

Читать
онлайн
Read
online

Долгих О.В., Казакова О.А.

Модифицированная бенз(а)пиреном и вакцинным антигеном SARS-COV-2 экспрессия гена онкосупрессора TP53 в эксперименте *in vitro*

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 614045, Пермь, Россия

Введение. Воздействие химических и биологических средовых факторов сопряжено с риском реализации генетической предрасположенности к развитию сердечно-сосудистых и онкоассоциированных болезней, что определяет актуальность поиска генетических индикаторных маркеров ранних нарушений в структуре мРНК.

Материалы и методы. Проведён анализ полиморфизма гена TP53 rs1042522, а также относительного нормализованного уровня экспрессии транскрипта TP53 hs1034249_m1 (как спонтанного, так и индуцированного 24-часовой инкубацией бенз(а)пиреном и вакцинным антигеном SARS-CoV-2 в концентрациях 0,006 мг/мл) в культуре клеток цельной крови здоровых добровольцев.

Результаты. Сравнительный анализ спонтанных и индуцированных антигенами уровней экспрессии мРНК TP53 hs1034249_m1 позволил определить индивидуальные и групповые значения относительной экспрессии, сопряжённые с особенностями полиморфизма гена TP53 rs1042522. Установлено, что бенз(а)пирен и SARS-CoV-2 оказывают противоположные эффекты на экспрессию hs1034249_m1 гена TP53 в случае генотипа CG rs1042522, при этом сочетанный эффект бенз(а)пирена и SARS-CoV-2, который отражал угнетение экспрессии hs00900055_m1 гена TP53, сопряжён с генотипом GG.

Ограничения исследования заключаются в использовании относительно небольшой выборки и ограниченного количества образцов проб цельной крови. **Заключение.** Показана способность бенз(а)пирена и SARS-CoV-2 в концентрациях 6 мкг/л модифицировать *in vitro* экспрессию гена апоптоза TP53, что позволяет рассматривать индуцированное бенз(а)пиреном повышение экспрессии hs00900055_m1 гена TP53 в качестве одного из механизмов утяжеления течения вирусных инфекций (SARS-CoV-2) в связи с утратой p53-контролинга за развитием воспаления (пролиферативной его фазы) для обладателей гетерозиготного варианта CG TP53 rs1042522, а в случае вариантного монозиготного полиморфизма GG TP53 rs1042522 сочетание бенз(а)пирена и SARS-CoV-2 приводит к угнетению экспрессии мРНК hs00900055_m1 гена TP53, что фенотипически реализуется формированием астении, иммуносупрессии и онкопролиферативных осложнений. Транскрипт hs00900055_m1 гена TP53 рекомендуется в качестве индикаторного показателя для задач диагностики ранних нарушений, ассоциированных с комбинацией «SARS-CoV-2 + бенз(а)пирен». Эксперимент моделирует натурные условия реальных сочетаний воздействующих факторов.

Ключевые слова: бенз(а)пирен; вакцинный антиген SARS-COV-2; экспрессия гена TP53; культура клеток цельной крови

Соблюдение этических стандартов. Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов» и Национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ Р 52379–2005 «Надлежащая клиническая практика» (ICH E6 GCP). Исследование одобрено ЛЭК ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол № 3 от 05.04.2023 г.). Получено добровольное информированное письменное согласие участников на проведение медицинского обследования.

Для цитирования: Долгих О.В., Казакова О.А. Модифицированная бенз(а)пиреном и вакцинным антигеном SARS-COV-2 экспрессия гена онкосупрессора TP53 в эксперименте *in vitro*. *Гигиена и санитария*. 2023; 102(10):1043–1047. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-10-1043-1047> <https://elibrary.ru/ljoiwX>

Для корреспонденции: Казакова Ольга Алексеевна, мл. науч. сотр. лаб. иммуногенетики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», Россия, 614045, Пермь. E-mail: chakina2011@yandex.ru

Участие авторов: Долгих О.В. — концепция и дизайн исследования, редактирование, ответственность за целостность всех частей статьи, утверждение окончательного варианта статьи; Казакова О.А. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила: 21.08.2023 / Принята к печати: 26.09.2023 / Опубликовано: 20.11.2023

Oleg V. Dolgikh, Olga A. Kazakova

Expression of the TP53 oncosuppressor gene modified with benzo[a]pyrene and the SARS-COV-2 vaccine antigen in an *in vitro* experiment

Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, 614045, Russian Federation

Introduction. The impact of chemical and biological environmental factors is associated with the risk of a genetic predisposition to the development of cardiovascular and cancer-associated diseases, which determines the relevance of the search for genetic indicator markers of early disorders in the mRNA structure.

