

УДК 616-018-006-085:539.3:534.1[-097:616.155.392.8-036.12

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *MDR1*, *MTHFR*, *GSTM1*, *GSTT1* И ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К РАЗВИТИЮ ОСТРОГО ЛЕЙКОЗА У ДЕТЕЙ

Т. В. САВИЦКАЯ^{1), 2)}

¹⁾Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии,
ул. Фрунзенская, 43, 223053, Боровляны, Минский район, Беларусь

²⁾Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова,
Белорусский государственный университет,
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь

Роль генетического полиморфизма в развитии онкологических заболеваний находится на стадии активного изучения, но уже сегодня накопленные данные свидетельствуют о его значимости в медицине. Исследования в этой области позволят не только лучше понять механизмы канцерогенеза, но и выявлять группы риска для каждой нозологии, мониторировать эти группы для раннего выявления онкологических заболеваний.

При поиске генетических маркеров онко-гематологических заболеваний исследовали аллеломорфы генов, участвующих в системах биотрансформации ксенобиотиков. В работе использованы молекулярно-генетические методы: полимеразной цепной реакции и рестрикционного анализа.

В результате исследования впервые определены частоты встречаемости генотипов *MDR1*, *MTHFR*, *GSTM1*, *GSTT1* у белорусских детей. При анализе ассоциаций полиморфных вариантов гена *MDR1* C3435T с риском развития острого лейкоза (ОЛ) установлено, что гетерозиготные индивидуумы с аллелем «дикого» типа *MDR1* C3435T характеризуются сниженным риском развития ОЛ, а гомозиготные носители 2 мутантных аллелей *MDR1* T3435T имеют значительный риск развития как острого лимфобластного (ОЛЛ), так и острого миелобластного лейкоза (ОМЛ) ($p = 0,01$ и $p = 0,02$, соответственно).

При анализе ассоциаций полиморфных вариантов гена *GSTT1* обнаружено, что у детей с «не 0» генотипом почти в 6 раз повышен риск развития ОЛ по сравнению с пациентами с «0» генотипом, и значительно выше именно в отношении риска развития ОМЛ ($p = 0,003$).

Образец цитирования:

Савицкая ТВ. Полиморфизм генов *MDR1*, *MTHFR*, *GSTM1*, *GSTT1* и предрасположенность к развитию острого лейкоза у детей. Журнал Белорусского государственного университета. Экология. 2023;2:68–77.
<https://doi.org/10.46646/2521-683X/2023-2-68-77>

For citation:

Savitskaya TV. Polymorphism of *MDR1*, *MTHFR*, *GSTM1*, *GSTT1* genes and predisposition to development of childhood acute leukemia. Journal of the Belarusian State University. Ecology. 2023;2:68–77. Russian.
<https://doi.org/10.46646/2521-683X/2023-2-68-77>

Автор:

Татьяна Владимировна Савицкая — кандидат биологических наук; врач лабораторной диагностики¹⁾; старший преподаватель кафедры иммунологии²⁾.

Author:

Tatsiana V. Savitskaya, PhD (biology); scientist in the clinical diagnostic laboratory^a; senior lecturer at the department of immunology^b.
more_mensk@mail.ru

Не выявлено статистически значимых ассоциаций полиморфизмов *MDR1* G2677T, *MTHFR* C677T и *GSTM1* с риском развития острого лейкоза, что свидетельствует о том, что ни один из этих изученных генотипов не является фактором предрасположенности к этому заболеванию. Как показали результаты собственного исследования, генетический полиморфизм может быть важным фактором, определяющим предрасположенность к острым лейкозам. Кроме этого, дальнейшее изучение полиморфизма генов и связей с их различными заболеваниями позволит охарактеризовать генетические особенности, характерные для белорусской популяции.

Ключевые слова: генетический полиморфизм; ксенобиотики; дети; острый лейкоз.

POLYMORPHISM OF *MDR1*, *MTHFR*, *GSTM1*, *GSTT1* GENES AND PREDISPOSITION TO DEVELOPMENT OF CHILDHOOD ACUTE LEUKEMIA

T. V. SAVITSKAYA^{a, b}

^aRepublic Center of Pediatric Oncology, Hematology and Immunology
43 Frunzenskaja Street, Borovlyany 223053, Minsk district, Belarus

^bInternational Sakharov Environmental Institute, Belarusian State University,
23/1 Daihabrodskaja Street, Minsk 220070, Belarus

The role of genetic polymorphisms in the development of cancer is still under active study, but already today accumulated data show its importance in medicine. Research in this area will not only help to better understand the mechanisms of carcinogenesis, but also to identify risk groups for each nosology and to monitor these groups for early detection of cancer.

When searching for genetic markers of oncohematological diseases, polymorphisms of genes involved in xenobiotic biotransformation systems were investigated. Molecular genetic methods were used: polymerase chain reaction and restriction analysis.

The study identifies for the first time the frequencies of *MDR1*, *MTHFR*, *GSTM1*, *GSTT1* genotypes in Belarusian children. Analysis of associations of polymorphic variants of *MDR1* C3435T gene with the risk of acute leukemia revealed that heterozygous individuals with the «wild-type» *MDR1* C3435T allele have a reduced risk of acute leukemia development, while homozygous carriers of 2 mutant *MDR1* T3435T alleles have a significant risk for both acute lymphoblastic leukemia (ALL) and acute myeloblastic leukemia (AML) ($p = 0.01$ and $p = 0.02$, respectively).

Analysis of associations of *GSTT1* gene polymorphic variants revealed that children with the «not 0» genotype had an almost 6-fold increased risk of acute leukemia compared to patients with the «0» genotype, and a significantly higher risk of AML ($p = 0.003$).

