

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА В ГЕНАХ АНТИОКСИДАНТОВ НА РИСК РАЗВИТИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ У ОБЛУЧЕННЫХ ЛЮДЕЙ

Е. А. Блинова , А. В. Кореченкова, М. А. Янишевская, А. В. Аклеев

Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства, Челябинск, Россия

На фоне дополнительного радиационного воздействия однонуклеотидные полиморфизмы в генах, кодирующих ферменты антиоксидантной системы, могут способствовать усилению окислительного стресса, возникновению повреждений ДНК и, как следствие, приводить к повышению риска развития злокачественных новообразований (ЗНО). Целью работы было установить связи полиморфных локусов *CYBA* (rs4673), *GPX1* (rs1050450), *MPO* (rs2333227), *CAT* (rs7943316), *SOD2* (rs4880) с риском развития ЗНО у лиц, подвергшихся хроническому низкоинтенсивному радиационному воздействию, с учетом межгенных взаимодействий и дозы радиационного облучения. В исследование были включены две группы людей: облученные лица без ЗНО — 384 человека со средней накопленной дозой облучения красного костного мозга (ККМ) $796,95 \pm 35,97$ мГр; облученные лица с ЗНО в анамнезе — 227 человек со средней накопленной дозой облучения ККМ $520,06 \pm 38,72$ мГр. Амплификацию полиморфных локусов rs4880, rs2333227, rs7943316, rs4673, rs1050450 проводили методом ПЦР в реальном времени. Для всех полиморфных участков генов выявлено соответствие равновесию Харди–Вайнберга. Обнаружено, что аллели rs4880*С (*SOD2*) и rs1050450*Т (*GPX1*) ассоциированы с повышенным риском развития ЗНО согласно доминантной ($OR = 1,49$ (1,02–2,18), $p = 0,04$) и рецессивной ($OR = 2,00$ (1,11–3,62), $p = 0,02$) моделям наследования соответственно. Получена модель межфакторных взаимодействий со 100%-й воспроизводимостью и точностью 66% ($p = 0,001$), включающая в себя полиморфизмы *SOD2* (rs4880), *CYBA* (rs4673) и фактор накопленной дозы облучения ККМ. Таким образом, полиморфные локусы генов, регулирующих окислительный статус клеток, связаны с повышенным риском развития ЗНО у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию с преимущественным облучением ККМ.

Ключевые слова: однонуклеотидный полиморфизм, хроническое облучение, река Теча, антиоксидантная система, злокачественное новообразование**Финансирование:** статья подготовлена в рамках выполнения составной части научно-исследовательской работы (контракт № 635/ФМБЦ/23 от 29.11.2023).**Вклад авторов:** Е. А. Блинова — постановка методики, написание статьи; А. В. Кореченкова — статистическая обработка данных, написание статьи; М. А. Янишевская — лабораторные исследования, написание статьи; А. В. Аклеев — концепция исследования, написание статьи, научное руководство.**Соблюдение этических стандартов:** все участники добровольно подписали форму информированного согласия на участие в исследовании и забор биологического материала в банк тканей, утвержденную в протоколе исследования, одобренном этическим комитетом ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России (протокол № 2 от 13 апреля 2023 г.), до включения в исследование.✉ **Для корреспонденции:** Евгения Андреевна Блинова
ул. Воровского, д. 68, корп. А, г. Челябинск, 454141, Россия; blinova@urcrm.ru**Статья получена:** 25.03.2024 **Статья принята к печати:** 03.06.2024 **Опубликована онлайн:** 26.06.2024**DOI:** 10.47183/mes.2024.022

THE IMPACT OF POLYMORPHISMS IN ANTIOXIDANT GENES ON THE RISK OF MALIGNANT NEOPLASM DEVELOPMENT IN EXPOSED INDIVIDUALS

Blinova EA , Korechenkova AV, Yanishevskaya MA, Akleyev AV

Urals Research Center for Radiation Medicine of the Federal Medical Biological Agency, Chelyabinsk, Russia

In the context of additional radiation exposure, single nucleotide polymorphisms in the genes encoding the antioxidant system enzymes can contribute to the oxidative stress enhancement, damage to DNA, and therefore lead to the increase in the risk of malignant neoplasm (MN) development. The study was aimed to determine the association of the *CYBA* (rs4673), *GPX1* (rs1050450), *MPO* (rs2333227), *CAT* (rs7943316), *SOD2* (rs4880) polymorphic loci with the risk of MN development in individuals affected by low dose rate chronic radiation exposure considering intergenic interactions and the radiation dose. Two groups of individuals were included in the study: exposed individuals with no MNs — 384 people with the mean accumulated dose to the red bone marrow (RBM) of 796.95 ± 35.97 mGy; exposed individuals with the history of MNs — 227 people with the mean accumulated dose to RBM of 520.06 ± 38.72 mGy. Amplification of the rs4880, rs2333227, rs7943316, rs4673, rs1050450 polymorphic loci was performed with real time PCR. Compliance with the Hardy–Weinberg equilibrium was reported for all gene polymorphisms. It has been found that the rs4880*С (*SOD2*) and rs1050450*Т (*GPX1*) alleles are associated with the risk of MN development in accordance with the dominant ($OR = 1.49$ (1.02–2.18), $p = 0.04$) and recessive ($OR = 2.00$ (1.11–3.62), $p = 0.02$) inheritance modes, respectively. An interfactor interaction model with the 100% reproducibility and 66% accuracy ($p = 0.001$) has been obtained that includes the *SOD2* (rs4880), *CYBA* (rs4673) polymorphisms and the factor of accumulated dose to RBM. Thus, polymorphic loci of the genes regulating the oxidative status of the cells are associated with the increased risk of MN development in individuals, who have experienced chronic radiation exposure with predominant exposure of RBM.

