

УДК [57+61::539.1.04:575.174.015.3:577.3'1:614.876

ОЦЕНКА СВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ С ЧАСТОТОЙ И СПЕКТРОМ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ АНОМАЛИЙ У ЗДОРОВЫХ РАБОТНИКОВ СИБИРСКОГО ХИМИЧЕСКОГО КОМБИНАТА, ПОДВЕРГАВШИХСЯ РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ (MICROARRAY ИССЛЕДОВАНИЯ)

© 2013 г. Н. В. Литвяков^{1,2}, О. О. Гончарик¹, М. Б. Фрейдин³, А. Э. Сазонов¹, Е. О. Васильева¹, С. А. Межеричский¹, М. В. Халюзова¹, А. А. Бондарюк¹, Е. Н. Альбах¹, А. Б. Карпов^{1*}, Р. М. Тахауов¹

¹ Северский биофизический научный центр ФМБА России, Северск

² Научно-исследовательский институт онкологии СО РАМН, Томск

³ Научно-исследовательский институт медицинской генетики СО РАМН, Томск

Представлены результаты исследования по оценке связи полиморфных вариантов генов-кандидатов индивидуальной радиочувствительности человека с частотой и типом цитогенетических нарушений у здоровых работников Сибирского химического комбината, подвергавшихся профессиональному радиационному воздействию в дозе 100–300 мЗв. Генотипирование образцов ДНК 96 работников проводили на олигонуклеотидном микрочипе “Cancer_SNP_Panel_GT-17-211” (“Illumina”), содержащем 1 421 SNP-маркера 406 генов. У всех обследованных был проведен стандартный цитогенетический анализ. Проведен анализ ассоциаций SNP с цитогенетическими показателями — частотами абберантных клеток и следующих аббераций хромосом: хроматидных фрагментов, хроматидных обменов, парных фрагментов, точечных фрагментов, дицентрических хромосом, кольцевых хромосом, транслокаций. Установлено 40 SNP ([rs1800389](#), [rs1051690](#), [rs2392221](#), [rs1041163](#), [rs2114443](#), [rs6083](#), [rs1760904](#), [rs4986894](#), [rs488133](#), [rs7462102](#), [rs11249938](#), [rs34206126](#), [rs33945943](#), [rs34324628](#), [rs5742694](#), [rs978458](#), [rs5742667](#), [rs2373721](#), [rs2162679](#), [rs889162](#), [rs2233679](#), [rs2010457](#), [rs2873950](#), [rs1574154](#), [rs10934500](#), [rs4688046](#), [rs10934503](#), [rs4624596](#), [rs2288729](#), [rs4227](#), [rs1367696](#), [rs751087](#), [rs1269486](#), [rs1149901](#), [rs1800404](#), [rs887477](#), [rs696405](#), [rs751087](#), [rs8192284](#), [rs312016](#)), ассоциированных с частотой различных типов хромосомных аббераций (p-value с поправкой FDR Бенджамини–Хокберга < 0.05), из них 24 SNP (подчеркнуты) сопряжены более чем с одним типом хромосомных аббераций. В дальнейшем предполагается исследовать связь этих SNP с вышеперечисленными цитогенетическими показателями на выборке более 600 человек.

Полиморфизм генов, хромосомные абберации, индивидуальная радиочувствительность, низкие дозы облучения.

DOI: 10.7868/S0869803113020069

Анализ генетических эффектов действия ионизирующего излучения (ИИ) считают одним из наиболее перспективных направлений исследования индивидуальной радиочувствительности человека (ИРЧ). Основными показателями оценки ИРЧ считают уровни индуцированных хромосомных аббераций (ХА) у пациентов или выход радиационно-обусловленных заболеваний, прежде всего, злокачественных новообразований (ЗНО) [1, 2]. В ряде исследований показано, что высокая частота ХА в лимфоцитах периферической крови, и, главным образом, аббераций хромосомного типа,

возникающих под действием ИИ, ассоциирована с повышенным риском развития ЗНО [3–8]. Нами показана возможность рассмотрения повышенного уровня аббераций хромосомного типа как прогностического маркера риска развития ЗНО [9]. В этой связи поиск способов предиктивной оценки вероятности индукции цитогенетических аномалий при возможном контакте с источниками ИИ (например, во время работы на предприятиях атомной отрасли) является актуальной задачей.

Рядом авторов в больших обзорах [10–13] поставлен вопрос о связи генетических полиморфизмов и цитогенетических нарушений при различных генотоксических воздействиях в контексте оценки возможности прогнозирования чувствительности к этим мутагенным факторам.

* Адресат для корреспонденции: 636013, Томская обл., ЗАТО Северск, г. Северск-13, а/я № 130 СБН Центр ФМБА России; тел./факс: (3823) 99-40-01, 99-40-02; e-mail: nvlitv72@yandex.ru; mail@sbrs.ru; conf@sbrs.ru.

В исследовании Л.Е. Сальниковой проанализирована связь 36 SNP с частотой ХА, определяемых в различных группах населения и профессионалов, подвергавшихся радиационному воздействию [14, 15]. Все ассоциативные связи SNP с частотой и спектром ХА, были крайне вариабельны, имели низкий уровень доверительной вероятности (ни в одном случае уровень значимости не достигал величины <0.05 при использовании поправки на множественные сравнения) и, соответственно, не могли быть использованы для оценки вероятности риска индукции ХА при контакте с ИИ.

Для выявления молекулярно-генетических маркеров, которые могли бы использоваться для предсказания вероятности индукции цитогенетических нарушений с повышенной частотой при контакте с ИИ, необходимо провести крупномасштабное исследование ассоциации большого количества SNP с уровнем ХА. При этом важно проведение анализа на однородной выборке людей, подвергавшихся радиационному воздействию в диапазоне доз от 0.1 Гр и не превышающих 0.5 Гр. Последнее связано с тем, что именно для этого диапазона доз характерна наибольшая межиндивидуальная вариабельность уровней цитогенетических нарушений, что, по-видимому, свидетельствует о существенной роли генотипической компоненты в радиочувствительности хромосом генома. С помощью технологии микроматриц нами проведено исследование связи 1 421 SNP с частотой и спектром ХА у работников Сибирского химического комбината (СХК), подвергавшихся хроническому внешнему радиационному воздействию.

В статье представлены результаты исследования, цель которого — выявление полиморфных вариантов генов, ассоциированных с повышенной частотой различных типов цитогенетических нарушений у облученных здоровых работников СХК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Объектом исследования явилась кровь здоровых работников СХК — крупнейшего в мире предприятия атомной отрасли, подвергавшихся долговременному радиационному воздействию в процессе профессиональной деятельности. Для исследования была подобрана группа из 96 работников СХК. Критерии отбора были следующие:

- 1) Мужской пол.
- 2) Славянская национальность.
- 3) Возраст 45–65 лет.

4) Хроническое внешнее радиационное воздействие (γ -излучение) в диапазоне доз 100–300 мЗв.

Индивидуальный дозиметрический контроль персонала проводился с момента ввода в действие основных технологических процессов с 1953 г. В период 1958–1998 гг. в системе контроля индивидуальной дозы γ -излучения применялся пленочный дозиметр, в период 1988–2003 гг. эксплуатировались термолюминесцентные дозиметры. С 1998 г. на СХК эксплуатируется автоматизированный комплекс индивидуальной дозиметрии с термолюминесцентными дозиметрами.

Для всех обследованных проведен анализ спектра и частоты ХА в лимфоцитах периферической крови (не менее чем по 300 метафазам) по стандартной методике. Для постановки культуры лимфоцитов использовали цельную кровь, которую смешивали с культуральной средой и инкубировали в культуральных флаконах при 37°C в суховоздушном термостате. Состав среды: 85% среды RPMI 1640, 15% эмбриональной телячьей сыворотки. 8 мл среды вносили в бакпечатки и добавляли 2 мл цельной крови и 2–2.5% фитогемагглютинаина (“Sigma”, США). Культуральные флаконы культивировали 45 ч, потом добавляли колхицин до конечной концентрации 0.06 мкг/мл и культивировали еще 3 ч. Дальнейшую обработку лимфоцитов проводили по общепринятой методике: гипотонизация (в 0.56%-ном растворе KCl, содержащем 0.95% цитрата натрия), фиксация (смесью этанола и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3 : 1), раскапывание клеточной суспензии на охлажденные и обезжиренные предметные стекла). Рутинную окраску хромосом проводили красителем Гимза, приготовленным на фосфатном буфере. Хромосомный анализ проводили на зашифрованных препаратах с помощью микроскопа “Leica DM25000” (Германия) при малом (10 × 10) и большом (10 × 100) увеличении. Отбор метафазных пластинок осуществляли с учетом следующих требований: цельность метафазной пластинки, четкость окраски, отсутствие или небольшое число (1–2) поперечных наложений хромосом, средняя степень их конденсации, обособленность метафазных пластинок друг от друга. Количество центромер — 46. У каждого индивида обследовали не менее 300 метафаз.