No statistically significant associations of *MDR1* G2677T, *MTHFR* C677T, and *GSTM1* polymorphisms with the risk of acute leukemia were found, indicating that none of these genotypes studied was a predisposition factor for this disease. Our research has shown the importance of genetic polymorphism as a factor determining susceptibility to acute leukemia. Further study of gene polymorphism and its association with various diseases will make it possible to characterize genetic features characteristic of the Belarusian population.

Keywords: genetic polymorphism; xenobiotics; children; acute leukemia..

Введение

Значительный рост количества онкологических заболеваний в последние десятилетия, кроме ряда причин, связан также с всевозрастающим загрязнением окружающей среды чужеродными для организма веществами (ксенобиотиками) и, как следствие, увеличением их поступления в организм человека. Разная предрасположенность к заболеванию у человека может быть обусловлена генетическими факторами, в том числе индивидуальными различиями в биотрансформации ксенобиотиков, включая канцерогены, и выведении их из организма. Установление взаимосвязи между определенным генотипом и типом заболевания позволяет приблизить нас к пониманию механизмов развития различных форм рака, а также выявлять группы риска, обладающие повышенной чувствительностью к развитию данной патологии [1]. Одним из основных свойств ферментов биотрансформации ксенобиотиков является генетический полиморфизм, что предполагает их различную активность в метаболизме субстратов и обуславливает индивидуальную чувствительность как к химическим соединениям, так и эндогенным веществам [2].

Острый лейкоз (ОЛ) представляет собой гетерогенную группу злокачественных заболеваний гемопоэтической ткани, при котором повреждения (мутации) в генетическом материале кроветворной клетки-предшественницы приводят к потере ее способности к нормальной дифференцировке и избыточной пролиферации потомков ее клона. Мутантный клон достаточно быстро вытесняет нормальные кроветворные клетки, замещая собой весь гемопоэз. ОЛ составляют 30–35 % онкологических заболеваний

детского возраста, из них на долю острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) приходится 80 %, острого миелобластного (ОМЛ) – 15–17 %. ОМЛ отличается чрезвычайно тяжелым и агрессивным течением. Эффективность лечения детей с ОМЛ значительно ниже, чем детей с ОЛЛ [3]. Поэтому особый интерес у специалистов, занимающихся изучением патогенеза и терапией лейкозов, вызывают гены, участвующие в метаболизме и распределении ксенобиотиков (ферменты первой и второй фазы биотрансформации ксенобиотиков), а также АТФ-зависимых транспортных белков.

Одним из наиболее изученных белков, физиологическая роль которого заключается в защите клеток от токсических соединений, является АТФ-зависимый транспортный Р-гликопротеин – продукт гена *MDR1* (Multidrug Resistance 1), который осуществляет транспорт веществ из клетки. Показано, что у пациентов с рецидивами лейкозов экспрессия Р-гликопротеина повышена, что свидетельствует либо о селекции Р-гликопротеин положительных опухолевых бластов, либо указывает на положительный регуляторный эффект препаратов, используемых в терапии лейкозов. Механизм, с помощью которого изменяется экспрессия белка, пока полностью неясен, но отмечается, что значимую роль в нем может играть генетический полиморфизм *MDR1* – наличие множественных аллелей гена [4; 5].

Лейкозы возникают как результат транслокаций, делеций или инверсий в генах регулирующих развитие клеток крови или гомеостаз. Дефицит фолиевой кислоты в организме приводит к нарушению механизма репарации ДНК, что увеличивает риск возникновения хромосомных нарушений. Фермент метилентетрагидрофолатредуктаза (methylenetetrahydrofolate reductase, *MTHFR*) является одним из ключевых ферментов внутриклеточного метаболизма фолата [6; 7]. Полиморфизм гена *MTHFR* C677T ассоциируется со снижением активности фермента и нарушением распределения метаболитов фолиевой кислоты. В ряде публикаций отмечается связь между полиморфизмом *MTHFR* и риском развития лейкемии. Кроме этого, у носителей двух мутантных аллелей Т (гомозиготное состояние) высок риск развития побочных эффектов при приеме некоторых лекарственных препаратов, используемых в противоопухолевой химиотерапии [6–8].

Согласно современным данным, в организме биотрансформация ксенобиотиков происходит в несколько этапов. Основу первого этапа составляют реакции окисления, восстановления и гидролиза молекул ксенобиотика монооксигеназной системой. Второй этап, осуществляемый ферментами второй фазы биотрансформации (глутатион-, ацетил-, сульфо-, метилтрансферазы и др.), – конъюгация, восстановление или гидролиз промежуточных метаболитов ксенобиотиков. Продукты конъюгации подвергаются экскреции почками, кишечником, легкими и кожей. Среди ферментов второй фазы биотрансформации наиболее распространенными являются белки суперсемейства глутатион-S-трансфераз (glutathione S-transferases, *GST*). Это семейство катализирует конъюгацию восстановленного глутатиона с множеством электрофильных субстратов, участвует в метаболизме простагландинов, лейкотриенов, транспорте стероидных гормонов, играет важную роль в защите клетки от продуктов перекисного окисления [9].

GST-гены человека образуют 4 больших суперсемейства: *GSTα*, *GSTμ* или *M*, *GSTθ* или *T* и *GSTπ*. Некоторые из них характеризуются значительным популяционным полиморфизмом и, как показывают исследования, определенные аллели могут играть предрасполагающую роль в процессах канцерогенеза. Два семейства *GSTM* и *GSTT* проявляют генетический полиморфизм как делецию генов (*GSTM1* и *GSTT1*) и при гомозиготной наследственной делеции, «нулевых генотипах», наблюдается фенотипическое отсутствие энзимной активности соответствующего белка. [2; 9; 10]. Известно, что при «нулевых генотипах» *GST* (*GSTM1* «0» и *GSTT1* «0») снижается активность глутатион – опосредованной биотрансформации ксенобиотиков. Так, Takanashi, et al. [11] отмечают, что двойной нулевой генотип является фактором прогноза раннего рецидива у детей с В-линейным ОЛЛ. В тоже время, по данным Rocha, et al. [12], дети с ОЛЛ группы высокого риска с «не ноль» *GSTM1* генотипом имели больший риск гематологического рецидива.

