

XRCC1 Генийн Arg399Gln Полиморфизм болон**Миелодиспластик хамшинжийн хамаарал О.Ундармаа¹,****Б.Нармандах², Х.Авирмэд², Т.Хосбаяр², Ц.Одгэрэл³, Н.Батчимэг¹**¹АШУҮИС, Био-Анагаахын Сургууль, Биохими-лабораторийн тэнхим²АШУҮИС, Био-Анагаахын Сургууль, Молекул биологи, удам зүйн тэнхим³АШУҮИС, Анагаахын сургууль, Дотрын III тэнхим**E-mail: batchimeg.n@mnums.edu.mn****Оршил.**

2014 оны байдлаар Монгол улсын хэмжээнд 10.000 хүн ам тутамд 12.5 хүн хорт хавдрын улмаас нас барсан байна [1]. ДЭМБ, Америкийн хавдар судлалын нийгэмлэг хавдрын эрт илрүүлэлтийг тэргүүлэх чиглэлээ болгож байна. Энэ хүрээнд хавдрын эсэд өвөрмөцөөр чиглэсэн бай эмчилгээний арга боловсруулах зорилгоор улс үндэстэн болон хавдрын төрөл бүрээр тухайн хавдрын генетикийн онцлогт тохируулан нарийн түвшинд судалсаар байна. Миелодиспластик хамшинж (МДХШ) нь нийт хавдрын 1%-ийг эзэлдэг ба дэлхийн хэмжээнд жил бүр 103.826 шинэ тохиолдол бүртгэгдэж 72.453 хүн уг эмгэгийн улмаас энддэг. Энэхүү эмгэг нь Монгол оронд харьцангуй бага тархалттай байгаа хэдий ч жил ирэх тутам уг өвчнөөр өвчлөгсдийн тоо нэмэгдсээр байгаа ба МДХШ-ийн оношлогоо дутмаг учир ихэнхдээ хавдар руу шилжсэн үедээ оношлогддог.

Нэг нуклеотидын полиморфизм ННП (SNP) нийт хүн амын нэгээс илүүгүй хувьд тохиолддог. ДНХ-ийн гэмтлийг засварлахад оролцдог уургийг кодлогч генд нэг нуклеотидын полиморфизм байснаар гэмтсэн ДНХ-д үүссэн гэмтлийг засварлах, мутаци үүсэхээс сэргийлэх үйл ажиллагаа хямарч хорт хавдар үүсэх үндэс болдог [2,3,4,5,6]. XRCC1 (X-ray repair cross complementing 1) буюу XRCC1 нь ДНХ-ийн

гэмтлийг засварладаг суурь тайрах засварт чухал үүрэг гүйцэтгэдэг бүлэг уураг юм. XRCC1 уургийг кодолж буй энэ генд полиморфизм байснаар ДНХ-ийн гэмтлийг засварлах чадамжид нөлөөлдөг учир хорт хавдарт өртөх эрсдэлийг ихэсгэх болон хавдрын эмчилгээний үр дүнд нөлөөлдөг хэмээн судлаачид мэдээлсэн байна [4,5,6].

ДНХ-ийн суурь тайрах засварын генийн полиморфизмыг эрүүл хүн амд болон олон төрлийн хорт хавдрын эрсдэлтэй харьцуулан судалсан гадаад орны судлаачдын хийсэн судалгаа хангалттай олон байгаа боловч Монгол эрүүл хүн амын дунд болон манай оронд түгээмэл тохиолддог хавдрын эрсдэлтэй холбон хийсэн судалгааны ажил одоогоор байхгүй байна.

Түлхүүр үг

МДХШ-Миелодиспластик хамшинж

ННП (SNP) - Нэг нуклеотидын

полиморфизм

ДНХ-Дезоксирибонуклейны хүчил

PCR-RFLP-*polymerase chain reaction-**restriction fragment length polymorphism***Зорилго**

XRCC1 генийн Arg399Gln (rs25487) полиморфизмын илрэлтийг миелодиспластик хамшинжтэй өвчтөнүүд болон харьцангуй эрүүл хүн амд харьцуулан судлахад энэхүү судалгааны зорилго оршино.

Зорилт

1. Эрүүл хүн амд *XRCCI* генийн Arg399Gln полиморфизмын генотипийг илрүүлэх.

2. Миелодиспластик хамшинжтэй өвчтөнүүдэд *XRCCI* генийн Arg399Gln полиморфизмын генотип хэв шинжийг тодорхойлох.

