности.

Для построения целостной модели клеточной защиты от генотоксического стресса и идентификации ключевых элементов, значимых для предрасположенности к геномным повреждениям проведен системный анализ функциональных взаимодействий между генами, участвующими в метаболизме ксенобиотиков (*GSTT1*, *GSTP1*, *CYP1A1*) и репарации ДНК (*XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*). Для поиска различных комбинаций взаимодействий между включёнными в анализ генами и их белковыми продуктами и проведения

функционального обогащения по разным параметрам использовалась база данных STRING (<https://string-db.org>) и платформа Cytoscape v.3.10.4. Для анализа сигнальных путей использованы базы данных KEGG (<https://www.kegg.jp>), Reactome (<https://reactome.org>), IntAct (<https://www.ebi.ac.uk>)

В результате спроектирована визуальная карта взаимодействий (рисунок 28), характеристика которой представлена в таблице 30.

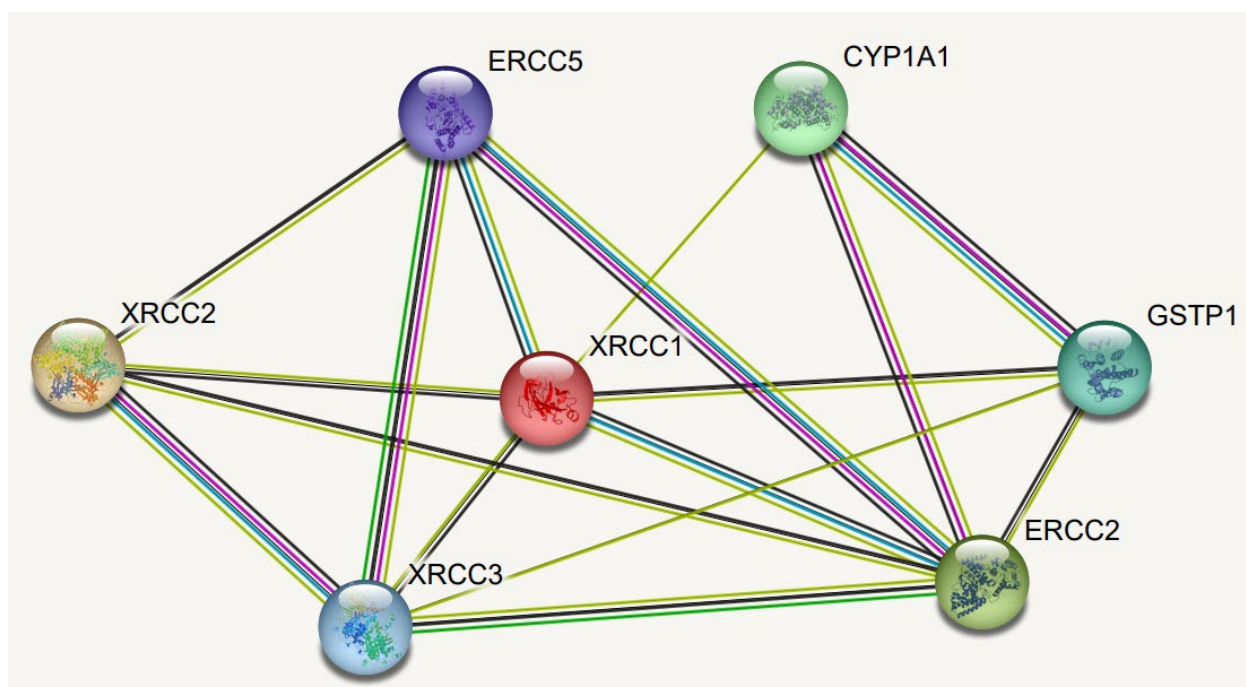


Рисунок 28 – Сеть транскрипционных факторов: Сетевые узлы представляют собой белки с известной или предсказанной трехмерной структурой, продуцируемые конкретным включенным в анализ геном. Линиями отмечены белок-белковые ассоциации, характеристика которых выделена цветом: чёрный (схожий паттерн экспрессии), зелёный (связанные генетические элементы), синий (сочетание), голубой (из баз данных), сиреневый (определены экспериментально), жёлтый (анализ литературы)

Исходя из полученных данных, *XRCC1*, *GSTT1*, *GSTP1* и *CYP1A1* не образуют прямых физических комплексов друг с другом в наборе – они связаны функционально, а не через прямое взаимодействие. Полученная матрица взаимодействий демонстрирует качественно разные типы сетевых связей:

высокоафинные физические комплексы (*XRCC2-XRCC3* (0,999) – являются *RAD51* паралогами – партнерами гомологичной рекомбинации (Suwaki et al., 2011), *ERCC2-ERCC5* (0,782) – включены в TFIIH комплекс – кофактор эксцизионной репарации оснований, участвует в транскрипции) (Zhovmer et al., 2010); функциональная ко-экспрессия (*XRCC1-ERCC2* (0,875), *XRCC1-XRCC2* (0,671), *XRCC3-ERCC5* (0,645); и структурные связи, демонстрирующие филогенетическое сходство (*CYP1A1-GSTP1* (0,489), *GSTP1-GSTT1*).

Таблица 30 – Характеристика взаимодействий в сети

Белки	Оценка взаимодействия	Тип связи
<i>XRCC2-XRCC3</i>	0,999	Физический (комплекс)
<i>ERCC2-ERCC5</i>	0,782	Функциональная (ко-экспрессия)
<i>XRCC1-ERCC2</i>	0,875	Физический (комплекс), функциональная (ко-экспрессия)
<i>XRCC1-XRCC2</i>	0,671	Функциональная (ко-экспрессия)
<i>XRCC3-ERCC5</i>	0,645	Функциональная (ко-экспрессия)
<i>CYP1A1-GSTP1</i>	0,489	Установлена по публикациям
<i>GSTP1-GSTT1</i>	-	Структурный гомолог

Сеть взаимодействий состоит из трех функциональных модулей: репарация гомологичной рекомбинации, эксцизионная репарация нуклеотидов, метаболизм ксенобиотиков. *XRCC1* в этой модели выступает в качестве системного интегратора для межкластерных связей (*XRCC1-ERCC2*, *XRCC1-XRCC2*). Филогенетически далекие *XRCC1* и *XRCC2* оказываются функционально скоординированы на регуляторном уровне (Gupta et al., 2023). Это указывает, что

в сети показана интеграция существующих специализированных модулей в единую регулируемую систему.

Из дальнейшего анализа был исключен ген *GSTT1* в связи с невозможностью поиска ассоциаций по изученному делеционному варианту.

Архитектура сети включенных в исследование генов была представлена тремя блоками, представленными в таблице 31.

Таблица 31 – Архитектура включенных в анализ генов

Уровни	Гены	Сигнальный путь	p _{adj}	Описание
Метаболизм ксенобиотиков	<i>CYP1A1</i> , <i>GSTP1</i>	Метаболизм ксенобиотиков при помощи цитохрома P450 (hsa00980): Фаза 1 – окисление, фаза 2 – конъюгация	0,029	Детоксикация попадающих соединений
Распознавание и удаление	<i>ERCC2</i> , <i>ERCC5</i>	Нуклеотидная эксцизионная репарация (hsa03420): Глобальная геномная нуклеотидная эксцизионная репарация (HSA-5696399) Гомологичная рекомбинация (HSA-5781827)	0,028	Удаление нуклеотидных аддуктов
Восстановление ДНК	<i>XRCC1</i> , <i>XRCC2</i> , <i>XRCC3</i> , <i>ERCC5</i>	Гомологичная рекомбинация (hsa03440): АП-эндонуклеаза-независимый путь эксцизионной репарации оснований (HSA-5693538)	0,028	Восстановление двойных разрывов цепей

Проведенный функциональный анализ выявил, что все исследованные гены составляют скоординированную систему, связанную с процессами детоксикации и репарации ДНК. Высокая доля перекрытия в важных сигнальных путях из баз данных KEGG и Reactome (hsa00980, hsa03420, hsa03440)

подтверждает высокую точность построенной сети взаимодействий ($p_{adj} < 0,029$). В рамках данной архитектуры были определены причинно-следственные связи и функциональные роли. Фермент 1 фазы CYP1A1 продуцирует электрофильные промежуточные метаболиты, часть которых образует ДНК-аддукты. Эти повреждения являются основной мишенью для нуклеотидной эксцизионной репарации, где ключевые эффекторные ферменты *ERCC2* и *ERCC5* выполняют раскручивание ДНК и вырезание повреждённого фрагмента соответственно (Schärer, 2013). Параллельно, реактивные формы кислорода, генерируемые в ходе метаболизма ксенобиотиков, вызывают окислительные повреждения оснований и одноцепочечные разрывы. Их устранение осуществляется путём репарации выщеплением основания, в котором белок *XRCC1* выступает координатором работы ферментов синтеза и лигирования (Vidal et al., 2001). Нерепарированные аддукты и повреждения, блокирующие репликацию, приводят к коллапсу репликационной вилки и образованию двуцепочечных разрывов. Для точного восстановления таких разрывов активируется путь гомологичной рекомбинации, ядро которого составляют комплекс *XRCC2-XRCC3* и паралоги *RAD51* (по данным базы IntAct) (Rawal et al., 2023).

Таким образом, анализ подтверждает, что построенная сеть представляет собой целостную двойную систему защиты: первый уровень (*CYP1A1/GSTP1*) минимизирует химическую нагрузку, второй уровень – мультимодульная система репарации (*XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*) – устраняет спектр повреждений ДНК, предотвращая фиксацию мутаций.

Проведённый анализ выявил значимую функциональную ассоциацию между исследуемыми генами. Это подтверждается топологическими свойствами самой белковой сети (таблица 32), демонстрирующими её высокую внутреннюю организованность и закономерность.

При помощи структурного анализа определены характеристики, указывающие на её функциональную целостность ($p = 0,00000022$). Из 21 теоретически возможного взаимодействия между 7 узлами в сети установлено 16 значимых функциональных ассоциаций (76 % от максимума, функциональная

оценка выше 0,4). Это говорит о том, что практически каждый белок в наборе прямо или косвенно связан с большинством других. Средняя степень узла показывает, что каждый белок в среднем взаимодействует более чем с четырьмя партнёрами (4,57). Это свидетельствует о плотной функциональной интеграции, где каждый элемент встроен в общую систему и взаимодействует между собой, что подтверждается коэффициентом кластеризации (85,2 %).

Таблица 32 – Функциональное обогащение сети

Метрика	Значение
Число узлов	7 белков
Количество взаимодействий	16
Среднее степени узла	4.57
Коэффициент кластеризации	0.852
Ожидаемые взаимодействия	1 (случайно)
p	0,00000022

Таким образом, топологические метрики демонстрируют формирование тесно связанных функциональных модулей или комплексов в построенной сети взаимодействий, исключая набор независимых парных взаимодействий. Плотность и кластеризация полученной структуры отражают совместное участие белков сети в единых клеточных функциях, что подтверждается анализом обогащения набора из представленных генов *XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*, *GSTT1*, *GSTP1*, *CYP1A1*. Изучение обогащения выявило их статистически значимую концентрацию в нескольких ключевых биологических процессах (рисунок 29, таблица 33).

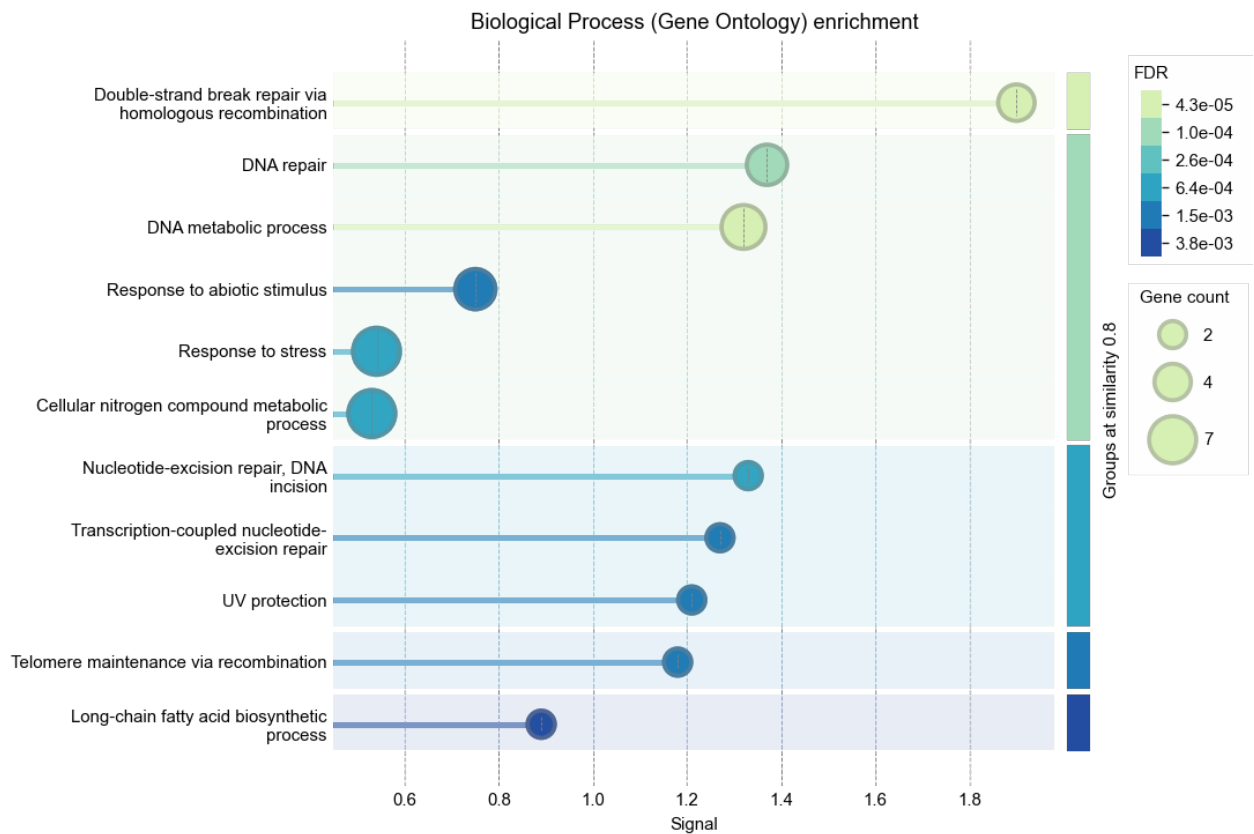


Рисунок 29 – Функциональное обогащение сети взаимодействий изученных генов: биологические процессы

Таблица 33 – Значимые биологические процессы построенной сети взаимодействий

Процесс	Гены в наборе	p_{adj}
Репарация двойных разрывов посредством гомологичной рекомбинации (GO:0000724)	4/7 (<i>XRCC1</i> , <i>XRCC2</i> , <i>XRCC3</i> , <i>ERCC5</i>)	0,00044
Метаболизм (GO:0006259)	6/7 (все, исключая <i>GSTP1</i>)	0,00044
Репарация ДНК (GO:0006281)	5/7 (<i>XRCC1</i> , <i>XRCC2</i> , <i>ERCC2</i> , <i>XRCC3</i> , <i>ERCC5</i>)	0,00083
Ответ на стресс (GO:0006950)	7/7 (BCE)	0,0083

Процесс	Гены в наборе	<i>p_{adj}</i>
Инцизия в эксцизионной репарации нуклеотидов (GO:0033683)	2/7 (<i>ERCC2</i> , <i>ERCC5</i>)	0,0085

Полученные данные функционального обогащения по биологическим процессам демонстрируют функциональную связанность набора включенных в сеть взаимодействий генов, ядром которого представлена система репарации ДНК, нацеленная на различные типы повреждений. Присутствие генов путей репарации двойных разрывов через гомологичную рекомбинацию (*XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*) и эксцизионной репарации нуклеотидов (*ERCC2*, *ERCC5*) в одном значимом наборе указывает на их координированную роль в поддержании целостности генома.

Гены *GSTP1* и *CYP1A1* не входят в классические пути репарации ДНК, однако, их присутствие в метаболизме и ответе на стресс подтверждает их роль протективную роль на начальных этапах – детоксикации (*GSTP1*) и активации проканцерогенов до их реактивных форм (*CYP1A1*). Совместный анализ с генами репарации может отражать функциональный баланс между метаболизмом ксенобиотиков и устранением вызванных ими структурных повреждений.

Анализ функционального обогащения генов *XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*, *GSTT1*, *GSTP1*, *CYP1A1* показал вовлечённость всех представленных в сети генов в систему общей адаптации, что говорит о совместной работе в глобальной защите клетки против повреждающих факторов.

Полиморфные варианты перечисленных генов могут влиять на индивидуальный риск развития рака (глиома (Qi et al., 2017), рак шейки матки, рак поджелудочной железы (Chen et al., 2019; Datkhile, et al., 2022), рак щитовидной железы (Yan et al., 2016), рак желчного пузыря, колоректальный рак, рак гортани, шейки матки (Zeng et al., 2015; Anjali, et al., 2022; Zuo et al., 2022), рак предстательной железы (Santric et al., 2020), колоректальный рак, рак шеи,

легких (Ding et al., 2019), рак мочевыводящих путей (Stojanovic et al., 2018), рак головного мозга (Cadoni et al., 2012).

Нарушение в одном пути репарации может увеличивать нагрузку на другой (Dogliotti, et al., 2020) поэтому анализ всего гаплотипа или пути часто информативнее, чем изучение отдельных генов (Liu et al., 2008).

Таким образом, представленный функциональный набор генов потенциально может считаться кандидатом для исследований генетической предрасположенности. Комплексное изучение генов из общих сетей взаимодействия перспективно для понимания механизмов геномной нестабильности, приводящей к спектру различных заболеваний, в том числе онкологических (Goode et al., 2002; Pilié et al., 2019).

Таким образом, функциональное обогащение по онтологии биологических процессов выявило общую систему, в которую встроены исследуемые белки. Для определения конкретных молекулярных механизмов их совместного действия был проведён анализ обогащения по базам данных метаболических и сигнальных путей. Результаты подтвердили, что представленная топологически плотная сеть соответствует нескольким ключевым и тесно связанным биохимическим путям поддержания геномной стабильности (рисунок 30, таблица 34).

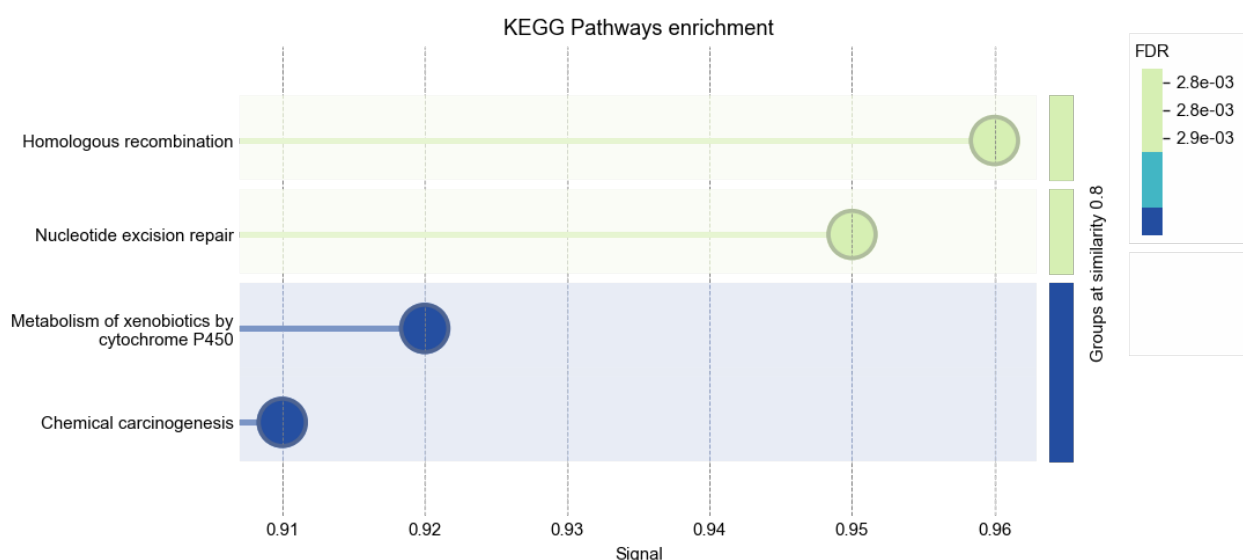


Рисунок 30 – Функциональное обогащение: пути из базы данных KEGG

Таблица 34 – Функциональное обогащение: пути из базы данных KEGG

Путь	Гены	<i>p_{adj}</i>
Экцизионная репарации нуклеотидов (hsa03420)	<i>ERCC2, ERCC5</i>	0,0282
Гомологичная рекомбинация (hsa03440)	<i>XRCC1, XRCC2, XRCC3</i>	0,0282
Метаболизм ксенобиотиков при помощи цитохрома P450 (hsa00980)	<i>CYP1A1, GSTP1</i>	0,0298
Химический канцерогенез (hsa05204)	<i>CYP1A1, GSTP1</i>	0,0298

При помощи анализа определено статистически значимое обогащение, представленное четырьмя путями, которые разделяются на две функциональные группы: 1) эксцизионная репарация нуклеотидов (*ERCC2, ERCC5*) и гомологичная рекомбинация (*XRCC1, XRCC2, XRCC3*); 2) пути метаболизма ксенобиотиков (*CYP1A1, GSTP1*) и химического канцерогенеза (*CYP1A1, GSTP1*).

Таким образом, полученные результаты анализа путей из базы данных KEGG детализируют и подтверждают выводы, основанные на анализе онтологии биологических процессов. Совместное обогащение путями репарации и химического канцерогенеза отражает цикл: метаболизм ксенобиотиков, потенциально ведущий к повреждению ДНК (hsa00980); попытка клетки устранить это повреждение через эксцизионную репарацию нуклеотидов (hsa03420) и гомологичную рекомбинацию (hsa03440); 3) сбой в этом цикле, ведущий к фиксации мутаций и инициации онкогенеза (путь hsa05204).

Полученные данные на уровне конкретных путей демонстрируют принцип функционального модуля. Продукты исследуемых генов формируют скоординированный модуль, включающий метаболическую обработку канцерогена и исправление вызванных им нарушений в ДНК. Высокая плотность

взаимодействий в сети, описанная ранее, является структурной основой для этой функциональной кооперации.

Анализ путей из базы данных KEGG продемонстрировал конкретные молекулярные механизмы, подтверждая, что построенная сеть представляет собой целостный функциональный модуль, включенный в основные процессы клеточной защиты от генотоксического стресса и канцерогенеза.

Обнаруженная ассоциация предполагает, что регуляторная координация между экспрессией генов метаболизма (*CYP1A1*, *GSTP1*) и репарации (*XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*) может быть важным адаптивным механизмом. Перспективным направлением стало бы изучение общих транскрипционных факторов (например, обусловленных стресс-ответом), координирующих работу всего модуля.

Осуществлено структурное и функциональное описание скоординированного регуляторного механизма, объединяющего метаболизм ксенобиотиков и репарацию ДНК. В предыдущих анализах был определен общий ландшафт вовлечённых процессов, однако, для понимания конкретных молекулярных механизмов кооперации внутри репарационного модуля необходим более детализированный подход. Анализ обогащения с использованием базы данных Reactome, которая предоставляет иерархически организованную и детализированную информацию о биохимических реакциях, позволяет определить внутреннюю архитектуру пути репарации ДНК в построенной сети взаимодействий изученных генов *XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*, *GSTP1*, *CYP1A1* (рисунок 31, таблица 35).

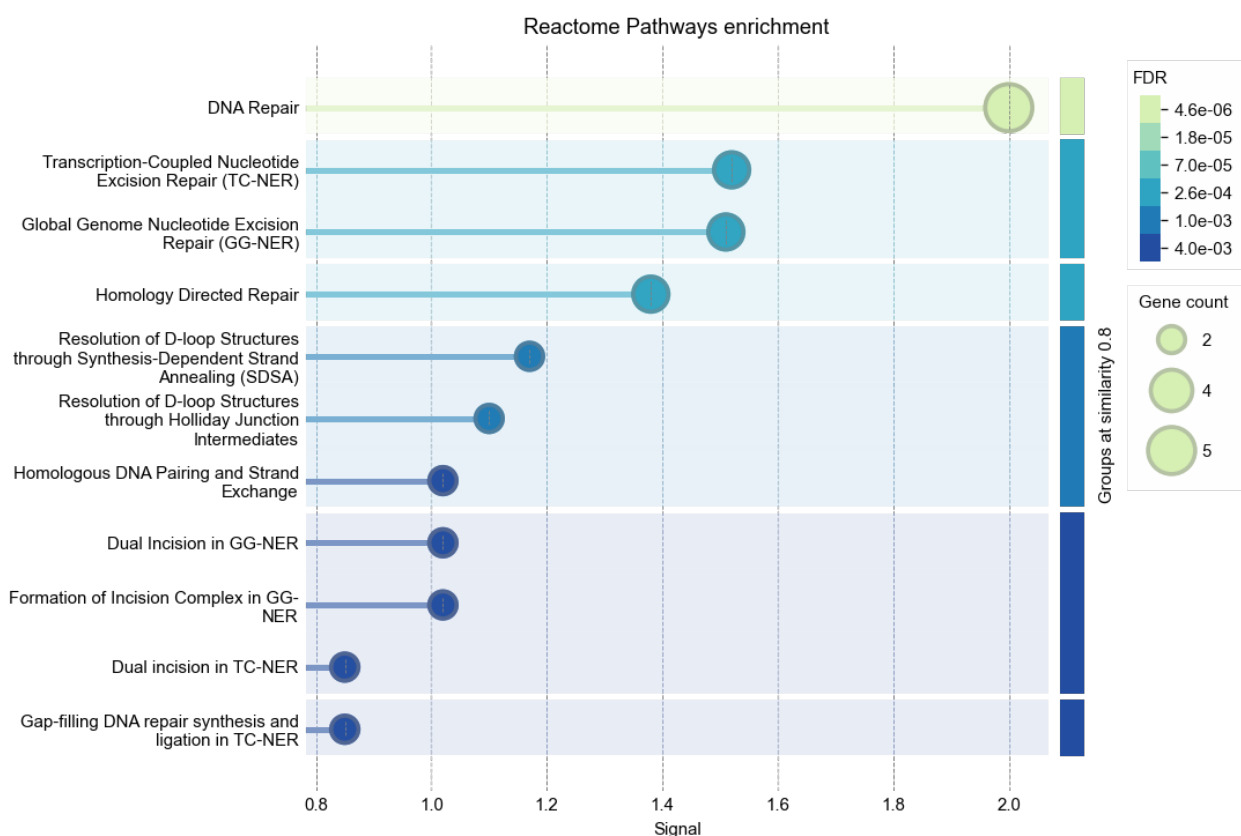


Рисунок 31 – Функциональное обогащение сети: пути из базы данных Reactome

Таблица 35 – Функциональное обогащение сети: пути из базы данных Reactome

Путь	Гены	<i>p</i> _{adj}
Репарация ДНК (HSA-73894)	<i>XRCC1</i> , <i>XRCC2</i> , <i>XRCC3</i> , <i>ERCC2</i> , <i>ERCC5</i>	0,000047
Общегеномная эксцизионная репарация нуклеотидов (HSA-5696399)	<i>XRCC1</i> , <i>ERCC2</i> , <i>ERCC5</i>	0,0026
Эксцизионная репарация нуклеотидов, сопряженная с транскрипцией (HSA-6781827)	<i>XRCC1</i> , <i>ERCC2</i> , <i>ERCC5</i>	0,0026
Гомологичная репарация (HSA-5693538)	<i>XRCC1</i> , <i>XRCC2</i> , <i>XRCC3</i>	0,0036
Синтез-зависимый отжиг цепей (HSA-5693554)	<i>XRCC2</i> , <i>XRCC3</i>	0,0133

Путь	Гены	<i>p_{adj}</i>
Промежуточные продукты рекомбинации и репарации ДНК (структура Холлидея, HSA-5693568)	<i>XRCC2</i> , <i>XRCC3</i>	0,0172

Анализ путей по базе данных Reactome подтвердил и детализировал до конкретных путей ключевую роль сети взаимодействий в репарации ДНК. Наиболее высокой значимостью ($p = 0,000047$) обладает общий путь репарации ДНК (HSA-73894), включающий 5 белков изученных генов из 7 (*XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*). Были определены специализированные пути с высокой значимостью: глобальная и сопряженная с транскрипцией эксцизионная репарация нуклеотидов (HSA-5696399, HSA-6781827, $p = 0,0026$ соответственно), а также гомологичная рекомбинация (HSA-5693538, $p = 0,0036$). Наименьшей значимостью ($p = 0,0133$ и $p = 0,0172$ соответственно) и вовлеченностью включенных в анализ генов (*XRCC2*, *XRCC3*) обладают синтез-зависимое отжигание цепей и разрешение промежуточных структур Холлидея (HSA-5693554 и HSA-5693568 соответственно).

Результаты анализа демонстрируют плотно интегрированный функциональный кластер, который специализируется на нескольких типах репарации: эксцизионная репарация нуклеотидов и репарация двунитевых разрывов. Значимость таких путей, как синтез-зависимое отжигание цепей и разрешение промежуточных структур Холлидея, указывает на вовлечённость изученных генов в критических этапах репарации, что указывает на высокую биологическую значимость изученной сети взаимодействий.

В анализе не представлены гены метаболизма ксенобиотиков. Это можно объяснить тем, что в базе данных Reactome детализирует второй большой кластер, репарации ДНК, в отличие от анализа путей в KEGG, где описано возникновение повреждений и связь с канцерогенезом. Детализация до последних двух уровней имеет прямое отношение к онкологии (Barber et al., 2008; Ivens et al., 2022).

Обнаруженная структура предполагает возможную физическую или функциональную взаимосвязь между комплексами эксцизионной репарации нуклеотидов и гомологичной репарации, имеющих общие элементы (*XRCC1*). Перспективным направлением для дальнейшего анализа *in vitro* стал бы анализ белковых комплексов. Помимо этого, не менее важно изучение регуляции специфических путей данной модели под действием метаболитов, формирующихся при участии включенных в построенную сеть *CYP1A1* и *GSTP1*.

Проведенный анализ подтверждает, что построенная сеть образует детализированную модель для выполнения основных этапов репарации ДНК, что является структурной основой для её объединенного изучения с системами метаболической адаптации к ксенобиотикам.

Для подтверждения структурированной организации модели проведён алгоритмический кластерный анализ (к-средних), позволивший определить и детализировать функциональные кластера в построенной сети взаимодействий (рисунок 32). Анализ к-средних определил три функциональных кластера в построенной сети взаимодействий (таблица 36).