Таким образом, использование методов фармакогенетики для прогноза и терапии острых лейкозов становится необходимым условием прогресса в области изучения и лечения онкологических заболеваний.

Цель исследования – изучение частоты наиболее часто встречающихся полиморфных вариантов генов *MDR1*: G2677T и C3435T, *MTHFR* C677T, делеции *GSTM1* и *GSTT1*, а также попытаться оценить их влияние на предрасположенность к возникновению острых лейкозов у детей.

Материалы и методы исследования

Определение полиморфных вариантов было проведено у 103 детей, в том числе у 40 пациентов с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), у 32 – с острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) и у 31 – группы сравнения (ГС). Группу сравнения (ГС) составили 31 здоровый ребенок, которые проходили диспансерное обследование в центре и не имели злокачественных новообразований.

Возраст обследуемых в группе с ОЛЛ на момент постановки диагноза составлял от 1 года до 22 лет (медиана – 7 лет); в группе с ОМЛ от 0 до 17 лет (медиана – 11 лет); в группе сравнения – 0–20 лет (медиана – 7 лет).

Распределение по полу: в группе с ОЛЛ мальчиков было 27 (67,5 %) человек, девочек – 13 (32,5 %); в группе с ОМЛ мальчики и девочки распределились поровну – по 16 (50,0 %) человек. В группе сравнения мальчиков было 18 (58,1 %), девочек – 13 (41,9 %).

Материалом для исследования служила ДНК пациентов, выделенная из лейкоцитарных клеток периферической крови. Выделение ДНК осуществляли методом экстракции фенол-хлороформной смесью по общепринятой методике [14]. Качество и количество ДНК оценивали спектрофотометрически по соотношению длин волн 260 нм/280 нм.

Основным методом генотипирования полиморфизмов генов *MDR1*, *MTHFR*, *GSTM1*, *GSTT1* был метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для генотипирования *MDR1* C3435T и G2677T применяли метод аллель-специфичной ПЦР в режиме реального времени с красителем SYBR Green I согласно методике [14].

Для диагностики полиморфизмов гена *MTHFR* C677T использовали метод RFLP (restriction fragment length polymorphism; полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) принцип которого заключается в ПЦР-амплификации интересующего фрагмента ДНК и его последующем расщеплении соответствующей рестриктазой [15].

Два семейства *GSTM* и *GSTT* проявляют генетический полиморфизм как делецию генов (*GSTM1* и *GSTT1*). Эти делеции определяли методом ПЦР согласно методике [16].

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных статистических программ *Statistica 8.0*. Значимость различий в частотах встречаемости изучаемых признаков между анализируемыми группами оценивали по двухстороннему точному критерию Фишера. Об ассоциации генотипов с лимфопролиферативными заболеваниями судили по величине отношения шансов (ОШ) с 95 % доверительным интервалом (ДИ).

Результаты исследований и их обсуждение

Распределение генотипов *MDR1*, *MTHFR*, *GSTM1* и *GSTT1* у детей с острыми лейкозами и группе сравнения. Анализ распределения частоты изучаемых генотипов показал, что изучаемые генотипы *MDR1* 2677 и *MTHFR* 677 не имеют статистически значимых различий между группами пациентов с лейкозами и группой сравнения (табл. 1, 2).

В то же время анализ распределения полиморфных вариантов гена *MDR1* C3435T выявил статистически значимые различия в исследуемых группах. Генотип ТТ встречался среди детей с ОЛЛ ($p = 0,008$) и ОМЛ ($p = 0,02$), однако отсутствовал в группе сравнения. При этом в группе сравнения значительно преобладало гетерозиготное носительство *MDR1* C3435T, что статистически значимо отличало ее от групп с ОЛЛ ($p = 0,009$) и ОМЛ ($p = 0,02$).

Таблица 1

Частота распределения генотипов полиморфных вариантов генов *MDR1*, *MTHFR*, *GSTM1* и *GSTT1* между обследованными группами

Table 1

Frequency of *MDR1*, *MTHFR*, *GSTM1* and *GSTT1* genetic polymorphisms distributions between groups

Группы	n	Генотипы <i>MDR1</i> 2677			Генотипы <i>MDR1</i> 3435		
		GG n(%)	TT n(%)	GT n(%)	CC n(%)	TT n(%)	CT n(%)
ОЛЛ	40	20 (50,0)	10 (25,5)	10 (25,5)	9 (22,5)	8* (20,0)	23 [§] (57,5)
ОМЛ	30	15 (50,0)	6 (20,0)	9 (30,0)	7 (23,3)	5** 16,7)	18 ^{§§} (60,0)
ГС	31	14 (45,2)	10 (32,3)	7 (22,5)	4 (12,9)	0***	27 ^{§§} (87,1)
Всего	101	49 (48,6)	26 (25,7)	26 (25,7)	20 (19,8)	13 (12,9)	68(67,3)

Примечание. *, ** – различия достоверны между группами $p = 0,008$ и $p = 0,02$, соответственно; [§], ^{§§} – различия достоверны между группами $p = 0,009$ и $p = 0,02$ соответственно.

Таблица 2

Частота распределения генотипов полиморфных вариантов генов *MTHFR* между обследованными группами

Table 2

Frequency of *MTHFR* genetic polymorphisms distributions between groups

Группы	n	Генотипы <i>MTHFR</i> 677		
		CC n(%)	TT n(%)	CT n(%)
ОЛЛ	40	20 (50,0)	5 (12,5)	15 (37,5)
ОМЛ	30	17 (56,7)	2 (6,7)	11 (36,6)
ГС	31	9 (40,9)	3 (13,6)	10 (45,5)
Всего	101	46 (50,0)	10 (10,9)	36 (39,1)

Примечание. Между всеми группами $p > 0,05$.

