

УДК 575.113.2, 575.167, 616-0.06.482, 616-0.06.484

Ассоциативное исследование генов детоксикации ксенобиотиков и репарации у детей со злокачественными новообразованиями мозга

Л. Е. Сальникова¹, Н. И. Зелинская², О. Б. Белопольская¹, М. М. Асланян³, А. В. Рубанович^{1*}¹Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119991, Москва, ул. Губкина, 3²Федеральное государственное учреждение «Российский научный центр рентгенорадиологии Росмедтехнологий», 117997, Москва, ул. Профсоюзная, 86³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, МГУ

*E-mail: rubanovich@vigg.ru

Поступила в редакцию 31.08.2010 г.

РЕФЕРАТ Представлены результаты исследования ассоциации аллелей генов детоксикации ксенобиотиков – *CYP1A1*, *GSTM1*, *GSTM3*, *GSTP1*, *GSTT1*, генов репарации ДНК – *XRCC1*, *XPD*, *OGG1*, гена, ответственного за метилирование ДНК, – *MTHFR* и гена нейрональной синтазы азота – *nNOS* у детей со злокачественными заболеваниями мозга (больные – 172 человека, контроль – 183). Генотипирование осуществляли методом аллель-специфической тетрапраймерной реакции. Увеличение риска заболеваемости сопряжено с минорным вариантом гена *CYP1A1* (606G, $p = 0.009$; OR = 1.50), делеционным вариантом *GSTT1* ($p = 0.013$, OR = 1.96) и достигает максимума у носителей двойных делеций *GSTT1-GSTM1* ($p = 0.017$, OR = 2.42). Полученные результаты обсуждаются в связи с опубликованными данными о предрасположенности к злокачественным новообразованиям головного мозга у детей и взрослых.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА полиморфизм генов, злокачественные новообразования мозга у детей, гены детоксикации ксенобиотиков, гены репарации.

ВВЕДЕНИЕ

Причины развития злокачественных новообразований центральной нервной системы (ЦНС) у детей, из которых 80% составляют опухоли головного мозга, неизвестны. В число факторов риска этой патологии входят наследственная предрасположенность и воздействие ионизирующего излучения. Известны некоторые генетические синдромы, при которых возникают опухоли ЦНС (синдромы Ли-Фраумени и Туркота, нейрофиброматоз, бугорчатый склероз), кроме того есть семьи с повышенной частотой именно опухолей мозга. Например, в популяционной когорте из штата Юта и созданного на ее базе ракового регистра установлена значимость наследственного фактора при наиболее распространенных злокачественных новообразованиях мозга у взрослых: астроцитоммах и глиобластомах [1]. Выполненные на основе ракового

регистра Швеции работы показали, что у родственников первого порядка риск развития опухолей мозга с теми же гистопатологическими характеристиками, что и у пробандов, повышен в 2–3 раза [2]. У потомков больных, перенесших рак мозга в детском возрасте, вероятность возникновения этого заболевания увеличена в 2 раза [3], как и у сибсов больных, особенно в возрасте до 5 лет.

У родственников больных злокачественными новообразованиями мозга может быть повышен риск и других онкологических заболеваний. Среди родственников первого порядка больных глиомой увеличен стандартный показатель заболеваемости (SIR – отношение наблюдаемого числа случаев к ожидаемому) любой онкопатологией (SIR = 1.21), особенно в возрасте до 45 лет (SIR = 5.08). Наиболее часто у родственников больных глиомой регистриру-

ют опухоли мозга (SIR = 2.14), меланомы (SIR = 2.02) и саркомы (SIR = 3.83) [4].

Заболеваемость раком мозга, особенно среди детей в возрасте до 5 лет, выросла в большинстве развитых стран [5]. Вопрос о роли факторов среды в детском канцерогенезе вообще и в риске развития опухолей ЦНС в частности изучается очень активно. Установлена связь между экспозицией *in utero* ионизирующему излучению и риском лейкозов и других опухолей в детском возрасте [6], а также между приемом диэтилстильбэстрола женщинами во время беременности и чистоклеточной аденокарциномой вагины у их дочерей [7]. Показано также, что развитие опухолей мозга у детей ассоциировано с профессиональной вредностью родителей: пестицидами [8] или гербицидами [9]. Есть работы, в которых анализировали влияние материнской диеты на вероятность возникновения рака мозга у детей. Наиболее неблагоприятно в этом отношении высокое содержание нитрозаминов, широко используемых в консервировании мясных и колбасных изделий, а также повышенное содержание жиров [10, 11]. Трансплацентарные канцерогены алкилнитрозомочевины обладают высоким канцерогенным потенциалом в отношении рака мозга у крыс [12]. Риск рака мозга повышен у детей как с недостаточным [13], так и с избыточным весом при рождении [14], увеличенным размером головы (OR = 1.27 на каждый сантиметр прироста окружности головы после стратификации выборки на пол, вес, рост новорожденного) [15], а также у детей, чьи матери имели в анамнезе случаи невынашивания беременности [16]. Интенсивное курение (> 10 сигарет в день) во время беременности также относится к факторам риска онкозаболеваний ЦНС у потомства [13].

При отсутствии наследственных синдромов, связанных с развитием злокачественных новообразований нервной системы, роль генетических факторов риска отводится генам с низкой пенетрантностью [17]. Хотя структура нейроонкологической заболеваемости у взрослых и детей сильно различается [18, 19], изучение именно детей со спорадическими формами рака может позволить выявить генетическую предрасположенность с большей эффективностью, чем у взрослых. Чем выше наследственно обусловленная предрасположенность к раку, тем скорее средовое воздействие даже незначительной выраженности приведет к его развитию.