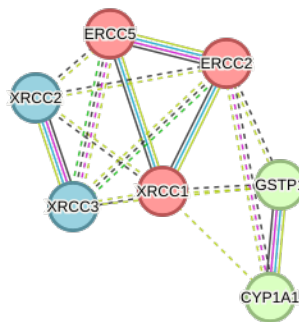


Рисунок 32 – Функциональные модули сети, определенные при помощи анализа к-средних

Исходя из полученных данных, первый кластер включает основные продукты генов (*XRCC1*, *ERCC2*, *ERCC5*) для распознавания, инцизии и восстановления разрывов в ходе репарации. Были определены две связи, одна из которых значима (*ERCC2-ERCC5*, 0,898). Второй кластер состоит из паралогов

Rad51 (*XRCC2*, *XRCC3*), участвующих как партнеры в гомологичной репарации (высокая значимая связь, 0,984). Третий кластер объединяет ферменты 1 и 2 фаз биотрансформации ксенобиотиков (*CYP1A1* и *GSTP1* соответственно). Невысокая значимость связи (0,489) может отражать последовательное биохимическое действие на одном метаболическом пути. Возможно, дальнейшее расширение сети с включением генов метаболизма позволит сформировать более полную модель взаимодействий. Наличие в сети кластера детоксикации демонстрирует концепцию многоуровневой системы защиты генома, что подтверждается высокой плотностью (1,0) всех модулей. В перспективе возможно изучение совместной экспрессии генов внутри кластера (например, *GSTP1* и *CYP1A1*), что может стать информативным биомаркером метаболической активности.

Таблица 36 – Функциональные модули сети, определенные при помощи анализа k-средних

Модуль	Гены	Оценка	Плотность	Путь
Экцизионная репарация нуклеотидов	<i>XRCC1</i> , <i>ERCC2</i> , <i>ERCC5</i>	0,898 (<i>ERCC2</i> - <i>ERCC5</i>)	1,0	ДНК аддукт → <i>ERCC2/ERCC5</i> → <i>XRCC1</i> → Восстановленная ДНК
Гомологичная рекомбинация	<i>XRCC2</i> , <i>XRCC3</i>	0,984	1,0	Двойной разрыв ДНК → <i>XRCC2/XRCC3</i> → Поиск гомологии и инвазия цепи → Рекомбинантная молекула ДНК
Детоксикация	<i>CYP1A1</i> , <i>GSTP1</i>	0,489	1,0	Ксенобиотик → <i>CYP1A1</i> → электрофильный метаболит → <i>GSTP1</i> → глутатион-конъюгат → Выведение из организма

Стоит отметить роль *XRCC1* и *ERCC2* в построенной сети взаимодействий, которые выступают как связующие узлы между кластерами репарации. Потенциальная роль может заключаться в регуляции системы репарации в целом.

Таким образом, кластерный анализ продемонстрировал организацию представленной сети в виде трех функциональных модулей, что лежит в основе эффективной многоуровневой защиты клетки от генотоксического стресса и предоставляет объекты для дальнейшего исследования.

Проведённое исследование представляет собой комплексный системно-биологический анализ функционально связанной сети генов, участвующих в защите клетки от генотоксического стресса. На основе включения данных из нескольких баз данных (STRING, KEGG, Reactome, IntAct) была построена и всесторонне охарактеризована белковая сеть взаимодействий, включающая ключевые гены репарации ДНК и метаболизма ксенобиотиков.

Установлена высокая структурная и функциональная целостность сети – топологические показатели (плотность, кластеризация, статистическая значимость) подтвердили неслучайный характер взаимодействий и формирование единого функционального модуля. Выявлена четкая модульная организация – алгоритмический анализ выделил три специализированных, но взаимосвязанных кластера. Определен механизм системной интеграции – белок XRCC1 идентифицирован как ключевой связующий элемент между модулями репарации, обеспечивающий функциональную координацию всей сети. Подтверждена биологическая значимость – многоуровневый анализ обогащения (GO, KEGG, Reactome) продемонстрировал вовлечённость сети в критически важные клеточные процессы: от детоксикации ксенобиотиков до точного восстановления различных повреждений ДНК, что объясняет её роль в поддержании геномной стабильности.

С точки зрения медицинской генетики на основании данной модели возможна разработка панелей генетических маркеров для оценки индивидуального риска геномных повреждений, ассоциированных с воздействием окружающей среды, в том числе работой на угольных предприятиях, а также определение профессиональных рисков у лиц, контактирующих с химическими канцерогенами, генетической предрасположенности к последствиям воздействия ксенобиотиков.

Таким образом, проведенный анализ выявил, что построенная сеть взаимодействий представляет собой многофункциональный модуль, ключевой для многоуровневой защиты генома. Однако эффективность этой системы зависит не только от наличия взаимодействия между её компонентами, но и от структурной и функциональной целостности белковых продуктов. Генетические полиморфизмы в изученных генах могут существенно ослабить отдельные узлы сети, что в конечном итоге приведет к снижению общей пропускной способности системы.

Для оценки потенциального влияния исследованных однонуклеотидных вариантов на эпигенетическую регуляцию был проведён анализ нуклеотидных последовательностей генов в области локализации каждого SNP. Используя референсную сборку генома человека GRCh38 из базы данных Ensembl (<https://www.ensembl.org/index.html>), определялось, приводит ли замена к созданию или утрате CpG-динуклеотида – сайта потенциального метилирования ДНК (таблица 37).

Таблица 37 – Влияние изученных однонуклеотидных замен на структуру CpG-динуклеотидов в последовательности генов

Ген, SNP	Локализация	Замена	Цепь	Последовательность	Исход
<i>XRCC1</i> <i>rs25489</i>	chr19:43552260	G > A	Смысловая цепь Антисмысловая цепь Смысловая цепь (замена) Антисмысловая цепь (замена)	GTACGAGTT CATGCTCAA GTATGAGTT CATACTCAA	Потеря CG-сайта
<i>XRCC2</i> <i>rs3218536</i>	chr7:152648922	G > A	Смысловая цепь Антисмысловая цепь Смысловая цепь (замена)	GGCGAT CCGCTA GGTGAT CCACTA	Потеря CG-сайта

Ген, SNP	Локализация	Замена	Цепь	Последовательность	Исход
			Антисмысловая цепь (замена)		
<i>XRCC3</i> <i>rs861539</i>	chr14:103699416	C > T	Смысловая цепь Антисмысловая цепь Смысловая цепь (замена) Антисмысловая цепь (замена)	GCGTGGC CGCACCG GTGTGGC CACACCG	Потеря CG- сайта
<i>ERCC2</i> <i>rs13181</i>	chr19:45351661	T > G	Смысловая цепь Антисмысловая цепь Смысловая цепь (замена) Антисмысловая цепь (замена)	CTTCAGC GAAGTCG CGTCAGC GCAGTCG	Образование CG-сайта
<i>ERCC5</i> <i>rs17655</i>	chr13:102875652	G > C	Смысловая цепь Антисмысловая цепь Смысловая цепь (замена) Антисмысловая цепь (замена)	AAGA TTCT AACA TTGT	-
<i>GSTP1</i> <i>rs1138272</i>	chr11:67586108	C > T	Смысловая цепь Антисмысловая цепь Смысловая цепь (замена) Антисмысловая цепь (замена)	TCCGCC AGGCGG TCTGCC AGACGG	Потеря CG- сайта
<i>GSTT1</i> (del)	chr22:270308- 278486	TG > -	-	-	-
<i>CYP11A1</i>	chr15:74719300	T > C	Смысловая цепь	CCCAGG	Образование

Ген, SNP	Локализация	Замена	Цепь	Последовательность	Исход
<i>rs4646903</i>			Антисмысловая цепь Смысловая цепь (замена) Антисмысловая цепь (замена)	GGGTCC GGGCCC CCCGGG	CG-сайта

Исходя из анализа последовательностей, у большинства изученных полиморфных вариантов (*XRCC1 rs25489*, *XRCC2 rs3218536*, *XRCC3 rs861539*, *ERCC5 rs17655*, *GSTP1 rs1138272*) референсный аллель содержит CpG-динуклеотид, а минорный аллель приводит к его потере. Исключение составляют *ERCC2 rs13181* и *CYP1A1 rs4646903*, где, наоборот, минорный аллель формирует новый CG-сайт.

В предоставленных характеристиках из HaploReg и RegulomeDB указано, что локусы многих SNP маркированы гистонами, характерными для энхансеров (например, H3K4me1, H3K27ac), находятся в районах гиперчувствительности к ДНКазе I и меняют мотивы связывания факторов транскрипции. Это признаки регуляторных последовательностей, несмотря на их расположение в экзонах генов.

Таким образом, изменение CG-сайта в таких функциональных участках может влиять на экспрессию гена несколькими способами: 1) через нарушение связывания тканеспецифичных транскрипционных факторов, которые узнают последовательности, содержащие CpG; 2) через изменение паттернов метилирования ДНК в теле гена или энхансере, что влияет на эффективность транскрипции; 3) модуляцию структуры хроматина (например, через рекрутирование белков, читающих CpG-метки).

Для оценки ассоциаций изученных полиморфных вариантов с количеством мРНК соответствующих генов в цельной крови (как ключевом материале данного

исследования) использовался калькулятор базы данных GTEx (<https://gtexportal.org/home/>) (таблица 38).

Таблица 38 – Влияние полиморфных вариантов изученных генов на их экспрессию

SNP	NES	T-критерий	<i>p</i>
<i>XRCC1 rs25489</i>	-0,079	-7,0	0,05
<i>XRCC2 rs3218536</i>	-0,055	-1,0	0,31
<i>XRCC3 rs861539</i>	-0,16	-1,9	0,000001
<i>ERCC2 rs13181</i>	-0,061	-3,3	0,001
<i>ERCC5 rs17655</i>	0,120	6,1	0,000001
<i>GSTP1 rs1138272</i>	-0,087	-3,4	0,0008
<i>CYP1A1 rs4646903</i>	0,035	0,58	0,56

Согласно полученным данным, ряд вариантов оказывает статистически значимое влияние на уровень экспрессии. Так, альтернативный аллель *ERCC5 rs17655* достоверно повышает уровень экспрессии гена. *XRCC3 rs861539*, *ERCC2 rs13181*, *GSTP1 rs1138272* ассоциированы со снижением экспрессии соответствующих генов. Это указывает на то, что регуляторный эффект некоторых генетических вариантов (*ERCC2*, *ERCC5*, *GSTP1*, *XRCC3*) может реализовываться через изменение количества доступного для взаимодействий белкового продукта, при этом, предполагается, что для других (*XRCC1*)

первичным механизмом является изменение функциональной активности уже синтезированного белка из-за структурных нарушений.

Для трех из четырех значимых полиморфных вариантов (*XRCC3*, *ERCC5*, *GSTP1*) наблюдается потеря CG-сайта, при этом для *ERCC2* – образование. Направление эффекта (снижение или повышение экспрессии) может зависеть от того, в каком регуляторном контексте находится данный CG-динуклеотид (активаторном или репрессорном).

Все однонуклеотидные замены с рангом 1f (за исключением *CYP1A1* и *XRCC1*) показали значимые изменения экспрессии. *XRCC2* с рангом 7 ожидаемо не влияет на экспрессию, что указывает на преимущественно структурный эффект данного варианта.

Таким образом, собранные данные показывают, что варианты *XRCC3 rs861539*, *ERCC2 rs13181*, *ERCC5 rs17655*, *GSTP1 rs1138272* обладают регуляторной функцией в клетках крови, реализуемой через расположение в экзонах, которые могут выполнять роль энхансеров или содержать сайты связывания факторов. Изменение CG-сайта может быть одним из молекулярных событий, связывающих однонуклеотидную замену с изменением экспрессии гена. Комбинаторный анализ изученных вариантов с учетом их влияния на экспрессию и структуру белка необходим для корректной оценки индивидуальных особенностей систем репарации и детоксикации.

Анализ нуклеотидных последовательностей показал, что для большинства изученных полиморфных вариантов (за исключением *ERCC2 rs13181* и *CYP1A1 rs4646903*) минорный аллель приводит к потере CpG-динуклеотида. Это означает, что такие варианты не только изменяют аминокислотную последовательность, но и модифицируют локальный эпигенетический ландшафт, влияя на потенциальные сайты метилирования. Лocusы этих SNP расположены в регионах, обогащённых гистоновыми метками энхансеров, и изменяют мотивы связывания транскрипционных факторов, что указывает на их регуляторный потенциал. Действительно, анализ экспрессии в базе GTEx выявил значимое влияние вариантов *XRCC3 rs861539*, *ERCC2 rs13181*, *ERCC5 rs17655* и *GSTP1 rs1138272*

на уровень мРНК соответствующих генов в цельной крови, причём направление эффекта соответствует изменению CpG-сайта в области нуклеотидной замены.

Выявленные в регрессионном анализе комбинации генотипов и статусов метилирования промоторов, ассоциированные с повышенной частотой цитогенетических повреждений, могут быть объяснены в рамках построенной модели. Наиболее сильный эффект (повышение микроядер и протрузий) наблюдается для комбинации, включающей минорные аллели *ERCC2 rs13181*, *XRCC1 rs25489*, *CYP1A1 rs4646903*, *XRCC2 rs3218536* и делецию *GSTT1*. Данная комбинация затрагивает все три функциональных модуля: метаболизм ксенобиотиков, эксцизионная репарация нуклеотидов, гомологичная рекомбинация и координация репарации. Вариант *CYP1A1 rs4646903* создаёт CG-сайт, что в сочетании с полной потерей ферментативной активности *GSTT1* (делеция) нарушает детоксикацию полициклических ароматических углеводородов и других компонентов среды угольных ТЭС. Это может приводить к накоплению реактивных метаболитов и ДНК-аддуктов. Минорный аллель *ERCC2 rs13181* создаёт CG-сайт и ассоциирован со снижением экспрессии гена (по данным GTEx), что ослабляет эффективность удаления объёмных ДНК-аддуктов. Гиперметилирование промотора *ERCC2*, включённое в некоторые комбинации, дополнительно может подавлять его экспрессию. Вариант *XRCC1 rs25489* утрачивает CG-сайт, находится в LD с регуляторными элементами и может влиять на связывание транскрипционных факторов, в том числе *CTCF*, сайт которого присутствует в промоторной области гена. Изменение связывания *CTCF* под влиянием метилирования промотора способно нарушить инсуляторные функции и трёхмерную организацию хроматина, что отражается на координации репарационных процессов. Минорный аллель *XRCC2 rs3218536* не влияет на экспрессию (ранг 7 по RegulomeDB), однако, теряет CG-сайт, что в сочетании с гиперметилированием промотора *XRCC2* может снижать доступность белка *XRCC2* для образования комплекса с *XRCC3*, участвующего в гомологичной рекомбинации.

Можно предположить, что синергизм таких нарушений приводит к тому, что клетка не справляется с генотоксической нагрузкой. Повышенное формирование повреждений не компенсируется репарацией, вследствие чего наблюдается повышенная частота встречаемости микроядер, протрузий и нуклеоплазменных мостов в клетках крови работников.

Установленная протективная комбинация *XRCC2 rs3218536 GG* × *GSTT1* (+) ассоциирована со снижением частоты протрузий. Гомозиготный генотип *GG XRCC2* соответствует референсному аллелю, содержащему CG-сайт, и, предположительно, способствует нормальной функцией белка гомологичной рекомбинации. Общую генотоксическую нагрузку снижает сочетание с ферментативной активностью *GSTT1*, участвующем в детоксикации соединений, в том числе характерных для угольных ТЭС.

Включение в модель статуса метилирования промоторов *ERCC2* и *XRCC2* значительно улучшило предсказательную способность для нуклеоплазменных мостов и протрузий. Гиперметилирование промоторов, предположительно, закрепляет репрессивное состояние хроматина через петли обратной связи с участием белков типа *ZFP57* и формирование топологически ассоциированных доменов (TADs), что создаёт устойчивую «эпигенетическую память» о воздействии.

Таким образом, построенная функциональная сеть и данные о молекулярных последствиях генетических вариантов (изменение CG-сайтов, влияние на экспрессию, наличие *CTCF*-мотивов) объясняют наблюдаемые комбинаторные ассоциации с цитогенетическими повреждениями. Нарушения в разных модулях системы защиты генома синергически усиливают генотоксический эффект профессиональной экспозиции, при этом определённые сочетания генотипов могут обеспечивать относительную устойчивость. В исследовании установлено, что функциональные последствия генетических вариантов проявляются через сеть взаимодействий, и их вклад в индивидуальную чувствительность значимо модулируется другими компонентами системы защиты генома. Полученные результаты обосновывают использование комбинаторного

подхода для оценки индивидуального риска хромосомной нестабильности у работников угольных ТЭС.

3.5. Выявление ассоциаций совокупности генетических и средовых факторов с цитогенетическими и эпигенетическими характеристиками работников угольных теплоэлектростанций

Для анализа связи множества изученных факторов (пол, стаж работы, статус курения, возраст, рабочий цех, полиморфные варианты *CYP1A1 rs4646903*, *GSTP1 rs 1138272*, *GSTT1(del)*, *XRCC1 rs25489*, *XRCC2 rs3218536*, *XRCC3 rs861539*, *ERCC2 rs13181*, *ERCC5 rs17655*, а также статус метилирования промоторных областей перечисленных генов с частотами микроядер, нуклеоплазменных мостов и протрузий построена общая линейная модель (GLM). Согласно полученным данным (таблица 39), с увеличением частоты встречаемости цитогенетических нарушений у работников угольных теплоэлектростанций наиболее значимо связаны стаж работы (микроядра, $p_{adj} = 0,015$; мосты, $p_{adj} = 0,000001$, протрузии, $p_{adj} = 0,000001$) и гиперметилирование промотора *ERCC2* (микроядра, $p_{adj} = 0,000001$; мосты, $p_{adj} = 0,000001$; протрузии, $p_{adj} = 0,000001$). Помимо этого, рабочий цех также является значимым фактором, ассоциирующимся с повышением частоты микроядер в двуядерных лимфоцитах ($p_{adj} = 0,008$).

Таблица 39 – Результаты общей линейной модели

Факторы	$b \pm SE$	ОШ	95 % ДИ	p_{adj}	Исход
Стаж работы	$0,21 \pm 0,09$	1,240	1,034-1,472	0,015	Повышение частоты клеток с микроядрами
	$0,43 \pm 0,19$	1,531	1,059-2,231	0,000001	Повышение частоты клеток с мостами
	$0,60 \pm 0,23$	1,830	1,161-2,860	0,000001	Повышение частоты клеток с протрузиями
<i>ERCC2</i> ММ	$1,00 \pm 0,14$	2,726	2,066-3,576	0,000001	Повышение частоты клеток с микроядрами
	$0,80 \pm 0,53$	2,234	0,788-6,290	0,000001	Повышение частоты клеток с мостами
	$1,51 \pm 0,26$	4,540	2,719-7,538	0,000001	Повышение частоты клеток с протрузиями
ТТЦ	$1,23 \pm 0,42$	3,438	1,502-7,793	0,008	Повышение частоты клеток с микроядрами

Таким образом, установлены факторы риска, оказывающие влияние на формирование цитогенетических повреждений в лимфоцитах работников угольных теплоэлектростанций: работа в цехе тепловой автоматики и измерений, топливно-транспортном, ремонтном, химических цехах, гиперметилование промоторной области гена *ERCC2*, а также стаж работы.

Кумулятивное действие мутагенных факторов, присутствующих на угольных теплоэлектростанциях в разной специфике и интенсивности воздействия, а также стойкое изменение метилирования ДНК в генах репарации способствует накоплению цитогенетических повреждений у работников.

Для определения наиболее значимых факторов, связанных с изменением частоты гиперметилования промоторных областей генов *XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*, *GSTP1*, *GSTT1*, *CYP1A1*, проведён регрессионный порядковый анализ. Изучались следующие детерминанты: пол, возраст, статус курения, стаж работы, профессиональный цех, полиморфные варианты *XRCC1 rs25489*, *XRCC2 rs13181*, *XRCC3 rs861539*, *ERCC2 rs13181*, *ERCC5 rs17655*, *GSTP1 rs1138272*, *CYP1A1 rs4646903*.

Согласно полученным данным (таблица 40), с изменением частоты гиперметилования промотора *XRCC2* ассоциируются полиморфный вариант *GA XRCC2 rs3218536* ($p_{adj}=0,000001$) и работа в химическом цехе ($p_{adj}=0,000001$). Обнаружена связь изменения частоты гиперметилования промотора *ERCC2* со стажем работы ($p_{adj}=0,0001$) и работой в цехе тепловой автоматики и измерений ($p_{adj}=0,0002$). Статус курения показал значимую связь с гиперметилованием промотора *GSTT1* ($p_{adj}=0,02$). С изменением частоты гиперметилования промотора *GSTP1* ассоциируется женский пол ($p_{adj}=0,02$), работа в химическом и топливно-транспортном цехах ($p_{adj}=0,000001$ и $p_{adj}=0,04$ соответственно), возраст ($p_{adj}=0,01$). Во всех остальных случаях значимых связей обнаружено не было.

Наибольший вклад в изменение паттернов метилирования промоторных областей генов системы репарации ДНК в условиях угольных теплоэлектростанций вносят профессиональные цеха (тепловой автоматики и

измерений, топливно-транспортный, химический), стаж работы и генетические варианты работника. В определении профиля метилирования промоторов генов системы метаболизма ксенобиотиков участвуют курение, пол, возраст, а также производственный цех (химический, топливно-транспортный).

Таблица 40 – Результаты порядкового регрессионного анализа
для изученных генов

Факторы	$b \pm SE$	ОШ	95 % ДИ	p_{adj}
<i>ERCC2</i>				
Стаж работы	$1,14 \pm 0,28$	3,127	1,806-5,413	0,0001
Цех тепловой автоматики и измерений	$0,63 \pm 0,16$	1,878	1,372-2,569	0,0002
<i>XRCC2</i>				
<i>GA XRCC2 rs3218536</i>	$0,60 \pm 0,09$	1,822	1,527-2,174	0,000001
Химический цех	$0,87 \pm 0,19$	2,387	1,645-3,464	0,000001
<i>GSTT1</i>				
Статус курения	$0,61 \pm 0,22$	1,840	1,196-2,833	0,02
<i>GSTP1</i>				
Пол (женский)	$0,48 \pm 0,17$	1,616	1,158-2,255	0,02
Химический цех	$0,69 \pm 0,13$	1,994	1,545-2,572	0,000001
Возраст	$0,03 \pm 0,01$	1,030	1,010-1,051	0,01
Топливо-транспортный цех	$0,97 \pm 0,36$	2,639	1,303-5,343	0,04

Для проверки гипотезы об опосредованном влиянии полиморфных вариантов генов-кандидатов на показатели геномной нестабильности через эпигенетические изменения применялся медиационный анализ по процедуре Baron и Kenny (1986) с верификацией косвенных эффектов методом непараметрического бутстрэпа.

В качестве независимых переменных (X) использовались бинарно закодированные генотипы (доминантная модель: 0 – гомозиготы по основному аллелю; 1 – носители минорного аллеля), в качестве медиаторов (M) – статус метилирования промоторных регионов генов-кандидатов (0/1), в качестве

зависимых переменных (Y) – показатели микроядерного теста (частота микроядер, нуклеоплазменных мостов, протрузий). В качестве ковариант в модель включались возраст, пол, статус курения и стаж работы.

Анализ проводился в три этапа: 1) оценка пути «а»: регрессия медиатора (M) на экспозицию (X) с поправкой на ковариаты; 2) анализ путей «b» и «с»: регрессия исхода (Y) на экспозицию (X) и медиатор (M) одновременно; 3) определение полного эффекта «с»: регрессия исхода (Y) на экспозицию (X) без медиатора.

Косвенный (медиированный) эффект вычислялся как произведение коэффициентов путей $a \times b$. Статистическая значимость косвенного эффекта оценивалась методом непараметрического бутстрепа ($n = 5000$ итераций выборки с возвращением): эффект признавался статистически значимым при условии, что 95% бутстреп-доверительный интервал не включал ноль. Доля медиированного эффекта рассчитывалась как отношение косвенного эффекта к полному ($a \times b / c \times 100 \%$). Все регрессионные модели строились методом наименьших квадратов. Анализ выполнен в программной среде Python 3.x с использованием библиотек statsmodels и numpy, в группе работников угольных ТЭС.

С целью проверки гипотезы о генотип-зависимом опосредовании геномной нестабильности через эпигенетические механизмы был проведён медиационный анализ в восьми моделях «генотип – метилирование – параметры микроядерного теста» (таблица 41).

Единственным медиатором, продемонстрировавшим значимое влияние на все три показателя микроядерного теста, являлось гиперметилирование промотора *ERCC2*: $\beta = 0,921$ для микроядер ($p < 0,001$), $\beta = 0,890$ для нуклеоплазменных мостов ($p < 0,001$) и $\beta = 1,593$ для протрузий ($p < 0,001$). Метилирование промоторов *XRCC1*, *XRCC2*, *ERCC5* и *GSTP1* значимой связи с параметрами микроядерного теста не обнаружено ($p > 0,05$).

Статистически значимые ассоциации генотипа с уровнем метилирования были выявлены в двух моделях: носительство аллеля G гена *ERCC2 rs13181* было ассоциировано со снижением вероятности гиперметилирования промотора гена

XRCC2 ($\beta = -0,091$; $p = 0,04$), носительство минорного аллеля *CYP1A1 rs4646903* – с повышением вероятности гиперметилирования промотора *GSTP1* ($\beta = 0,217$; $p = 0,003$). В остальных моделях путь «а» был статистически незначим ($p > 0,05$).

Таблица 41 – Результаты медиационного анализа

Модель	Путь а (β ; p)	Путь b (β ; p)	Полный эффект (β)	Прямой эффект (β ; p)	Косвенный эффект а*б	95 % ДИ
<i>XRCC1</i> – <i>ERCC2</i> мет – МЯ	-0,098; 0,103	0,925; <0,001	-0,019	0,072; 0,715	-0,091	-0,207- 0,024
<i>XRCC1</i> – <i>XRCC2</i> мет – МЯ	-0,067; 0,276	0,156; 0,325	-0,019	-0,009; 0,965	-0,010	-0,061- 0,015
<i>ERCC2</i> – <i>XRCC2</i> мет – Мосты	-0,091; 0,038	-0,178; 0,097	-0,029	-0,045; 0,649	0,016	-0,003- 0,048
<i>CYP1A1</i> – <i>GSTP1</i> мет – МЯ	0,217; 0,003	0,108; 0,499	-0,042	-0,066; 0,791	0,023	-0,049- 0,114
<i>CYP1A1</i> – <i>ERCC2</i> мет – МЯ	0,032; 0,665	0,921; <0,001	-0,042	-0,071; 0,762	0,029	-0,109- 0,173

Примечание: Путь а: генотип – метилирование; Путь b – метилирование – микроядерный тест.

Ни в одной из восьми протестированных моделей не было статистически значимого опосредованного влияния генотипа на геномную нестабильность через метилирование промоторов изученных генов. Отсутствие медиации обусловлено неодновременностью значимости путей «а» и «b»: в моделях, где путь «b» (*ERCC2*-мет – микроядерный тест) был значим, путь «а» (генотип – *ERCC2* мет) оказался не значимым.

Многофакторная регрессионная модель подтвердила полученные результаты: единственными значимыми независимыми предикторами геномной нестабильности явились стаж работы ($\beta = 0,031$; $p < 0,001$) и гиперметилирование промотора *ERCC2* ($\beta = 0,910$; $p < 0,001$); вклад генотипов оставался незначимым при включении метилирования в модель ($p > 0,05$ для всех полиморфных локусов). Объяснённая дисперсия модели составила $R^2 = 0,167$ ($F = 7,879$; $p < 0,001$).

Полученные данные согласуются с современными представлениями об экспозом-зависимом перепрограммировании эпигенома при профессиональной экспозиции к компонентам угольной пыли. Систематический обзор 116 исследований показал, что гиперметилическое промоторов генов репарации ДНК является наиболее частым эпигенетическим изменением у профессионально экспонированных работников (Jiménez-Garza et al., 2023). Zhang et al. (2019) продемонстрировали изменение экспрессии *DNMT1*, *DNMT3a* и *DNMT3b* в экспериментальных моделях пневмокониоза угольщиков. de Souza et al. (2020) обнаружили изменения глобального метилирования у шахтёров, ассоциированные с носительством минорного аллеля *CYP1A1*. Молекулярные механизмы данного феномена могут включать несколько путей: 1) ПАУ и их метаболиты способны повышать экспрессию генов *DNMT1*, *DNMT3a* и *DNMT3b*, что приводит к гиперметилированию промоторов генов-супрессоров опухолей и потере их экспрессии (Wang et al., 2023; Das, Ravi, 2022); 2) тяжёлые металлы, в частности мышьяк, может истощать пул S-аденозилметионина, универсального донора метильных групп, что ограничивает активность ДНК-метилтрансфераз (Kurita et al., 2025); 3) критическими мишенями кадмия являются тиоловые группы (-SH) остатков цистеина в белках, что приводит к инактивации этих ферментов и вызывает функциональные нарушения в клетке (Rafati Rahimzadeh et al., 2017). Таким образом, у работников угольных ТЭС гиперметилическое промоторов генов-кандидатов является преимущественно средовым феноменом, не опосредованным изученными генотипами.

Длительное воздействие мутагенов с разной дозой и типом воздействия, а также компоненты табачного дыма могут изменять экспрессию генов и работу ферментов, участвующих в метилировании ДНК, что может способствовать постепенному смещению эпигенетического профиля работника в благоприятную для развития заболеваний сторону.

Выявленные корреляции между стажем работы, спецификой производственного участка, эпигенетическим статусом генов и уровнем цитогенетических повреждений позволяют ранжировать профессиональные риски

и лежат в основе предложенной модели биомониторинга для работников угольной энергетики.

Результаты проведённой комплексной оценки свидетельствуют о том, что геномная нестабильность у работников носит многофакторный характер и формируется в результате синергичного действия химических, радиационных компонентов производственной среды и индивидуальных особенностей организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование выполнено в соответствии с дизайном «случай-контроль» и включало четыре последовательных этапа, что позволило провести комплексную оценку воздействия производственной среды угольных теплоэлектростанций на геномную стабильность работников на цитогенетическом, эпигенетическом и генетическом уровнях.

На первом этапе с использованием микроядерного теста с блоком цитокинеза в лимфоцитах периферической крови обследованных индивидов (445 работников ТЭС и 491 человек группы сравнения) был проведен анализ цитогенетических и пролиферативных параметров. Установлено, что у работников ТЭС наблюдается статистически значимое ($p < 0,000001$) повышение частоты встречаемости двуядерных лимфоцитов с микроядрами, нуклеоплазменными мостами и протрузиями, а также увеличение частоты клеток в апоптозе и снижение пролиферативной активности по сравнению с группой сравнения, что соответствует результатам исследований, выполненных в других популяциях мира (Leng et al., 2004; Donbak et al., 2005; Ada et al., 2013; Pavanello et al., 2013; Синицкий, 2017; Espitia-Pérez et al., 2018; Vimercati et al., 2020; Xi et al., 2023). Впервые на репрезентативной выборке верифицировано, что наиболее высокие уровни цитогенетических нарушений регистрируются у работников топливно-транспортного, химического цехов и цеха тепловой автоматики и измерений. Выявлена прямая корреляционная связь между стажем работы и частотой микроядер и мостов ($p < 0,001$), при этом влияние пола, статуса курения и наличия хронических заболеваний на изученные показатели не достигло статистической значимости. Методом ROC-анализа определены пороговые значения цитогенетических показателей (микроядра $\geq 13\%$, мосты $\geq 7\%$, протрузии $\geq 8\%$, апоптоз $\geq 1,1\%$, делящиеся лимфоциты $\leq 1,8\%$), позволяющие дифференцировать группы с повышенной генотоксической нагрузкой.

