= ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА =

УДК 575.167:575.224.232:575.224.22:575.224.42:575.224.46

# СОМАТИЧЕСКИЙ МУТАГЕНЕЗ В ЛИМФОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПОВ ПО ЛОКУСАМ ДЕТОКСИКАЦИИ И ОКСИДАТИВНОГО ОТВЕТА

© 2010 г. Л. Е. Сальникова, А. Г. Чумаченко, Э. А. Акаева, Г. И. Кузнецова, И. Н. Веснина, Н. Ш. Лаптева, С. К. Абилев, А. В. Рубанович

Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова, Москва 119991; e-mail: rubanovich@vigg.ru

Поступила в редакцию 21.09.2009 г.

Изучены взаимосвязи между полиморфизмом семи генов детоксикации и трех генов оксидативного ответа и частотой хромосомных аберраций в лимфоцитах периферической крови человека. Данные по генотипированию сопоставлялись с оценками частот спонтанных и  $\gamma$ -индуцированных аберраций хромосом (1 Гр *in vitro*) для группы здоровых доноров (97 мужчин до 25 лет) при учете 500–1000 метафазных клеток на человека. Спонтанный уровень аберраций хромосомного типа был понижен для гомозигот по делеции локуса *GSTM1*, в особенности для двойных гомозигот по делециям генов *GSTM1-GSTT1*. Частота  $\gamma$ -индуцированных аберраций хромосом оказалась сниженной для гомозигот G/G по минорному аллелю малоизученного сайта *CYP1A1* T606G: 0.094 ± 0.006 против 0.112 ± 0.002 для носителей аллеля T (p = 0.004). Проведен анализ сцепления сайта T606G с хорошо изученными и функционально значимыми сайтами гена *CYP1A1* (A4889G, T3801C).

Ассоциативный анализ частот встречаемости спонтанных и радиационно индуцированных соматических мутаций в связи с полиморфизмом ДНК обычно проводится в рамках поиска генетических маркеров индивидуальной радиочувствительности человека. Актуальность этих исследований связана с нуждами радиотерапии и профессионального отбора персонала в атомной промышленности и космонавтике. На существование генетической компоненты в популяционной изменчивости уровня соматического мутагенеза указывает повышенная радиочувствительность клеток при некоторых тяжелых генетических заболеваниях (синдром Дауна, атаксия-телеангиэктазия). Однако подавляющая часть изменчивости радиочувствительности, размах которой превышает 200%, существует в норме и не может быть отнесена за счет редких мутаций.

На сегодняшний день поиск генетических маркеров индивидуальной радиочувствительности среди высокополиморфных генов не дал сколько-нибудь определенных результатов. В исследованиях, использующих цитогенетические тесты, получены все возможные варианты ответа на облучение в зависимости от генотипов по локусам генов детоксикации ксенобиотиков и репарации. Например, существенно пониженная частота хромосомных аберраций при облучении крови добровольцев *in vitro* у носителей делеции *GSTM1* была отмечена в работе [1], но повышенная — в исследовании [2]. После радиотерапии радиоактивным йодом рост числа микроядер не зависел от генотипов по локусам генов *GSTM1*, GSTT1, GSTP1, но у носителей минорного варианта NAT2 (857A), сопряженного с фенотипом медленного ацетилирования, частота микроядер была достоверно ниже, чем у пациентов, гомозиготных по аллелю дикого типа 857G [3]. У работников чешских АЭС в Темелине и Дукованах со стажем работы 2 года и 20 лет соответственно не было выявлено взаимосвязи частот стабильных и нестабильных хромосомных аберраций с полиморфизмом генов GSTM1 и GSTT1 [4]. Увеличенный спонтанный фон микроядер коррелировал с нормальным генотипом по GSTM1 в работе [5], при этом полиморфизм генов репарации XRCC1, XRCC3 не влиял на исследуемые показатели. Минорные варианты генов репарации XRCC1 (399Gln) и XRCC3 (241Met) были ассоциированы с увеличением числа индуцированных Х-лучами аберраций хромосом в работе [6], а в исследовании [7] показана разнонаправленность влияния полиморфизма XRCC3 241 Met на спонтанную частоту хромосомных аберраций в зависимости от возраста и табакокурения.

