

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 307 (2015), 5 – 9

## STUDY OF *GSTP1* GENE POLYMORPHISM IN RESIDENTS OF THE FORMER SEMIPALATINSK NUCLEAR TEST SITE

B. O. Bekmanov, E. M. Khussainova, G. M. Abylkasimova, A. V. Perfilyeva, A. S. Amirgalieva,  
M. O. Begmanova, Nurjibek, B. B. Rysalova, Z. A. Berkimbayeva, L. B. Djansugurova

«Institute of General Genetics and Cytology» CS MES RK, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: bobekman@rambler.ru

**Key words:** radiation exposure, detoxication, *GSTP1*, polymorphism.

**Abstract.** The study of gene polymorphism *GSTP1* (rs1695) in the blood samples of people gathered from the territory of the former Semipalatinsk nuclear test site and a control population of Almaty region was conducted. The result revealed an association with homozygous genotype Val105Val factor exposure in Kazakhstan population. Obtained during the survey data revealed the genetic basis of increased radiosensitivity and can be used for individual forecasts of radiation-induced effects in professional, medical or emergency exposure and promptly to carry out preventive measures.

ӘОЖ: 575.113; 577.21; 539.1.04

## БҰРЫНҒЫ СЕМЕЙ ЯДРОЛЫҚ ПОЛИГОНЫ АЙМАҒЫ ТҰРҒЫНДАРЫНДА *GSTP1* ГЕНІНІҢ ПОЛИМОРФИЗМІН ЗЕРТТЕУ

Б. О. Бекманов, Э. М. Хусайнова, Г. М. Абылқасымова, А. В. Перфильева,  
А. С. Әмірғалиева, М. О. Бегманова, Нұржібек, Б. Б. Рысалова,  
З. А. Беркімбаева, Л. Б. Жансүгірова

ҚР БҒМ ҒК «Жалпы генетика және цитология институты» РМК, Алматы, Қазақстан

**Тірек сөздер:** радиациялық сәулелену, детоксикация, *GSTP1*, полиморфизм.

**Аннотация.** Бұрынғы Семей ядролық полигоны аймағындағы және бақылау ретінде Алматы облысы тұрғындарынан жиналған ДНҚ үлгілерінде *GSTP1* (rs1695) генінің полиморфизмі зерттелді. Нәтижесінде аталған геннің гомозиготалы *Val105Val* генотипі мен сәулелену факторы арасындағы байланыс анықталды. Зерттеу барысында алынған нәтиже радиосезімталдылықтың генетикалық негізін түсінуге және атом өнеркәсіптерінде жұмыс істейтін жұмысшыларда (уранды өндіретін және өңдейтін), медициналық немесе апат жағдайында сәулеленуге ұшыраған адамдарда жеке радиосезімталдылықты анықтауға, келесі ретте дер кезінде алдын-алу шараларын жүргізуге мүмкіндік береді.

Әлемде радиациялық сәулеленуге ұшыраған тұрғындарды биологиялық және медициналық жағынан зерттеу жұмыстары көптеп жүргізілуде. Соған қарамастан, болашақ ұрпаққа радиациялық сәулеленудің генетикалық әсері туралы ақпараттар әлі күнге дейін толық емес. Бұл жағдайда

экологиялық жағынан қолайсыз аймақтардан биологиялық материалдар жинау және соның негізінде генетикалық қор құру арқылы адам организмiне және болашақ ұрпаққа антропогенді факторлардың әсерiн және популяциядағы генетикалық жүкті бағалау бiрден-бiр қолайлы бағыт болып табылады. Осы бағытта Жалпы генетика және цитология институты молекулалық генетика лабораториясында ғылым саласында өте жоғары құндылыққа ие генетикалық қор жинақталған. Бұл қордың құрамында бұрынғы Семей ядролық полигон аумағындағы тұрғындардың үш (төрт) ұрпақ көлемінде сипатталатын жанұялардан жиналған, Степногорск қаласы уран кен өндiрiсiнде жұмыс iстейтiн адамдардан жиналған, жүрек-тамыр ауруымен ауыратын науқастардан жиналған, колоректальды iсiк ауруымен ауыратын адамдардан және бақылау ретiнде iрiктелiп алынған адамдардан жиналған перифериялық қан үлгiлерi мен ДНҚ молекулалары, жалпы саны шамамен 2500-ден астам адамдардан жиналған қан үлгiлерi кiредi [1-3].