На втором этапе методом метил-специфической ПЦР после бисульфитной конверсии ДНК впервые охарактеризован статус метилирования промоторных

областей генов репарации (*XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*) и биотрансформации ксенобиотиков (*GSTP1*, *GSTT1*, *CYP1A1*) у рабочих угольных теплоэлектростанций и не связанных с производством жителей Кузбасса. Обнаружено, что у работников ТЭС достоверно чаще встречается гиперметилованный статус промоторов всех изученных генов в отличие от группы сравнения ($p < 0,000001$). Анализ иных популяционных групп продемонстрировал аналогичные данные касательно других генов-кандидатов (Wang et al., 2015; Zhang et al., 2015). Стоит отметить впервые установленную связь гиперметилирования промоторов *ERCC2* и *XRCC2* с повышением частоты встречаемости микроядер, нуклеоплазменных мостов и протрузий (отношение шансов 1,5-2,7) у работников угольных теплоэлектростанций, что позволяет предположить возможность подавления экспрессии ключевых генов ферментов репарации ДНК (Chan et al., 2005; Sabatino et al., 2010; Wang et al., 2010; Rieke et al., 2016; Fan et al., 2021), приводящее к накоплению ядерных повреждений (Roos et al., 2009) в условиях профессиональной экспозиции. Показано, что с увеличением стажа работы более 20 лет возрастает частота гиперметилирования промоторов *ERCC2*, *XRCC1* и *XRCC3* ($p < 0,02$). Продолжительное воздействие факторов среды угольных предприятий способствует изменению профиля метилирования работников, что может вносить вклад в развитие различных заболеваний (Leenen, Muller, Turner, 2016; Leesang et al., 2024). Однако, в проведенном исследовании значимых ассоциаций статуса метилирования изученных промоторных областей с наличием хронических заболеваний выявлено не было. Наибольшая распространенность ($p < 0,02$) гиперметилирования зафиксирована у работников топливно-транспортного, химического, ремонтного цехов и цеха тепловой автоматики и измерений.

На третьем этапе с помощью методов аллель-специфической ПЦР и ПЦР в реальном времени проведено генотипирование восьми полиморфных локусов генов репарации (*XRCC1* rs25489, *XRCC2* rs3218536, *XRCC3* rs861539, *ERCC2* rs13181, *ERCC5* rs17655) и детоксикации (*GSTP1* rs1138272, *GSTT1* del, *CYP1A1* rs4646903). Сравнительный анализ не выявил различий в распределении частот

аллелей между группой работников ТЭС и контролем для большинства локусов. В группе работников ТЭС впервые установлены ассоциации минорных вариантов генов *XRCC1* (AA *rs25489*), *XRCC2* (GA *rs3218536*), *CYP1A1* (CC *rs4646903*) и делеции *GSTT1* с повышенным уровнем цитогенетических повреждений ($p < 0,003$, ОШ = 1,3-2,1), а также выявлен протективный эффект генотипа *ERCC5* GG *rs17655* в отношении частоты нуклеоплазменных мостов ($p < 0,001$, ОШ = 0,6). Важным результатом стало обнаружение ассоциации между носительством минорных аллелей *XRCC1 rs25489* и *ERCC5 rs17655* и гиперметилованием промоторов соответствующих генов ($p < 0,03$, ОШ = 1,7-1,9), что свидетельствует о генетически детерминированной эпигенетической нестабильности в условиях производственной экспозиции.

На четвёртом этапе с использованием многофакторных статистических моделей (порядковая регрессия, общая линейная модель) впервые оценён сочетанный вклад производственных факторов, индивидуальных характеристик, генетических вариантов и эпигенетических статусов в формирование геномной нестабильности работников угольных теплоэлектростанций. Установлено, что наиболее значимыми факторами риска являются стаж работы ($p < 0,001$), работа в топливно-транспортном, химическом цехах и цехе тепловой автоматики и измерений ($p < 0,01$), а также гиперметилирование промотора *ERCC2* ($p < 0,000001$).

Комбинаторный анализ позволил выявить синергические эффекты, ассоциированные с повышением риска повреждений. Наиболее сильный эффект в отношении повышения уровня клеток с микроядрами и протрузиями наблюдался для комбинации полиморфных вариантов генов *ERCC2*, *XRCC1*, *CYP1A1*, *XRCC2* и делеции *GSTT1* ($p < 0,000001$, ОШ = 1,7-2,0). Комбинация полиморфных вариантов генов *XRCC1*, *CYP1A1*, а также гиперметилирование промотора *ERCC2* было ассоциировано с повышением уровня протрузий в клетках крови рабочих ($p < 0,003$, ОШ = 1,7). Включение в эту модель статуса метилирования промотора *XRCC2* значимо усиливало предсказательную способность моделей для мостов ($p < 0,000001$, ОШ = 1,7), что подтверждает важную роль эпигенетической

регуляции. Кроме того, впервые установлена протективная комбинация *XRCC2 rs3218536 GG* × *GSTT1 (+)*, ассоциированная со снижением частоты встречаемости протрузий ($p < 0,000001$, ОШ=0,5), что свидетельствует о проявлении генетической устойчивости у части рабочих.

Для системной интерпретации полученных данных с использованием биоинформатических ресурсов (STRING, KEGG, Reactome) построена и охарактеризована функциональная сеть взаимодействия белков, кодируемых изученными генами. Показано, что они образуют единый, высоко интегрированный модуль ($p < 0,000001$), объединяющий процессы метаболизма ксенобиотиков и репарации ДНК, с ключевой координационной ролью белков XRCC1 и XPD.

Таким образом, проведённое исследование демонстрирует, что длительное воздействие комплекса мутагенных факторов производственной среды угольных теплоэлектростанций приводит к формированию геномной нестабильности у работников, проявляющейся на трёх уровнях: цитогенетическом (накопление хромосомных повреждений, нарушение пролиферации и апоптоза), эпигенетическом (распространение гиперметилованного статуса промоторов генов репарации и детоксикации) и генетическом (реализация индивидуальной чувствительности через полиморфные варианты генов-кандидатов). Комбинаторный анализ показал, что риск нестабильности резко возрастает при сочетанном действии неблагоприятных генотипов и эпигенетических изменений, при этом существуют и протективные комбинации, обеспечивающие относительную устойчивость. Полученные результаты создают основу для персонализированной оценки профессиональных рисков, выделения групп повышенной уязвимости и разработки профилактических мероприятий, направленных на сохранение здоровья работников угольной энергетики.

В исследовании представлен молекулярно-генетический портрет работников угольных теплоэлектростанций, обуславливающий их восприимчивость к генотоксическим эффектам и профессиональным заболеваниям. Одним из ограничений работы является отсутствие измерений

дозовых показателей соединений, присутствующих на угольных теплоэлектростанциях. Для более глубокого понимания выявленных взаимосвязей в будущих исследованиях следует включить биомониторинг внутренней дозы у работников угольных предприятий. Ещё одним ограничением является оценка статуса метилирования промоторных областей изученных генов качественным методом метил-специфичной полимеразной цепной реакции. Перспективным направлением для получения высокоинформативных данных в дальнейших исследованиях является использование секвенирования или масс-спектрометрии.

Несмотря на существующие ограничения, полученные результаты открывают перспективы для дальнейших исследований. Так, детального исследования требует обнаруженная связь между стажем работы и гиперметилированием промоторов генов. Перспективным направлением является исследование динамики этих изменений: являются ли они линейными, существует ли точка "невозврата", и в какой степени эти изменения обратимы после прекращения воздействия. Для окончательного подтверждения причинно-следственной связи между продолжительностью трудового стажа и эпигенетическими изменениями необходимо проведение проспективного исследования, включающего анализ профиля метилирования у одних и тех же работников несколько раз с интервалом в 5-10 лет.

Выполненное исследование выявило ключевые мишени для последующего анализа. В будущем, на основе этих данных, можно разработать высокочувствительные панели биомаркеров (например, мультиплексный анализ метилирования нескольких генов), которые будут использоваться для быстрой и точной оценки генотоксического стресса. Переход от качественных методов к количественным (секвенирование всего эпигенома, масс-спектрометрия) выявит новые мишени для метилирования, а также изучит другие эпигенетические модификации (гистоновые метки, микроРНК и др.).

Проведённое исследование создаёт основу для профилактического управления профессиональными рисками, что в конечном итоге может привести к снижению профессиональной заболеваемости и повышению качества жизни

данной категории населения. Данные учёта генотоксических эффектов позволяют чётко идентифицировать наиболее уязвимые категории работников – это сотрудники топливно-транспортного, химического, ремонтного цехов и цехов тепловой автоматики, а также лица со стажем работы на производстве более 20 лет. Для этих групп должны быть приоритетными углублённые и более частые медицинские осмотры. Обнаруженные эпигенетические изменения (гиперметилование генов репарации и биотрансформации ксенобиотиков) являются не просто маркерами текущего повреждения, но и потенциальными предикторами долгосрочных последствий, таких как повышенный риск онкологических, сердечно-сосудистых и легочных заболеваний. Это даёт научное обоснование для организации долгосрочного когортного наблюдения за работниками даже после их выхода на пенсию.

Кроме того, полученные данные демонстрируют необходимость совершенствования системы биомониторинга в системе охраны труда. Существующих стандартных методов контроля воздуха явно недостаточно для учета возможных негативных последствий для здоровья работников. Внедрение цитогенетических и, что особенно важно, эпигенетических тестов в программу периодических медицинских осмотров работников ТЭС позволит перейти от контроля среды к контролю за состоянием организма. Это более прямой и чувствительный метод оценки вредного воздействия.

ВЫВОДЫ

1. У работников угольных ТЭС установлен комплексный паттерн геномной нестабильности, характеризующийся значимым повышением частоты микроядер, нуклеоплазменных мостов и протрузий, а также увеличением частоты апоптоза и снижением пролиферативной активности лимфоцитов ($p < 0,000001$).

2. Выраженность цитогенетических нарушений прямо зависит от стажа работы ($p < 0,001$) и производственного участка (наибольшие значения зарегистрированы у сотрудников топливно-транспортного ($p < 0,01$), химического ($p < 0,01$) цехов и цеха тепловой автоматики и измерений ($p < 0,002$)), возраста (микроядра, $p = 0,00001$, нуклеоплазменные мосты, $p = 0,04$) и пола (апоптоз, $p = 0,02$); вклад статуса курения и хронических заболеваний статистически незначим ($p > 0,05$).

3. Впервые показано, что работа на угольных ТЭС ассоциирована с гиперметилированием промоторных регионов генов репарации ДНК (*XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*) и биотрансформации ксенобиотиков (*GSTP1*, *CYP1A1*, *GSTT1*) по сравнению с контрольной группой ($p < 0,000001$). Распространённость гиперметилирования нарастает при стаже более 20 лет (*ERCC2*, *XRCC1*, *XRCC3*; $p < 0,02$) и наиболее выражена у работников топливно-транспортного, ремонтного цехов и цеха тепловой автоматики и измерений (*ERCC2*, *ERCC5*, *GSTT1*; $p < 0,005$), а также химического цеха (*ERCC2*, *GSTT1*; $p < 0,003$); возраст, пол, статус курения и хронические заболевания значимого влияния на профиль метилирования не оказывали ($p > 0,05$).

4. Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов полиморфных локусов генов репарации ДНК и биотрансформации ксенобиотиков не выявил значимых межгрупповых различий между работниками ТЭС и контрольной группой по большинству изученных локусов ($p > 0,05$), что свидетельствует об отсутствии генетической селекции в профессиональной группе и указывает на экзогенную природу выявленных цитогенетических и эпигенетических изменений.

5. Установлены ассоциации полиморфных локусов *XRCC1 rs25489*, *XRCC2 rs3218536*, *CYP1A1 rs4646903* и делеции *GSTT1* с повышенной частотой микроядер и протрузий; генотип *ERCC5 rs17655* GG ассоциирован с протективным снижением частоты нуклеоплазменных мостов. Гиперметиличивание промоторов *ERCC2* и *XRCC2* ассоциировано с повышенным риском цитогенетических нарушений (ОШ =1,5-2,7; $p < 0,05$). Впервые выявлена ассоциация локусов *ERCC5 rs17655* и *XRCC1 rs25489* со статусом метилирования их промоторов, свидетельствующая о генотип-зависимом характере эпигенетических изменений при профессиональной экспозиции.

6. Идентифицированы маркерные комбинации, ассоциированные с повышенным риском геномной нестабильности: *ERCC2 rs13181* TG+GG $\times$ *XRCC1 rs25489* GA+AA (микроядра, ОШ =1,7); *CYP1A1 rs4646903* TC+CC $\times$ *GSTT1 del* $\times$ *ERCC2 rs13181* TG+GG $\times$ *XRCC1 rs25489* GA+AA (протрузии, ОШ =2,0); *XRCC1 rs25489* GA+AA $\times$ *CYP1A1 rs4646903* CC+TC $\times$ гиперметиличивание *XRCC2* и *ERCC2* (нуклеоплазменные мосты и протрузии, ОШ =1,7). Протективный эффект выявлен для комбинации *XRCC2 rs3218536* GG $\times$ *GSTT1 non-del* (снижение частоты протрузий, ОШ =0,5).

7. Построенная функциональная сеть белок-белковых взаимодействий продуктов генов репарации ДНК (*XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *ERCC2*, *ERCC5*) и детоксикации ксенобиотиков (*GSTT1*, *GSTP1*, *CYP1A1*) продемонстрировала интеграцию этих процессов в единую молекулярную систему; по топологическим характеристикам сети (степень связности, центральность) ключевыми регуляторными узлами являются *ERCC2* и *XRCC1*.

8. По данным многофакторного регрессионного анализа, геномная нестабильность у работников угольных ТЭС ассоциирована с сочетанным вкладом производственных факторов (стаж работы, $p < 0,003$; производственный участок, $p < 0,04$) и эпигенетических изменений (гиперметиличивание промотора *ERCC2*, $p < 0,000001$); вклад индивидуальных факторов (пол, возраст, статус курения, хронические заболевания) в модели оказался статистически незначимым ($p > 0,05$). Прямой независимый вклад генетических полиморфизмов в

многофакторной модели статистически незначим ($p > 0,05$), что свидетельствует о преимущественно опосредованном, через эпигенетические механизмы, влиянии генотипа на формирование геномной нестабильности в условиях профессиональной экспозиции.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

анти-B[a]PDE-ДНК – аддукт, образующийся при воздействии полициклических ароматических углеводородов на ДНК.

ГРЭС – государственная районная электрическая станция

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

мРНК – матричная РНК

MT-COI – митохондриальная субъединица цитохром с-оксидазы I

ПАУ – полициклические ароматические углеводороды

ТЭС – тепловая электрическая станция

ADPRT – adenosine diphosphate ribosyl transferase, аденозиндифосфатрибозилтрансфераза

AhR – арилуглеводородный рецептор

ALAD – ген, кодирующий дегидратазу δ-аминолевулиновой кислоты

Alu – повторяющаяся короткая последовательность ДНК

APEX1 – apurinic/apyrimidinic endodeoxyribonuclease 1, апуриновая/апиримидиновая эндодезоксирибонуклеаза 1

ATM – Ataxia-Telangiectasia Mutated, серин / треониновая протеинкиназа

B[a]P – бенз[a]пирен

CpG – динуклеотиды CG

CSF3R – рецептор колониестимулирующего фактора 3

CYP1A1 – цитохром P450 A1

CYP2E1 – цитохром P450 2E1

Del – делеция

EPHX1 – эпоксидгидролаза-1

ERCC1, ERCC2, ERCC5 – (excision-repair cross-complementing) группа кросс-комплементарной эксцизионной репарации ДНК

ERCC3 – excision repair cross-complementation group 3, группа 3 перекрестного комплементации восстановления нуклеотидов

EXO1 – экзонуклеаза 1

- GNAI1* – Гуаниннуклеотидсвязывающий белок G(i), альфа-1 субъединица
- GST* – семейство генов глутатион-S-трансфераз
- GSTM1* – глутатион-S-трансфераза Mu 1
- GSTP1* – глутатион-S-трансфераза пи1
- GSTT1* – глутатион-S-трансфераза тета1
- H3K79 – гистон 3 монометил K79
- HeLa – клеточная линия раковой опухоли шейки матки
- hMLH1* – Human mutL homolog 1
- hOGG1* – человеческая 8-оксогуаниновая ДНК-гликозилаза
- IL10* – интерлейкин 10
- IL6* – интерлейкин 6
- Jurkat – иммортализованная линия человеческих Т-лимфоцитов
- LIG4* – ДНК-лигаза 4
- LINE1* – один из типов повторяющихся последовательностей в геноме
- MAGE-1* – Melanoma-associated antigen 1, меланома-ассоциированный антиген 1
- MAPK* – митоген-активируемая протеинкиназа
- MGMT* – O-6-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза
- MRC-5 – Medical Research Council cell strain 5, диплоидная клеточная линия лёгочной ткани
- MSH2* – MutS homolog 2
- MSH6* – MutS homolog 6
- NBS1* – синдром разрывов (хромосомных) Неймегена
- RAD51* – RAD51 Recombinase
- RRAGC – GTP-связывающий белок, родственник Ras, CUSP – убиквитинспецифическая пептидаза
- STAT3* – signal transducer and activator of transcription 3, преобразователь сигналов и активатор транскрипции 3
- UCA1* – urothelial cancer associated 1, ген, ассоциированный с уротеральным раком 1

V79 – коллекционная клеточная линия лёгкого китайского хомячка (*Cricetulus griseus*)

XPA – фактор распознавания и восстановления повреждений ДНК

XRCC1, *XRCC2*, *XRCC3*, *XRCC4* – (X-ray repair cross complementing 1) комплементационная группа репарации повреждений ДНК в связи с рентгеновским излучением

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беляев А. М., Михнин А. Е., Рогачев М. В. ROC-анализ и логистическая регрессия в MedCalc: учебное пособие для врачей и обучающихся в системе высшего и дополнительного профессионального образования // А.М. Беляев, А.Е. Михнин, М.В. Рогачев – Санкт-Петербург: НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова. – 2023. – 36 с.
2. Бреннер П.К. Связь полиморфных маркеров генов ERCC2, ERCC5 и ABCB1 с ответом на лечение при онкологических заболеваниях на фоне беременности / П.К. Бреннер, Т.М. Заварыкина, М.А. Капралова, Е.В. Козырко, Ж. Круз, Д.А. Байгазиева, Д.С. Ходырев, С.В. Хохлова // Фармакогенетика и фармакогеномика. – 2022. – № 2. – С. 11-12. doi:10.37489/2588-0527-2022-2-11-12.
3. ГОСТ 32635-2014 Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Микроядерный тест на клетках млекопитающих in vitro, дата введения 2015-06-01. М.: Стандартиформ.
4. Дружинин В.Г. Базовый уровень цитогенетических повреждений в лимфоцитах и буккальных эпителиоцитах больных раком легкого / В.Г. Дружинин, В.И. Минина, Е.Д. Баранова, Т.А. Головина, А.В. Майер, А.О. Михайлова, А.А. Тимофеева, В.А. Титов, Т.А. Толочко, Д.П. Шубенкина // Генетика. – 2019. – Т. 55, № 10. – С. 1189-1197. doi:10.1134/S0016675819100047.
5. Дружинин В.Г. Генотоксические эффекты у работников коксохимического производства / В.Г. Дружинин, В.И. Минина, Н.В. Мокрушина // Медицина труда и промышл. экология. – 2000. – № 10. – С. 22-24.
6. Заварыкина Т.М. Исследование полиморфных маркеров генов репарации ДНК hOGG1, XRCC1 и ERCC2 и их ассоциации с риском развития немелкоклеточного рака легкого и рака верхних дыхательных путей / Т.М. Заварыкина, М.В. Аткарская, А.М. Бурдённый, В.И. Логинов, Г.П. Жижина, Е.Б. Бурлакова // Естественные и математические науки в современном мире. – 2015. – № 2 (26). – С. 146-156.

7. Захаренков В.В. Оценка риска нарушения здоровья работников угольной теплоэлектростанции от воздействия производственных факторов / В.В. Захаренков, В.В. Кислицына // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – № 1 (часть 2). – С. 168-170.

8. Ингель Ф.И. Перспективы использования микроядерного теста на лимфоцитах крови человека, культивируемых в условиях цитокинетического блока. Часть 1. Пролиферация клеток // Экологическая генетика. – 2006. – № 3. – С. 38-53.

9. Колмакова Т.С. Использование микроядерного теста для оценки эффективности лечения аллергии у детей: метод. рекомендации / Т.С. Колмакова // Ростов н/Д: Изд. РостГМУ. – 2013. – 31 с.

10. Корчагина Р.П. Полиморфизм генов биотрансформации ксенобиотиков GSTM1, GSTT1, CYP2D6, вероятных маркеров риска онкологических заболеваний, в популяциях коренных этносов и русских северной Сибири / Р.П. Корчагина, Л.П. Осипова, Н.А. Вавилова, Н.А. Ермоленко, Е.Н. Воронина, М.Л. Филипенко // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2011. – Том 15. – № 3. – С. 448-461.

11. Крылов Д.А. Негативное влияние элементов-примесей от угольных ТЭС на окружающую среду и здоровье людей / Д.А. Крылов // ГИАБ. – 2017. – № 12. – С. 77-87. doi:10.25018/0236-1493-2017-12-0-77-87.

12. Кузьмина Н.С. Гиперметиличирование промоторов генов в лейкоцитах крови облученных лиц – итоги исследований / Н.С. Кузьмина, Н.Ш. Лаптева, А.В. Рубанович // Генетика. – 2022. – Т. 58, № 11. – С. 1334-1346. doi:10.31857/S0016675822110066.

13. Ларин С.А. Заболеваемость злокачественными новообразованиями у рабочих Кемеровской ТЭС / С.А. Ларин, С.А. Мун, А.Н. Глушков, Н.А. Еремина, Ю.М. Мительман, Ю.С. Чухров // Вопр. онкологии. – 2007. – Т. 53, № 4. – С. 396-399.

14. Марущак А.В. Ассоциации нарушений ядерной ДНК с индивидуальными вариантами генов системы репарации ДНК APEX1, ERCC2, ERCC5, PARP1 и

hOGG1 у работников угольных теплоэлектростанций / А.В. Марущак, А.В. Торгунакова, Р.А. Титов, О.А. Соболева, В.И. Минина // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. – 2024. – № 4. – С. 421-432. doi:10.17072/1994-9952-2024-4-421-432.

15. Минина В.И. Генотоксические эффекты воздействия производственной среды у шахтеров Кузбасса / В.И. Минина, Ю.Е. Кулемин, Т.А. Толочко, А.В. Мейер, Я.А. Савченко, В.П. Волобаев, Н.И. Гафаров, И.Н. Панев, М.В. Семенихина // Медицина труда и промышл. экология. – 2015. – № 5. – С. 4-8.

16. Минина В.И. Комплексный анализ мутагенной и канцерогенной опасности условий труда на Кемеровском АО «КОКС» / В.И. Минина, С.А. Ларин, С.А. Мун, А.Н. Глушков, В.Г. Дружинин // Медицина труда и промышл. экология. – 2006. – № 11. – С. 19-25.

17. Минина В.И. Оценка повреждений хромосом у рабочих угольной теплоэлектростанции / В.И. Минина, Ю.А. Нелюбова, Я.А. Савченко, А.А. Тимофеева, Е.А. Астафьева, М.Л. Баканова, А.В. Мейер, А.Н. Глушков // Медицина труда и промышленная экология. – 2019. – № 3. – С. 149-154. doi:10.31089/1026-9428-2019-3-149-154.

18. Москворецкий П.С. Мировой рынок угля: состояние и долгосрочные тенденции / П.С. Москворецкий // Современная Европа. – 2024. – №4 (125). – С. 116-125. doi:10.31857/S0201708324040090.

19. Мун С.А. Оценка относительных рисков развития онкологических заболеваний у работников ОАО «КОКС» города Кемерово / С.А. Мун, С.А. Ларин, С.Ф. Зинчук, В.В. Браиловский, А.Н. Глушков // Бюл. Сиб. отд. РАМН. – 2005. – Т. 118, № 4. – С. 69-72.

20. Мун С.А. Расчет прогнозов заболеваемости раком легкого у мужчин в связи с техногенным загрязнением атмосферы в Кемеровской области / С.А. Мун, А.Н. Глушков // Гигиена и санитария. – 2014. – Т. 93, № 2. – С. 37-41.

21. Мухаммадиева Г.Ф. Анализ ассоциации полиморфного локуса rs1138272 гена GSTP1 с бронхиальной астмой и особенностями ее течения / Г.Ф. Мухаммадиева, Д.О. Каримов, А.Б. Бакиров, Т.Г. Кутлина, Я.В. Валова,

Э.Р. Кудояров, Э.Ф. Идиятуллина // Кубанский научный медицинский вестник. – 2017. – № 3. – С. 71-75.

22. Панайотти Е.А. Комплексная оценка условий труда и риска для здоровья работающих в основных цехах тепловых электростанций / Е.А. Панайотти, Д.В. Суржиков // Бюл. СО РАМН. – 2007. – № 1 (123). – С. 56-62.

23. Панков В.А. Оценка условий труда, состояния здоровья и профессионального риска работников предприятий теплоэнергетики / В.А. Панков, М.В. Кулешова // Гигиена и санитария. – 2019. – Т. 98, № 7. – С. 766-770.

24. Приходченко Н.Г. Полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз в формировании синдрома повышенной эпителиальной проницаемости у детей с гастроинтестинальной формой пищевой аллергии / Н.Г. Приходченко, Е.С. Зернова, Т.А. Шуматова, А. Ни, Д.В. Коваленко // Практическая медицина. – 2023. – Т. 21, № 5.

25. Радишевская Т.А. Математическая статистика. Описательная статистика. Выполнение многомерного регрессионного анализа / Т.А. Радишевская, Л.В. Шваб, М.В. Щавелева, О.А. Кульпанович, Ю.В. Мещеряков // Минск: БелМА. – 2016. – С. 35.

26. Руденкова Т.В. Полиморфизм генов CYP у детей с гепатотоксичностью на фоне химиотерапевтического лечения острого лимфобластного лейкоза / Т.В. Руденкова, С.А. Костюк, Н.Н. Климович, А.Н. Демиденко // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики: рецензир. ежегод. сб. науч. тр.: в 2 т. – Минск, 2022. – Вып. 12, Т. 1: Клиническая медицина. Профилактическая медицина. – С. 144-151.

27. Савченко Я.А. Хромосомные aberrации в лимфоцитах рабочих теплоэнергетического производства и их ассоциации с полиморфными вариантами генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков и репарации ДНК: Автореф. дисс. канд. биол. наук: 03.02.07. – Уфа. – 2015. – 24 с.

28. Савченко Я.А. Цитогенетический анализ генотоксических эффектов у работников теплоэнергетического производства / Я.А. Савченко, В.Г. Дружинин,

В.И. Минина, А.Н. Глушков, В.Р. Ахматьянова, А.В. Остапцева // Генетика. – 2008. – Т. 44, № 6. – С. 857-862.

29. Синицкий М.Ю. Анализ ассоциаций показателей микроядерного теста в лимфоцитах с полиморфными вариантами генов ферментов репарации ДНК у работников угледобывающих предприятий: Автореф. дисс. канд. биол. наук: 03.02.07. – Уфа. – 2017. – 25 с.

30. Федосеев В.И. Изучение генотоксических эффектов действия производственной среды на рабочих угольной теплоэлектростанции с помощью микроядерного теста на лимфоцитах крови / В.И. Федосеев, Д.Д. Степанов, В.И. Минина // Экологическая генетика. – 2021. – Т. 19, №1. – С. 77-88. doi:[10.17816/ecogen42363](https://doi.org/10.17816/ecogen42363).

31. Халафян А.А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных / А.А. Халафян // М.: Бином-пресс. – 2008. – 512 с.

32. Цепокина А.В. Анализ взаимосвязей генов GSTP1, CYP1A1, CYP1A2 у детей с врожденными пороками сердца / А.В. Цепокина, А.В. Понасенко, А.В. Шабалдин // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2020. – Т. 65, № 3. С. 39-43.

33. Юркин А.Ю. Методические особенности анализа микроядер в клетках человека и животных при скрининге и мониторинге кластогенных факторов в окружающей среде: Автореф. дисс. канд. мед. наук: 03.00.25. – Томск. – 2002. – 184 с.

34. Abilev S.K. Bacterial Lux Biosensors in Genotoxicological Studies / S.K. Abilev, E.V. Igonina, D.A. Sviridova, S.V. Smirnova // Biosensors. – 2023. – V. 13(5). – P. 511. doi:[10.3390/bios13050511](https://doi.org/10.3390/bios13050511).

35. Ada A.O. Cytogenetic damage in Turkish coke oven workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons: Association with CYP1A1, CYP1B1, EPHX1, GSTM1, GSTT1, and GSTP1 gene polymorphisms / A.O. Ada, C. Demiroglu, M. Yilmazer, H.S. Suzen, A.E. Demirbag, S. Efe, Y. Alemdar, M. Iscan, S. Burgaz // Arh Hig Rada Toksikol. – 2013. – V. 64, No 3. – P. 359-69. doi:[10.2478/10004-1254-64-2013-2328](https://doi.org/10.2478/10004-1254-64-2013-2328).

36. Adams D.J. Genetic determinants of micronucleus formation in vivo / D.J. Adams, B. Barlas, R.E. McIntyre, I. Salguero, L. van der Weyden, A. Barros, J.R. Vicente, N. Karimpour, A. Haider, M. Ranzani, G. Turner, N.A. Thompson, V. Harle, R. Olvera-León, C.D. Robles-Espinoza, A.O. Speak, N. Geisler, W.J. Weninger, S.H. Geyer, J. Hewinson, N.A. Karp, Sanger Mouse Genetics Project, B. Fu, F. Yang, Z. Kozik, J. Choudhary, L. Yu, M.S. van Ruiten, B.D. Rowland, C.J. Lelliott, M. Del Castillo Velasco-Herrera, R. Verstraten, L. Bruckner, A.G. Henssen, M.A. Rooimans, J. de Lange, T.J. Mohun, M.J. Arends, K.A. Kentistou, P.A. Coelho, Y. Zhao, H. Zecchini, J.R.B. Perry, S.P. Jackson, G. Balmus // *Nature*. – 2024. – V. 627, No 8002. – P. 130-136. doi:10.1038/s41586-023-07009-0.

37. Adico M.D.W. Involvement of ERCC1 (rs3212986) and ERCC2 (rs1799793, rs13181) polymorphisms of DNA repair genes in breast cancer occurrence in Burkina Faso / M.D.W. Adico, A.A. Zouré, H.K. Sombié, T.I. Kiendrebeogo, S. Dabré, L.J. Amegnona, B.S. Bakyono, L. Traoré, T.C. Ouedraogo, R.A. Ouedraogo, T.M. Zohoncon, A.T. Yonli, B. Bayala, H.A. Bambara, F.W. Djigma, J. Simpo // *Mol Genet Genomic Med*. – 2023. – V. 11, No 4. – P. e2134. doi:10.1002/mgg3.2134.

