

УДК 577.213

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ *hOGG1* И *ADPRT* У КОРЕННОГО И ПРИШЛОГО НАСЕЛЕНИЯ ТАШТАГОЛЬСКОГО РАЙОНА КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ***В. И. Минина, В. Г. Дружинин, А. Н. Глушков, А. А. Тимофеева, А. В. Ларионов*****MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF *hOGG1* AND *ADPRT* POLYMORPHISM AMONG INDIGENOUS AND MIGRANT POPULATIONS OF THE KEMEROVO REGION*****V. I. Minina, V. G. Druzhinin, A. N. Glushkov, A. A. Timopheeva, A. V. Larionov***

Проведено исследование полиморфизма генов *hOGG1Ser326Cys* и *ADPRT Val762Ala* в выборках представителей двух этносов, проживающих в Таштагольском районе Кемеровской области (шорцы, русские). Частота встречаемости минорных аллелей: *hOGG1 Cys* и *ADPRT Ala* в группе шорцев соответствуют данным, полученным для монголоидов (в различных популяциях мира) и статистически значимо превышает встречаемость этих аллелей в группе русских Кемеровской области. Эти данные свидетельствуют о большом удельном весе монголоидного компонента в генофонде коренного малочисленного народа Сибири – шорцев.

Gene polymorphism *hOGG1Ser326Cys* and *ADPRT Val762Ala* in two ethnic groups of the Kemerovo region (Shors, Russian) has been studied. The frequency of minor alleles: *hOGG1 Cys* and *ADPRT Ala* group Shors corresponds to data obtained for Mongoloid (in various world populations) and significantly higher than the incidence of these alleles in a group of Russian Kemerovo region. These data indicate a high specific weight of the Mongoloid component in the genome of the indigenous people of Siberia – Shor.

Ключевые слова: генетический полиморфизм *hOGG1*, *ADPRT*.

Keywords: genetic polymorphism *hOGG1*, *ADPRT*.

В настоящее время динамично развиваются молекулярно-генетические методы, позволяющие выявить этнические различия на молекулярном уровне. Индивидуальный набор полиморфных вариантов генов способен оказывать существенное влияние на адаптационные возможности организма. В этой связи активно изучается вклад генов репарации ДНК, в частности, его роль в формировании индивидуальной чувствительности генома к повреждающим мутагенным воздействиям. В настоящее время известно более 150 генов, принимающих участие в различных путях репарации [15]. Считается, что большинство повреждений ДНК удаляется белками эксцизионной репарации оснований (base excision repair, BER). Среди генов, кодирующих ферменты BER, особое внимание привлекают *hOGG1* и *ADPRT*.

Ген *hOGG1* (human 8-oxoguanine DNA glycosylase) кодирует ключевой фермент BER, удаляющий из ДНК остатки 8-оксогуанина, образующегося под действием активных форм кислорода. Один из полиморфизмов гена *hOGG1*, приводящий к замене Ser на Cys в 326 положении, ассоциирован со сниженной активностью фермента 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы [5]. Ген *ADPRT* (adenosine diphosphate ribosyl transferase) кодирует ассоциированный с хроматином фермент поли-АДФ-рибозилполимераза (PARP). Данный фермент вовлечён в реакции репарации ДНК, поврежденной химическими мутагенами, активными формами кислорода и ионизирующей радиацией. Аллель гена *ADPRT*, который несет трансверсию Т→С в 40 676 положении, приводящую к аминокислотной замене Val762Ala в кодируемом белке ассоциирован с пониженной способностью связывать XRCC1 и другие белки репарации, сниженной функциональной активностью фермента [8].

В связи с этим целью исследования стал анализ полиморфизма генов репарации ДНК у представителей коренного (шорцы) и пришлого населения (русские) Кемеровской области, а также сопоставление полученных частот аллелей и генотипов с данными мировой литературы.

