

## ВАЛИДАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ШИРОКОГЕНОМНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ СВЯЗИ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ С ПОВЫШЕННОЙ ЧАСТОТОЙ МАРКЕРОВ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Халюзова М.В.<sup>1,3</sup>, Литвяков Н.В.<sup>1,2,3</sup>, Сазонов А.Э.<sup>1,4</sup>, Альбах Е.Н.<sup>1</sup>, Исубакова Д.С.<sup>1</sup>, Карпов А.Б.<sup>1,4</sup>, Тахауов Р.М.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Северский биофизический научный центр ФМБА России, г. Северск

<sup>2</sup> НИИ онкологии СО РАМН, г. Томск

<sup>3</sup> Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

<sup>4</sup> Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

### РЕЗЮМЕ

Представлены результаты исследования по выборочной валидации, на большой независимой выборке связи генетических полиморфизмов с повышенной частотой хромосомных aberrаций. Эти полиморфизмы ранее были идентифицированы в ходе собственных широкогеномных микрочиповых исследований, они показали связь повышенной частотой дицентриков и кольцевых хромосом, индуцируемых радиационным воздействием. Исследование проводилось на выборке работников Сибирского химического комбината (г. Северск) ( $n = 573$ ), подвергавшихся радиационному воздействию в дозе от 40 до 400 мЗв. Связь с повышенной частотой дицентриков и (или) кольцевых хромосом была подтверждена для пяти полиморфных локусов из шести обследованных: *INSR* rs1051690 – гена инсулинового рецептора, *PCTP* rs2114443 – гена белка-переносчика фосфатидилхолина, *VCAM1* rs1041163 – гена сиалогликопротеина мембраны эндотелиальных клеток, *TNKS* rs7462102 – гена танкиразы, *WRN* rs1800389 – гена синдрома Вернера. Полиморфизм гена инсулиноподобного фактора роста 1 (*IGF1* rs2373721) не подтвердил связь с повышенной частотой маркеров радиационного воздействия.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** полиморфизм генов, хромосомные aberrации, индивидуальная радиочувствительность, радиационное воздействие.

### Введение

Изучению вклада генетического полиморфизма в формирование индивидуальной чувствительности генома человека к действию радиации посвящены работы отечественных [1–7] и зарубежных авторов [8–10]. Однако на сегодняшний день поиск генетических маркеров радиочувствительности человека не дал сколько-нибудь определенных и воспроизводимых результатов. Практически по всем наиболее часто исследуемым генам-кандидатам имеющиеся в литературе данные противоречивы [11].

Основные недостатки исследований, посвященных поиску генетических маркеров индивидуальной радиочувствительности (ИРЧ), связаны с малочисленностью и негомогенностью выборок, а также с вовлечением в исследование небольшого числа полиморф-

ных локусов. В 2013 г. нами был предложен подход к решению этой проблемы [1]. С помощью технологии микроматриц (microarray) было проведено широкогеномное исследование связи 1421 однонуклеотидных полиморфизмов с частотой хромосомных aberrаций (ХА) у 96 работников Сибирского химического комбината (СХК) (г. Северск), подвергавшихся профессиональному радиационному воздействию в диапазоне доз 100–300 мЗв. Идентифицировано 40 SNP, ассоциированных с повышенной частотой различных типов ХА, индуцированных хроническим радиационным воздействием низкой интенсивности. Из 40 выявленных полиморфных локусов с повышенной частотой дицентрических и кольцевых хромосом (маркеров радиационного воздействия) связано 20 SNP (rs1800389, rs1051690, rs2392221, rs1041163, rs2114443, rs1760904, rs4986894, rs488133, rs7462102, rs11249938, rs34206126, rs33945943, rs34324628, rs5742694, rs978458, rs5742667, rs2373721, rs2162679, rs889162, rs2233679). Результаты любого

✉ Халюзова Мария Вячеславовна, тел./факс: 8 (3823) 99-40-01; 99-40-02; e-mail: gedonna@yandex.ru; mail@sbrc.ru

микроматричного исследования требуют подтверждения на независимой и, желательно, большой выборке.

Цель исследования – выборочная валидация на большой выборке работников СХК связи некоторых из идентифицированных в микроматричных исследованиях полиморфизмов с повышенной частотой хромосомных аберраций, индуцируемых хроническим радиационным воздействием.

## Материал и методы

Объектом исследования служила кровь 573 здоровых работников Сибирского химического комбината – крупнейшего в мире предприятия атомной отрасли, подвергавшихся долговременному радиационному воздействию в процессе профессиональной деятельности. Кровь брали из локтевой вены утром натощак в стерильные контейнеры Vacuette с гепарином и в стерильные контейнеры Vacuette с ЭДТА. В соответствии с действующими международными нормами от всех работников СХК, участвующих в данном исследовании, было получено информированное согласие.

Критериями включения в исследование являлись: мужской пол, славянская национальность, возраст 45–65 лет, хроническое внешнее радиационное воздействие ( $\gamma$ -излучение) в диапазоне доз 40–400 мЗв, наличие анализа частоты и спектра ХА (не менее чем по 300 метафазам).

Характеристика обследованных лиц представлена в табл. 1.

Таблица 1

Характеристика обследованных работников Сибирского химического комбината		Значение
Показатель		
Количество обследованных, <i>n</i>		573
Возраст ( <i>M</i> ± <i>SE</i> ), лет		53,8 ± 0,41
Стаж ( <i>M</i> ± <i>SE</i> ), лет		28,72 ± 0,47
Доза внешнего облучения, мЗв	<i>M</i> ± <i>SE</i>	147,79 ± 8,85
	<i>Me</i> ( <i>Q</i> <sub>1</sub> – <i>Q</i> <sub>3</sub> )	84,4 (59–190,52)

Примечание. *M* – среднее арифметическое в группе; *SE* – ошибка среднего; *Me* – медиана; *Q*<sub>1</sub>–*Q*<sub>3</sub> – интерквартильный размах.

Данные об индивидуальных дозах внешнего  $\gamma$ -излучения (внешнему облучению подвергался преимущественно персонал реакторного производства), измеренных с помощью фотоплочных и термолюминесцентных дозиметров, были получены из отдела охраны труда, ядерной и радиационной безопасности СХК.

Для всех обследованных проведен стандартный цитогенетический анализ частоты и спектра ХА в лимфоцитах периферической крови (не менее чем по 300 метафазам). Для постановки культуры использовали цельную кровь, которую смешивали с культуральной

средой и инкубировали в культуральных флаконах при температуре 37 °С в суховоздушном термостате.

Состав среды: 85% среды RPMI 1640, 15% эмбриональной телячьей сыворотки. В бакпечатки с 8 мл среды вносили 2 мл цельной крови и 2–2,5%-й фитогемагглютинаина (Sigma, США). После инкубации в течение 45 ч в культуры добавляли колхицин до конечной концентрации 0,06 мкг/мл и продолжали культивирование еще 3 ч. Для получения метафаз использовали общепринятую схему обработки материала: гипотонизация с помощью 0,56%-го раствора KCl, содержавшего 0,95%-й цитрат натрия, фиксация смесью этанола и ледяной уксусной кислоты в объемном соотношении 3 : 1, раскапывание клеточной суспензии на охлажденные и обезжиренные предметные стекла. Рутинную окраску хромосом проводили красителем Гимза, приготовленным на фосфатном буфере. Хромосомный анализ осуществляли на зашифрованных препаратах с помощью микроскопа «Leica DM2500» (Германия) при малом (10 × 10) и большом (10 × 100) увеличении. Анализировали все виды аберраций хромосом, распознаваемых без кариотипирования: парные фрагменты и точечные парные фрагменты (суммировали), кольцевые хромосомы, дицентрические хромосомы, число хроматидных фрагментов, транслокации, хроматидные обмены и полиплоидные клетки. Количественно результаты выражали в виде частоты aberrантных клеток и всех типов ХА на 100 проанализированных метафаз.