Таким образом, анализ литературных данных показывает, что выявляемые эффекты зависимости радиочувствительности от полиморфизма генов-кандидатов часто не подтверждаются в других работах. На наш взгляд, это в значительной степени связано с низкой статистической обусловленностью соответствующих ассоциативных исследований цитогенетических эффектов облучения (анализ не более 100 метафаз на человека для выборки 20–60 доноров).

Целью данной работы является проведение ассоциативного исследования предрасположенности к соматической мутабильности лимфоцитов человека по тестам спонтанных и индуцированных облучением in vitro радиационно-специфических аберраций хромосом. Отличительной особенностью настоящего исследования является оценка частот аберраций хромосомного типа при просмотре большого числа метафазных клеток, а также значительное (для исследований такого рода) число доноров. Поиск генетических маркеров радиационного риска осуществлялся среди генов детоксикации ксенобиотиков (CYP1A1, CYP2D6, GSTM1, GSTT1, GSTP1, COMT, NAT2), генов оксидативного ответа (SOD2, CAT, GCLC), а также гена-триггера – *MTHFR*. Все изученные локусы характеризовались функциональным полиморфизмом, сопряженным с изменением активности и/или количества соответствующего фермента, а также ассоциациями с различными биологическими эффектами и болезнями.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения корреляций частот спонтанных и индуцированных аберраций хромосом с полиморфизмом ДНК взяты образцы периферической крови у 115 молодых (20–25 лет) здоровых мужчин – курсантов Военно-технического университета (г. Балашиха). Исследования одобрены Этическими комиссиями ИОГен РАН и Военно-технического университета. Цитогенетический анализ удалось провести для 97 доноров. Каждый образец цельной крови для цитогенетического обследования разливали в две пробирки: первая за 1 ч до культивирования подвергалась γ-облучению в дозе 1 Гр (Со<sup>60</sup>, мощность дозы 1.37 Гр/мин), вторую использовали для анализа спонтанных аберраций хромосом.

Приготовление препаратов с метафазными клетками для учета аберраций хромосом осуществляли по стандартной методике [8]. Анализировали от 500 (для индуцированных облучением) до 1000 (в случае спонтанных аберраций) метафаз первого митоза на человека. Проводили дифференциальный учет аберраций хромосомного (дицентрические и кольцевые хромосомы, ацентрики, атипичные моноцентрики) и хроматидного (одиночные и изохроматидные фрагменты и обмены) типов. Далее под частотой аберраций подразумевается число аберраций на клетку.

Выделение ДНК подробно описано ранее [8, 9]. Генотипирование осуществляли с использованием аллель-специфической тетрапраймерной ПЦР. Метод позволяет в одной пробирке амплифицировать фрагменты ДНК, соответствующие альтернативным аллелям. Продукты амплификации разделяются электрофорезом на агарозном геле без использования флуоресцентных меток.

ГЕНЕТИКА том 46 № 12 2010

Список изученных локусов приведен в табл. 1. В случае делеционно-инсерционного полиморфизма (*GSTM1*, *GSTT1*) выявлялись два генотипа: "нулевой" – гомозигота по делеции (D/D) и "положительный", несущий функциональный аллель в гомо- или гетерозиготном состоянии (I/\*). Здесь и далее звездочкой обозначен произвольный аллель.

Статистический анализ проводили стандартными методами с помощью пакета WinSTAT 2003.1, интегрированного в Excel. Все оценки групповых частот аберраций получены в результате усреднения индивидуальных частот для лиц с данным генотипом. Соответствующие ошибки отражали внутригрупповую изменчивость частот аберраций (т.е. не вычислялись через суммарное число проанализированных клеток для группы с данным генотипом). Поскольку частота аберраций рассматривалась как индивидуальный количественный признак, для межгрупповых сравнений применен непараметрический тест Манна– Уитни.

Оценки частот гаплотипов получены с помощью компьютерной программы HapStat, использующей EM-алгоритм. Адрес свободного доступа: http://www.bios.unc.edu/~lin/hapstat.