Последние годы изучение полиморфного варианта *MDR1* C3435T ведется очень интенсивно из-за его возможного влияния на экспрессию гена и вероятной возможной роли в патогенезе ряда заболеваний, включая онкогематологические [4]. Так, Амромина и др. [9] показали, что в группе из 200 пациентов с ОМЛ распространенность генотипов с мутантной аллелью была выше (СТ – 46,5 % и ТТ – 18,0 %), чем частота дикого генотипа СС – 35,5 %. Однако Rocha, et al. [12] не выявили значимых различий между частотами генотипов *MDR1* у детей с ОЛЛ и контрольной группе. Авторы вышеупомянутого исследования NCCLC также не выявили достоверных ассоциации изучаемых генотипов *MDR1* в группах детей с ОЛЛ по сравнению с контрольными выборками. Тем не менее, авторы упоминают исследование «случай – контроль», проведенное польскими учеными, в котором было показано, что риск развития ОЛЛ у детей был ассоциирован с генотипом Т3435Т [17]. Эти данные подтверждают японские исследователи, которые при обследовании детей с ОЛЛ показали, что частота генотипа с аллелями Т3435Т была значительно выше у пациентов с лейкозом, чем в контрольной группе ($p = 0,006$) [18].

Что касается распространенности вариантов гена *MTHFR* C677T, то в наших исследованиях (СС – 50,0 %, ТТ – 10,9 %, СТ – 39,1 %) она была наиболее близкой к распространенности в странах Северной Европы – Швеции, Ирландии [19]. В группе с ОЛЛ частота генотипа (ТТ – 12,5 %) была близка к частоте (11,5 %) в такой же группе пациентов, описываемых Krajcinovic с соавт. [8].

Результаты распределения частот аллелей генов *GSTM1* и *GSTT1* в обследуемых группах представлены в табл. 3.

Таблица 3

Распределение генотипов *GSTM1* и *GSTT1* в обследуемых группах

Table 3

Frequency of *GSTM1* and *GSTT1* genetic polymorphisms distributions between groups

Группы	n	<i>GSTM1</i> n (%)		<i>GSTT1</i> n (%)		Генотип <i>GSTM1/GSTT1</i> n (%)	
		«не 0»	«0»	«не 0»	«0»	«0/0»	«не0/не0»
ОЛЛ	40	26 (65,0)	14 (35,0)	36 (90,0)	4 (10,0)	1 (2,5)	23 (57,5)
ОМЛ	32	20 (62,5)	12 (37,5)	32 (100)	0*	0	20 (62,5)
ГС	27	19 (70,4)	8 (29,6)	20 (74,1)	7* (25,9)	4(14,8)	16 (59,3)
Всего	99	65 (64,4)	34 (33,4)	88 (88,9)	11 (11,1)	5 (5,1)	59 (94,9)

Примечание. * – различия достоверны между группами, $p = 0,003$.

Согласно полученным данным, у обследуемых детей не нулевые генотипы *GSTM1* и *GSTT1* встречаются чаще (64,4 % для *GSTM1* и 88,8 % для *GSTT1*), чем «нулевые». Известно, что нулевые аллели генов *GSTM1* и *GSTT1* достаточно широко распространены в популяциях. Так, у европейцев частота гомозигот по «ноль» аллелям *GSTM1* составляет – 40–60 %, а *GSTT1* – 10–20 % [20–22]. В наших исследованиях частота гомозигот по «ноль» генотипу *GSTM1* во всех обследуемых группах составила 33,4 %, а «ноль» генотипа *GSTT1* – 11,1 %.

В обследуемых группах частоты генотипов *GSTM1* были близки и статистически значимо не различались ($p > 0,05$). Однако при анализе частот генотипов *GSTT1* выявлено значимое различие между пациентами с ОМЛ и группой сравнения. «Ноль» генотип *GSTT1* достоверно чаще встречался в группе

сравнения, чем в группе с ОМЛ ($p = 0,003$) и чаще, чем в группе с ОЛЛ ($p > 0,05$). Исследования Alves, et al. [23], проведенные среди португальских детей со злокачественными новообразованиями, продемонстрировали увеличение частоты не «ноль» аллелей *GSTM1* и *GSTT1* среди пациентов с ОЛЛ, глиальными опухолями мозга и остеосаркомой. При этом результаты, полученные у детей с ОЛЛ, показали увеличение среди них частоты именно «не ноль» аллелей *GSTT1*. Аналогичные результаты получены группой американских ученых [22].

При анализе распределения полиморфизмов генов между группами мальчиков и девочек, не выявлено различий в частотах изучаемых генотипов, кроме группы сравнения, в которой у девочек преобладало гомозиготное носительство *MDR1* G2677G ($p = 0,004$), а у мальчиков преобладало гомозиготное носительство по мутантному типу – *MDR1* T2677T ($p = 0,02$). Анализ литературы показал, что авторы большинства исследований отмечают отсутствие связи между полами и изучаемыми нами генотипами [12; 17; 18].

Роль полиморфизмов генов *MDR1*, *MTHFR*, *GSTM1* и *GSTT1* в предрасположенности к острым лейкозам. Результаты изучения ассоциаций исследуемых генотипов с развитием ОЛ представлены в табл. 4.