Materials and methods. The analysis of TP53 rs1042522 gene polymorphism, as well as the relative normalized expression level of TP53 hs1034249_m1 transcript, in whole blood cell culture in healthy volunteers, both spontaneous and induced by 24-hour incubation with benzo[a]pyrene and SARS-CoV-2 vaccine antigen (at concentrations of 0.006 mg/kg). MI), was conducted.

Results. Comparative analysis of spontaneous and antigen-induced levels of TP53 hs1034249_m1 mRNA expression allowed establishing individual and group values of relative expression associated with the polymorphism features of the TP53 rs1042522 gene. Benzo[a]pyrene and SARS-CoV-2 were found to have opposite effects on the expression of hs1034249_m1 TP53 genes in the case of the CG rs1042522 genotype, while the combined effect of benzo[a]pyrene and SARS-CoV-2, which reflected the inhibition of the expression of hs00900055_m1 of the TP53 gene was associated with the GG genotype.

The limitations of the study are the use of a relatively small sample and a limited number of whole blood samples.

Conclusion. The ability of benzo[a]pyrene and SARS-CoV-2 at concentrations of 6 µg/L to modify the expression of the TP53 apoptosis gene *in vitro* has been shown, which makes it possible to consider the increase in the expression of *hs00900055_m1* of the TP53 gene induced by benzo[a]pyrene as one of the mechanisms for aggravating the course of viral infections (SARS-CoV-2) in connection with loss of p53-controlling for the development of inflammation (its proliferative phase) for owners of the heterozygous variant of CG TP53 rs1042522. In the case of variant monozygotic polymorphism GG TP53 rs1042522, the combination of benzo[a]pyrene and SARS-CoV-2 leads to inhibition of the expression of *hs00900055_m1* mRNA of the TP53 gene, which is phenotypically reflected by the formation of asthenia, immunosuppression and onco-proliferative complications. The *hs00900055_m1* transcript of the TP53 gene is recommended as an indicator for the tasks of diagnosing early disorders associated with the combination of SARS-CoV-2+ benzo[a]pyrene. The experiment simulates the natural conditions of real combinations of influencing factors.

Keywords: benzo[a]pyrene; SARS-COV-2 vaccine antigen; TP53 gene expression; whole blood cell culture

Compliance with ethical standards. The study was performed in accordance with the World Medical Association's Declaration of Helsinki "Ethical principles for conducting medical research involving people as subjects" and the National Standard of the Russian Federation GOST-R 52379-2005 "Good Clinical Practice" (ICH E6 GCP).

For citation: Dolgikh O.V., Kazakova O.A. Expression of the TP53 oncosuppressor gene modified with benzo[a]pyrene and the SARS-CoV-2 vaccine antigen in an *in vitro* experiment. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102(10): 1043–1047. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-10-1043-1047> <https://elibrary.ru/ljoiwX> (In Russ.)

For correspondence: Olga A. Kazakova, MD, junior researcher at the laboratory of Immunogenetics of the Federal Research Center for Medical and Preventive Technologies of Public Health Risk Management, Perm, 614045, Russia. E-mail: chakina2011@yandex.ru

Information about authors:

Dolgikh O.V., <https://orcid.org/0000-0003-4860-3145> Kazakova O.A., <https://orcid.org/0000-0002-0114-3930>

Contribution: Dolgikh O.V. – the concept and design of the study, editing, responsibility for the integrity of all parts of the article, approval of the final version of the article; Kazakova O.A. – concept and design of research, collection and processing of material, writing of text.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement. The study had no sponsorship.

Received: August 21, 2023 / Accepted: September 26, 2023 / Published: November 20, 2023

Введение

В настоящее время актуально изучение влияния вредных химических факторов, в том числе полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), обладающих мутагенной активностью, на формирование нарушений здоровья, прежде всего на такие его компартменты, как иммунологическая толерантность и генетическая стабильность. Из сотен ПАУ различного строения, обнаруженных в объектах окружающей среды, наиболее типичным химическим канцерогеном является бенз(а)пирен. Бенз(а)пирен отнесён к веществам первого класса опасности, характеризующимся чрезвычайно опасным воздействием на окружающую среду и человека [1–4]. Механизм действия бенз(а)пирена состоит в превращении его при метаболизме в химически активные вещества, образующие ковалентные связи с ДНК-аддуктами, которые индуцируют мутации в онкогене K-RAS и гене-супрессоре TP53, вызывая образование опухолей [5, 6].