Для наглядного представления различий в распределениях частот аберраций использовали гистограммы. Интервалы на гистограммах подбирались так, чтобы: а) каждый интервал был представлен существенной частью выборки; б) подчеркивался характер распределений — пуассоновский для спонтанных аберраций и близкий к нормальному для индуцированных; в) в обоих случаях число интервалов было одинаково.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Частоты аберраций хромосом для носителей различных однолокусных генотипов приведены в табл. 1. Изменчивость цитогенетических показателей для выборки в целом оказалась достаточно высокой, чтобы обеспечить возможность поиска генотипических ассоциаций. Коэффициенты изменчивости составляли 75% для спонтанных и 22% для индуцированных аберраций. При этом диапазоны значений (по отношению к среднему) были равны 540 и 123% соответственно.

# Зависимость частот спонтанных аберраций хромосом от изученных генотипов

Данные табл. 1 демонстрируют, что изученная генетическая изменчивость в основном не оказывает существенного влияния на спонтанный уровень хромосомных аберраций. Неочевидное исключение составлял локус *GSTM1*, для генотипов которого распределения частот аберраций хромосомного типа сильно различались (рис. 1,*в*). В

	OTUTI	(	Спонтанные абер	ррации (×10 <sup>-2</sup> )	Аберрац	ции, индуцировани	ные 1 Гр <i>in vitro</i> ( $\times 10^{-2}$ )
локусы и тен	югипы	Ν	все аберрации	хромосомного типа	Ν	все аберрации хромосомного тиг	
CYP1A1	T/T	40	$0.94\pm0.09$	$0.26\pm0.04$	42	$12.1\pm0.4$	$11.0 \pm 0.3$
T606G rs2606345	T/G	41	$0.87\pm0.12$	$0.25\pm0.05$	43	$12.9\pm0.4$	$11.4 \pm 0.3$
	G/G	12	$0.68\pm0.10$	$0.15\pm0.06$	12	$10.4\pm0.8$	$9.4\pm0.6$
<i>CYP1A1</i> T3801C rs4646903	T/T	81	$0.90\pm0.08$	$0.24\pm0.03$	84	$12.4\pm0.3$	$11.1 \pm 0.2$
	T/C	11	$0.74\pm0.15$	$0.23\pm0.07$	11	$12.0\pm0.6$	$10.7\pm0.5$
	C/C	1	0.47	0.35	2	$9.8\pm3.4$	$8.9\pm2.9$
<i>CYP1A1</i> A4889G rs1048943	A/A	88	$0.89\pm0.07$	$0.24\pm0.03$	91	$12.3\pm0.3$	$11.0\pm0.2$
	A/G	5	$0.62\pm0.10$	$0.29\pm0.10$	6	$11.7 \pm 1.1$	$10.3\pm0.9$
<i>CYP2D6</i> A1934G rs3892097	G/A	28	$0.98\pm0.11$	$0.27\pm0.05$	28	$12.4\pm0.5$	$11.3 \pm 0.4$
	G/G	65	$0.83\pm0.08$	$0.23\pm0.04$	65	$12.4\pm0.3$	$10.8 \pm 0.3$
GSTM1	D/D	35	$0.80\pm0.09$	$0.20 \pm 0.05$	39	$12.3\pm0.4$	$11.2\pm0.4$
031/01	I/*	58	$0.92\pm0.10$	$0.27\pm0.03$	58	$12.3\pm0.4$	$10.9\pm0.3$
CSTT1	D/D	30	$0.97\pm0.16$	$0.21\pm0.05$	30	$12.2\pm0.5$	$10.9\pm0.4$
03111	I/*	62	$0.84\pm0.07$	$0.26\pm0.04$	67	$12.3\pm0.3$	$11.0\pm0.3$
<i>GSTP1</i> A313G rs1695	A/A	47	$0.83\pm0.08$	$0.24\pm0.04$	48	$12.0\pm0.4$	$10.8\pm0.4$
	A/G	37	$0.87\pm0.08$	$0.26\pm0.05$	40	$12.7\pm0.4$	$11.4 \pm 0.3$
	G/G	9	$1.13\pm0.49$	$0.17\pm0.11$	9	$12.3\pm1.2$	$10.5\pm0.5$
COMT	A/A	23	$0.95\pm0.12$	$0.28\pm0.07$	26	$12.9\pm0.5$	$11.5\pm0.5$
G1947A rs4680	G/A	49	$0.80\pm0.07$	$0.24\pm0.04$	50	$12.1\pm0.3$	$10.9\pm0.3$
	G/G	21	$0.97\pm0.22$	$0.21\pm0.06$	21	$12.1\pm0.7$	$10.6\pm0.5$
NAT2	A/A	5	$0.92\pm0.22$	$0.37\pm0.16$	5	$12.6\pm1.2$	$11.6 \pm 1.1$
G590A rs1799930	G/A	36	$0.94\pm0.13$	$0.26\pm0.05$	37	$12.9\pm0.5$	$11.4 \pm 0.4$
	G/G	52	$0.83\pm0.08$	$0.22\pm0.04$	55	$11.8\pm0.3$	$10.7\pm0.3$
SOD2	C/C	27	$0.82\pm0.10$	$0.22\pm0.05$	28	$11.7\pm0.4$	$10.7\pm0.4$
C47T rs4880	C/T	43	$0.93\pm0.12$	$0.24\pm0.05$	45	$12.7\pm0.4$	$11.3 \pm 0.4$
	T/T	23	$0.84\pm0.10$	$0.26\pm0.05$	24	$12.1\pm0.5$	$10.9\pm0.5$
<i>CAT</i> T21A rs7943316	A/A	12	$0.88\pm0.14$	$0.15\pm0.08$	12	$12.2\pm0.6$	$10.9\pm0.5$
	T/A	44	$0.84\pm0.09$	$0.26\pm0.09$	46	$11.8\pm0.4$	$10.6 \pm 0.3$
	T/T	37	$0.92\pm0.13$	$0.25\pm0.05$	39	$12.9\pm0.5$	$11.5\pm0.4$
GCLC C129T rs17883901	C/C	78	$0.90\pm0.08$	$0.25 \pm 0.03$	81	$12.5\pm0.3$	$11.1 \pm 0.2$
	C/T	15	$0.74\pm0.10$	$0.21\pm0.06$	16	$11.4\pm0.7$	$10.3\pm0.6$
MTHFR	C/C	43	$0.80\pm0.06$	$0.22\pm0.04$	46	$11.9\pm0.4$	$10.8 \pm 0.3$
C677T rs1801133	C/T	41	$1.02\pm0.13$	$0.29\pm0.05$	42	$12.8\pm0.4$	$11.4\pm0.3$
	T/T	9	$0.60 \pm 0.25$	$0.15\pm0.07$	9	$11.8 \pm 1.0$	$10.4 \pm 0.9$