Анализировали все виды aberrаций хромосом, распознаваемых без кариотипирования. Из aberrаций хромосомного типа учитывали парные фрагменты, точечные парные фрагменты, кольцевые и дицентрические хромосомы. Оценивали число хроматидных фрагментов, одиночных точечных фрагментов и хроматидных обменов. Из стабильных aberrаций регистрировали аномальные моноцентрики, являющиеся результатом ре-

ципрокной транслокации. Рассчитывали частоту aberrантных клеток и всех видов ХА в пересчете на 100 метафаз. Таким образом, анализировались частоты следующих цитогенетических нарушений: частота aberrантных клеток, частота хроматидных фрагментов, хроматидных обменов, парных фрагментов, точечных фрагментов, дицентрических хромосом, кольцевых хромосом, частота транслокаций.

ДНК из крови выделяли при помощи колоночного метода, наборами “QIAamp DNA Mini Kit (50)” (“Qiagen”, Германия). Концентрацию и чистоту ДНК проверяли на спектрофотометре “NanoDrop 1000” (“Thermo Scientific Electron”, США). Средняя концентрация ДНК составила 450 нг/мкл (300–550 нг/мкл), показатели чистоты ДНК от белков и органических примесей: $A_{260}/A_{280} = 1.95–2.05$; $A_{260}/A_{230} = 2.00–2.30$. Качество ДНК проверяли электрофорезом в агарозном геле.

Генотипирование проводили на микроматрице “Cancer_SNP_Panel GT-17-211” (“Illumina”). Эта микроматрица разработана по результатам Cancer Genome Anatomy Project (<http://variant-gps.nci.nih.gov/cgfsseq/pages/snp500.do>). Она содержит 1 421 SNP-маркер 406 генов, из них: 136 SNP в 3'UTR, 33 SNP в 5'UTR, 109 SNP фланкирующих 3'UTR, 192 SNP фланкирующих 5'UTR, 645 интронных SNP и 306 в кодирующих регионах. (http://www.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet_cancer_snp_panel.pdf). Список исследованных генов представлен в табл. 1. Генотипирование было выполнено в соответствии с протоколом фирмы – производителя микроматрицы.

Анализ ассоциации уровней различных цитогенетических нарушений с полиморфными вариантами изученных генов у облученных здоровых работников СХК проводили с помощью логистической и лог-линейной регрессии (для признаков с бинарной и непрерывной изменчивостью, соответственно) с использованием пакета *SNPassoc* для языковой среды R [17]. Согласно процедуре, из рассмотрения были исключены 25 SNP, которые были изучены у менее чем 80% обследованных лиц, 34 полиморфных вариантов генов с частотой редкого аллеля <2% и 80 SNP с частотами генотипов, не соответствующими ожидаемым при равновесии Харди–Вайнберга ($p < 0.01$). Кроме того, при математическом анализе не учитывались результаты генотипирования лимфоцитов 6 доноров, для которых было изучено менее 70% SNP и четырех контрольных проб, которые были повторами образцов и служили для подтверждения достоверности генотипирования.

Таким образом, после вышеописанной процедуры отбора мы имели результаты генотипирова-

ния 86 человек, для каждого из которых было проанализировано 1 282 SNP. Были рассчитаны уровни значимости связи изученных полиморфных вариантов генов с частотами aberrантных клеток и следующих aberrаций хромосом: хроматидных фрагментов, хроматидных обменов, парных фрагментов, точечных фрагментов, дицентрических и кольцевых хромосом, реципрокных транслокаций. Расчеты сделаны для четырех генотипических моделей: кодоминантной, доминантной, рецессивной и сверхдоминантной. Для выбора наилучшей (в статистическом смысле) модели использовали информационный критерий Акаике (во всех случаях наименьшее значение критерия было для рецессивной модели). Для коррекции уровней значимости на множественные сравнения использовали поправку FDR Бенджамини–Хокберга.

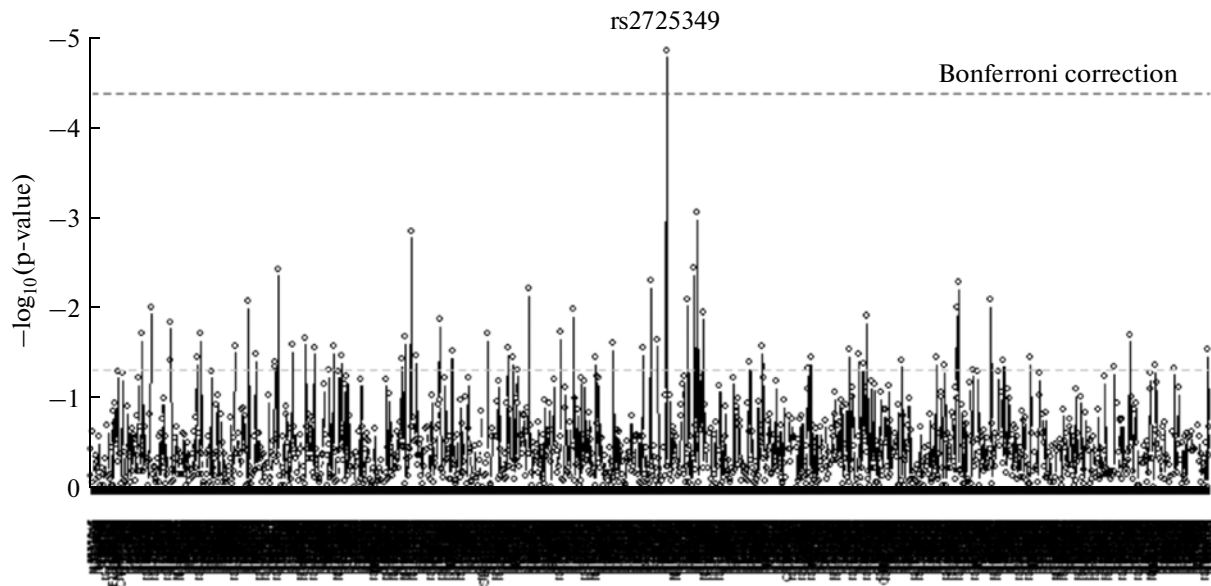
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что с учетом поправки FDR Бенджамини–Хокберга с частотой aberrантных клеток в крови работников СХК ассоциирован один SNP – rs1800389 – синонимичная замена T171C (NP_000544) в гене *WRN*: Werner syndrome, RecQ helicase-like (рисунок; рецессивная модель выбрана на основании наименьшего значения критерия Акаике в сравнении с другими моделями). Ген расположен в хромосомном участке 8p12 и кодирует белок, который относится к RecQ и DEAN (Asp-Glu-Ala-His) подсемейству ДНК- и РНК-геликаз. ДНК-геликазы принимают участие во многих процессах связанных с метаболизмом ДНК, включая транскрипцию, репликацию, рекомбинацию и репарацию. Они обладают 3'-5' ДНК-геликазной и 3'-5' экзонуклеазной активностью.

Благодаря взаимодействию между Wtn и Ku70/80 происходит соединение концов ДНК; таким образом, этот белок участвует в репарации двухцепочечных разрывов ДНК. Также известно, что γ -излучение вызывает перемещение белка Wtn в нуклеоплазму к местам двухцепочечных разрывов ДНК [15]. Дефекты в гене *WRN* являются причиной синдрома Вернера – аутосомно-рецессивного заболевания, характеризующегося преждевременным старением и предрасположенностью к онкологическим заболеваниям. *ATM*- и *ATR*-киназы модулируют работу *WRN* в ответ на остановку репликации в контрольных точках, что приводит к предотвращению геномной нестабильности и снижению риска развития ЗНО. Согласно полученным данным у носителей “редкого” СС-генотипа (rs1800389) частота aberrантных клеток в 2.5 раза выше, чем у носителей гетерозиготного ТС- и “дикого” ТТ-генотипов

Таблица 1. Список генов микроматрицы “Cancer_SNP_Panel GT-17-211” (“Illumina”)