Пути проникновения бенз(а)пирена в организм разнообразны: с пищей и водой, через кожу и дыхание. Это вещество оказывает не только канцерогенное, но и эмбриотоксическое, гематотоксическое и мутагенное действие, внедряется в комплекс ДНК и расширяет двойную спираль, что нарушает структуру и взаимосвязи молекул ДНК. Кроме того, бенз(а)пирен повышает риск развития сердечно-сосудистых болезней [2, 3, 7, 8].

Серьёзным вызовом человечеству в последние годы стали угрозы, возникшие в связи с пандемией вируса SARS-CoV-2 и вызываемыми им патологиями. До сих пор непонятны молекулярно-генетические механизмы эволюционного возникновения SARS-CoV-2, а также коморбидоподобных патологических проявлений и взаимодействия организма человека с SARS-CoV-2 в условиях негативного окружения химическими патогенами, обладающими сходными органами-мишенями [7].

В настоящее время биотехнологическим путём получена вакцина SARS, в которой не используется патогенный для человека вирус SARS-CoV-2. Препарат состоит из двух компонентов (I и II). В состав компонента I входит рекомбинантный аденовирусный вектор на основе аденовируса человека 26-го серотипа, несущий ген белка S-вируса SARS-CoV-2, в состав компонента II входит вектор на основе аденовируса человека 5-го серотипа, несущий ген белка S-вируса SARS-CoV-2.

Последние несколько лет прилагаются огромные усилия к расшифровке молекулярных механизмов мутагенеза и канцерогенеза, отличающих эффекты как ПАУ [5], так и SARS-CoV-2, что способствовало выявлению новых белков-регуляторов клеточного цикла и апоптоза, антисмысловых РНК, рибозимов, антигенов.

Так, ген фактора транскрипции TP53 кодирует белок-онкосупрессор p53, который регулирует множество внутриклеточных метаболических путей, участвующих в репарации повреждений ДНК, остановке клеточного цикла, апоптозе и старении. Наличие мутации в гене может негативно повлиять на эти пути, что ведёт к онкопролиферации. Многие мутации TP53 являются миссенс-мутациями [6].

При отсутствии повреждений генетического аппарата белок p53 находится в неактивном состоянии, а при появлении повреждений ДНК активируется [8].

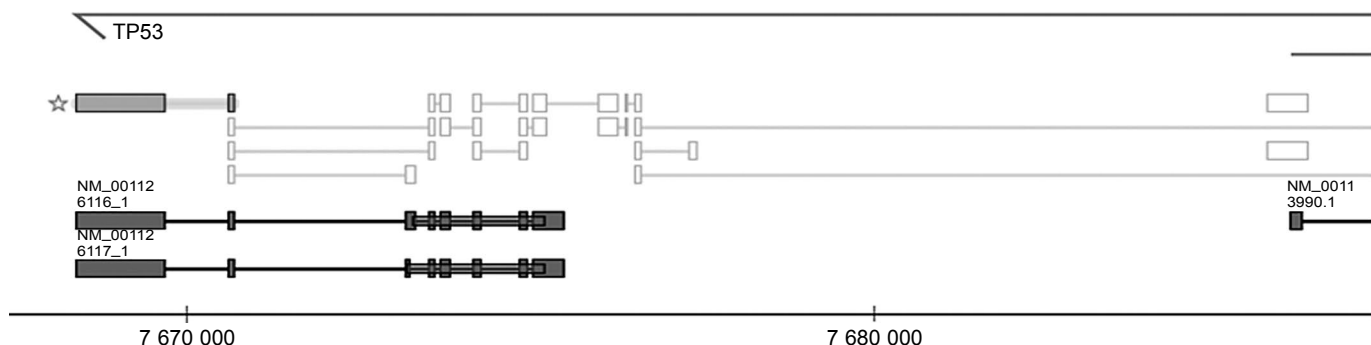
Мутации в гене TP53 помимо изменения транскрипционных свойств могут приводить к ингибированию связывания белка p53 с генами-мишенями, а также к явлению, именуемому приобретением новых функций. В результате происходит индукция экспрессии генов-рецепторов ростовых факторов (VEGF), онкогенов (с-Мус, с-Fos) или взаимодействие с белками-супрессорами p63, p73, ведущее к последующему нарушению запуска апоптотической программы по p53-независимому пути [9].

Нормальное функционирование белка p53 препятствует бесконтрольному делению неполноценных клеток. Если в результате какого-либо воздействия в клетке возникают повреждения молекулы ДНК, белок p53 остановит её деление до устранения повреждения либо активирует программируемую гибель до того, как она успеет поделиться.