38. Agustinus A.S. Epigenetic dysregulation from chromosomal transit in micronuclei / A.S. Agustinus, D. Al-Rawi, B. Dameracharla, R. Raviram, B.S.C.L. Jones, S. Stransky, L. Scipioni, J. Luebeck, M. Di Bona, D. Norkunaite, R.M. Myers, M. Duran, S. Choi, B. Weigelt, S. Yomtoubian, A. McPherson, E. Toufektchan, K. Keuper, P.S. Mischel, V. Mittal, S.P. Shah, J. Maciejowski, Z. Storchova, E. Gratton, P. Ly, D. Landau, M.F. Bakhoun, R.P. Koche, S. Sidoli, V. Bafna, Y. David, S.F. Bakhoun // *Nature*. – 2023. – V. 619, No 7968. – P. 176-183. doi:10.1038/s41586-023-06084-7.

39. Ahmed E.S. Association Between XRCC3 Thr241Met Gene Polymorphism and Susceptibility to Urothelial Carcinoma of the Bladder / E.S. Ahmed, N.A. AbdulHafeez, A. Abdelaziz, S. Abdelbaky, A.A. El-Fallah // *Benha Medical Journal*. – 2022. – V. 40, No 1. – P. 97-109. doi:10.21608/bmfj.2022.177773.1721.

40. Alharbi K.K. MTNR1B genetic polymorphisms as risk factors for gestational diabetes mellitus: a case-control study in a single tertiary care center / K.K. Alharbi,

A.M. Al-Sulaiman, K.M.B. Shedaid, A.M. Al-Shangiti, M. Marie, Y.A. Al-Sheikh, I. Ali Khan // *Ann Saudi Med.* – 2019. – V. 39, No 5. – P. 309-318. doi:10.5144/0256-4947.2019.309.

41. Allen E.K. SNP-mediated disruption of CTCF binding at the IFITM3 promoter is associated with risk of severe influenza in humans / E.K. Allen, A.G. Randolph, T. Bhangale, P. Dogra, M. Ohlson, C.M. Oshansky, A.E. Zamora, J.P. Shannon, D. Finkelstein, A. Dressen, J. DeVincenzo, M. Caniza, B. Youngblood, C.M. Rosenberger, P.G. Thomas // *Nat Med.* – 2017. – V. 23, No 8. – P. 975-983. doi:10.1038/nm.4370.

42. Allmann S. Benzo[a]Pyrene Represses DNA Repair through Altered E2F1/E2F4 Function Marking an Early Event in DNA Damage-Induced Cellular Senescence / S. Allmann, L. Mayer, J. Olma, B. Kaina, T.G. Hofmann, M.T. Tomicic, M. Christmann // *Nucleic Acids Res.* – 2020. – V. 48. – P. 12085-12101. doi:10.1093/nar/gkaa965.

43. Al-Shaheri F.N. Association of DNA repair gene polymorphisms with colorectal cancer risk and treatment outcomes / F.N. Al-Shaheri, K.M. Al-Shami, E.H. Gamal, A.A. Mahasneh, N.M. Ayoub // *Exp Mol Pathol.* – 2020. – V. 113. – P. 104364. doi:10.1016/j.yexmp.2019.104364.

44. Andreassen P.R. XRCC2 (X-ray repair cross complementing 2) / P.R. Andreassen, H. Hanenberg // *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology.* – 2019. – V. 23, No 1. – P. 1-7. doi:10.4267/2042/69759.

45. Andreassi M.G. The association of micronucleus frequency with obesity, diabetes and cardiovascular disease / M.G. Andreassi, R. Barale, P. Iozzo, E. Picano // *Mutagenesis.* – 2011. – V. 26, No 1. – P. 77-83. doi:10.1093/mutage/geq077.

46. Anjali K. Association of nonsynonymous SNPs of nucleotide excision repair genes ERCC4 rs1800067 (G/A) and ERCC5 rs17655 (G/C) as predisposing risk factors for gallbladder cancer / K. Anjali, T. Kumar, P. Kumar, G. Narayan, S. Singh // *Dig Liver Dis.* – 2022. – V. 54, No 11. – P. 1533-1540. doi:10.1016/j.dld.2022.06.012.

47. Arif I. A meta-analysis of the carcinogenic effects of particulate matter and polycyclic aromatic hydrocarbons / I. Arif, M.D. Adams, M.T.J. Johnson // *Environ Pollut.* – 2024. – V. 351. – P. 123941. doi:10.1016/j.envpol.2024.123941.
48. Badman D.G. Blood and air pollution: state of knowledge and research needs / D.G. Badman, E.R. Jaffé // *Otolaryngol Head Neck Surg.* – 1996. – V. 114, No 2. – P. 205-208. doi:10.1016/S0194-59989670166-3.
49. Bahassi el M. The breast cancer susceptibility allele CHEK2*1100delC promotes genomic instability in a knock-in mouse model / M. Bahassi el, C.G. Penner, S.B. Robbins, E. Tichy, E. Feliciano, M. Yin, L. Liang, L. Deng, J.A. Tischfield, P.J. Stambrook // *Mutat Res.* – 2007. – V. 616, No 1-2. – P. 201-209. doi:10.1016/j.mrfmmm.2006.11.025.
50. Balkan E. ERCC2 Lys751Gln rs13181 and XRCC2 Arg188His rs3218536 Gene Polymorphisms Contribute to Subseptibility of Colon, Gastric, HCC, Lung And Prostate Cancer / E. Balkan, M. Bilici, B. Gundogdu, N. Aksungur, A. Kara, E. Yaşar, H. Dogan, G. Ozturk // *J BUON.* – 2020. – V. 25, No 1. – P. 574-581.
51. Barber L.J. RTEL1 maintains genomic stability by suppressing homologous recombination / L.J. Barber, J.L. Youds, J.D. Ward, M.J. McIlwraith, N.J. O'Neil, M.I. Petalcorin, J.S. Martin, S.J. Collis, S.B. Cantor, M. Auclair, H. Tissenbaum, S.C. West, A.M. Rose, S.J. Boulton // *Cell.* – 2008. – V. 135, No 2. – P. 261-271. doi:10.1016/j.cell.2008.08.016.
52. Baron R.M. The moderator-mediator variable distinction in social psychological research: conceptual, strategic, and statistical considerations / R.M. Baron, D.A. Kenny // *J Pers Soc Psychol.* – 1986. – V. 51, No 6. – P. 1173-1182. doi:10.1037//0022-3514.51.6.1173.
53. Battershill J.M. Factors affecting the incidence of genotoxicity biomarkers in peripheral blood lymphocytes: Impact on design of biomonitoring studies / J.M. Battershill, K. Burnett, S. Bull // *Mutagenesis.* – 2008. – V. 23, No 6. – P. 423-437. doi:10.1093/mutage/gen040.
54. Bell J.T. DNA methylation patterns associate with genetic and gene expression variation in HapMap cell lines / J.T. Bell, A.A. Pai, J.K. Pickrell, D.J. Gaffney, R.

Pique-Regi, J.F. Degner, Y. Gilad, J.K. Pritchard // *Genome Biol.* – 2011. – V. 12, No 1. – P. R10. doi:10.1186/gb-2011-12-1-r10.

55. Benjamini Y. The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency / Y. Benjamini, D. Yekutieli // *Ann. Statist.* – 2001. – V. 29, No 4. – P. 1165-1188. doi:10.1214/aos/1013699998.

56. Bernard E. Implications of TP53 allelic state for genome stability, clinical presentation and outcomes in myelodysplastic syndromes / E. Bernard, Y. Nannya, R.P. Hasserjian, S.M. Devlin, H. Tuechler, J.S. Medina-Martinez, T. Yoshizato, Y. Shiozawa, R. Saiki, L. Malcovati, M.F. Levine, J.E. Arango, Y. Zhou, F. Solé, C.A. Cargo, D. Haase, M. Creignou, U. Germing, Y. Zhang, G. Gundem, A. Sarian, A.A. van de Loosdrecht, M. Jädersten, M. Tobiasson, O. Kosmider, M.Y. Follo, F. Thol, R.F. Pinheiro, V. Santini, I. Kotsianidis, J. Boulwood, F.P.S. Santos, J. Schanz, S. Kasahara, T. Ishikawa, H. Tsurumi, A. Takaori-Kondo, T. Kiguchi, C. Polprasert, J.M. Bennett, V.M. Klimek, M.R. Savona, M. Belickova, C. Ganster, L. Palomo, G. Sanz, L. Ades, M.G. Della Porta, H.K. Elias, A.G. Smith, Y. Werner, M. Patel, A. Viale, K. Vanness, D.S. Neuberg, K.E. Stevenson, K. Menghrajani, K.L. Bolton, P. Fenaux, A. Pellagatti, U. Platzbecker, M. Heuser, P. Valent, S. Chiba, Y. Miyazaki, C. Finelli, M.T. Voso, L.Y. Shih, M. Fontenay, J.H. Jansen, J. Cervera, Y. Atsuta, N. Gattermann, B.L. Ebert, R. Bejar, P.L. Greenberg, M. Cazzola, E. Hellström-Lindberg, S. Ogawa, E. Papaemmanuil // *Nat Med.* – 2020. – V. 26, No 10. – P. 1549-1556. doi:10.1038/s41591-020-1008-z.

57. Bibikova M. High-throughput DNA methylation profiling using universal bead arrays / M. Bibikova, Z. Lin, L. Zhou, E. Chudin, E.W. Garcia, B. Wu, D. Doucet, N.J. Thomas, Y. Wang, E. Vollmer, T. Goldmann, C. Seifart, W. Jiang, D.L. Barker, M.S. Chee, J. Floros, J.B. Fan // *Genome Res.* – 2006. – V. 16, No 3. – P. 383-393. doi:10.1101/gr.4410706.

58. Biglari S. Investigation of Aneusomy of Chromosome 21 in the Micronuclei of 13 Patients with Early Onset Alzheimer's Disease Using Fluorescence in Situ Hybridization: A Pilot Study / S. Biglari, K. Kamali, S. Banihashemi, A. Faal Sezavari,

S.M. Aghajanjpour-Mir, F. Behjati // *Rep Biochem Mol Biol.* – 2020. – V. 8, No 4. – P. 446-453.

59. BiSearch [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://bisearch.enzim.hu> (дата обращения: 17.10.2024).

60. Bloch K. Precarious transition: a mortality study of South African ex-miners / K. Bloch, L.F. Johnson, M. Nkosi, R. Ehrlich // *BMC Public Health.* – 2018. – V. 18, No 1. – P. 862. doi:10.1186/s12889-018-5743-8.

61. Bohacek J. Epigenetic Inheritance of Disease and Disease Risk / J. Bohacek, I.M. Mansuy // *Neuropsychopharmacology.* – 2012. – V. 38, No 1. – P. 220-236. doi:10.1038/npp.2012.110.

62. Bollati V. Changes in DNA methylation patterns in subjects exposed to low-dose benzene / V. Bollati, A. Baccarelli, L. Hou, M. Bonzini, S. Fustinoni, D. Cavallo, H.M. Byun, J. Jiang, B. Marinelli, A.C. Pesatori, P.A. Bertazzi, A.S. Yang // *Cancer Res.* – 2007. – V. 67, No 3. – P. 876-880. doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-2995.

63. Bonassi S. Effect of smoking habit on the frequency of micronuclei in human lymphocytes: results from the Human MicroNucleus project / S. Bonassi, M. Neri, C. Lando, M. Ceppi, Y.P. Lin, W.P. Chang, N. Holland, M. Kirsch-Volders, E. Zeiger, M. Fenech; HUMN collaborative group // *Mutat Res.* – 2003. – V. 543, No 2. – P. 155-166. doi:10.1016/s1383-5742(03)00013-9.

64. Borm P.J. Toxicity and occupational health hazards of coal fly ash (CFA). A review of data and comparison to coal mine dust // *Ann Occup Hyg.* – 1997. – V. 41, No 6. – P. 659-676. doi:10.1016/S0003-4878(97)00026-4.

65. Brandt J.E. Beyond Selenium: Coal Combustion Residuals Lead to Multielement Enrichment in Receiving Lake Food Webs / J.E. Brandt, M. Simonin, R.T. Di Giulio, E.S. Bernhardt // *Environ Sci Technol.* – 2019. – V. 53, No 8. – P. 4119-4127. doi:10.1021/acs.est.9b00324.

66. Broad Institute. HaploReg [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php> (дата обращения: 10.02.2026).

67. Bui C.-B. A novel nonsense mutation of ERCC2 in a Vietnamese family with xeroderma pigmentosus syndrome group D / C.-B. Bui, T. Duong, T.T.T. Pham, T. Vu, G.C. Chau, T.-N.V. Vo, V. Nguyen, D.-T.T. Trinh, M.V. Hoang // *Hum Genome Var.* – 2020. – V. 7, No 1. – P. 1-8. doi:10.1038/s41439-020-0089-z.

68. Bukowska B. Benzo[a]pyrene-Environmental Occurrence, Human Exposure, and Mechanisms of Toxicity / B. Bukowska, K. Mokra, J. Michałowicz // *Int J Mol Sci.* – 2022. – V. 23, No 11. – P. 6348. doi:10.3390/ijms23116348.

69. Bukowska B. Influence of Benzo(a)pyrene on Different Epigenetic Processes / B. Bukowska, P. Sicińska // *Int J Mol Sci.* – 2021. – V. 22, No 24. – P. 13453. doi:10.3390/ijms222413453.

70. Bukowski K. Polimorfizm genów kodujących białka naprawy DNA a zawodowe i środowiskowe narażenie na ołów, arsen i pestycydy [Polymorphism of genes encoding proteins of DNA repair vs. occupational and environmental exposure to lead, arsenic and pesticides] / K. Bukowski, K. Woźniak // *Med Pr.* – 2018. – V. 69, No 2. – P. 225-235. doi:10.13075/mp.5893.00595.

71. Caballero-Gallardo K. Mice housed on coal dust-contaminated sand: A model to evaluate the impacts of coal mining on health / K. Caballero-Gallardo, J. Olivero-Verbel // *Toxicol Appl Pharmacol.* – 2016. – V. 294. – P. 11-20. doi:10.1016/j.taap.2016.01.007.

72. Cadoni G. A review of genetic epidemiology of head and neck cancer related to polymorphisms in metabolic genes, cell cycle control and alcohol metabolism / G. Cadoni, S. Boccia, L. Petrelli, P. Di Giannantonio, D. Arzani, A. Giorgio, E. De Feo, M. Pandolfini, P. Gallì, G. Paludetti, G. Ricciardi // *Acta Otorhinolaryngol Ital.* – 2012. – V. 32, No 1. – P. 1-11.

73. Carlos-Reyes A. Biological Adaptations of Tumor Cells to Radiation Therapy / A. Carlos-Reyes, M.A. Muñoz-Lino, S. Romero-Garcia, C. López-Camarillo, O.N. Hernández-de la Cruz // *Front Oncol.* – 2021. – V. 11. – P. 718636. doi:10.3389/fonc.2021.718636.

74. Carmona J.J. Short-term airborne particulate matter exposure alters the epigenetic landscape of human genes associated with the mitogen-activated protein

kinase network: a cross-sectional study / J.J. Carmona, T. Sofer, J. Hutchinson, L. Cantone, B. Coull, A. Maity, P. Vokonas, X. Lin, J. Schwartz, A.A. Baccarelli // *Environ Health*. – 2014. – V. 13. – P. 94. doi:10.1186/1476-069X-13-94.

75. Carugno M. Increased mitochondrial DNA copy number in occupations associated with low-dose benzene exposure / M. Carugno, A.C. Pesatori, L. Dioni, M. Hoxha, V. Bollati, B. Albetti, H.M. Byun, M. Bonzini, S. Fustinoni, P. Cocco, G. Satta, M. Zucca, D.F. Merlo, M. Cipolla, P.A. Bertazzi, A. Baccarelli // *Environ Health Perspect*. – 2012. – V. 120, No 2. – P. 210-215. doi:10.1289/ehp.1103979.

76. Celik M. Cytogenetic damage in workers from a coal-fired power plant / M. Celik, L. Donbak, F. Unal, D. Yüzbaşıoglu, H. Aksoy, S. Yilmaz // *Mutat Res*. – 2007. – V. 627, No 2. – P. 158-163. doi:10.1016/j.mrgentox.2006.11.003.

77. Cerda S. Influence of oxygen radical injury on DNA methylation / S. Cerda, S.A. Weitzman // *Mutat Res*. – 1997. – V. 386, No 2. – P. 141-152. doi:10.1016/s1383-5742(96)00050-6.

78. Chan Q.K. Promoter methylation and differential expression of pi-class glutathione S-transferase in endometrial carcinoma / Q.K. Chan, U.S. Khoo, K.Y. Chan, H.Y. Ngan, S.S. Li, P.M. Chiu, L.S. Man, P.P. Ip, W.C. Xue, A.N. Cheung // *J Mol Diagn*. – 2005. – V. 7, No 1. – P. 8-16. doi:10.1016/s1525-1578(10)60003-7.

79. Chatterjee N. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis / N. Chatterjee, G.C. Walker // *Environ Mol Mutagen*. – 2017. – V. 58, No 5. – P. 235-263. doi:10.1002/em.22087.

80. Chen C.S. Exposure-associated DNA methylation among people exposed to multiple industrial pollutants / C.S. Chen, T.H. Yuan, T.P. Lu, H.Y. Lee, Y.H. Chen, L.C. Lai, M.H. Tsai, E.Y. Chuang, C.C. Chan // *Clin Epigenetics*. – 2024. – V. 16, No 1. – P. 111. doi:10.1186/s13148-024-01705-y.

81. Chen J. Association between Polymorphisms of X-Ray Repair Cross Complementing Group 1 Gene and Pancreatic Cancer Risk: a Systematic Review with Meta-Analysis / J. Chen, H. Wang, Z. Li // *Pathol Oncol Res*. – 2019. – V. 25, No 3. – P. 897-904. doi:10.1007/s12253-017-0364-6.

82. Cheng J. Association between nucleotide excision repair gene polymorphisms and chromosomal damage in coke-oven workers / J. Cheng, S.G. Leng, Y.F. Dai, Z.F. Pan, Y. Niu, B. Li, Y.X. Zheng // *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*. – 2006. – V. 40, No 6. – P. 400-404.

83. Cheng J. Association of metabolic and DNA repair enzyme gene polymorphisms and DNA damage in coke-oven workers / J. Cheng, S.G. Leng, Y.F. Dai, Y. Niu, Z.F. Pan, B. Li, Y. He, F.S. He, Y.X. Zheng // *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*. – 2005. – V. 39, No 3. – P. 164-167.

84. Cheng J. Suboptimal DNA repair capacity predisposes coke-oven workers to accumulate more chromosomal damages in peripheral lymphocytes / J. Cheng, S. Leng, H. Li, C. Huang, Y. Niu, L. Zhang, X. Liang, H. Lin, Y. Zheng // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. – 2009. – V. 18, No 3. – P. 987-993. doi:10.1158/1055-9965.EPI-08-0763.

85. Cherdantsev G. The economic future for Russia's Kuzbass coal mining region / G. Cherdantsev, T. Thurner // *Int J Oil Gas Coal Technol*. – 2017. – V. 16, No 4. – P. 390-401. doi:10.1504/IJOGCT.2017.087877.

86. Chulenbayeva L. Prolonged Inhalation Exposure to Coal Dust on Irradiated Rats and Consequences / L. Chulenbayeva, O. Ilderbayev, D. Suleymeneva, A. Kaliyeva, S. Kabdykanov, M. Nurgaziyev, A. Nurgozhina, S. Sergazy, S. Kozhakhmetov, A. Kushugulova // *ScientificWorldJournal*. – 2022. – V. 2022. – P. 8824275. doi:10.1155/2022/8824275.

87. Cohen J. Weighted kappa: nominal scale agreement with provision for scaled disagreement or partial credit / J. Cohen // *Psychol Bull*. – 1968. – V. 70, No 4. – P. 213-220. doi:10.1037/h0026256.

88. Comaills V. Chromosomal Instability in Genome Evolution: From Cancer to Macroevolution / V. Comaills, M. Castellano-Pozo // *Biology (Basel)*. – 2023. – V. 12(5). – P. 671. doi:10.3390/biology12050671.

89. Congues F. Targeting aryl hydrocarbon receptor to prevent cancer in barrier organs / F. Congues, P. Wang, J. Lee, D. Lin, A. Shahid, J. Xie, Y. Huang // *Biochem Pharmacol*. – 2024. – V. 223. – P. 116156. doi:10.1016/j.bcp.2024.116156.

90. Corrêa A.X.R. Genotoxicity assessment of particulate matter emitted from heavy-duty diesel-powered vehicles using the in vivo *Vicia faba* L. micronucleus test / A.X.R. Corrêa, S. Cotellet, M. Millet, C.A. Somensi, T.M. Wagner, C.M. Radetski // *Ecotoxicol Environ Saf.* – 2016. – V. 127. – P. 199-204. doi:10.1016/j.ecoenv.2016.01.026.

91. Cui J. GSTP1 and cancer: Expression, methylation, polymorphisms and signaling (Review) / J. Cui, G. Yin, L. Li, L. Tan, H. Wei, B. Liu, L. Deng, J. Tang, Y. Chen, L. Yi // *Int J Oncol.* – 2020. – V. 56, No 4. – P. 867-878. doi:10.3892/ijo.2020.4979.

92. da Silva F.M.R. Júnior. Genetic damage in coal and uranium miners / F.M.R. Júnior da Silva, R.A. Tavella, C.L.F. Fernandes, M. Dos Santos // *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* – 2021. – V. 866. – P. 503348. doi:10.1016/j.mrgentox.2021.503348.

93. Da Silva Pinto E.A. Genotoxicity in adult residents in mineral coal region-a cross-sectional study / E.A. Da Silva Pinto, E.M. Garcia, K.A. de Almeida, C.F.L. Fernandes, R.A. Tavella, M.C.F. Soares, P.R.M. Baisch, A.L. Muccillo-Baisch, F.M.R. da Silva Júnior // *Environ Sci Pollut Res Int.* – 2017. – V. 24, No 20. – P. 16806-16814. doi:10.1007/s11356-017-9312-y.

94. Das D.N. Influences of polycyclic aromatic hydrocarbon on the epigenome toxicity and its applicability in human health risk assessment / D.N. Das, N. Ravi // *Environ Res.* – 2022. – V. 213. – P. 113677. doi:10.1016/j.envres.2022.113677.

95. Dastgheib S.A. Association between XRCC2 Arg188His Polymorphism and Breast Cancer Susceptibility: A Systematic Review and Meta-Analysis / S.A. Dastgheib, S. Sayad, S. Azizi, N. Hajizadeh, F. Asadian, M. Karimi-Zarchi, M. Barahman, A. Shiri, M. Manzourolhojeh, K. Aghili, H. Neamatzadeh // *Asian Pac J Cancer Prev.* – 2024. – V. 25, No 1. – P. 43-55. doi:10.31557/apjcp.2024.25.1.43.

96. Datkhile K.D. Impact of Polymorphism in Base Excision Repair and Nucleotide Excision Repair Genes and Risk of Cervical Cancer: A Case-Control Study / K.D. Datkhile, P.P. Durgawale, M.N. Patil, R.A. Gudur, A.K. Gudur, S.R. Patil // *Asian*

Pac J Cancer Prev. – 2022. – V. 23, No 4. – P. 1291-1300. doi:10.31557/APJCP.2022.23.4.1291.

97. de Souza D.V. Is micronucleus assay in oral exfoliated cells a suitable biomarker for predicting cancer risk in individuals with oral potentially malignant disorders? A systematic review with meta-analysis / D.V. de Souza, B. Dos Anjos Rosario, W.M. Takeshita, M. de Barros Viana, M.R. Nagaoka, D.A. Dos Santos JNRibeiro // Pathol Res Pract. – 2022. – V. 232. – P. 153828. doi:10.1016/j.prp.2022.153828.

98. de Souza M.R. Use of Micronucleus Assays to Measure DNA Damage Caused by Coal Dust and Ash / M.R. de Souza, J. da Silva, R.R. Dihl // The Micronucleus Assay in Toxicology. – 2019. – Pt. 34. – P. 561-582. doi:10.1039/9781788013604-00561.

99. de Souza M.R. Shorter telomere length and DNA hypermethylation in peripheral blood cells of coal workers / M.R. de Souza, V.F.S. Kahl, P. Rohr, K. Kvitko, M. Cappetta, W.M. Lopes, J. da Silva // Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen. – 2018. – V. 836(Pt B). – P. 36-41. doi:10.1016/j.mrgentox.2018.03.009.

100. de Souza M.R. The influence of polymorphisms of xenobiotic-metabolizing and DNA repair genes in DNA damage, telomere length and global DNA methylation evaluated in open-cast coal mining workers / M.R. de Souza, P. Rohr, V.F.S. Kahl, K. Kvitko, M. Cappetta, W.M. Lopes, D. Simon, J. da Silva // Ecotoxicol Environ Saf. – 2019. – V. 189. – P. 109975. doi:10.1016/j.ecoenv.2019.109975.

101. Del Carmen García-Rodríguez M. Evaluation of Clastogenic/Aneugenic Damage Using the FISH Micronucleus Assay in Mice Exposed to Chromium (VI) / M. Del Carmen García-Rodríguez, Y. Santiago-Moreno, B. Molina-Alvarez, M. Altamirano-Lozano // In Vivo. – 2023. – V. 37, No 4. – P. 1666-1671. doi:10.21873/invivo.13252.

102. Deng H. ERCC1 which affects lipids metabolism and actin dynamics in coal workers' pneumoconiosis is a candidate biomarker for early warning and diagnosis / H. Deng, Y. Chen, M. Wu, T. Zhang // PLoS One. – 2024. – V. 19, No 9. – P. e0308082. doi:10.1371/journal.pone.0308082.

103. Deng H. Expression and functional SNP loci screen of ATM from coal worker's pneumoconiosis / H. Deng, T. Zhang, M.L. Wu, G.G. Yang, Y. Chen, Y.D. Liang // *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. – 2022. – V. 40, No 2. – P. 103-108. doi:10.3760/cma.j.cn121094-20201019-00590.

104. Deng S. Emission characteristics of Cd, Pb and Mn from coal combustion: Field study at coal-fired power plants in China / S. Deng, Y. Shi, Y. Liub, C. Zhang, X. Wang, Q. Cao, S. Li, F. Zhang // *Fuel Process Technol.* – 2014. – V. 126. – P. 469-475. doi:10.1016/j.fuproc.2014.05.022.

105. Deo P. Association between glycation biomarkers, hyperglycemia, and micronucleus frequency: A meta -analysis / P. Deo, M. Fenech, V.S. Dhillon // *Mutat Res Rev Mutat Res*. – 2021. – V. 787. – P. 108369. doi:10.1016/j.mrrev.2021.108369.

106. Depuydt J. RENEb intercomparison exercises analyzing micronuclei (Cytokinesis-block Micronucleus Assay) / J. Depuydt, A. Baeyens, S. Barnard, C. Beinke, A. Benedek, P. Beukes, I. Buraczewska, F. Darroudi, S. De Sanctis, I. Dominguez, O. Monteiro Gil, V. Hadjidekova, E. Kis, U. Kulka, F. Lista, K. Lumniczky, R. M'kacher, J. Moquet, D. Obreja, U. Oestreicher, J. Pajic, N. Pastor, L. Popova, E. Regalbuto, M. Ricoul, L. Sabatier, J. Slabbert, S. Sommer, A. Testa, H. Thierens, A. Wojcik, A. Vral // *Int J Radiat Biol.* – 2016. – V. 93, No 1. – P. 36-47. doi:10.1080/09553002.2016.1206231.

107. Dhillon VS. Genetic polymorphisms of genes involved in DNA repair and metabolism influence micronucleus frequencies in human peripheral blood lymphocytes / V.S. Dhillon, P. Thomas, G. Iarmarcovai, M. Kirsch-Volders, S. Bonassi, M. Fenech // *Mutagenesis*. – 2011. – V. 26, No 1. – P. 33-42. doi:[10.1093/mutage/geq076](https://doi.org/10.1093/mutage/geq076).

108. Di Bona M. Micronuclear collapse from oxidative damage / M. Di Bona, Y. Chen, A.S. Agustinus, A. Mazzagatti, M.A. Duran, M. Deyell, D. Bronder, J. Hickling, C. Hong, L. Scipioni, G. Tedeschi, S. Martin, J. Li, A. Ruzgaitė, N. Riaz, P. Shah, E.K. D'Souza, D.Z. Brodtman, S. Sidoli, B. Diplas, M. Jalan, N.Y. Lee, A. Ordureau, B. Izar, A.M. Laughney, S. Powell, E. Gratton, S. Santaguida, J. Maciejowski, P. Ly, T.M. Jeitner, S.F. Bakhoun // *Science*. – 2024. – V. 385, No 6712. – P. eadj8691. doi:10.1126/science.adj8691.

109. Di Bona M. Micronuclei and Cancer / M. Di Bona, S.F. Bakhoun // *Cancer Discov.* – 2024. – V. 14, No 2. – P. 214-226. doi:10.1158/[2159-8290.CD-23-1073](https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-23-1073).

110. Di Giorgio C. The micronucleus assay in human lymphocytes: screening for inter-individual variability and application to biomonitoring / C. Di Giorgio, M.P. De Méo, M. Laget, H. Guiraud, A. Botta, G. Duménil // *Carcinogenesis*. – 1994. – V. 15, No 2. – P. 313-317. doi:10.1093/carcin/15.2.313.

111. Ding F. Comprehensive Analysis of the Association Between the rs1138272 Polymorphism of the GSTP1 Gene and Cancer Susceptibility / F. Ding, J.P. Li, Y. Zhang, G.H. Qi, Z.C. Song, Y.H. Yu // *Front Physiol.* – 2019. – V. 9. – P. 1897. doi:10.3389/fphys.2018.01897.

112. Dmitrienko M.A. Coal-water slurries containing petrochemicals to solve problems of air pollution by coal thermal power stations and boiler plants: An introductory review / M.A. Dmitrienko, P.A. Strizhak // *Sci Total Environ.* – 2018. – V. 613-614. – P. 1117-1129. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.09.189.

113. Dogliotti E. DNA repair and genetic instability: Endogenous and exogenous sources of damage and hereditary syndromes / E. Dogliotti, M. Bignami, J. Hall, et al. // In: Wild C.P., Weiderpass E., Stewart B.W., editors. *World Cancer Report: Cancer research for cancer prevention*. – Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer. – 2020. – Chapter 3.4.

114. Dolinoy D.C. Epigenetic gene regulation: linking early developmental environment to adult disease / D.C. Dolinoy, J.R. Weidman, R.L. Jirtle // *Reprod Toxicol.* – 2007. – V. 23, No 3. – P. 297-307. doi:10.1016/j.reprotox.2006.08.012.

115. Domizio J.D. The cGAS–STING pathway drives type I IFN immunopathology in COVID-19 / J.D. Domizio, et al. // *Nature*. – 2022. – V. 603, No 7899. – P. 145-151. doi:10.1038/s41586-022-04421-w.