На следующем этапе геномная ДНК всех обследованных работников была прогенотипирована по 7 SNP-маркерам и оценена связь генотипов с частотой ХА. Были изучены следующие SNP: SNP инсулинового рецептора – *INSR* rs1051690; SNP белка-переносчика фосфатидилхолина – *PCTP* rs2114443; SNP сиалогликопротеина мембраны эндотелиальных клеток – *VCAM1* rs1041163; SNP гена танкиразы, регулирующей длину теломер – *TNKS* rs7462102; SNP гена синдрома Вернера – *WRN* rs1800389; SNP гена инсулиноподобного фактора роста 1 – *IGF1* rs2373721.

Генотипирование проводили при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени [12] на амплификаторе CFX96 Bio-Rad Laboratories. Праймеры и зонды по технологии TaqMan были разработаны при помощи программы VectorNTI 11.5 и баз данных <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> и <http://snp500cancer.nci.nih.gov/>. Последовательность праймеров и зондов представлена в табл. 2.

ПЦР смесь на 1 пробу (общим объемом 15 мкл) содержала: 1 мкл ДНК, 1,5 мкл буфера для Taq-полимеразы 10-кратного (160 ммоль (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 670 ммоль Трис-HCl, 15 ммоль MgCl<sub>2</sub>, 0,1% Tween-20) (Сибэнзим, Россия), 1,5 мкл MgCl<sub>2</sub> с концентрацией

25 ммоль, 1,5 мкл dNTP с концентрацией 2,5 ммоль (Сибэнзим, Россия), 0,2 мкл Таq ДНК-полимеразы

Таблица 2

Последовательность праймеров и зондов исследуемых полиморфизмов			
Полиморфизм	Праймер/ зонд	Последовательность	Температура отжига, °C
<i>TNKS T&gt;C</i> rs7462102	Sense Antisense Zond 1 Zond 2	5'-agcacgaggatattaagagagaa-3' 5'-accattcaagaaaataatcactg-3' ROX5'-gaactcatcactctttttgtgtctcaaa-3' BHQ2 T allele wild FAM5'-aactcatcactctttttgtgtcccaa-3' BHQ1 C allele mutant	61
<i>WRN T&gt;C</i> rs1800389	Sense Antisense Zond 1 Zond 2	5'-actgtgttctttttcatcatt-3' 5'-gagctgtttacctaagaggtgtt-3' ROX 5'-tgtaaaggctccaggtctctgtacatt-3' BHQ2 A allele wild FAM 5'-aggctccaggtctctgtgcatt-3' BHQ1 G allele mutant	61
<i>VCAMI T&gt;C</i> rs1041163	Sense Antisense Zond 1 Zond 2	5'-ggacctctgggttactgtt-3' 5'-tgttctagggtgtggga-3' ROX5'-tcctgaatcaatttctgatccct-3' BHQ2 T allele wild FAM5'-tcctgaatcaatttctgatccct-3' BHQ1 C allele mutant	63
<i>INSR T&gt;C</i> rs1051690	Sense Antisense Zond 1 Zond 2	5'-caggattctcacgactctacca-3' 5'-gtaaccaaacgagtcacactt-3' ROX5'-aggaacgatctctgaactccattg-3' BHQ2 T allele wild FAM5'-taggaacgatctctgaactccattg-3' BHQ1 C allele mutant	61
<i>PCTP A&gt;G</i> rs2114443	Sense Antisense Zond 1 Zond 2	5'-ctttgtgcattagtctaggaa-3' 5'-cctcaagtcagtcctgttct-3' ROX5'-ccctttccacacctataaaaccaa-3' BHQ2 A allele wild FAM 5'-ccctttccacacctataaaagcaa-3' BHQ1 G allele mutant	60
<i>IGF1 C&gt;G</i> rs2373721	Sense Antisense Zond 1 Zond 2	5'-gtcctctttccacacattattat-3' 5'-ttctatccctggtagaga-3' ROX5'-tgagcacctactgaatttagacgct-3' BHQ2 C allele wild FAM5'-tgagcacctactgaatttagacgct-3' BHQ1 G allele mutant	61

(Сибэнзим, Россия), по 0,7 мкл каждого из праймеров с концентрацией 10 пмоль/мкл и по 0,7 мкл каждого зонда с концентрацией 10 пмоль/мкл и вода *miLiQ* до 15 мкл. ПЦР ставили в 96-луночных планшетах с 2-шаговой программой, состоящей из следующих циклов: 1 цикл – 94 °C, 5 мин – предварительная денатурация; 42 цикла – 1-й шаг 94 °C, 5 с и 2-й шаг 10 с – при температуре отжига праймеров для соответствующего полиморфизма с фотографированием на длине волны красителей FAM и ROX. Определение генотипов проводилось по кинетическим кривым амплификации в автоматическом режиме, с использованием программного обеспечения CFX96.

Анализ данных выполнялся по рецессивной модели, оценивались различия в частоте ХА между носителями «дикого» + гетерозиготного и мутантного генотипов. Достоверность различий между выборками по бинарным признакам («дикий» + гетерозиготный против мутантного генотипов) по средним значениям ХА оценивали при помощи логистического регрессионного анализа в программе.

Математическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0 for Windows. Для оценки достоверности различий между выборками по средним значениям ХА применяли пара-

метрический *t*-критерий Стьюдента. Статистически значимыми принимали значение  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Полиморфный локус rs1051690 3'UTR в miR-618-связывающем регионе гена *INSR* регулирует экспрессию инсулинового рецептора, который расположен в 19-й хромосоме 19p13.3-p13.2. Комплементарность последовательности и термодинамика связывающего региона играет существенную роль при взаимодействии микроРНК с ее целью. Следовательно, данный полиморфизм может влиять на связывание в miR-618, которая отвечает за регуляцию транскрипции и деградации мРНК. miR-618 в составе комплекса RISC (RNA-induced silencing complex) способна комплементарно взаимодействовать с мРНК. Результатом такого взаимодействия является деградация мРНК-мишени либо репрессия ее трансляции [13].

D. Landi и соавт. провели исследование связи полиморфизма *INSRC/T* rs1051690 с изменением трансляции *INSR* на культурах клеток HeLa с использованием фермента люциферазы для определения уровня мРНК. В результате было определено, что количество мРНК в клетках, содержащих «дикий» аллель *C*, составляет 5,7 против 2,9 по мутантному *T*-аллелю (свечение фермента люциферазы) [14]. Иными словами,

мутантный аллель *T* повышает уровень связывания miR-618 и, как следствие, снижает трансляцию мРНК *INSR* и саму экспрессию гена.

Литературные данные показывают связь полиморфизма с повышенным риском возникновения колоректального рака [14, 15]. Имеются данные о важности полиморфизмов микроРНК-связывающих участков в 3'UTR-регионах для процессов канцерогенеза [16, 17]. Таким образом, полиморфный локус rs1051690 3'UTR в miR-618-связывающем регионе гена *INSR* влияет на экспрессию самого гена.

Согласно проведенным микроматричным исследованиям, полиморфизм *INSR C/T* rs1051690 ассоциирован с повышенной частотой четырех типов ХА, возникающих под действием хронического низкоинтенсивного облучения: хроматидных фрагментов, дицентрических хромосом, кольцевых хромосом и транслокаций [1]. Результаты валидации связи *INSR C/T* rs1051690 с повышенной частотой ХА отображены в табл. 3.