Данный механизм работает до тех пор, пока ген TP53 имеет нормальную структуру. Когда в нём возникают мутации, клетка накапливает мутантный белок, который не может выполнять свою основную функцию. Это нарушает механизмы включения апоптоза, что проявляется развитием новообразований, а при их существовании способствует возникновению резистентности опухолевых клеток к проводимой химиотерапии [10, 11].

Выяснено, что p53 играет решающую роль на различных стадиях инфекции многих вирусов, а коронавирусы снижают эндогенный уровень p53 в клетках, которые они заражают, усиливая деградацию p53 в протеосомах [12].

Build 38.2 Human Chr.17: Hs01034249_m1



Ген *TP53* и экспрессируемый фрагмент.
TP53 gene and the expressed fragment.

В настоящее время отсутствуют методологии и способы оценки иммунных нарушений, в развитии которых в качестве маркёров эффекта и чувствительности выступают характеризующие модифицированную экспрессию патогномичных генов маркёры. Методические подходы к оценке экспрессии кандидатных генов обеспечивают возможность идентификации и прогнозирования иммунных нарушений, ассоциированных с воздействием средовых химических факторов, а также их сочетаний с вирусными антигенами за счёт использования геномно-транскриптомных маркёров чувствительности [13].

Актуально выделение специфических генотипов и их фенотипов, являющихся мишенью поступающих в организм мутагенов, что позволит оценить их модифицирующее влияние на процесс экспрессии иммуотропных генов как спонтанной, так и индуцированной искусственно вводимой разрешающей дозой экзогенных химических (бенз(а)пирен) и биологических (SARS-CoV-2) антигенов.

Цель работы – экспериментальная оценка нарушений транскриптома, ассоциированных с модификацией экспрессии полиморфных вариантов гена-кандидата онкосупрессора *TP53* rs1042522 в экспериментальных условиях *in vitro* (на примере бенз(а)пирена и вакцинного антигена SARS-CoV-2).

Материалы и методы

Проведена оценка уровня модифицированной относительной нормализованной экспрессии гена онкосупрессора *TP53* в культуре клеток цельной крови 18 человек (здоровые мужчины в возрасте 25–35 лет без вредных привычек и обострений хронических болезней) в эксперименте *in vitro* с 24-часовой инкубацией, в спонтанном и индуцированном бенз(а)пиреном и вакцинным антигеном SARS-CoV-2

(в концентрации 0,006 мг/мл) состоянии методом ПЦР в режиме реального времени на приборе BioRAD CFX96 в программе TaqMan. Вакцинный антиген SARS-CoV-2 – рекомбинантные аденовирусные частицы 26-го (25-го) серотипа, содержащие ген белка S-вируса SARS-CoV-2.

Для достижения поставленной цели использованы прямой и обратный праймеры гена *TP53* hs1034249_m1 (см. рисунок), а также ген *ACTB* Hs99999903_m1, относительно которого рассчитывали уровень экспрессии. Наборы для выделения кРНК и синтез праймеров для оценки кандидатных полиморфизмов произведены ООО «Синтол» (Москва). Оценка экспрессии выполнена в специализированной программе TaqMAN на приборе BioRAD CFX96 (Сингапур).

Методом ПЦР в режиме реального времени на приборе BioRAD CFX96 определён полиморфизм гена *TP53* rs1042522 в культуре клеток анализируемых проб крови, картированный в пределах экспрессируемого фрагмента, для оценки вклада однонуклеотидной замены в изменение экспрессии гена (см. рисунок).

Результаты

В результате проведённых экспериментальных исследований *in vitro* по оценке уровня относительной экспрессии гена онкосупрессора *TP53* hs1034249_m1 в спонтанном и индуцированном бенз(а)пиреном и вакцинным антигеном SARS-CoV-2 состоянии в пробах крови установлено, что индивидуальные значения экспрессии сопряжены с полиморфными вариантами (генотипами) кандидатного гена *TP53* rs1042522 (см. таблицу).

Спонтанный уровень экспрессии *TP53* hs1034249_m1 отмечался минимальным повышением относительной экспрессии в образцах клеток цельной крови с вариантным GG генотипом гена *TP53* rs1042522.

