Миелодиспластик хамшинжтэй хүмүүст *ДНХ*-ийн засварын *OGG1, XRCC1* генийн полиморфизмыг тодорхойлсон дүн

Д.Мөнхзул[1], О.Ундармаа[2], С.Чимэдцэрэн[3], Ц.Одгэрэл[4], Н.Батчимэг[1]

[1,2,3]АШУҮИС, АУС, Эмнэлзүйн лабораторийн тэнхим
[4]АШУҮИС, Анагаахын сургууль, Цус судлалын тэнхим

Түлхүүр үг:
МДХШ-Миелодиспластик хамшинж
XRCC1 ген
OGG1 ген
ДНХ-дезоксирибонуклейн хүчил
ОХУП-ПГУ-огтлогдсон хэрчмийн уртын полиморфизм

ӨГҮҮЛЭЛ

Товч утга: Үндэслэл: ДНХ-ийн дан гинжний гэмтэл нь суурь зүсэх засварын OGG1 болон XRCC1 генийн оролцоотой засварлагддаг. ДНХ-ийн засварын генийн полиморфизм нь төрөл бүрийн хавдар, лейкеми болон МДХШ-ийн эрсдлийг нэмэгдүүлдэг. Иймд бид эрүүл болон МДХШ-тэй хүмүүст ДНХ-ийн суурь зүсэх засварын механизмд чухал үүрэгтэй OGG1 генийн rs1052133 болон XRCC1 генийн rs25487 полиморфизмын генотипийг тодорхойлох зорилгоор энэхүү судалгааг эхлүүлсэн. **Зорилго:** Миелодиспластик хамшинжтэй хүмүүст ДНХ-ийн суурь зүсэх засварын генийн OGG1-rs1052133, XRCC1-rs25487 полиморфизмын илрэлийг цусны ерөнхий шинжилгээний зарим үзүүлэлт болон бласт эстэй харьцуулан судлах. **Судалгааны хэрэглэгдэхүүн ба арга зүй:** Генотипийг ОХУП-ПГУ аргаар харьцангуй эрүүл 20 болон МДХШ-тэй 9 хүнд тодорхойлсон. **Үр дүн:** Судалгааны бүлгүүдэд XRCC1 генийн 399-р кодоны полиморфизмыг тодорхойлоход гомозигот GG генотипийн давтамж МДХШ-тэй хүмүүсийн 60%-д өндөр давтамжтай илэрсэн (p=0.04). XRCC1 генийн rs25487 полиморфизмын мутант GG генотип тодорхойлогдсон хүмүүсийн 62.5% нь бласт эсийн илүүдэлтэй байв. **Дүгнэлт:** XRCC1 генийн rs25487 полиморфизмын мутант GG генотипийн давтамж МДХШ-тэй оролцогчдод хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдсан(p-0.04). МДХШ-тэй оролцогчдод генийн полиморфизмын генотипийн илрэлийг цусны ерөнхий шинжилгээний үзүүлэлтүүдтэй харьцуулахад ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдаагүй (p>0.05). ба XRCC1 генийн rs25487 полиморфизмын мутант GG генотип тодорхойлогдсон хүмүүсийн 62.5% нь бласт эсийн илүүдэлтэй байв.

Үндэслэл: Миелодиспластик хамшинж (МДХШ) нь ясны чөмөгний миелойд эгнээний үүдэл эсийн неоплазмын өөрчлөлт болон захын цусны эсүүдийн цөөрлөөр илэрч улмаар цочмог миелойд лейкемид шилждэг цусны хорт хавдрын урьдал эмгэг юм.[1,2] Цусны гемопоэзийн үүдэл эсэд мутаци үүсэх мөн ДНХ-ийн засварын генийн полиморфизмын нөлөөллөөс үүдэх энэхүү эмгэгийн тархалт дэлхийн "Үндэсний хавдрын институт"- ын судалгаагаар 100 000 хүн амд 4.9 тохиолдож байгаа бол АНУ-д жилд 30000-40000 шинэ тохиолдол бүртгэгдэж, цаашид нэмэгдэх хандлагатай байна.[3] Манай оронд анх МУ-ын ардын эмч Ч.Цэрэннадмид 65 настай эрэгтэйд МДХШ-ийг илрүүлсэн.[2]