Таблица 3

Частота цитогенетических аномалий (на 100 клеток, $M \pm SE$ ) в зависимости от генотипов <i>INSR C/T</i> rs1051690 (рецессивная модель) у здоровых работников СХК, подвергавшихся профессиональному радиационному воздействию в дозе более 100 мЗв			
Тип aberrаций	<i>CC + CT</i> ( $n = 496$ )	<i>TT</i> ( $n = 77$ )	$p$
Аберрантные клетки	3,315 $\pm$ 0,210	3,905 $\pm$ 1,471	0,7440
Хроматидные фрагменты	1,719 $\pm$ 0,153	2,449 $\pm$ 1,257	0,5229
Парные фрагменты	1,430 $\pm$ 0,198	1,768 $\pm$ 0,957	0,7652
Аберрации хромосомного типа	1,649 $\pm$ 0,211	1,337 $\pm$ 0,503	0,5723
Кольцевые хромосомы	0,082 $\pm$ 0,011	0,400 $\pm$ 0,235	<b>0,0007</b>
Дицентрические хромосомы	0,235 $\pm$ 0,029	0,518 $\pm$ 0,334	0,1359
Хроматидные обмены	0,146 $\pm$ 0,029	0,058 $\pm$ 0,057	0,6154
Транслокации	0,050 $\pm$ 0,012	0,347 $\pm$ 0,247	<b>0,0009</b>
Полиплоиды	1,271 $\pm$ 0,745	0,166 $\pm$ 0,165	0,7956

Примечание. Здесь и в табл. 4–8:  $M$  – среднее арифметическое;  $SE$  – ошибка среднего;  $p$  – уровень статистической значимости, определяемый при помощи логистической регрессии.

Все обследованные были разделены на 2 группы: с дозой внешнего облучения более 100 мЗв (213 работников) и менее 100 мЗв (360 работников). Связь *INSR C/T* rs1051690 с частотой ХА оценивали отдельно в каждой группе. Как показал логистический регрессионный анализ, в группе лиц с дозой внешнего облучения менее 100 мЗв *INSR C/T* rs1051690 в рецессивной модели (*CC + CT* против *TT*) не связан с повышенной частотой ХА. В группе с дозой облучения более 100 мЗв установлена связь данного полиморфизма с частотой кольцевых хромосом и частотой транслокаций с высоким уровнем статистической значимости. У носителей мутантного *TT*-генотипа *INSR C/T* rs1051690 частота данных типов ХА в среднем в 4,5–6,5 раз выше, чем у носителей «дикого» и гетерозиготного генотипов (табл. 3).

Связывание *INSR* с инсулином стимулирует усвоение глюкозы. Были найдены две транскрипционные формы для этого гена. В.Р. Deу и соавт. (1998) определили, что регуляторная субъединица фосфатидилинозитол-3-киназы (PIK3R3) является обязательным лигандом *INSR*. Они пришли к выводу о том, что PIK3R3 взаимодействует с *IGF1R* и *INSR* киназа-зависимым путем, что дает альтернативный способ активации PI3K через эти два рецептора [18]. Имеются данные, что кДНК инсулинового рецептора может быть основой для гормональной активации трансмембранной сигнализации [19]. Следовательно, данный ген может влиять на индивидуальную радиочувствительность через внутриклеточные сигнальные пути (трофические, трансмембранная сигнализация).

Таким образом, на большой выборке подтвердилась связь *INSR C/T* rs1051690 с повышенной частотой кольцевых хромосом (традиционным маркером радиационного воздействия). Поскольку в группе работников СХК с дозой облучения менее 100 мЗв такой связи не наблюдалось, можно полагать, что радиосенсибилизирующее действие мутантного *TT*-генотипа *INSR C/T* rs1051690 проявляется только при облучении в дозах более 100 мЗв.

Идентифицированный ранее в ходе широкогеномных микроматричных исследований, SNP гена *PCTP* rs2114443 *A/G* связан с повышенной частотой хроматидных фрагментов и частотой кольцевых хромосом. Представлен результат исследования связи *PCTP* rs2114443 *A/G* с частотой ХА на большой выборке здоровых работников СХК, подвергавшихся хроническому радиационному воздействию.

В настоящей работе подтвердилась связь *PCTP* rs2114443 *A/G* с повышенной частотой кольцевых хромосом. Помимо этого, дополнительно показана связь данного SNP с частотой дицентрических хромосом (табл. 4). У носителей мутантного *GG*-генотипа частота ХА повышена в среднем в 2,2–6,4 раза по сравнению с носителями «дикого» и гетерозиготного генотипов. Наибольший уровень статистически значимой ассоциации *PCTP* rs2114443 *A/G* с повышенной частотой ХА ( $p = 0,0011$ ) достигается для aberrаций хромосомного типа. Это может свидетельствовать о важной роли белка Pctp в репарации двунитевых разрывов ДНК.

*PCTP* rs2114443 полиморфизм расположен на некодирующем участке с 5'конца, отвечающем за регуляцию транскрипции *PTCP*, следовательно, может повлиять на экспрессию этого гена (<http://compbio.cs.queensu.ca/F-SNP/>). Ген *PCTP* кодирует белок-переносчик фосфатидилхолина, расположен в 17-й хромосоме 17q22. Экспрессируется во всех тканях кроме тимуса [20].

Белок Pctp имеет стероидную природу и содержит START-домен. Он функционирует в цитозоле и катализирует межмембранный перенос только фосфатидилхолина. Этот белок всегда находится в связанном состоянии с фосфатидилхолином, связываясь с мембраной и высвобождая туда фосфатидилхолин, Pctp присоединяет к себе другую молекулу фосфатидилхолина. Затем диффундирует к другой акцептирующей мембране, и процесс повторяется [21].

Таблица 4

**Частота цитогенетических аномалий (на 100 клеток,  $M \pm SE$ ) в зависимости от генотипов *PCTP A/G* rs2114443 (рецессивная модель) у здоровых работников СХК, подвергавшихся профессиональному радиационному воздействию (40–400 мЗв)**

Тип аберраций	AA + AG (n = 564)	GG (n = 9)	p
Аберрантные клетки	2,361 ± 0,146	5,284 ± 1,217	<b>0,0064</b>
Хроматидные аберрации	1,195 ± 0,095	2,995 ± 1,078	<b>0,0187</b>
Хроматидные фрагменты	0,897 ± 0,067	2,615 ± 1,029	<b>0,0101</b>
Парные фрагменты	0,827 ± 0,085	2,174 ± 0,811	<b>0,0209</b>
Аберрации хромосомного типа	1,241 ± 0,107	3,293 ± 1,247	<b>0,0011</b>
Кольцевые хромосомы	0,087 ± 0,013	0,298 ± 0,199	<b>0,0472</b>
Дицентрические хромосомы	0,173 ± 0,017	0,631 ± 0,281	<b>0,0328</b>
Хроматидные обмены	0,068 ± 0,013	0,427 ± 0,175	<b>0,0282</b>
Транслокации	0,032 ± 0,008	0,345 ± 0,295	0,3071
Полиплоиды	0,081 ± 0,013	0,000 ± 0,000	0,5419

Интересным является факт, что ген *PCTP* через влияние на содержание холестерина в клетке имеет связь с апоптозом, который регулирует скорость элиминации хромосомных аберраций. В *PCTP*-отрицательных клетках (исследование проводили на макрофагах) происходило снижение оттока фосфолипидов и холестерина, а при перегрузке клеток холестерином выявлялось значимое повышение апоптоза клеток. Проапоптотический эффект накопления свободного холестерина связывают с его влиянием на мембрану эндоплазматического ретикула. Это указывает на важность роли Pctp в поддержании жидкого состояния мембраны эндоплазматического ретикула и других мембран клетки [26, 27].