Таблица 1. Частота спонтанных и индуцированных хромосомных аберраций в зависимости от генотипов по локусам детоксикации и оксидативного ответа

Примечание. Серым фоном выделены случаи значимых межгенотипических различий.

частности, у 57% индивидуумов, гомозиготных по делеции *GSTM1*, не обнаружено клеток с аберрациями хромосомного типа. Для "положительных" генотипов I/\* соответствующий показатель был равен 27% (OR = 3.1; p = 0.0095 по точному критерию Фишера). Между тем различия средних частот аберраций хромосомного типа оказались на грани значимости:  $0.0020 \pm 0.0005$  для гомози-

гот D/D против  $0.0027 \pm 0.0003$  для I/\* (p = 0.049 по тесту Манна-Уитни).

Существенно пониженную частоту спонтанных аберраций хромосомного типа имели доноры, являющиеся двойными гомозиготами по делециям локусов *GSTM1-GSTT1* (11 человек). В этой группе лишь у трех доноров было обнаружено по одной аберрации и восемь не имели аберра-



**Рис. 1.** Распределения частот спонтанных и γ-индуцированных аберраций хромосомного типа для всей выборки (*a*, *б*) и для различных генотипов по локусам *GSTM1* (*в*, *г*) и *CYP1A1* Т606G (*д*, *е*). На гистограммах (*a*), (*b*), (*d*) крайняя левая группа представлена исключительно донорами, у которых не обнаружено спонтанных аберраций хромосомного типа.