116. Donbak L. The genotoxic risk of underground coal miners from Turkey / L. Donbak, E. Rencuzogulları, A. Yavuz, M. Topaktas // *Mutat Res.* – 2005. – V. 588, No 2. – P. 82-87. doi:10.1016/j.mrgentox.2005.08.014.

117. Duan H. Biomarkers measured by cytokinesis-block micronucleus cytome assay for evaluating genetic damages induced by polycyclic aromatic hydrocarbons /

H. Duan, S. Leng, Z. Pan, Y. Dai, Y. Niu, C. Huang, P. Bin, Y. Wang, Q. Liu, W. Chen, Y. Zheng // *Mutat Res.* – 2009. – V. 677, No 1-2. – P. 93-99. doi:10.1016/j.mrgentox.2009.06.002.

118. Duan H. Global and MGMT promoter hypomethylation independently associated with genomic instability of lymphocytes in subjects exposed to high-dose polycyclic aromatic hydrocarbon / H. Duan, Z. He, J. Ma, B. Zhang, Z. Sheng, P. Bin, J. Cheng, Y. Niu, H. Dong, H. Lin, Y. Dai, B. Zhu, W. Chen, Y. Xiao, Y. Zheng // *Arch Toxicol.* – 2013. – V. 87, No 11. – P. 2013-2022. doi:10.1007/s00204-013-1046-0.

119. Ehrlich M. DNA hypomethylation and hemimethylation in cancer / M. Ehrlich, M. Lacey // *Adv Exp Med Biol.* – 2013. – V. 754. – P. 31-56. doi:10.1007/978-1-4419-9967-2_2.

120. Ek-Huchim J.P. Red Blood Cell Cytotoxicity Associated to Heavy Metals and Hydrocarbons Exposure in Flounder Fish from Two Regions of the Gulf of Mexico / J.P. Ek-Huchim, F. Árcega-Cabrera, A.L. May-Tec, M. Améndola-Pimenta, V. Ceja-Moreno, R. Rodríguez-Canul // *Bull Environ Contam Toxicol.* – 2022. – V. 108, No 1. – P. 78-84. doi:10.1007/s00128-021-03176-w.

121. Ensembl genome browser [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.ensembl.org/index.html> (дата обращения: 10.06.2024).

122. Eshkoor S.A. Does GSTP1 polymorphism contribute to genetic damage caused by ageing and occupational exposure? / S.A. Eshkoor, P. Ismail, S.A. Rahman, S. Moin // *Arh Hig Rada Toksikol.* – 2011. – V. 62, No 4. – P. 291-298. doi:10.2478/10004-1254-62-2011-2088.

123. Espitia-Pérez L. Cytogenetic instability in populations with residential proximity to open-pit coal mine in Northern Colombia in relation to PM10 and PM2.5 levels / L. Espitia-Pérez, J. da Silva, P. Espitia-Pérez, H. Brango, S. Salcedo-Arteaga, L.S. Hoyos-Giraldo, C.T. de Souza, J.F. Dias, D. Agudelo-Castañeda, A. Valdés Toscano, M. Gómez-Pérez, J.A.P. Henriques // *Ecotoxicol Environ Saf.* – 2018. – V. 148. – P. 453-466. doi:10.1016/j.ecoenv.2017.10.044.

124. Espitia-Pérez L. Influence of genetic polymorphisms of Hg metabolism and DNA repair on the frequencies of micronuclei, nucleoplasmic bridges, and nuclear buds

in communities living in gold mining areas / L. Espitia-Pérez, H. Brango, A. Peñata-Taborda, C. Galeano-Páez, M. Jaramillo-García, P. Espitia-Pérez, K. Pastor-Sierra, O. Bru-Cordero, L.S. Hoyos-Giraldo, I. Reyes-Carvajal, D. Saavedra-Trujillo, D. Ricardo-Caldera, A. Coneo-Pretelt // *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* – 2024. – V. 897. – P. 503790. doi:10.1016/j.mrgentox.2024.503790.

125. Espitia-Pérez L. Polymorphisms in metabolism and repair genes affects DNA damage caused by open-cast coal mining exposure / L. Espitia-Pérez, M.Q. Sosa, S. Salcedo-Arteaga, G. León-Mejía, L.S. Hoyos-Giraldo, H. Brango, K. Kvitko, J. da Silva, J.A. Henriques // *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* – 2016. – V. 808. – P. 38-51. doi:10.1016/j.mrgentox.2016.08.003.

126. Eukaryotic Promoter Database (EPD) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://epd.expasy.org/epd/> (дата обращения: 15.10.2024).

127. European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.ebi.ac.uk> (дата обращения: 14.01.2025).

128. Fahrer J. Decoding the genetic program of micronucleus formation: linking chromosomal instability to human disease / J. Fahrer // *Signal Transduct Target Ther.* – 2024. – V. 9, No 1. – P. 162. doi:10.1038/s41392-024-01869-2.

129. Fan Y. Gene expression and prognosis of x-ray repair cross-complementing family members in non-small cell lung cancer / Y. Fan, Z. Gao, X. Li, K. Yuan // *Bioengineered.* – 2021. – V. 12, No 1. – P. 6210-6228. doi:10.1080/21655979.2021.1971039.

130. Fan Y. Prevalence of dyslipidaemia and risk factors in Chinese coal miners: a cross-sectional survey study / Y. Fan, J.J Huang, C.M. Sun, N. Qiao, H.X. Zhang, H. Wang, R. Tao, Y.N. Shen, T. Wang // *Lipids Health Dis.* – 2017. – V. 16, No 1. – P. 161. doi:10.1186/s12944-017-0549-8.

131. Felten M.K. Retrospective exposure assessment to airborne asbestos among power industry / M.K. Felten, L. Knoll, C. Eisenhawer, D. Ackermann, K. Khatab, J. Hüdepohl, W. Zschiesche, T. Kraus // *J Occup Med Toxicol.* – 2010. – V. 5. – P. 5-15. doi:10.1186/1745-6673-5-15.

132. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a «cytome» assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death / Fenech M. // *Mutat Res.* – 2006. – V. 600. – № 2. – P. 58-66. doi:10.1016/j.mrfmmm.2006.05.028.

133. Fenech M. Micronuclei as biomarkers of DNA damage, aneuploidy, inducers of chromosomal hypermutation and as sources of pro-inflammatory DNA in humans / M. Fenech, S. Knasmueller, C. Bolognesi, N. Holland, S. Bonassi, M. Kirsch-Volders // *Mutat Res Rev Mutat Res.* – 2020. – V. 786. – P. 108342. doi:10.1016/j.mrrev.2020.108342.

134. Fenech M. Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds induced in folic acid deficient human lymphocytes-evidence for breakage-fusion-bridge cycles in the cytokinesis-block micronucleus assay / M. Fenech, J.W. Crott // *Mutat Res.* – 2002. – V. 504(1-2). – P. 131-136. doi:10.1016/s0027-5107(02)00086-6.

135. 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. – V. 26. – P. 43-49. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq050>.

136. Fenech M. "Micronuclei and Disease" special issue: Aims, scope, and synthesis of outcomes / M. Fenech, S. Knasmueller, L.E. Knudsen, M. Kirsch-Volders, P. Deo, B. Franzke, H. Stopper, M.G. Andreassi, C. Bolognesi, V.S. Dhillon, B. Laffon, K.H. Wagner, S. Bonassi // *Mutat Res Rev Mutat Res.* – 2021. – V. 788. – P. 108384. doi:10.1016/j.mrrev.2021.108384.

137. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay / M. Fenech // *Nat Protoc.* – 2007. – V. 2, No 5. – P. 1084-1104. doi:10.1038/nprot.2007.77.

138. Fenech M. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells / M. Fenech, M. Kirsch-Volders, A.T. Natarajan, J. Surrallés, J.W. Crott, J. Parry, H. Norppa, D.A. Eastmond, J.D. Tucker, P. Thomas // *Mutagenesis.* – 2011. – V. 26, No 1. – P. 125-132. doi:10.1093/mutage/geq052.

139. Fenech M. Objectives and achievements of the HUMN project on its 26th anniversary / M. Fenech, N. Holland, E. Zeiger, P. Wushou Chang, M. Kirsch-Volders,

C. Bolognesi, H. Stopper, L.E. Knudsen, S. Knasmueller, A. Nersesyan, P. Thomas, V. Dhillon, P. Deo, B. Franzke, M.-G. Andreassi, B. Laffon, K.-H. Wagner, H. Norppa, J. da Silva, E. V. Volpi, R. Wilkins, S. Bonassi // *Mutat Res Rev Mutat Res.* – 2024. – V. 794. – P. 108511. doi:10.1016/j.mrrev.2024.108511.

140. Fenech M. The cytokinesis-block micronucleus technique: A detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations / M. Fenech // *Mutat Res.* – 1993. – V. 285. – P. 35-44. doi:10.1016/0027-5107(93)90049-1.

141. Ferragut Cardoso A.P. miRNA dysregulation is an emerging modulator of genomic instability / A.P. Ferragut Cardoso, M. Banerjee, A.N. Nail, A. Lykoudi, J.C. States // *Semin Cancer Biol.* – 2021. – V. 76. – P. 120-131. doi:10.1016/j.semcancer.2021.05.004.

142. Ferraz G.A. Effects of age on the frequency of micronuclei and degenerative nuclear abnormalities / G.A. Ferraz, A. de O. Costa Neto, E. de M.M. Cerqueira, J.R. Meireles // *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia.* – 2016. – V. 19, No 4. – P. 627-634. doi:10.1590/1809-98232016019.150155.

143. Fisher G.L. Biomedically relevant chemical and physical properties of coal combustion products // *Environ. Health Perspect.* – 1983. – V. 47. – P. 189-199.

144. Fu Y. OGG1 methylation mediated the effects of cell cycle and oxidative DNA damage related to PAHs exposure in Chinese coke oven workers / Y. Fu, Y. Niu, B. Pan, Y. Liu, B. Zhang, X. Li, A. Yang, J. Nie, R. Wang, J. Yang // *Chemosphere.* – 2019. – V. 224. – P. 48-57. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.02.114.

145. Ganie S.Y. Arsenic toxicity: sources, pathophysiology and mechanism / S.Y. Ganie, D. Javaid, Y.A. Hajam, M.S. Reshi // *Toxicol Res (Camb).* – 2023. – V. 13, No 1. – P. tfad111. doi:10.1093/toxres/tfad111.

146. Gao Y. Ovarian cancer diagnosis and prognosis based on cell-free DNA methylation / Y. Gao, N. Zhou, J. Liu // *Cancer Control.* – 2024. – V. 31. – P. 10732748241255548. doi:10.1177/10732748241255548.

147. Gauthier B.R. Nuclear Envelope Integrity in Health and Disease: Consequences on Genome Instability and Inflammation / B.R. Gauthier, V. Comaills // *Int J Mol Sci.* – 2021. – V. 22, No 14. – P. 7281. doi:10.3390/ijms22147281.

148. GDBPOP. URL: <https://gdbpop.nir.cspfmba.ru> (дата обращения: 29.10.2025).

149. Ginsberg G. Polymorphism in the DNA repair enzyme XRCC1: utility of current database and implications for human health risk assessment / G. Ginsberg, K. Angle, K. Guyton, B. Sonawane // *Mutat Res.* – 2011. – V. 727, No 1-2. – P. 1-15. doi:10.1016/j.mrrev.2011.02.001.

150. gnomAD. URL: <http://gnomad-sg.org> (дата обращения: 29.10.2025).

151. Go L.H. Lung disease and coal mining: what pulmonologists need to know / L.H. Go, S.D. Krefft, R.A. Cohen, C.S. Rose // *Curr Opin Pulm Med.* – 2016. – V. 22, No 2. – P. 170-178. doi:10.1097/MCP.0000000000000256.

152. Goel N. Role of DNA methylation in human age prediction / N. Goel, V.K. Garg // *Mech Ageing Dev.* – 2017. – V. 166. – P. 33-41. doi:10.1016/j.mad.2017.08.012.

153. Goetz W. The effect of radiation quality on genomic DNA methylation profiles in irradiated human cell lines / W. Goetz, M.N. Morgan, J.E. Baulch // *Radiat Res.* – 2011. – V. 175(5). – P. 575-587. doi:10.1667/RR2390.1.

154. Gohari M. Association between the p53 codon 72 polymorphism and primary open-angle glaucoma risk: Meta-analysis based on 11 case-control studies / M. Gohari, H. Neámatzadeh, M.A. Jafari, M. Mazaheri, M. Zare-Shehneh, E. Abbasi-Shavazi // *Indian J Ophthalmol.* – 2016. – V. 64(10). – P. 756-761. doi:10.4103/0301-4738.195002.

155. Goode E.L. Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk / E.L. Goode, C.M. Ulrich, J.D. Potter // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2002. – V. 11, No 12. – P. 1513-1530.

156. Graber J.M. Respiratory disease mortality among US coal miners; results after 37 years of follow-up / J.M. Graber, L.T. Stayner, R.A. Cohen, L.M. Conroy,

M.D. Attfield // *Occup Environ Med.* – 2014. – V. 71, No 1. – P. 30-39. doi:10.1136/oemed-2013-101597.

157. GTE_x Portal [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://gtexportal.org/home/> (дата обращения: 13.02.2026).

158. Guo H. Nickel Carcinogenesis Mechanism: DNA Damage / H. Guo, H. Liu, H. Wu, H. Cui, J. Fang, Z. Zuo, J. Deng, Y. Li, X. Wang, L. Zhao // *Int J Mol Sci.* – 2019. – V. 20, No 19. – P. 4690. doi:10.3390/ijms20194690.

159. Guo Q. XRCC1 codon 280 polymorphism and susceptibility to lung cancer: a meta-analysis of the literatures / Q. Guo, W. Yang, J. Zhai, F. Han, C. Wang // *Tumour Biol.* – 2013. – V. 34, No 5. – P. 2989-2994. doi:10.1007/s13277-013-0863-3.

160. Guo X. Telomere length and micronuclei trajectories in APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease: Correlating with cognitive impairment and brain amyloidosis in a sexually dimorphic manner / X. Guo, J. Li, Y. Qi, J. Chen, M. Jiang, L. Zhu, Z. Liu, H. Wang, G. Wang, X. Wang // *Aging Cell.* – 2024. – V. 23(5). – P. e14121. doi:10.1111/accel.14121.

161. Gupta P. Association of RAD51, XRCC1, XRCC2, and XRCC3 Polymorphisms with Risk of Breast Cancer / P. Gupta, V. Sambyal, K. Guleria, M.S. Uppal, M. Sudan // *Genet Test Mol Biomarkers.* – 2023. – V. 27, No 7. – P. 205-214. doi:10.1089/gtmb.2023.0012.

162. Haaf T. Sequestration of mammalian Rad51-recombination protein into micronuclei / T. Haaf, E. Raderschall, G. Reddy, D.C. Ward, C.M. Radding, E.I. Golub // *J Cell Biol.* – 1999. – V. 144. – P. 11-20. doi:10.1083/jcb.144.1.11.

163. Hardy-Weinberg Equilibrium Calculator [Электронный ресурс] // [had2know.org](https://www.had2know.org/academics/hardy-weinberg-equilibrium-calculator-2-alleles.html). – Режим доступа: <https://www.had2know.org/academics/hardy-weinberg-equilibrium-calculator-2-alleles.html> (дата обращения: 29.10.2025).

164. Hattori N. DNA Methylation Analysis / N. Hattori, Y.Y. Liu, T. Ushijima // *Methods Mol Biol.* – 2023. – V. 2691. – P. 165-183. doi:10.1007/978-1-0716-3331-1_13.

165. He Y.F. Association of ERCC6 gene polymorphisms and DNA damage in lymphocytes among coke oven workers / Y.F. He, F. Wang, X.B. Yang, Y. Bai,

Y. Yang, J. Wang // *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. – 2013. – V. 31, No 11. – P. 815-819.

166. Hellman A. Extensive sequence-influenced DNA methylation polymorphism in the human genome / A. Hellman, A. Chess // *Epigenetics Chromatin*. – 2010. – V. 3(1). – P. 11. doi:10.1186/1756-8935-3-11.

167. Hendryx M. Impacts of Coal Use on Health / M. Hendryx, K.J. Zullig, J. Luo // *Annu Rev Public Health*. – 2020. – V. 41. – P. 397-415. doi:10.1146/annurev-publhealth-040119-094104.

168. Herceg Z. Smoking-associated DNA methylation changes: no smoke without fire / Z. Herceg, S. Ambatipudi // *Epigenomics*. – 2019. – V. 11, No 10. – P. 1117-1119. doi:10.2217/epi-2019-0136.

169. Hongzhen Bai. Chronic polycyclic aromatic hydrocarbon exposure causes DNA damage and genomic instability in lung epithelial cells / Hongzhen Bai, M. Wu, H. Zhang, G. Tang // *Oncotarget*. – 2017. – V. 8. – P. 79034-79045. doi:10.18632/oncotarget.20891.

170. Horvat D. Genetic effect of low doses of radiation in occupationally exposed workers in coal mines and in coal fired plants / D. Horvat, A. Bauman, J. Racić // *Radiat Environ Biophys*. – 1980. – V. 18, No 2. – P. 91-97. doi:10.1007/BF01326048.

171. Hoyos-Giraldo L.S. Gene-specific promoter methylation is associated with micronuclei frequency in urothelial cells from individuals exposed to organic solvents and paints / L.S. Hoyos-Giraldo, L.F. Escobar-Hoyos, D. Saavedra-Trujillo, I. Reyes-Carvajal, A. Muñoz, E. Londoño-Velasco, A. Tello, N. Cajas-Salazar, M. Ruíz, S. Carvajal, R.M. Santella // *J Expo Sci Environ Epidemiol*. – 2016. – V. 26, No 3. – P. 257-262. doi:10.1038/jes.2015.28.

172. Huang L.J. Association between XRCC1 polymorphisms and chromosome damage in workers exposed to benzene in jewelcrafting industry / L.J. Huang, Z.M. Peng, X.Z. Zhang, J.B. Yin, H.C. Chi // *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. – 2016. – V. 34, No 6. – P. 416-420. doi:10.3760/cma.j.issn.1001-9391.2016.06.004.

173. Huang R. DNA damage repair: historical perspectives, mechanistic pathways and clinical translation for targeted cancer therapy / R. Huang, P.K. Zhou // *Signal Transduct Target Ther.* – 2021. – V. 6, No 1. – P. 254. doi:10.1038/s41392-021-00648-7.

174. Hunter A. DNA methylation is associated with altered gene expression in AMD / A. Hunter, P.A. Spechler, A. Cwanger, Y. Song, Z. Zhang, G.S. Ying, A.K. Hunter, E. Dezoeten, J.L. Dunaief // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2012. – V. 53, No 4. – P. 2089-105. doi:10.1167/iovs.11-8449.

175. IARC Working Group. Benzo[a]Pyrene // *IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans.* – 2010.

176. IARC. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. V. 68, Silica, some silicates, coal dust, and para-aramid fibrils // *IARC Pres.* – 1997.

177. Idrees F. Assessment of Genetic Damage in Coal Miners of Punjab, Pakistan / F. Idrees, A.I. Batool, M.F.U. Rehman, S.S. Habib, A. Akram // *Biol Trace Elem Res.* – 2023. – V. 201, No 7. – P. 3144-3151. doi:10.1007/s12011-022-03412-2.

178. Isidro Montes I. Respiratory disease in a cohort of 2579 coal miners followed up over a 20-year period / I. Isidro Montes, G. Rego Fernández, J. Reguero, M.A. Cosío Mir, E. García-Ordás, J.L. Antón Martínez, C. Martínez González // *Chest.* – 2004. – V. 126, No 2. – P. 622-629. doi:10.1378/chest.126.2.622.

179. Isubakova D.S. Methylation of Promoters of Apoptosis-Related Genes in Blood Lymphocytes of Workers Exposed to Occupational External Irradiation / D.S. Isubakova, O.S. Tsymbal, E.V. Bronikovskaya, N.V. Litviakov, I.V. Milto, R.M. Takhauov // *Bull Exp Biol Med.* – 2021. – V. 171, No 3. – P. 357-361. doi:10.1007/s10517-021-05227-y.

180. Ivens E. Junctions in DNA: underexplored targets for therapeutic intervention / E. Ivens, M.M.D. Cominetti, M. Searcey // *Bioorg Med Chem.* – 2022. – V. 69. – P. 116897. doi:10.1016/j.bmc.2022.116897.

181. Izzi B. Allele-specific DNA methylation reinforces PEAR1 enhancer activity / B. Izzi, M. Pistoni, K. Cludts, P. Akkor, D. Lambrechts, C. Verfaillie, P. Verhamme,

K. Freson, M.F. Hoylaerts // *Blood*. – 2016. – V. 128, No 7. – P. 1003-1012. doi:10.1182/blood-2015-11-682153.

182. Jayawardena U.A. Cytogenotoxicity evaluation of a heavy metal mixture, detected in a polluted urban wetland: Micronucleus and comet induction in the Indian green frog (*Euphlyctis hexadactylus*) erythrocytes and the *Allium cepa* bioassay / U.A. Jayawardena, D.D. Wickramasinghe, P.V. Udagama // *Chemosphere*. – 2021. – V. 277. – P. 130278. doi:10.1016/j.chemosphere.2021.130278.

183. Ji F. Relationship between genetic polymorphisms of phase I and phase II metabolizing enzymes and DNA damage of workers exposed to vinyl chloride monomer / F. Ji, S. Zhu, P. Sun, W. Wang // *Wei Sheng Yan Jiu*. – 2009. – V. 38, No 1. – P. 7-11.

184. Jiménez-Garza O. Promoter methylation status in genes related with inflammation, nitrosative stress and xenobiotic metabolism in low-level benzene exposure: Searching for biomarkers of oncogenesis / O. Jiménez-Garza, L. Guo, H.M. Byun, M. Carrieri, G.B. Bartolucci, J. Zhong, A.A. Baccarelli // *Food Chem Toxicol*. – 2017. – V. 109(Pt 1). – P. 669-676. doi:10.1016/j.fct.2017.08.019.

185. Jiménez-Garza O. Toxicomethylomics revisited: A state-of-the-science review about DNA methylation modifications in blood cells from workers exposed to toxic agents / O. Jiménez-Garza, M. Ghosh, T.M. Barrow, L. Godderis // *Front Public Health*. – 2023. – V. 11. – P. 1073658. doi:10.3389/fpubh.2023.1073658.

186. Joo J. Nucleotide Excision Repair Gene ERCC2 and ERCC5 Variants Increase Risk of Uterine Cervical Cancer / J. Joo, K.A. Yoon, T. Hayashi, S.Y. Kong, H.J. Shin, B. Park, Y.M. Kim, S.H. Hwang, J. Kim, A. Shin, J.Y. Kim // *Cancer Res Treat*. – 2016. – V. 48, No 2. – P. 708-14. doi:10.4143/crt.2015.098.

187. Karapetyan A. Morphological abnormalities of peripheral blood cells among patients with COVID-19 disease / A. Karapetyan, L. Niazyan, R. Shushanyan, T. Abgaryan, S. Iritsyan, T. Galechyan, K. Sargsyan, A. Grigoryan // *Heliyon*. – 2024. – V. 10, No 2. – P. e24527. doi:10.1016/j.heliyon.2024.e24527.

188. Kaur R. Mineralogical Studies of Coal Fly Ash for Soil Application in Agriculture / R. Kaur, D. Goyal // *Particulate Science and Technology*. – 2015. – V. 33, No 1. – P. 76-80. doi:10.1080/02726351.2014.938378.

189. Kaur S. Effect of occupation on lipid peroxidation and antioxidant status in coal-fired thermal plant workers / S. Kaur, M.S. Gill, K. Gupta, K. Manchanda // *Int J Appl Basic Med Res*. – 2013. – V. 3, No 2. – P. 93-7. doi:10.4103/2229-516X.117065.

190. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.kegg.jp> (дата обращения: 6.02.2026).

191. Khan I.H. Correlation of ERCC5 polymorphisms and linkage disequilibrium associated with overall survival and clinical outcome to chemotherapy in breast cancer / I.H. Khan, N. Masood, A. Yasmin // *Front Oncol*. – 2023. – V. 12. – P. 1091514. doi:10.3389/fonc.2022.1091514.

192. Khodadadi E. Current Advances in DNA Methylation Analysis Methods / E. Khodadadi, L. Fahmideh, E. Khodadadi, S. Dao, M. Yousefi, S. Taghizadeh, M. Asgharzadeh, B. Yousefi, H.S. Kafil // *Biomed Res Int*. – 2021. – V. 2021. – P. 8827516. doi:10.1155/2021/8827516.

193. Kirnap N.G. GA Genotype of the Arg280His Polymorphism on The XRCC1 Gene: Genetic Susceptibility Genotype in Differentiated Thyroid Carcinomas? / N.G. Kirnap, N.B. Tutuncu, Y.Y. Yalçın, H. Cebi, T. Tutuncu, H. Verdi, F.B. Ataç // *Balkan J Med Genet*. – 2021. – V. 24, No 1. – P. 73-80. doi:10.2478/BJMG-2021-0003.

194. Kirsch-Volders M. Commentary: critical questions, misconceptions and a road map for improving the use of the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus assay for in vivo biomonitoring of human exposure to genotoxic chemicals-a HUMN project perspective / M. Kirsch-Volders, S. Bonassi, S. Knasmueller, N. Holland, C. Bolognesi, M. Fenech // *Mutat Res Rev Mutat Res*. – 2014 – V. 759. – P. 49-58. doi:10.1016/j.mrrev.2013.12.001.

195. Kirsch-Volders M. Micronuclei, inflammation and auto-immune disease / M. Kirsch-Volders, C. Bolognesi, M. Ceppi, M. Bruzzone, M. Fenech // *Mutat Res Rev Mutat Res*. – 2020. – V. 786. – P. 108335. doi:10.1016/j.mrrev.2020.108335.

196. Kishino Y. Species differences in micronucleus induction of the clastogenic compounds associated with drug metabolic profile / Y. Kishino, T. Hasegawa, T. Yamoto, K. Mori // *J Toxicol Sci.* – 2019. – V. 44, No 10. – P. 701-709. doi:10.2131/jts.44.701.
197. Kopjar N. Micronucleus assay in Croatian general population / N. Kopjar, V. Kasuba, R. Rozgaj, M. Milic // *Arh Hig Rada Toksikol.* – 2010. – V. 61. – P. 219-234. doi:10.2478/10004-1254-61-2010-2027.
198. Kopytov A.I. Development of coal production and the challenges of ecosystem conservation in Kuzbass / A.I. Kopytov, Y.A. Manakov, A.N. Kupriyanov // *J. Ugol.* – 2020. – V. 3. – P. 72-77.
199. Kovatsi L. p16 promoter methylation in Pb²⁺-exposed individuals / L. Kovatsi, E. Georgiou, A. Ioannou, C. Haitoglou, G. Tzimagiorgis, H. Tsoukali, S. Kouidou // *Clin Toxicol (Phila).* – 2010. – V. 48, No 2. – P. 124-128. doi:10.3109/15563650903567091.
200. Krueger F. Bismark: a flexible aligner and methylation caller for Bisulfite-Seq applications / F. Krueger, S.R. Andrews // *Bioinformatics.* – 2011. – V. 27, No 11. – P. 1571-1572. doi:10.1093/bioinformatics/btr167.
201. Kruitwagen L. Coal in the 21st Century: Energy Needs, Chemicals and Environmental Controls / L. Kruitwagen, S. Collins, B. Caldecott // ed. R.E. Hester, R.M. Harrison, The Royal Society of Chemistry. – 2017. – P. 58-99.
202. Krupa R. DNA damage and repair in endometrial cancer in correlation with the hOGG1 and RAD51 genes polymorphism / R. Krupa, A. Sobczuk, T. Popławski, K. Wozniak, J. Blasiak // *Mol Biol Rep.* – 2011. – V. 38, No 2. – P. 1163-1170. doi:10.1007/s11033-010-0214-z.
203. Krupina K. Causes and consequences of micronuclei / K. Krupina, A. Goginashvili, D.W. Cleveland // *Curr Opin Cell Biol.* – 2021. – V. 70. – P. 91-99. doi:10.1016/j.ceb.2021.01.004.
204. Ku P. Examination of mercury contamination from a recent coal ash spill into the Dan River, North Carolina, United States / P. Ku, M.T. Tsui, S. Liu, K.B. Corson, A.S. Williams, M.R. Monteverde, G.E. Woerndle, A.E. Hershey, P.A. Rublee //

Ecotoxicol Environ Saf. – 2021. – V. 208. – P. 111469. doi:10.1016/j.ecoenv.2020.111469.

205. Kurita H. Effects of Environmental Non-Essential Toxic Heavy Metals on Epigenetics During Development / H. Kurita, K. Ohuchi, M. Inden // *Toxics*. – 2025. – V. 13, No 3. – P. 167. doi:10.3390/toxics13030167.

206. Kvitko K. Susceptibility to DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides, to tannery chemicals and to coal dust during mining / K. Kvitko, E. Bandinelli, J.A. Henriques, V.D. Heuser, P. Rohr, F.R. da Silva, N.B. Schneider, S. Fernandes, C. Ancines, J. da Silva // *Genet Mol Biol*. – 2012. – V. 35, No 4. – P. 1060-1068. doi:10.1590/s1415-47572012000600022.

207. Ladeira C. The use of genotoxicity biomarkers in molecular epidemiology: Applications in environmental, occupational and dietary studies / C. Ladeira, L. Smajdova // *AIMS Genet*. – 2017. – V. 4. – P. 166-191. doi:10.3934/genet.2017.3.166.

208. Landis J.R. The measurement of observer agreement for categorical data / J.R. Landis, G.G. Koch // *Biometrics*. – 1977. – V. 33, No 1. – P. 159-174.

209. Landrigan P.J. Human Health and Ocean Pollution / P.J. Landrigan, J.J. Stegeman, L.E. Fleming, D. Allemand, D.M. Anderson, L.C. Backer, F. Brucker-Davis, N. Chevalier, L. Corra, D. Czerucka, M.D. Bottein, B. Demeneix, M. Depledge, D.D. Deheyn, C.J. Dorman, P. Fénichel, S. Fisher, F. Gaill, F. Galgani, W.H. Gaze, L. Giuliano, P. Grandjean, M.E. Hahn, A. Hamdoun, P. Hess, B. Judson, A. Laborde, J. McGrade, J. Mu, A. Mustapha, M. Neira, R.T. Noble, M.L. Pedrotti, C. Reddy, J. Rocklöv, U.M. Scharler, H. Shanmugam, G. Taghian, J.A.J.M. van de Water, L. Vezzulli, P. Weihe, A. Zeka, H. Raps, P. Rampal // *Ann Glob Health*. – 2020. – V. 86, No 1. – P. 151. doi:10.5334/aogh.2831.