Полиморфный локус rs2114443, находящийся в некодирующем участке, отвечающем за регуляцию транскрипции гена *PCTP*, может повлиять на его экспрессию в клетках (<http://compbio.cs.queensu.ca/F-SNP>). По нашему мнению, связь гена *PCTP* и ИРЧ возможна через следующие процессы: поддержание жидкого состояния мембран (перенос фосфатидилхолина), изменение работы транскрипционных факторов в ядре клетки, повышение риска холестерол-индуцированного апоптоза.

Таким образом, на большой выборке была подтверждена связь *PCTP A/G* rs2114443 с повышенной частотой двух типов ХА: хроматидных фрагментов и кольцевых хромосом (традиционных маркеров радиационного

воздействия). Дополнительно установлена связь данного SNP с повышенной частотой аберрантных клеток, хроматидных и хромосомных аберраций, парных фрагментов, дицентрических хромосом (также маркера радиационного воздействия) и хроматидных обменов.

Следующий изученный полиморфизм rs1041163 расположен в позиции 3529 на некодирующем участке гена *VCAM1* вблизи 5'конца, и может влиять на его экспрессию в клетках (<http://compbio.cs.queensu.ca/F-SNP>). Имеются данные, что этот полиморфизм имеет связь с возникновением Т-клеточной лимфомы у взрослых [27]. Ген *VCAM1* – член суперсемейства Ig, кодирует сиалогликопротеин мембраны эндотелиальных клеток, экспрессируется под действием цитокинов. Ген расположен в 1-й хромосоме 1p32-p31. Продукт этого гена опосредует лейкоцит-эндотелиальное взаимодействие и участвует в процессе миграции лейкоцитов. *VCAM1* в паре с  $\alpha 4\beta 1$ -интегрином экспрессируется только при пролиферации клеток и играет важную роль в выживании эндотелиальных и пристеночных клеток при процессах васкуляризации ткани [28]. Имеются данные о его роли в инвазии, метастазировании и васкуляризации опухолей [29]. Экспрессия *VCAM1* подавляется действием ядерного фактора NF-kB, что способствует снижению миграции стволовых клеток, а также миграции опухолевых клеток [30].

В микроматричных исследованиях была установлена связь *VCAM1 3529T>C* rs1041163 с повышенной частотой хроматидных фрагментов и дицентрических хромосом. Анализ связи *VCAM1 3529T>C* rs1041163 с частотой ХА на общей выборке подтвердил связь только с повышенной частотой дицентрических хромосом в общей группе независимо от дозы облучения (табл. 5). У носителей мутантного *CC*-генотипа частота дицентрических хромосом в среднем в 2,4 выше, чем у носителей «дикого» *TT*- и гетерозиготного *TC*-генотипов.

Таблица 5

**Частота цитогенетических аномалий (на 100 клеток,  $M \pm SE$ ) в зависимости от генотипов *VCAM1 T/C* rs1041163 (рецессивная модель) у здоровых работников СХК, подвергавшихся профессиональному радиационному воздействию (40–400 мЗв)**

Тип аберраций	TT + TC (n = 562)	CC (n = 11)	p
Частота аберраций	2,208 ± 0,106	1,645 ± 0,375	0,4448
Хроматидные фрагменты	1,109 ± 0,075	0,657 ± 0,176	0,3884
Парные фрагменты	0,891 ± 0,072	0,599 ± 0,201	0,5667
Аберрации хромосомного типа	1,141 ± 0,079	1,037 ± 0,323	0,8511
Кольцевые хромосомы	0,085 ± 0,010	0,027 ± 0,029	0,3855
Дицентрики	0,165 ± 0,013	0,410 ± 0,212	<b>0,0132</b>
Хроматидные обмены	0,075 ± 0,009	0,056 ± 0,037	0,7824
Транслокации	0,027 ± 0,005	0,029 ± 0,028	0,9596
Полиплоиды	0,077 ± 0,011	0,000 ± 0,000	0,2475

Следующий исследованный полиморфизм rs7462102 расположен в интронном участке гена танкиразы *TNKS*. Литературных данных о влиянии полиморфизма rs7462102 на функции гена *TNKS* пока нет. Ген танкиразы, регулирующий длину теломер, расположен на 8p23.1. Белок танкиразы содержит анкириновый повтор и катализирует АДФ-рибозилирование. Танкираза удлиняет теломеры и одновременно происходит АДФ-рибозилирование TRF1 (основной белок нуклеопротеинного комплекса, расположенного на концах хромосом, регулирует длину теломер), что снижает ее способность связываться с ДНК теломер. Ингибируя активность танкиразы можно сократить длину теломер. Данный метод может быть использован при терапии рака желудка [31]. Имеются данные о том, что активность митоген-активированной протеинкиназы может вызвать фосфорилирование белка Tnks [32, 33]. Избыточная экспрессия Tnks в ядре способствует удлинению теломер, предполагают, что танкираза обеспечивает доступ теломеразы к теломерному комплексу [34].

В микроматричных исследованиях была установлена связь гена *TNKS C/T* rs7462102 с повышенной частотой хроматидных фрагментов, транслокаций и дицентрических хромосом. Анализ связи SNP гена *TNKS C/T* rs7462102 с частотой ХА на общей выборке подтвердил связь с повышенной частотой дицентрических хромосом. Уровень дицентрических хромосом у носителей генотипа *CC* в 4,6 раза выше по сравнению с группой *TT + TC* с высоким уровнем достоверной вероятности (табл. 6). Таким образом, на большой выборке подтверждается связь полиморфизма гена *TNKS C/T* rs7462102 с повышенной частотой дицентрических с высоким уровнем достоверной вероятности.

Таблица 6

Частота цитогенетических аномалий (на 100 клеток, $M \pm SE$ ) в зависимости от генотипов <i>TNKS</i> rs7462102 (рецессивная модель) у здоровых работников СХК, подвергавшихся профессиональному радиационному воздействию (40–400 мЗв)			
Тип аберраций	<i>TT + TC</i> ( $n = 540$ )	<i>CC</i> ( $n = 23$ )	<i>p</i>
Аберрантные клетки	2,388 ± 0,141	3,376 ± 0,631	0,255
Хроматидные фрагменты	1,224 ± 0,083	1,995 ± 0,559	0,6492
Парные фрагменты	0,975 ± 0,089	1,254 ± 0,294	0,6025
Аберрации хромосомного типа	1,229 ± 0,105	1,687 ± 0,465	0,4632
Кольцевые хромосомы	0,083 ± 0,012	0,222 ± 0,168	0,1032
Дицентрические хромосомы	0,049 ± 0,043	0,212 ± 0,068	<b>0,0041</b>
Хроматидные обмены	0,089 ± 0,014	0,124 ± 0,057	0,6574
Транслокации	0,033 ± 0,008	0,124 ± 0,096	0,0695
Полиплоиды	0,071 ± 0,012	0,000 ± 0,000	<b>0,0164</b>

Ген *WRN* (8p12) кодирует белок, который относится к RecQ- и DEAH (Asp-Glu-Ala-His)-подсемействам ДНК- и РНК-геликаз. Белок Wtn, благодаря взаимодействию с Ku70/80, способствует соединению концов ДНК, таким образом, этот белок участвует в репарации двуниевых разрывов ДНК. Также известно, что  $\gamma$ -излучение вызывает перемещение белка Wtn из ядрышек в нуклеоплазму к местам двуниевых разрывов. *ATR* и *ATM* киназы модулируют работу *WRN* в ответ на остановку репликации в контрольных точках, что приводит к снижению геномной нестабильности и риска развития опухолей [35].