Несмотря на то что среди солидных опухолей у детей рак мозга встречается наиболее часто, составляя 20% всей онкопатологии, проведено всего несколько ассоциативных исследований опухолей мозга у детей в разных этнических популяциях. Так, в Таиланде в выборке из 73 детей с различными видами опухо-

лей ЦНС показано увеличение числа гомозиготных носителей минорного варианта гена фолатного обмена *MTHFR* (полиморфизм A1298C) [20]. В США изучали распределение аллелей генов детоксикации ксенобиотиков *GSTM1* (инсерция/делеция), *GSTT1* (инсерция/делеция) и *GSTP1* (Ala114Val) среди 173 больных детей и зарегистрировали ассоциацию функционального аллеля *GSTM1* и редкого генотипа *GSTP1* (Val114/Val114) с педиатрическими астроцитомами [21]. В объединенной выборке взрослых (92) и детей (43) с раком мозга той же группой исследователей показано, что распределение частот генотипов Arg72Pro гена *P53* достоверно отличалось у больных и в контрольной группе. Отмечено также увеличение числа гетерозигот по данному полиморфизму гена *P53* среди больных с астроцитомами высокой степени злокачественности [22].

Взаимодействие среды и генотипа в связи с заболеваемостью раком мозга в детском возрасте изучали в двух работах [23, 24]. В условиях экспозиции с фосфорорганическими инсектицидами *in utero* или после рождения повышенный шанс развития злокачественных новообразований мозга достоверно ассоциирован с полиморфизмом гена детоксикации *PON1* (C108T), для которого данные соединения являются субстратом [23]. В продолженном на большей выборке (201 больной) исследовании эффекты *PON1* были подтверждены, а также показана сопряженность еще двух генов детоксикации, участвующих в метаболизме инсектицидов, *FMO1* (C9536A) и *BCHE* (A539T) с риском опухолей мозга [24].

В настоящей работе представлены результаты ассоциативного исследования генетических факторов риска злокачественных новообразований мозга у детей. Выбор локусов для генотипирования основывался на литературных данных и собственных результатах исследования генов предрасположенности к повышенной соматической мутабельности [25]. В исследование были включены также гены, преимущественно экспрессирующиеся в мозге (*GSTM3*, другое название мозговая *GSTM*) и нервной ткани (*NOS1*, или *nNOS* – нейрональная) и продемонстрировавшие сопряженность с некоторыми онкологическими заболеваниями [26, 27]. Описание локусов приведено в табл. 1.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Выборка детей со злокачественными опухолями ЦНС составила 172 человека (92 мальчика и 80 девочек) в возрасте от 2 до 16 лет, находившихся на лечении в лаборатории детской рентгенорадиологии ФГУ «РНЦРР Росмедтехнологий» в 2007–2010 годах. Средний возраст больных детей 8.96±0.38. Наиболее распространенные опухоли в изученной когор-

Таблица 1. Исследованные гены и полиморфизмы

Ген	Название	Полиморфизм	Идентификатор в базе данных dbSNP	Локус	Функции
Ген цитохрома P-450 1A1	CYP1A1	T606G	rs2606345	15q24.1	1-я фаза детоксикации ксенобиотиков – метаболическая активация ароматических углеводов
		A4889G Ile462Val	rs1048943		
Ген глутатион-S-трансферазы μ 1	GSTM1	Инсерция-делеция	-	1p13.3	2-я фаза детоксикации ксенобиотиков – собственно детоксикация путем присоединения восстановленного глутатиона к гидрофобным электрофильным соединениям
Ген глутатион-S-трансферазы θ 1	GSTT1	Инсерция-делеция	-	22q11.2	
Ген глутатион-S-трансферазы μ 3	GSTM3	G670A Val224Ile	rs7483	1p13.3	
Ген глутатион-S-трансферазы π 1	GSTP1	A313G Ile105Val	rs1695	11q13	
Ген репарации комплементарных повреждений ДНК в результате рентгеновского излучения у китайских хомячков-1	XRCC1	C589T Arg194Trp	rs1799782	19q13.2	Экцизионная репарация оснований
Ген эксцизионной репарации комплементарных повреждений ДНК у китайских хомячков-2	ERCC2 (XPD)	T2251G Lys751Gln	rs13181	19q13.3	Экцизионная репарация нуклеотидов
		G862A Asp312Asn	rs1799793		
Ген 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы	OGG1	C977G Ser326Cys	rs1052133	3p26.2	Экцизионная репарация оснований – удаление 8-оксо-7,8-дигидро-2'-дезоксигуанозина
Ген нейрональной NO-синтазы	nNOS (NOS1)	C276T	rs2682826	12q24.2	Производство оксида азота в нервных тканях
Ген метилентетрагидрофолатредуктазы	MTHFR	C677T Ala222Val	rs1801133	1p36.3	Превращение 5,10-метилентетрагидрофолата в 5-метилтетрагидрофолат – косубстрат при деметилировании метионина в гомоцистеин

те – это медуллобластома ($N = 58$) и опухоли ствола мозга ($N = 26$). Помимо этого были представлены анапластическая эпендимома ($N = 19$), глиобластома ($N = 10$), герминогенные опухоли ($N = 6$), астроцитома низкой степени злокачественности ($N = 5$), астроцитома высокой степени злокачественности ($N = 5$), примитивные нейроэктодермальные опухоли ($N = 5$), остальные ($N = 38$). Контрольная группа состояла из 183 человек (102 мужчин и 81 женщина) в возрасте от 17 до 21 года, средний возраст 19.90 ± 0.08 лет. Все больные дети и лица из контрольной выборки относятся к европеоидной расе. База данных для больных содержит информацию о месте рождения и проживания. От родителей больных детей получено информированное согласие на генотипирование. Десятилетняя разница в среднем возрасте у больных и здоровых не могла существенно сказаться на различиях в частотах аллельных вариантов ге-

нов в группах, так как уровень смертности в диапазоне данных возрастов не превышает 0.1% (табл. 2) [28]. Кроме того, в группе 15–24 года первые четыре места причин смерти занимают различные виды насильственной смерти: неумышленные повреждения, самоубийства, повреждения без уточнения и убийства [29]. Критерии для включения в контрольную группу – возраст, национальность, рождение в Центральном регионе Европейской территории России и наличие информированного согласия.

ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови с помощью наборов Diatom DNA Prep 200, основанных на использовании гуанидинтиоцианата и Nucleus-сорбента (Лаборатория Изоген, Россия). Генотипирование осуществляли с использованием аллель-специфической тетрапраймерной ПЦР [30]. Метод позволяет в одной пробирке амплифицировать фрагменты ДНК, соответствующие альтерна-

Таблица 2. Показатели смертности населения России в возрасте до 24 лет

Возраст, лет	Умершие на 1000 человек населения		
	2006 год	2007 год	2008 год
0	10.2	9.4	8.5
1–4	0.7	0.6	0.6
5–9	0.4	0.3	0.3
10–14	0.4	0.4	0.3
15–19	1.1	1.1	1.1
20–24	2.2	2.1	1.9

тивным аллелям. Продукты амплификации разделяли при помощи электрофореза в агарозном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием.

Статистический анализ проводили стандартными методами с помощью пакета WinSTAT 2003.1, интегрированного в Excel.

При оценке отношения шансов (OR) и значимости отличий частот по точному критерию Фишера использовали свободно распространяемый пакет программ WinPepi: <http://www.brixtonhealth.com/pepi4windows.html>.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Определены генотипы обследованных индивидов по 12 полиморфным сайтам 10 генов. Частоты генотипов в контрольной группе и в группе больных соответствуют равновесному распределению по Харди–Вайнбергу.

В табл. 3 сопоставлены частоты встречаемости аллелей и генотипов (табл. 3) 12 полиморфных сайтов у детей с различными опухолями центральной нервной системы и в контрольной группе. В когорте больных детей были выделены две наиболее многочисленные группы: с медуллобластомами и опухолями ствола мозга.

В случае инсерционно-делеционного полиморфизма (гены *GSTM1*, *GSTT1*) сравнивали два варианта генотипа: «нулевой» – гомозиготная делеция (D/D) и «функциональный» – несущий функциональный аллель в гомо- или гетерозиготном состоянии (I/*). Здесь и далее * означает произвольный аллель.

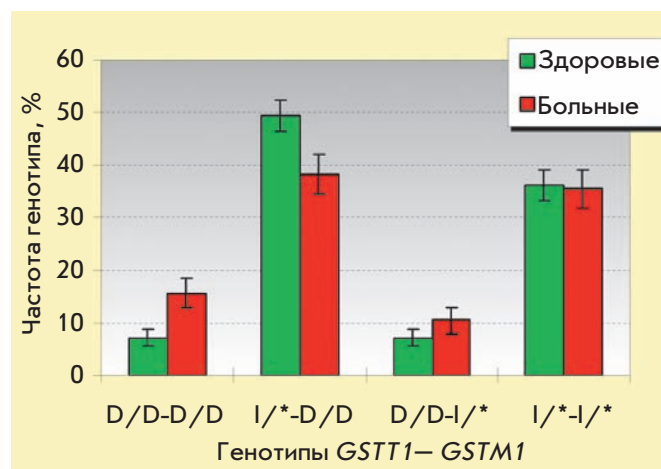
Повышенная предрасположенность к развитию рака мозга обнаружена у носителей генотипа D/D гена *GSTT1*. По двустороннему критерию Фишера для всех разновидностей опухолей ЦНС $p = 0.013$, OR = 1.96, 95% доверительный интервал 1.16–3.32;

для больных медуллобластомой $p = 0.009$, OR = 2.57, 95% доверительный интервал 1.33–4.99; для детей с опухолями ствола мозга $p = 0.026$, OR = 2.93, 95% доверительный интервал 1.21–7.12. Среди всех проверенных комбинаций двулокусных сочетаний наиболее высокий шанс развития злокачественных опухолей мозга оказался у носителей двойных делеций *GSTM1-GSTT1* (27 человек – 15.7% больных; $p = 0.017$, OR = 2.42, 95% доверительный интервал 1.18–4.95) (рисунки).

Риск развития всех опухолей мозга и, в частности, медуллобластомы оказался выше у носителей минорного аллеля 606G гена *CYP1A1* (для всех опухолей $p = 0.009$ согласно двустороннему критерию Фишера, OR = 1.50, 95% доверительный интервал 1.11–2.03, для медуллобластомы $p = 0.026$, OR = 1.60, 95% доверительный интервал 1.06–2.41).

Среди больных с опухолями ствола мозга повышено количество носителей минорного аллеля *NOS1*276T* в гомо- или гетерозиготном состоянии, $p = 0.035$, OR = 2.56, 95% доверительный интервал 1.10–5.96. Во всей группе больных также увеличена частота встречаемости минорного варианта, но данные статистически незначимы $p = 0.11$, OR = 1.42, 95% доверительный интервал 0.93–2.16.

На уровне тенденции зафиксирована также ассоциация минорного аллеля 2251G гена эксцизионной репарации нуклеотидов *XPB* в гомо- или гетерозиготном состоянии с увеличенным шансом развития опухолей мозга ($p = 0.084$, OR = 1.48, 95% доверительный интервал 0.97–2.27).



Встречаемость сочетанных вариантов аллелей генов *GSTT1-GSTM1* среди больных со злокачественными новообразованиями головного мозга и в контрольной выборке.

