



Original Article

Expression of CYP2E1 Gene in Paint Workers Occupationally Exposed to Organic Solvents

Nguyen Thi Hien^{1,2}, Do Thi Cam Nhung², Nguyen Phu Hung³,
Bui Phuong Thuan¹, Nguyen Quang Huy^{1,*}

¹Faculty of Biology, VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Hanoi, Vietnam

²Vietnam National Institute of Occupational Safety and Health, 99 Tran Quoc Toan, Hanoi, Vietnam

³Thai Nguyen University of Sciences, Tan Thinh, Thai Nguyen, Vietnam

Received 07 May 2019

Revised 16 May 2019; Accepted 12 July 2019

Abstract: Benzene (B), toluene (T), ethylbenzene (E) and xylene (X) are used commonly in paint industry, so workers who are a high risk of exposure to organic solvent (VOCs). *CYP2E1* gene encodes CYP2E1 which plays an important role in the metabolism and bio-activation of volatile organic compounds. When workers expose to VOCs, their body will have a mechanism to metabolize the toxic. The enhancement of mRNA expression of *CYP2E1* is a very sensitive and accurate biological marker, which is the basis for the next study to propose the level of mRNA expression of *CYP2E1* gene as a human biological indicator to monitor to workers occupationally exposed to VOCs. In this study, we studied the level of mRNA expression of *CYP2E1* gene from 118 participants that including 73 workers of exposed group from the paint factories and 45 workers of non-exposed group from garment factories by using Realtime-PCR with SYBR Green – an asymmetrical cyanine dye used as a nucleic acid stain in molecular biology. The initial results, showed that the exposed group had a higher mRNA expression level of *CYP2E1* than the non-exposed group approximately 10.47 times, and this difference was statistically significant (P value < 0.05). And the age and the duration of exposure to organic solvents do not affect the expression level of *CYP2E1*.

Keywords: CYP2E1, the metabolisms of volatile organic compounds, mRNA expression of *CYP2E1*.

* Corresponding author.

Email address: huy_nq@hus.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4893>



Biểu hiện gen *CYP2E1* ở người lao động trong cơ sở sản xuất sơn có tiếp xúc nghề nghiệp với dung môi hữu cơ

Nguyễn Thị Hiền^{1,2}, Đỗ Thị Cẩm Nhung², Nguyễn Phú Hùng³,
Bùi Phương Thuận¹, Nguyễn Quang Huy^{1,*}

¹Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN, 334 Nguyễn Trãi, Hà Nội, Việt Nam

²Viện Khoa học An toàn và Vệ sinh Lao động, 99 Trần Quốc Toản, Hà Nội, Việt Nam

³Trường Đại học Khoa học, Đại học Thái Nguyên, Tân Thịnh, Thái Nguyên, Việt Nam

Nhận ngày 07 tháng 5 năm 2019

Chỉnh sửa ngày 16 tháng 5 năm 2019; Chấp nhận đăng ngày 12 tháng 7 năm 2019

Tóm tắt: Người lao động trong ngành sơn dễ bị phơi nhiễm với dung môi hữu cơ, đặc biệt là nhóm chất benzen, toluen, ethylbenzen và xylene (BTEX). *CYP2E1* là gen mã hóa enzym CYP2E1 đóng vai trò quan trọng trong quá trình chuyển hóa nhóm chất BTEX giúp cơ thể thải độc. Mức độ biểu hiện của gen *CYP2E1* là một chỉ thị sinh học có độ nhạy, chính xác cao và được một số tác giả đề xuất làm chỉ số giám sát sinh học cho người lao động có tiếp xúc nghề nghiệp với nhóm chất BTEX. Trong bài báo này, chúng tôi phân tích mức độ biểu hiện của gen *CYP2E1* ở 118 người, trong đó 73 người làm việc tại công ty sản xuất sơn có tiếp xúc với BTEX và 45 người không tiếp xúc với BTEX thông qua phương pháp Real time – PCR sử dụng chất phát quang là SYBR Green. Kết quả nghiên cứu cho thấy nhóm tiếp xúc có mức độ biểu hiện của gen *CYP2E1* cao gấp 10,47 lần so nhóm không tiếp xúc, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tuy nhiên tuổi đời cũng như thời gian tiếp xúc với nhóm chất BTEX của người lao động không ảnh hưởng đến mức độ biểu hiện của gen *CYP2E1*.

Từ khóa: Biểu hiện mRNA, CYP2E1, phơi nhiễm dung môi hữu cơ.