ций хромосомного типа. Различия средних составляют  $0.0006 \pm 0.0003$  у двойных гомозигот по делециям против  $0.0027 \pm 0.0003$  для остальных генотипов (p = 0.018 по тесту Манна–Уитни).

Незначимую тенденцию к повышенной частоте аберраций хромосомного типа обнаружили носители мажорного аллеля сайта T606G гена *СҮР1А1* (рис. 1, $\partial$ ).

# Зависимость частот аберраций, индуцированных *ү-облучением in vitro*

Частота аберраций, индуцированных дозой  $\gamma$ -облучения 1 Гр *in vitro*, не зависела от генотипа по локусу *GSTM1* (рис. 1,*г*), но оказалась сниженной для гомозгот G/G по минорному аллелю гена

7 ГЕНЕТИКА том 46 № 12 2010

*СҮР1А1* Т606G: 0.094 ± 0.006 против 0.112 ± 0.005 для носителей мажорного аллеля A (p = 0.004 по тесту Манна—Уитни). Впечатляют различия распределений частот аберраций хромосомного типа для этих двух генотипов (рис. 1,*e*). При этом зависимости средних частот от генотипа по *СҮР1А1* Т606G для спонтанных и индуцированных аберраций имели сходный характер (рис. 2).

Достоверно увеличенный уровень индуцированных аберраций хромосомного типа выявлен для гомозигот T/T по мажорному аллелю локуса *CAT* T21A: 0.115  $\pm$  0.004 против 0.106  $\pm$  0.003 для носителей минорного аллеля A (p = 0.0269 по тесту Манна–Уитни). Остальные локусы не обнаружили значимых ассоциаций с частотой аберраций хромосом при данном объеме выборок.



**Рис. 2.** Средние значения частот спонтанных и γ-индуцированных аберраций хромосомного типа для различных генотипов в сайте *CYP1A1* T606G.

#### Гаплотипирование гена СҮР1А1

Сайт *СҮР1А1* Т606G, обнаруживший ассоциацию с радиочувствительностью хромосом при облучении *in vitro*, не относится к числу хорошо изученных и редко фигурирует в ассоциативных исследованиях полиморфизма ДНК. В связи с этим проведен анализ сцепления этого полиморфизма с хорошо изученными и функционально значимыми сайтами гена *СҮР1А1* (A4889G, T3801C). Обнаружено, что все три изученных сайта являются сцепленными. Соответствующие оценки частот гаплотипов и неравновесия по сцеплению представлены в табл. 2.

Таблица 2. Матрица неравновесий по сцеплению и гаплотипы для трех полиморфных сайтов гена *СҮР1А1* 

CYP1A1	A4889G	T3801C	T606G		
A4889G	-	0.998	0.997		
T3801C	0.0000		0.908		
T606G	0.0004	0.0000			
Частота	Гаплотипы				
0.648	А	Т	Т		
0.275	А	Т	G		
0.046	А	С	G		
0.024	G	С	G		
0.007	G	С	Т		

Примечание. Над диагональю *D*', под диагональю – значения *p*. Серым фоном отмечены минорные аллельные варианты.

# ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе представлены результаты исследования зависимости радиационного ответа человека по тесту хромосомных аберраций in vitro от полиморфизма по генам детоксикации ксенобиотиков и оксидативной защиты. В исследование были включены четыре локуса глутатионового спектра: три гена второй фазы детоксикации ксенобиотиков (GSTM1, GSTT1, GSTP1) и гамма-глутамилцистеинсинтетаза (GCLC) - каталитическая субъединица, относящаяся к генам оксидативного ответа. Ранее мы сообщали, что среди локусов глутатионового пула только по GSTM1 удалось зарегистрировать ассоциацию пониженного выхода спонтанных хромосомных аберраций с делеционным генотипом [8]. В настоящем исследовании эти данные подтверждены при увеличении выборки и числа просмотренных клеток (1000 метафазных клеток на человека). Возможные объяснения этого неожиданного, на первый взгляд, наблюдения (протективная роль делеций GSTM1) приведены нами в [10].