Таблица 3. Частоты генотипов в группе больных с опухолями ЦНС и в контрольной выборке

Локусы, аллели и генотипы		Число случаев, %			
		Все опухоли мозга (N* = 172)	Медуллобластома (N* = 63)	Опухоли ствола мозга (N* = 26)	Контроль (N* = 183)
CYP1A1 T606G rs2606345	T	187 (54.68)	67 (53.18)	30 (57.69)	236 (64.48)
	G	155 (45.32)	59 (46.83)	22 (42.31)	130 (35.52)
	T/T	57 (33.33)	22 (34.92)	10 (38.46)	78 (42.62)
	T/G	73 (42.69)	23 (36.51)	10 (38.46)	80 (43.72)
	G/G	41 (23.98)	18 (28.57)	6 (23.08)	25 (13.66)
CYP1A1 A4889G rs1048943	A	329 (95.64)	120 (95.24)	49 (94.23)	352 (96.18)
	G	15 (4.36)	6 (4.76)	3 (5.77)	14 (3.83)
	A/A	157 (91.28)	57 (90.48)	23 (88.46)	169 (92.35)
	A/G	15 (8.72)	6 (9.52)	3 (11.54)	14 (7.65)
	G/G	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
GSTM1	D/D	93 (54.07)	35 (55.56)	16 (61.54)	95 (51.91)
	I/*	79 (45.93)	28 (44.44)	10 (38.46)	88 (48.09)
GSTT1	D/D	45 (26.16)	20 (31.75)	9 (34.62)	28 (15.30)
	I/I*	127 (73.84)	43 (68.25)	17 (65.38)	155 (84.70)
GSTP1 A313G rs1695	A	242 (70.35)	87 (69.05)	31 (62.00)	247 (67.49)
	G	102 (29.65)	39 (30.95)	19 (38.00)	119 (32.51)
	A/A	80 (46.51)	29 (46.03)	8 (32.00)	79 (43.17)
	A/G	82 (47.67)	29 (46.03)	15 (60.00)	89 (48.63)
	G/G	10 (5.81)	5 (7.94)	2 (8.00)	15 (8.20)
GSTM3 G670A rs7483	G	203 (59.01)	80 (63.49)	28 (53.85)	222 (60.66)
	A	141 (40.99)	46 (36.51)	24 (46.15)	144 (39.34)
	G/G	63 (36.63)	26 (41.27)	8 (30.77)	73 (39.89)
	G/A	77 (44.77)	28 (44.44)	12 (46.15)	76 (41.53)
	A/A	32 (18.60)	9 (14.29)	6 (23.08)	34 (18.58)
NOS1 C276T rs2682826	C	243 (70.64)	90 (71.43)	33 (63.46)	271 (75.70)
	T	101 (29.36)	36 (28.57)	19 (36.54)	87 (24.30)
	C/C	84 (48.84)	33 (52.38)	9 (34.62)	103 (57.54)
	C/T	75 (43.60)	24 (38.10)	15 (57.69)	65 (36.31)
	T/T	13 (7.56)	6 (9.52)	2 (7.69)	11 (6.15)
MTHFR C677T rs1801133	C	228 (70.81)	76 (66.67)	36 (72.00)	221 (67.79)
	T	94 (29.19)	38 (33.33)	14 (28.00)	105 (32.21)
	C/C	80 (49.69)	25 (43.86)	13 (52.00)	70 (42.94)
	C/T	68 (42.24)	26 (45.61)	10 (40.00)	81 (49.69)
	T/T	13 (8.07)	6 (10.53)	2 (8.00)	12 (7.36)
XRCC1 C589T rs1799782	C	322 (93.61)	119 (94.44)	46 (88.46)	337 (94.13)
	T	22 (6.40)	7 (5.56)	6 (11.54)	21 (5.87)
	C/C	150 (87.21)	56 (88.89)	20 (76.92)	160 (89.39)
	C/T	22 (12.79)	7 (11.11)	6 (23.08)	17 (9.50)
	T/T	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (1.12)
XPD T2251G rs13181	T	212 (61.63)	82 (65.08)	32 (61.54)	248 (68.13)
	G	132 (38.37)	44 (34.92)	20 (38.46)	116 (31.87)
	T/T	63 (36.63)	25 (39.68)	9 (34.62)	84 (46.15)
	T/G	86 (50.00)	32 (50.79)	14 (53.85)	80 (43.96)
	G/G	23 (13.37)	6 (9.52)	3 (11.54)	18 (9.89)
XPD G862A rs1799793	G	211 (61.70)	82 (66.13)	32 (61.54)	242 (66.48)
	A	131 (38.30)	42 (33.87)	20 (38.46)	122 (33.52)
	G/G	64 (37.43)	26 (41.94)	9 (34.62)	80 (43.96)
	G/A	83 (48.54)	30 (48.39)	13 (50.00)	82 (45.05)
	A/A	24 (14.04)	6 (9.68)	4 (15.38)	20 (10.99)
OGG1 C977G rs1052133	C	274 (80.59)	92 (77.97)	40 (76.92)	270 (78.04)
	G	66 (19.41)	26 (22.03)	12 (23.08)	76 (21.97)
	C/C	116 (68.24)	36 (61.02)	18 (69.23)	105 (60.69)
	C/G	42 (24.71)	20 (33.90)	4 (15.38)	60 (34.68)
	G/G	12 (7.06)	3 (5.08)	4 (15.38)	8 (4.62)

*Число лиц, генотипированных по отдельным локусам, может несколько отличаться.

Примечание. Серая заливка – генотипы, ассоциированные с заболеваниями.