Қоршаған ортаның әртүрлі факторларының әсерiне адам организмiнiң жеке жауап беруiнде негiзгi рөлдi атқаратын «сыртқы орта гендерi» немесе ксенобиотиктер детоксикациясына жауапты гендер болып табылады. Олар өте жоғары полиморфты сипатқа ие. Соның iшiнде, мысалы, глутатион S-трансфераза генiнiң пи формасының (*GSTP1*) алатын орны ерекше [4]. *GSTP1* генi өкпе, қуық, кеуде iсiктерiнiң және эндометриоз ауруының дамуымен тiкелей байланысы болатындығы анықталған [5-7]. *GSTP1* генi 11-шi хромосомада орналасқан (11q.13). Бұл геннiң белогы жыныс органдарында, плацентада және ми клеткаларында табылған. *GSTP1* ферментi организмде табиғаты әртүрлі пестицидтер мен гербицидтердiң детоксикация және канцерогенез үдерiстерiнде маңызды роль атқаратыны анықталған.

Осыған орай бұл жұмыста радиациялық сәулеленуге ұшыраған және сәйкесiнше бақылау топтарында организмде әртүрлі ксенобиотиктердiң детоксикациясына қатысатын *GSTP1* генiнiң полиморфизмiн зерттеу қарастырылған.

### Зерттеу материалдары мен әдiстерi

Зерттеу материалдары ретiнде бұрынғы Семей ядролық полигоны аумағында тұратын сәулеленуге ұшыраған (519 адам) және бақылау ретiнде Алматы облысы аймағындағы тұрғындардан (284 адам) жиналған қан үлгiлерi қолданылды. Бұл материалдар 1998-2000 жылдары халықаралық грант қолдауымен, 2008-2011 және 2012-2014 жылдары аралығында ҚР БҒМ Ғылым комитетi қаржыландыратын гранттардың қолдауы аясында жиналған. Бiрегей материалдар қазiргi сәттерде Жалпы генетика және цитология институты молекулалық генетика лабораториясында құрылған генетикалық қорда сақталуда.

Зерттеу ретiнде таңдап алынған қан үлгiлерiнен геномдық ДНҚ молекуласын бөлiп алу *QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, USA)* және *DNA purification Kit (Thermoscientific, USA)* арнайы жиынтықтар арқылы жүзеге асырылды. Бөлiнiп алынған ДНҚ молекуласының концентрациясы және сапасы арнайы биофотометрдiң көмегiмен анықталды (*BioPhotometer plus, Eppendorf, Germany*). Келесi ретте геномдық ДНҚ молекуласына полимеразды тiзбектi реакция (ПТР) әдiсi жүргiзiлдi. Реакциялық қоспада 20-30 нг ДНҚ молекуласы, 12 пмоль концентрацияда праймерлер, (тура: '-ACC CCA GGG CTC TAT GGG AA-3' және керi: 5'-TGA GGG CAC AAG AAG CCC CT-3') және *PCR MasterMix (Thermoscientific, USA)* жиынтығы болды. ПТР реакциясы 94°C – 3 минут, ары қарай 94°C – 30 сек., 55°C – 30 сек., 72°C – 30 сек. (30 цикл) және соңғы 72°C – 5 минут аралығында болды. ПТР реакциясы нәтижесiнде туындаған ампликон *Alw26I (Thermoscientific, USA)* рестриктазасы арқылы 37°C температурада 12 сағат аралығында өңдеуден өткiзiлдi. Рестриктаза арқылы өңделген ампликондар 5% полиакриламидтi гельде талданды. Полиакриламидтi гельде 91 ж.н. және 85 ж.н. тұратын 2 жолақтың пайда болуы *val/val* генотипiмен сипатталды. Ал 176 ж.н., 91 ж.н. және 85 ж.н. тұратын 3 жолақ *ile/val* генотипiн көрсеттi. Егер 176 ж.н. тұратын бiр жолақ болса, онда ол *ile/ile* генотипiмен сипатталды (сурет).

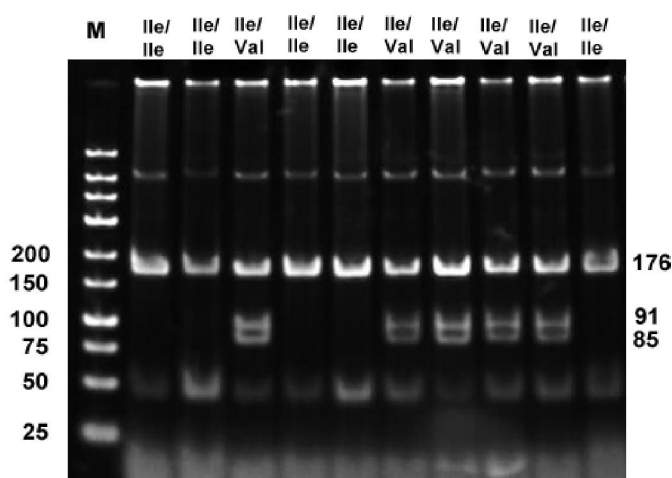
Зерттеу нәтижелерiн статистикалық өңдеу. Зерттеу нәтижелерi арнайы компьютерлiк бағдарламалар арқылы (*Statistica 10.0*) және интернет беттерiндегi арнайы есептеу арқылы ([www.gen-exp.ru](http://www.gen-exp.ru) және [www.medstatistic.ru/calculators](http://www.medstatistic.ru/calculators)) өңдеулерден өткiзiлдi.