Keywords: single nucleotide polymorphism, chronic radiation exposure, Techa River, antioxidant system, malignant neoplasm**Funding:** the paper was prepared during implementation of a part of the research project (contract No. 635/FMBC/23 dated 29.11.2023).**Author contributions:** Blinova EA — developing the method, manuscript writing; Korechenkova AV — statistical data processing, manuscript writing; Yanishevskaya MA — laboratory tests, manuscript writing; Akleyev AV — study conception and design, manuscript writing, academic advising.**Compliance with ethical standards:** all the subjects submitted the form of the informed consent to study participation and biomaterial sampling and storage in the tissue bank finalized in the study protocol approved by the Ethics Committee of the Urals Research Center for Radiation Medicine of FMBA of Russia (protocol No. 2 dated 13 April 2023) before inclusion in the study.✉ **Correspondence should be addressed:** Eugenia A. Blinova
Vorovsky, 68-A, Chelyabinsk, 454141, Russia; blinova@urcrm.ru**Received:** 25.03.2024 **Accepted:** 03.06.2024 **Published online:** 26.06.2024**DOI:** 10.47183/mes.2024.022

Механизмы повреждающего действия ионизирующего излучения тесно связаны с усилением окислительного стресса в облученных клетках [1]. Повышенное содержание активных форм кислорода (АФК) способствует повреждению макромолекул, в том числе белков, нуклеиновых кислот и липидов, что приводит к дисфункции, повреждениям ДНК и апоптотической гибели клеток [2]. Центральное место в антиоксидантной защите занимают глутатионпероксидаза (ген *GPX*), каталаза (ген *CAT*), марганец-зависимая супероксиддисмутаза (ген *SOD2*), миелопероксидаза (ген *MPO*) и цитохром b-245 (ген *CYBA*). Однонуклеотидный полиморфизм (ОНП) в генах, кодирующих антиоксидантные ферменты, может способствовать изменению активности ферментов и нарушению их функций [3]. В частности, наблюдаются изменение активности ферментов супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы, а также снижение их способности нейтрализовать свободные радикалы при наличии неблагоприятных аллелей по полиморфным локусам генов *SOD2* (rs4880) и *GPX1* (rs1050450) соответственно [4]. Каталаза является важным эндогенным антиоксидантным ферментом, который катализирует разложение перекиси водорода на кислород и воду, тем самым нейтрализуя вредное воздействие АФК. Полиморфный локус rs7943316 в промоторной области гена *CAT* может модифицировать аффинность связывания факторов транскрипции. Из-за присутствия мутантного аллеля Т неправильное связывание факторов транскрипции может привести к изменению активности промотора, экспрессии генов и снижению каталитической активности фермента [5]. Снижение каталитической активности антиоксидантных ферментов, в свою очередь, повышает восприимчивость к окислительному стрессу. Полиморфный локус rs2333227, расположенный в промоторной области гена миелопероксидазы, снижает экспрессию гена *MPO*, нарушая сайт связывания транскрипционного фактора SP1. Установлено, что замена основания G на A связана с уменьшением экспрессии мРНК гена *MPO* и снижением количества фермента, тогда как аллель G, наоборот, связан с повышенной выработкой *MPO* [6]. Ряд полиморфизмов в промоторной и экзонной областях гена *CYBA* влияют на экспрессию гена и активацию НАДФН-оксидазы, что приводит к повышенному образованию свободных радикалов наряду с регистрируемым дефицитом антиоксидантов [7]. Все это свидетельствует о том, что наличие полиморфных участков в генах, кодирующих ферменты антиоксидантной системы, может влиять как на количественные, так и на функциональные характеристики фермента, а в случае дополнительного

воздействия ионизирующего излучения модифицировать эффект облучения.

Целью исследования было установить связь полиморфных локусов *CYBA* (rs4673), *GPX1* (rs1050450), *MPO* (rs2333227), *CAT* (rs7943316), *SOD2* (rs4880) с риском развития злокачественных новообразований (ЗНО) у лиц, подвергшихся хроническому низкоинтенсивному радиационному воздействию, с учетом межгенных взаимодействий и дозы радиационного облучения.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Генотипирование по полиморфным маркерам *CYBA* (rs4673), *GPX1* (rs1050450), *MPO* (rs2333227), *CAT* (rs7943316), *SOD2* (rs4880) проводили у лиц, проживавших на радиоактивно загрязненных территориях вдоль р. Течи и подвергшихся низкоинтенсивному хроническому радиационному воздействию в диапазоне малых и средних доз [8]. Все пациенты, включенные в исследование, были госпитализированы в клиническое отделение Уральского научно-практического центра радиационной медицины ФМБА России (УНПЦ РМ) в период с 2003 по 2023 г., у них забирали образцы крови в банк тканей УНПЦ РМ. Для всех обследованных лиц критериями включения были проживание в любое время в период с 1 января 1950 г. по 31 декабря 1960 г. в одном из 41 села, расположенных на прибрежной территории р. Течи; наличие индивидуальной накопленной дозы облучения красного костного мозга (ККМ), рассчитанной с применением дозиметрической системы Techa River Dosimetry System (TRDS-2016) [9]. Для группы сравнения критерием включения было отсутствие онкологических заболеваний, для группы облученных с ЗНО — наличие солидных ЗНО. Критериями исключения для всех обследованных лиц были наличие гематологических заболеваний и отсутствие информации об истории болезни.

Обследуемые лица (611 человек) были разделены на две группы: лица, подвергшиеся хроническому радиационному воздействию на р. Тече без ЗНО, — 384 человека; лица, подвергшиеся хроническому радиационному воздействию на р. Тече, имеющие в анамнезе ЗНО различной локализации, — 227 человек. Подробная характеристика обследуемых групп представлена в табл. 1.

Обследуемые лица имели накопленные дозы облучения ККМ в диапазоне от 0,85 до 3715,72 мГр, а средняя доза облучения не превышала 659 мГр. Статистически значимых различий в накопленных дозах облучения ККМ между группами облученных, имеющих в анамнезе ЗНО, и облученных без ЗНО обнаружено не было ($p > 0,05$).