ОБСУЖДЕНИЕ

Система детоксикации ксенобиотиков состоит из двух основных стадий детоксикации и третьей стадии – выведения образовавшихся нетоксичных продуктов из клетки. На 1-й стадии происходит активация соединений посредством цитохромов P-450 и ряда других ферментов, на 2-й фазе – собственно детоксикация с участием глутатион-S-трансфераз и других белков. Образующиеся на 1-й стадии промежуточные электрофильные метаболиты обладают токсическими свойствами. Для эффективной детоксикации необходим баланс в работе ферментов 1 и 2 стадий, который нарушается как при меньшей каталитической активности ряда полиморфных вариантов ферментов 2-й фазы детоксикации, так и при большей активности ферментов 1-й фазы [31]. Увеличенная активность ферментов первой фазы детоксикации и недостаточность ферментов второй стадии (GST) вызывает повышение содержания в организме промежуточных электрофильных метаболитов, усиливая, таким образом, неблагоприятное воздействие.

В настоящей работе выявлена ассоциация определенных аллелей генов детоксикации ксенобиотиков с развитием опухолей мозга у детей. Риск развития злокачественных новообразований мозга в детском возрасте повышен у носителей минорного варианта *CYP1A1* (606G).

Роль полиморфизма гена *CYP1A1* в детской нейронеоплазии не изучалась. В ассоциативных исследованиях у взрослых показано отсутствие ассоциации полиморфизма *CYP1A1* A4889G (Ile462Val) с риском глиомы и некоторых других злокачественных новообразований мозга [32–34]. Ген *CYP1A1* располагается на участке 15q22–24, а при наследственной предрасположенности к глиоме показана сопряженность заболевания с низкопенетрантными маркерами участка 15q23–q26.3, перекрывающими указанный локус [35].

Данные о роли полиморфизма гена *CYP1A1* в канцерогенезе противоречивы, и, по-видимому, эта роль в значительной степени определяется взаимодействием «генотип-среда» [36]. Сайт T606G находится в первом интроне локуса *CYP1A1*. Однонуклеотидные замены (SNP), которые локализируются в интронных областях, чаще всего никак не влияют на активность гена. Однако для полиморфизма T606G показаны ассоциации с раком легких [37], гормонально-зависимыми опухолями [38], с концентрацией метаболитов половых гормонов, служащих субстратами для *CYP1A1* [39]. Про сайт T606G известно, что в отсутствие специфических субстратов активнее экспрессируется аллельный вариант 606T (SNP T606G) гена *CYP1A1*, а вариант 606G обладает большей индуцибельностью в присутствии специ-

ческих субстратов (полициклические ароматические углеводороды как экзогенного, например пищевые продукты, промышленные загрязнения, табачный дым, так и эндогенного происхождения, например эстрогены). Разнонаправленность влияния аллельных вариантов 606G и 606T на регистрируемые эффекты в экологически неблагоприятных условиях (промышленное загрязнение воздуха, курение) и в их отсутствие показана в двух независимых исследованиях [40, 41]. Два сайта в локусе *CYP1A1*, изученные в настоящей работе, тесно сцеплены: $D' = 0.913$, $r = 0.229$, $p = 0$, а минорные аллели (4889G, 606G) относятся к одной группе сцепления. Показатели неравновесия по сцеплению не отличаются в группе больных и в контроле. В представленной работе мы подтвердили полученные нами ранее на других выборках результаты по сцеплению полиморфных сайтов A4889G и T606G [25, 42]. По данным Нар-Мар у европеоидов частота аллеля 606G составляет 0.36–0.45, а аллеля 4889G – 0.04–0.07. До недавнего времени в европейских популяциях изучали три основных полиморфных сайта гена *CYP1A1*: T3801C, A4889G и C4887A [43]. Кроме того что полиморфизм T606G имеет функциональный характер, частота аллеля 606G выше, чем встречаемость минорных вариантов других полиморфных сайтов. Таким образом, этот аллель представляется новым перспективным маркером для ассоциативных исследований многофакторных заболеваний.

В исследовании также зарегистрированы ассоциации со злокачественными новообразованиями мозга у носителей делеционных вариантов *GSTT1* (D/D) (OR=1.96, $p = 0.013$). Сопряженность полиморфизма генов, кодирующих глутатион-S-трансферазы, ферменты второй стадии детоксикации ксенобиотиков, с развитием опухолей мозга у детей анализировали в работе [21]. Достоверные результаты получены для функционального аллеля *GSTM1* и минорного варианта *GSTP1* 313G. Ассоциацию между развитием злокачественных новообразований мозга у взрослых и полиморфизмом генов глутатион-S-трансфераз анализировали значительно чаще, например, таким исследованиям в европейских странах посвящены 10 публикаций [32–34, 44–50]. Результаты семи из них и уже указанной работы, выполненной на выборке больных детей [21], объединены в мета-анализе [51], проведенном для двух наиболее частых нозологических форм: глиомы и менингиомы. Согласно этому мета-анализу, у европеоидов делеционный вариант *GSTT1* достоверно чаще встречался у больных менингиомой (OR = 1.95). Для генов *GSTM1* (Ins/Del) и *GSTP1* A313G (Ile105Val) и соседнего с ним C341T (Ala114Val) различия по частотам аллелей между больными и здоровыми не выявлены. Еще в одном

масштабном исследовании получены данные об отсутствии сопряженности полиморфизма генов *GSTM1* (Ins/Del), *GSTM3* (A63C), *GSTT1* (Ins/Del) с развитием глиом, глиобластом и менингиом. Показано, что гаплотип 105G-114C (Val-Ala) гена *GSTP1* обладает слабым протективным эффектом относительно шанса заболеть глиомой [32].

По генам репарации значимые различия между частотами аллелей у больных и в контроле не выявлены (табл. 3), однако по локусу *XPB* на уровне тенденции зафиксирована сопряженность минорного аллеля 2251G с увеличенным шансом заболеваемости.