*WRN-07513 A>G Cys171Cys* rs1800389 – полиморфизм, который приводит к синонимичной замене аминокислоты в белке Wtn. Ранее в микроматричных исследованиях была установлена связь *WRN A/G* rs1800389 с повышенной частотой аберрантных клеток, парных фрагментов, транслокаций и кольцевых хромосом. Подтвердилась связь *WRN A/G* rs1800389 только с повышенной частотой транслокаций и кольцевых хромосом (табл. 7). У носителей мутантного *GG*-генотипа частота кольцевых хромосом (нестабильные аберрации хромосомного типа – традиционные маркеры радиационного воздействия) и транслокаций (стабильные хромосомные аномалии, которые также связаны с радиационным воздействием) в среднем в 1,8 и 3,5 раза выше, чем у носителей «дикого» *AA*- и гетерозиготного *AG*-генотипов. Эти данные могут свидетельствовать о важной роли белка Wtn в репарации двуниевых разрывов ДНК.

Таблица 7

Частота цитогенетических аномалий (на 100 клеток, $M \pm SE$ ) в зависимости от генотипов <i>WRN A/G</i> rs1800389 (рецессивная модель) у здоровых работников СХК, подвергавшихся профессиональному радиационному воздействию (40–400 мЗв)			
Тип аберраций	<i>AA + AG</i> ( $n = 513$ )	<i>GG</i> ( $n = 60$ )	<i>p</i>
Аберрантные клетки	2,388 ± 0,145	2,838 ± 0,337	0,0886
Хроматидные фрагменты	1,225 ± 0,086	1,459 ± 0,274	0,7260
Парные фрагменты	1,008 ± 0,097	1,069 ± 0,198	0,6805
Аберрации хромосомного типа	1,261 ± 0,106	1,451 ± 0,234	0,3296
Кольцевые хромосомы	0,083 ± 0,013	0,156 ± 0,044	<b>0,0082</b>
Дицентрические хромосомы	0,171 ± 0,017	0,226 ± 0,062	0,2486
Хроматидные обмены	0,082 ± 0,013	0,109 ± 0,037	0,6820
Транслокации	0,028 ± 0,006	0,095 ± 0,042	<b>0,0039</b>
Полиплоиды	0,068 ± 0,011	0,098 ± 0,036	0,4042

Ген *IGF1* инсулиноподобного фактора роста 1, или соматомедина С, кодирует белок, который подобен инсулину по функции и структуре и является членом семейства белков, регулирующих рост и развитие организма, белок Igf1 определяет все эффекты инсулина, связанные с ростом и развитием организма

[36, 37]. В микрочиповых исследованиях была установлена связь *IGF1 C/G* rs2373721 с повышенной частотой парных фрагментов и дицентрических хромосом [1]. Анализ связи *IGF1 C/G* rs2373721 с частотой ХА на общей выборке не подтвердил связь с повышенной частотой дицентрических хромосом (табл. 8).

Был произведен отбор (стратификация) лиц по диапазонам доз (более 40 мЗв, более 100 мЗв, более 200 мЗв), однако и это не позволило установить ассоциацию *IGF1 C/G* rs2373721 с дицентриками ни в одном диапазоне доз, что свидетельствует о низкой значимости данного полиморфизма в индукции ХА при радиационном воздействии.

Таблица 8

Частота цитогенетических аномалий (на 100 клеток, $M \pm SE$ ) в зависимости от генотипов <i>IGF1 C/G</i> rs2373721 (рецессивная модель) у здоровых работников СХК, подвергавшихся профессиональному радиационному воздействию (40–400 мЗв)			
Тип aberrаций	CC + CG (n = 533)	GG (n = 40)	p
Аберрантные клетки	2,336 ± 0,125	2,443 ± 0,301	0,8168
Хроматидные фрагменты	1,176 ± 0,080	1,152 ± 0,200	0,9321
Парные фрагменты	0,950 ± 0,083	1,131 ± 0,192	0,5855
Аберрации хромосомного типа	1,218 ± 0,090	1,426 ± 0,260	0,5664
Кольцевые хромосомы	0,092 ± 0,012	0,091 ± 0,048	0,9758
Дицентрические хромосомы	0,176 ± 0,015	0,204 ± 0,050	0,6330
Хроматидные обмены	0,080 ± 0,011	0,097 ± 0,046	0,6935
Транслокации	0,033 ± 0,006	0,071 ± 0,044	0,1965
Полиплоиды	0,064 ± 0,010	0,040 ± 0,016	0,4318

## Заключение

В результате проведенного исследования была подтверждена связь полиморфизмов генов *VCAM1 T/C* rs1041163 и *TNKS C/T* rs7462102 с повышенной частотой индукции дицентрических хромосом в условиях хронического радиационного воздействия. Значимое повышение транслокаций и кольцевых хромосом (в 1,6–5 раз) подтвердилось у носителей минорного генотипа генов *INSR C/T* rs1051690 и *WRNA/G* rs1800389. Обращает на себя внимание, что полиморфизм гена *PCTP A/G* rs2114443, для которого была валидирована его связь с повышенной частотой хроматидных фрагментов и кольцевых хромосом (повышение частоты в 3 раза при минорном генотипе), дополнительно показал связь с повышенной частотой аберрантных клеток, парных фрагментов, дицентрических хромосом и хроматидных обменов. Такое многообразие хромосомных нарушений может указывать на особую значимость гена *PCTP* в процессах защиты клетки от радиационного повреждения. Для *IGF1 C/G* rs2373721 связь с повышенной частотой дицентриков не подтвердилась.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФМБА России, государственный контракт № 56.001.13.0 от 26 марта 2013 г.

## Литература

1. Литвяков Н.В., Гончарик О.О., Фрейдин М.Б., Сазонов А.Э., Васильева Е.О., Межерички С.А., Халюзова М.В., Бондарюк А.А., Альбах Е.Н., Карпов А.Б., Тахауов Р.М. Оценка связи полиморфизмов генов с частотой и спектром цитогенетических аномалий у здоровых работников Сибирского химического комбината, подвергавшихся радиационному воздействию (microarray исследование) // Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. Т. 53, № 2. С. 1–14.
2. Литвяков Н.В., Фрейдин М.Б., Тахауов Р.М., Агеева А.М., Волкова Н.В., Иванова П.В., Гончарик О.О., Васильева О.Е., Скобельская Е.В., Карпов А.Б. Взаимосвязь генного полиморфизма с риском развития злокачественных новообразований в условиях низкоинтенсивного радиационного воздействия // Экологическая генетика. 2009. Т. VII, № 4. С. 23–33.
3. Litviakov N.V., Denisov E.V., Takhaouov R.M., Karpov A.B., Skobel'skaja E.V., Vasil'eva E.O., Goncharik O.O., Ageeva A.M., Mamonova N.V., Mezheritskiy S.A., Sevost'janova N.V., Koshelev A.P. Association Between TP53 Gene ARG72PRO Polymorphism and Chromosome Aberrations in Human Cancers // Molecular Carcinogenesis. 2010. 49. P. 521–524.
4. Литвяков Н.В., Тахауов Р.М., Васильева Е.О., Мамонова Н.В., Скобельская Е.В., Карпов А.Б. Возможности совершенствования системы охраны здоровья персонала предприятий атомной промышленности // Здравоохранение РФ. 2010. № 6. С. 19–23.
5. Abilev S.K., Sal'nikova L.E., Rubanovich A.V. Candidate gene association study of the radiosensitivity of human chromosomes with candidate gene polymorphisms upon exposure to gamma-irradiation *in vitro* and *in vivo* // National Center for Biotechnology Information. 2011. № 5. P. 14–18.
6. Васильева З.Ж., Берсимбаев Р.И., Бекманов Б.О., Воробцова И.Е. Полиморфизм генов репарации ДНК XRCC1, XRCC3 и уровень хромосомных aberrаций у рабочих уранового производства // Радиационная биология. Радиоэкология. 2012. Т. 52, № 1. С. 25.
7. Сальникова Л.Е., Чумаченко А.Г., Веснина И.Н. Полиморфизм генов репарации: цитогенетические эффекты облучения // Радиационная биология. Радиоэкология. 2010. Т. 50, № 6. С. 29–38.
8. Bonassi S., Znaor A., Norppa H., Hagmar L. Chromosomal aberrations and risk of cancer in humans: an epidemiological perspective // Cytogenet. Genome Res. 2004. V. 104. P. 376–382.
9. Catalán J., Heilimo I., Falck G.C. Chromosomal aberrations in railroad transit workers: effect of genetic polymorphisms // Environ. Mol. Mutagen. 2009. V. 50, № 4. P. 304–316.
10. Rossi A.M., Hansteen I.L., Skjelbred C.F. Association between frequency of chromosomal aberrations and cancer risk is not influenced by genetic polymorphisms in GSTM1 and GSTT1 // Environ. Health Perspect. 2009. V. 117. № 2. P. 203–208.
11. Salnikova L., Chumachenko A., Belopol'skaya O., Rubanovich A. Correlations between DNA polymorphism and frequencies of gamma-radiation induced and spontaneous cytogenetic damage. National Center for Biotechnology Information // 2012. V. 103, № 1. P. 37–41.
12. Ребриков Д.В., Саматов Г.А., Трофимов Д.Ю. ПЦР «в реальном времени» / под ред. д-ра биол. наук Д.В. Ребри-