Таблица 1. Характеристика обследуемых групп

Показатель		Лица, облученные на р. Тече, без ЗНО ($n = 384$)	Лица, облученные на р. Тече, имеющие в анамнезе ЗНО ($n = 227$)
Пол, n (%)	Мужчины	124 (32,29)	83 (36,56)
	Женщины	260 (67,71)	144 (63,44)
Этническая группа, n (%)	Славяне	138 (35,94)	104 (45,81)
	Тюрки	246 (64,06)	123 (54,19)
Возраст на момент обследования, лет; mean $\pm$ SD (min–max)		73,91 $\pm$ 9,04 (43,00–97,00)	73,42 $\pm$ 8,82 (47,00–95,00)
Накопленная доза облучения ККМ, мГр; mean $\pm$ SE (min–max)		796,95 $\pm$ 35,97 (1,69–3715,72)	520,06 $\pm$ 38,72 (0,85–3507,07)

Примечание: mean $\pm$ SD (min–max) — среднее значение $\pm$ стандартное отклонение (мин.–макс.); mean $\pm$ SE (min–max) — среднее значение $\pm$ стандартная ошибка (мин.–макс.).

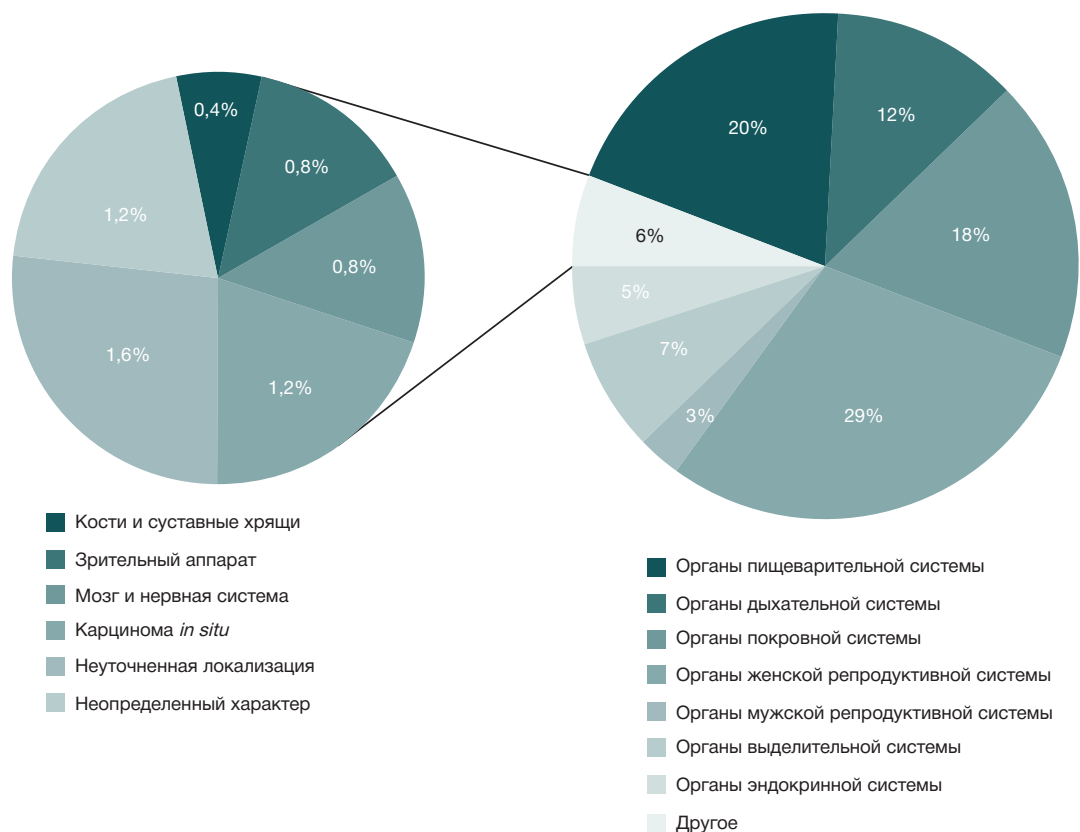


Рис. 1. Распределение ЗНО в группе облученных лиц в зависимости от локализации процесса

Представленные группы сопоставимы по полу, этническому составу и возрасту.

Из диагностированных форм солидных опухолей у облученных жителей прибрежных сел р. Течи были следующие: ЗНО органов пищеварительной системы — 49 человек (коды по МКБ-10: C00, C02, C04, C15, C16, C18.4, C19, C22.7, C25.9, C26), органов дыхательной системы — 28 человек (коды по МКБ-10: C30, C32.9, C34), органов покровной системы — 44 человека (коды по МКБ-10: C43.9, C44), органов женской репродуктивной системы — 70 человек (коды по МКБ-10: C50, C53, C54, C56), органов мужской репродуктивной системы — восемь человек (коды по МКБ-10: C61, C63), органов мочевого выделительной системы — 16 человек (коды по МКБ-10: C64, C67), органов эндокринной системы — 13 человек (код по МКБ-10: C73). Помимо этого, в обследованной группе встречались ЗНО костей и суставных хрящей — один человек (код по МКБ-10: C40), мозга и нервной системы — два человека (коды по МКБ-10: C71, C72), зрительного аппарата — два человека (коды по МКБ-10: C69), ЗНО неуточненной локализации — четыре человека (код по МКБ-10: C80), карцинома *in situ* — три человека

(код по МКБ-10: D09) и ЗНО неопределенного характера — три человека (код по МКБ-10: D48). Распределение ЗНО в группе облученных лиц представлено на рис. 1.

Забор периферической крови для исследования проводили в вакуумные пробирки Vacuette (Greiner Bio-One; Австрия) объемом 9 мл, покрытые мелкодисперсным антикоагулянтом КЗЭДТА. Выделение геномной ДНК производили на спин-колонках с использованием коммерческого набора ExtractDNA Blood & Cells («Евроген»; Россия) согласно протоколу производителя.