В ассоциативные исследования злокачественных новообразований любой локализации в связи с полиморфизмом генов репарации наиболее часто, среди всего многообразия этой группы генов, включают гены эксцизионной репарации нуклеотидов *XPB* и эксцизионной репарации оснований *XRCC1* [52], которые находятся на одном участке хромосомы 19q13.2-3. Основные результаты ассоциативных исследований опухолей мозга собраны в обзоре [53]. Показано, что у взрослых наиболее распространенные злокачественные опухоли нейроэпителиальной ткани ассоциированы с полиморфизмом генов эксцизионной репарации нуклеотидов *XPB*, *ERCC1* и расположенного на том же участке хромосомы 19q13.2-3 гена *GLTSCR1* (glioma tumor suppressor candidate of unknown function) [54]. В работе Caggana и соавт. [55] показано, что из семи полиморфных сайтов гена *XPB* максимальная сопряженность с риском развития глиомы получена для малоизученного синонимичного полиморфизма Arg156Arg, возможно, являющегося маркером другого неизвестного гена предрасположенности к данному заболеванию. Сайты T2251G (Lys751Gln) и G862A (Asp312Asn) гена *XPB* разделены 12340 п.н. и сцеплены друг с другом. В данной работе для них получены следующие показатели неравновесия по сцеплению: $D' = 0.674$, $r = 0.662$, $p = 0$ (не отличаются у больных и здоровых), что коррелирует с опубликованными данными для европеоидов [56]. Несмотря на отсутствие в нашем исследовании значимых результатов по генам репарации, изучение полиморфизма локусов, расположенных на участке хромосомы 19q13.2-3, представляется нам перспективным направлением поиска генетических маркеров риска развития злокачественных новообразований мозга у детей.

В данной работе также показано, что минорный аллель гена нейрональной синтазы азота достоверно чаще встречался среди больных с опухолями ствола мозга (табл. 3); для всей группы больных различия не достигают значимого уровня.

Гены семейства синтаз азота, к которым относится нейрональная синтаза азота, чаще изучают в связи

с воспалительными процессами в организме. Однако полиморфизм *nNOS* сопряжен с предрасположенностью к меланоме [27]. Меланома относится к группе опухолей нервных окончаний. В семьях с наследственной предрасположенностью к опухолям мозга увеличен также риск развития меланомы [5]. Учитывая повышенную экспрессию *nNOS* именно в нервной ткани, а также предполагаемую перекрестную чувствительность к меланоме и глиомам, мы анализировали также сайт C276T гена *nNOS*. Этот полиморфизм относится к функциональным, так как в связи с однонуклеотидной заменой в нетранслируемом участке увеличивается экспрессия мРНК у минорного варианта [57]. Достоверные результаты о сопряженности минорного аллеля с повышенным шансом заболевания злокачественными новообразованиями мозга получены только относительно немногочисленной группы больных с опухолями ствола мозга и, безусловно, требуют проверки.

В наших предыдущих ассоциативных исследованиях генов детоксикации ксенобиотиков показано, что у женщин с заболеваниями репродуктивной сферы, носительниц аллелей 606G, 4889G гена *CYP1A1* повышена частота соматических генных мутаций по локусу Т-клеточного рецептора (TCR) в лимфоцитах периферической крови (фенотип CD³-CD⁴⁺). Известно, что число таких TCR-мутантных лимфоцитов увеличено у раковых больных (рак гортани и гортаноглотки, рак щитовидной железы, рак шейки матки, лимфома Ходжкина) и у лиц с наследственной предрасположенностью к возникновению онкологических заболеваний (атаксия-телеангиэктазия) [58, 59]. Однонаправленность эффектов в двух различных исследованиях может отражать плеiotропное действие генов детоксикации, приводящее к недостаточной устойчивости организма во взаимодействии генотип-среда. Кроме возможного увеличения риска заболевания в связи с изменением активности ферментов детоксикации, аллельные варианты генов, ассоциированных и с соматической мутабельностью, и с предрасположенностью к развитию злокачественных новообразований мозга у детей, могут служить маркерами блока сцепления, отражающими эффекты других, пока неизвестных, генов. Полученные результаты, при подтверждении их независимыми исследованиями, могут быть полезны для выявления генетических факторов риска развития злокачественных новообразований мозга у детей. ●