1. Mở đầu

Dung môi hữu cơ là hỗn hợp hóa học phức tạp có chứa nhiều loại hydrocarbon khác nhau như alkan, rượu, xeton, andehit, este và các phân tử thơm nhỏ, bay hơi và tích hợp vào môi trường không khí tạo thành các hợp chất hữu cơ dễ bay hơi (VOCs). VOCs nói chung và benzen, toluen,

ethylbenzen, xylene (nhóm BTEX) nói riêng với đặc điểm về khả năng hòa tan và độ bay hơi cao được sử dụng trong sản xuất nhựa tổng hợp, sản xuất sơn, keo dán. Đặc biệt đối với ngành sơn việc sử dụng dung môi hữu cơ nhóm BTEX là rất phổ biến. Mặc dù benzen đã được hạn chế và thay thế bằng nhóm toluen, xylene, ethylbenzen (TEX) ít độc hơn nhưng nguồn nguyên liệu

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: huy_nq@hus.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4893>

chính của ngành sản xuất sơn là nhóm TEX vẫn còn một lượng benzen nhất định. Chính vì thế mà người lao động ngành sơn thường xuyên phải tiếp xúc cùng một lúc với nhiều dung môi độc hại khác nhau.

Người lao động trong ngành sơn là đối tượng thường xuyên tiếp xúc với nhóm BTEX, những chất này có ảnh hưởng đến biểu hiện của gen mã hóa cho cytochrome P450 2E1 (*CYP2E1*). Gen *CYP2E1* mã hoá choenzym tham gia vào quá trình chuyển hóa của VOCs [1], styren [2], vinyl chloride monomer [3] và nhiều chất độc khác bao gồm các tiền chất gây ung thư [1]. Mối liên quan giữa phơi nhiễm BTEX trong môi trường và mức độ biểu hiện mRNA của gen *CYP2E1* là hướng nghiên cứu đang được quan tâm. Mức độ biểu hiện mRNA của *CYP2E1* ở người lao động làm việc trong môi trường có VOCs được coi là chỉ dấu sinh học mới để giám sát người lao động có tiếp xúc với dung môi hữu cơ [1].

Ở Việt Nam số lượng người thường xuyên phải tiếp xúc với BTEX trong ngành sản xuất sơn là khá cao, nhưng các nghiên cứu ảnh hưởng của BTEX đến biểu hiện của mRNA *CYP2E1* chưa được quan tâm đầy đủ. Chính vì vậy chúng tôi đã nghiên cứu, đánh giá ảnh hưởng của BTEX lên biểu của mRNA *CYP2E1* với mong muốn góp phần vào việc xây dựng bộ chỉ số giám sát sinh học đặc trưng cho người lao động có tiếp xúc cùng một lúc với nhiều dung môi hữu cơ, không phải chỉ từng dung môi hữu cơ riêng rẽ.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 73 người lao động làm việc tại công ty sản xuất sơn phơi nhiễm với dung môi hữu cơ và nhóm đối chứng có 45 người không phơi nhiễm với dung môi hữu cơ.

Mỗi đối tượng nghiên cứu được lấy 5 ml máu tĩnh mạch, chuyển ngay vào trong ống đựng chuẩn chứa chất chống đông EDTA và được bảo quản

lạnh. RNA tổng số được tách, tổng hợp cDNA và được bảo quản -80°C.

2.2. Hóa chất, thiết bị dụng cụ

RNA tổng số được tách chiết bằng kit của hãng Norgen, Canada; bộ kit First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific) được sử dụng tổng hợp cDNA. Hóa chất dùng cho phản ứng Realtime-PCR gồm vTOPreal qPCR 2X PreMix SYBR (Enzynomics). Các dung dịch đệm TAE 1X, Agarose, DNA loading Dye (6X), thang DNA chuẩn 1 kb của hãng Thermo Fisher Scientific.

Thiết bị nghiên cứu chính gồm: máy PCR (GeneAmp® PCR System 9700, Mỹ), máy Realtime PCR (StepOne™ Real-Time PCR), máy vortex, máy điện di, máy soi gel, máy nanodrop và chụp ảnh gel tự động.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

RNA tổng số được tách bằng bộ kit Total RNA purification Kit của Norgen, Canada. Qui trình tách được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sản phẩm tách RNA tổng số được đo trên máy quang phổ nanodrop để xác định chính xác nồng độ, độ tinh sạch.

cDNA được tổng hợp từ mẫu tách RNA tổng số bằng enzym phiên mã ngược sử dụng bộ kit RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit. Sản phẩm tổng hợp cDNA được kiểm tra trên gel agarose 1%.

Sử dụng kỹ thuật Realtime PCR để đánh giá mức độ biểu hiện của mRNA gen *CYP2E1*. Phản ứng Realtime-PCR được sử dụng TOPreal™ qPCR 2X PreMIX (SYBR Green with low ROX) kit của nhà sản xuất Enzynomic. Phản ứng Realtime PCR sử dụng 2 cặp mồi *CYP2E1*F1, *CYP2E1*R1 (bảng 1) nhân lên đoạn cDNA gen *CYP2E1* và b-actin F, b-actin R nhân lên đoạn của cDNA gen b-actin trong 2 phản ứng riêng rẽ, sử dụng mức độ biểu hiện của mRNA của b-actin làm chuẩn để đánh giá tương đối mức độ biểu hiện của mRNA gen *CYP2E1* trong mẫu nghiên cứu.