Материал, аргазүй

Судалгаанд харьцангуй эрүүл буюу цусны донор 60, миелодиспластик хамшинжтэй 9 хүнийг хамруулсан. Судалгааны ёс зүйн зөвшөөрлийг АШУҮИС-ийн Судалгааны Ёс Зүйн Хяналтын Хорооноос зохих журмын дагуу авсан. Судалгаанд оролцогчдоос донорын судалгааны стандарт асуумж авч, шинжилгээнд хамруулсан. Судалгаанд хамрагдсан хүн тус бүрээс захын венийн цус 3 мл-ийг EDTA -тай хуруу шилэнд авч ДНХ-ийг QIAmp blood mini kit (QIAGEN, Germany) – ээр үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу ялгасан. Ялгасан ДНХ-ийн гарц, цэвэршилтийг Nanodrop 1000 /Thermo Scientific/ багаж ашиглан үнэлсэн.

XRCCI генийн Arg399Gln полиморфизмыг илрүүлэхдээ 615 bp урттай бай дарааллыг ПГУ-аар олшруулж, олширсон бүтээгдэхүүнийг MspI ферментээр зүссэн. ПГУ-ын нөхцөл: эхлэл 95°C - 5 мин: 35 цикл 94°C -20 сек, 63°C-30 сек, 72°C-45 сек, төгсгөл 72°C-г 7 минут байв. ПГУ-д Forward: 5'- TTGTGCTTTCTCTGTGTCCA - 3' ба Reverse: 5'TCCTCCAGCCTTTTCTGA TA-3' хос праймер ашиглалаа.

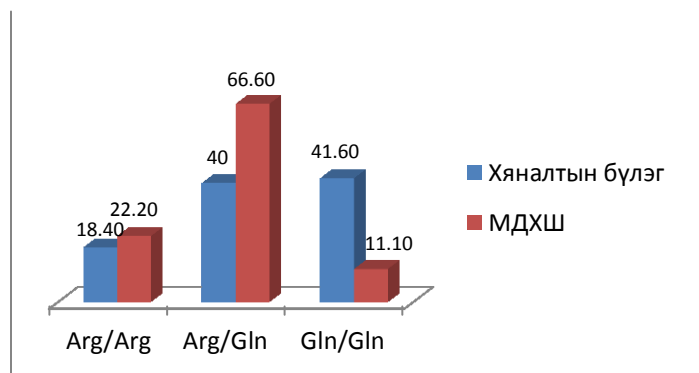
ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг ферментээр зүссэний дараа 8 мкл-ийг авч 2%-ийн агарозын гельд 100 V хүчдэлээр 30 – 40 минут гүйлгэж, бромт этилээр будаж, хэт ягаан туяаны үүсгүүрт харж зураг авав. Хэмжээ тогтоогууртай харьцуулан *XRCCI* генийн хэв шинжүүдийг тогтоов. Статистик боловсруулалтыг SPSS-20 программ дээр хийж гүйцэтгэлээ.

Үр дүн

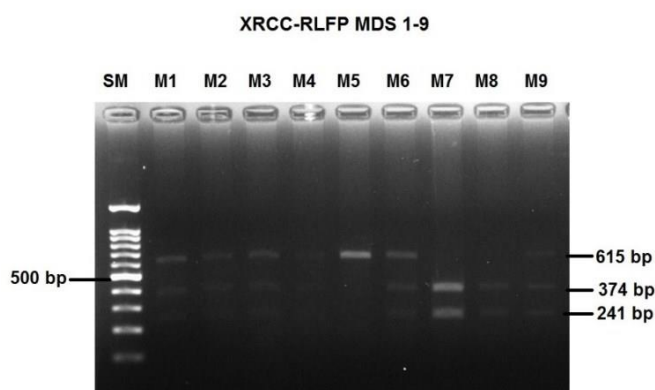
Судалгаанд хамрагдсан донорын болон миелодиспластик хамшинжтэй өвчтөнүүдийн *XRCCI* генийн Arg399Gln полиморфизмыг тодорхойлох PCR-RFLP шинжилгээг нэгтгэсэн хүснэгт 1 болон зураг 1-ээр үзүүлэв.