Однонуклеотидные полиморфные варианты генов-кандидатов для исследования выбирали с учетом расположения полиморфного локуса в гене, а также наличия связи со ЗНО на основе анализа баз данных HapMap (URL: hapmap.ncbi.nlm.nih.gov), NCBI (URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), SNPedia (URL: <https://snpedia.com/>). В табл. 2 представлена характеристика полиморфных участков исследуемых генов.

Амплификацию исследуемых полиморфных локусов проводили методом ПЦР в реальном времени на приборе StepOnePlus Real-Time PCR System (Applied Biosystems; США) с использованием наборов реагентов,

Таблица 2. Характеристика полиморфных участков

Ген	ОНП	Аллели	Минорный аллель	Позиция	Расположение
<i>SOD2</i>	rs4880	T/C	C	chr6:159692840	Миссенс вариант
<i>MPO</i>	rs2333227	C/T	T	chr17:58281401	2KB Upstream Variant
<i>CAT</i>	rs7943316	A/T	T	chr11:34438925	2KB Upstream Variant
<i>CYBA</i>	rs4673	C/T	C	chr16:88646828	Миссенс вариант
<i>GPX1</i>	rs1050450	C/T	T	chr3:49357401	Миссенс вариант

Примечание: 2KB Upstream Variant — участок ДНК длиной в 2000 п. о., который находится выше (*upstream*, в направлении от 5' - к 3'-концу ДНК) целевой последовательности.

Таблица 3. Встречаемость генотипов исследуемых ОНП у облученных лиц

Ген/ОНП	Генотип	Облученные лица без ЗНО				Облученные лица со ЗНО			
		Число (%)	Ho	He	<i>p</i>	Число (%)	Ho	He	<i>p</i>
<i>SOD2</i> /rs4880	C/C	70 (19)	0,47	0,49	0,5	41 (20)	0,54	0,5	0,2
	C/T	174 (47)				110 (54)			
	T/T	125 (34)				52 (26)			
<i>MPO</i> /rs2333227	C/C	276 (72)	0,27	0,25	0,1	122 (74)	0,26	0,23	0,2
	C/T	101 (27)				42 (25)			
	T/T	4 (1)				1 (1)			
<i>CAT</i> /rs7943316	A/A	60 (16)	0,48	0,48	0,9	25 (13)	0,47	0,47	0,8
	A/T	179 (48)				89 (46)			
	T/T	134 (36)				75 (39)			
<i>CYBA</i> /rs4673	C/C	201 (54)	0,37	0,4	0,2	96 (49)	0,4	0,43	0,4
	C/T	139 (37)				78 (40)			
	T/T	34 (9)				21 (11)			
<i>GPX1</i> /rs1050450	C/C	182 (49)	0,44	0,41	0,3	73 (46)	0,4	0,45	0,1
	C/T	162 (44)				62 (40)			
	T/T	28 (8)				22 (14)			

Примечание: Ho — наблюдаемая гетерозиготность; He — ожидаемая гетерозиготность; *p* — значение для теста Харди–Вайнберга.

синтезированных ООО «ТестГен» (Россия), согласно протоколу производителя.

Оценку отклонения распределения частот генотипов исследованных полиморфизмов от ожидаемого равновесного распределения по закону Харди–Вайнберга проводили с использованием критерия хи-квадрат (χ^2) в онлайн-калькуляторе Gene Calc (URL: <https://gene-calc.pl/hardy-weinberg-page>). Для оценки связи аллелей в полиморфных локусах с риском развития ЗНО использовали расчет отношения шансов (ОШ) с 95%-м доверительным интервалом (ДИ). Ассоциацию считали статистически значимой при $p < 0,05$.

Для оценки межгенного взаимодействия, а также дозы облучения использовали непараметрический метод снижения многофакторной размерности (Multifactor Dimensionality Reduction, MDR) [10], который реализован в свободно распространяемом пакете MDR v. 3.0.2 (URL: <http://sourceforge.net/projects/mdr>). В ходе такого анализа мультилокусные генотипы и факторы объединяются в группы повышенного и сниженного риска развития заболевания, что уменьшает размерность числа рассчитываемых параметров. Таким образом, из всех предложенных вариантов моделей, сформированных на основе вводимых первичных данных, путем многократных проверок выбирается оптимальная модель факторного взаимодействия, позволяющая с наиболее высокой точностью и низкой вероятностью ошибки предсказать наличие или отсутствие предрасположенности к определенным болезням [11]. Оптимальность полученных моделей оценивали, основываясь на воспроизводимости по результатам перекрестной проверки (Cross Validation Consistency, CVC) и точности предсказания (Testing Balanced Accuracy, TBA). Модель должна воспроизводиться не менее 9 раз из 10, а ее точность должна превышать 55%. Значение *p* для показателя точности предсказания было установлено с помощью теста 1000-кратной перестановки (Permutation Testing). Значения считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для визуализации результатов анализа взаимодействий факторов использовали графы, построенные силовым алгоритмом Фрюхтермана–Рейнгольда (Fruchterman–Reingold). Вклад каждого фактора и/или взаимодействия факторов оценивается величиной энтропии H, выраженной в процентах. Так, фактор со 100% энтропией однозначно определяет, к какому классу (больных или здоровых) относится индивид;

соответственно, фактор с 0% не играет никакой роли в предрасположенности к заболеванию. Для учета дозового фактора обследованные лица были ранжированы на три дозовые подгруппы: 1 — 0,85–99 мГр; 2 — 100–999 мГр; 3 — ≥ 1000 мГр.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты исследования распределения полиморфных участков генов антиоксидантной системы у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, представлены в табл. 3.

Для всех полиморфных участков генов наблюдалось соответствие равновесию Харди–Вайнберга. Кроме того, значения наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности для всех полиморфных участков были схожими, что указывает на случайность выборки.