Bảng 1. Trình tự cặp mồi của phản ứng RT-PCR [4]

Mồi	Trình tự mồi (5'-3')	Tm(°C)	Sản phẩm PCR (bp)
CYP2E1F1	ACCTGCCCCATGAAGCAACC	62,5	246
CYP2E1R1	GAAACAACCTCCATGCGAGCC	60,5	
b- actin F	CAACTCCATCATGAAGTGTGAC	60,3	184
b-actin R	CCACACGGAGTACTTGCCTC	65,2	

Phản ứng Realtime PCR

Thành phần phản ứng gồm: TOPreal™ qPCR 2X PreMIX (SYBR Green with low ROX) 10 µl, cDNA khuôn nồng độ 25 ng 1 µl, Mồi xuôi, mồi ngược đều có nồng độ 10mM 1µl với mỗi mồi. H₂O được bổ sung để đạt tổng thể tích phản ứng 20 µl.

Chu kỳ nhiệt của phản ứng 95 °C (10 phút), 95 °C (20 giây), 60 °C (10 giây), 72 °C (30 giây). Số chu kỳ lặp lại 40 lần.

Phân tích thống kê sinh học được thực hiện bằng cách sử dụng phi tham số Mann-Whitney U -test (SPSS cho Windows, 20.0). Kết quả biểu hiện mRNA của gen *CYP2E1* được phân tích bằng công thức $2^{-\Delta Ct}$.

Mẫu tiếp xúc được ký hiệu là TX và mẫu đối chứng không tiếp xúc được ký hiệu là mẫu KTX. Như vậy, ứng với mẫu TX và mẫu KTX sẽ có các kết quả định lượng cho cả gen *CYP2E1* và *Actin* qua các thông số

- Ct (TX/*CYP2E1*): chu kỳ ngưỡng của gen *CYP2E1* trong mẫu tiếp xúc (TX).
- Ct (TX/*Actin1*): chu kỳ ngưỡng của gen tham chiếu *Actin1* trong mẫu tiếp xúc (TX).
- Ct (KTX/*CYP2E1*): chu kỳ ngưỡng của gen *CYP2E1* trong mẫu đối chứng (KTX).
- Ct (KTX/*Actin*): chu kỳ ngưỡng của gen tham chiếu *Actin* trong mẫu đối chứng (KTX).

Dựa trên các thông số, các kết quả thí nghiệm sẽ được bình thường hóa (normalized) chu kỳ

ngưỡng của gen đích trên mẫu tiếp xúc (TX) và mẫu đối chứng (KTX) bằng cách tính hiệu số chênh lệch Ct của gen đích với gen tham chiếu trên các mẫu:

Mẫu tiếp xúc: $\Delta Ct(TX) = Ct(TX \text{ CYP2E1}) - Ct(TX/Actin)$

Mẫu chứng: $\Delta Ct(KTX) = Ct(KTX/CYP2E1) - Ct(KTX/Actin)$

Từ đó so sánh giá trị $2^{-\Delta Ct}$ của nhóm tiếp xúc và không tiếp xúc để thấy được mức độ biểu hiện của *CYP2E1*.

Đạo đức trong nghiên cứu: Các đối tượng tham gia nghiên cứu đều hoàn toàn tự nguyện. Các thông tin cá nhân được đảm bảo bí mật.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Đặc điểm chung của nhóm mẫu nghiên cứu

Kết quả nghiên cứu bảng 2 cho thấy đối tượng người lao động trong nghiên cứu đều có tuổi đời, tuổi nghề và tỉ lệ giới tính của nhóm tiếp xúc và nhóm không tiếp xúc là tương đương nhau. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê về tuổi đời trung bình cũng như tuổi nghề trung bình của 2 nhóm. Nhóm tiếp xúc có tuổi nghề trung bình là 20 tương đương với tuổi nghề trung bình của nhóm không tiếp xúc 18 trong khi tuổi đời trung bình của mỗi nhóm đều xấp xỉ 42 tuổi (Bảng 2). Sự tương đồng giữa nhóm tiếp xúc và nhóm không tiếp xúc đảm bảo tính khách quan trong việc đánh giá kết quả nghiên cứu.

Bảng 2. Đặc điểm của nhóm nghiên cứu

Phân loại	Nhóm tiếp xúc (73 người)			Nhóm không tiếp xúc (45 người)		
	Giá trị trung bình	Giá trị nhỏ nhất	Giá trị lớn nhất	Giá trị trung bình	Giá trị nhỏ nhất	Giá trị lớn nhất
Tuổi đời	42,1 ± 8,8	24	57	41,9 ± 8,22	28	57
Tuổi nghề	20 ± 8,68	3	34	18,2 ± 5,48	8	28
Giới	%	Số lượng (người)		%	Số lượng (người)	
Nam	72,61	53		66,67	30	
Nữ	27,39	20		33,33	15	

3.2. Ảnh hưởng của benzen, toluen, ethylbenzen, xylen đến biểu hiện mRNA của gen CYP2E1 ở người lao động tại cơ sở sản xuất sơn

Kết quả trong bảng 3 phân tích sự biểu hiện của gen CYP2E1 giữa 2 nhóm tiếp xúc và không