УНТЭ-ийн Цусны Эмгэг судлалын тасагт 2015 оны 11 сараас 2017 оны 5 сарын хугацаанд давхардсан тоогоор 40 гаран МДХШ-ийн тохиолдол бүртгэгджээ.[4] 2018 оны эрүүл мэндийн судалгаагаар Монгол улсын хэмжээнд 10 000 хүн ам тутамд 13.6 хүн хорт хавдрын улмаас нас барсан байна. Зонхилон тохиолдож байгаа хорт хавдрын 1.7%-ийг цусны лейкеми эзэлж байна.[5] МДХШ-ийн оношлогоо, эрт илрүүлэлтийг хянах нь цусны хорт хавдарт шилжих явцыг бууруулах боломжтой юм. Эс ген токсины хүчин зүйлүүдэд хэт их өртсөнөөр ДНХ-ийн суурийн хэсэгт гэмтэл үүсч улмаар ДНХ-ийн засварын генийн үйл ажиллагаа алдагдан, гэмтлийг засварлах хүчин чадлыг бууруулж улмаар хорт хавдрын эрсдлийг нэмэгдүүлж байна.[6,11] Суурь зүсэх засварын механизм OGG1, XRCC1, MUTYH болон APE1 генүүдийн оролцоотой явагддаг. ДНХ-ийн суурь зүсэх засварын генийн полиморфизмыг эрүүл хүн ам болон цусны эмгэг ялангуяа МДХШ-тэй хүмүүст тодорхойлох нь цочмог миелойд лейкемид шилжих эрсдэлийг нэмэгдүүлэхэд нөлөөлөх генотипийг тогтоох боломжтой хэмээн энэхүү судалгааг эхлүүлсэн.

Судалгааны хэрэглэгдэхүүн ба арга зүй:

Судалгаанд харьцангуй эрүүл буюу цусны донор 20, МДХШ-тэй 9 хүнийг сайн дурын үндсэн дээр хамруулан оролцогчдын захын венийн судаснаас

3-5 мл цус авч ДНХ-ийг QIAmp blood mini kit (QIAGEN, Germany) – ээр үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу ялгасан. XRCC1 генийн rs25487 полиморфизмыг илрүүлэхдээ 615 bp, OGG1 генийн rs1052133, 200bp урттай бай дараалыг ПГУ-аар олшруулж, олширсон бүтээгдэхүүнийг MspI болон Fnu4HI ферментээр зүсэж, 2% болон 3%-н агарозын гельд тус тус гүйлгэж, бромт этидээр будаж, хэт ягаан туяаны үүсгүүрт харж хариуг дүгнэсэн. Үр дүнгийн статистик боловсруулалтыг SPSS 23 программ ашиглан тохиолдол болон хяналтын бүлгийн ялгааг хи квадрат тестийн аргыг ашигласан.

Үр дүн:

Судалгааны үр дүн 1:

Хүснэгт 1. OGG1 генийн rs1052133 полиморфизмын аллель, генотипийн давтамж

OGG1 C326G	Хяналтын бүлэг n(%)	Тохиолдлын бүлэг n(%)	OR	P утга
Генотип				
CC	7(35)	3(33)		
CG	11(55)	5(55.6)		0.913
GG	2(10)	1(11)		
Аллель				
C326	18(69.2)	8 (30.8)	0.889 (0.07±11.28)	1
326G	13(68.4)	6 (31.6)	0.929 (0.176±4.897)	1

Судалгаанд оролцогчдод OGG1 генийн rs1052133 полиморфизмыг тодорхойлоход C аллелийн давтамж 0.58 (n=26), G аллелийн давтамж 0.42 (n=19) байлаа. Гомозигот CC генотип 0.34 (n=10), гетерозигот CG генотип 0.55 (n=16), гомозигот GG генотип 0.10 (n=3) давтамж тус тус тодорхойлогдов.

Хүснэгт 2. XRCC1 генийн rs25487 полиморфизмын генотипийн давтамж

XRCC1 A399G	Хяналтын бүлэг n(%)	МДХШ бүлэг n(%)	OR	P утга
Генотип				
AA	7 (87.5)	1 (12.5)		
AG	9 (81.8)	2 (18.2)		**0.04**
GG	4 (40)	6 (60)		
Аллель				
A399	16(84.2)	3 (15.8)	0.125 (0.021±0.731)	0.032
399G	13 (62)	8(38)		

Судалгаанд оролцогчдод XRCC1 rs25487 полиморфизмыг тодорхойлоход G аллелийн давтамж 0.52 (n=21), A аллелийн давтамж 0.47 (n=19) байлаа. Гомозигот GG генотип 0.34(n=10), гетерозигот AG генотип 0.38 (n=11), гомозигот AA генотип 0.27 (n=8) давтамжтайгаар тус тус илэрсэн.