Материалы и методы

Исследуемая выборка включала 253 человека (117 мальчиков и 136 девочек, средний возраст 13.2 ± 0.24 года). Среди них: шорцев – 141 человек, русских – 112 человек (из них 51 человек проживает в школе-интернате г. Таштагола Кемеровской области, 29 человек проживают в с. Красное Ленинск-Кузнецкого района и 32 – в с. Пача Яшкинского района Кемеровской области).

Шорцы – тюркоязычный народ, имеющий официальный статус «коренного малочисленного народа Севера». Основная территория расселения шорцев – Горная Шория – бассейн среднего течения р. Томи и ее притоков – Кондомы и Мрассу. В отличие от шорцев (коренное население), русские могут рассматриваться как пришлое население Сибири, как представители белой расы (европеоиды). На каждого обследуемого ребенка был оформлен протокол информированного согласия, подписанный родителями либо лицами, осуществляющими опеку над несовершеннолетними.

Для выполнения молекулярно-генетических исследований забирали венозную кровь на антикоагулянт (0,25 мМ ЭДТА-Na) с последующим получением лейкоцезы. Выделение ДНК из этого биологического материала проводили методом фенол-хлороформной экстракции [10]. Образцы ДНК растворяли в 10 мМ Tris/1 EDTA, pH 8.0 и хранили при -20°C .

Для типирования полиморфизмов генов *hOGG1Ser326Cys* и *ADPRT Val762Ala* использовали коммерческую тест-систему «SNP-express» (НПФ «Литех», г. Москва). ПЦР проводили на амплификаторах ТЕРЦИК (НПФ «ДНК-Технология», Россия) по программе, рекомендованной производителем набора. Амплифицированные фрагменты ДНК разделяли электрофоретически в горизонтальном 3 % агарозном геле. После окончания электрофореза гель окрашивали раствором бромистого этидия и визуализировали в проходящем ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе.

Статистический анализ первичных данных осуществляли средствами STATISTICA for WINDOWS v.6. Оценку достоверности различий в распределении полиморфных вариантов проводили стандарт-

ным методом χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. Оценку соответствия распределений полиморфных вариантов равновесию Харди-Вайнберга осуществляли с использованием интернет-ресурса: <http://www.genes.org.uk/software/hardy-weinberg.shtml> [9].

Результаты и обсуждение

В изученных выборках детей распределения частот аллелей и генотипов изученных полиморфных маркеров не имели отклонений от равновесия Харди-Вайнберга. Полученные в результате проведенного исследования значения частот аллелей и генотипов у шорцев и русских в сравнении с данными литературы представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Полиморфизм гена *hOGG1 Ser326Cys* в различных этнических группах

Объем выборки	Генотип n (%)			Частота минорного аллеля	Группа	Источник
	Ser/Ser	Ser/Cys	Cys/Cys	q (Cys)		
N=134	37(27,61)*	73(54,48)*	24(17,91)*	0,45	Шорцы КО	СД
N=99	56(56,57)#	37(37,37)#	6(6,06)#	0,25	Русские КО	СД
N=159	98(61,63)	53(33,33)	8(5,03)	0,22	Европеоиды (Гавайи)	[6]
N=242	154(63,64)	75(30,99)	13(5,37)	0,21	Европеоиды (Чехия)	[12]
N=386	194(50,26)	117(30,31)	75(19,43)	0,36	Европеоиды (Норвегия)	[13]
N=248	141(56,85)	96(38,71)	11(4,44)	0,39	Европеоиды (Ирландия)	[3]
N=150	50(33,33)	74(49,33)	26(17,33)	0,42	Японцы (Гавайи)	[6]
N=96	29(30,21)	48(50,00)	19(19,79)	0,45	Коренные гавайцы	[6]
N=197	85(32)	117(54,3)	75(13,7)	0,41	Монголоиды (Япония)	[11]
N=479	184(38,4)	216(45,1)	79(16,5)	0,39	Китайцы Хань	[4]

Примечание. Здесь и далее: КО – Кемеровская область; СД – собственные данные;

* $p < 0,05$ в сравнении с аналогичными генотипами у русских КО и европеоидов Чехии, Ирландии, о. Гавайи;

$p < 0,05$ в сравнении с аналогичными генотипами у шорцев КО, китайцев, японцев, гавайцев.