Уровень спонтанной и индуцированной антигенами экспрессии гена *TP53* в образцах цельной крови

Level of spontaneous and antigen-induced *TP53* gene expression in whole blood samples

Генотип по Rs 2010963 Genotype according to Rs 2010963	CC	CG	GG
Спонтанная экспрессия – физраствор / Spontaneous expression – saline solution	1.0*	1.0*	1.1 ± 0.09↑
Индукцированная бенз(а)пиреном экспрессия / Benzo(a)pyrene-induced expression	1.8 ± 0.33↑	42.4 ± 2.77↑	1.0*
Индукцированная SARS экспрессия / SARS-induced expression	3.6 ± 0.11↑	0.8 ± 0.03↓	1.0*
Индукцированная бенз(а)пиреном и SARS экспрессия / Benzo(a)pyrene and SARS-induced expression	1.0*	7.1 ± 1.15↑	0.0↓
Экспрессия, ассоциированная с генотипом (y. e.) / Expression associated with genotype (c.u.)	2.7 ± 0.44	16.8 ± 3.16	1.0 ± 0.12

Примечание. * 1,0 – средний уровень относительной экспрессии (нормализованный по гену домашнего хозяйства); ↑ – потенцирование экспрессии; ↓ – подавление экспрессии; CC – дикий генотип, CG – гетерозиготный генотип, GG – вариантный генотип.

Note: * 1.0 – average relative expression level (normalized to the housekeeping gene); ↑ – potentiation of expression; ↓ – suppression of expression; CC – wild genotype, CG – heterozygous genotype, GG – variant genotype.

Индукцированная бенз(а)пиреном экспрессия *TP53* hs1034249_m1 характеризовалась её повышением для носителей С-аллеля (генотипы СС и СG) гена *TP53* rs1042522.

Вакцинный антиген SARS-CoV-2 снижал уровень экспрессии *TP53* hs1034249_m1 для проб крови, имеющих гетерозиготный генотип СG гена *TP53* rs1042522, и одновременно потенцировал экспрессию в образцах с дикой гомозиготой СС гена *TP53* rs1042522.

Сочетание «бенз(а)пирен + SARS-CoV-2» обладало потенцирующим воздействием, вызывая увеличение экспрессии гена онкосупрессора *TP53* rs1042522 (маркёр hs1034249_m1) в случае гетерозиготного варианта гена СG и угнетение экспрессии в случае вариантного гомозиготного генотипа гена транскрипционного фактора (см. таблицу).

Максимальный уровень экспрессии *TP53* hs1034249_m1, сопряжённый с генотипами гена *TP53* rs1042522, соответствовал СG гетерозиготному генотипу в условиях индукции бенз(а)пиреном.

Таким образом, настоящим экспериментальным исследованием установлено, что в случае гетерозиготного варианта гена СG бенз(а)пирен *in vitro* проявляет способности активатора экспрессии гена онкосупрессора *TP53* rs1042522 (маркёр hs1034249_m1), одновременно вакцинный антиген SARS-CoV-2 угнетает экспрессию гена *TP53* rs1042522 (маркёр hs1034249_m1). Сочетание «бенз(а)пирен + SARS-CoV-2» вызывает увеличение экспрессии гена онкосупрессора *TP53* rs1042522 (маркёр hs1034249_m1) в случае гетерозиготного варианта гена СG и угнетение экспрессии гена *TP53* в случае вариантного гомозиготного генотипа гена транскрипционного фактора GG.

Обсуждение

Различные исследования показали, что миссенс-мутации гена *TP53* являются мутациями усиления функций и придают онкогенные функции р53. В нормальных клетках уровень р53 поддерживается на низком уровне рядом регуляторов и активируется различными стрессовыми стимулами. Белок р53 контролирует обширную генетическую сеть, сложные программы транскрипции и разнообразные биологические ответы.

Наиболее изучена способность данного белка стимулировать остановку клеточного цикла и апоптоз посредством транскрипции р21 в ответ на повреждение ДНК, что считается центральным в его роли подавления опухоли. Белок р53 также контролирует другие процессы, такие как метаболизм, пролиферация, воспаление, аутофагия и переход от эпителия к мезенхиме. Сложность сигнальной сети р53 сделала интерпретацию её функции и последствий дисфункции затруднительной, особенно при рассмотрении влияния клеточного типа и механизма инактивации (мутация, делеция и т. п.).

Белок р53 поддерживает стабильность генома, индуцируя остановку клеточного цикла, старение и апоптоз при повреждении ДНК, чтобы снизить риск распространения дефектного генома. Данный белок часто инактивируется при раке, что приводит к опухолям, характеризующимся грубыми структурными дефектами, хромосомной неправильной сегрегацией. Клетки с дефицитом р53 более чувствительны к генотоксическому стрессу [14].

Исследователи показали ассоциацию экспрессии р53 с крупными размерами опухолей, наличием метастазов в регионарных лимфоузлах, негативной экспрессией эстрогена и прогестерона и гиперэкспрессией HER2 [15].