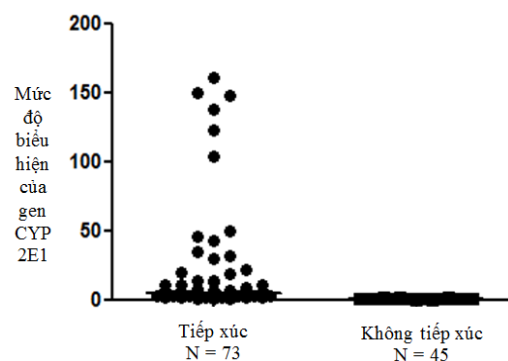
tiếp xúc thông qua các chỉ số: ct (chu kỳ ngưỡng), ΔCt (hiệu số chênh lệch Ct của gen đích với gen tham chiếu trên các mẫu, 2^{-ΔCt} biểu diễn tỷ lệ biểu hiện của gen CYP2E1 so với gen b-actin.

Bảng 3. Kết quả phân tích biểu hiện mRNA của gen CYP2E1

Nhóm	n	Khoảng giá trị (2 ^{-ΔCt})	Trung vị	Khoảng tin cậy CI 95%	P
Nhóm tiếp xúc (TX)	73	0,6 - 160,9	4,5	3,58 - 5,90	< 0,001
Nhóm không tiếp xúc (KTX)	45	0,11 - 1,64	0,43	0,35 - 0,54	
Mức độ biểu hiện của nhóm TX so với nhóm KTX			10,46		

Phân tích mức độ biểu hiện mRNA của gen CYP2E1 thông qua giá trị 2^{-ΔCt} nhận thấy số liệu không phân bố theo phân phối chuẩn, do vậy chúng tôi đã lựa chọn việc phân tích số liệu theo phương pháp phi tham số để đánh giá mức độ biểu hiện mRNA của gen CYP2E1. Kết quả cho thấy nhóm tiếp xúc có giá trị trung vị là 4,5 và giá trị CI 95 % từ 3,58 – 5,9, nhóm không tiếp xúc có giá trị trung vị là 0,43 và giá trị CI 95 % trong khoảng 0,35 - 0,54 (bảng 3), và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (P < 0,001). Kết quả thu được thể hiện nhóm tiếp xúc có mức độ biểu hiện mRNA của gen CYP2E1 cao hơn 10,47 lần so với nhóm không tiếp xúc. Kết quả này thể hiện rõ trong hình 1, trong 73 đối tượng nhóm tiếp xúc có 6 đối tượng có mức biểu hiện cao vượt trội,

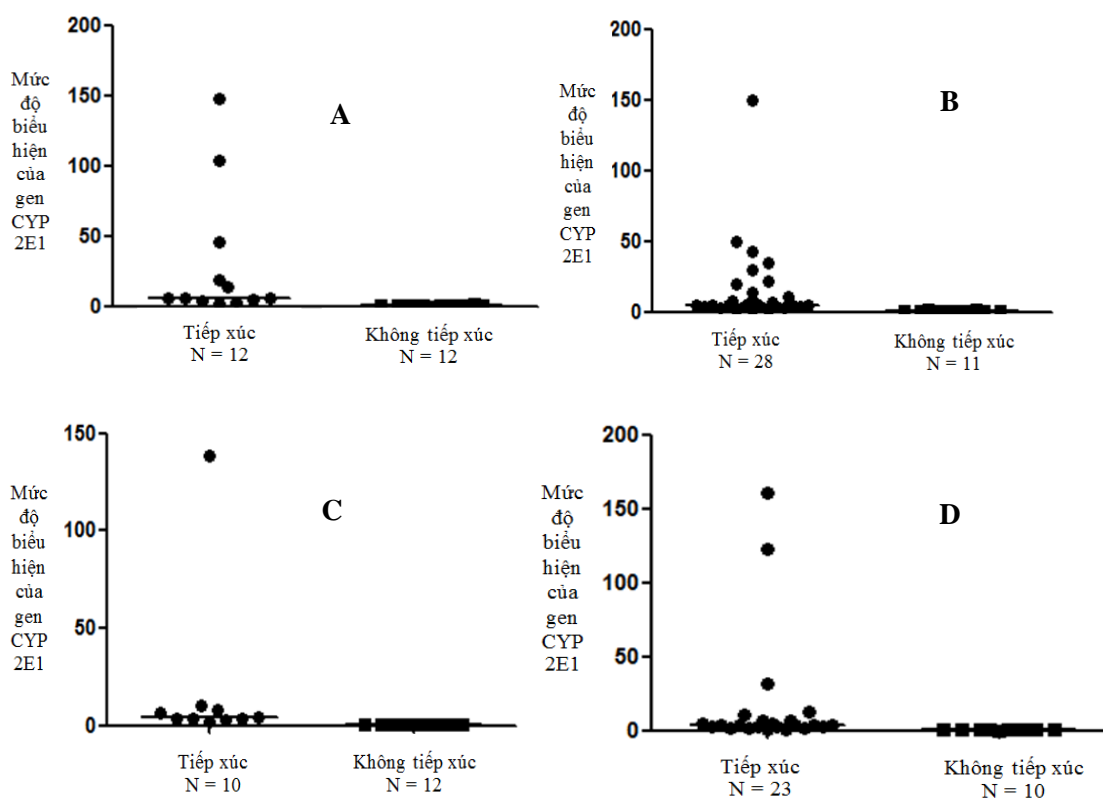
nên số liệu thu được không tuân theo phân phối chuẩn. Hình 1 cũng cho thấy sự khác biệt của hai giá trị trung vị của nhóm tiếp xúc và không tiếp xúc là rõ ràng.