210. Langie S.A. Causes of genome instability: the effect of low dose chemical exposures in modern society / S.A. Langie, G. Koppen, D. Desaulniers, F. Al-Mulla, R. Al-Temaimi, A. Amedei, A. Azqueta, W.H. Bisson, D.G. Brown, G. Brunborg, A.K. Charles, T. Chen, A. Colacci, F. Darroudi, S. Forte, L. Gonzalez, R.A. Hamid, L.E. Knudsen, L. Leyns, A. Lopez de Cerain Salsamendi, L. Memeo, C. Mondello,

C. Mothersill, A.K. Olsen, S. Pavanello, J. Raju, E. Rojas, R. Roy, E.P. Ryan, P. Ostrosky-Wegman, H.K. Salem, A.I. Scovassi, N. Singh, M. Vaccari, F.J. Van Schooten, M. Valverde, J. Woodrick, L. Zhang, N. van Larebeke, M. Kirsch-Volders, A.R. Collins // *Carcinogenesis*. – 2015. – V. 36, No 1. – P. S61-88. doi:10.1093/carcin/bgv031.

211. Law P.-P. DNA methylation at the crossroads of gene and environment interactions / P.-P. Law, M.L. Holland // *Essays in Biochemistry*. – 2019. – V. 63, No 6. – P. 717-726. doi:10.1042/EBC20190031.

212. Leenen F.A. DNA methylation: conducting the orchestra from exposure to phenotype? / F.A. Leenen, C.P. Muller, J.D. Turner // *Clin Epigenetics*. – 2016. – V. 8, No 1. – P. 92. doi: 10.1186/s13148-016-0256-8.

213. Leesang T. Micronutrient regulation of the DNA methylome / T. Leesang, P. Lyon, J. Pinzone, L. Cimmino // *Front. Epigenet. Epigenom.* – 2024. – V. 2. – P. 1409355. doi:10.3389/freac.2024.1409355.

214. Leng S. The A/G allele of rs16906252 predicts for MGMT methylation and is selectively silenced in premalignant lesions from smokers and in lung adenocarcinomas / S. Leng, A.M. Bernauer, C. Hong, K.C. Do, C.M. Yingling, K.G. Flores, M. Tessema, C.S. Tellez, R.P. Willink, E.A. Burki, M.A. Picchi, C.A. Stidley, M.D. Prados, J.F. Costello, F.D. Gilliland, R.E. Crowell, S.A. Belinsky // *Clin Cancer Res.* – 2011. – V. 17, No 7. – P. 2014-2023. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-3026.

215. Leng S. Associations between XRCC1 and ERCC2 polymorphisms and DNA damage in peripheral blood lymphocyte among coke oven workers / S. Leng, J. Cheng, Z. Pan, C. Huang, Y. Niu, Y. Dai, B. Li, F. He, Y. Zheng // *Biomarkers*. – 2004. – V. 9(4-5). – P. 395-406. doi:10.1080/13547500400015618.

216. Leng S. Effects of genetic polymorphisms of metabolic enzymes on cytokinesis-block micronucleus in peripheral blood lymphocyte among coke-oven workers / S. Leng, Y. Dai, Y. Niu, Z. Pan, X. Li, J. Cheng, F. He, Y. Zheng // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2004. – V. 13, No 10. – P. 1631-1639. doi:10.1158/1055-9965.EPI-04-0156.

217. Leng S. The association of XRCC1 haplotypes and chromosomal damage levels in peripheral blood lymphocyte among coke-oven workers / S. Leng, J. Cheng, L. Zhang, Y. Niu, Y. Dai, Z. Pan, B. Li, F. He, Y. Zheng // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2005. – V. 14, No 5. – P. 1295-301. doi:10.1158/1055-9965.EPI-04-0690.

218. Leonardi S. Early genotoxic damage through micronucleus test in exfoliated buccal cells and occupational dust exposure in construction workers: a cross-sectional study in L'Aquila, Italy / S. Leonardi, A.M. Poma, S. Colafarina, F. D'Aloisio, M. Scatigna, O. Zarivi, R. Mastrantonio, L. Tobia, L. Fabiani // *Ecotoxicol Environ Saf.* – 2020. – V. 203. – P. 110989. doi:10.1016/j.ecoenv.2020.110989.

219. León-Mejía G. Assessment of DNA damage in coal open-cast mining workers using the cytokinesis-blocked micronucleus test and the comet assay / G. León-Mejía, L. Espitia-Pérez, L.S. Hoyos-Giraldo, J. Da Silva, A. Hartmann, J.A.P. Henriques, M. Quintana // *Sci Total Environ.* – 2011. – V. 409, No 4. – P. 686-691. doi:10.1016/j.scitotenv.2010.10.049.

220. León-Mejía G. Cytokinesis-block micronucleus cytome (CBMN-CYT) assay and its relationship with genetic polymorphisms in welders / G. León-Mejía, M. Quintana-Sosa, J. Luna-Carrascal, Y.S. De Moya, I. Luna Rodríguez, M. Anaya-Romero, C. Trindade, N. Navarro-Ojeda, M. Ruiz Benitez, K. Franco Valencia, L. Oliveros Ortiz, A. Acosta-Hoyos, J.A. Pêgas Henriques, J. da Silva // *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* – 2021. – V. 872. – P. 503417. doi:10.1016/j.mrgentox.2021.503417.

221. León-Mejía G. Cytotoxicity and genotoxicity induced by coal and coal fly ash particles samples in V79 cells / G. León-Mejía, L.F. Silva, M.S. Civeira, M.L. Oliveira, M. Machado, I.V. Villela, A. Hartmann, S. Premoli, D.S. Corrêa, J. Da Silva, J.A. Henriques // *Environ Sci Pollut Res Int.* – 2016. – V. 23(23). – P. 24019-24031. doi:10.1007/s11356-016-7623-z.

222. León-Mejía G. Intratracheal instillation of coal and coal fly ash particles in mice induces DNA damage and translocation of metals to extrapulmonary tissues / G. León-Mejía, M.N. Machado, R.T. Okuro, L.F.O. Silva, C. Telles, J. Dias,

L. Niekraszewicz, J. Da Silva, J.A.P. Henriques, W.A. Zin // *Sci Total Environ.* – 2018. – V. 625. – P. 589-599. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.12.283.

223. Li C. Lead exposure suppressed ALAD transcription by increasing methylation level of the promoter CpG islands / C. Li, M. Xu, S. Wang, X. Yang, S. Zhou, J. Zhang, Q. Liu, Y. Sun // *Toxicol Lett.* – 2011. – V. 203, No 1. – P. 48-53. doi:10.1016/j.toxlet.2011.03.002.

224. Li R. Association of APP gene polymorphisms and promoter methylation with essential hypertension in Guizhou: a case-control study / R. Li, J. Song, A. Zhao, X. Diao, T. Zhang, X. Qi, Z. Guan, Y. An, L. Ren, C. Wang, Y. He // *Hum Genomics.* – 2023. – V. 17, No 1. – P. 25. doi:10.1186/s40246-023-00462-y.

225. Li Y. Cytochrome P450 1A1 and 1B1 promoter CpG island methylation regulates rat liver injury induced by isoniazid / Y. Li, Y. Li, G. Zheng, L. Zhu, J. Wang, S. Mu, Q. Ren, F. Feng // *Mol Med Rep.* – 2018. – V. 17, No 1. – P. 753-762. doi:10.3892/mmr.2017.7929.

226. Li Y. The regulation mechanisms and the Lamarckian inheritance property of DNA methylation in animals / Y. Li, X. Xu, T. Liu, H. Chang, X. Yang // *Mamm Genome.* – 2021. – V. 32, No 3. – P. 135-152. doi:10.1007/s00335-021-09870-8.

227. Li Y.Y. ENPP1 K121Q polymorphism and type 2 diabetes mellitus in the Chinese population: a meta-analysis including 11,855 subjects // *Metabolism.* – 2012. – V. 61, No 5. – P. 625-633. doi:10.1016/j.metabol.2011.10.002.

228. Liu A. Alterations of DNA methylation and mRNA levels of CYP1A1, GSTP1, and GSTM1 in human bronchial epithelial cells induced by benzo[a]pyrene / A. Liu, X. Li, Z. Hao, J. Cao, H. Li, M. Sun, Z. Zhang, R. Liang, H. Zhang // *Toxicol Ind Health.* – 2022. – V. 38, No 3. – P. 127-138. doi:10.1177/07482337211069233.

229. Liu N. Haplotype-association analysis / N. Liu, K. Zhang, H. Zhao // *Adv Genet.* – 2008. – V. 60. – P. 335-405. doi:10.1016/S0065-2660(07)00414-2.

230. Liu Q. X-ray cross-complementing family: the bridge linking DNA damage repair and cancer / Q. Liu, Q. Peng, B. Zhang, Y. Tan // *J Transl Med.* – 2023. – V. 21, No 1. – P. 602. doi:10.1186/s12967-023-04447-2.

231. Liu Q.-H. XRCC1 serves as a potential prognostic indicator for clear cell renal cell carcinoma and inhibits its invasion and metastasis through suppressing MMP-2 and MMP-9 / Q.-H. Liu, Y. Wang, H. Yong, P. Hou, Y. Pan, J. Bai, J. Zheng // *Oncotarget*. – 2017. – V. 8, No 65. – P. 109382-109392. doi:10.18632/oncotarget.22680.

232. López-Gil L. Genomic Instability and Epigenetic Changes during Aging / L. López-Gil, A. Pascual-Ahuir, M. Proft // *Int J Mol Sci*. – 2023. – V. 24, No 18. – P. 14279. doi:10.3390/ijms241814279.

233. Lu Z. Characterization of the function and clinical value of ERCC family genes in lung adenocarcinoma / Z. Lu, G. Hou // *Front Oncol*. – 2024. – V. 14. – P. 1476100. doi:10.3389/fonc.2024.1476100.

234. Luna-Carrascal J. Genotoxicity biomarkers in car repair workers from Barranquilla, a Colombian Caribbean City / J. Luna-Carrascal, M. Quintana-Sosa, J. Olivero-Verbel // *J Toxicol Environ Health A*. – 2022. – V. 85, No 7. – P. 263-275. doi:10.1080/15287394.2021.2000542.

235. Mackenzie K.J. cGAS surveillance of micronuclei links genome instability to innate immunity / K.J. Mackenzie, P. Carroll, C.A. Martin, O. Murina, A. Fluteau, D.J. Simpson, N. Olova, H. Sutcliffe, J.K. Rainger, A. Leitch, R.T. Osborn, A.P. Wheeler, M. Nowotny, N. Gilbert, T. Chandra, M.A.M. Reijns, A.P. Jackson // *Nature*. – 2017. – V. 548, No 7668. – P. 461-465. doi:10.1038/nature23449.

236. Madhavi M. Coal in the twenty-first century: a climate of change and uncertainty / M. Madhavi, W.J. Nuttall // *Proceedings of the Institution of Civil Engineers – Energy*. – 2019. – V. 172, No 2. – P. 46-63. doi:10.1680/jener.18.00011.

237. Mager U. Association of the Leu72Met polymorphism of the ghrelin gene with the risk of Type 2 diabetes in subjects with impaired glucose tolerance in the Finnish Diabetes Prevention Study / U. Mager, V. Lindi, J. Lindström, J.G. Eriksson, T.T. Valle, H. Hämäläinen, P. Ilanne-Parikka, S. Keinänen-Kiukaanniemi, J. Tuomilehto, M. Laakso, L. Pulkkinen, M. Uusitupa; Finnish Diabetes Prevention Study Group // *Diabet Med*. – 2006. – V. 23, No 6. – P. 685-689. doi:10.1111/j.1464-5491.2006.01870.x.

238. Mammel A.E. Chromosome length and gene density contribute to micronuclear membrane stability / A.E. Mammel, H.Z. Huang, A.L. Gunn, E. Choo, E.M. Hatch // *Life Sci Alliance*. – 2021. – V. 5, No 2. – P. e202101210. doi:10.26508/lsa.202101210.

239. Mamontova V. NEAT1 promotes genome stability via m6A methylation-dependent regulation of CHD4 / V. Mamontova, B. Trifault, A.S. Gribling-Burrer, P. Bohn, L. Boten, P. Preckwinkel, P. Gallant, D. Solvie, C.P. Ade, D. Papadopoulos, M. Eilers, T. Gutschner, R.P. Smyth, K. Burger // *Genes Dev*. – 2024. – V. 38(17-20). – P. 915-930. doi:10.1101/gad.351913.124.

240. Manfredi S. GSTM1, GSTT1 and CYP1A1 detoxification gene polymorphisms and susceptibility to smoking-related coronary artery disease: a case-only study / S. Manfredi, C. Federici, E. Picano, N. Botto, A. Rizza, M.G. Andreassi // *Mutat Res*. – 2007. – V. 621(1-2). – P. 106-112. doi:10.1016/j.mrfmmm.2007.02.014.

241. Marín D. DNA damage and its association with early-life exposome: Gene-environment analysis in Colombian children under five years old / D. Marín, D.M. Narváez, A. Sierra, J.S. Molina, I. Ortiz, J.J. Builes, O. Morales, M. Cuellar, A. Corredor, M. Villamil-Osorio, M.A. Bejarano, D. Vidal, X. Basagaña, A. Anguita-Ruiz, L. Maitre, A. Domínguez, A. Valencia, J. Henao, J.M. Abad, V. Lopera, F. Amaya, L.M. Aristizábal, L.A. Rodríguez-Villamizar, C. Ramos-Contreras, L. López, L.J. Hernández-Flórez, S.I. Bangdiwala, H. Groot, Z.V. Rueda // *Environ Int*. – 2024. – V. 190:108907. doi:10.1016/j.envint.2024.108907.

242. Marjonen H. rs10732516 polymorphism at the IGF2/H19 locus associates with genotype-specific effects on placental DNA methylation and birth weight of newborns conceived by assisted reproductive technology / H. Marjonen, P. Auvinen, H. Kahila, O. Tšuiiko, S. Kõks, A. Tiirats, T. Viltrop, T. Tuuri, V. Söderström-Anttila, A.M. Suikkari, A. Salumets, A. Tiitinen, N. Kaminen-Ahola // *Clin Epigenetics*. – 2018. – V. 10. – P. 80. doi:10.1186/s13148-018-0511-2.

243. Martin E.M. Environmental Influences on the Epigenome: Exposure-Associated DNA Methylation in Human Populations / E.M. Martin, R.C. Fry // *Annu*

Rev Public Health. – 2018. – V. 39, No 1. – P. 309-333. doi:10.1146/annurev-publhealth-040617-014629.

244. Mastana S. Genetic Polymorphisms and Genetic Risk Scores Contribute to the Risk of Coronary Artery Disease (CAD) in a North Indian Population / S. Mastana, K.C. Halai, L. Akam, D.J. Hunter, P. Singh // Int J Mol Sci. – 2024. – V. 25, No 15. – P. 8552. doi:10.3390/ijms25158552.

245. Mateuca R.A. hOGG1(326), XRCC1(399) and XRCC3(241) polymorphisms influence micronucleus frequencies in human lymphocytes in vivo / R.A. Mateuca, M. Roelants, G. Iarmarcovai, P.V. Aka, L. Godderis, A. Tremp, S. Bonassi, M. Fenech, J.L. Bergé–Lefranc, M. Kirsch–Volders // Mutagenesis. – 2008. – V. 23, No 1. – P. 35-41. doi:10.1093/mutage/gem040.

246. Medda N. Different mechanisms of arsenic related signaling in cellular proliferation, apoptosis and neo-plastic transformation / N. Medda, S.K. De, S. Maiti // Ecotoxicol Environ Saf. – 2021. – V. 208. – P. 111752. doi:10.1016/j.ecoenv.2020.111752.

247. Meissner A. Reduced representation bisulfite sequencing for comparative high-resolution DNA methylation analysis / A. Meissner, A. Gnirke, G.W. Bell, B. Ramsahoye, E.S. Lander, R. Jaenisch // Nucleic Acids Res. – 2005. – V. 33, No 18. – P. 5868-77. doi:10.1093/nar/gki901.

248. Meng Y. Occupational lead exposure on genome-wide DNA methylation and DNA damage / Y. Meng, M. Zhou, T. Wang, G. Zhang, Y. Tu, S. Gong, Y. Zhang, D.C. Christiani, W. Au, Y. Liu, Z.L. Xia // Environ Pollut. – 2022. – V. 304. – P. 119252. doi:10.1016/j.envpol.2022.119252.

249. Mesic A. Assessment of the genotoxicity and cytotoxicity in environmentally exposed human populations to heavy metals using the cytokinesis-block micronucleus cytome assay / A. Mesic, H. Nefic // Environmental Toxicology. – 2015. – V. 30, No 11. – P. 1331-1342. doi:10.1002/tox.22004.

250. MethPrimer [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://methprimer.com> (дата обращения: 17.10.2024).

251. Milić M. Polymorphisms in DNA repair genes: link with biomarkers of the CBMN cytome assay in hospital workers chronically exposed to low doses of ionising radiation / M. Milić, R. Rozgaj, V. Kašuba, A.M. Jazbec, B. Starčević, B. Lyzbicki, G. Ravegnini, C. Zenesini, M. Musti, P. Hrelia, S. Angelini // *Arh Hig Rada Toksikol.* – 2015. – V. 66, No 2. – P. 109-120. doi:10.1515/aiht-2015-66-2655.

252. Minina V.I. Genotoxic effects of occupational environment in Kuzbass miners / V.I. Minina, I.E. Kulemin, T.A. Tolotchko, A.V. Meier, Y.A. Savtchenko, V.P. Volobaev, N.I. Gafarov, M.V. Semenikhina // *Med Tr Prom Ekol.* – 2015. – V. 5. – P. 4-8.

253. Minina V.I. Polymorphisms in DNA Repair and Xenobiotic Biotransformation Enzyme Genes and Lung Cancer Risk in Coal Mine Workers / V. Minina, A. Timofeeva, A. Torgunakova, O. Soboleva, M. Bakanova, Y. Savchenko, E. Voronina, A. Glushkov, A. Prosekov, A. Fucic Polymorphisms // *Life (Basel).* – 2022. – V. 12, No 2. – P. 255. doi:10.3390/life12020255.

254. Minina V.I. Polymorphisms in DNA repair genes in lung cancer patients living in a coal-mining region / V.I. Minina, M.L. Bakanova, O.A. Soboleva, A.V. Ryzhkova, R.A. Titov, Y.A. Savchenko, M.Y. Sinitsky, E.N. Voronina, V.A. Titov, A.N. Glushkov // *Eur J Cancer Prev.* – 2019. – V. 28, No 6. – P. 522-528. doi:10.1097/CEJ.0000000000000504.

255. Mishra U.C. Radioactivity release to the environment by thermal power stations using coal as a fuel / U.C. Mishra, B.Y. Lalit, T.V. Ramachandran // *Science of The Total Environment.* – 1980. – V. 14, No 1. – P. 77-83. doi:10.1016/0048-9697(80)90127-8.

256. MOLO Tool [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://molotool.autosome.org> (дата обращения: 19.02.2026).

257. Motwani M. DNA sensing by the cGAS-STING pathway in health and disease / M. Motwani, S. Pesiridis, K.A. Fitzgerald // *Nat Rev Genet.* – 2019. – V. 20, No 11. – P. 657-674. doi:10.1038/s41576-019-0151-1.

258. Muller C.D. Occupational risk assessment of exposure to metals in chrome plating workers / C.D. Muller, S.C. Garcia, N. Brucker, G. Goethel, E. Sauer,

L.M. Lacerda, E. Oliveira, T.L. Trombini, A.B. Machado, A. Pressotto, V.C. Rech, C.R. Klauck, L. Basso da Silva, A. Gioda, L.R. Feksa // *Drug Chem Toxicol.* – 2022. – V. 45, No 2. – P. 560-567. doi:10.1080/01480545.2020.1731527.

259. Murgia E. Micronuclei, genetic polymorphisms and cardiovascular disease mortality in a nested case-control study in Italy / E. Murgia, V. Maggini, R. Barale, A.M. Rossi // *Mutat Res.* – 2007. – V. 621(1-2). – P. 113-118. doi:10.1016/j.mrfmmm.2007.02.015.

260. Nagel Z.D. Inter-individual variation in DNA repair capacity: a need for multi-pathway functional assays to promote translational DNA repair research / Z.D. Nagel, I.A. Chaim, L.D. Samson // *DNA Repair (Amst).* – 2014. – V. 19. – P. 199-213. doi:10.1016/j.dnarep.2014.03.009.

261. National Center for Biotechnology Information. BLAST [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> (дата обращения: 18.10.2024).

262. National Center for Biotechnology Information. DbSNP (электронный ресурс). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp> (дата обращения: 29.10.2025).

263. National Center for Biotechnology Information. DbSNP [электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp> (дата обращения: 29.10.2025).

264. Nebert D.W. Analysis of the glutathione S-transferase (GST) gene family / D.W. Nebert, V. Vasiliou // *Hum Genomics.* – 2004. – V. 1, No 6. – P. 460-464. doi:10.1186/1479-7364-1-6-460.

265. Nelson B.C. Emerging metrology for high-throughput nanomaterial genotoxicology / B.C. Nelson, C.W. Wright, Y. Ibuki, M. Moreno-Villanueva, H.L. Karlsson, G. Hendriks, C.M. Sims, N. Singh, S.H. Doak // *Mutagenesis.* – 2017. – V. 32, No 1. – P. 215-232. doi:10.1093/mutage/gew037.

266. Nersesyan A. Results of micronucleus assays with individuals who are occupationally and environmentally exposed to mercury, lead and cadmium / A. Nersesyan, M. Kundi, M. Waldherr, T. Setayesh, M. Mišík, G. Wultsch, M. Filipic,

G.R. Mazzaron Barcelos, S. Knasmueller // *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.* – 2016. – V. 770 (Pt A). – P. 119-139. doi:10.1016/j.mrrev.2016.04.002.

267. Nissar S. DNA Repair Gene - XRCC1 in Relation to Genome Instability and Role in Colorectal Carcinogenesis / S. Nissar, A. Syed Sameer, R. Rasool, F. Rashid // *Onkologie.* – 2014. – V. 37. – P. 418-422. doi:10.1159/000364898.

268. Norppa H. Cytogenetic biomarkers // *IARC Sci Publ.* – 2004. – V. 157. – P. 179-205.

269. Okamoto T. Clinical Significance of DNA Damage Response Factors and Chromosomal Instability in Primary Lung Adenocarcinoma / T. Okamoto, M. Kohno, K. Ito, K. Takada, M. Katsura, Y. Morodomi, G. Toyokawa, F. Shoji, Y. Maehara // *Anticancer Res.* – 2017. – V. 37, No 4. – P. 1729-1735. doi:10.21873/anticancer.11505.

270. Oliveira de Araújo Melo C. Evaluation of polymorphisms in repair and detoxification genes in alcohol drinkers and non-drinkers using capillary electrophoresis / C. Oliveira de Araújo Melo, T. Cidália Vieira, M.A. Duarte Gigonzac, J. Soares Fortes, S.S. Moreira Duarte, A.D. da Cruz, D.M.E. Silva // *Electrophoresis.* – 2020. – V. 41(3-4). – P. 254-258. doi:10.1002/elps.201900193.

271. Oliveira N.F.P. de. Can Global DNA Methylation Be Influenced by Polymorphisms in Genes Involved in Epigenetic Mechanisms? A Review / N.F.P. de Oliveira, D.C. Persuhn, M.C.L.G. dos Santos // *Genes (Basel).* – 2024. – V. 15, No 12. – P. 1504. doi:10.3390/genes15121504.

272. Palacio L.C. Air Pollution and Cardiac Diseases: A Review of Experimental Studies / L.C. Palacio, D.C. Pachajoa, C.A. Echeverri-Londoño, J. Saiz, C. Tobón // *Dose Response.* – 2023. – V. 21, No 4. – P. 15593258231212793. doi:10.1177/15593258231212793.

273. Pan B. Mutagenicity of silver nanoparticles evaluated using whole-genome sequencing in mouse lymphoma cells / B. Pan, P.R. Kaldhne, A.W. Alund, H. Du, X. Guo, J. Yan, Y. Chen, T. Zhou, T.W. Robison, T. Chen // *Nanotoxicology.* – 2021. – V. 15, No 3. – P. 418-432. doi:10.1080/17435390.2021.1894614.

274. Pan Z. The DNMT1-associated lncRNA UCA1 was upregulated in TK6 cells transformed by long-term exposure to hydroquinone and benzene-exposed workers via

DNA hypomethylation / Z. Pan, B. Zhong, X. Ling, H. Zhang, Q. Tan, D. Huang, J. Chen, H. Zhang, D. Zheng, H. Li, X. Chen, L. Liu // *J Biochem Mol Toxicol.* – 2021. – V. 35, No 12. – P. e22920. doi:10.1002/jbt.22920.

275. Panagopoulou M. ENPP2 Promoter Methylation Correlates with Decreased Gene Expression in Breast Cancer: Implementation as a Liquid Biopsy Biomarker / M. Panagopoulou, A. Drosouni, D. Fanidis, M. Karaglani, I. Balgkouranidou, N. Xenidis, V. Aidinis, E. Chatzaki // *Int J Mol Sci.* – 2022. – V. 23, No 7. – P. 3717. doi:10.3390/ijms23073717.

276. Pandelides Z. Benzo[a]pyrene-induced multigenerational changes in gene expression, behavior, and DNA methylation are primarily influenced by paternal exposure / Z. Pandelides, M.C. Sturgis, C. Thornton, N. Aluru, K.L. Willett // *Toxicol Appl Pharmacol.* – 2023. – V. 469. – P. 116545. doi:10.1016/j.taap.2023.116545.

277. Papathanasiou S. Heritable transcriptional defects from aberrations of nuclear architecture / S. Papathanasiou, N.A. Mynhier, S. Liu, G. Brunette, E. Stokasimov, E. Jacob, L. Li, C. Comenho, B. van Steensel, J.D. Buenrostro, C.Z. Zhang, D. Pellman // *Nature.* – 2023. – V. 619(7968). – P. 184-192. doi:10.1038/s41586-023-06157-7.

278. Parl F.F. Glutathione S-transferase genotypes and cancer risk / F.F. Parl // *Cancer Lett.* – 2005. – V. 221, No 2. – P. 123-129. doi:10.1016/j.canlet.2004.06.016.

279. Parveen N. Protective effect of quercetin and thymoquinone against genotoxicity and oxidative stress induced by ZnO nanoparticles in the Wistar rat model / N. Parveen, M.A. Akbarsha, A.B. Latif Wani, M.O. Ansari, M.F. Ahmad, G.G.H.A. Shadab // *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* – 2023. – V. 890. – P. 503661. doi:10.1016/j.mrgentox.2023.503661.

280. Pavanello S. Mitochondrial DNA copy number and exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons / S. Pavanello, L. Dioni, M. Hoxha, U. Fedeli, D. Mielzynska-Svach, A.A. Baccarelli // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2013. – V. 22, No 10. – P. 1722-1729. doi:10.1158/1055-9965.EPI-13-0118.

281. Pavanello S. Reduced nucleotide excision repair and GSTM1-null genotypes influence anti-B[a]PDE-DNA adduct levels in mononuclear white blood cells of highly PAH-exposed coke oven workers / S. Pavanello, A. Pulliero, E. Siwinska,

D. Mielzynska, E. Clonfero // *Carcinogenesis*. – 2005. – V. 26, No 1. – P. 169-175. doi:10.1093/carcin/bgh303.

282. Pavanello S. Shorter telomere length in peripheral blood lymphocytes of workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons / S. Pavanello, A.C. Pesatori, L. Dioni, M. Hoxha, V. Bollati, E. Siwinska, D. Mielzyńska, C. Bolognesi, P.A. Bertazzi, A. Baccarelli // *Carcinogenesis*. – 2010. – V. 31, No 2. – P. 216-221. doi:10.1093/carcin/bgp278.

283. Peana M. Biological Effects of Human Exposure to Environmental Cadmium / M. Peana, A. Pelucelli, C.T. Chasapis, S.P. Perlepes, V. Bekiari, S. Medici, M.A. Zoroddu // *Biomolecules*. – 2022. – V. 13, No 1. – P. 36. doi:10.3390/biom13010036.

284. Peng Q. Analysis of blood methylation quantitative trait loci in East Asians reveals ancestry-specific impacts on complex traits / Q. Peng, X. Liu, W. Li, H. Jing, J. Li, X. Gao, Q. Luo, C.E. Breeze, S. Pan, Q. Zheng, G. Li, J. Qian, L. Yuan, N. Yuan, C. You, S. Du, Y. Zheng, Z. Yuan, J. Tan, P. Jia, J. Wang, G. Zhang, X. Lu, L. Shi, S. Guo, Y. Liu, T. Ni, B. Wen, C. Zeng, L. Jin, A.E. Teschendorff, F. Liu, S. Wang // *Nat Genet*. – 2024. – V. 56. – P. 846-860. doi:10.1038/s41588-023-01494-9.

285. Pilié P.G. PARP Inhibitors: Extending Benefit Beyond BRCA-Mutant Cancers / P.G. Pilié, C.M. Gay, L.A. Byers, M.J. O'Connor, T.A. Yap // *Clin Cancer Res*. – 2019. – V. 25, No 13. – P. 3759-3771. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-0968.

286. Pleguezuelos-Manzano C. Mutational signature in colorectal cancer caused by genotoxic pks+ *E. coli* / C. Pleguezuelos-Manzano, J. Puschhof, A. Rosendahl Huber, A. van Hoeck, H.M. Wood, J. Nomburg, C. Gurjao, F. Manders, G. Dalmasso, P.B. Stege, F.L. Paganelli, M.H. Geurts, J. Beumer, T. Mizutani, Y. Miao, R. van der Linden, S. van der Elst; Genomics England Research Consortium; K.C. Garcia, J. Top, R.J.L. Willems, M. Giannakis, R. Bonnet, P. Quirke, M. Meyerson, E. Cuppen, R. van Boxtel, H. Clevers // *Nature*. – 2020. – V. 580, No 7802. – P. 269-273. doi:10.1038/s41586-020-2080-8.

287. PolyPhen-2 prediction of functional effects of human nsSNPs [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/> (дата обращения: 10.02.2026).

288. Qi L. A Comprehensive Meta-analysis of Genetic Associations Between Key Polymorphic Loci in DNA Repair Genes and Glioma Risk / L. Qi, H.Q. Yu, Y. Zhang, L.J. Ding, D.H. Zhao, P. Lv, W.Y. Wang, Y. Xu // *Mol Neurobiol.* – 2017. – V. 54, No 2. – P. 1314-1325. doi:10.1007/s12035-016-9725-5.

289. Qiu L. Path analysis of biomarkers of exposure and early biological effects among coke-oven workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons / L. Qiu, S. Leng, Z. Wang, Y. Dai, Y. Zheng, Z. Wang // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2007. – V. 16, No 6. – P. 1193-1199. doi:10.1158/1055-9965.EPI-07-0001.

290. Qiu YL. DNA repair gene polymorphisms and micronucleus frequencies in Chinese workers exposed to vinyl chloride monomer / Y.L. Qiu, W. Wang, T. Wang, P. Sun, F. Wu, S.M. Zhu, J. Qian, L. Jin, W. Au, Z.L. Xia // *Int J Hyg Environ Health.* – 2011. – V. 214, No 3. – P. 225-230. doi:10.1016/j.ijheh.2010.12.001.