Активация транскрипционных функций р53 наблюдается при самых разнообразных стрессах и внутриклеточных нарушениях: УФ- и γ -облучении, наличии в клетке разорванной ДНК, понижении внутриклеточного пула нуклеотидов, ингибировании ДНК- и РНК-полимераз, гиперэкспрессии онкогенов, вирусной инфекции, гипоксии, оксидативном стрессе, гипо- и гипертермии, различных нарушениях клеточной архитектуры (увеличении числа ядер, изменениях цитоскелета и адгезии) и т. д. [16].

Sun-Young Park и соавт. для определения потенциальных биомаркёров мониторинга и оценки риска бенз(а)пирена в клетках гепатомы человека исследовали повреждение ДНК, связанное с окислительным стрессом и модификацией р53. Воздействие бенз(а)пирена снижало жизнеспособность клеток, но увеличивало активность антиоксидантных ферментов, а также повреждение ДНК и липидов. Активация белка р53, вероятно, являлась ответом на повреждение ДНК, вызванное бенз(а)пиреном, что позволяет предположить, что р53 играет важную роль в защите от генотоксичности. После повреждения ДНК активация белка онкопротектора действует как регулятор транскрипции нескольких генов-мишеней. Уровень мРНК р53 после обработки клеток бенз(а)пиреном повышался в несколько раз, что указывало на серьёзное повреждение ДНК [17].

Daneida Lizarraga и соавт. использовали бенз(а)пирен и ПАУ в качестве модельного генотоксического (канцерогенного) соединения в эксперименте *in vitro*, выявив изменение уровня экспрессии микро- и мРНК-клетками печени белка р53. Значимость изменения экспрессии мРНК на микро-РНК свидетельствует в пользу окислительности бенз(а)пирена, что проявляется в передаче сигнала апоптоза, остановке клеточного цикла, а также реакции на повреждение ДНК и восстановление повреждения ДНК [18, 19].

Заключение

По результатам исследования в рамках эксперимента изучено влияние на транскриптом комбинированной экспозиции *in vitro* бенз(а)пирена и вакцинного антигена SARS-CoV-2. Проведена оценка ассоциированного с полиморфизмом кандидатного гена онкосупрессора *TP53* rs1042522, относительного нормализованного уровня экспрессии протеина *TP53* hs1034249_m1 в цельной крови в условиях индукции *in vitro* бенз(а)пиреном и вакцинным антигеном SARS-CoV-2. Сравнительный анализ спонтанных и индуцированных антигенами уровней экспрессии протеина *TP53* hs1034249_m1 позволил установить значения относительной экспрессии, сопряжённые с особенностями полиморфизма гена *TP53* rs1042522. Показано, что бенз(а)пирен *in vitro* проявляет способности активатора экспрессии гена онкосупрессора *TP53* rs1042522 (маркёр hs1034249_m1) в случае гетерозиготного варианта гена СG, тогда как вакцинный антиген SARS-CoV-2 в аналогичных условиях угнетает экспрессию гена *TP53* rs1042522 (маркёр hs1034249_m1). Сочетание «бенз(а)пирен + SARS-CoV-2» вызывает стимуляцию экспрессии гена онкосупрессора *TP53* rs1042522 (маркёр hs1034249_m1) в случае гетерозиготного варианта гена СG, одновременно проявляя эффект угнетения экспрессии мРНК транскрипционного фактора для обладателей вариантной гомозиготы GG.

Таким образом, моделирование условий комбинированной гаптенной контаминации *in vitro* позволило отразить связанный с ней механизм нарушений экспрессии гена регуляторного протеина р53, когда сочетание «бенз(а)пирен + SARS-CoV-2» приводит к избыточной экспрессии р53 в случае гетерозиготного варианта СG-гена *TP53* rs1042522, одновременно в случае его редкого гомозиготного варианта GG – к угнетению экспрессии онкосупрессора *TP53* rs1042522 (маркёр hs1034249_m1), фенотип S которого будет характеризоваться цитокиновым штормом и продолжительным астеническим синдромом.

Апробированные в эксперименте *in vitro* фактор транскрипции *TP53* (маркёр hs1034249_m1) и варианты СG и GG SNP *TP53* rs1042522 рекомендуются в качестве генетических индикаторных показателей формирования ранних патологических фенотипов, сопряжённых с риском нарушения онкосупрессии в условиях, модифицированных бенз(а)пиреном и вакцинным антигеном SARS-CoV-2. Полученные результаты требуют дальнейшей верификации с учётом имеющихся в представленном исследовании ограничений, связанных с количеством исследуемых образцов.