Hình 1. Mức độ biểu hiện của CYP2E1 ở các đối tượng nghiên cứu.

Bảng 4. Biểu hiện mRNA của gen CYP2E1 theo tuổi đời của nhóm tiếp xúc (TX) và nhóm không tiếp xúc (KTX)

Nhóm tuổi		N	Khoảng giá trị (2 ^{-ΔCt})	Trung vị	95% CI	P
Từ 20-30 tuổi	TX	12	2 - 148,06	5,6	3,53 - 55,04	< 0,05
	KTX	12	0,13 - 0,93	0,51	0,24 - 0,65	
	Mức độ biểu hiện của nhóm TX so với nhóm KTX			10,98		
Từ 31-40 tuổi	TX	28	1,79 - 49,18	3,88	3,16 - 16,44	< 0,05
	KTX	11	0,3 - 1,64	0,47	0,36 - 1,12	
	Mức độ biểu hiện của nhóm TX so với nhóm KTX			8,26		
Từ 41-50 tuổi	TX	10	2,25 - 138,14	3,89	3,2 - 8,34	< 0,05
	KTX	12	0,28 - 0,85	0,34	0,33-0,5	
	Mức độ biểu hiện của nhóm TX so với nhóm KTX			11,44		
Trên 50 tuổi	TX	23	0,6 - 160,9	2,81	1,49 - 4,03	< 0,05
	KTX	10	0,11 - 0,75	0,37	0,22 - 0,43	
	Mức độ biểu hiện của nhóm TX so với nhóm KTX			7,59		



Hình 2. Mức độ biểu hiện của gen *CYP2E1* ở các nhóm tuổi đời khác nhau
 A. nhóm có tuổi đời ≤ 30 tuổi; B. nhóm có tuổi đời 31- 40 tuổi;
 C. nhóm có tuổi đời 41-50 tuổi; D. nhóm có tuổi đời > 50 tuổi.

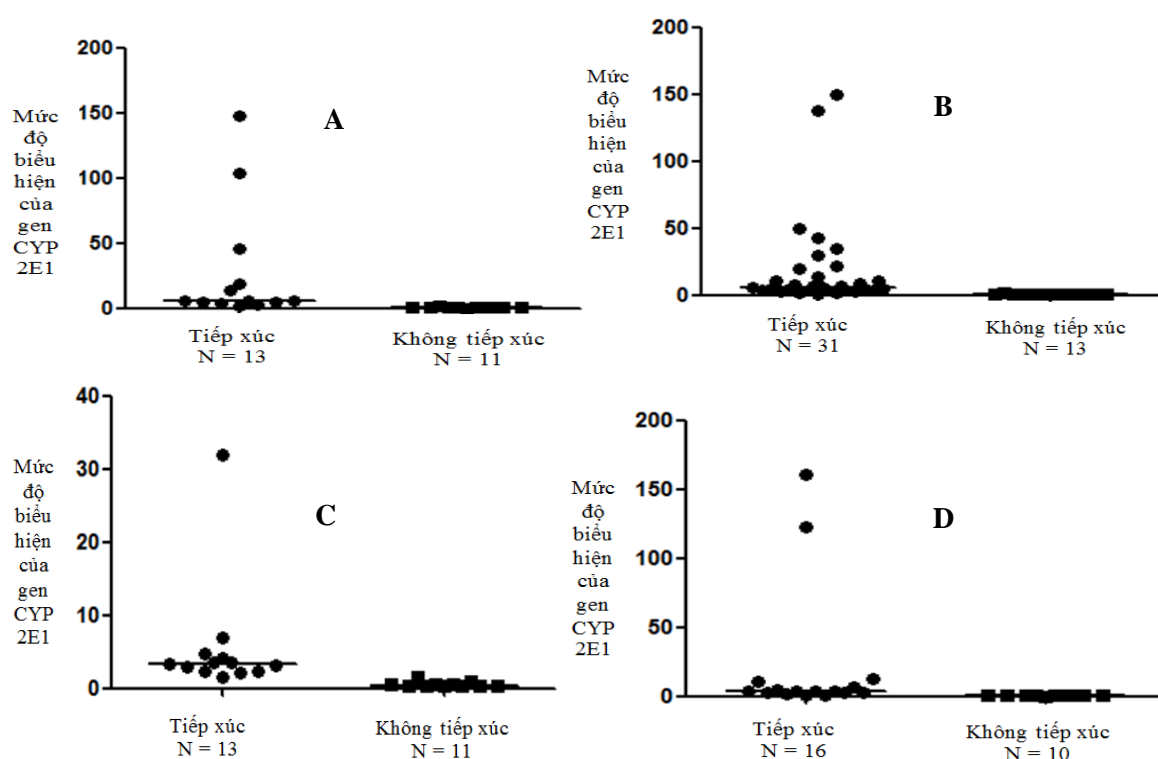
Bảng 5. Phân tích biểu hiện mRNA của gen *CYP2E1* chia theo tuổi nghề của nhóm tiếp xúc (TX) và nhóm không tiếp xúc (KTX)