Таблица 4

Ассоциация полиморфизмов генов *MDR1*, *MTHFR*, *GSTM1* и *GSTT1* с предрасположенностью к острым лейкозам

Table 4

Association of *MDR1*, *MTHFR*, *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms with acute leukemia susceptibility

Гено-тип	N		Общая группа ОЛ		ОЛЛ			ОМЛ		
	<i>n</i>	<i>n</i>	ОИП (95 % ДИ)	<i>p</i>	<i>n</i>	ОИП (95 % ДИ)	<i>p</i>	<i>n</i>	ОИП (95 % ДИ)	<i>p</i>
<i>MDR1</i> G2677T										
GT	7	19	1,28 (0,60–2,59)	0,81	10	1,14 (0,33–4,10)	1,0	9	1,47 (0,40–5,51)	0,57
TT	10	15	0,57 (0,20–1,67)	0,32	10	0,70 (0,22–2,26)	0,60	5	0,42 (0,11–1,44)	0,24
GG	14	36	1,29 (0,51–3,29)	0,68	20	1,21 (0,43–3,46)	0,81	16	1,39 (0,45–4,28)	0,61
<i>MDR1</i> C3435T										
CT	27	41	0,21 (0,05–0,7)	0,01	23	0,20 (0,04–0,75)	0,01	18	0,22 (0,05–0,90)	0,02
TT	0	13	∞ (1,52– ∞)	0,01	8	∞ (1,94– ∞)	0,01	5	∞ (1,01– ∞)	0,02
CC	4	16	2,00 (0,56–8,97)	0,29	9	1,96 (0,47–9,63)	0,37	7	2,05 (0,45–10,7)	0,34
<i>MTHFR</i> C677T										
CT	10	26	0,71 (0,24–2,12)	0,62	15	0,72 (0,22–2,37)	0,59	11	0,69 (0,20–2,47)	0,58
TT	3	7	0,70 (0,14–4,64)	0,69	5	0,90 (0,16–6,47)	1,0	2	0,45 (0,04–4,41)	0,64
CC	9	37	1,62 (0,55–4,88)	0,46	20	1,44 (0,45–4,76)	0,59	17	1,89 (0,54–6,69)	0,40
<i>GSTM1</i>										
«не 0»	19	46	1,34 (0,48–4,05)	0,64	26	1,28 (0,04–4,27)	0,79	20	1,43 (0,42–4,97)	0,59
«0»	8	26	0,74 (0,25–2,10)	0,64	14	0,78 (0,23–2,50)	0,79	12	0,70 (0,20–2,38)	0,59
<i>GSTT1</i>										
«не 0»	0	68	5,95 (1,32–9,97)	0,01	36	3,15 (0,69–16,25)	0,10	32	∞ (2,00– ∞)	0,003
«0»	7	4	0,17 (0,03–0,76)	0,01	4	0,32 (0,61–1,03)	0,10	0	0 (0,0–0,49)	0,003

При анализе генотипов *MDR1* G2677T, *MTHFR* и *GSTM1* не выявлено статистически значимых ассоциаций их аллельных вариантов с риском развития острого лейкоза. Это свидетельствует о том, что ни один из этих генетических вариантов не является фактором предрасположенности к этому заболеванию. Наши данные согласуются с рядом опубликованных ранее исследований у детей с острыми лейкозами, где не было выявлено ассоциаций данных полиморфизмов с риском развития ОЛ [17; 21; 24], хотя существуют не менее убедительные публикации в которых показана связь изучаемых полиморфизмов (например, *GSTM1* и *MTHFR* C677T) с развитием лейкозов [8; 25].

Анализируя ассоциации полиморфных вариантов гена *MDR1* C3435T с риском развития ОЛ, установлено, что гетерозиготные индивидуумы с одним аллелем «дикого» типа характеризуются сниженным риском развития ОЛ (ОШ, 0,21; 95 % ДИ, 0,05–0,70), а гомозиготные носители 2 «мутантных» аллелей ТТ имеют значительный риск развития лейкоза как ОЛЛ, так и ОМЛ ($p = 0,01$ и $p = 0,02$ соответственно). Наши результаты подтверждают данные, опубликованные польскими учеными в 2004 г., о достоверной ассоциации генотипа Т3435Т с риском возникновения ОЛЛ у детей, по сравнению с «диким» и гетерозиготным носительством [11]. Исследования последних десятилетий приводят к пониманию фундаментальной роли гена *MDR1* в регулировании апоптоза и иммунных реакций: белок *MDR1* защищает клетки от апоптоза индуцированного цитотоксическими препаратами, ксенобиотиками и клеточными метаболитами [17; 23; 26].

При анализе ассоциаций полиморфных вариантов гена *GSTT1* выявлено, что у детей с «не нулевым» генотипом почти в 6 раз повышен риск развития ОЛ по сравнению с пациентами с «0» генотипом ($p = 0,01$). Однако, если для детей с ОЛЛ этот риск не является статистически значимым ($p = 0,10$), то для группы с ОМЛ он является достоверным ($p = 0,003$).

Гены *GST* вовлечены в детоксификацию значимых канцерогенов, находящихся в окружающей среде. При этом полиморфизмы этих генов, и в частности делеции *GSTT1* и *GSTM1*, с высокой частотой находят среди пациентов с различными видами рака [11]. Поэтому собственные результаты кажутся несколько противоречивыми, но они согласуются с рядом подобных работ, в частности американских и португальских ученых [22; 23]. Известно, что белки генов *GSTM1* and *GSTT1* участвуют во II фазе детоксификации, во время которой происходит инактивация канцерогенов, поэтому, по литературным данным, частота «ноль» генотипов увеличена среди пациентов с лейкозами [11; 21]. Тем не менее, Barnette, et al. [22] утверждает, что фермент *GSTT1* также участвует в I фазе детоксификации, где происходит именно активация канцерогенов. К тому же значение полиморфизмов *GSTT1* может зависеть от комплекса факторов, влияющих на генотип, в частности от генетического профиля других генов, участвующих в детоксификации ксенобиотиков, а также от местных факторов окружающей среды. В связи с этим, по мнению Barnette, et al., оценка рисков, связанных с тем или иным генотипом, имеет смысл применительно к локальному географическому региону, каким и является территория нашей республики.