Таблица 2

Полиморфизм гена *ADPRT Val762Ala* в различных этнических группах

Объем выборки	Генотип (%)			Частота минорного аллеля	Популяция	Источник
	Val/Val	Val/Ala	Ala/Ala	q (Ala)		
N=141	40(28,37)*	71(50,35)	30(21,28)*	0,47	Шорцы КО	СД
N=112	60(53,57)#	44(39,29)	8(7,14)#	0,22	Русские КО	СД
N=603	413(68,50)	173(28,70)	17(2,80)	0,17	Европеоиды (США)	[7]
N=427	313(73,3)	107(25,01)	7(1,63)	0,14	Европеоиды (Мексика)	[8]
N=449	299(66,6)	140(31,2)	10(2,2)	0,18	Европеоиды (Нидерланды)	[2]
N=1000	359(35,90)	504(50,40)	137(13,70)	0,39	Монголоиды (Китайцы)	[13]
N=479	168(35,1)	230(48)	81(16,9)	0,41	Монголоиды (Китайцы Хань)	[4]

Примечание. * $p < 0,05$ в сравнении с аналогичными генотипами у русских КО, европеоидов США, Мексики, Нидерландов и китайцев [12],

$p < 0,01$ в сравнении с аналогичными генотипами у шорцев КО, европеоидов США, Нидерландов и Мексики.

Частоты генотипов *hOGG1* в группе шорцев сопоставляются с данными, полученными для монголоидов (например японцев, китайцев, гавайцев), а частоты в группе русских сопоставимы с данными, по-

лученными для представителей белой расы (европеоиды). При сравнении представителей коренного (шорцы) и пришлого (русские) населения Кемеровской области были выявлены статистически значи-

мые отличия частоты встречаемости генотипов hOGG1 Ser/Ser ($\chi^2 = 18,71$; $p = 0,00001$), Ser/Cys ($\chi^2 = 6,01$; $p = 0,01$), Cys/Cys ($\chi^2 = 6,11$; $p = 0,013$). Аллель hOGG1 Cys в 1,8 раза чаще встречается в группе шорцев, чем в группе русских ($\chi^2 = 19,58$; $p = 0,00001$).

Распределение генотипов ADPRT в группе русских КО отличается от данных по частотам генотипов, полученных для групп европеоидов США, Мексики, Нидерландов. У русских КО повышена частота минорного аллеля Ala – 7,14 %, тогда как в группах сравнения она составила 2,80; 1,63 и 2,2 %. Требуется дополнительное увеличение объема выборки с тем, чтобы выяснить, не являются ли данные отличия статистическим артефактом. В группе шорцев КО наблюдается сходство распределения генотипов ADPRT с группой китайцев Хань и статистически значимое отличие от распределений в группах европеоидов США, Мексики, Нидерландов и китайцев [13]. При сравнении представителей коренного (шорцы) и пришлого (русские) населения Кемеровской области были выявлены статистически значимые отличия частоты встречаемости генотипов ADPRT Val/Val ($\chi^2 = 15,55$; $p = 0,0001$) и Ala/Ala ($\chi^2 = 8,69$; $p = 0,003$). Аллель ADPRT Ala в группе шорцев встречался в 1,7 раза чаще, чем в группе русских ($\chi^2 = 19,72$; $p = 0,00001$).

Повышенная частота встречаемости минорных аллелей генов hOGG1 и ADPRT в группе шорцев, по сравнению с русскими, может быть вызвана большим удельным весом монголоидного компонента в этногенезе шорцев [1].

Полученные результаты о существовании межэтнических отличий полиморфизма генов репарации ДНК у жителей Кузбасского промышленного региона могут иметь важное значение при проведении ассоциативных исследований. Например, при выявлении генов предрасположенности к различным мультифакториальным заболеваниям или к наследственно обусловленной чувствительности к действию мутагенов.