### Зерттеу нәтижелері және оларды талқылау

Адам организмiнiң радиациялық сәулеленуге жауабы әртүрлi факторлармен, соның iшiнде жеке радиосезiмталдылық және радиотөзiмдiлiкпен анықталады. Яғни, радиосезiмталдылық деңгейi сол организмдегi ДНҚ молекуласының репарациясы жүйесiнiң қызметi, апоптоз үдерiсi, әртүрлi улы заттардың метаболизмi және т.б. үдерiстермен анықталады.

Клеткадағы бос радикалдардың және химиялық белсендi заттардың пайда болуы, судың радиолизi радиацияның ұзақ уақыттық әсерiнен болатындығы белгiлi. Осыған орай ксенобиотиктердiң детоксикациясына жауапты ферменттердi синтездейтiн гендер радиосезiмталдылық пен радиотөзiмдiлiкке кандидат гендер есебiнде қарастырылады.

Организмде ксенобиотиктердiң детоксикациясына қатысатын *GSTP1* генiнiң полиморфты жағдайын генотиптеу мақсатында бiр-бiрiмен жынысы, жасы, ұлты және т.б. сай келетiн сәулеленуге ұшыраған популяциядан 519 үлгi және бақылау ретiндегi популяциядан 284 үлгi қолданылды. *GSTP1* генiн рестрикциялық өңдеуден өткеннен кейiнгi электрофорез нәтижесi төмендегi суретте көрсетiлген (сурет).



M – маркер 25-700 bp *DNA ladder* (ThermoScientific, USA).

Ile/Ile – гомозиготалы генотип (176 ж.н.); Ile/Val – гетерозиготалы генотип (176/91/85 п.н.).

*GSTP1* генiн рестрикциялық өңдеуден кейiнгi электрофореграммасы

Бақылау және сәулеленген популяциядағы *GSTP1* генiнiң аллелдерiнiң таралу жиiлiгi анық нәтиже бермедi. Сәулеленген популяцияда *Ile* аллелiнiң жиiлiгi бақылаумен салыстырғанда кiшкене жоғары (0,778 және 0,759); *Val* аллелiнiң де таралу жиiлiгi сәулеленген популяция мен бақылау тобында айырмашылығы жоқ; 0,222 – сәулеленген популяция және 0,241 бақылау тобы (1-кесте). 2-кестеде *GSTP1* генiнiң сәулеленген және бақылау популяцияларында сәулелену факторы мен зерттелген геннiң полиморфизмiнiң статистикалық талдауы берiлген. Алынған нәтиже бойынша сәулелену факторымен гомозиготалы генотип *GSTP1 Val/Val* (OR=1,28) арасында байланыс болатындығы көрсетiлдi.

1-кесте – Сәулеленген және бақылау топтарында *GSTP1* генiнiң жиiлiгi

Аллелдер	Сәулеленген популяция	Бақылау	$\chi^2$	p	OR	95% CI
	n = 519	n = 284				
Аллель <i>Ile</i>	0,778	0,759	0.80	0.37	1,12	0,88 – 1,42
Аллель <i>Val</i>	0,222	0,241				

Ген	Генотип	Бақылау, адам (%)	Сәуленген популяция, адам (%)	OR	CI (95%)	P
<i>GSTP1</i> ( <i>Ile105Val</i> )	<i>Ile / Ile</i>	153 (53,87)	303 (58,38)	0,92	0,90 – 1,61	0,33
	<i>Ile / Val</i>	125 (44,01)	202 (38,92)	0,81	0,60 – 1,09	
	<i>Val / Val</i>	6 (2,12)	14 (2,70)	1,28	0,49 – 3,38	