- кова. 2-е изд., испр. и доп. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. 223 с.
13. Макарова Ю.А., Крамеров Д.А. Некодирующие РНК // Биохимия. 2007. Т. 72, № 11. С. 1427–1448.
  14. Landi D., Moreno V., Guino E. Polymorphisms affecting micro-RNA regulation and associated with the risk of dietary-related cancers: A review from the literature and new evidence for a functional role of rs17281995 (CD86) and rs1051690 (INSR), previously associated with colorectal cancer // Mutation Research. 2011. V. 717. P. 109–115.
  15. Landi D., Gemignani F., Naccarati A. Polymorphisms within micro-RNA-binding sites and risk of sporadic colorectal cancer // Carcinogenesis. 2008. V. 29. P. 579–584.
  16. Palmero E.L., Campos S.G., Marcelo Campos M. Mechanisms and role of microRNA deregulation in cancer onset and progression // Genetics and Molecular Biology. 2011. V. 34, № 3. P. 363–370.
  17. Pelletier C., Weidhaas J.B. MicroRNA binding site polymorphisms as biomarkers of cancer risk. Expert Review of Molecular Diagnostics // 2010. V. 10, № 6. P. 817–829.
  18. Dey B.R., Furlanetto R.W., Nissley S.P. Cloning of human p55-gamma, a regulatory subunit of phosphatidylinositol 3-kinase, by a yeast two-hybrid library screen with the insulin-like growth factor-I receptor // Gene. 1998. P. 175–183.
  19. Ebina Y., Ellis L., Jarnagin K., Edery M., Graf L., Clauser E., Ou J.-H., Masiarz F., Kan Y.W., Goldfine I.D., Roth R.A., Rutter W.J. The human insulin receptor cDNA: the structural basis for hormone activated transmembrane signalling // Cell. 1985. V. 40. P. 747–758.
  20. Wu M.K., Boylan M.O., Cohen E.D. Cloning and gene structure of rat phosphatidylcholine transfer protein, Pctp // Gene. 1999. V. 235. P. 111–120.
  21. Kanno K., Wu M.K., Agate D.S. Interacting Proteins Dictate Function of the Minimal START Domain Phosphatidylcholine Transfer Protein/StarD2 // J. Biological Chemistry. 2007. V. 282, № 42. P. 30728–30736.
  22. Kanno K., Wu M.K., Scapa E.F. Structure and function of phosphatidylcholine transfer protein (PC-TP)/StarD2 // Biochimica et Biophysica Acta. 2007. P. 654–662.
  23. Tilley S.J., Skippen A., Murray-Rust J. Structure-Function Analysis of Phosphatidylinositol Transfer Protein Alpha Bound to Human Phosphatidylinositol // Structure. 2004. V. 12. P. 317–326.
  24. Kang H.W., Ribich S., Kim B.W. Mice lacking Pctp/StarD2 exhibit increased adaptive thermogenesis and enlarged mitochondria in brown adipose tissue // J. of Lipid Research. 2009. V. 50. P. 2212–2221.
  25. Nicolay K., Hovius R., Bron R. et al. The phosphatidylcholine-transferprotein catalyzed import of phosphatidylcholine into isolated rat liver mitochondria // BBA – Biomembranes. 1990. V. 1025, № 1. P. 49–59.
  26. Feng B., Yao P.M., Li Y., Devlin C.M. The endoplasmic reticulum is the site of cholesterol-induced cytotoxicity in macrophages // Nat. Cell Biol. 2003. V. 5. P. 781–792.
  27. Woods K.A., Camacho-Hubner C., Savage M.O., Clark A.J.L. Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of the insulin-like growth factor I gene // New Eng. J. Med. 1996. V. 335. P. 1363–1367.
  28. Garmy-Susini B., Jin H., Zhu Y., Sung R.-J., Hwang R., Varnier J. Integrin alpha-4-beta-1-VCAM-1-mediated adhesion between endothelial and mural cells is required for blood vessel maturation // J. Clin. Invest. 2005. V. 115. P. 1542–1551.
  29. Supanc V., Biloglav Z., Kes V.B., Demarin V. Role of cell adhesion molecules in acute ischemic stroke // Ann Saudi Med. 2011. V. 31, № 4. P. 365–70.
  30. Nishihira S., Okubo N., Takahashi N., Ishisaki A. High-cell density-induced VCAM1 expression inhibits the migratory ability of mesenchymal stem cells // Cell Biology International. 2011. V. 35. P. 475–481.
  31. Zhang H., Yang M.H., Zhao J.J., Chen L., Yu S.T., Tang X.D., Fang D.C., Yang S.M. Inhibition of tankyrase 1 in human gastric cancer cells enhances telomere shortening by telomerase inhibitors // Oncol. Rep. 2010. V. 24, № 4. P. 1059–65.
  32. Seimiya H., Smith S. The telomeric poly(ADP-ribose) polymerase, tankyrase 1, contains multiple binding sites for telomeric repeat binding factor 1 (TRF1) and a novel acceptor, 182-kDa tankyrase-binding protein (TAB182) // J. Biol. Chem. 2002. V. 277. P. 14116–14126.
  33. Smith S., Gariat L., Schmitt A., de Lange T. Tankyrase, a poly(ADP-ribose) polymerase at human telomeres // Science. 1998. V. 282. P. 1484–1487.
  34. Cook B.D., Dynek J.N., Chang W., Shostak G., Smith S. Role for the Related Poly (ADP-Ribose) Polymerases Tankyrase 1 and 2 at Human Telomeres // Mol. Cell. Biol. 2002. V. 22. P. 1332–342.
  35. Liu J., Song Y., Qian J. Promyelocytic leukemia protein interacts with werner syndrome helicase and regulates double-strand break repair in  $\gamma$ -irradiation-induced DNA damage responses // Biochemistry. 2011. V. 76, № 5. P. 550–554.
  36. Baker J., Liu J.-P., Robertson E.J., Efstratiadis A. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth // Cell 75: 73–82, 1993.
  37. Playford M.P., Bicknell D., Bodmer W.F., Macaulay V.M. Insulin-like growth factor 1 regulates the location, stability, and transcriptional activity of beta-catenin // Proc. Nat. Acad. Sci. 2000. 97. P. 12103–12108.