<i>ABCA1</i>	<i>BRCA1</i>	<i>CSF2</i>	<i>FLJ45983</i>	<i>IL10</i>	<i>MDM2</i>	<i>PIM1</i>	<i>SLC2A4</i>	<i>XRCC1</i>
<i>ABCA5</i>	<i>BRCA2</i>	<i>CSF3</i>	<i>FOS</i>	<i>IL10RA</i>	<i>MEST</i>	<i>PIN1</i>	<i>SLC30A1</i>	<i>XRCC3</i>
<i>ABCA6</i>	<i>BRIP1</i>	<i>CSTF1</i>	<i>FOXA1</i>	<i>IL12A</i>	<i>MET</i>	<i>PLA2G2A</i>	<i>SLC30A4</i>	<i>XRCC4</i>
<i>ABCA7</i>	<i>BZRP</i>	<i>CTH</i>	<i>FOXC1</i>	<i>IL12B</i>	<i>METTL1</i>	<i>PLA2G6</i>	<i>SLC39A2</i>	<i>XRCC5</i>
<i>ABCB1</i>	<i>CALCR</i>	<i>CTLA4</i>	<i>FUT2</i>	<i>IL13</i>	<i>MGC20255</i>	<i>PLK1</i>	<i>SLC4A2</i>	<i>ZFPM1</i>
<i>ABCB11</i>	<i>CARD15</i>	<i>CTNNB1</i>	<i>FZD7</i>	<i>IL15</i>	<i>MGMT</i>	<i>PMS1</i>	<i>SLC6A18</i>	<i>ZNF230</i>
<i>ABCC2</i>	<i>CASP10</i>	<i>CTSB</i>	<i>GATA3</i>	<i>IL15RA</i>	<i>MLH1</i>	<i>PMS2</i>	<i>SLC6A3</i>	<i>ZNF350</i>
<i>ABCC4</i>	<i>CASP3</i>	<i>CTSH</i>	<i>GC</i>	<i>IL1A</i>	<i>MMP1</i>	<i>POLB</i>	<i>SOAT2</i>	
<i>ABCG8</i>	<i>CASP8</i>	<i>CX3CR1</i>	<i>GDF15</i>	<i>IL1B</i>	<i>MPDU1</i>	<i>POLD1</i>	<i>SOD1</i>	
<i>ADH1C</i>	<i>CASP9</i>	<i>CYBB</i>	<i>GGH</i>	<i>IL1RN</i>	<i>MPO</i>	<i>POT1</i>	<i>SOD2</i>	
<i>AHR</i>	<i>CASR</i>	<i>CYP17A1</i>	<i>GHR</i>	<i>IL2</i>	<i>MRPL39</i>	<i>PPARG</i>	<i>SOD3</i>	
<i>AHRR</i>	<i>CAT</i>	<i>CYP19A1</i>	<i>GPX1</i>	<i>IL3</i>	<i>MSH2</i>	<i>PPP1R13L</i>	<i>SSTR3</i>	
<i>AKR1A1</i>	<i>CAV1</i>	<i>CYP1A1</i>	<i>GPX2</i>	<i>IL4</i>	<i>MSH3</i>	<i>PTEN</i>	<i>STAT1</i>	
<i>AKR1C3</i>	<i>CBR1</i>	<i>CYP1B1</i>	<i>GPX3</i>	<i>IL4R</i>	<i>MSH6</i>	<i>PTGS1</i>	<i>STK11</i>	
<i>AKR1C4</i>	<i>CBR3</i>	<i>CYP24A1</i>	<i>GPX4</i>	<i>IL6</i>	<i>MSR1</i>	<i>PTGS2</i>	<i>STK6</i>	
<i>AKT1</i>	<i>CBS</i>	<i>CYP2C19</i>	<i>GRPR</i>	<i>IL6R</i>	<i>MTHFD2</i>	<i>PTH</i>	<i>TCTA</i>	
<i>ALAD</i>	<i>CCL5</i>	<i>CYP2E1</i>	<i>GSK3B</i>	<i>IL7R</i>	<i>MTHFR</i>	<i>RAB15</i>	<i>TEP1</i>	
<i>ALDH1L1</i>	<i>CCNA2</i>	<i>CYP3A4</i>	<i>GSTA4</i>	<i>IL8</i>	<i>MTR</i>	<i>RAC1</i>	<i>TERF1</i>	
<i>ALDH2</i>	<i>CCND1</i>	<i>CYP3A7</i>	<i>GSTM3</i>	<i>IL8RA</i>	<i>MTRR</i>	<i>RAD23B</i>	<i>TERF2</i>	
<i>ALOX12</i>	<i>CCND3</i>	<i>CYP7B1</i>	<i>GSTP1</i>	<i>IL8RB</i>	<i>MX1</i>	<i>RAD51</i>	<i>TERT</i>	
<i>ALOX15</i>	<i>CCNH</i>	<i>DHDH</i>	<i>GSTZ1</i>	<i>INSR</i>	<i>MYBL2</i>	<i>RAD52</i>	<i>TFF1</i>	
<i>ALOX5</i>	<i>CCR2</i>	<i>DHFR</i>	<i>HADHA</i>	<i>IRF1</i>	<i>MYC</i>	<i>RAD54L</i>	<i>TFF3</i>	
<i>ALS2CR12</i>	<i>CCR3</i>	<i>DIO1</i>	<i>HFE</i>	<i>IRF3</i>	<i>MYNN</i>	<i>RAG1</i>	<i>TFRC</i>	
<i>AMACR</i>	<i>CCR5</i>	<i>DNAJC18</i>	<i>HIF1AN</i>	<i>IRS1</i>	<i>MYO5A</i>	<i>RBICC1</i>	<i>TGFB1</i>	
<i>ANKK1</i>	<i>CD14</i>	<i>DRD1</i>	<i>HMGCR</i>	<i>JAK3</i>	<i>NBN</i>	<i>RERG</i>	<i>TGFBR1</i>	
<i>APAF1</i>	<i>CD3EAP</i>	<i>DRD2</i>	<i>HSD17B1</i>	<i>JTV1</i>	<i>NCF2</i>	<i>RET</i>	<i>TGM1</i>	
<i>APBB3</i>	<i>CD4</i>	<i>DRD4</i>	<i>HSD17B2</i>	<i>KRAS</i>	<i>NCOA3</i>	<i>RGS17</i>	<i>TLR2</i>	
<i>APC</i>	<i>CD40</i>	<i>EDN1</i>	<i>HSD17B4</i>	<i>KRT23</i>	<i>NFKB1</i>	<i>RGS5</i>	<i>TNF</i>	
<i>APEX1</i>	<i>CD80</i>	<i>EFNB3</i>	<i>HSD3B1</i>	<i>LCAT</i>	<i>NFKBIE</i>	<i>RGS6</i>	<i>TNFRSF10A</i>	
<i>APOA2</i>	<i>CD81</i>	<i>EGF</i>	<i>HSD3B2</i>	<i>LDLR</i>	<i>NICN1</i>	<i>RHOA</i>	<i>TNFRSF1A</i>	
<i>APOB</i>	<i>CD86</i>	<i>EGFR</i>	<i>HSPB8</i>	<i>LEP</i>	<i>NINJ1</i>	<i>RNASEL</i>	<i>TNIP1</i>	
<i>APOE</i>	<i>CDC25A</i>	<i>ENG</i>	<i>HTR1B</i>	<i>LEPR</i>	<i>NOS2A</i>	<i>ROS1</i>	<i>TNKS</i>	
<i>AR</i>	<i>CDC25B</i>	<i>ENPP1</i>	<i>HTR1D</i>	<i>LIG1</i>	<i>NOS3</i>	<i>RPA4</i>	<i>TP53</i>	
<i>ARHGDIB</i>	<i>CDC25C</i>	<i>EPHX1</i>	<i>HUS1</i>	<i>LIG3</i>	<i>NPAT</i>	<i>RXRA</i>	<i>TP53I3</i>	
<i>ARNT</i>	<i>CDH1</i>	<i>EPHX2</i>	<i>ICAM1</i>	<i>LIG4</i>	<i>NQO1</i>	<i>RXRB</i>	<i>TP73L</i>	
<i>ARVCF</i>	<i>CDK4</i>	<i>ERBB2</i>	<i>IFNAR2</i>	<i>LIPC</i>	<i>NR1H4</i>	<i>SAT2</i>	<i>TSG101</i>	
<i>ATM</i>	<i>CDK5</i>	<i>ERCC1</i>	<i>IFNG</i>	<i>LITAF</i>	<i>NUBP2</i>	<i>SCARB1</i>	<i>TXNRD2</i>	
<i>ATP1B2</i>	<i>CDK7</i>	<i>ERCC2</i>	<i>IFNGR1</i>	<i>LMO2</i>	<i>OCA2</i>	<i>SCUBE2</i>	<i>TYMS</i>	
<i>AXIN2</i>	<i>CDKN1B</i>	<i>ERCC3</i>	<i>IFNGR2</i>	<i>LMOD1</i>	<i>OGG1</i>	<i>SEC14L2</i>	<i>TYR</i>	
<i>BAK1</i>	<i>CDKN1C</i>	<i>ERCC4</i>	<i>IGF1</i>	<i>LOC112869</i>	<i>OPRD1</i>	<i>SELE</i>	<i>UCP3</i>	
<i>BARD1</i>	<i>CDKN2A</i>	<i>ERCC5</i>	<i>IGF1R</i>	<i>LPL</i>	<i>OPRM1</i>	<i>SEP15</i>	<i>UGT1A8</i>	
<i>BAX</i>	<i>CETP</i>	<i>ERCC6</i>	<i>IGF2</i>	<i>LRP5</i>	<i>P2RX7</i>	<i>SEPP1</i>	<i>VCAM1</i>	
<i>BCL2L1</i>	<i>CFH</i>	<i>ESR1</i>	<i>IGF2AS</i>	<i>LRP6</i>	<i>PAK6</i>	<i>SEPT2</i>	<i>VDR</i>	
<i>BCL6</i>	<i>CG018</i>	<i>ESR2</i>	<i>IGF2R</i>	<i>LTA</i>	<i>PARP1</i>	<i>SFTPD</i>	<i>VEGF</i>	
<i>BCR</i>	<i>CGA</i>	<i>EXO1</i>	<i>IGFALS</i>	<i>MAOA</i>	<i>PARP4</i>	<i>SHBG</i>	<i>VIL2</i>	
<i>BHMT</i>	<i>CHEK1</i>	<i>FAM82A</i>	<i>IGFBP1</i>	<i>MASP1</i>	<i>PCNA</i>	<i>SLAMF1</i>	<i>WDR79</i>	
<i>BIRC2</i>	<i>COL18A1</i>	<i>FANCA</i>	<i>IGFBP2</i>	<i>MATR3</i>	<i>PCTP</i>	<i>SLC19A1</i>	<i>WRN</i>	
<i>BIRC3</i>	<i>COMT</i>	<i>FAS</i>	<i>IGFBP3</i>	<i>MBD2</i>	<i>PDGFB</i>	<i>SLC23A1</i>	<i>XPB1</i>	
<i>BLM</i>	<i>CRP</i>	<i>FASLG</i>	<i>IGFBP5</i>	<i>MBD4</i>	<i>PGR</i>	<i>SLC23A2</i>	<i>XPA</i>	
<i>BPI</i>	<i>CSF1R</i>	<i>FBXW7</i>	<i>IGFBP6</i>	<i>MBL2</i>	<i>PHB</i>	<i>SLC2A1</i>	<i>XPC</i>	