Минорный вариант 129Т сайта *GCLC* C129T обусловливает пониженную активность промотора и, как результат, более низкий уровень глутатиона в плазме крови у гомозигот Т/Т [11]. В экспериментах *in vitro* показано, что радиационно-индуцированный апоптоз существенно снижается в клетках, трансфецированных вектором, экспрессирующим глутаматцистеинлигазу [12]. При этом концентрация глутатиона в клетках возрастала. Тем не менее в наших исследованиях частоты аберраций на спонтанном и индуцированном уровне для носителей разных генотипов локуса *GCLC* значимо не различались (табл. 1).

Кроме GCLC еще два локуса оксидативного ответа были апробированы в качестве маркеров радиационных повреждений в настоящем исследовании: SOD2 и CAT. Mn<sup>2+</sup>-зависимая супероксиддисмутаза, митохондриальная SOD2, считается ключевым ферментом защиты от постоянно образующихся высокотоксичных кислородных радикалов. Сайт С47Т наиболее часто упоминается в связи с изменением активности фермента SOD2. В среднем у носителей генотипа T/T(Val/Val) активность фермента выше на 33% по сравнению с носителями варианта С/С [13]. Несмотря на то, что защитная функция фермента при ионизирующем облучении многократно подтверждена [14, 15], в ассоциативных исследованиях зависимости радиационно-индуцированных осложнений при радиотерапии от функционального полиморфизма С47Т не было получено достоверных эффектов [16]. Уровень спонтанных и индуцированных облучением хромосомных аберраций в лимфоцитах человека также не зависел от данного полиморфизма (табл. 1).

ГЕНЕТИКА том 46 № 12 2010

Локус *CAT* содержит несколько известных полиморфных сайтов, ассоциированных с изменением активности фермента. Сайт T21A находится в области промотора гена рядом со стартовой позицией, с чем связывают изменение активности фермента у минорного варианта [17]. Нами получены данные о протективном влиянии варианта 21A *CAT* на радиационно-индуцированный уровень хромосомных аберраций, что указывает на перспективность дальнейшего анализа этого маркера.

Алллельные варианты генов первой стадии детоксикации ксенобиотиков, связанные с ростом активности соответствующих ферментов, рассматриваются как неблагоприятный фактор, ассоциированный с мутагенными и канцерогенными эффектами [18]. Известно, что замена изолейцина на валин в 462-й позиции у носителей варианта 4889G гена СУР1А1 сопровождается значительным повышением активности фермента [19]. Низкая частота встречаемости аллеля G сайта А4889G (не более 5% для большинства популяций) затрудняет использование этого полиморфизма в ассоциативных исследованиях. В этой связи нами были изучены два сцепленных с ним сайта - ТЗ801С и Т606G, для которых частота минорных аллелей значительно выше. Отметим, что в глобальном проекте HapMap (http://www.hapmap.org/) данные по сайтам T3801C и T606G отсутствуют, однако в работе [20] сообщалось о сцеплении сайтов А4889G и Т3801С.

Полиморфизм Т3801С не связан с изменением последовательности аминокислот, однако характеризуется увеличенной индуцибельностью фермента у обладателей генотипа Т/С и С/С [21]. Сайт Т606G находится в первом интроне локуса СҮР1А1 и характеризуется значительно более высоким уровнем полиморфизма по сравнению с традиционным для ассоциативных исследований сайтом А4889G. Для полиморфизма Т606G были получены достоверные эффекты в ассоциативных исследованиях по раку легких [22], в работах по гормонально-зависимым опухолям [23], а также при изучении уровня метаболитов половых гормонов, которые являются субстратом для СҮР1А1 [24]. В литературе обсуждается вопрос о разнонаправленном влиянии аллельных вариантов 606G и 606Т на регистрируемые эффекты в экологически неблагоприятных условиях (промышленное загрязнение воздуха, курение) и при отсутствии таковых. В первом случае протективным вариантом является 606Т, во втором – 606G [22, 25]. В отношении экспрессии гена наблюдается аналогичная закономерность: у курильщиков экспрессия СҮР1А1 повышена при 606G, а у некурящих - при носительстве мажорного аллеля 606T [22].