Хүснэгт 1. Судалгаанд оролцогчдод *XRCC Arg399Gln* генотипийг илрүүлсэн байдал

Генотип	Хяналтын бүлэг	%	MDS	%
<i>XRCC Arg399Gln</i>				
Arg/Arg	11	18.4%	2	22.2%
Arg/Gln	24	40%	6	66.6%
Gln/Gln	25	41.6%	1	11.1%
Нийт	60	100%	9	100%



Зураг1. XRCC Arg399Gln полиморфизмын илрүүлсэн байдал



Зураг.2

SM – хэмжээ тогтоогуур

M1,2,3,4,6,9-р багана - гетерозигот Arg/Gln генотип

M5-р багана гомозигот Arg генотип

M7,8-р багана - гомозигот Gln генотип тус тус илэрсэн байна.

XRCC Arg399Gln PCR явуулахад 615bp урттай нэг фрагмент үүсч, MspI энзимээр зүсэхэд гомозигот (Arg/Arg)374 bp-2, 615 bp-1 фрагмент, гетерозигот (Arg/Gln)241 bp, 615 bp, 374 bp-3 фрагмент, мутант (Gln/Gln) 241 bp үүссэн (Зураг1). Судалгаанд хамрагдсан эрүүл 60 хүнд XRCC Arg399Gln шинжлэхэд XRCC Arg399Gln полиморфизмын Arg/Arg генотип 11 (18.4%), Arg/Gln генотип 24 (40%), Gln/Gln 25 (41.6%) байна. Харин миелодиспластик хамшинжтэй өвчтөнүүдэд XRCC1 Arg399Gln полиморфизмын Arg/Arg генотип 1 (11%), Arg/Gln генотип 6 (66%), Gln/Gln 2 (22%) байлаа (Хүснэгт 1).

Хэлцэмж Миелодиспластик хамшинжтэй өвчтөнүүдэд нэг нуклеотидын полиморфизм

болон XRCC1 генийн полиморфизмтой хамааралыг судалж буй анхны судалгаа юм.

Бид энэхүү судалгаагаар XRCC1 генийн 28152 дахь нуклеотидын (G>A) буюу 399-р (Arg Gln) кодоны полиморфизмын илрэлтийг миелодиспластик хамшинжтэй өвчтөнүүд болон харьцангуй эрүүл хүн амд харьцуулан судлахыг зорилоо.

XRCC1 нь ДНХ – ийн бүтцийн гэмтлийг засварлах механизмд оролцдог уургуудтай харилцан үйлчилж, тэдгээрийн идэвхийг зохицуулах үүрэгтэй чухал уураг юм [7]. 399-р кодон нь XRCC1-ийн уураг уургийн харилцан үйлчлэлийг хангах үүрэгтэй BRCT1 (кодон 314-402) домаянд байрладаг [8]. Ragina Monaco нар 399-р кодоны (Arg Gln) полиморфизмын үед BRCT1 домаяны орон зайн бүтцэд өөрчлөлт

орсноор XRCC1 уураг өөр бусад уургуудтай харилцан үйлчлэх чадвар буурдаг бөгөөд үүний дүнд ДНХ-ийн гэмтлийг засварлах чадамж буурдаг болохыг тогтоожээ. Энэ нь ДНХ-ийн гэмтэл эсийн дотор хуримтлагдан хавдар үүсэх эрсдлийг нэмэгдүүлдэг хэмээн судлаачид үзэж байна. XRCC1 генийн полиморфизмын хавдар үүсгэх эрсдлийг тогтоох зорилготой хийгдсэн Liu Yi нарын судалгааны үр дүнгээс харахад 399-р (Arg Gln) кодоны полиморфизм хөхний хорт хавдар үүсгэх эрсдлийг нэмэгдүүлдэг байна [9]. Bănescu C, Duicu C, Trifa AP нарын судалгаагаар XRCC1 399 Arg/Argi нь хамар залгиурын хорт хавдрын эрсдэлд өртөмхий болохыг харуулсан байна [10]. Иймээс бид цаашид ДНХ-ийн суурь тайрах засварт оролцдог түлхүүр 4 уургийн OGG1 Ser326Cys, MUTYH Gln324His, APE Asp148Glu полиморфизмуудыг судлан МДХШ-ийн клиник шинж тэмдэгтэй холбон судлах болно.