Үр дүн 2.

Хүснэгт 3. OGG1 (rs1052133), XRCC1 rs25487 полиморфизмын генотипийн илрэлийг цусны ерөнхий шинжилгээний үзүүлэлттэй харьцуулсан дүн

Ген / Параметр	*OGG1* rs1052133 CC	*OGG1* rs1052133 Non-CC (CG+GG)	P утга	*XRCC1 rs25487* AA	*XRCC1 rs25487* Non-AA (AG+GG)	P утга
WBC-Цагаан эс (10^9u/L)	3.06±0.30	3.70±3.18	0.74	3.6	3.47±2.72	P=0.967
RBC-Улаан эс (10^{12}u/L)	3.42±1.78	3.22±1.03	0.82	4.6	3.12±1.18	P=0.280
HGB-Гемоглобин (г/дл)	8.3±4.52	9.43±3.19	0.67	7.1	9.3±3.58	P=0.581
HCT-Гематокрит (%)	28.9±12.7	29.9±7.9	0.89	34	29.05± 9.39	P=0.635
PLT-Тромбоцит (10^3u/L)	111±82	65.6±47	0.34	193	192±3.58	P=0.99

Тайлбар: Параметрийн дундаж утга ± стандарт хазайлт (Mean±SD)

OGG1 генийн rs1052133 полиморфизмын генотипийн илрэлийг ЦЕШ-ний шинжилгээний үзүүлэлттэй харьцуулахад CC генотип тодорхойлогдсон оролцогчдын цагаан эсийн бодит тооны дундаж хэмжээ 3.06, улаан эсийн дундаж хэмжээ 3.42, гемоглобины дундаж утга 8.3 тус тус лавлах хэмжээнээс бага тодорхойлогдсон. CG+GG гаплотиптэй оролцогчдын тромбоцит эсийн дундаж хэмжээ 65.6 x103u/L буюу хэвийн лавлах хэмжээнээс бага байгаа боловч CC болон non-CC генотип тодорхойлогдсон бүлэгт статистик ач холбогдол бүхий ялгаагүй байв. Тохиолдлын бүлэгт XRCC1 генийн AA генотип болон AG+GG гаплотипийн илрэлийг ЦЕШ-ний үзүүлэлттэй харьцуулахад AA генотиптэй нэг тохиолдол байсан ба цусан дахь цагаан эсийн хэмжээ 3.6 гемоглобины хэмжээ 7.1 г/дл буюу лавлах хэмжээнээс бага байв.

Хүснэгт 4. Миелограмм дахь бласт эсийн илрэл ба засварын генийн полиморфизмын хамаарал

Ген / Бласт эс%	*OGG1* rs1052133 CC	*OGG1* rs1052133 Non-CC CG+GG	*MUTYH* rs3219489 GG	*MUTYH* rs3219489 Non-GG GC+CC	*APE1* rs1130409 TT	*APE1* rs1130409 Non-TT TG+GG	*XRCC1* rs25487 AA	*XRCC1* rs25487 Non-AA AG+GG
0.1-1.1	2	2	1	3	2	3 (60%)	1	3(37.5%)
1.2% дээш	4 (66.7%)	1	4 80%	1	3	2	0	5 **(62.5%)**

Тайлбар: Бласт эсийн лавлах хэмжээ 0.1-1.1%

XRCC1 генийн rs25487 полиморфизмын мутант GG генотип тодорхойлогдсон хүмүүсийн 62.5% нь бласт эсийн илүүдэлтэй байв.

Хэлцэмж: Энэхүү судалгаагаар МДХШ эмгэгийн үед ДНХ-ийн суурь тайрах засварын механизмын үйл ажиллагаанд оролцдог OGG1, XRCC1 генийн полиморфизмын илрэлийг өөрийн орны цөөн тооны хүн амд судаллаа.