В настоящей работе увеличение частоты индуцированных хромосомных аберраций ассоцииро-

ГЕНЕТИКА том 46 № 12 2010

вано с мажорным вариантом 606Т, что, исходя из литературных данных, можно объяснить отсутствием специфической индукции CYP1A1 при облучении *in vitro* крови здоровых добровольцев. В этом случае большей индуцибельностью, сопряженной с повышенным образованием промежуточных электрофильных метаболитов, обладает вариант 606Т.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ №08-04-00790.

# СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Marcon F., Andreoli C., Rossi S. Assessment of individual sensitivity to ionizing radiation and DNA repair efficiency in a healthy population // Mutat. Res. 2003. V. 541. № 1–2. P. 1–8.
- 2. *Karahali B., Sardas S., Kocabas N.A. et al.* Chromosomal aberrations under basal conditions and after treatment with X-ray in human lymphocytes as related to the *GSTM1* genotype // Mutat. Res. 2002. V. 515. № 1–2. P. 135–140.
- Hernández A., Xamena N., Gutiérrez S. et al. Basal and induced micronucleus frequencies in human lymphocytes with different GST and NAT2 genetic backgrounds // Mutat. Res. 2006. V. 606. № 1–2. P. 12–20.
- 4. *Sram R. J., Rössner P., Rubes J. et al.* Possible genetic damage in the Czech nuclear power plant workers // Mutat. Res. Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. 2006. V. 593. № 1–2. P. 50–63.
- Iarmarcovai G., Sari-Minodier I., Orsiere T. et al. A combined analysis of XRCC1, XRCC3, GSTM1 and GSTT1polymorphisms and centromere content of micronuclei in welders // Mutagenesis. 2006. V. 21. № 2. P. 159–165.
- 6. Au W.W., Salama A.S., Sierra-Torres C.H. Functional characterization of polymorphisms in DNA repair genes using cytogenetic challenge assays // Environ. Health. Perspect. 2003. V. 111. № 15. P. 1843–1850.
- 7. *Skjelbred C.F., Svendsen M., Haugan V. et al.* Influence of DNA repair gene polymorphisms of *hOGG1, XRCC1, XRCC3, ERCC2* and the folate metabolism gene *MTHFR* on chromosomal aberration frequencies // Mutat. Res. 2006. V. 602. № 1–2. P. 151–162.
- 8. Сальникова Л.Е., Акаева Э.А., Елисова Т.В. и др. Влияние полиморфизма генов детоксикации ксенобиотиков на частоты спонтанных и индуцированных аберраций хромосом в лимфоцитах человека // Радиацион. биология. Радиоэкология. 2009. Т. 49. № 5. С. 543–551.
- 9. Сальникова Л.Е., Фомин Д.К., Елисова Т.В. и др. Зависимость цитогенетических и эпидемиологических показателей от генотипов у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС // Радиацион. биология. Радиоэкология. 2008. Т. 48. № 3. С. 303–312.
- 10. Сальникова Л.Е., Иванова Т.И., Кондрашова Т.В. и др. GSTM1: иметь или не иметь? // Технологии живых систем. 2009. № 2. С. 31–38.
- 11. Cortes-Wanstreet M.M., Giedzinski E., Limoli C.L., Luderer U. Overexpression of glutamate-cysteine ligase protects human COV434 granulosa tumour cells

against oxidative and g-radiation-induced cell death // Mutagenesis. 2009. V. 24.  $N_{0}$  1. P. 1–14.