На следующем этапе исследования был выполнен анализ связи каждого отдельно взятого полиморфизма гена с риском развития ЗНО на основе рецессивной и доминантной моделей наследования (табл. 4).

В результате анализа было установлено, что аллели rs4880*С и rs1050450*Т ассоциированы с повышенным риском развития ЗНО (ОШ = 1,49 (1,02–2,18), $p = 0,04$) и ОШ = 2,00 (1,11–3,62), $p = 0,02$ соответственно). Принимая во внимание тот факт, что при исследовании ассоциаций отдельных аллелей и генотипов не учитывают сложный каскад взаимодействий продуктов генов оксидантной системы, а также фактор радиационного воздействия в риске развития ЗНО, мы выполнили анализ межгенных взаимодействий с накопленной дозой облучения, в результате которого были получены 1n-, 2n-, 3n- и n-факторные модели (табл. 5). Одномоментно тестировали все пять ОНП и фактор накопленной дозы облучения ККМ. В табл. 5 представлены четыре наилучшие комбинации факторов по результатам моделирования. Дальнейшее увеличение числа параметров значительно снижало точность представляемых моделей.

Среди всех выявленных моделей наибольшей точностью (66%) и 100%-й воспроизводимостью обладает трехфакторная модель, включающая в себя полиморфизмы *SOD2* (rs4880), *CYBA* (rs4673) и накопленную дозу облучения ККМ ($p = 0,001$). Как сопряженные с повышенным риском развития ЗНО были отмечены аллели С*rs4880 (генотипы C/C и C/T) и Т*rs4673 (генотипы T/T и T/C). Остальные модели не

Таблица 4. Связь ОНП с риском развития ЗНО

Ген/ОНП	Модель	Генотип		ОШ (95%-й ДИ)	p
		Облученные без ЗНО	Облученные со ЗНО		
SOD2/rs4880	доминантная	T/T (125) C/T-C/C (244)	T/T (52) C/T-C/C (151)	1,00 1,49 (1,02–2,18)	0,04
	рецессивная	T/T-C/T (299) C/C (70)	T/T-C/T (162) C/C (41)	1,00 1,08 (0,70–1,66)	0,72
MPO/rs2333227	доминантная	C/C (276) C/T-T/T (105)	C/C (122) C/T-T/T (43)	1,00 0,93 (0,61–1,40)	0,72
	рецессивная	C/C-C/T (377) T/T (4)	C/C-C/T (164) T/T (1)	1,00 0,57 (0,06–5,18)	0,6
CAT/rs7943316	доминантная	T/T (134) A/T-A/A(239)	T/T (75) A/T-A/A (114)	1,00 0,85 (0,59–1,22)	0,38
	рецессивная	T/T-A/T (313) A/A (60)	T/T-A/T (164) A/A (25)	1,00 0,80 (0,48–1,32)	0,37
CYBA/rs4673	доминантная	C/C (201) C/T-T/T (173)	C/C (96) C/T-T/T (99)	1,00 1,20 (0,85–1,69)	0,31
	рецессивная	C/C-C/T (340) T/T (34)	C/C-C/T (174) T/T (21)	1,00 1,21 (0,68–2,14)	0,52
GPX1/rs1050450	доминантная	C/C (182) C/T-T/T (190)	C/C (73) C/T-T/T (84)	1,00 1,10 (0,76–1,60)	0,61
	рецессивная	C/C-C/T (344) T/T(28)	C/C-C/T (135) T/T(22)	1,00 2,00 (1,11–3,62)	0,02

Примечание: ОШ (95%-й ДИ) — отношение шансов с 95%-м доверительным интервалом.

соответствовали условиям отбора. Полиморфизм *GPX1* (rs1050450) был включен в 4n-факторную модель, однако одновременно с повышением чувствительности такой модели уменьшается ее специфичность, что сказывается на точности. Остальные полиморфизмы были признаны недостаточно информативными. Граф взаимодействия элементов в трехфакторной модели представлен на рис. 2.

Наибольшей информационной ценностью обладают полиморфизм *SOD2* (rs4880), объясняющий 0,96% фенотипической энтропии (неопределенности), и фактор накопленной дозы облучения ККМ — 1,24%. Наименьший информационный вклад вносит *CYBA* (rs4673) — 0,06%, что, вероятно, не играет существенной роли в риске развития ЗНО. Однако стоит учесть взаимодействия между всеми элементами модели, которые носят синергетический характер. Так, на долю пары rs4880 и rs4673 приходится 0,61% энтропии, на долю rs4673 и накопленной дозы на ККМ — 0,83%, а на долю rs4880 и накопленной дозы на ККМ — 0,21%.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

АФК являются продуктами нормального клеточного метаболизма и играют важную роль в стимуляции сигнальных путей в клетках в ответ на изменения внутри- и внеклеточных условий. Большинство АФК генерируются в дыхательной цепи митохондрий [12]. Однако дисбаланс между образованием свободных

радикалов и реактивных метаболитов и их устранением с помощью ферментов антиоксидантной системы приводит к возникновению окислительного стресса. Факторы, способствующие формированию окислительного стресса, разнообразны — от образа жизни (курение, употребление алкоголя) до воздействия окружающей среды (химическое и радиационное воздействие). Кроме того, хронические заболевания и воспаление также могут быть связаны с окислительным стрессом. В конечном счете окислительный стресс приводит к повреждению важных биомолекул и структур клеток с потенциальными последствиями для всего организма [13]. При устойчивом окислительном стрессе АФК вырабатываются в течение длительного времени. Так могут возникать значительные повреждения структуры и функций клеток, что может привести к возникновению соматических мутаций и неопластической трансформации [14]. Способность антиоксидантов нейтрализовать действие свободных радикалов может быть важной частью противоопухолевой защиты организма. Эффективность антиоксидантной системы генетически детерминирована. Сверхэкспрессия или снижение активности антиоксидантных ферментов может модифицировать эффекты облучения [15].