Nhóm tuổi nghề		n	Khoảng giá trị ($2^{-\Delta Ct}$)	Trung vị	95% CI	P
Từ 3 – 10 năm	TX	13	2 - 148,06	5,60	4,03 - 55,04	< 0,05
	KTX	11	0,13 - 0,93	0,54	0,41 - 0,65	
	Mức độ biểu hiện của nhóm TX so với nhóm KTX			10,37		
Từ 11 – 20 năm	TX	31	1,79 - 49,18	4,73	3,16 - 13,37	< 0,05
	KTX	13	0,22 - 0,68	0,39	0,27 - 0,54	
	Mức độ biểu hiện của nhóm TX so với nhóm KTX			12,13		
Từ 21 – 30 năm	TX	13	1,49 - 32,0	3,38	2,3 - 5,15	< 0,05
	KTX	11	0,28 - 0,85	0,38	0,33 - 0,55	
	Mức độ biểu hiện của nhóm TX so với nhóm KTX			8,89		
Trên 30 năm	TX	16	0,6 - 160,9	3,13	1,89 - 7,41	< 0,05
	KTX	10	0,11 - 0,75	0,37	0,24 - 0,55	
	Mức độ biểu hiện của nhóm TX so với nhóm KTX			8,46		

Phân tích biểu hiện của gen *CYP2E1* chia theo nhóm tuổi đời cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa nhóm tiếp xúc và nhóm không tiếp xúc với benzen, toluen, ethylbenzen và xylen. Ở tất cả các nhóm tuổi đời của nhóm tiếp xúc mức độ biểu hiện của gen *CYP2E1* luôn cao hơn nhóm không tiếp xúc từ 7,59 đến 11,44 lần (bảng 4). Kết quả hình 2 cũng cho thấy ở 4 nhóm tuổi đời của nhóm tiếp xúc đều có giá trị trung vị cao hơn nhóm không tiếp xúc rõ rệt. Kết quả phân tích, so sánh mức độ biểu hiện của *CYP2E1* giữa 4 nhóm tuổi đời của

nhóm tiếp xúc (bảng 4), cho thấy sự khác biệt về mức độ biểu hiện *CYP2E1* không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Biểu hiện của *CYP2E1* cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) khi chia theo nhóm tuổi nghề giữa nhóm tiếp xúc và nhóm không tiếp. Tất cả các nhóm tuổi nghề của nhóm tiếp xúc đều thể hiện mức độ biểu hiện của gen *CYP2E1* cao hơn nhóm không tiếp xúc từ 4,86 đến 12,13 lần (bảng 5). Kết quả hình 3 cũng cho thấy ở 4 nhóm tuổi nghề của nhóm tiếp xúc đều có giá trị trung vị cao hơn nhóm không tiếp xúc.



Hình 3. Mức độ biểu hiện của gen *CYP2E1* ở các nhóm tuổi nghề khác nhau
A. nhóm có tuổi nghề 3-10 năm; B. nhóm có tuổi nghề từ 11-20 năm tuổi;
C. nhóm có tuổi nghề từ 21-30 năm; D. nhóm có tuổi nghề > 30 năm.

Khi phân tích, so sánh mức độ biểu hiện của gen *CYP2E1* giữa 4 nhóm tuổi nghề của nhóm tiếp xúc ở trên (bảng 5) với nhau, kết quả cho thấy sự khác biệt về mức độ biểu hiện *CYP2E1* không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Từ kết quả phân tích ở bảng 4, bảng 5 cũng như hình 2, hình 3 cho thấy tuổi đời và tuổi nghề

không ảnh hưởng đến mức độ biểu hiện của *CYP2E1*. Điều này cho thấy thời gian tiếp xúc dài hay ngắn, tuổi đời cao hay thấp khi tiếp xúc với benzen, toluen, ethylbenzen, xylen đều làm tăng mức độ biểu hiện của *CYP2E1*. Đây là một trong những yếu tố rất thuận lợi cho việc sử dụng mRNA làm chỉ số giám sát sinh học cho người lao động có tiếp xúc với BTEX.