Литература

(п.п. 6, 11, 12, 14, 17–19 см. References)

1. Зайцева Н.В., Долгих О.В., Дианова Д.Г. *Гаптены природного и техногенного происхождения и клеточная гибель*. Пермь; 2020. <https://elibrary.ru/mltuyrr>
2. Макаров В.З., Гусев В.А., Волков Ю.В., Затонский В.А., Неврюев А.М. Бенз(а)пирен в атмосфере городов Саратовской области. *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Науки о Земле*. 2019; 19(1): 12–7. <https://doi.org/10.18500/1819-7663-2019-19-1-12-17> <https://elibrary.ru/zadhrz>
3. Шелепова В.С., Звягинцева А.В. Бензапирен – химико-биологическая проблема современности (C₂₀H₁₂). *Пожарная безопасность: проблемы и перспективы*. 2017; 1(8): 477–80. <https://elibrary.ru/zpejix>
4. Челакова Ю.А., Казакова О.А., Долгих О.В. Анализ индикаторных показателей клеточной гибели у работающих в условиях производственной экспозиции фенолом. *Российский иммунологический журнал*. 2018; 12(4): 779–81. <https://doi.org/10.31857/S102872210002673-5> <https://elibrary.ru/vrwjgt>
5. Зайцева Н.В., Уланова Т.С., Долгих О.В., Нурисламова Т.В. Ассоциированный анализ результатов исследования уровня контаминации биосред ароматическими углеводородами и иммунных эффектов у работников нефтегазодобывающих предприятий в различных стажевых группах. *Якутский медицинский журнал*. 2020; (3): 25–8. <https://doi.org/10.25789/YMJ.2020.71.06> <https://elibrary.ru/daaycg>
6. Болдырева М.Н. Вирус SARS-CoV-2 и другие эпидемические коронавирусы: патогенетические и генетические факторы развития инфекций. *Иммунология*. 2020; 41(3): 197–205. <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-3-197-205> <https://elibrary.ru/cpxxja>
7. Побырзин В.В. Изменение экспрессии гена-супрессора TP53 в тканях крыс при экспериментальном аскаридозе на различных сроках наблюдения во время воспроизведения опухолевой модели глиомы крыс C6 *in situ*. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2022; (9): 9. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.123.20> <https://elibrary.ru/oqjsec>
8. Гамисония А.М. Генокарта. Генетическая энциклопедия. Ген TP53; 2019. Available at: <https://www.genokarta.ru/gene/TP53>
9. Евроонко. Пылев А.Л. Белок p53; 2021. Доступно: <https://www.euroonco.ru/terms-from-a-z/belok-p53>
10. Зайцева Н.В., Землянова М.А., Долгих О.В. Геномные, транскриптомные и протеомные технологии как современный инструмент диагностики нарушений здоровья, ассоциированных с воздействием факторов окружающей среды. *Гигиена и санитария*. 2020; 99(1): 6–12. <https://doi.org/10.33029/0016-9900-2020-99-1-6-12> <https://elibrary.ru/pipsea>
11. Колядина И.В., Поддубная И.В., Van de Velde C.J., Kuppen P.J., Liefers G.J., Dekker-Ensink N.G. и др. Прогностическое значение экспрессии p53 у больных раком молочной железы I стадии. *Современная онкология*. 2013; 15(2): 17–21. <https://elibrary.ru/pjumzl>
12. Российское общество клинической онкологии (RUSSCO). Копнин Б.П. Опухолевые супрессоры и мутаторные гены. Доступно: <https://rosoncweb.ru/library/pub/02/03.php>