Уровни значимости лог-линейной регрессии для рецессивной модели по частоте aberrantных клеток. Примечание. По оси ординат значение уровня p в логарифмических координатах ($\log_{10}$), пунктирная линия – уровень поправки Бенферрони.

($p = 0.0000137$; с поправкой FDR Бенджамини–Хокберга $p = 0.0161$).

С частотой хроматидных фрагментов ассоциированы 10 SNP: rs2392221 и rs1041163 – SNP гена *VCAM1* сиалогликопротеина мембраны эндотелиальных клеток; rs2114443 – SNP гена *PCTP* белка-переносчика фосфатидилхолина; rs6083 – SNP гена *LIPC* печеночной липазы, расщепляющей триацилглицериды; rs7462102 – SNP гена *TNKS* танкиразы, регулирующего длину теломер; rs1800389 – SNP гена *WRN*; rs1760904 – SNP гена *TEPI*, теломеразу-связывающего белка, который является составной частью рибонуклеопротеинового комплекса теломеразы; rs1051690 – SNP гена *INSR* рецептора инсулина; rs4986894 – SNP гена *CYP2C19* цитохрома P450 подсемейства C; rs488133 – SNP гена *ESR1* рецептора эстрогенов. Показатели частоты хроматидных фрагментов для рецессивной модели представлены в табл. 2.

У носителей “редкого” генотипа по любому из 10 SNP частота хроматидных фрагментов в 2–4 раза выше, чем у носителей гетерозиготного или “дикого” генотипа. Первые два SNP, которые представлены в табл. 2, могут находиться в неравновесии по сцеплению. Из четырех SNP – rs2392221, rs1041163, rs2114443, rs4986894 – “редкий” генотип встречается только у двух обследованных и поэтому ассоциация данных SNP с частотой хроматидных фрагментов нуждается в дальнейшей проверке на большой выборке.

С частотой парных фрагментов ассоциированы четыре SNP: rs5742694, rs2373721 и rs5742667 –

интронные SNP гена *IGF1* – инсулиноподобного фактора роста 1; rs1800389 – SNP гена *WRN*. Показатели частоты парных фрагментов для рецессивной модели представлены в табл. 3. У носителей “редкого” генотипа по любому из четырех SNP с высоким уровнем достоверной вероятности частота парных фрагментов в 2–3 раза выше, чем у носителей гетерозиготного или “дикого” генотипов.

Дицентрические и кольцевые хромосомы являются известными маркерами радиационного воздействия. С учетом поправки Бенджамини–Хокберга с частотой дицентрических хромосом ассоциированы 17 SNP:

1. Пять SNP rs7462102, rs11249938, rs34206126, rs33945943, rs34324628 гена *TNKS*.

2. Четыре SNP rs5742694, rs978458, rs5742667, rs2373721 гена *IGF1* инсулиноподобного фактора роста 1.

3. Три SNP rs889162, rs2233679, rs2010457 гена *PINI* peptidylprolyl cis/trans isomerase, который катализируют цис/транс изомеризацию пептидилпролил пептидных связей. Эти конформационные изменения оказывают большое влияние на ключевые белки, участвующие в регуляции клеточного роста и ответе на генотоксические факторы.

4. Два SNP гена *VCAM1* rs2392221 и rs1041163.

5. SNP гена *CYP2C19* rs4986894.

6. SNP гена *ESR1* рецептора эстрогена rs488133.

Таблица 2. Средние значения частоты (на 100 клеток) хроматидных фрагментов у работников СХК в зависимости от генотипов (рецессивная модель)

Ген и SNP	Генотип	<i>N</i>	<i>M</i>	<i>SE</i>	p-value	Отношение средних по генотипам
<i>VCAM1</i> rs2392221	<i>C/C + T/C</i>	84	1.1390	0.1244	0.04305	3.95
	<i>T/T</i>	2	4.5000	3.8330		
<i>VCAM1</i> rs1041163	<i>T/T + T/C</i>	84	1.1390	0.1244	0.04305	3.95
	<i>C/C</i>	2	4.5000	3.8330		
<i>PCTP</i> rs2114443	<i>A/A + A/G</i>	84	1.1390	0.1244	0.04305	3.95
	<i>G/G</i>	2	4.5000	3.8330		
<i>LIPC</i> rs6083	<i>A/A + A/G</i>	76	1.0238	0.1188	0.03879	2.62
	<i>G/G</i>	10	2.6838	0.7780		
<i>TNKS</i> rs7462102	<i>T/T + T/C</i>	80	1.0790	0.1235	0.04765	3.09
	<i>C/C</i>	4	3.3333	1.7690		
<i>WRN</i> rs1800389	<i>T/T + T/C</i>	81	1.0656	0.1218	0.00541	3.44
	<i>C/C</i>	5	3.6666	1.2516		
<i>TEP1</i> rs1760904	<i>G/G + G/A</i>	67	0.9517	0.1185	0.04634	2.26
	<i>A/A</i>	19	2.1518	0.4710		
<i>INSR</i> rs1051690	<i>C/C + T/C</i>	82	1.1050	0.1265	0.04305	3.17
	<i>T/T</i>	4	3.5000	1.6129		
<i>CYP2C19</i> rs4986894	<i>T/T + T/C</i>	83	1.1400	0.1256	0.04765	3.80
	<i>C/C</i>	2	4.3330	4.0000		
<i>ESR1</i> rs488133	<i>C/C + T/C</i>	80	1.0610	0.1188	0.01386	3.11
	<i>T/T</i>	6	3.2990	1.1851		

Примечание. Здесь и далее: *N* – число обследованных с данным генотипом в группе; p-value – уровень статистической значимости с поправкой FDR Бенджамини–Хокберга.