Біздің зерттеулер арқылы алынған *GSTP1* генінің қалыпты және полиморфты аллелдерінің жиілігін әдебиеттердегі мәліметтермен салыстырса, зерттеудегі *Val* аллелінің таралуы жиілігі азия және еуропа популяциясының аралығында болатыны анықталды [8, 9]. *GSTP1* генінің *Ile105Val* аллелдерінің түрлі этникалық топтарда және популяцияларда таралу жиілігі әртүрлі. Мысалы, *GSTP1* гені *105Val* аллелі афро-американдықтар популяциясында кеңінен тараған (0,42) және тайваньдықтар популяциясында бұл жиілік төмен көрсеткішке ие (0,18) [10, 11]. Сондай-ақ, Индияның оңтүстік аймағындағы этникалық топтарда *105Val* аллелінің таралу жиілігі 0% құраған, ал кейбір популяцияларда 11,8% дейін жеткен [12].

*GSTP1* генотиптерінің мұндай таралуы әртүрлі аймақта тұратын этникалық топтарға және популяцияларға сыртқы орта факторларының жекелей әсерінен деп тұжырымдауға болады. Яғни, аталған геннің *Ile105Val* полиморфизмі детоксикация үдерісінде II фазада ферменттің каталикалық белсенділігін мейлінше басады, нәтижесінде организмнің әртүрлі канцерогендерге, метаболиттерге және дәрілік препараттарға жеке сезімталдылығы бұзылады.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] Bersimbaev R.I., Lindholm C. et al. Three generation study of population living the vicinity of the Semipalatinsk nuclear test site. Biosample database and population characteristics // STUK-AA. – 2002. – Vol. 180. – P. 10-29.
- [2] Дуброва Ю., Берсимбаев Р., Джансугурова Л., Саломаа С. Влияние ядерных испытаний на частоту мутаций в половых клетках человека // Мат-лы Третьего Съезда ВОГиС «Генетика в XXI век: современное состояние и перспективы развития». – М., 2004. – С. 455.
- [3] Bersimbaev R.I., Lindholm C., Dubrova Y.E. et al. Minisatellite mutations and biodosimetry of population living close to the Semipalatinsk nuclear test site // STUK – A 187 Workshop on dosimetry of the population living in the proximity, of the Semipalatinsk atomic weapons test site. – 2002. – P. 40-45.
- [4] Lang J., Song X., Cheng J. et al. Association of *GSTP1* *Ile105Val* polymorphism and risk of head and neck cancers: a meta-analysis of 28 case-control studies // PLoS One. – 2012. – Vol. 7(11). – P. e48132.
- [5] Xu C.H., Wang Q., Zhan P. et al. *GSTP1* *Ile105Val* polymorphism is associated with lung cancer risk among Asian population and smokers: an updated meta-analysis // Mol. Biol. Rep. – 2014. – Vol. 41(7). – P. 4199-4212.
- [6] Egan K.M., Cai Q., Shu X.O. et al. Genetic polymorphisms in *GSTM1*, *GSTP1*, and *GSTT1* and the risk for breast cancer: results from the Shanghai Breast Cancer Study and meta-analysis // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. – 2004. – Vol. 13, N 2. – P.197-204.
- [7] Chen X., Yan Y., Li P. et al. Association of *GSTP1* - 313A/G polymorphisms and endometriosis risk: a meta-analysis of case-control studies // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2013. – Vol. 171(2). – P. 362-367.
- [8] Hezova R., Bienertova-Vasku J., Sachlova M. et al. Common polymorphisms in *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *GSTA1* and susceptibility to colorectal cancer in the Central European population // Eur. J. Med. Res. – 2012. – Vol. 14. – P. 17-22.
- [9] Li W., Chen J., Liu C. Glutathione S-transferase P1 *Ile105Val* polymorphism and oral cancer risk: a meta-analysis // Int. J. Med. Sci. – 2013. – Vol. 10(4). – P. 392-398.
- [10] Jones B.A., Christensen A.R., Wise J.P. et al. Glutathione S-transferase polymorphisms and survival in African-American and white colorectal cancer patients // Cancer Epidemiol. – 2009. – Vol. 33(3-4). – P. 249-256.
- [11] Chen S.H., Wu W.J., Tu H.P. et al. Glutathione S-transferase expression in upper urinary tract urothelial carcinomas: a Taiwan study // Asian Pac. J. Cancer Prev. – 2013. – Vol. 14(11). – P. 6475-6479.
- [12] Lakkakula S., Maram R., Gurrankonda V.B. et al. Gene Frequencies of the Human *GSTT1* (Null Allele) and *GSTP1* (*Ile105Val*) Polymorphisms among South Indian Populations // Advances in Cancer: Research & Treatment. – 2013. – Vol. 201. – P. 4869-4878.