Таким образом, для правильной интерпретации полученных результатов, необходимо учитывать не только этнические особенности групп, но и факторы среды, а также степень риска, связанного с тем или иным индивидуальным ферментом биотрансформации, так как метаболизм с участием этих энзимов снижает токсичность одних и увеличивает токсичность других ксенобиотиков. Поэтому генотип, который можно считать фактором риска в одних условиях, может быть фактором устойчивости в других. При этом не обязательно мутантный признак становится фактором риска: таковым может являться и нормальный генотип.

Надо отметить, что несмотря на малые группы, подобные исследования представляют большой практический интерес и нуждаются в дальнейшем продолжении исследований.

Заключение

При изучении распределения полиморфных вариантов генов *MDR1* G2677T, *MTHFR* C677T среди детей с острыми лейкозами и группе сравнения не выявлено статистически значимых различий в распространенности аллелей генов и соответствующих генотипов среди анализируемых групп.

Однако обнаружены достоверные различия в распределении генотипов *MDR1* C3435T между пациентами с ОЛЛ, ОМЛ и группой сравнения. Мутантный генотип *MDR1* T3435T выявлен исключительно среди детей с лейкозами, а гетерозиготное носительство было характерно для детей группы сравнения.

При оценке распространенности генотипов *GSTM1* и *GSTT1* среди исследуемых групп выявлено, что частоты генотипов *GSTM1* между группами были близки и статистически значимо не различались. При анализе частот генотипов *GSTT1* выявлено достоверное различие между пациентами с ОМЛ и группой сравнения. «Ноль» генотип *GSTT1* чаще встречался в группе сравнения, чем в группе с ОМЛ ($p = 0,003$) и чаще, чем в группе с ОЛЛ ($p > 0,05$).

При анализе ассоциаций полиморфных вариантов гена *MDR1* C3435T с риском развития ОЛ установлено, что гетерозиготные индивидуумы с аллелем «дикого» типа *MDR1* C3435T характеризуются сниженным риском развития ОЛ, а гомозиготные носители 2 мутантных аллелей *MDR1* T3435T имеют значительный риск развития лейкоза как ОЛЛ, так и ОМЛ ($p = 0,01$ и $p = 0,02$ соответственно).

При анализе ассоциаций полиморфных вариантов гена *GSTT1* обнаружено, что у детей с «не 0» генотипом почти в 6 раз повышен риск развития ОЛ по сравнению с пациентами с «0» генотипом. Он значительно выше именно в отношении риска развития ОМЛ ($p = 0,003$).

Не выявлено статистически значимых ассоциаций полиморфизмов *MDR1* G2677T, *MTHFR* C677T и *GSTM1* с риском развития острого лейкоза, свидетельствующих о том, что ни один из этих изученных генотипов не является фактором предрасположенности к этому заболеванию.

Библиографические ссылки

1. Reizine NM, O'Donnell PH. Modern developments in germline pharmacogenomics for oncology prescribing. *CA Cancer Journal for Clinicians*. 2022;72(4):315–332. DOI: 10.3322/caac.21722.
2. Weiss J, Kopecky K, Godwin J, Anderson J, Willman C, Moysich K, Slovak M, Hoque A, Ambrosone C. Glutathione S-transferase (GSTM1, GSTT1 and GSTA1) polymorphisms and outcomes after treatment for acute myeloid leukemia: pharmacogenetics in Southwest Oncology Group (SWOG) clinical trials. *Leukemia*. 2007;20(12):2169–2171. DOI: 10.1038/sj.leu.2404421.
3. Cameron K. Etiology of acute leukemia: a review. *Cancers (Basel)*. 2021;13(9):2256. DOI: 10.3390/cancers13092256.
4. Illmer T, Schuler U, Thiede C, Schwarz U, Kim R, Gotthard S, Freund D, Schakel U, Ehninger G, Schaich M. MDR1 Gene Polymorphisms Affect Therapy Outcome in Acute Myeloid Leukemia Patients. *Cancer Research*. 2002;62:4955–4962.
5. Bagdasaryan AA, Chubarev BB, Smolyarchuk EA, Drozdov VN, Krasnyuk II, Liu J, Ruitai F, Tse E, Shikh EV, Sukocheva OA. Pharmacogenetics of Drug Metabolism: The Role of Gene Polymorphism in the Regulation of Doxorubicin Safety. *Cancers*. 2022;14:5436–5441. DOI: 10.3390/cancers14215436.
6. Tsang BL, Devine OJ, Cordero AM, et al. Assessing the association between the methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) 677C>T polymorphism and blood folate concentrations: a systematic review and meta-analysis of trials and observational studies. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2015;101(6):1286–1294. DOI: 10.3945/ajcn.114.099994.
7. Robien K, Ulrich C. 2, 3 5, 10-Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphisms and Leukemia Risk: A HuGE Minireview. *American Journal of Epidemiology*. 2003;157:571–582. DOI: 10.1093/aje/kwg024.
8. Krajcinovic M, Lamothe S, Labuda D, Lemieux-Blanchard E, Theoret T, Moghrabi A, Sinnett D. Role of *MTHFR* genetic polymorphisms in the susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2004;103(1):252–257. DOI: 10.1182/blood-2003-06-1794.
9. Амромина АМ, Ситников ИА, Шаихова ДР. Взаимосвязь полиморфных вариантов генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* с риском развития заболеваний (обзор литературы). *Гигиена и санитария*. 2021;100(12):1385–1390. DOI: 10.47470/0016-9900-2021-100-12-1385-1390.
10. Moulik NR, Parveen F, Kumar A, Agrawal S. Glutathione-S-transferase polymorphism and acute lymphoblastic leukemia (ALL) in north Indian children: a case–control study and meta-analysis. *Journal Human Genetics*. 2014;59:529–535. DOI: 10.1038/jhg.2014.66.
11. Takanashi M, Mjrimoto A, Yagi A, Kuriyama K, Kano G, Imamura T, Hibi S, Todo S, Imashuku S. Impact of glutathione S-transferase gene deletion on early relapse in childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2003;88:1238–1244.
12. Rocha J, Cheng C, Liu W, Kishi S, Das S, Cook E, Sandlund J, Rubnitz J, Ribeiro R, Campana D, Pui C, Evans W, Relling M. Pharmacogenetics of outcome in children with acute lymphoblastic leukemia *Blood*. 2005;105(12):4752–4758. DOI: 10.1182/blood-2004-11-4544.
13. Ling M R. Isolation of Total Cellular DNA from Tissues and Cultured Cells. *Molecular Biomethods Handbook*. Totowa: Humana Press; 1996. p. 9–16.
14. Song P, Li S, Meibohm B, Gaber A, Honaker M, Kotb M, Yates C. Detection of *MDR1* single Nucleotide polymorphisms C3435T and G2677T using real-time polymerase chain reaction: *MDR1* single nucleotide polymorphism genotyping assay. *AAPS PharmSciTech*. 2002;4(4):89–94. DOI: 10.1208/ps040429.
15. Schmitz C, Lindpaintner K, Verhoef P, Gaziano JM, Buring J. Genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase and myocardial infarction. A case-control study. *Circulation*. 1996;94(8):1812–4. DOI: 10.1161/01.cir.94.8.1812.
16. Chang JG, Lee LS, Chen CM, Shih MC, Wu MC, Tsai FJ, Liang DC. Molecular analysis of thiopurine S-methyltransferase alleles in South-east Asian populations. *Pharmacogenetics*. 2002;12(3):191–195. DOI: 10.1097/00008571-200204000-00003.
17. Urayama K, Wiencke J, Buffler P, Chokkalingam A, Metayer C, Wiemels J. *MDR1* gene variants, indoor insecticide exposure and the risk of childhood lymphoblastic leukemia. *Cancer Epidemiology & Prevention*. 2007;16(6):1172–1177. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-07-0007.
18. Hattori H, Suminoe A, Wada M, Koga Y, Kohno K, Okamura J, Hara T, Matsuzaki A. Regulatory polymorphisms of multidrug resistance 1 (*MDR1*) gene are associated with the development of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia Research*. 2007;31(12):1633–40. DOI: 10.1016/j.leukres.2007.04.009.
19. Botto L, Yang Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Variants and Congenital Anomalies. *American Journal of Epidemiology*. 2000;151:862–877. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a010290.