Работа поддержана государственным контрактом ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007 – 2012 годы» № 16.512.11.2062; грантом РФФИ, 10-04-00497-а.

Литература

1. Ульянова, М. В. Динамика популяционно-генетической структуры шорцев Южной Сибири / М. В. Ульянова: автореф. ... дис. канд. – Кемерово. – 2010. – 23 с.
2. Emonts, M. Polymorphisms in genes controlling inflammation and tissue repair in rheumatoid arthritis: a case control study / M. Emonts, M. Hazes // BMC Medical Genetics. – 2011. – V. 12. – P. 36 – 45.
3. Ferguson, H. R. No Association between hOGG1, XRCC1, and XPD polymorphisms and risk of reflux esophagitis, barrett's esophagus, or esophageal

adenocarcinoma: results from the factors influencing the barrett's adenocarcinoma relationship case-control study / H. R. Ferguson, C. P. Wild, L. A. Anderson // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. – 2008. – V. 17 (3). – P. 736 – 739.

4. Hao, B. Identification of genetic variants in base excision repair pathway and their associations with risk of esophageal squamous cell carcinoma / B. Hao, H. Wang, Zhou, K. et al. // Cancer research. – 2004. – V. 64. – P. 4378 – 4384.

5. Kohno, T. Genetic polymorphisms and alternative splicing of the hOGG1 gene, that is involved in the repair of 8-hydroxyguanine in damaged DNA / T. Kohno, K. Shinmura, Tosaka, M. et al. // Oncogene. – 1998. – V. 16. – P. 3219 – 3225.

6. Le Marchand, L. Association of the hOGG1 Ser326Cys polymorphism with lung cancer risk / L. Marchand, T. Donlon, Lum-Jones, A. et al. // Cancer epidemiology, Biomarker & Prevention. – 2002. – V. 11. – P. 409 – 412.

7. Li, C. Genetic variants of the ADPRT, XRCC1 and APE1 genes and risk of cutaneous melanoma / C. Li, Z., Wang, Li-E. et al. // Carcinogenesis. – 2006. – V. 27. – № 9. – P. 1894 – 1901.

8. Lockett, K. L. The ADPRT V762A genetic variant contributes to prostate cancer susceptibility and deficient enzyme function / K. L. Lockett, M. C. Hall, J. S. et al. Xu // Cancer research. – 2004. – V. 64. – P. 6344 – 6348.

9. Rodriguez, S. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological Ascertainment for Mendelian Randomization Studies / S. Rodriguez, T. R. Gaunt, I. N. M. Day // American Journal of Epidemiology. – 2009. – DOI 10.1093/aje/kwn359.

10. Sambrook, J. Molecular cloning: a laboratory manual / J. Sambrook // Cold Spring Harbor Laboratory Press. – Cold Spring Harbor, 1989.

11. Sugimura, H. hOGG1 Ser326Cys polymorphism and lung cancer susceptibility / H. Sugimura, T. Kohno, Wakai, K., et al. // Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. – 1999. – Vol. 8. – P. 669 – 674.

12. Vodicka, P. Association of DNA repair polymorphisms with DNA repair functional outcomes in healthy human subjects / P. Vodicka, R. Stetina, Polakova, V. et al. // Carcinogenesis. – 2007. – Vol. 28. – No. 3. – P. 657 – 664.

13. Zhang, X. Polymorphisms in DNA base excision repair genes ADPRT and XRCC1 and risk of lung cancer / X. Zhang, X. Miao, Liang, G. et al. // Cancer Res. – 2005. – V. 65. – P. 722 – 726.

14. Zienolddiny, S. Polymorphisms of DNA repair genes and risk of non-small cell lung cancer / S. Zienolddiny, D. Campa, Lind, H. et al. // Carcinogenesis. – 2006. – V. 27. – №. 3. – P. 560 – 567.

15. Wood, R. D. Human DNA repair genes / R. D. Wood, M. Mitchell, T. Lindahl // Mutat. Res. – 2005. – V. 577. – P. 275 – 283.