МДХШ эмгэгтэй бүлгийн дундаж нас 46.2±12.45 жил байсан нь Dolly Joshi нарын 2016 онд хийгдсэн МДХШ эмгэгтэй хүмүүст ДНХ-ийн засварын генийн полиморфизмыг тодорхойлсон судалгаатай ойролцоо (дундаж нас- 47жил) байв. Aktuglu нарын 2014 онд МДХШ-тэй Турк хүн амын дунд хийгдсэн судалгаагаар OGG1 генийн эрсдлээс хамгаалах үүрэгтэй CC генотип судалгааны МДХШ бүлгийн 53.8%-д нь илэрсэн бол манай тохиолдлын бүлгийн 33%-д илэрсэн.7 Эпидемиологийн судалгаагаар OGG1-rs1052133 (C326G) полиморфизм нь төрөл бүрийн хавдрын эрсдлийг нэмэгдүүлж байгааг тогтоожээ.

Уг судалгаагаар OGG1-rs1052133 полиморфизм нь уушигны хорт хавдрын үед мэдэгдэхүйц эрсдэлтэй байв. Харин угсаатны бүлгийн дунд G326 аллелийн давтамжийг тодорхойлоход Азид 47.07% (95% CI=43.39-50.75) байсан бол Кавказ хүн амд 23.62% тохиолдож байгаа нь Азийн хүн амын дунд нийт хавдрын эрсдэлтэй засварын генийн полиморфизм хамааралтай (P<0.001) болохыг харуулж байна.[8]

ДНХ-ийн засварын генийн полиморфизм нь ДНХ-ийн засварын уургуудын идэвхжилд нөлөөлснөөр, генийн тогтворгүй байдлыг үүсгэн хорт хавдар үүсэх эрсдлийг нэмэгдүүлэх гол хүчин зүйл болдог. Тухайлбал Польш улсад хийгдсэн судалгаагаар хүүхдийн цочмог лимфобласт лейкемийн (ЦЛЛ) үед OGG1 C326G полиморфизмын GG генотип нь уг өвчний эрсдлийг нэмэгдүүлсэн үр дүн гарсан (OR 5.36; p<0.001) бол CC нь хавдрын эрсдлийг бууруулсан (OR 0.45, p<0.003). Amani Sorour нарын Египет улсад хийгдсэн 2013 оны судалгаагаар XRCC1 генийн A399G полиморфизм нь цочмог миелойд лейкемийн эрсдэлийг нэмэгдүүлсэн (p=0.02) дүн гарчээ.[9] Бидний судалгаагаар МДХШ-тэй хүмүүст XRCC1 генийн A399G полиморфизм нь ач холбогдол бүхий ялгаатай (p=0.04) байсан нь дээрх судалгааны дүнтэй дүйж байна. 2005 онд Ray-jean J.Hung нарын судлаачид хавдрын эрсдэлд генийн полиморфизмын холбоо хамаарлыг судлахад OGG1 генийн GG генотип эрсдлийг нэмэгдүүлж байв. Тамхи хамааралтай хавдрын эрсдлийг судлахад XRCC1 генийн 194Trp аллель хамгаалах нөлөөтэй байв. Харин хавдрын эрсдэлийг XRCC1 генийн гомозигот GG генотип нэмэгдүүлж байгаа нь манай судалгааны үр дүнтэй ижил (XRCC1 399G генотип p=0.02) байна.

Манай судалгааны хязгаарлагдмал тал нь судалгааны цар хүрээ бага, цөөн тооны тохиолдол байсан нь статистикийн үнэн магадтай дүгнэлт өгөхөд учир дутагдалтай байлаа. МДХШ-ийг баталгаажуулах болон бусад цусны эмгэгээс ялган оношлоход төвөгтэй, уг эмгэгийн тохиолдлыг бүртгэх нэгдсэн сан байхгүй нь нөлөөлсөн гэж үзэж байна. Тухайлбал ДЭМБ-ийн 2008 оны ангиллаар МДХШ эмгэгийг ясны хэмийн өөрчлөлттэй ужиг эс цөөрөл (RCUD), цагираг эст ужиг цус багадалт (RARS), олон шугаман эсийн өөрчлөлттэй ужиг цус багадалт (RCMD), бласт эстэй ужиг цус багадалт (RAEB), RAEB1, RAEB2, 5-р хромосомын q мөрний делецтэй холбоотой цус багадалт, ангилалд хамрагдах боломжгүй МДХШ, хүүхдийн ужиг эс цөөрөл (түр хугацаа) гэж 6 ангилсан байдаг. Ангиллыг ДЭМБ 2016 онд дахин шинэчлэн гаргасан болно. Дээрх ангиллын дагуу Энэтхэгийн судлаач Dolly Joshi нарын 2015 оны судалгаагаар бласт эст ужиг цус багадалттай (RAEB1, RAEB2) дэд хэв шинж оношлогдсон өвчтөнүүдэд XRCC1 генийн давтамж өндөр байсан байна. Гэсэн ч судлаачдын ажиглалтаар МДХШ болон полиморфизмын хамаарлыг өргөн хүрээнд RAEB1, RAEB2-тай хүмүүст судлах шаардлагатай гэж үзжээ.10