20. Kargas C, Krupa R, Walter Z. Combined genotype analysis of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms in a Polish population. *Human Biology*. 2003;75(2):301–307. DOI: 10.1353/hub.2003.0033.
21. Гра О, Глотов А, Кожекбаева Ж, Макарова О, Наседкина Т. Генетический полиморфизм GST, NAT2 и MTHFR и предрасположенность к развитию острого лейкоза детей. *Молекулярная биология*. 2008;42(2):214–225.
22. Barnette P, Scholl R, Blandford M, Ballard L, Tsodikov A, Magee J, Williams S, Robertson M, Ali-Osman F, Lemons R, Keller C. High-Throughput Detection of Glutathione S-Transferase Polymorphic Alleles in a Pediatric Cancer Population. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2004;13:304–313.
23. Alves S, Amorim A, Ferreira F, Norton L., Prata M. The GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphisms and susceptibility to acute lymphoblastic leukemia in children from north Portugal. *Leukemia*. 2002;16:1565–1567. DOI: 10.1038/sj.leu.2402543.
24. Cheok M, Evans W. Acute lymphoblastic leukaemia: a model for the pharmacogenomics of cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*. 2006;6:117–129. DOI: 10.1038/nrc1800.
25. de Jonge R, Tissing W, Hooijberg J, Jansen G, Kaspers G, Lindemans J, Peters G, Pieters R. Polymorphism in folate-related genes and risk of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2004;113(10):2284–2289. DOI: 10.1182/blood-2008-07-165928.
26. Sakaeda T. MDR1 genotype- related pharmacokinetics: fact or fiction? *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 2005;20(6):391–414. DOI: 10.2133/dmpk.20.391.