Таблица 3. Средние значения частоты (на 100 клеток) парных фрагментов у работников СХК в зависимости от генотипов (рецессивная модель)

SNP	Генотип	<i>N</i>	<i>M</i>	<i>SE</i>	p-value	Отношение средних по генотипам
<i>IGF1</i> rs5742694	<i>A/A + A/C</i>	81	0.9174	0.09560	0.00398	3.24
	<i>C/C</i>	5	2.9676	0.94370		
<i>IGF1</i> rs2373721	<i>C/C + C/G</i>	79	0.9165	0.09651	0.04419	2.61
	<i>G/G</i>	7	2.3923	0.77800		
<i>IGF1</i> rs5742667	<i>G/G + G/A</i>	80	0.9289	0.09610	0.04449	2.66
	<i>A/A</i>	6	2.4730	0.91560		
<i>WRN</i> rs1800389	<i>T/T + T/C</i>	81	0.9329	0.09861	0.04168	2.91
	<i>C/C</i>	5	2.7166	0.97030		

7. SNP гена *INSR* рецептора инсулина rs1051690.

В табл. 4 для этих SNP представлены средние значения частот дицентриков в рецессивной модели. У носителей “редкого” генотипа по любому из SNP частота дицентриков в

3.5–5.8 раз выше, чем у носителей других генотипов.

С частотой кольцевых хромосом ассоциированы 20 SNP (табл. 5):

1. Шесть SNP rs2873950, rs1574154, rs10934500, rs4688046, rs10934503, rs4624596 гена *GSK3B*,

Таблица 4. Средние значения частоты (на 100 клеток) дицентриков у работников СХК в зависимости от генотипов (рецессивная модель)

SNP	Генотип	<i>N</i>	<i>M</i>	<i>SE</i>	p-value	Отношение средних по генотипам
<i>TNKS</i> rs7462102	<i>T/T</i> + <i>T/C</i>	80	0.1829	0.03112	0.00162	5.12
	<i>C/C</i>	4	0.9375	0.43476		
<i>TNKS</i> rs11249938	<i>G/G</i> + <i>G/A</i>	81	0.1807	0.03082	0.01608	4.15
	<i>AA</i>	5	0.7500	0.38544		
<i>TNKS</i> rs34206126	<i>C/C</i> + <i>C/T</i>	81	0.1807	0.03082	0.01608	4.15
	<i>T/T</i>	5	0.7500	0.38544		
<i>TNKS</i> rs33945943	<i>G/G</i> + <i>G/A</i>	81	0.1807	0.03082	0.01608	4.15
	<i>AA</i>	5	0.7500	0.38544		
<i>TNKS</i> rs34324628	<i>T/T</i> + <i>T/C</i>	81	0.1807	0.03082	0.01608	4.15
	<i>C/C</i>	5	0.7500	0.38544		
<i>IGF1</i> rs5742694	<i>A/A</i> + <i>A/C</i>	81	0.1766	0.03140	0.00486	4.62
	<i>CC</i>	5	0.8162	0.34195		
<i>IGF1</i> rs978458	<i>C/C</i> + <i>C/T</i>	77	0.1722	0.03272	0.01608	3.72
	<i>T/T</i>	8	0.6409	0.22161		
<i>IGF1</i> rs5742667	<i>G/G</i> + <i>G/A</i>	80	0.1746	0.03173	0.01090	4.21
	<i>AA</i>	6	0.7357	0.29059		
<i>IGF1</i> rs2373721	<i>C/C</i> + <i>C/G</i>	79	0.1720	0.03203	0.01149	3.98
	<i>G/G</i>	7	0.6849	0.25080		
<i>PIN1</i> rs889162	<i>C/C</i> + <i>C/T</i>	83	0.1884	0.03173	0.01608	4.87
	<i>T/T</i>	3	0.9167	0.61413		
<i>PIN1</i> rs2233679	<i>T/T</i> + <i>T/C</i>	80	0.1791	0.03178	0.02711	3.77
	<i>C/C</i>	6	0.6757	0.31066		
<i>PIN1</i> rs2010457	<i>A/A</i> + <i>A/G</i>	80	0.1791	0.03178	0.02711	3.77
	<i>GG</i>	6	0.6757	0.31066		
<i>VCAM1</i> rs2392221	<i>C/C</i> + <i>C/T</i>	84	0.1941	0.03187	0.02711	5.37
	<i>T/T</i>	2	1.0415	1.04150		
<i>VCAM1</i> rs1041163	<i>T/T</i> + <i>T/C</i>	84	0.1941	0.03187	0.02711	5.37
	<i>C/C</i>	2	1.0415	1.04150		
<i>ESR1</i> rs488133	<i>C/C</i> + <i>C/T</i>	80	0.1751	0.02964	0.01149	4.16
	<i>T/T</i>	6	0.7290	0.33606		
<i>CYP2C19</i> rs4986894	<i>T/T</i> + <i>T/C</i>	83	0.1964	0.03217	0.02711	5.30
	<i>C/C</i>	2	1.0415	1.04150		
<i>INSR</i> rs1051690	<i>C/C</i> + <i>T/C</i>	82	0.1744	0.03108	0.00004	5.85
	<i>T/T</i>	4	1.0210	0.35400		

Таблица 5. Средние значения частоты (на 100 клеток) кольцевых хромосом у работников СХК в зависимости от генотипов (рецессивная модель)

SNP	Генотип	<i>N</i>	<i>M</i>	<i>SE</i>	p-value	Отношение средних по генотипам
<i>GSK3B</i> rs2873950	<i>A/A + A/C</i>	80	0.10748	0.02022	0.01781	4.78
	<i>C/C</i>	6	0.51367	0.32085		
<i>GSK3B</i> rs1574154	<i>T/T + T/C</i>	80	0.10748	0.02022	0.01781	4.78
	<i>C/C</i>	6	0.51367	0.32085		
<i>GSK3B</i> rs10934500	<i>T/T + T/C</i>	79	0.10465	0.02028	0.01781	4.78
	<i>C/C</i>	6	0.51367	0.32085		
<i>GSK3B</i> rs4688046	<i>T/T + T/C</i>	80	0.10748	0.02022	0.01781	4.78
	<i>C/C</i>	6	0.51367	0.32085		
<i>GSK3B</i> rs10934503	<i>T/T + T/C</i>	79	0.10465	0.02028	0.01781	4.66
	<i>C/C</i>	7	0.48757	0.27242		
<i>GSK3B</i> rs4624596	<i>T/T + T/C</i>	80	0.10760	0.02024	0.01781	4.76
	<i>C/C</i>	6	0.51170	0.32108		
<i>PIN1</i> rs889162	<i>C/C + C/T</i>	83	0.11160	0.01991	0.00041	7.22
	<i>T/T</i>	3	0.80530	0.64603		
<i>PIN1</i> rs2233679	<i>T/T + T/C</i>	80	0.10750	0.02022	0.01781	4.78
	<i>C/C</i>	6	0.51370	0.32085		
<i>PIN1</i> rs2010457	<i>A/A + A/G</i>	80	0.10750	0.02022	0.01781	4.78
	<i>G/G</i>	6	0.51370	0.32085		
<i>VCAM1</i> rs2392221	<i>C/C + T/C</i>	84	0.11430	0.01984	0.00002	9.10
	<i>T/T</i>	2	1.04150	1.04150		
<i>VCAM1</i> rs1041163	<i>T/T + T/C</i>	84	0.11430	0.01984	0.00002	9.10
	<i>C/C</i>	2	1.04150	1.04150		
<i>PCTP</i> rs2114443	<i>A/A + A/G</i>	84	0.11430	0.01984	0.00002	9.10
	<i>G/G</i>	2	1.04150	1.04150		
<i>INSR</i> rs1051690	<i>C/C + T/C</i>	82	0.10485	0.01981	0.00002	7.35
	<i>T/T</i>	4	0.77050	0.43750		
<i>CYP2C19</i> rs4986894	<i>T/T + T/C</i>	83	0.11560	0.02004	0.00002	9.01
	<i>C/C</i>	2	1.04150	1.04150		
<i>APAF1</i> rs2288729	<i>G/G + G/A</i>	77	0.10300	0.01961	0.04443	4.04
	<i>A/A</i>	9	0.41620	0.22215		
<i>MPDU1</i> rs4227	<i>T/T + T/G</i>	82	0.10891	0.01996	0.00120	6.31
	<i>G/G</i>	4	0.68725	0.47182		
<i>FAM82A</i> rs1367696	<i>G/G + G/A</i>	70	0.08983	0.01896	0.04443	3.75
	<i>A/A</i>	16	0.33700	0.13009		
<i>ESR1</i> rs488133	<i>C/C + C/T</i>	80	0.10758	0.02024	0.01781	4.76
	<i>T/T</i>	6	0.51233	0.32101		
<i>CYP24A1</i> rs751087	<i>T/T + T/C</i>	81	0.11043	0.02019	0.01897	4.95
	<i>C/C</i>	5	0.54700	0.39086		

Таблица 6. Средние значения частоты (на 100 клеток) точечных фрагментов у работников СХК в зависимости от генотипов (рецессивная модель)

SNP	Генотип	<i>N</i>	<i>M</i>	<i>SE</i>	p-value	Отношение средних по генотипам
<i>GATA3</i> rs1269486	<i>G/G + G/A</i>	80	0.2878	0.04108	0.03037	3.4
	<i>A/A</i>	6	0.9820	0.41351		
<i>FLJ45983</i> rs1149901	<i>T/T + T/C</i>	80	0.2878	0.04108	0.03037	3.4
	<i>C/C</i>	6	0.9820	0.41351		

серин-треониновой киназы, принадлежащей к киназному подсемейству гликоген-синтазы. Продукт этого гена участвует в энергетическом обмене клетки, развитии нейронов и морфогенезе. Шесть SNP гена *GSK3B* могут быть сцеплены.