4. Thảo luận

Kết quả mức độ biểu hiện mRNA của gen *CYP2E1* cho thấy trong tất cả các trường hợp nhóm tiếp xúc đều biểu hiện cao hơn nhóm không tiếp xúc. Sự tăng cường mức độ biểu hiện của gen này như là một cơ chế thích ứng của cơ thể nhằm đào thải các độc tố benzen, toluen, ethylbenzen, xylen ra khỏi cơ thể. Từ nhiều năm trước Bernauer U và cộng sự đã xác định được rằng việc chuyển hóa benzen phụ thuộc chính vào *CYP2E1* [5] hoặc *CYP2E1* đã được xác định chịu trách nhiệm chính cho quá trình chuyển hóa benzen [6]. Mức độ tăng cường biểu hiện gen *CYP2E1* trong các trường hợp tiếp xúc cũng đã được chỉ ra trong các nghiên cứu trước. Nghiên cứu của Nedelcheva và cộng sự cũng như Tassaneeyaku và cộng sự đều cho thấy sự hoạt động của quá trình hydroxy hóa benzen và quá trình methyl hóa toluen có liên quan mật thiết đến các *CYP2E1* đặc hiệu và liên quan tới nồng độ *CYP2E1* ở các phản ứng miễn dịch ở gan, điều này cho thấy vai trò quan trọng của *CYP2E1* đối với quá trình chuyển hóa benzen và toluen [7, 8]. Nghiên cứu của Wang và cộng sự chỉ ra sự biểu hiện mRNA *CYP2E1* ở người tiếp xúc với VOCs là 0,89 cao hơn đáng kể ở người không tiếp xúc 0,61 ($P < 0,01$). Đặc biệt với những người có biểu hiện bất thường về gan hàm lượng mRNA của gen *CYP2E1* trong tế bào máu được tăng lên đáng kể trong những người tiếp xúc so với người không tiếp xúc VOCs [9]. Nghiên cứu của Zhang và cộng sự cho thấy ở những đối tượng có tiếp xúc với benzen có mức độ phiên mã và hoạt động enzyme *CYP2E1* cao hơn so với người không tiếp xúc [10]. Do đó, biểu hiện mRNA của gen *CYP2E1* có thể hữu ích cho việc giám sát sức khỏe và bảo vệ người lao động có tiếp xúc với một số dung môi hữu cơ.

Nghiên cứu của Cantu và cộng sự cho thấy ở đối tượng tiếp xúc với toluen ở tiêu chuẩn cho phép, giám sát sinh học là axit hypuric không có đối tượng nào có nồng độ vượt tiêu chuẩn cho phép, nồng độ toluen trong môi trường đạt tiêu chuẩn nhưng mức độ biểu hiện của mRNA cũng tăng so với nhóm tiếp xúc 10,7 (0,3 so với 3,8). So sánh với kết quả nghiên cứu của chúng tôi thì

cho thấy các đối tượng có tiếp xúc với BTEX có mức biểu hiện cao hơn nhiều lần so với nhóm không tiếp xúc (10,47 lần).

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy có sự khác biệt về giá trị giới hạn cho phép của các dung môi hữu cơ trong môi trường của đối tượng nghiên cứu. Nguyên nhân có thể do đối tượng nghiên cứu tại Việt Nam là người lao động làm việc trong các cơ sở sản xuất sơn có giá trị nồng độ về tiêu chuẩn BTEX cho phép cao hơn nhiều lần so với tiêu chuẩn của một số nước trên thế giới hiện nay [11, 12]. Thực tế một số đối tượng nghiên cứu đã có những biểu hiện của sức khỏe có thể do ảnh hưởng của dung môi hữu cơ như giảm sức nghe, giảm chức năng hô hấp nhưng khi giám sát sinh học hoặc giám sát môi trường thì các chỉ số này vẫn nằm trong tiêu chuẩn cho phép của Việt Nam, trong khi so với tiêu chuẩn của thế giới thì ở nồng độ ấy đã bị cảnh báo nguy cơ gây ung thư cao. Ví dụ chỉ tiêu giám sát sinh học của benzen hiện nay là axit muconic mà chất này ở Việt Nam đang có giá trị giới hạn cho phép cao gấp 1000 lần so với thế giới [13, 14]. Đây cũng là điểm khác biệt lớn về đối tượng nghiên cứu của đề tài so với các nghiên cứu tham khảo [1] và [5-10].

Kết quả nghiên cứu đạt được của chúng tôi có thể làm cơ sở cho những nghiên cứu tiếp theo trong việc xem xét xác định mức độ biểu hiện của gen *CYP2E1* làm chỉ số giám sát sinh học cho người lao động có tiếp xúc với benzen, toluen, ethylbenzen, xylen. Kết quả này cũng phù hợp với xu hướng tăng mức độ biểu hiện ở người có tiếp xúc và đề xuất sử dụng mRNA của gen *CYP2E1* làm chỉ số giám sát sinh học của Cantu [1, 15] và các tác giả khác.