В ходе проведенного нами исследования установлено, что аллель rs4880*С гена *SOD2* и аллель rs1050450*Т гена *GPX1* ассоциированы с повышенным риском развития ЗНО у людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию в широком диапазоне доз, что в целом

Таблица 5. Модели межгенных взаимодействий с накопленной дозой облучения у хронически облученных людей

Модель	Точность предсказания	Согласованность перекрестной проверки	p	Se	Sp
Доза на ККМ	0,53	5/10	0,275	0,304	0,827
SOD2 rs4880, доза на ККМ	0,55	6/10	0,162	0,761	0,454
SOD2 rs4880, доза на ККМ, CYBA rs4673	0,66	10/10	0,001	0,75	0,601
SOD2 rs4880, доза на ККМ, CYBA rs4673, GPX1 rs1050450	0,57	10/10	0,062	0,837	0,578

Примечание: p — значение для показателя точности предсказания в тесте 1000-кратной перестановки; Se — чувствительность; Sp — специфичность.

согласуется с литературными данными по необлученным людям. Согласно геномной оценке онкогенности на основе модели прогнозирования regBase, rs4880 имеет статус вероятно патогенного. По литературным данным, rs4880 ассоциирован с повышенным риском развития ЗНО предстательной железы [16]. Кроме того, у лиц с генотипом С/Т и Т/Т по полиморфизму SOD2 (rs4880) измеренная активность фермента SOD2 была на 33% ниже, чем у носителей генотипа С/С [17]. Однако в исследовании [18], напротив, показано снижение активности фермента при наличии варианта Т в кодоне 16, приводящее к усилению окислительного стресса, — что, вероятно, является причиной повреждения структур клетки. Связь между генетическими вариантами полиморфизма GPX1 (rs1050450) и предрасположенностью к ЗНО у необлученных людей также показана в ряде исследований [19]. Комплексный метаанализ, включавший в себя 31 опубликованную статью, показал, что rs1050450 может способствовать предрасположенности к развитию ЗНО за счет нарушения антиоксидантного баланса. Носители варианта аллеля Т имеют повышенный риск развития различных типов ЗНО, особенно в азиатских подгруппах на основе доминантной генетической модели [20]. Возможным механизмом таких эффектов может быть снижение функциональной активности гена. Так, по данным ClinVar, rs1050450 связан с дефицитом глутатионпероксидазы.

Учитывая, что на процесс онкотрансформации клетки влияет большое число факторов, в том числе межгенные взаимодействия и факторы внешней среды, мы провели анализ роли межгенных взаимодействий полиморфных вариантов генов и дозы облучения ККМ в развитии ЗНО у облученного человека. В результате анализа с наибольшей точностью (66% ($p = 0,001$) и 100%-й воспроизводимостью была установлена трехфакторная модель, согласно которой повышенный риск развития ЗНО регистрируется при сочетании аллеля C*rs4880 гена SOD2, аллеля T*rs4673 гена CYBA и накопленной дозы облучения ККМ. Стоит отметить, что в наиболее точную модель включен полиморфный вариант SOD2 (rs4880), для которого в нашем исследовании была установлена ассоциация с повышенным риском развития ЗНО. В то же время полиморфизм GPX1 (rs1050450), который также был сопряжен с повышенным риском развития ЗНО, не вошел в модель — вместо него по результатам тестирования был определен CYBA (rs4673). Однако учитывая его незначительный вклад (0,06%) на данном этапе работы

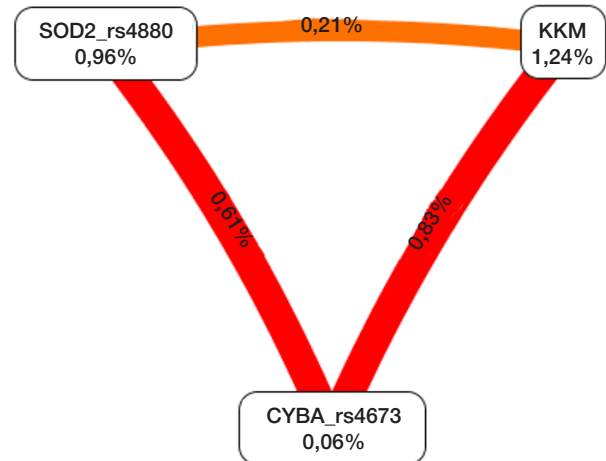


Рис. 2. Граф взаимодействия элементов в трехфакторной модели

сложно однозначно определить его роль. По результатам исследований [21], rs4673 ассоциирован с повышенным риском развития рака молочной железы. У лиц с генотипом С/Т и Т/Т rs4673 риск развития рака молочной железы в 1,42 раза выше, чем у лиц с генотипом С/С.

По всей видимости, повышенное образование АФК вследствие радиационного воздействия на фоне пониженной ферментативной активности супероксиддисмутазы предположительно может играть роль в усилении окислительного стресса, повреждении клеточных компонентов, ДНК и, как следствие, приводить к повышению риска развития ЗНО.

ВЫВОДЫ

Исследование показало, что полиморфные локусы генов, регулирующих окислительный статус клеток, такие как аллель rs4880*С гена SOD2 (ОШ = 1,49; 95%-й ДИ = 1,02–2,18; $p = 0,039$) и аллель rs1050450*Т гена GPX1 (ОШ = 2,00; 95%-й ДИ = 1,11–3,62; $p = 0,024$), связаны с повышенным риском развития ЗНО у хронически облученных лиц. Модель межфакторных взаимодействий также позволила установить повышенный риск развития ЗНО у носителей минорных аллелей rs4880*С, rs4673*Т и дозы облучения ККМ. Для выявления модифицирующего эффекта облучения при наличии неблагоприятных аллелей по полиморфным участкам генов антиоксидантной системы требуются дополнительные исследования.