291. Quintana-Sosa M. Association of buccal micronucleus cytome assay (BMNCyt) biomarkers with inorganic element concentration and genetic polymorphisms in welders / M. Quintana-Sosa, G. León-Mejía, D.M. Narváez, A. Suarez-Arnedo, H.G. Restrepo, Y.S. De Moya, M. Ruiz-Benitez, K.F. Valencia, C. Trindade, A. Miranda-Guevara, J. Dias, J.A.P. Henriques, J. da Silva // *Environ Toxicol Pharmacol.* – 2023. – V. 97. – P. 104025. doi:10.1016/j.etap.2022.104025.

292. Rafati Rahimzadeh M. Cadmium toxicity and treatment: An update / M. Rafati Rahimzadeh, M. Rafati Rahimzadeh, S. Kazemi, A.A. Moghadamnia // *Caspian J Intern Med.* – 2017. – V. 8, No 3. – P. 135-145. doi:10.22088/cjim.8.3.135.

293. Rahman Md.M. Abstract B034: Polymorphisms in XRCC1 Arg399Gln and XRCC3 Thr241Met DNA repair genes elevate cervical cancer risk among Bangladeshi female population / Md.M. Rahman, L. Das, S. Rahman, A. Hossain, R. Sultana // *Cancer Res.* – 2024. – V. 84(6_Supplement). – P. B034. doi:10.1158/1538-7445.DNAREPAIR24-B034.

294. Ramírez-Lopera V. The effects of genetic polymorphisms on benzene-exposed workers: A systematic review / V. Ramírez-Lopera, D. Uribe-Castro, H. Bautista-Amorocho, J.A. Silva-Sayago, E. Mateus-Sánchez, W.Y. Ardila-Barbosa, T.L. Pérez-Cala // *Health Sci Rep.* – 2021. – V. 4, No 3. – P. e327. doi:10.1002/hsr2.327.

295. Rawal Y. Structural insights into BCDX2 complex function in homologous recombination / Y. Rawal, L. Jia, A. Meir, S. Zhou, H. Kaur, E.A. Ruben, Y. Kwon, K.A. Bernstein, M. Jasin, A.B. Taylor, S. Burma, R. Hromas, A.V. Mazin, W. Zhao, D. Zhou, E.V. Wasmuth, E.C. Greene, P. Sung, S.K. Olsen // *Nature.* – 2023. – V. 619, No 7970. – P. 640-649. doi:10.1038/s41586-023-06219-w.

296. Reactome Pathway Database [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://reactome.org> (дата обращения: 7.02.2026).

297. Redmond C.K. Cancer mortality among coke oven workers / C.K. Redmond // *Environ Health Perspect.* – 1983. – V. 52. – P. 67-73. doi:10.1289/ehp.835267.

298. RegulomeDB [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://regulomedb.org/regulome-search/> (дата обращения: 10.02.2026).

299. Ren J. The prevalence and persistence of aberrant promoter DNA methylation in benzene-exposed Chinese workers / J. Ren, J.P. Cui, M. Luo, H. Liu, P. Hao, X. Wang, G.H. Zhang // *PLoS One.* – 2019. – V. 14, No 8. – P. e0220500. doi:10.1371/journal.pone.0220500.

300. Ren J.C. Promoter hypermethylation in CSF3R induces peripheral neutrophil reduction in benzene-exposure poisoning / J.C. Ren, T. Wang, H. Wu, G.H. Zhang, D. Sun, K. Guo, H. Li, F. Zhang, W. Wu, Z.L. Xia // *Environ Mol Mutagen.* – 2020. – V. 61, No 8. – P. 786-796. doi:10.1002/em.22382.

301. Richmond R.C. DNA methylation as a marker for prenatal smoke exposure in adults / R.C. Richmond, M. Suderman, R. Langdon, C.L. Relton, G. Davey Smith // *Int J Epidemiol.* – 2018. – V. 47, No 4. – P. 1120-1130. doi:10.1093/ije/dyy091.

302. Ricoul M. Cytogenetics for Biological Dosimetry / M. Ricoul, T. Gnana-Sekaran, L. Piqueret-Stephan, L. Sabatier // *Methods Mol Biol.* – 2017. – V. 1541. – P. 189-208. doi:10.1007/978-1-4939-6703-2_17.

303. Rieke D.T. Methylation of RAD51B, XRCC3 and other homologous recombination genes is associated with expression of immune checkpoints and an inflammatory signature in squamous cell carcinoma of the head and neck, lung and cervix / D.T. Rieke, S. Ochsenreither, K. Klinghammer, T.Y. Seiwert, F. Klauschen, I. Tinhofer, U. Keilholz // *Oncotarget*. – 2016. – V. 7, No 46. – P. 75379-75393. doi:10.18632/oncotarget.12211.

304. Rincón G. Short Assay Design for Micronucleus Detection in Human Lymphocytes / G. Rincón, C. Sánchez // *Biomed Res Int*. – 2021. – V. 2021. – P. 2322257. doi:10.1155/2021/2322257.

305. Ritambhara. Higher order genes interaction in DNA repair and cytokine genes polymorphism and risk to lung cancer in North Indians / Ritambhara, R. Kumar, M.K. Gupta, P. Gautam, S. Tiwari, S. Vijayraghavalu, G.C. Shukla, M. Kumar // *J Cancer Res Ther*. – 2022. – V. 18, No 4. – P. 953-963. doi:10.4103/jcrt.JCRT_51_20.

306. Rohr P. Genetic and oxidative damage of peripheral blood lymphocytes in workers with occupational exposure to coal / P. Rohr, K. Kvitko, F.R. da Silva, A.P. Menezes, C. Porto, M. Sarmento, N. Decker, J.M. Reyes, Mda C. Allgayer, T.C. Furtado, M. Salvador, C. Branco, J. da Silva // *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. – 2013. – V. 758(1-2). – P. 23-28. doi:10.1016/j.mrgentox.2013.08.006.

307. Romana H.K. Analysis of Air and Soil Quality around Thermal Power Plants and Coal Mines of Singrauli Region, India / H.K. Romana, R.P. Singh, C.S. Dubey, D.P. Shukla // *Int J Environ Res Public Health*. – 2022. – V. 19, No 18. – P. 11560. doi:10.3390/ijerph191811560.

308. Romanello M. The 2023 report of the Lancet Countdown on health and climate change: the imperative for a health-centred response in a world facing irreversible harms / M. Romanello, C.D. Napoli, C. Green, H. Kennard, P. Lampard, D. Scamman, M. Walawender, Z. Ali, N. Ameli, S. Ayeb-Karlsson, P.J. Beggs, K. Belesova, L. Berrang Ford, K. Bowen, W. Cai, M. Callaghan, D. Campbell-Lendrum, J. Chambers, T.J. Cross, K.R. van Daalen, C. Dalin, N. Dasandi, S. Dasgupta, M. Davies, P. Dominguez-Salas, R. Dubrow, K.L. Ebi, M. Eckelman, P. Ekins, C. Freyberg, O. Gasparian, G. Gordon-Strachan, H. Graham, S.H. Gunther, I. Hamilton, Y. Hang, R.

Hänninen, S. Hartinger, K. He, J. Heidecke, J.J. Hess, S.C. Hsu, L. Jamart, S. Jankin, O. Jay, I. Kelman, G. Kieseewetter, P. Kinney, D. Kniveton, R. Kouznetsov, F. Larosa, J.K.W. Lee, B. Lemke, Y. Liu, Z. Liu, M. Lott, M. Lotto Batista, R. Lowe, M. Odhiambo Sewe, J. Martinez-Urtaza, M. Maslin, L. McAllister, C. McMichael, Z. Mi, J. Milner, K. Minor, J.C. Minx, N. Mohajeri, N.C. Momen, M. Moradi-Lakeh, K. Morrissey, S. Munzert, K.A. Murray, T. Neville, M. Nilsson, N. Obradovich, M.B. O'Hare, C. Oliveira, T. Oreszczyn, M. Otto, F. Owfi, O. Pearman, F. Pega, A. Pershing, M. Rabbaniha, J. Rickman, E.J.Z. Robinson, J. Rocklöv, R.N. Salas, J.C. Semenza, J.D. Sherman, J. Shumake-Guillemot, G. Silbert, M. Sofiev, M. Springmann, J.D. Stowell, M. Tabatabaei, J. Taylor, R. Thompson, C. Tonne, M. Treskova, J.A. Trinanes, F. Wagner, L. Warnecke, H. Whitcombe, M. Winning, A. Wyns, M. Yglesias-González, S. Zhang, Y. Zhang, Q. Zhu, P. Gong, H. Montgomery, A. Costello // *Lancet*. – 2023. – V. 402, No 10419. – P. 2346-2394. doi:10.1016/S0140-6736(23)01859-7.

309. Romanowicz H. Genetics polymorphism in DNA repair genes by base excision repair pathway (XRCC1) and homologous recombination (XRCC2 and RAD51) and the risk of breast carcinoma in the Polish population / H. Romanowicz, B. Smolarz, J. Baszczynski, M. Zadrozny, A. Kulig // *Pol J Pathol*. – 2010. – V. 61. – P. 206-212.

310. Roos W.P. Brca2/Xrcc2 dependent HR, but not NHEJ, is required for protection against O(6)-methylguanine triggered apoptosis, DSBs and chromosomal aberrations by a process leading to SCEs / W.P. Roos, T. Nikolova, S. Quiros, S.C. Naumann, O. Kiedron, M.Z. Zdzienicka, B. Kaina // *DNA Repair (Amst)*. – 2009. – V. 8, No 1. – P. 72-86. doi:10.1016/j.dnarep.2008.09.003.

311. Rozhina E. Comparative Toxicity of Fly Ash: An In Vitro Study / E. Rozhina, I. Ishmukhametov, L. Nigamatzyanova, F. Akhatova, S. Batasheva, S. Taskaev, C. Montes, Y. Lvov, R. Fakhrullin // *Molecules*. – 2021. – V. 26, No 7. – P. 1926. doi:10.3390/molecules26071926.

312. Rubin E.S., Toxic releases from power plants // *Environ. Sci. Technol*. – 1999. – V. 33. – P. 3062-3067.

313. Sabatino M.A. Down-regulation of the nucleotide excision repair gene XPG as a new mechanism of drug resistance in human and murine cancer cells / M.A. Sabatino, M. Marabese, M. Ganzinelli, E. Caiola, C. Geroni, M. Brogginini // *Mol Cancer*. – 2010. – V. 9. – P. 259. doi:10.1186/1476-4598-9-259.

314. Safarinejad M.R. Glutathione S-transferase polymorphisms (GSTM1, GSTT1, GSTP1) and male factor infertility risk: a pooled analysis of studies / M.R. Safarinejad, F. Dadkhah, M. Ali Asgari, S.Y. Hosseini, A.A. Kolahi, E. Iran-Pour // *Urol J*. – 2012. – V. 9, No 3. – P. 541-548.

315. Sambrook J. Purification of nucleic acids by extraction with phenol:chloroform / J. Sambrook, D.W. Russell // *CSH Protoc*. – 2006. – V. 1. – P. pdb.prot4455. doi:10.1101/pdb.prot4455.

316. Samir A.M. Urinary and Genetic Biomonitoring of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Egyptian Coke Oven Workers: Associations between Exposure, Effect, and Carcinogenic Risk Assessment / A.M. Samir, D.A. Shaker, M.M. Fathy, S.F. Hafez, M.M. Abdullatif, L.A. Rashed, H.A.F. Alghobary // *Int J Occup Environ Med*. – 2019. – V. 10, No 3. – P. 124-136. doi:10.15171/ijoem.2019.1541.

317. Sano A. A second-generation profiling system for quantitative methylation analysis of multiple gene promoters: application to lung cancer / A. Sano, H. Kage, K. Sugimoto, H. Kitagawa, N. Aki, A. Goto, M. Fukayama, J. Nakajima, S. Takamoto, T. Nagase, Y. Yatomi, N. Ohishi, D. Takai // *Oncogene*. – 2007. – V. 26, No 45. – P. 6518-6525. doi:10.1038/sj.onc.1210483.

318. Santhanam C.J. Health and environmental impacts of increased generation of coal ash and FGD sludges. Report to the Committee on Health and Ecological Effects of Increased Coal Utilization / C.J. Santhanam, R.R. Lunt, S.L. Johnson, C.B. Cooper, P.S. Thayer, J.W. Jones // *Environ Health Perspect*. – 1979. – V. 33. – P. 131-57. doi:10.1289/ehp.7933131.

319. Santric V. GSTP1 rs1138272 Polymorphism Affects Prostate Cancer Risk / V. Santric, M. Djokic, S. Suvakov, M. Pljesa-Ercegovac, M. Nikitovic, T. Radic, M. Acimovic, V. Stankovic, U. Bumbasirevic, B. Milojevic, U. Babic, Z. Dzamic,

T. Simic, D. Dragicevic, A. Savic-Radojevic // *Medicina (Kaunas)*. – 2020. – V. 56, No 3. – P. 128. doi:10.3390/medicina56030128.

320. Savas S. Identifying functional genetic variants in DNA repair pathway using protein conservation analysis / S. Savas, D.Y. Kim, M.F. Ahmad, M. Shariff, H. Ozcelik // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2004. – V. 13. – P. 801-807.

321. Schärer O.D. Nucleotide excision repair in eukaryotes / O.D. Schärer // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* – 2013. – V. 5, No 10. – P. a012609. doi:10.1101/cshperspect.a012609.

322. Scherlach K. The chemistry and biology of cytochalasans / K. Scherlach, D. Boettger, N. Remme, C. Hertweck // *Nat Prod Rep.* – 2010. – V. 27. – P. 869-886. doi:10.1039/b903913a.

323. Schernikau L. Economics of the International Coal Trade: Why Coal Continues to Power the World / L. Schernikau // Springer, London, UK. – 2017.

324. Schulz H. Genome-wide mapping of genetic determinants influencing DNA methylation and gene expression in human hippocampus / H. Schulz, A.K. Ruppert, S. Herms, C. Wolf, N. Mirza-Schreiber, O. Stegle, D. Czamara, A.J. Forstner, S. Sivalingam, S. Schoch, S. Moebus, B. Pütz, A. Hillmer, N. Fricker, H. Vatter, B. Müller-Myhsok, M.M. Nöthen, A.J. Becker, P. Hoffmann, T. Sander, S. Cichon // *Nat Commun.* – 2017. – V. 8, No 1. – P. 1511. doi:10.1038/s41467-017-01818-4.

325. Seiler C.L. Maintenance DNA Methyltransferase Activity in the Presence of Oxidized Forms of 5-Methylcytosine: Structural Basis for Ten Eleven Translocation-Mediated DNA Demethylation / C.L. Seiler, J. Fernandez, Z.M. Koerperich, M.P. Andersen, D. Kotandeniya, M.E. Nguyen, Y.Y. Sham, N.Y. Tretyakova // *Biochemistry.* – 2018. – V. 57, No 42. – P. 6061-6069. doi:10.1021/acs.biochem.8b00683.

326. Shao T. Association Studies of ERCC2 rs13181 Polymorphism with Pancreatic Cancer Susceptibility / T. Shao, J. Kou // *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* – 2021. – V. 31, No 2. – P. 17-23. doi:10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2021037540.

327. Shi Y. Association of the hOGG1 Ser326Cys polymorphism with gynecologic cancer susceptibility: a meta-analysis / Y. Shi, W. Xu, X. Zhang // *Biosci Rep.* – 2020. – V. 40, No 12. – P. BSR20203245. doi:10.1042/BSR20203245.

328. Silva I.R. Evaluation of DNA Methylation Changes and Micronuclei in Workers Exposed to a Construction Environment / I.R. Silva, M.C.A.S. Ramos, L.M.R.B. Arantes, A.V.H. Lengert, M.A. Oliveira, F.P. Cury, G. Martins Pereira, A.G. Santos, F. Barbosa Jr, P.C. Vasconcellos, C. Cuenin, Z. Herceg, H.C.S. Silveira // *Int J Environ Res Public Health.* – 2019. – V. 16, No 6. – P. 902. doi:10.3390/ijerph16060902.

329. Silva Mdo C. GSTM1, GSTT1, and GSTP1 genotypes and the genotoxicity of hydroquinone in human lymphocytes / M.C. Silva, J. Gaspar, I. Duarte Silva // *Environ Mol Mutagen.* – 2004. – V. 43, No 4. – P. 258-264. doi:10.1002/em.20015.

330. Sim J. The kappa statistic in reliability studies: use, interpretation, and sample size requirements / J. Sim, C.C. Wright // *Phys Ther.* – 2005. – V. 85, No 3. P. 257-268.

331. Sinha S.N. Air Pollution from Solid Fuels / S.N. Sinha, P.K. Nag // *Encyclopedia of Environmental Health.* – 2011. – P. 46-52. doi:10.1016/B978-0-444-52272-6.00355-3.

332. Sinitsky M.Y. Assessment of DNA damage in underground coal miners using the cytokinesis-block micronucleus assay in peripheral blood lymphocytes / M.Y. Sinitsky, V.I. Minina, N.I. Gafarov, M.A. Asanov, A.V. Larionov, A.V. Ponasenko, V.P. Volobaev, V.G. Druzhinin // *Mutagenesis.* – 2016. – V. 31, No 6. – P. 669-675. doi:10.1093/mutage/gew038.

333. Sinitsky M.Y. Association of DNA repair gene polymorphisms with genotoxic stress in underground coal miners / M.Y. Sinitsky, V.I. Minina, M.A. Asanov, A.E. Yuzhalin, A.V. Ponasenko, V.G. Druzhinin // *Mutagenesis.* – 2017. – V. 32, No 5. – P. 501-509. doi:10.1093/mutage/gex018.

334. Sinitsky M.Y. Associations of DNA-repair gene polymorphisms with a genetic susceptibility to ionizing radiation in residents of areas with high radon (^{222}Rn) concentration / M.Y. Sinitsky, A.V. Larionov, M.A. Asanov, V.G. Druzhinin // *Int J Radiat Biol.* – 2015. – V. 91, No 6. – P. 486-494. doi:10.3109/09553002.2015.1012306.

335. Siwińska E. Association between urinary 1-hydroxypyrene and genotoxic effects in coke oven workers / E. Siwińska, D. Mielżyńska, L. Kapka // *Occup Environ Med.* – 2004. – V. 61, No 3. – P. e10. doi:10.1136/oem.2002.006643.

336. Skalny A.V. Mercury and cancer: Where are we now after two decades of research? / A.V. Skalny, M. Aschner, M.I. Sekacheva, A. Santamaria, F. Barbosa, B. Ferrer, J. Aaseth, M.M.B. Paoliello, J.B.T. Rocha, A.A. Tinkov // *Food Chem Toxicol.* – 2022. – V. 164. – P. 113001. doi:10.1016/j.fct.2022.113001.

337. Škrlec I. Myocardial Infarction Susceptibility and the MTNR1B Polymorphisms / I. Škrlec, Z. Biloglav, J. Talapko, S. Džijan, D. Daus-Šebeđak, V. Cesar // *Int J Mol Sci.* – 2023. – V. 24, No 14. – P. 11444. doi:10.3390/ijms241411444.

338. Smith A.K. Methylation quantitative trait loci (meQTLs) are consistently detected across ancestry, developmental stage, and tissue type / A.K. Smith, V. Kilaru, M. Kocak, L.M. Almli, K.B. Mercer, K.J. Ressler, F.A. Tyavsky, K.N. Conneely // *BMC Genomics.* – 2014. – V. 15. – P. 145. doi:10.1186/1471-2164-15-145.

339. Smolarz B. Association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) of XRCC2 and XRCC3 homologous recombination repair genes and triple-negative breast cancer in Polish women / B. Smolarz, M. Makowska, D. Samulak, M.M. Michalska, E. Mojs, M. Wilczak, H. Romanowicz // *Clin Exp Med.* – 2015. – V. 15, No 2. – P. 151-157. doi:10.1007/s10238-014-0284-7.

340. Smolarz B. Polymorphism of DNA Repair Genes via Homologous Recombination (HR) in Ovarian Cancer / B. Smolarz, M.M. Michalska, D. Samulak, H. Romanowicz, L. Wójcik // *Pathol Oncol Res.* – 2019. – V. 25, No 4. – P. 1607-1614. doi:10.1007/s12253-019-00604-5.

341. Sommer S. Micronucleus Assay: The State of Art, and Future Directions / S. Sommer, I. Buraczewska, M. Kruszewski // *Int J Mol Sci.* – 2020. – V. 21, No 4. – P. 1534. doi:10.3390/ijms21041534.

342. Sprenger R. Characterization of the glutathione S-transferase GSTT1 deletion: discrimination of all genotypes by polymerase chain reaction indicates a trimodular genotype–phenotype correlation / R. Sprenger, R. Schlagenhauser, R. Kerb,

C. Bruhn, J. Brockmöller, I. Roots, U. Brinkmann // Pharmacogenetics and Genomics. – 2000. – V. 10, No 6. – P. 557-565. doi:10.1097/00008571-200010000-00001.

343. Stajszczyk M. The role of DNA polymorphism in the renin-angiotensin system and the pathogenesis of cardiovascular diseases / M. Stajszczyk, J. Gmiński // Postepy Hig Med Dosw. – 1997. – V. 51(2). – P. 171-83.

344. Stamm S.C. Mutagenicity of mild gasification products in Salmonella typhimurium / S.C. Stamm, W. Lan, B.Z. Zhong, W.Z. Whong, T. Ong // Mutat. Res. – 1994. – V. 320. – P. 261-271.

345. Stivaktakis P.D. Determination of genotoxic effects of methidathion alkaline hydrolysis in human lymphocytes using the micronucleus assay and square-wave voltammetry / P.D. Stivaktakis, E. Giannakopoulos, D. Vlastos, D.P. Matthopoulos // Bioelectrochemistry. – 2017. – V. 113. – P. 9-14. doi:10.1016/j.bioelechem.2016.08.001.

346. Stojanovic J. Occupational exposures and genetic susceptibility to urinary tract cancers: a systematic review and meta-analysis / J. Stojanovic, S. Milovanovic, R. Pastorino, I. Iavicoli, S. Boccia // Eur J Cancer Prev. – 2018. – V. 27, No 5. – P. 468-476. doi:10.1097/CEJ.0000000000000364.

347. STRING [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://string-db.org> (дата обращения: 6.02.2026).

348. Struys I. Characterization of the genotoxic profile of antineoplastic drugs using the cytokinesis-block micronucleus cytome assay / I. Struys, E. Verscheure, L. Lenaerts, F. Amant, L. Godderis, M. Ghosh // Environ Toxicol Pharmacol. – 2023. – V. 97. – P. 104036. doi:10.1016/j.etap.2022.104036.

349. Sui Z. Analysis of Methylation and mRNA Expression of Lin28B Gene Promoter Region in the Hypothalamus of Dolang Sheep During Pubertal Initiation / Z. Sui, J. Kou // DNA Cell Biol. – 2023. – V. 42, No 3. – P. 130-139. doi:10.1089/dna.2022.0281.

350. Sureshkumar S. Estimation of cytogenetic risk among coke oven workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons / S. Sureshkumar, V. Balachandar, S.M. Devi, M. Arun, A. Karthickkumar, B. Balamuralikrishnan, K. Sankar,

S.A. Mustaqahamed, S.N. Dharwadkar, K. Sasikala, S.G. Cho // *Acta Biochim Pol.* – 2013. – V. 60, No 3. – P. 375-379.

351. Suwaki N. RAD51 paralogs: roles in DNA damage signalling, recombinational repair and tumorigenesis / N. Suwaki, K. Klare, M. Tarsounas // *Semin Cell Dev Biol.* – 2011. – V. 22(8). – P. 898-905. doi:10.1016/j.semcdb.2011.07.019.

352. Tan S.C. Association between XRCC3 p.Thr241Met polymorphism and risk of glioma: A systematic review and meta-analysis / S.C. Tan, T.Y. Low, H.M.J. Hussain, M.A. Khan Sharzehan, H. Sito, H. Kord-Varkaneh, Md.A. Islam // *PLOS ONE.* – 2022. – V. 17, No 10. – P. e0276313. doi:10.1371/journal.pone.0276313.

353. Tang M.S. DNA damage, DNA repair and carcinogenicity: Tobacco smoke versus electronic cigarette aerosol / M.S. Tang, H.W. Lee, M.W. Weng, H.T. Wang, Y. Hu, L.C. Chen, S.H. Park, H.W. Chan, J. Xu, X.R. Wu, H. Wang, R. Yang, K. Galdane, K. Jackson, A. Chu, E. Halzack // *Mutat Res Rev Mutat Res.* – 2022. – V. 789. – P. 108409. doi:10.1016/j.mrrev.2021.108409.

354. Tavares B.G. Evaluation of the association of ERCC2 rs13181 polymorphism with different types of gliomas in patients in Northeast Brazil / C.B. Tavares, L.C. Campos-Verdes, P.V. Lopes-Costa, F.D.C.S.A.G. Braga // *Research Square.* – 2021. – PREPRINT (Version 1). doi:10.21203/rs.3.rs-403362/v1.

355. Tian M. Association of environmental benzo[a]pyrene exposure and DNA methylation alterations in hepatocellular carcinoma: A Chinese case-control study / M. Tian, B. Zhao, J. Zhang, F.L. Martin, Q. Huang, L. Liu, H. Shen // *Sci Total Environ.* – 2016. – V. 541. – P. 1243-1252. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.10.003.

356. Tomaskova H. Mortality in Miners with Coal-Workers' Pneumoconiosis in the Czech Republic in the period 1992-2013 / H. Tomaskova, A. Šplíchalová, H. Šlachťová, P. Urban, Z. Hajduková, I. Landecká, R. Gromnica, P. Brhel, D. Pelclová, Z. Jiráček // *Int J Environ Res Public Health.* – 2017. – V. 14, No 3. – P. 1-12. doi:10.3390/ijerph14030269.

357. Tomljanović M. The epigenetic circle: feedback loops in the maintenance of cellular memory / M. Tomljanović, C.H. Muflihah, D. Rajkovski, P. Mikulski //

Epigenetics Chromatin. – 2025. – V. 18, No 1. – P. 56. doi:10.1186/s13072-025-00621-6.

358. Tong R. Occupational exposure to respirable dust from the coal-fired power generation process: sources, concentration, and health risk assessment / R. Tong, J. Liu, X. Ma, Y. Yang, G. Shao, J. Li, M. Shi // Arch Environ Occup Health. – 2020. – V. 75, No 5. – P. 260-273. doi:10.1080/19338244.2019.1626330.

359. Tuimala J. Genetic polymorphisms of DNA repair and xenobiotic-metabolizing enzymes: role in mutagen sensitivity / J. Tuimala, G. Szekely, S. Gundy, A. Hirvonen, H. Norppa // Carcinogenesis. – 2002. – V. 23. – P. 1003-1008. doi:10.1093/carcin/23.6.1003.

360. Tumer T.B. Modulatory role of GSTM1 null genotype on the frequency of micronuclei in pesticide-exposed agricultural workers / T.B. Tumer, S. Savranoglu, P. Atmaca, G. Terzioglu, A. Sen, S. Arslan // Toxicol Ind Health. – 2016. – V. 32, No 12. – P. 1942-1951. doi:10.1177/0748233715599876.

361. Turkez H. Genotoxicity testing: Progress and prospects for the next decade / H. Turkez, M. Arslan, O. Ozdemir // Expert Opin Drug Metab Toxicol. – 2017. – V. 13, No 10. – P. 1089-1098. doi:10.1080/17425255.2017.1375097.

362. UCSC Genome Browser [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://genome.ucsc.edu/> (дата обращения: 19.10.2024).

363. UCSC In-Silico PCR [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr> (дата обращения: 17.10.2024).

364. Ulker O.C. Cytogenetic monitoring of coal workers and patients with coal workers' pneumoconiosis in Turkey / O.C. Ulker, A. Ustundag, Y. Duydu, B. Yucesoy, A. Karakaya // Environ Mol Mutagen. – 2008. – V. 49, No 3. – P. 232-237. doi:10.1002/em.20377.

365. Unnikrishnan A. The role of DNA methylation in epigenetics of aging / A. Unnikrishnan, W.M. Freeman, J. Jackson, J.D. Wren, H. Porter, A. Richardson // Pharmacol Ther. – 2019. – V. 195. – P. 172-185. doi:10.1016/j.pharmthera.2018.11.001.

366. Van Delft J.H. Biological monitoring the exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons of coke oven workers in relation to smoking and genetic polymorphisms for GSTM1 and GSTT1 / J.H. Van Delft, M.S. Steenwinkel, J.G. van Asten, N. de Vogel, T.C. Bruijntjes-Rozier, T. Schouten, P. Cramers, L. Maas, H.M. van Herwijnen, F. van Schooten, P.M. Hopmans // *Ann Occup Hyg.* – 2001. – V. 45, No 5. – P. 395-408. doi:10.1093/annhyg/45.5.395.

367. Varinderpal S. Dhillon. Genetic polymorphisms of genes involved in DNA repair and metabolism influence micronucleus frequencies in human peripheral blood lymphocytes / Varinderpal S. Dhillon, Philip Thomas, G. Iarmarcovai, Micheline Kirsch-Volders, Stefano Bonassi, Michael Fenech // *Mutagenesis.* – 2011. – V. 26, No 1. – P. 33-42. doi:10.1093/mutage/geq076.

368. Vecchiotti G. Genotoxicity and oxidative stress induction by polystyrene nanoparticles in the colorectal cancer cell line HCT116 / G. Vecchiotti, S. Colafarina, M. Aloisi, O. Zarivi, P. Di Carlo, A. Poma // *PLoS One.* – 2021. – V. 16, No 7. – P. e0255120. doi:10.1371/journal.pone.0255120.

369. Vidal A.E. XRCC1 coordinates the initial and late stages of DNA abasic site repair through protein-protein interactions / A.E. Vidal, S. Boiteux, I.D. Hickson, J.P. Radicella // *EMBO J.* – 2001. – V. 20, No 22. – P. 6530-6539. doi:10.1093/emboj/20.22.6530.

370. Vig N. Environmental impacts of Indian coal thermal power plants and associated human health risk to the nearby residential communities: A potential review / N. Vig, K. Ravindra, S. Mor // *Chemosphere.* – 2023. – V. 341. – P. 140103. doi:10.1016/j.chemosphere.2023.140103.

371. Villicaña S. Genetic impacts on DNA methylation help elucidate regulatory genomic processes / S. Villicaña, J. Castillo-Fernandez, E. Hannon, C. Christiansen, P.C. Tsai, J. Maddock, D. Kuh, M. Suderman, C. Power, C. Relton, G. Ploubidis, A. Wong, R. Hardy, A. Goodman, K.K. Ong, J.T. Bell // *Genome Biol.* – 2023. – V. 24, No 1. – P. 176. doi:10.1186/s13059-023-03011-x.

372. Vimercati L. Environmental Monitoring of PAHs Exposure, Biomarkers and Vital Status in Coke Oven Workers / L. Vimercati, L. Bisceglia, D. Cavone, A. Caputi,

L. De Maria, M.C. Delfino, V. Corrado, G.M. Ferri // *Int J Environ Res Public Health*. – 2020. – V. 17, No 7. – P. 2199. doi:10.3390/ijerph17072199.