5. Kết luận

Mức độ biểu hiện mRNA của gen *CYP2E1* ở 118 người Việt Nam (73 người làm việc tại công ty sản xuất sơn có tiếp xúc với BTEX và 45 người không tiếp xúc với dung môi có chứa benzen, toluen, ethylbenzen và xylen) thông qua phương pháp Realtime-PCR sử dụng chất phát quang là SYBR Green cho thấy nhóm tiếp xúc

có mức độ biểu hiện mRNA của gen *CYP2E1* cao gấp 10,47 lần so nhóm không tiếp xúc, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Tuổi đời cũng như thời gian tiếp xúc với dung môi của người lao động không ảnh hưởng đến mức độ biểu hiện của gen *CYP2E1* tuy nhiên với lần đầu tiên tiếp xúc với BTEX cũng làm tăng mức độ biểu hiện của gen *CYP2E1*.

Lời cảm ơn

Công trình được hỗ trợ kinh phí bởi đề tài “Nghiên cứu ảnh hưởng mạn tính của benzen, toluen, xylen ở người lao động tiếp xúc với nồng độ dưới tiêu chuẩn cho phép qua xét nghiệm một số chỉ số huyết học, chỉ số mRNA *CYP2E1* và sự biến đổi của gen *CYP2E1*”, Mã số 216/09/TLĐ.

Tài liệu tham khảo

- [1] A. Mendoza-Cantu, F. Castorena-Torres, M. Bermudez De Leon et al., Occupational toluene exposure induces cytochrome P450 2E1 mRNA expression in peripheral lymphocytes, *Environmental Health Perspectives* 114 (2006) 494 - 499. <https://doi.org/10.1289/ehp.8192>.
- [2] J.H. Hartman, G. Boysen, G.P. Miller, CYP2E1 metabolism of styrene involves allostery, *Drug Metabolism and Disposition*, 40 (2012) 1976-1983. <https://doi.org/10.1124/dmd.112.046698>.
- [3] S.M. Zhu, X.F. Ren, J.X. Wan et al., Evaluation in vinyl chloride monomer (VCM) - exposed workers and the relationship between liver lesions and gene polymorphisms of metabolic enzymes, *World Journal of Gastroenterology* 11 (2005) 5821-5827. <https://doi.org/10.3748/wjg.v11.i37.5821>.
- [4] J. Wan, J. Shi, L. Hui et al., Association of genetic polymorphisms in CYP2E1, MPO, NQO1, GSTM1, and GSTT1 genes with benzene poisoning, *Environmental Health Perspectives*, 110 (2002) 1213-1218. <https://doi.org/10.1289/ehp.021101213>.
- [5] U. Bernauer, B. Vieth, R. Ellrich et al., CYP2E1 - dependent benzene toxicity: the role of extrahepatic benzene metabolism, *Archives of Toxicology* 73 (1999) 189-196. <https://doi.org/10.1007/s002040050605>.
- [6] P.L. Sheets, G.S. Yost, G.P. Carlson. Benzene metabolism in human lung cell lines BEAS-2B and A549 and cells overexpressing CYP2F1, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 18 (2004) 92-99. <https://doi.org/10.1002/jbt.20010>.
- [7] V. Nedelcheva, I. Gut, P. Souček et al., Metabolism of benzene in human liver microsomes: individual variations in relation to CYP2E1 expression, *Archives of Toxicology*, 73 (1999) 33-40. <https://doi.org/10.1007/s002040050583>.
- [8] W. Tassaneeyakul, D.J. Birkett, J.W. Edwards et al., Human cytochrome P450 isoform specificity in the regioselective metabolism of toluene and o-m-and p-xylene, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 276 (1996) 101-108. <https://doi.org/10.1163/2211730x96x00063>.
- [9] A.-H. Wang, S.-M. Zhu, Y.-L. Qiu et al., CYP2E1 mRNA expression, genetic polymorphisms in peripheral blood lymphocytes and liver abnormalities in Chinese VCM-exposed workers, *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health* 21 (2008) 141-146. <https://doi.org/10.2478/v10001-008-0016-x>.
- [10] J. Zhang, Y. Lihong, G. Liang et al., Detection of CYP2E1, a genetic biomarker of susceptibility to benzene metabolism toxicity in immortal human lymphocytes derived from the Han Chinese population, *Biomedical and Environmental Sciences* 24 (2011) 300-309. <https://doi.org/10.3967/0895-3988.2011.03.014>.
- [11] American Conference of Industrial Hygienists, *Guide to Occupational Exposure Values*, ACGIH, Cincinnati, 2018.
- [12] Bộ Y Tế, Quyết định của Bộ trưởng Bộ Y tế về việc ban hành 21 tiêu chuẩn vệ sinh lao động, 05 nguyên tắc và 07 thông số vệ sinh lao động, 2002.
- [13] American Conference of Industrial Hygienists, *Threshold Limit Value for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices*, ACGIH, Cincinnati, 2018.
- [14] Bộ Y Tế, Thông tư 28/2006/TT- BYT hướng dẫn quản lý bệnh nghề nghiệp, 2016.
- [15] M. Al Zallouha, Y. Landkocz, J. Brunet et al., Usefulness of toxicological validation of VOCs catalytic degradation by air-liquid interface exposure system", *Environmental Research* 152 (2017) 328-335. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.10.027>.