- 12. Engstrom K.S., Stromberg U., Lundh T. et al. genetic variation in glutathione-related genes and body burden of ethylmercury // Environmental Health. Perspectives. 2008. V. 116. № 6. P. 734–739.
- Shimoda-Matsubayashi S., Matsumine H., Kobayashi T. et al. Structural dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in human manganese superoxide dismutase gene // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1996. V. 226. № 2. P. 561–565.
- Greenberger J.S., Epperly M.W., Gretton J. et al. Radioprotective gene therapy // Curr. Gene Ther. 2003. V. 3. № 3. P. 183–195.
- Epperly M.W., Sikora C.A., DeFilippi S.J. et al. Manganese Superoxide dismutase (SOD2) inhibits radiationinduced apoptosis by stabilization of the mitochondrial membrane // Radiat. Res. 2002. V. 157. № 5. P. 568– 577.
- Green H., Ross G., Peacock J. et al. Variation in the manganese superoxide dismutase gene (SOD2) is not a major cause of radiotherapy complications in breast cancer patients // Radiother. Oncol. 2002. V. 63. № 2. P. 213– 216.
- 17. Young R.P., Hopkins R., Black P.N. et al. Functional variants of antioxidant genes in smokers with COPD and in those with normal lung function // Thorax. 2006. V. 61. № 5. P. 394–399.
- 18. 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.

- Masson L.F., Sharp L., Cotton S.C., Little J. Cytochrome P-450 1A1 gene polymorphisms and risk of breast cancer: A HuGE review // Am. J. Epidemiol. 2005. № 10. V. 161. P. 901–915.
- 20. *Kisselev P., Schunck W.-H., Roots I., Schwarz D.* Association of *CYP1A1* polymorphisms with differential metabolic activation of 17b-estradiol and estrone // Cancer Res. 2005. V. 65. № 7. P. 2972–2978.
- Meletiadis J., Chanock S., Walsh T.J. Human pharmacogenomic variations and their implications for antifungal efficacy // Clinical Microbiology Rev. 2006. V. 19. № 4. P. 763–787.
- 22. *Rotunno M., Yu K., Lubin J.H. et al.* Phase I metabolic genes and risk of lung cancer: multiple polymorphisms and mRNA expression // PLOS. 2009. V. 4. № 5. e5652. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2682568
- 23. Figueroa J.D., Sakoda L.C., Graubard B.I. et al. Geneticv variation in hormone metabolizing genes and risk of testicular germ cell tumors // Cancer Causes Control. 2008. V. 19. № 9. P. 917–929.
- Sowers M.R., Wilson A.L., Kardia S.R. et al. CYP1A1 and CYP1B1 polymorphisms and their association with estradiol and estrogen metabolities in women who are premenopausal and perimenopausal // Am. J. Med. 2006. V. 119. № 9. Suppl. 1. S44-51. http://www.amjmed.com/ article/S0002-9343%2806%2900828-X/pdf
- 25. Wang S., Chanock S., Tang D. et al. Assessment of interactions between pah exposure and genetic polymorphisms on PAH-DNA adducts in African American, Dominican and Caucasian mothers and newborns // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2008. V. 17. № 2. P. 405–413.

# Somatic Mutagenesis in Human Lymphocytes Depending on Genotypes for Detoxification and Oxidative Response Loci

# L. E. Sal'nikova, A. G. Chumachenko, E. A. Akayeva, G. I. Kuznetsova, I. N. Vesnina, N. Sh. Lapteva, S. K. Abilev, and A. V. Rubanovich

Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia;

e-mail: rubanovich@vigg.ru

Associations of polymorphism of seven detoxification genes and three genes of oxidative response with the frequency of chromosome aberrations in human peripheral blood lymphocytes were studied. The genotyping data were correlated with the frequencies of spontaneous and  $\gamma$ -induced (1 Gy in vitro) chromosome aberrations estimated for a group of healthy donors (97 males under 25 years of age) by analyzing 500–1000 metaphase cells per individual. The spontaneous level of aberrations of the chromosomal type was reduced in homozygotes for the *GSTM1* locus deletion, and especially in double homozygotes for deletions of the *GSTM1* and *GSTT1* genes. The frequency of  $\gamma$ -induced chromosome aberrations was reduced in G/G homozygotes for the minor allele of the poorly studied *CYP1A1* T606G site: 0.094 ± 0.006 against 0.112 ± 0.002 for T allele carriers (*P* = 0.004). Linkage of the T606G site with well known and functionally important sites of the *CYP1A1* gene (A4889G, T3801C) was analyzed.