Поступила в редакцию 28.11.2013 г.

Утверждена к печати 07.05.2014 г.

**Хализова Мария Вячеславовна** (✉) – мл. науч. сотрудник лаборатории геномной медицины Северского биофизического научного центра ФМБА России (г. Северск), аспирант кафедры физиологии человека и животных НИ ТГУ (г. Томск).

**Литвяков Николай Васильевич** – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии НИИ онкологии СО РАМН (г. Томск), ст. науч. сотрудник лаборатории геномной медицины Северского биофизического научного центра ФМБА России (г. Северск), доцент кафедры физиологии человека и животных НИ ТГУ (г. Томск).

**Сазонов Алексей Эдуардович** – д-р мед. наук, зам. заведующего Центральной научно-исследовательской лаборатории СибГМУ (г. Томск), руководитель лаборатории геномной медицины Северского биофизического научного центра ФМБА России (г. Северск).

**Альбах Елена Николаевна** – мл. науч. сотрудник лаборатории геномной медицины Северского биофизического научного центра ФМБА России (г. Северск).

**Исубакова Дарья Сергеевна** – мл. науч. сотрудник лаборатории геномной медицины Северского биофизического научного центра ФМБА России (г. Северск).



**Карпов Андрей Борисович** – д-р мед. наук, профессор, зам. директора Северского биофизического научного центра ФМБА России (г. Северск), профессор кафедры организации здравоохранения и общественного здоровья СибГМУ (г. Томск).

**Тахауов Равиль Манихович** – д-р мед. наук, профессор, директор Северского биофизического научного центра ФМБА России (г. Северск), профессор кафедры организации здравоохранения и общественного здоровья СибГМУ (г. Томск).

✉ Халюзова Мария Вячеславовна, тел./факс: 8 (3823) 99-40-01; 99-40-02; e-mail: gedonna@yandex.ru; mail@sbrc.ru

## THE VALIDATION OF THE RESULTS OF MICROARRAY STUDIES OF ASSOCIATION BETWEEN GENE POLYMORPHISMS AND THE FREQUENCY OF RADIATION EXPOSURE MARKERS

Khalyuzova M.V.<sup>1,3</sup>, Litvyakov N.V.<sup>1,2,3</sup>, Sazonov A.E.<sup>1,4</sup>, Albakh Ye.N.<sup>1</sup>, Isubakova D.S.<sup>1</sup>, Karpov A.B.<sup>1</sup>, Takhauov R.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Seversk Biophysical Research Centre of the Federal Medical-Biological Agency, Seversk, Russian Federation*

<sup>2</sup> *Cancer Research Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk, Russian Federation*

<sup>3</sup> *National Research Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation*

<sup>4</sup> *Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation*

### ABSTRACT

The results from the selective validation research into the association between genetic polymorphisms and the frequency of cytogenetic abnormalities on a large independent sample are analyzed. These polymorphisms have been identified previously during own microarray studies. It has been shown an association with the frequency of dicentric and ring chromosomes induced by radiation exposure. The study was conducted among Siberian Group of Chemical Enterprises healthy employees ( $n = 573$ ) exposed to professional irradiation in a dose range of 40–400 mSv. We have found that 5 SNP are confirmed to be associated with the frequency of dicentric and ring: INSR rs1051690 – insulin receptor gene; WRNrs2725349 – Werner syndrome gene, RecQ helicase-like; VCAM1 rs1041163 – vascular cell adhesion molecule 1 gene; PCTP rs2114443 – phosphatidylcholine transfer protein gene; TNKS rs7462102 – tankyrase gene; TRF1-interacting ankyrin-related ADP-ribose polymerase. IGF1 rs2373721 – insulin-like growth factor 1 gene has not confirmed to be associated with the frequency of dicentric and ring chromosomes.

**KEY WORDS:** genetic polymorphism, individual radiosensitivity, cytogenetic abnormalities, low-dose irradiation.

*Bulletin of Siberian Medicine, 2014, vol. 13, no. 3, pp. 70–79*

### References

- Litvyakov N.V., Goncharyk O.O., Freidin M.B., Sazonov A.E., Vasilyeva E.O., Mezheritskiy S.A., Khalyuzova M.V., Bondarjuk A.A., Albakh E.N., Karpov A.B., Takhauov R.M. *Radiation Biology. Radioecology*, 2013, vol. 53, no. 2, pp. 1–14 (in Russian).
- Litviakov N.V., Freidin M.B., Takhauov R.M., Ageeva A.M., Volcova N.V., Ivanina P.V., Goncharyk O.O., Vasilyeva E.O., Skobel'skaja E.V., Karpov A.B. The relationship of gene polymorphism with the risk of malignancy in the conditions of low-intensity radiation exposure. *Ecological genetics*, 2009, vol. VII, no. 4, pp. 23–33 (in Russian).
- Litviakov N.V., Denisov E.V., Takhauov R.M., Karpov A.B., Skobel'skaja E.V., Vasil'eva E.O., Goncharik O.O., Ageeva A.M., Mamonova N.V., Mezheritskiy S.A., Sevost'janova N.V., Koshel A.P. Association Between TP53 Gene ARG72PRO Polymorphism and Chromosome Aberrations in Human Cancers. *Molecular Carcinogenesis*, 2010, 49, pp. 521–524.
- Litvyakov N.V., Takhauov R.M., Vasilyeva E.O., Mamonova N.V., Skobel'skaja E.V., Karpov A.B. The opportunity for improving health system personnel of nuclear industry. *Health service of the Russian Federation*, 2010, no. 6, pp. 19–23 (in Russian).
- Abilev S.K., Sal'nikova L.E., Rubanovich A.V. Candidate gene association study of the radiosensitivity of human chromosomes with candidate gene polymorphisms upon exposure to gamma-irradiation *in vitro* and *in vitro*. *National Center for Biotechnology Information*, 2011, no. 5, pp. 14–18.
- Vasilyeva Z.J., Bersimbay R.I., Bekmanov B.O., Vorobtsova I.E. *Radiation Biology. Radioecology*, 2012, vol. 52, no. 1, pp. 25 (in Russian).
- Sal'nikova L.E., Chumatchenko A.G., Vesnina I.N. *Radiation Biology. Radioecology*, 2010, vol. 50, no. 6, pp. 29–38 (in Russian).
- Bonassi S., Znaor A., Norppa H., Hagmar L. Chromosomal aberrations and risk of cancer in humans: an epidemiological perspective. *Cytogenet. Genome Res.*, 2004, vol. 104, pp. 376–382.
- Catalán J., Heilimo I., Falck G.C. Chromosomal aberrations in railroad transit workers: effect of genetic polymorphisms. *Environ. Mol. Mutagen.*, 2009, vol. 50, no. 4, pp. 304–316.
- Rossi A.M., Hansteen I.L., Skjelbred C.F. Association between frequency of chromosomal aberrations and cancer risk is not influenced by genetic polymorphisms in GSTM1 and GSTT1. *Environ. Health Perspect.*, 2009, vol. 117,