373. Volobaev V.P. Modifying influence of occupational inflammatory diseases on the level of chromosome aberrations in coal miners / V.P. Volobaev, M.Y. Sinitsky, A.V. Larionov, V.G. Druzhinin, N.I. Gafarov, V.I. Minina, J.E. Kulemin // *Mutagenesis*. – 2016. – V. 31, No 2. – P. 225-229. doi:10.1093/mutage/gev081.

374. Vouk V.B., Metallic elements in fossil fuel combustion products: amounts and form of emissions and evaluation of carcinogenicity and mutagenicity / B. Vouk, W.T. Piver // *Environ. Health Perspect.* – 1983. – V. 47. – P. 201-225.

375. Vral A. The micronucleus assay as a biological dosimeter of in vivo ionising radiation exposure / A. Vral, M. Fenech, H. Thierens // *Mutagenesis*. – 2011. – V. 26(1). – P. 11-17. doi:10.1093/mutage/geq078.

376. Wang D.P. Study of methylation of mitochondrial MT-COI of benzene poisoning / D.P. Wang, D.Y. Cai, X.L. Yang, X. Lu, D.F. Lin, P.M. Li, Z.M. Zhang, Y.F. Zhang, W. Zhang // *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. – 2020. – V. 38, No 9. – P. 664-668. doi:10.3760/cma.j.cn121094-20200409-00174.

377. Wang F. Genetic variants of nucleotide excision repair genes are associated with DNA damage in coke oven workers / F. Wang, Y. He, H. Guo, J. Li, Y. Yang, Z. Wu, H. Zheng, T. Wu // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2010. – V. 19, No 1. – P. 211-8. doi:10.1158/1055-9965.EPI-09-0270.

378. Wang H. Crosstalk of Genetic Variants, Allele-Specific DNA Methylation, and Environmental Factors for Complex Disease Risk / H. Wang, D. Lou, Z. Wang // *Front Genet.* – 2019. – V. 9. – P. 695. doi:10.3389/fgene.2018.00695.

379. Wang H. Dynamic changes of DNA methylation induced by benzo(a)pyrene in cancer / H. Wang, B. Liu, H. Chen, P. Xu, H. Xue, J. Yuan // *Genes Environ.* – 2023. – V. 45, No 1. – P. 21. doi:10.1186/s41021-023-00278-1.

380. Wang H. Mechanisms of Heavy Metal Cadmium (Cd)-Induced Malignancy / H. Wang, X. Gan, Y. Tang // *Biol Trace Elem Res.* – 2024. doi:10.1007/s12011-024-04189-2.

381. Wang H.N. Discussion on noise exposure level measurement and risk assessment of typical posts in coal-fired power plants / H.N. Wang, P. Li, X.J. Zhang, Z.W. Song, D.S. Niu // *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. – 2021. – V. 39, No 10. – P. 791-793. doi:10.3760/cma.j.cn121094-20200512-00253.

382. Wang K. Global and gene-specific promoter methylation, and micronuclei induction in lead-exposed workers: A cross-sectional study / K. Wang, Y. Meng, T. Wang, Y. Tu, S. Gong, G. Zhang, W. Au, Z. Xia // *Environ Mol Mutagen*. – 2021. – V. 62, No 7. – P. 428-434. doi:10.1002/em.22451.

383. Wang P. XRCC1 downregulated through promoter hypermethylation is involved in human gastric carcinogenesis / P. Wang, J.T. Tang, Y.S. Peng, X.Y. Chen, Y.J. Zhang, J.Y. Fang // *J Dig Dis*. – 2010. – V. 11, No 6. – P. 343-51. doi:10.1111/j.1751-2980.2010.00458.x.

384. Wang Q. Genetic polymorphisms of XRCC1, HOGG1 and MGMT and micronucleus occurrence in Chinese vinyl chloride-exposed workers / Q. Wang, F. Ji, Y. Sun, Y.L. Qiu, W. Wang, F. Wu, W.B. Miao, Y. Li, P.W. Brandt-Rauf, X.L. Xia // *Carcinogenesis*. – 2010. – V. 31, No 6. – P. 1068-1073. doi:10.1093/carcin/bgq075.

385. Wang T. Associations between DNA methylation and genotoxicity among lead-exposed workers in China / T. Wang, Y. Meng, Y. Tu, G. Zhang, K. Wang, S. Gong, Y. Zhang, T. Wang, A. Li, D.C. Christiani, W. Au, Z.L. Xia // *Environ Pollut*. – 2023. – V. 316(Pt 1). – P. 120528. doi:10.1016/j.envpol.2022.120528.

386. Wang T.S. Lymphocyte-based challenge DNA-repair assays for personalized health risk assessment / T.S. Wang, M. Ruchirawat, P. Narasumrit, Z.L. Xia, W.W. Au // *Mutat Res Rev Mutat Res*. – 2022. – V. 790. – P. 108427. doi:10.1016/j.mrrev.2022.108427.

387. Wang W. Glycogen metabolism reprogramming promotes inflammation in coal dust-exposed lung / W. Wang, M. Mu, Y. Zou, S. Deng, Y. Lu, Q. Li, Z. Li, H. Tao, Y. Wang, X. Tao // *Ecotoxicol Environ Saf*. – 2022. – V. 242. – P. 113913. doi:10.1016/j.ecoenv.2022.113913.

388. Wang Y. DNA methylation and telomere damage in occupational people exposed to coal tar pitch / Y. Wang, X. Duan, Y. Zhang, S. Wang, W. Yao, S. Wang,

W. Wang, Y. Wu // *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi.* – 2015. – V. 33, No 7. – P. 507-11.

389. Wei Y. Associations of Heavy Metals with Cognitive Function: An Epigenome-Wide View of DNA Methylation and Mediation Analysis / Y. Wei, Y.F. Zhou, L. Xiao, J. Qin, H. Cheng, H. Cai, X. Chen, Y. Zou, L. Yang, H. Zhang, Z. Zhang, X. Yang // *Ann Neurol.* – 2024. – V. 96, No 1. – P. 87-98. doi:10.1002/ana.26942.

390. Wu F. Correlation of chromosome damage and promoter methylation status of the DNA repair genes MGMT and hMLH1 in Chinese vinyl chloride monomer (VCM)-exposed workers / F. Wu, J. Liu, Y.L. Qiu, W. Wang, S.M. Zhu, P. Sun, W.B. Miao, Y.L. Li, P.W. Brandt-Rauf, Z.L. Xia // *Int J Occup Med Environ Health.* – 2013. – V. 26, No 1. – P. 173-182. doi:10.2478/S13382-013-0079-1.

391. Wu W. Quantitative assessment of the associations between DNA repair gene XRCC3 Thr241Met polymorphism and pancreatic cancer / W. Wu, S. Xu, L. Chen, C. Ji, T. Liang, M. He // *World J Surg Oncol.* – 2024. – V. 22, No 1. – P. 116. doi:10.1186/s12957-024-03450-1.

392. Wu Y. Association between ERCC2 Lys751Gln polymorphism and the risk of pancreatic cancer, especially among Asians: evidence from a meta-analysis / Y. Wu, Z. Lu, J. Zhang, D. Liu, G. Shi, C. Zhang, Z. Qin, J. Zhang, Y. He, P. Wu, Y. Miao, K. Jiang // *Oncotarget.* – 2017. – V. 8. – P. 50124-50132. doi:10.18632/oncotarget.15394.

393. Wultsch G. Use of micronucleus cytome assays with buccal cells for the detection of genotoxic effects: A systematic review and meta-analysis of occupational exposures to metals / G. Wultsch, A. Nersesyan, M. Kundi, M. Fenech, F. Eibensteiner, M. Mišík, G. Krupitza, F. Ferk, S. Knasmüller // *Mutat Res Rev Mutat Res.* – 2024. – V. 794. – P. 108510. doi:10.1016/j.mrrev.2024.108510.

394. Xi J. PIG-A gene mutation as a mutagenicity biomarker among coke oven workers / J. Xi, Y. Cao, Y. Wang, X. You, W. Liu, T. Wang, J. Yin, J. Ma, Z. Wang, N. Wu, X. Zhang, H. Duan, Y. Luan // *Food Chem Toxicol.* – 2023. – V. 178. – P. 113872. doi:10.1016/j.fct.2023.113872.

395. Xing C. Hypermethylation and downregulation of tumor suppressor gene p16 in benzene poisoning / C. Xing, Q. Wang, H. Tian, B. Li, Y. Ni, S. Yin, X. Guo, G. Li // Wei Sheng Yan Jiu. – 2012. – V. 41, No 2. – P. 247-250.

396. Xing C. Microsomal epoxide hydrolase (EPHX1) polymorphisms are associated with aberrant promoter methylation of ERCC3 and hematotoxicity in benzene-exposed workers / C. Xing, Q. Wang, N. Zhou, H. Li, B. Zhang, T. Qi, X. Guan, Z. An, L. Ren, C. Wang, Y. He // Environ Mol Mutagen. – 2013. – V. 54(6). – P. 397-405. doi:10.1002/em.21786.

397. Xu K. XRCC2 rs3218536 polymorphism decreases the sensitivity of colorectal cancer cells to poly(ADP-ribose) polymerase 1 inhibitor / K. Xu, X. Song, Z. Chen, C. Qin, Y. He // Oncol Lett. – 2014. – V. 8, No 3. – P. 1222-1228. doi:10.3892/ol.2014.2236.

398. Xu W. Association between XRCC1 Arg280His polymorphism and risk of hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis / W. Xu, S.A. Liu, L. Li, Z.Y. Shen, Y. Wu // Genet Mol Res. – 2015. – V. 14, No 2. – P. 7122-7129. doi:10.4238/2015.JUNE.29.5.

399. Yan L. Association Studies Between XRCC1, XRCC2, XRCC3 Polymorphisms and Differentiated Thyroid Carcinoma / L. Yan, Q. Li, X. Li, H. Ji, L. Zhang // Cell Physiol Biochem. – 2016. – V. 38, No 3. – P. 1075-1084. doi:10.1159/000443058.

400. Yang J. Aberrant hypomethylated STAT3 was identified as a biomarker of chronic benzene poisoning through integrating DNA methylation and mRNA expression data / J. Yang, W. Bai, P. Niu, L. Tian, A. Gao // Exp Mol Pathol. – 2014. – V. 96, No 3. – P. 346-353. doi:10.1016/j.yexmp.2014.02.013.

401. Yang J. Urinary 1-hydroxypyrene and smoking are determinants of LINE-1 and AhRR promoter methylation in coke oven workers / J. Yang, Y. Liu, H. Zhang, H. Zhang, W. Wang, Y. Fan // Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen. – 2018. – V. 826. – P. 33-40. doi:10.1016/j.mrgentox.2018.01.001.

402. Yang P. CpG site-specific hypermethylation of p16INK4 α in peripheral blood lymphocytes of PAH-exposed workers / P. Yang, J. Ma, B. Zhang, H. Duan, Z. He,

J. Zeng, X. Zeng, D. Li, Q. Wang, Y. Xiao, C. Liu, Q. Xiao, L. Chen, X. Zhu, X. Xing, Z. Li, S. Zhang, Z. Zhang, L. Ma, E. Wang, Z. Zhuang, Y. Zheng, W. Chen // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2012. – V. 21, No 1. – P. 182-190. doi:10.1158/1055-9965.EPI-11-0784.

403. Yang X.B. Influences of excision repair cross complementation group 4 genetic variations on DNA damage in lymphocytes among coke oven workers / X.B. Yang, J.P. Zhen, Y. Bai, H. Wang, H. Tan, F.J. Tian, W.H. Chen, T.C. Wu // *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi.* – 2007. – V. 25, No 8. – P. 449-52.

404. Yano S. Histone H3K36me2 and H3K36me3 form a chromatin platform essential for DNMT3A-dependent DNA methylation in mouse oocytes / S. Yano, T. Ishiuchi, S. Abe, S.H. Namekawa, G. Huang, Y. Ogawa, H. Sasaki // *Nat Commun.* – 2022. – V. 13. – P. 4440. doi:10.1038/s41467-022-32141-2.

405. Yousefian M. Role of CYP1A1, CYP2D6, and NOS3 gene polymorphisms in idiopathic recurrent pregnancy loss in the Iranian Azeri population: A case-control study / M. Yousefian, A. Angaji, E. Siasi, S. Ali Rahmani, K. Abbasalizadeh Khiaban // *Int J Reprod Biomed.* – 2022. – V. 20, No 8. – P. 671-682. doi:10.18502/ijrm.v20i8.11756.

406. Yu X. The role of epigenetics in women's reproductive health: the impact of environmental factors / X. Yu, G. Hou, R. Zhu, J. Liu, Y.F. Liu, Y.J. Ma // *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2024. – V. 15. – P. 1399757. doi:10.3389/fendo.2024.1399757.

407. Zawia N.H. Epigenetics, oxidative stress, and Alzheimer disease / N.H. Zawia, D.K. Lahiri, F. Cardozo-Pelaez // *Free Radic Biol Med.* – 2009. – V. 46. – P. 1241-1249. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2009.02.006.

408. Zeng Y. Genetic Association between ERCC5 rs17655 Polymorphism and Colorectal Cancer Risk: Evidence Based on a Meta-analysis / Y. Zeng, L. Wei, Y.J. Wang, C. Liu // *Asian Pac J Cancer Prev.* – 2015. – V. 16, No 13. – P. 5565-5571. doi:10.7314/apjcp.2015.16.13.5565.

409. Zeng Z. Differential DNA methylation in newborns with maternal exposure to heavy metals from an e-waste recycling area / Z. Zeng, X. Huo, Y. Zhang, M.N. Hylkema, Y. Wu, X. Xu // *Environ Res.* – 2019. – V. 171. – P. 536-545. doi:10.1016/j.envres.2019.01.007.

410. Zhang C.Z. Chromothripsis from DNA damage in micronuclei / C.Z. Zhang, A. Spektor, H. Cornils, J.M. Francis, E.K. Jackson, S. Liu, M. Meyerson, D. Pellman // *Nature.* – 2015. – V. 522, No 7555. – P. 179-184. doi:10.1038/nature14493.

411. Zhang F. A association of genetic polymorphisms of XRCC1 and damage levels in workers exposed to coal tar pitch / F. Zhang, X.C. Sun, C.D. Lu, W. Zhang, H. Shao, Z.X. Wang // *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi.* – 2017. – V. 35, No 1. – P. 7-10. doi:10.3760/cma.j.issn.1001-9391.2017.01.002.

412. Zhang G.H. Association of BER and NER pathway polymorphism haplotypes and micronucleus frequencies with global DNA methylation in benzene-exposed workers of China: Effects of DNA repair genes polymorphisms on genetic damage / G.H. Zhang, J.C. Ren, M. Luo, J. Cui, Y. Du, D. Yang, S. Cui, S. Wang, W. Wu, J. Cao, X.L. Xia // *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* – 2019. – V. 839. – P. 13-20. doi:10.1016/j.mrgentox.2019.01.006.

413. Zhang H. Methylation of CpG island of p14(ARK), p15(INK4b) and p16(INK4a) genes in coke oven workers / H. Zhang, X. Li, L. Ge, J. Yang, J. Sun, Q. Niu // *Hum Exp Toxicol.* – 2015. – V. 34, No 2. – P. 191-197. doi:10.1177/0960327114533576.

414. Zhang J. The clinical spectrum associated with ERCC5 mutations: Is there a relationship between phenotype and genotype? / J. Zhang, J. Ma, Y. Luo, S. Hong, L. Jiang, T. Li // *Deleted Journal.* – 2024. doi:10.1002/pdi3.71.

415. Zhang N. Dust induces lung fibrosis through dysregulated DNA methylation / N. Zhang, K. Liu, K. Wang, C. Zhou, H. Wang, S. Che, Z. Liu, H. Yang // *Environ Toxicol.* – 2019. – V. 34, No 6. – P. 728-741. doi:10.1002/tox.22739.

416. Zhang P.-N. DNA methylome profiling in occupational radon exposure miners using an Illumina Infinium Methylation EPIC BeadChip / P.-N. Zhang, Y. Wu,

C. Piao, Y. Song, Y. Zhao, Y. Lyu, Q. Sun, J. Liu // *Toxicol Res (Camb)*. – 2023. – V. 12, No 5. – P. 943-953. doi:10.1093/toxres/tfad084.

417. Zhang W. Chronic Administration of Benzo(a)pyrene Induces Memory Impairment and Anxiety-Like Behavior and Increases of NR2B DNA Methylation / W. Zhang, F. Tian, J. Zheng, S. Li, M. Qiang // *PLoS One*. – 2016. – V. 11, No 2. – P. e0149574. doi:10.1371/journal.pone.0149574.

418. Zhang W. Ex vivo coronary endothelial cell activation associated with indoor coal combustion initiated atherosclerosis / W. Zhang, Y. Pang, W. Cheng, T. Wang, Y. Li, X. Li, J. Zhang, X. Xia, Y. Zheng, R. Zhang, J. Tang // *Sci Total Environ*. – 2023. – V. 858(Pt 3). – P. 160174. doi:10.1016/j.scitotenv.2022.160174.

419. Zhang X. Associations between DNA methylation in DNA damage response-related genes and cytokinesis-block micronucleus cytome index in diesel engine exhaust-exposed workers / X. Zhang, J. Li, Z. He, H. Duan, W. Gao, H. Wang, S. Yu, W. Chen, Y. Zheng // *Arch Toxicol*. – 2016. – V. 90, No 8. – P. 1997-2008. doi:10.1007/s00204-015-1598-2.

420. Zhang X.X. An epigenome-wide DNA methylation study of workers with an occupational exposure to lead / X.X. Zhang, Z. He, B. Feng, H. Shao // *J Appl Toxicol*. – 2019. – V. 39, No 9. – P. 1311-1319. doi:10.1002/jat.3816.

421. Zhang Y. The Arg188His polymorphism in the XRCC2 gene and the risk of cancer / Y. Zhang, H. Wang, Y. Peng, Y. Liu, T. Xiong, P. Xue, L. Du // *Tumour Biol*. – 2014. – V. 35, No 4. – P. 3541-3549. doi:10.1007/s13277-013-1468-6.

422. Zhang Z. Global H3K79 di-methylation mediates DNA damage response to PAH exposure in Chinese coke oven workers / Z. Zhang, X. Xing, S. Jiang, C. Qiu, Z. Mo, S. Chen, L. Chen, Q. Wang, Y. Xiao, G. Dong, Y. Zheng, W. Chen, D. Li // *Environ Pollut*. – 2021. – V. 268(Pt B). – P. 115956. doi:10.1016/j.envpol.2020.115956.

423. Zhao C. Parent and Halogenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Serum of Coal-Fired Power Plant Workers: Levels, Sex Differences, Accumulation Trends, and Risks / C. Zhao, A. Li, G. Zhang, Y. Pan, L. Meng, R. Yang, Q. Zhang, G. Jiang // *Environ Sci Technol*. – 2022. – V. 56, No 17. – P. 12431-12439. doi:10.1021/acs.est.2c03099.

424. Zhao H. TH1/TH2 type cytokine expression and DNA aberrant methylation analysis in peripheral blood of coke oven workers / H. Zhao, Y. Gao, T. Song, Y. Jia // Wei Sheng Yan Jiu. – 2020. – V. 49, No 2. – P. 242-248. doi:10.19813/j.cnki.weishengyanjiu.2020.02.013.

425. Zhao T. Population-wide DNA methylation polymorphisms at single-nucleotide resolution in 207 cotton accessions reveal epigenomic contributions to complex traits / T. Zhao, X. Guan, Y. Hu, Z. Zhang, H. Yang, X. Shi, J. Han, H. Mei, L. Wang, L. Shao, H. Wu, Q. Chen, Y. Zhao, J. Pan, Y. Hao, Z. Dong, X. Long, Q. Deng, S. Zhao, M. Zhang, Y. Zhu, X. Ma, Z. Chen, Y. Deng, Z. Si, X. Li, T. Zhang, F. Gu, X. Gu, L. Fang // Cell Res. – 2024. – V. 34. – P. 859-872. doi:10.1038/s41422-024-01027-x.

426. Zheng M. Association between Promoter Methylation of Gene ERCC3 and Benzene Hematotoxicity / M. Zheng, F. Lin, F. Hou, G. Li, C. Zhu, P. Xu, C. Xing, Q. Wang // Int J Environ Res Public Health. – 2017. – V. 14, No 8. – P. 921. doi:10.3390/ijerph14080921.

427. Zhovmer A. Two sides of the same coin: TFIIH complexes in transcription and DNA repair / A. Zhovmer, V. Oksenych, F. Coin // ScientificWorldJournal. – 2010. – V. 10. – P. 633-643. doi:10.1100/tsw.2010.46.

428. Ziller M.J. Coverage recommendations for methylation analysis by whole-genome bisulfite sequencing / M.J. Ziller, K.D. Hansen, A. Meissner, M.J. Aryee // Nat Methods. – 2015. – V. 12, No 3. – P. 230-232. doi:10.1038/nmeth.3152.

429. Zuo C. Polymorphisms in ERCC4 and ERCC5 and risk of cancers: Systematic research synopsis, meta-analysis, and epidemiological evidence / C. Zuo, X. Lv, T. Liu, L. Yang, Z. Yang, C. Yu, H. Chen // Front Oncol. – 2022. – V. 12. – P. 951193. doi:10.3389/fonc.2022.951193.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

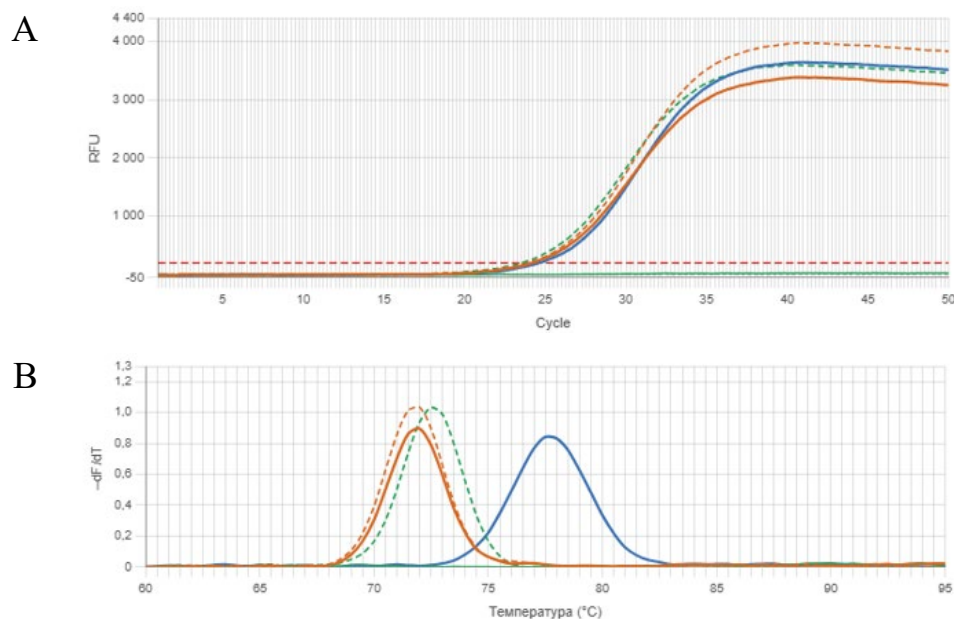


Рисунок А1 – Результаты дуплексной метил-специфической ПЦР в реальном времени с TaqMan зондами для образца с **гиперметилированным** промоторным регионом гена *XRCC1*. Здесь и далее: реакции М (метил-специфическая, зонд R6G-BHQ1) и U (деметил-специфическая, зонд FAM-BHQ1); контроль количества ДНК (зонд Cy5-BHQ2, локус *ALU-C4*). Цвета кривых изменены относительно настроек программы CFX Manager по умолчанию: оранжевый – HEX (535/556 нм), М-реакция (метил-специфическая). Сплошная линия – образец, пунктир – SssI-контроль. Зелёный – FAM (494/520 нм), U-реакция (деметил-специфическая). Сплошная линия – образец, пунктир – U+контроль; Синий – канал Cy5 (650/670 нм), локус *ALU-C4*, сплошная линия; Красный – порог детекции 200 RFU, пунктир. А – кривая амплификации, В – кривая плавления.

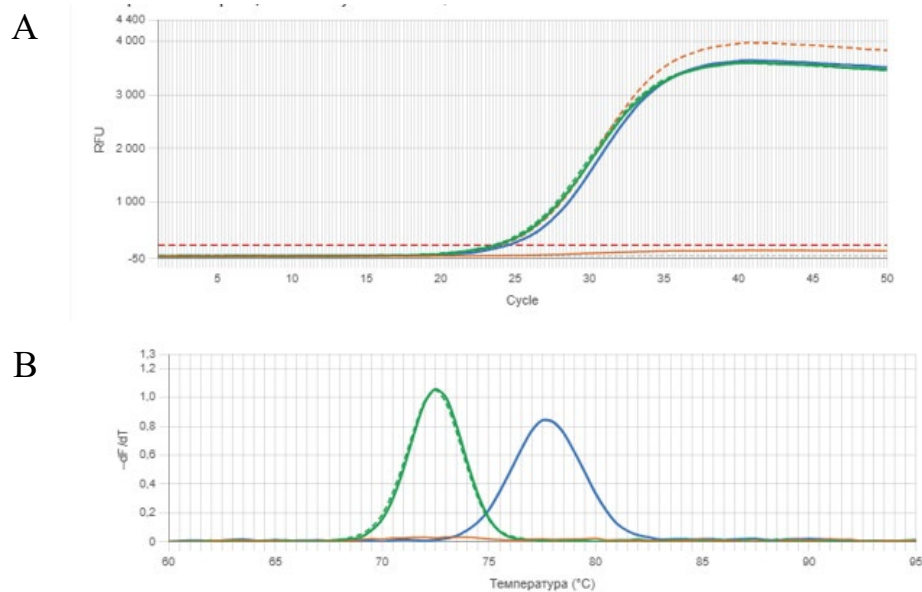


Рисунок А2 – Результаты дуплексной метил-специфической ПЦР в реальном времени с TaqMan зондами для образца с деметилированным промоторным регионом гена *XRCC1*

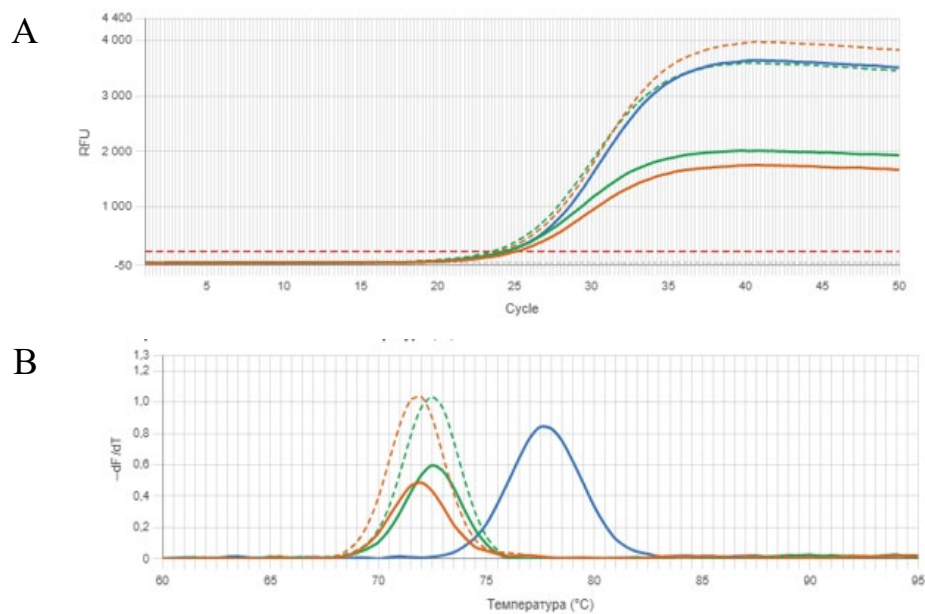


Рисунок А3 – Результаты дуплексной метил-специфической ПЦР в реальном времени с TaqMan зондами для образца с частично метилированным промоторным регионом гена *XRCC1*

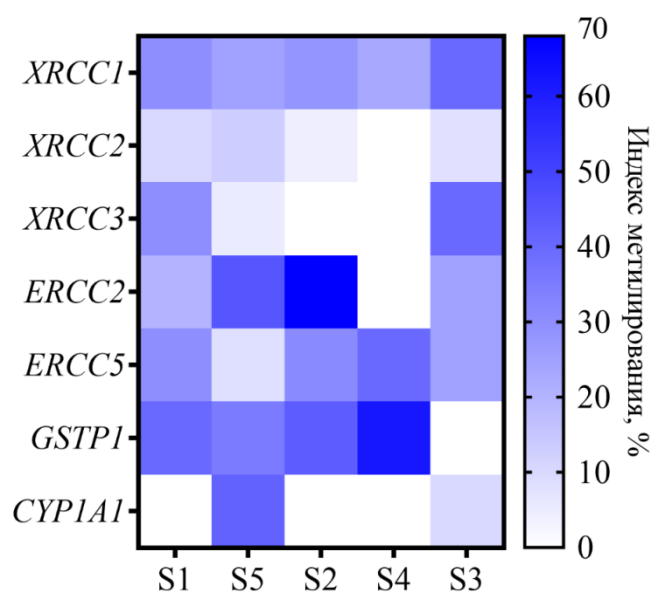


Рисунок Б1 – Результаты WGBS: по оси X – номер образца; по оси Y – гены. Представлен % метилирования промоторного региона. > 20 – частично метилированный статус

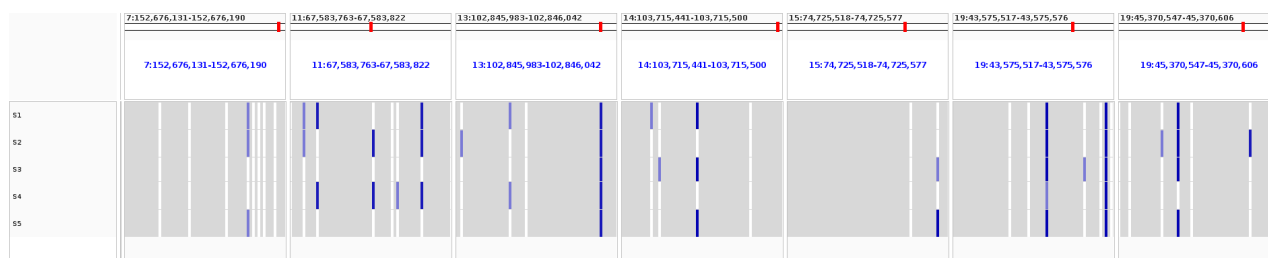


Рисунок Б2 – Результаты WGBS. Визуализация профилей метилирования промоторных регионов выполнена в программе IGV (Integrative Genomics Viewer, <https://igv.org>, версия 2.16.1) с использованием референсной сборки hg38. Столбцы на сером фоне – отдельный CG-сайт. Представлен % метилирования каждого CG-динуклеотида в изученных промоторах. Цветом обозначено: белый – деметилирование, тёмно-синий – гиперметилирование