#### REFERENCES

- [1] Bersimbaev R.I., Lindholm C. et al. Three generation study of population living the vicinity of the Semipalatinsk nuclear test site. Biosample database and population characteristics. STUK-AA. 2002. Vol. 180. P. 10-29.
- [2] Dubrova Ju., Bersimbaev R., Dzhansugurova L., Salomaa S. Vliyanie jadernyh ispytaniy na chastotu mutacij v polovykh kletkah cheloveka. Mat-ly Tret'ego S#ezda VOGiS «Genetika v XXI vek: sovremennoe sostojanie i perspektivy razvitija». M., 2004. S. 455.

- [3] Bersimbaev R.I., Lindholm C., Dubrova Y.E. et al. Minisatellite mutations and biodosimetry of population living close to the Semipalatinsk nuclear test site. STUK – A 187 Workshop on dosimetry of the population living in the proximity, of the Semipalatinsk atomic weapons test site. 2002. P. 40-45.
- [4] Lang J., Song X., Cheng J. et al. Association of GSTP1 Ile105Val polymorphism and risk of head and neck cancers: a meta-analysis of 28 case-control studies. PLoS One. 2012. Vol. 7(11). P. e48132.
- [5] Xu C.H., Wang Q., Zhan P. et al. GSTP1 Ile105Val polymorphism is associated with lung cancer risk among Asian population and smokers: an updated meta-analysis. Mol. Biol. Rep. 2014. Vol. 41(7). P. 4199-4212.
- [6] Egan K.M., Cai Q., Shu X.O. et al. Genetic polymorphisms in GSTM1, GSTP1, and GSTT1 and the risk for breast cancer: results from the Shanghai Breast Cancer Study and meta-analysis. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2004. Vol. 13, N 2. P.197-204.
- [7] Chen X., Yan Y., Li P. et al. Association of GSTP1 - 313A/G polymorphisms and endometriosis risk: a meta-analysis of case-control studies. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2013. Vol. 171(2). P. 362-367.
- [8] Hezova R., Bienertova-Vasku J., Sachlova M. et al. Common polymorphisms in GSTM1, GSTT1, GSTP1, GSTA1 and susceptibility to colorectal cancer in the Central European population. Eur. J. Med. Res. 2012. Vol. 14. P. 17-22.
- [9] Li W., Chen J., Liu C. Glutathione S-transferase P1 Ile105Val polymorphism and oral cancer risk: a meta-analysis. Int. J. Med. Sci. 2013. Vol. 10(4). P. 392-398.
- [10] Jones B.A., Christensen A.R., Wise J.P. et al. Glutathione S-transferase polymorphisms and survival in African-American and white colorectal cancer patients. Cancer Epidemiol. 2009. Vol. 33(3-4). P. 249-256.
- [11] Chen S.H., Wu W.J., Tu H.P. et al. Glutathione S-transferase expression in upper urinary tract urothelial carcinomas: a Taiwan study. Asian Pac. J. Cancer Prev. 2013. Vol. 14(11). P. 6475-6479.
- [12] Lakkakula S., Maram R., Gurramkonda V.B. et al. Gene Frequencies of the Human GSTT1 (Null Allele) and GSTP1 (Ile105Val) Polymorphisms among South Indian Populations. Advances in Cancer: Research & Treatment. 2013. Vol. 201. P. 4869-4878

#### **ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *GSTP1* У ЖИТЕЛЕЙ БЫВШЕГО СЕМИПАЛАТИНСКОГО ЯДЕРНОГО ПОЛИГОНА**

**Б. О. Бекманов, Э. М. Хусайнова, Г. М. Абылкасымова, А. В. Перфильева, А. С. Амиргалиева,  
М. О. Бегманова, Нуржибек, Б. Б. Рысалова, З. А. Беркимбаева, Л. Б. Джансугурова**

РГП «Институт общей генетики и цитологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан

**Ключевые слова:** радиационное облучение, детоксикация, *GSTP1*, полиморфизм.

**Аннотация.** Было проведено исследование полиморфизма гена *GSTP1* (rs1695) на образцах крови людей, собранных с территории бывшего семипалатинского полигона и в контрольных популяциях Алматинской области. В результате выявлена ассоциация гомозиготного генотипа *Val105Val* с фактором облучения в казахстанской популяции. Полученные в ходе исследования данные позволили выявить генетические основы повышенной радиочувствительности и могут быть использованы для индивидуальных прогнозов радиационно-индуцированных эффектов при профессиональном, медицинском или аварийном облучении, а также своевременно проводить профилактические мероприятия.

Поступила 27.02.2015 г.