- no. 2, pp. 203–208.
11. Salnikova L., Chumachenko A., Belopolskaya O., Rubanovich A. Correlations between DNA polymorphism and frequencies of gamma-radiation induced and spontaneous cytogenetic damage. *National Center for Biotechnology Information*, 2012, vol. 103, no. 1, pp. 37–41.
  12. Rebrikov D.V., Salamatov G.A., Trofimov D.Yu. PCR "in real time". Ed. by D.V. Rebrikov, Dr; the 2nd ed., revised and updated. Moscow, BINOM. *Knowledge laboratory*, 2009. 223 p. (in Russian).
  13. Makarova Yu.A., Kramer D.A. *Biochemistry*, 2007, vol. 72, no. 11, pp. 1427–1448 (in Russian).
  14. Landi D., Moreno V., Guino E. Polymorphisms affecting micro-RNA regulation and associated with the risk of dietary-related cancers: A review from the literature and new evidence for a functional role of rs17281995 (CD86) and rs1051690 (INSR), previously associated with colorectal cancer. *Mutation Research*, 2011, vol. 717, pp. 109–115.
  15. Landi D., Gemignani F., Naccarati A. Polymorphisms within micro-RNA-binding sites and risk of sporadic colorectal cancer. *Carcinogenesis*, 2008, vol. 29, pp. 579–584.
  16. Palmero E.I., Campos S.G., Marcelo Campos M. Mechanisms and role of microRNA deregulation in cancer onset and progression. *Genetics and Molecular Biology*, 2011, vol. 34, no. 3, pp. 363–370.
  17. Pelletier C., Weidhaas J.B. MicroRNA binding site polymorphisms as biomarkers of cancer risk. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 2010, vol. 10, no. 6, pp. 817–829.
  18. Dey B.R., Furlanetto R.W., Nissley S.P. Cloning of human p55-gamma, a regulatory subunit of phosphatidylinositol 3-kinase, by a yeast two-hybrid library screen with the insulin-like growth factor-I receptor. *Gene*, 1998, pp. 175–183.
  19. Ebina Y., Ellis L., Jarnagin K., Edery M., Graf L., Clauser E., Ou J.-H., Masiarz F., Kan Y.W., Goldfine I.D., Roth R.A., Rutter W.J. The human insulin receptor cDNA: the structural basis for hormone activated transmembrane signaling. *Cell*, 1985, vol. 40, pp. 747–758.
  20. Wu M.K., Boylan M.O., Cohen E.D. Cloning and gene structure of rat phosphatidylcholine transfer protein, Pctp. *Gene*, 1999, vol. 235, pp. 111–120.
  21. Kanno K., Wu M.K., Agate D.S. Interacting Proteins Dictate Function of the Minimal START Domain Phosphatidylcholine Transfer Protein/StarD2. *J. Biological Chemistry*, 2007, vol. 282, no. 42, pp. 30728–30736.
  22. Kanno K., Wu M.K., Scapa E.F. Structure and function of phosphatidylcholine transfer protein (PC-TP)/StarD2. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2007, pp. 654–662.
  23. Tilley S.J., Skippen A., Murray-Rust J. Structure-Function Analysis of Phosphatidylinositol Transfer Protein Alpha Bound to Human Phosphatidylinositol. *Structure*, 2004, vol. 12, pp. 317–326.
  24. Kang H.W., Ribich S., Kim B.W. Mice lacking Pctp/StarD2 exhibit increased adaptive thermogenesis and enlarged mitochondria in brown adipose tissue. *J. of Lipid Research*, 2009, vol. 50, pp. 2212–2221.
  25. Nicolay K., Hovius R., Bron R. The phosphatidylcholine-transferprotein catalyzed import of phosphatidylcholine into isolated rat liver mitochondria. *BBA – Biomembranes*, 1990, vol. 1025, no. 1, pp. 49–59.
  26. Feng B., Yao P.M., Li Y., Devlin C.M. The endoplasmic reticulum is the site of cholesterol-induced cytotoxicity in macrophages. *Nat. Cell Biol.*, 2003, vol. 5, pp. 781–792.
  27. Woods K.A., Camacho-Hubner C., Savage M.O., Clark A.J.L. Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of the insulin-like growth factor I gene. *New Eng. J. Med.*, 1996, vol. 335, pp. 1363–1367.
  28. Garmy-Susini B., Jin H., Zhu Y., Sung R.-J., Hwang R., Varner J. Integrin alpha-4-beta-1-VCAM-1-mediated adhesion between endothelial and mural cells is required for blood vessel maturation. *J. Clin. Invest.*, 2005, vol. 115, pp. 1542–1551.
  29. Supanc V., Biloglav Z., Kes V.B., Demarin V. Role of cell adhesion molecules in acute ischemic stroke. *Ann Saudi Med*, 2011, vol. 31, no. 4, pp. 365–370.
  30. Nishihira S., Okubo N., Takahashi N., Ishisaki A. High-cell density-induced VCAM1 expression inhibits the migratory ability of mesenchymal stem cells. *Cell Biology International*, 2011, vol. 35, pp. 475–481.
  31. Zhang H., Yang M.H., Zhao J.J., Chen L., Yu S.T., Tang X.D., Fang D.C., Yang S.M. Inhibition of tankyrase 1 in human gastric cancer cells enhances telomere shortening by telomerase inhibitors. *Oncol Rep.*, 2010, vol. 24, no. 4, pp. 1059–1065.
  32. Seimiya H., Smith S. The telomeric poly (ADP-ribose) polymerase, tankyrase 1, contains multiple binding sites for telomeric repeat binding factor 1 (TRF1) and a novel acceptor, 182-kDa tankyrase-binding protein (TAB182). *J. Biol. Chem.*, 2002, vol. 277, pp. 14116–14126.
  33. Smith S., Giriat I., Schmitt A., de Lange T. Tankyrase, a poly (ADP-ribose) polymerase at human telomeres. *Science*, 1998, vol. 282, pp. 1484–1487.
  34. Cook B.D., Dynek J.N., Chang W., Shostak G., Smith S. Role for the Related Poly (ADP-Ribose) Polymerases Tankyrase 1 and 2 at Human Telomeres. *Mol. Cell. Biol.*, 2002, vol. 22, pp. 1332–342.
  35. Liu J., Song Y., Qian J. Promyelocytic leukemia protein interacts with werner syndrome helicase and regulates double-strand break repair in  $\gamma$ -irradiation-induced DNA damage responses. *Biochemistry*, 2011, vol. 76, no. 5, pp. 550–554.
  36. Baker J., Liu J.-P., Robertson E.J., Efstratiadis A. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell*, 1993, 75, pp. 73–82.
  37. Playford M.P., Bicknell D., Bodmer W.F., Macaulay V.M. Insulin-like growth factor 1 regulates the location, stability, and transcriptional activity of beta-catenin. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 2000, 97, pp. 12103–12108.

**Khalyuzova M.V.** (✉), Seversk Biophysical Research Centre of the Federal Medical-Biological Agency, Seversk, Russian Federation; National Research Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation.

**Litvyakov N.V.**, Seversk Biophysical Research Centre of the Federal Medical-Biological Agency, Seversk, Russian Federation; Cancer Research Institute/Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk, Russian Federation; National Research Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation.

**Sazonov A.E.**, Seversk Biophysical Research Centre of the Federal Medical-Biological Agency, Seversk, Russian Federation; Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Albakh Ye.N.**, Seversk Biophysical Research Centre of the Federal Medical-Biological Agency, Seversk, Russian Federation.

**Isbukova D.S.**, Seversk Biophysical Research Centre of the Federal Medical-Biological Agency, Seversk, Russian Federation.

**Karpov A.B.**, Seversk Biophysical Research Centre of the Federal Medical-Biological Agency, Seversk, Russian Federation; Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Takhaouov R.M.**, Seversk Biophysical Research Centre of the Federal Medical-Biological Agency, Seversk, Russian Federation; Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

✉ **Khalyuzova Maria V.**, Ph./Fax: +7 (3823) 99-40-01; 99-40-02; e-mail: gedonna@yandex.ru; mail@sbrc.ru