2. Три SNP rs889162, rs2233679 и rs2010457 гена *PINI* – peptidylprolyl cis/trans isomerase.

3. Два SNP rs2392221 и rs1041163 гена *VCAM1*.

4. SNP rs2114443 гена *PCTP*.

5. SNP rs1051690 гена *INSR* инсулинового рецептора.

6. SNP rs4227 гена *MPDU1* – mannose-P-dolichol utilization defect 1 белка эндоплазматического ретикулума, катализирует синтез mannose-P-dolichol, основного донора сахара для гликоконъюгатов и важного субстрата для синтеза гликозилфосфатидилинозитола.

7. SNP rs4986894 и rs751087 генов цитохромов P450 подсемейств C и A.

8. SNP rs488133 гена *ESR1*.

9. SNP rs2288729 гена *APAF1*, который играет важную роль в апоптозе, в присутствии цитохрома C и АТФ отвечает за активацию прокаспазы-9.

10. SNP rs1367696 гена *FAM82A*, который участвует в делении клеток, связываясь с микротрубочками.

У носителей “редкого” генотипа по любому из вышеперечисленных SNP с высоким уровнем достоверной вероятности (с поправкой FDR Бенджамини–Хокберга) частота кольцевых хромосом в 3.7–9.0 раз выше, чем у носителей гетерозиготного или “дикого” генотипа.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлены SNP, носительство “редких” генотипов по которым ассоциировано с повышенной в 3–9 раз частотой кольцевых и дицентрических хромосом. При прочих равных условиях (пол, доза облучения, возраст, национальность), повышенный уровень дицентрических и кольцевых хромосом у индивидов с “редким” генотипом свидетельствует об их генетически детерминированной ИРЧ. Следовательно, полиморфные варианты ге-

нов, проявившие достоверные ассоциации с повышенной частотой дицентриков и кольцевых хромосом, могут являться маркерами ИРЧ, перспективными для дальнейшего исследования.

С частотой точечных фрагментов ассоциированы два SNP: rs1269486 – SNP гена *GATA3*, который является транскрипционным фактором типа “цинковых пальцев” и важным регулятором развития и жизнедеятельности эндотелиальных клеток; rs1149901 – SNP локуса *FLJ45983*, функция которого неизвестна. Показатели частоты точечных фрагментов для рецессивной модели представлены в таблице 6. У носителей “редкого” генотипа по любому из этих двух SNP частота точечных фрагментов в 3.4 раза выше, чем у носителей альтернативных генотипов.

С частотой транслокаций ассоциированы 21 SNP генов *GSK3B*, *PINI*, *IGF1*, *APAF*, *OCA2* (мутации в этом гене обуславливают глазокожный альбинизм 2 типа), *TNKS*, *WRN*, *INSR*, *TNFRSF1A* (рецептор фактора некроза опухоли альфа), *ESR1*, *MASPI* (Mannan-Binding Lectin Serine Protease 1 – активирует в крови C3- и C2-элементы системы комплемента). 6 SNP относятся к гену *GSK3B*, что свидетельствует о возможной сопряженности гаплотипов этого локуса с уровнем радиационно-индуцированных транслокаций. Показатели частоты транслокаций для рецессивной модели представлены в табл. 7. У носителей “редкого” генотипа по любому SNP частота транслокаций в 6–10 раз выше, чем у носителей гетерозиготного или “дикого” генотипа.

С частотой хроматидных обменов ассоциированы пять SNP следующих генов: *GATA3* – транскрипционного фактора, *CYP24A1* – цитохрома P450 подсемейства A; *IL6R* – рецептора провоспалительного цитокина интерлейкина 6; локуса *FLJ45983*; *LRP5* – рецептора липопропротеида низкой плотности. Показатели частоты хроматидных обменов для рецессивной модели по этим SNP представлены в табл. 8. У носителей “редкого” генотипа по любому из пяти SNP частота хроматидных обменов более чем в 7 раз выше, чем у носителей гетерозиготного или “дикого” генотипов.

Таблица 7. Средние значения частоты (на 100 клеток) транслокаций у работников СХК в зависимости от генотипов (рецессивная модель)

SNP	Генотип	<i>N</i>	<i>M</i>	<i>SE</i>	p-value	Отношение средних по генотипам
<i>GSK3B</i> rs2873950	<i>A/A + A/C</i>	80	0.05346	0.01479	0.00040	9.61
	<i>C/C</i>	6	0.51367	0.32085		
<i>GSK3B</i> rs1574154	<i>T/T + T/C</i>	80	0.05346	0.01479	0.00040	9.61
	<i>C/C</i>	6	0.51367	0.32085		
<i>GSK3B</i> rs10934500	<i>A/A + A/G</i>	79	0.05414	0.01496	0.00042	9.61
	<i>G/G</i>	6	0.51367	0.32085		
<i>GSK3B</i> rs4688046	<i>T/T + T/C</i>	80	0.05346	0.01479	0.00040	9.61
	<i>C/C</i>	6	0.51367	0.32085		
<i>GSK3B</i> rs10934503	<i>T/T + T/C</i>	79	0.05414	0.01496	0.00310	8.13
	<i>C/C</i>	7	0.44029	0.28093		
<i>GSK3B</i> rs4624596	<i>T/T + T/C</i>	80	0.06179	0.01554	0.04453	6.52
	<i>C/C</i>	6	0.40267	0.34044		
<i>PIN1</i> rs889162	<i>C/C + T/C</i>	83	0.06357	0.01537	0.00045	10.92
	<i>T/T</i>	3	0.69433	0.69433		
<i>PIN1</i> rs2233679	<i>T/T + T/C</i>	80	0.05799	0.01417	0.00623	7.82
	<i>C/C</i>	6	0.45333	0.34213		
<i>PIN1</i> rs2010457	<i>A/A + A/G</i>	80	0.05799	0.01417	0.00623	7.82
	<i>G/G</i>	6	0.45333	0.34213		
<i>IGF1</i> rs5742694	<i>A/A + A/C</i>	81	0.06102	0.01537	0.00800	7.92
	<i>C/C</i>	5	0.48320	0.40512		
<i>IGF1</i> rs5742667	<i>G/G + G/A</i>	80	0.06179	0.01554	0.04453	6.52
	<i>A/A</i>	6	0.40267	0.34044		
<i>IGF1</i> rs2162679	<i>T/T + T/C</i>	82	0.06028	0.01520	0.00046	10.01
	<i>C/C</i>	4	0.60400	0.49921		
<i>APAF1</i> rs2288729	<i>G/G + G/A</i>	77	0.05160	0.01378	0.00758	7.29
	<i>A/A</i>	9	0.37622	0.22646		
<i>OCA2</i> rs1800404	<i>T/T + T/C</i>	80	0.05799	0.01417	0.00623	7.82
	<i>C/C</i>	6	0.45333	0.34213		
<i>MPDU1</i> rs4227	<i>T/T + T/G</i>	82	0.06434	0.01554	0.01174	8.43
	<i>G/G</i>	4	0.52075	0.52075		
<i>TNKS</i> rs7462102	<i>T/T + T/C</i>	80	0.06179	0.01554	0.01174	8.43
	<i>C/C</i>	4	0.52075	0.52075		
<i>WRN</i> rs1800389	<i>T/T + T/C</i>	81	0.05691	0.01500	0.00046	9.66
	<i>C/C</i>	5	0.54980	0.39047		
<i>INSR</i> rs1051690	<i>C/C + T/C</i>	82	0.06028	0.01520	0.00046	10.01
	<i>T/T</i>	4	0.60400	0.49921		
<i>TNFRSF1A</i> rs887477	<i>C/C/ + C/A</i>	73	0.04997	0.01398	0.03344	6.19
	<i>A/A</i>	12	0.30925	0.17243		
<i>ESR1</i> rs488133	<i>C/C + C/T</i>	80	0.05773	0.01520	0.00623	7.91
	<i>T/T</i>	6	0.45683	0.33182		
<i>MASPI</i> rs696405	<i>G/G + G/T</i>	77	0.05592	0.01423	0.04453	6.07
	<i>T/T</i>	9	0.33922	0.23033		