Работа финансирована в рамках Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биологическое разнообразие», подпрограмма «Генофонды и генетическое разнообразие».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Blumenthal D.T., Cannon-Albright L.A. // *Neurology*. 2008. V. 71. P. 1015–1020.
2. Malmer B., Henriksson R., Grönberg H. // *Int. J. Cancer*. 2003. V. 106. № 2. P. 260–263.
3. Sankila R., Olsen J.H., Anderson H., Garwicz S., Glatte E., Hertz H., Langmark F., Lanning M., Møller T., Tulinius H. // *N. Engl. J. Med.* 1998. V. 338. № 13. P. 1339–1344.
4. Scheurer M.E., Etzel C.J., Liu M., El-Zein R., Airewele G.E., Malmer B., Aldape K.D., Weinberg J.S., Yung W.K., Bondy M.L. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2007. V. 16. № 11. P. 2491–2495.
5. Hemminki K., Li X., Vaittinen P., Dong C. // *Br. J. Cancer*. 2000. V. 83. № 3. P. 407–411.
6. Busby C.C. // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2009. V. 6. № 12. P. 3105–3114.
7. Herbst A.L., Ulfelder H., Poskanzer D.C. // *N. Engl. J. Med.* 1971. V. 284. P. 878–881.
8. Bassil K.L., Vakil C., Sanborn M., Cole D.C., Kaur J.S., Kerr K.J. // *Can. Fam. Physician*. 2007. V. 53. № 10. P. 1704–1711.
9. Shim Y.K., Mlynarek S.P., van Wijngaarden E. // *Environ. Health Perspect.* 2009. V. 117. № 6. P. 1002–1006.
10. Dietrich M., Block G., Pogoda J.M., Buffler P., Hecht S., Preston-Martin S. // *Cancer Causes & Control*. 2005. V. 16. № 6. P. 619–635.
11. Pogoda J.M., Preston-Martin S., Howe G., Lubin F., Mueller B.A., Holly E.A., Filippini G., Peris-Bonet R., McCreddie M.R.E., Cordier S., Choi W. // *Ann. Epidemiol.* 2009. V. 19. № 3. P. 148–160.
12. Idowu O.E., Idowu M.A. // *Afr. Health Sci.* 2008. V. 8. № 1. P. 1–4.
13. Schüz J., Kaletsch U., Kaatsch P., Meinert R., Michaelis J. // *Med. Pediatr. Oncol.* 2001. V. 36. № 2. P. 274–282.
14. Harder T., Plagemann A., Harder A. // *Am. J. Epidemiol.* 2008. V. 168. № 4. P. 366–373.
15. Samuelsen S.O., Bakketeig L.S., Tretli S., Johannesen T.B., Magnus P. // *Lancet Oncol.* 2006. V. 7. № 1. P. 39–42.
16. Cantwell M.M., Forman M.R., Middleton R.J., Murray L.J. // *Br. J. Cancer*. 2008. V. 99. № 5. P. 796–799.
17. de Andrade M., Barnholtz J.S., Amos C.I., Adatto P., Spencer C., Bondy M.L. // *Genet. Epidemiol.* 2001. V. 20. № 2. P. 258–270.
18. Merchant T.E., Pollack I.F., Loeffler J.S. // *Semin. Radiat. Oncol.* 2010. V. 20. № 1. P. 58–66.
19. Arora R.S., Alston R.D., Eden T.O.B., Estlin E.J., Moran A., Birch J.M. // *Neuro-Oncology*. 2009. V. 11. № 4. P. 403–413.
20. Sirachainan N., Wongruangsri S., Kajanachumpol S., Pakakasama S., Visudtibhan A., Nuchprayoon I., Lusawat A., Phudhicharoenrat S., Shuangshoti S., Hongeng S. // *Cancer Detect. Prev.* 2008. V. 32. № 1. P. 72–78.
21. Ezer R., Alonso M., Pereira E., Kim M., Allen J.C., Miller D.C., Newcomb E.W. // *J. Neurooncology*. 2002. V. 59. № 2. P. 123–134.
22. Parhar P., Ezer R., Shao Y., Allen J.C., Miller D.C., Newcomb E.W. // *Brain Res. Mol. Brain Res.* 2005. V. 137. № 1–2. P. 98–103.
23. Nielsen S.S., Mueller B.A., De Roos A.J., Viernes H.-M.A., Farin F.M., Checkoway H. // *Environ. Health Perspect.* 2005. V. 113. № 7. P. 909–913.
24. Nielsen S.S., McKean-Cowdin R., Farin F.M., Holly E.A., Preston-Martin S., Mueller B.A. // *Environ. Health Perspect.* 2010. V. 118. № 1. P. 144–149.
25. Сальникова Л.Е., Замулаева И.А., Белопольская О.Е., Иванова Т.И., Кузнецова Г.И., Саенко А.С., Абилов С.К., Рубанович А.В. // *Экологическая генетика*. 2010. Т. 8. № 2. С. 18–23.
26. De Roos A.J., Rothman N., Brown M., Bell D.A., Pittman G.S., Shapiro W.R., Selker R.G., Fine H.A., Black P.M., Inskip P.D. // *Neuro-Oncology*. 2006. V. 8. № 2. P. 145–155.
27. Li C., Hu Z., Liu Z., Wang L.-E., Gershenwald J.E., Lee J.E., Prieto V.G., Duvic M., Grimm E.A., Wei Q. // *Cancer*. 2007. V. 109. № 8. P. 1570–1578.
28. Демографический ежегодник России. 2009. Статистический сборник. М.: Росстат, 2009. 557 с.
29. Демоскоп. Weekly. Электронная версия бюллетеня Население и общество. Смертность от внешних причин и возраст. 2001. № 29–30. URL: <http://www.demoscope.ru/weekly/029/tema04.php>
30. Hamajima N. // *Exp. Rev. Mol. Diagnosis*. 2001. V. 1. № 1. P. 119–123.
31. Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко Т.Э., Асеев М.В. Геном человека и гены предрасположенности. Введение в предиктивную медицину. СПб.: Интермедика, 2000. 272 с.
32. Trizna Z., de Andrade M., Kyritsis A.P., Briggs K., Levin V.A., Bruner J.M., Wei Q., Bondy M.L. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1998. V. 7. P. 553–555.
33. Schwartzbaum J.A., Ahlbom A., Lönn S., Warholm M., Rannug A., Auvinen A., Christensen H.C., Henriksson R., Christoffer Johansen C., Lindholm C., Malmer B., Salminen T., Schoemaker M.J., Swerdlow A.J., Feychting M. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2007. V. 16. № 3. P. 559–565.
34. De Roos A.J., Rothman N., Inskip P.D., Linet M.S., Shapiro W.R., Selker R.G., Fine H.A., Black P.M., Pittman G.S., Bell D.A. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2003. V. 12. № 1. P. 14–22.
35. Paunu N., Lahermo P., Onkamo P., Ollikainen V., Rantala I., Helén P., Simola K.O. J., Kere J., Haapasalo H. // *Cancer Res.* 2002. V. 62. P. 3798–3802.
36. Androusoopoulos V.P., Tsatsakis A.M., Spandidos D.A. // *BMC Cancer*. 2009. 9:187. URL: <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/9/187>
37. Rotunno M., Yu K., Lubin J.H., Consonni D., Pesatori A.C., Goldstein A.M., Goldin L.R., Wacholder S., Welch R., Burdette L., Chanock S.J., Bertazzi P.A., Tucker M.A., Caporaso N.E., Chatterjee N., Bergen A.W., Landi M.T. // *PLOS*. 2009. V. 4. № 5. e5652. URL: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2682568>
38. Figueroa J.D., Sakoda L.C., Graubard B.I., Chanock S., Rubertone M.V., Erickson R.L., McGlynn K.A. // *Cancer Causes & Control*. 2008. V. 19. № 9. P. 917–929.
39. Sowers M.R., Wilson A.L., Kardia S.R., Chu J., McConnell D.S. // *Am. J. Med.* 2006. V. 119. № 9. Suppl 1. S44–51. URL: <http://www.amjmed.com/article/S0002-9343%2806%2900828-X/pdf>
40. Wang S., Chanock S., Tang D., Zhigang L., Jedrychowski W., Perera F.P. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2008. V. 17. № 2. P. 405–413.
41. Lam T.K., Rotunno M., Lubin J.H., Wacholder S., Consonni D., Pesatori A.C., Bertazzi P.A., Chanock S.J., Burdette L., Goldstein A.M., Tucker M.A., Caporaso N.E., Subar A.F., Landi M.T. // *Carcinogenesis*. 2010. V. 31. № 4. P. 634–642.
42. Сальникова Л.Е., Смелая Т.В., Мороз В.В., Голубев А.М., Лаптева Н.Ш., Рубанович А.В. // *Общая реаниматология*. 2010. Т. 6. № 1. С. 5–10.
43. Georgiadis P., Topinka J., Vlachodimitropoulos D., Stoikidou M., Gioka M., Stephanou G., Autrup H., Demopoulos N.A., Katsouyanni K., Sram R., Kyrtopoulos S.A. // *Carcinogenesis*. 2005. V. 26. № 1. P. 93–101.
44. Pinarbasi H., Silig Y., Gurelik M. // *Cancer Genet. Cytogenet.* 2005. V. 156. P. 144–149.