References

1. Reizine NM, O'Donnell PH. Modern developments in germline pharmacogenomics for oncology prescribing. *CA Cancer Journal for Clinicians*. 2022;72(4):315–332. DOI: 10.3322/caac.21722.
2. Weiss J, Kopecky K, Godwin J, Anderson J, Willman C, Moysich K, Slovak M, Hoque A, Ambrosone C. Glutathione S-transferase (GSTM1, GSTT1 and GSTA1) polymorphisms and outcomes after treatment for acute myeloid leukemia: pharmacogenetics in Southwest Oncology Group (SWOG) clinical trials. *Leukemia*. 2007;20(12):2169–2171. DOI: 10.1038/sj.leu.2404421.
3. Cameron K. Etiology of acute leukemia: a review. *Cancers (Basel)*. 2021;13(9):2256. DOI: 10.3390/cancers13092256.
4. Illmer T, Schuler U, Thiede C, Schwarz U, Kim R, Gotthard S, Freund D, Schakel U, Ehninger G, Schaich M. MDR1 Gene Polymorphisms Affect Therapy Outcome in Acute Myeloid Leukemia Patients. *Cancer Research*. 2002;62:4955–4962.
5. Bagdasaryan AA, Chubarev BB, Smolyarchuk EA, Drozdov VN, Krasnyuk II, Liu J, Ruitai F, Tse E, Shikh EV, Sukocheva OA. Pharmacogenetics of Drug Metabolism: The Role of Gene Polymorphism in the Regulation of Doxorubicin Safety. *Cancers*. 2022;14:5436–5441. DOI: 10.3390/cancers14215436.
6. Tsang BL, Devine OJ, Cordero AM, et al. Assessing the association between the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677C>T polymorphism and blood folate concentrations: a systematic review and meta-analysis of trials and observational studies. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2015;101(6):1286–1294. DOI: 10.3945/ajcn.114.099994.
7. Robien K, Ulrich C. 2, 3 5, 10-Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphisms and Leukemia Risk: A HuGE Minireview. *American Journal of Epidemiology*. 2003;157:571–582. DOI: 10.1093/aje/kwg024.
8. Krajcinovic M, Lamothe S, Labuda D, Lemieux-Blanchard E, Theoret T, Moghrabi A, Sinnett D. Role of MTHFR genetic polymorphisms in the susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2004;103(1):252–257. DOI: 10.1182/blood-2003-06-1794.
9. Amromina AM, Sitnikov IA, Shaikhova DR. *Vzaimosvyaz' polimorfnykh variantov genov GSTM1, GSTT1, GSTP1 s riskom razvitiya zabolevaniy (obzor literatury)* [Relationship of polymorphic variants of GSTM1, GSTT1, GSTP1 genes with the risk of disease development]. *Hygiene and Sanitation*. 2021;100(12):1385–1390. DOI: 10.47470/0016-9900-2021-100-12-1385-1390. Russian.
10. Moulik NR, Parveen F, Kumar A, Agrawal S. Glutathione-S-transferase polymorphism and acute lymphoblastic leukemia (ALL) in north Indian children: a case-control study and meta-analysis. *Journal Human Genetics*. 2014;59:529–535. DOI: 10.1038/jhg.2014.66.
11. Takanashi M, Mjrimoto A, Yagi A, Kuriyama K, Kano G, Imamura T, Hibi S, Todo S, Imashuku S. Impact of glutathione S-transferase gene deletion on early relapse in childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2003;88:1238–1244.
12. Rocha J, Cheng C, Liu W, Kishi S, Das S, Cook E, Sandlund J, Rubnitz J, Ribeiro R, Campana D, Pui C, Evans W, Relling M. Pharmacogenetics of outcome in children with acute lymphoblastic leukemia *Blood*. 2005;105(12):4752–4758. DOI: 10.1182/blood-2004-11-4544.
13. Ling M R. Isolation of Total Cellular DNA from Tissues and Cultured Cells. *Molecular Biomethods Handbook*. Totowa: Humana Press; 1996. p. 9–16.
14. Song P, Li S, Meibohm B, Gaber A, Honaker M, Kotb M, Yates C. Detection of MDR1 single Nucleotide polymorphisms C3435T and G2677T using real-time polymerase chain reaction: MDR1 single nucleotide polymorphism genotyping assay. *AAPS PharmSciTech*. 2002;4(4):89–94. DOI: 10.1208/ps040429.
15. Schmitz C, Lindpaintner K, Verhoef P, Gaziano JM, Buring J. Genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase and myocardial infarction. A case-control study. *Circulation*. 1996;94(8):1812–4. DOI: 10.1161/01.cir.94.8.1812.
16. Chang JG, Lee LS, Chen CM, Shih MC, Wu MC, Tsai FJ, Liang DC. Molecular analysis of thiopurine S-methyltransferase alleles in South-east Asian populations. *Pharmacogenetics*. 2002;12(3):191–195. DOI: 10.1097/00008571-200204000-00003.
17. Urayama K, Wiencke J, Buffler P, Chokkalingam A, Metayer C, Wiemels J. MDR1 gene variants, indoor insecticide exposure and the risk of childhood lymphoblastic leukemia. *Cancer Epidemiology & Prevention*. 2007;16(6):1172–1177. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-07-0007.

18. Hattori H, Suminoe A, Wada M, Koga Y, Kohno K, Okamura J, Hara T, Matsuzaki A. Regulatory polymorphisms of multidrug resistance 1 (MDR1) gene are associated with the development of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia Research*. 2007;31(12):1633–40. DOI: 10.1016/j.leukres.2007.04.009.
19. Botto L, Yang Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Variants and Congenital Anomalies. *American Journal of Epidemiology*. 2000;151:862–877. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a010290.
20. Kargas C, Krupa R, Walter Z. Combined genotype analysis of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms in a Polish population. *Human Biology*. 2003;75(2):301–307. DOI: 10.1353/hub.2003.0033.
21. Gra O, Glotov A, Kozhekbaeva J, Makarova O, Nasedkina T. *Geneticheskiy polimorfizm GST, NAT2 i MTNFR i predispozitsionnost' k razvitiyu ostrogo leykoza detey* [Genetic polymorphism of GST, NAT2 and MTHFR and predisposition to development of childhood acute leukemia]. *Molecular Biology*. 2008;42(2):214–225. Russian.
22. Barnette P, Scholl R, Blandford M, Ballard L, Tsodikov A, Magee J, Williams S, Robertson M, Ali-Osman F, Lemons R, Keller C. High-Throughput Detection of Glutathione S-Transferase Polymorphic Alleles in a Pediatric Cancer Population. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2004;13:304–313.
23. Alves S, Amorim A, Ferreira F, Norton L., Prata M. The GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphisms and susceptibility to acute lymphoblastic leukemia in children from north Portugal. *Leukemia*. 2002;16:1565–1567. DOI: 10.1038/sj.leu.2402543.
24. Cheok M, Evans W. Acute lymphoblastic leukaemia: a model for the pharmacogenomics of cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*. 2006;6:117–129. DOI: 10.1038/nrc1800.
25. de Jonge R, Tissing W, Hooijberg J, Jansen G, Kaspers G, Lindemans J, Peters G, Pieters R. Polymorphism in folat-related genes and risk of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2004;113(10):2284–2289. DOI: 10.1182/blood-2008-07-165928.
26. Sakaeda T. MDR1 genotype- related pharmacokinetics: fact or fiction? *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 2005;20(6):391–414. DOI: 10.2133/dmpk.20.391.

Статья поступила в редколлегию 09.03.2023.
Received by editorial board 09.03.2023.