Дүгнэлт

1. Судалгаанд хамрагдсан эрүүл хяналтын бүлэгт XRCC Arg399Gln полиморфизмын Arg/Arg генотип 18.4%, Arg/Gln генотип 40%, Gln/Gln 41.6% илрэв.
2. Миелодиспластик хамшинжтэй өвчтөнүүдэд XRCC1 Arg399Gln полиморфизмын Arg/Arg генотип 11%, Arg/Gln генотип 66%, Gln/Gln 22% тодорхойлогдов.

Ном зүй

1. Хавдар судлалын Үндэсний Төвийн статистик эмхтгэл 2015. Хавдар судлалын Үндэсний Төв, Монгол улс, 2015.04.27 Эх үүсгэвэр: <http://www.cancer-center.gov.mn>
2. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO Classification of Tumours, Volume 2

ARC WHO Classification of Tumours, No.2 IARC.

3. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. Blood 1997; 91: 2079-2088.
4. Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. Leukemia 2014; 28: 241-247.
5. Berwick M, Vineis P. Markers of DNA repair and susceptibility to cancer in humans: an epidemiologic review. J Natl Cancer Inst 2000; 92: 874-897.
6. Hu Z, Ma H, Chen F, Wei Q, Shen H. XRCC1 polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis of 38 case-control studies. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005; 14: 1810-1818.
7. Audebert M, Salles B, Calsou P. Involvement of poly(ADP-ribose) polymerase-1 and XRCC1/DNA ligase III in an alternative route for DNA double-strand breaks rejoining. J BiolChem 2004; 279: 55117-55126.
8. Parsons JL, Dianov GL. Co-ordination of base excision repair and genome stability. DNA Repair 2013; 12: 326-333.
9. Przybylowska-Sygut K, Stanczyk M, Kusinska R, et al. Association of the Arg194Trp and the Arg399Gln polymorphisms of the XRCC1 gene with risk occurrence and the response to adjuvant therapy among Polish women with breast cancer. Clin Breast Cancer 2013; 13: 61-68.
10. Bănescu C, Duicu C, Trifa AP, et al. XRCC1 Arg194Trp and Arg399Gln polymorphisms are significantly associated with shorter survival in acute myeloid leukemia. Leuk Lymphoma. 2014; 55: 365-370.

Associations of XRCC1 S326C (rs25487) gene Polymorphism in Myelodysplastic syndrome*O.Undarmaa¹, B.Narmandakh², Kh.Avirmed², T.Khosbayar², Ts.Odgerel³, N.Batchimeg¹*¹*MNUMS, School of Bio-Medicine, Department of Biochemistry and Laboratory*²*MNUMS, School of Bio-Medicine, Department of Molecular biology and Genetics*³*MNUMS, School of Medicine, Department of Internal Medicine-III***E-mail:** batchimeg.n@mnums.edu.mn**Keywords:**

SNP-single nucleotide polymorphisms, XRCC1-X ray repair cross complementing, PCR-RFLP-polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, MDS- Myelodysplastic syndromes.

Introduction: Base excision repair (BER) is mainly responsible for the correction of small base changes of DNA damage. BER pathway involved many enzymes including OGG1 and XRCC1. The defective DNA repair is associated with an increased risk of various cancers including hematologic malignancies-leukemia and myelodysplastic syndrome (MDS). However, it is deniably these polymorphisms alter the susceptibility and clinical outcome of MDS patients.

The aim: This study was to evaluate the impact of polymorphisms in gene encoding one protein of BER system: XRCC1 Arg399Gln in MDS and healthy population.

Methods: In this study, we recruited 60 health control group [median 47.9 years, 9 MDS subjects [median 56.6 years] were included in

this study. Genotyping was carried out by the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technique. Allele and genotype frequencies were calculated by direct counting.

Result: The frequencies of genotypes of XRCC1 Arg399Gln were as follows: Arg /Arg 1 (11%), Arg/Gln 6 (66%), Gln/Gln 2 (22%) in MDS and Arg /Arg 18.4%, Arg/Gln40%, Gln/Gln41.6% in health control for XRCC1 Arg399Gln. The result revealed that genotypes Arg399Gln increased the risk of MDS

In conclusion: this study is the first to analyze XRCC1 SNPs and their associated risk of MDS in Mongolian samples. To fully understand the role of DNA damage and DNA repair in the MDS, prospective studies are needed and other genes (OGG1 Ser326Cys, MUTYH Gln324His, APE Asp148Glu) of base excision repair pathway should be analyzed.

Бүтээлтэй танилцаж санал өгсөн АУ-ны
доктор Ж.Саранцэцэг