Таблица 8. Средние значения частоты (на 100 клеток) хроматидных обменов у работников СХК в зависимости от генотипов (рецессивная модель)

SNP	Генотип	<i>N</i>	<i>M</i>	<i>SE</i>	p-value	Отношение средних по генотипам
<i>CYP24A1</i> rs751087	<i>T/T + T/C</i>	81	0.10940	0.03499	0.00634	8.34
	<i>C/C</i>	5	0.91260	0.64651		
<i>IL6R</i> rs8192284	<i>A/A + A/C</i>	82	0.11580	0.03516	0.01065	8.47
	<i>C/C</i>	4	0.98100	0.82995		
<i>LRP5</i> rs312016	<i>C/C + C/T</i>	74	0.08764	0.02676	0.01190	7.19
	<i>T/T</i>	11	0.63073	0.33862		
<i>GATA3</i> rs1269486	<i>G/G + G/A</i>	80	0.10814	0.03444	0.01766	7.35
	<i>A/A</i>	6	0.79533	0.55373		
<i>FLJ45983</i> rs1149901	<i>C/C + C/T</i>	80	0.10814	0.03444	0.01766	7.35
	<i>T/T</i>	6	0.79533	0.55373		

В сводной табл. 9 представлены все SNP и уровень значимости их связи с конкретным типом ХА. Всего выявлено 40 SNP 24 генов, которые ассоциированы с частотой ХА у лиц, подвергшихся радиационному воздействию. При этом 24 SNP сопряжены более чем с одним типом ХА, что может указывать на существование общей компоненты в механизмах их индукции в организме человека, подвергнутого радиационному воздействию.

Три полиморфизма связаны с четырьмя типами ХА: rs1800389 является синонимичным полиморфизмом в 6 экзоне гена *WRN*, который регулирует сплайсинг гена *WRN* и его посттрансляционную модификацию (<http://compbio.cs.queensu.ca/F-SNP/>); rs1051690 3'UTR в miR-618-связывающем регионе гена инсулинового рецептора *INSR*, который регулирует экспрессию инсулинового рецептора и полиморфизм rs488133 гена рецептора эстрогенов *ESR1*, который регулирует транскрипцию *ESR1* (<http://compbio.cs.queensu.ca/F-SNP/>), “редкий” Т-аллель связан с низким уровнем эстрадиола, ассоциирован с липопротеидами высокой плотности и изменяет сайт связывания глюкокортикоидного рецептора с промотором *ESR1* [18].

Практически все исследованные типы ХА имеют ассоциации с полиморфными вариантами генов, как с “общими” и для других структурных перестроек хромосом, так и со “специфичными” только для них (табл. 9). Показана сопряженность частот различных ХА: хроматидных фрагментов, дицентриков, колец, транслокаций с двумя полиморфизмами генов эстрогенового и инсулинового рецепторов. Уровни дицентриков и колец, счи-

тающиеся маркерами радиационного воздействия, имеют “общие” сопряженности только с 8 из 28 SNP (29%), проявивших ассоциации с этими хромосомными нарушениями. Выявлено, что доля SNP, сопряженных как с частотами кольцевых хромосом, так и реципрокных транслокаций составляет 57% (13 из 23), что может свидетельствовать об общности механизмов индукции этих типов ХА. Хроматидные фрагменты и дицентрики проявили “общие” ассоциации с 6 из 10 полиморфизмов, а парные фрагменты и дицентрические хромосомы с 3 из 4 полиморфных вариантов. Уровни хроматидных обменов и точечных фрагментов сопряжены только с двумя “общими” полиморфизмами (табл. 9).

Еще один интересный факт обращает на себя внимание: из всех SNP, ассоциированных с частотой ХА, только один SNP гена репарации *WRN* связан с частотой aberrантных клеток, хроматидных, парных фрагментов и транслокаций. Все остальные изученные SNP генов репарации (табл. 1), часто анализируемые в мировой литературе, не показали статистически значимой ассоциации с частотой ХА. Конечно, все полученные ассоциации нуждаются в подтверждении на большой выборке, что станет предметом нашего дальнейшего исследования.

Таким образом, в результате проделанной работы можно сделать следующие выводы:

— установлено 40 полиморфизмов (rs1800389, rs1051690, rs2392221, rs1041163, rs2114443, rs6083, rs1760904, rs4986894, rs488133, rs7462102, rs11249938, rs34206126, rs33945943, rs34324628, rs5742694, rs978458, rs5742667, rs2373721,

Таблица 9. Связь (уровень значимости p) полиморфных вариантов генов с частотой aberrантных клеток и различных типов aberrаций хромосом у ра-
ботников СХК

№	SNP	Количество aberrантных клеток	Хроматидные фрагменты	Парные фрагменты	Дицентрики	Кольца	Точечные фрагменты	Транслокации	Хроматидные обмены
1	<i>WRN</i> rs1800389	0.0161	0.00541	0.04168	—	—	—	0.00046	—
2	<i>TNSR</i> rs1051690	—	0.04305	—	0.00004	0.00002	—	0.00046	—
3	<i>VCAM1</i> rs2392221	—	0.04305	—	0.02711	0.00002	—	—	—
4	<i>VCAM1</i> rs1041163	—	0.04305	—	0.02711	0.00002	—	—	—
5	<i>PCP</i> rs2114443	—	0.04305	—	—	0.00002	—	—	—
6	<i>LIPC</i> rs6083	—	0.03879	—	—	—	—	—	—
7	<i>TEP1</i> rs1760904	—	0.04634	—	—	—	—	—	—
8	<i>CYP2C19</i> rs4986894	—	0.04765	—	0.02711	0.00002	—	—	—
9	<i>ESR1</i> rs488133	—	0.01386	—	0.01149	0.01781	—	0.00623	—
10	<i>TNKS</i> rs7462102	—	0.04765	—	0.00162	—	—	0.01174	—
11	<i>TNKS</i> rs11249938	—	—	—	0.01608	—	—	—	—
12	<i>TNKS</i> rs34206126	—	—	—	0.01608	—	—	—	—
13	<i>TNKS</i> rs33945943	—	—	—	0.01608	—	—	—	—
14	<i>TNKS</i> rs34324628	—	—	—	0.01608	—	—	—	—
15	<i>IGF1</i> rs5742694	—	—	0.00398	0.00486	—	—	0.00800	—
16	<i>IGF1</i> rs978458	—	—	—	0.01608	—	—	—	—
17	<i>IGF1</i> rs5742667	—	—	0.04449	0.01090	—	—	0.04453	—
18	<i>IGF1</i> rs2373721	—	—	0.04419	0.01149	—	—	—	—
19	<i>IGF1</i> rs2162679	—	—	—	—	—	—	0.00046	—
20	<i>PIN1</i> rs889162	—	—	—	0.01608	0.00041	—	0.00045	—
21	<i>PIN1</i> rs2233679	—	—	—	0.02711	0.01781	—	0.00623	—
22	<i>PIN1</i> rs2010457	—	—	—	0.02711	0.01781	—	0.00623	—
23	<i>GSK3B</i> rs2873950	—	—	—	—	0.01781	—	0.00040	—
24	<i>GSK3B</i> rs1574154	—	—	—	—	0.01781	—	0.00040	—
25	<i>GSK3B</i> rs10934500	—	—	—	—	0.01781	—	0.00042	—
26	<i>GSK3B</i> rs468046	—	—	—	—	0.01781	—	0.00040	—
27	<i>GSK3B</i> rs10934503	—	—	—	—	0.01781	—	0.00310	—
28	<i>GSK3B</i> rs4624596	—	—	—	—	0.01781	—	0.04453	—
29	<i>APAF1</i> rs2288729	—	—	—	—	0.04443	—	0.00758	—
30	<i>MPDU1</i> rs4227	—	—	—	—	0.00120	—	0.01174	—
31	<i>FAM82A</i> rs1367696	—	—	—	—	0.04443	—	—	—
32	<i>CYP24A1</i> rs751087	—	—	—	—	0.01897	—	—	—
33	<i>GATA3</i> rs1269486	—	—	—	—	—	0.03037	—	0.01766
34	<i>FLI4</i> rs5983 rs1149901	—	—	—	—	—	0.03037	—	0.01766
35	<i>OC42</i> rs1800404	—	—	—	—	—	—	—	—
36	<i>TNFRSF14</i> rs887477	—	—	—	—	—	—	0.00623	—
37	<i>MASP1</i> rs696405	—	—	—	—	—	—	0.03344	—
38	<i>CYP24A1</i> rs751087	—	—	—	—	—	—	0.04453	—
39	<i>IL6R</i> rs8192284	—	—	—	—	—	—	—	0.00634
40	<i>LRP5</i> rs312016	—	—	—	—	—	—	—	0.01065
									0.01190

rs2162679, rs889162, rs2233679, rs2010457, rs2873950, rs1574154, rs10934500, rs4688046, rs10934503, rs4624596, rs2288729, rs4227, rs1367696, rs751087, rs1269486, rs1149901, rs1800404, rs887477, rs696405, rs751087, rs8192284, rs312016), ассоциированных с частотой различных типов ХА, из них 24 SNP (подчеркнуты) сопряжены более чем с одним типом aberrаций хромосом;