Литература

- Buonanno M, de Toledo SM, Pain D, Azzam El. Long-term consequences of radiation-induced bystander effects depend on radiation quality and dose and correlate with oxidative stress. *Radiat Res.* 2011; 175 (4): 405–15. DOI: 10.1667/RR2461.1.
- Sage E, Shikazono N. Radiation-induced clustered DNA lesions: repair and mutagenesis. *Free Radic Biol Med.* 2017; (107): 125–35. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.008.
- Abd El Azeem RA, Zedan MM, Saad EA, Mutawi TM, Attia ZR. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) of antioxidant enzymes SOD2 and GSTP1 genes and SLE risk and severity in an Egyptian pediatric population. *Clin Biochem.* 2021; (88): 37–42. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2020.11.010.
- Nikic P, Dragicevic D, Jerotic D, Savic S, Djukic T, Stankovic B, et al. Polymorphisms of antioxidant enzymes SOD2 (rs4880) and GPX1 (rs1050450) are associated with bladder cancer risk or its aggressiveness. *Medicina (Kaunas).* 2023; 59 (1): 131. DOI: 10.3390/medicina59010131.
- Nawab SN, Zehra S, Fawwad A, Azhar A. A study on catalase gene promoter polymorphism-21 A/T (rs7943316) in healthy Pakistani population. *Pak J Med Sci.* 2017; 33 (6): 1521–4. DOI: 10.12669/pjms.336.13188.
- Taioli E, Benhamou S, Bouchardy C, Cascorbi I, Cajas-Salazar N, Dally H, et al. Myeloperoxidase G-463A polymorphism and lung cancer: a HuGE genetic susceptibility to environmental carcinogens pooled analysis. *Genet Med.* 2007; 9 (2): 67–73. DOI: 10.1097/gim.0b013e31803068b1.
- Kumar R, Kohli S, Ali Z, Duhan K, Ram R, Gupta M, et al. CYBA (p22phox) variants associate with blood pressure and oxidative stress markers in hypertension: a replication study in populations of diverse altitudes. *Hypertens Res.* 2015; 38 (7): 498–506. DOI:

- 10.1038/hr.2015.31.
8. Аклев А. В., Киселев М. Ф., редакторы. Медико-биологические и экологические последствия радиоактивного загрязнения реки Теча. М.: Вторая типография ФУ «Медбиоэкстрем», 2001; 531 с.
9. Дегтева М. О., Напье Б. А., Толстых Е. И., Шишкина Е. А., Бугров Н. Г., Крестинина Л. Ю. и др. Распределение индивидуальных доз в когорте людей, облученных в результате радиоактивного загрязнения реки Течи. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2019; 64 (3): 46–53. DOI: 10.12737/article_5cf2364cb49523.98590475.
10. Hahn LW, Ritchie MD, Moore JH. Multifactor dimensionality reduction software for detecting gene-gene and gene-environment interactions. *Bioinformatics*. 2003; 19 (3): 376–82. DOI: 10.1093/bioinformatics/btf869.
11. Бурмистрова А. Л., редактор. Метаорганизм. Стресс и адаптация. Челябинск: Челябинский государственный университет, 2019; 239 с.
12. Ďuračková Z. Some current insights into oxidative stress. *Physiol Res*. 2010; 59 (4): 459–69. DOI: 10.33549/physiolres.931844.
13. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic Biol Med*. 2010; 49 (11): 1603–16. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006.
14. Khandrika L, Kumar B, Koul S, Maroni P, Koul HK. Oxidative stress in prostate cancer. *Cancer Lett*. 2009; 282 (2): 125–36. DOI: 10.1016/j.canlet.2008.12.011.
15. Córdoba EE, Abba MC, Lacunza E, Fernández E, Güerci AM. Polymorphic variants in oxidative stress genes and acute toxicity in breast cancer patients receiving radiotherapy. *Cancer Res Treat*. 2016; 48 (3): 948–54. DOI: 10.4143/crt.2015.360.
16. Burri RJ, Stock RG, Cesaretti JA, Atencio DP, Peters S, Peters CA, et al. Association of single nucleotide polymorphisms in SOD2, XRCC1 and XRCC3 with susceptibility for the development of adverse effects resulting from radiotherapy for prostate cancer. *Radiat Res*. 2008; 170 (1): 49–59. DOI: 10.1667/RR1219.1.
17. Bastaki M, Huen K, Manzanillo P, Chande N, Chen C, Balmes JR, et al. Genotype-activity relationship for Mn-superoxide dismutase, glutathione peroxidase 1 and catalase in humans. *Pharmacogenet Genomics*. 2006; 16 (4): 279–86. DOI: 10.1097/01.fpc.0000199498.08725.9c.
18. Sutton A, Imbert A, Igoudjil A, Descatoire V, Cazanave S, Pessayre D, et al. The manganese superoxide dismutase Ala16Val dimorphism modulates both mitochondrial import and mRNA stability. *Pharmacogenet Genomics*. 2005; 15 (5): 311–9. DOI: 10.1097/01213011-200505000-00006.
19. Zhao Y, Wang H, Zhou J, Shao Q. Glutathione peroxidase GPX1 and its dichotomous roles in cancer. *Cancers (Basel)*. 2022; 14 (10): 2560. DOI: 10.3390/cancers14102560.
20. Chen J, Cao Q, Qin C, Shao P, Wu Y, Wang M, et al. GPx-1 polymorphism (rs1050450) contributes to tumor susceptibility: evidence from meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2011; 137 (10): 1553–61. DOI: 10.1007/s00432-011-1033-x.
21. Tupurani MA, Padala C, Puranam K, Galimudi RK, Kupsal K, Shyamala N, et al. Association of CYBA gene (-930 A/G and 242 C/T) polymorphisms with oxidative stress in breast cancer: a case-control study. *PeerJ*. 2018; (6): e5509. DOI: 10.7717/peerj.5509.