45. Wrensch M., Kelsey K.T., Liu M., Miike R., Moghadassi M., Aldape K., McMillan A., Wiencke J.K. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2004. V. 13. P. 461–467.
46. Butler M.A., Ruder A.M., Daly A.K., Waters M.A., Carreón T., Schulte P.A. // *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 2003. V. 44. P. 128.
47. Кондратьева Т.В., Имянитов Е.Н., Того А.В., Зайцева О.А., Яцук О.С., Берснев В.П., Хансон К.П. // *Вопросы онкологии.* 1999. Т. 45. С. 523–527.
48. Elexpuru-Camiruaga J., Buxton N., Kandula V., Dias P.S., Campbell D., McIntosh J., Broome J., Jones P., Inskip A., Alldersea J., Fryer A.A., Strange R.C. // *Cancer Res.* 1995. V. 55. № 19. P. 4237–4239.
49. Kelsey K.T., Wrensch M., Zuo Z.F., Miike R., Wiencke J.K. // *Pharmacogenetics.* 1997. V. 7. P. 463–468.
50. Wiencke J.K., Wrensch M.R., Miike R., Zuo Z., Kelsey K.T. // *Carcinogenesis.* 1997. V. 18. P. 1431–1433.
51. Lai R., Crevier L., Thabane L. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2005. V. 14. № 7. P. 1784–1790.
52. Vineis P., Manuguerra M., Kavvoura F.K., Guarrera S., Allione A., Rosa F., Di Gregorio A., Polidoro S., Saletta F., John P.A., Ioannidis J.P.A., Giuseppe Matullo G. // *J. Natl. Cancer Inst.* 2009. V. 101. № 1. P. 24–36.
53. Bethke L., Webb E., Murray A., Schoemaker M., Johansen C., Christensen H.C., Muir K., McKinney P., Hepworth S., Dimitropoulou P., Lophatananon A., Feychting M., Lönn S., Ahlbom A., Malmer B., Henriksson R., Auvinen A., Kiuru A., Salminen T., Swerdlow A., Houlston R. // *Human Mol. Genet.* 2008. V. 17. № 6. P. 800–805.
54. Yang P., Kollmeyer T.M., Buckner K., Bamlet W., Ballman K.V., Jenkins R.B. // *Cancer.* 2005. V. 103. № 11. P. 2363–2372.
55. Caggana M., Kilgallen J., Conroy J.M., Wiencke J.K., Kelsey K.T., Miike R., Chen P., Wrensch M.R. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2001. V. 10. P. 355–360.
56. Butkiewicz D., Rusin M., Enewold L., Shields P.G., Chorazy M., Harris C.C. // *Carcinogenesis.* 2001. V. 22. № 4. P. 593–597.
57. Venturelli E., Villa A., Scarpini E., Fenoglio C., Guidi I., Lovati C., Marcone A., Cortini F., Scalabrini D., Clerici F., Bresolin N., Mariani C., Cappa S., Galimberti D. // *Eur. J. Neurol.* 2008. V. 15. № 1. P. 77–81.
58. Замулаева И.А., Саенко А.С., Орлова Н.В., Смирнова С.Г., Цыб А.Ф. Пособие для врачей. Обнинск, 2007. 19 с.
59. Kyoizumi S., Akiyama M., Hirai Y., Kusunoki Y., Tanabe K., Umeki S. // *J. Exp. Med.* 1990. V. 171. № 6. P. 1981–1999.