— во всех случаях носительство “редкого” генотипа по любому из 40 SNP сопряжено с высокой частотой различных типов ХА по сравнению с носительством гетерозиготного или “дикого” генотипа;

— три полиморфизма связаны с четырьмя типами ХА: rs1800389 гена *WRN*, rs1051690 гена инсулинового рецептора *INSR* и rs488133 гена рецептора эстрогенов *ESR1*. При этом уровни следующих ХА: хроматидных фрагментов, дицентриков, колец и транслокаций имеют общие связи с более чем одним полиморфизмом.

В целом, мы предполагаем, что проведенное исследование может явиться основой для разработки генетических тестов, позволяющих предиктивно идентифицировать высокую ИРЧ, что может оказаться полезным в процедурах отбора персонала предприятий атомной отрасли. На выявленные нами SNP и представляющие их гены, ассоциированные с высокой частотой ХА, следует обратить пристальное внимание в плане проведения фундаментальных исследований их роли в реализации генотоксического действия ИИ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Фрейдин М.Б., Васильева Е.О., Скобельская Е.В. и др. Частота и спектр хромосомных aberrаций у работников Сибирского химического комбината // Бюл. сиб. мед. 2005. № 2. С. 75–81.
2. Тахауов Р.М., Карпов А.Б., Гончарова Н.В. и др. Основные подходы к оценке влияния радиационного фактора на организм человека // Бюл. сиб. мед. 2005. № 2. С. 88–98.
3. Bonassi S., Hagmar L., Strömberg U. et al. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer independently of exposure to carcinogens. European study group on cytogenetic biomarkers and health (ESCH) // Cancer Res. 2000. V. 60. P. 1619–1625.
4. Bonassi S., Znaor A., Norppa H., Hagmar L. Chromosomal aberrations and risk of cancer in humans: an epidemiological perspective // Cytogenet. Genome Res. 2004. V. 104. P. 376–382.
5. Bonassi S., Znaor A., Ceppi M. et al. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans // Carcinogenesis. 2007. V. 28. P. 625–631.
6. Hagmar L., Stromberg U., Bonassi S. et al. Impact of types of lymphocyte chromosomal aberrations on human cancer risk: results from Nordic and Italian cohorts // Cancer Res. 2004. V. 64. P. 2258–2263.
7. Iarmarcovai G., Ceppi M., Botta A. et al. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes of cancer patients: a meta-analysis // Mutat. Res. 2008. V. 659. № 3. P. 274–283.
8. Bonassi S., Norppa H., Ceppi M. et al. Chromosomal aberration frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a pooled cohort study of 22 358 subjects in 11 countries // Carcinogenesis. 2008. V. 29. № 6. P. 1178–1183.
9. Литвяков Н.В., Тахауов Р.М., Васильева Е.О. и др. Возможности совершенствования системы охраны здоровья персонала предприятий атомной индустрии // Здравоохран. РФ. 2010. № 6. С. 19–23.
10. Iarmarcovai G., Bonassi S., Botta A. et al. Genetic polymorphisms and micronucleus formation: a review of the literature // Mutat. Res. 2008. V. 658, № 3. P. 215–233.
11. Rossi A.M., Hansteen I.-L., Sjkjelbred C.F. et al. Association between frequency of chromosomal aberrations and cancer risk is not influenced by genetic polymorphisms in GSTM1 and GSTT1 // Environ. Health Perspect. 2009. V. 117. № 2. P. 203–208.
12. Catalán J., Heilimo I., Jörventaus H. et al. Chromosomal aberrations in railroad transit workers: effect of genetic polymorphisms // Environ. Molec. Mutag. 2009. V. 50. № 4. P. 304–316.
13. Norppa H. Cytogenetic biomarkers and genetic polymorphisms // Toxicol. Lett. Rev. 2004. V. 149. № 1–3. P. 309–334.
14. Сальникова Л.Е. Генетическая детерминация эффектов ионизирующих излучений: цитогенетические и эпидемиологические показатели: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2011. 47 с.
15. Сальникова Л.Е., Чумаченко А.Г., Веснина И.Н. и др. Полиморфизм генов репарации и цитогенетические эффекты облучения // Радиационная биология. Радиоэкология. 2010. Т. 50. № 6. С. 656–662.
16. Sevan'kaev A.V., Lloyd D.C., Edwards A.A., Moiseenko V.V. High exposures to radiation received by workers inside the Chernobyl Sarcophagus // Radiat. Prot. Dosim. 1995. V. 59. № 2. P. 85–91.
17. González J.R., Armengol L., Solé X. et al. SNPassoc: an R package to perform whole genome association studies // Bioinformatics. 2007. V. 23. P. 644–645.
18. Stolk L. Genetics of Estrogen-Related Traits; From Candidate Genes to GWAS. Rotterdam: Optima Grafische Communicatie, 2009. 186 p.

Поступила в редакцию

20.07.2012

The Estimate of Association Between Gene Polymorphisms and the Frequency and Spectrum of Cytogenetic Abnormalities in the Cohort of Siberian Group of Chemical Enterprises Employees Exposed to Professional Irradiation (Microarray Studies)

N. V. Litviakov^{1,2}, O. O. Goncharik¹, M. B. Freidin³, A. E. Sazonov¹, E. O. Vasilyeva¹,
S. A. Mezheritsky¹, M. V. Halyuzova¹, A. A. Bondaruk¹, E. N. Albach¹, A. B. Karpov¹, R. M. Takhauov¹

¹ *Seversk Biophysical Research Center of FMBA of Russia, Seversk, 636013 Russia;
e-mail: nvlitv72@yandex.ru, mail@sbrc.ru, conf@sbrc.ru*

² *Cancer Research Institute, Siberian Branch of the Russian Academie of Medical Sciences, Tomsk*

³ *Research Institute of Medical Genetics, Siberian Branch of the Russian Academie of Medical Sciences, Tomsk*

The results from the research into the association between polymorphisms of genes—candidates for individual radiosensitivity and the frequency and spectrum of cytogenetic abnormalities are analyzed. The study was conducted among Siberian Group of Chemical Enterprises healthy employees exposed to professional irradiation in a dose range of 100–300 mSv. Genotyping of DNA samples from 96 employees was carried out by oligonucleotide microarray: “Cancer_SNP_Panel GT-17-211” (“Illumina”) containing 1, 421 SNP-markers (Single Nucleotide Polymorphisms) of 406 genes. The standard cytogenetic analysis was performed in the entire examined group. We have also analyzed the association of these SNP with the frequencies of aberrant cells and following chromosomal aberrations: single chromatid fragments, chromatid exchanges, paired fragments, dicentric, ring and frequencies, translocations. We have found that 40 SNP (rs1800389, rs1051690, rs2392221, rs1041163, rs2114443, rs6083, rs1760904, rs4986894, rs488133, rs7462102, rs11249938, rs34206126, rs33945943, rs34324628, rs5742694, rs978458, rs5742667, rs2373721, rs2162679, rs889162, rs2233679, rs2010457, rs2873950, rs1574154, rs10934500, rs4688046, rs10934503, rs4624596, rs2288729, rs4227, rs1367696, rs751087, rs1269486, rs1149901, rs1800404, rs887477, rs696405, rs751087, rs8192284, rs312016) are associated with the frequency of different types of chromosomal abnormalities (p-value with FDR of Benjamini-Hochberg – equal less than 0.05). 24 SNP (underlined) are associated with more than one type of chromosome abnormalities. In the future, we are going to confirm the results in further studies on the cohort of more than 600 persons.