References

1. Zaytseva N.V., Dolgikh O.V., Dianova D.G. *Haptens of Natural and Man-Made Origin and Cell Death [Gapteny prirodno i tekhnogenno proiskhozhdeniya i kletochnaya gibel']*. Perm'; 2020. <https://elibrary.ru/mltuyrr> (in Russian)
2. Makarov V.Z., Gusev V.A., Volkov Yu.V., Zatonkiy V.A., Nevryuev A.M. Benzopyrene in the atmosphere of Saratov region cities. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya. Seriya: Nauki o Zemle*. 2019; 19(1): 12–7. <https://doi.org/10.18500/1819-7663-2019-19-1-12-17> <https://elibrary.ru/zadhrz>
3. Shelepova V.S., Zvyagintseva A.V. Benzapyrene – chemical and biological problem of modernity (C₂₀H₁₂). *Pozharnaya bezopasnost': problemy i perspektivy*. 2017; 1(8): 477–80. <https://elibrary.ru/zpejix>
4. Chelakova Yu.A., Kazakova O.A., Dolgikh O.V. Analysis of cell death indicators by employees under production exposure to phenol. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal*. 2018; 12(4): 779–81. <https://doi.org/10.31857/S102872210002673-5> <https://elibrary.ru/vrwjgt>
5. Zaytseva N.V., Ulanova T.S., Dolgikh O.V., Nurislamova T.V. Association analysis-based study results in evaluating the aromatic hydrocarbons contamination level of bio media and immunotropic effects of oil and gas enterprises employees from various work experience groups. *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal*. 2020; (3): 25–8. <https://doi.org/10.25789/YMJ.2020.71.06> <https://elibrary.ru/daaycg>
6. Mirgayazova R., Khadiullina R., Chasov V., Mingaleeva R., Miftakhova R., Rizvanov A., et al. Therapeutic editing of the TP53 gene: Is CRISPR/Cas9 an option? *Genes (Basel)*. 2020; 11(6): 704. <https://doi.org/10.3390/genes11060704>
7. Boldyreva M.N. SARS-CoV-2 virus and other epidemic coronaviruses: pathogenetic and genetic factors for the development of infections. *Immunologiya*. 2020; 41(3): 197–205. <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-3-197-205> <https://elibrary.ru/cpxxja>
8. Pobyarzhin V.V. Changes in tp53 suppressor gene expression in rat tissues in experimental ascariasis at different observation periods during reproduction of the rat glioma c6 tumor model *in situ*. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal*. 2022; (9): 9. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.123.20> <https://elibrary.ru/oqjsec>
9. Gamisonia A.M. Genocard. The Genetic Encyclopedia. Gene TP53; 2019. Available at: <https://www.genokarta.ru/gene/TP53> (in Russian)
10. Euroonco. Pylev A.L. Protein p53; 2021. Available at: <https://www.euroonco.ru/terms-from-a-z/belok-p53>
11. Malik D.E., David R.M., Gooderham N.J. Mechanistic evidence that benzo[a]pyrene promotes an inflammatory microenvironment that drives the metastatic potential of human mammary cells. *Arch. Toxicol.* 2018; 92(10): 3223–39. <https://doi.org/10.1007/s00204-018-2291-z>
12. Harford J.B., Kim S.S., Pirolo K.F., Chang E.H. TP53 gene therapy as a potential treatment for patients with COVID-19. *Viruses*. 2022; 14(4): 739. <https://doi.org/10.3390/v14040739>
13. Zaytseva N.V., Zemlyanova M.A., Dolgikh O.V. Genomic, transcriptomic and proteomic technologies as a modern tool for health disorders diagnostics, associated with the impact of environmental factors. *Gigiena i sanitariya*. 2020; 99(1): 6–12. <https://doi.org/10.33029/0016-9900-2020-99-1-6-12> <https://elibrary.ru/pipsea>
14. Flynt E., Bisht K., Sridharan V., Ortiz M., Towfic F., Thakurta A. Prognosis, biology, and targeting of TP53. Dysregulation in multiple myeloma. *Cells*. 2020; 9(2): 287. <https://doi.org/10.3390/cells9020287>
15. Kolyadina I.V., Poddubnaya I.V., van de Velde C.J., Kuppen P.J., Liefers G.J., Dekker-Ensink N.G., et al. Prognostic value of p53 expression in patients with stage I breast cancer. *Sovremennaya onkologiya*. 2013; 15(2): 17–21. <https://elibrary.ru/pjumzl>
16. Russian Society of Clinical Oncology (RUSSCO). Kopnin B.P. Tumor suppressors and mutator genes. Available at: <https://rosoncweb.ru/library/pub/02/03.php> (in Russian)
17. Park S.Y., Lee S.M., Ye S.K., Chung M.H., Choi J. Benzo[a]pyrene-induced DNA damage and p53 modulation in human hepatoma HepG2 cells for the identification of potential biomarkers for PAH monitoring and risk assessment. *Toxicol. Lett.* 2006; 167(1): 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2006.08.011>
18. Nikonoshina N.A., Dolgikh O.V., Zaitseva N.V. Immune status of the children living in industrial developed region in the conditions of chronic exposition of anthropogenic chemical factors (by the example of benz(a)pyren, phenol and mercury). *Adv. Health Sci. Res.* 2022; 42: 167–71.
19. Lizarraga D., Gaj S., Brauers K.J., Timmermans L., Kleinjans J.C., Delft J.H. Benzo[a]pyrene-induced changes in microRNA-mRNA networks. *Chem. Res. Toxicol.* 2012; 25(4): 838–49. <https://doi.org/10.1021/tx2003799>