References

1. Buonanno M, de Toledo SM, Pain D, Azzam EI. Long-term consequences of radiation-induced bystander effects depend on radiation quality and dose and correlate with oxidative stress. *Radiat Res*. 2011; 175 (4): 405–15. DOI: 10.1667/RR2461.1.
2. Sage E, Shikazono N. Radiation-induced clustered DNA lesions: repair and mutagenesis. *Free Radic Biol Med*. 2017; (107): 125–35. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.008.
3. Abd El Azeem RA, Zedan MM, Saad EA, Mutawi TM, Attia ZR. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) of antioxidant enzymes SOD2 and GSTP1 genes and SLE risk and severity in an Egyptian pediatric population. *Clin Biochem*. 2021; (88): 37–42. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2020.11.010.
4. Nikic P, Dragicevic D, Jerotic D, Savic S, Djukic T, Stankovic B, et al. Polymorphisms of antioxidant enzymes SOD2 (rs4880) and GPX1 (rs1050450) are associated with bladder cancer risk or its aggressiveness. *Medicina (Kaunas)*. 2023; 59 (1): 131. DOI: 10.3390/medicina59010131.
5. Nawab SN, Zehra S, Fawwad A, Azhar A. A study on catalase gene promoter polymorphism-21 A/T (rs7943316) in healthy Pakistani population. *Pak J Med Sci*. 2017; 33 (6): 1521–4. DOI: 10.12669/pjms.336.13188.
6. Taioli E, Benhamou S, Bouchardy C, Cascorbi I, Cajas-Salazar N, Dally H, et al. Myeloperoxidase G-463A polymorphism and lung cancer: a HuGE genetic susceptibility to environmental carcinogens pooled analysis. *Genet Med*. 2007; 9 (2): 67–73. DOI: 10.1097/gim.0b013e31803068b1.
7. Kumar R, Kohli S, Ali Z, Duhan K, Ram R, Gupta M, et al. CYBA (p22phox) variants associate with blood pressure and oxidative stress markers in hypertension: a replication study in populations of diverse altitudes. *Hypertens Res*. 2015; 38 (7): 498–506. DOI: 10.1038/hr.2015.31.
8. Aklev AV, Kiselev MF, redaktory. Mediko-biologicheskie i ekologicheskie posledstviya radioaktivnogo zagrjazneniya reki Techa. M.: Vtoraja tipografija FU "Medbioekstrem", 2001; 531 p. Russian.
9. Degteva MO, Nape BA, Tolstyh EI, Shishkina EA, Bugrov NG, Krestinina LJ, et al. Raspredelenie individual'nyh doz v kogorte ljudej, obluchennyh v rezul'tate radioaktivnogo zagrjazneniya reki Tечи. Medicinskaja radiologija i radiacionnaja bezopasnost'. 2019; 64 (3): 46–53. DOI: 10.12737/article_5cf2364cb49523.98590475. Russian.
10. Hahn LW, Ritchie MD, Moore JH. Multifactor dimensionality reduction software for detecting gene-gene and gene-environment interactions. *Bioinformatics*. 2003; 19 (3): 376–82. DOI: 10.1093/bioinformatics/btf869.
11. Burmistrova AL, redaktor. Metaorganizm. Stress i adaptacija. Cheljabinsk: Cheljabinskij gosudarstvennyj universitet, 2019; 239 p. Russian.
12. Ďuračková Z. Some current insights into oxidative stress. *Physiol Res*. 2010; 59 (4): 459–69. DOI: 10.33549/physiolres.931844.
13. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic Biol Med*. 2010; 49 (11): 1603–16. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006.
14. Khandrika L, Kumar B, Koul S, Maroni P, Koul HK. Oxidative stress in prostate cancer. *Cancer Lett*. 2009; 282 (2): 125–36. DOI: 10.1016/j.canlet.2008.12.011.
15. Córdoba EE, Abba MC, Lacunza E, Fernández E, Güerci AM. Polymorphic variants in oxidative stress genes and acute toxicity in breast cancer patients receiving radiotherapy. *Cancer Res Treat*. 2016; 48 (3): 948–54. DOI: 10.4143/crt.2015.360.
16. Burri RJ, Stock RG, Cesaretti JA, Atencio DP, Peters S, Peters CA, et al. Association of single nucleotide polymorphisms in SOD2, XRCC1 and XRCC3 with susceptibility for the development of adverse effects resulting from radiotherapy for prostate cancer. *Radiat Res*. 2008; 170 (1): 49–59. DOI: 10.1667/RR1219.1.
17. Bastaki M, Huen K, Manzanillo P, Chande N, Chen C, Balmes JR, et al. Genotype-activity relationship for Mn-superoxide dismutase, glutathione peroxidase 1 and catalase in humans. *Pharmacogenet Genomics*. 2006; 16 (4): 279–86. DOI: 10.1097/01.fpc.0000199498.08725.9c.
18. Sutton A, Imbert A, Igoudjil A, Descatoire V, Cazanave S, Pessayre D, et al. The manganese superoxide dismutase Ala16Val dimorphism modulates both mitochondrial import and mRNA stability. *Pharmacogenet Genomics*. 2005; 15 (5): 311–9. DOI: 10.1097/01213011-200505000-00006.
19. Zhao Y, Wang H, Zhou J, Shao Q. Glutathione peroxidase GPX1 and its dichotomous roles in cancer. *Cancers (Basel)*. 2022; 14 (10): 2560. DOI: 10.3390/cancers14102560.
20. Chen J, Cao Q, Qin C, Shao P, Wu Y, Wang M, et al. GPx-1 polymorphism (rs1050450) contributes to tumor susceptibility: evidence from meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2011; 137 (10): 1553–61. DOI: 10.1007/s00432-011-1033-x.
21. Tupurani MA, Padala C, Puranam K, Galimudi RK, Kupsal K, Shyamala N, et al. Association of CYBA gene (-930 A/G and 242 C/T) polymorphisms with oxidative stress in breast cancer: a case-control study. *PeerJ*. 2018; (6): e5509. DOI: 10.7717/peerj.5509.