Дүгнэлт:

1. XRCC1 генийн rs25487 полиморфизмын мутант GG генотипийн давтамж МДХШ-тэй оролцогчдод хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдсан(p-0.04).
2. МДХШ-тэй оролцогчдод генийн полиморфизмын генотипийн илрэлийг цусны ерөнхий шинжилгээний үзүүлэлтүүдтэй харьцуулахад ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдаагүй (p>0.05).
3. XRCC1 генийн rs25487 полиморфизмын мутант GG генотип тодорхойлогдсон хүмүүсийн 62.5% нь бласт эсийн илүүдэлтэй байв.

Ном зүй:

1. *Shallis RM, Ahmad R, Zeidan AM. The genetic and molecular pathogenesis of myelodysplastic syndromes. European Journal of Haematology. 2018;101 (3):260-271.*
2. *Отгонбат.А, Оюундэлгэр Н, Ц О. Миелодисплазийн хамшинж ба Цусны хавдар, Цэрэннадмид.Ч, Цусны эмгэг судлал,. 1 ed. УБ: Хэвлэх үйлдвэр; 2017.*
3. *Rollison DE, Howlader N, Smith MT, et al. Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001-2004, using data from the NAACCR and SEER programs.Blood.2008;112(1):45-52.*
4. *УНТЭ. Цусны эмгэг судлалын тасаг; Хэвтэн эмчлүүлэгчдийн бүртгэл; 2015-2017. УБ2019.*
5. *Эрүүл мэндийн үзүүлэлт 2018, хавдар ба нас баралт, 97х, ЭМХТ. УБ:2018.*
6. *Roos WP, Thomas AD, Kaina B. DNA damage and the balance between survival and death in cancer biology. Nature Reviews Cancer. 2016;16(1):20.*
7. *Aktuglu MB, Ayer M, Bireller ES, et al. Investigation of DNA repair gene variants on myelodysplastic syndromes in a Turkish population. Medical Oncology. 2014;31(10):174.*
8. *Wei B, Zhou Y, Xu Z, et al. The effect of hOGG1 Ser326Cys polymorphism on cancer risk: evidence from a meta-analysis. PloS one. 2011;6(11):e27545.*
9. *Sorour A, Ayad MW, Kassem H. The genotype distribution of the XRCC1, XRCC3, and XPD DNA repair genes and their role for the development of acute myeloblastic leukemia. Genetic testing and molecular biomarkers. 2013;17(3):195-201.*
10. *Joshi D, Korgaonkar S, Shanmukhaiah C, Vundinti BR. Association of XPD (Lys751Gln) and XRCC1 (Arg280His) gene polymorphisms in myelodysplastic syndrome. Annals of hematology. 2016;95(1):79-85.*
11. *Norjmaa B, Saitoh T, Kasamatsu T, Minato Y, Murakami H. XRCC1 Arg194Trp and XRCC1 Arg399Gln Polymorphisms Affect Clinical Features and Prognosis of Myelodysplastic Syndromes. 北関東医学. 2017;67(1):93-94.*

Associations of *DNA* base excision repair *OGG1* and *XRCC1* gene polymorphism in myelodysplastic syndrome

Munkhzul.D[1], Undarmaa.O[2], Chimidtseren.S[3], Odgerel.Ts[4], Batchimeg.N[1]

[1,3]MNUMS, School of Medicine, Department of Clinical Laboratory
[4]MNUMS, School of Medicine, Department of Hematology

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).
Purpose: This study was to evaluate the impact of polymorphisms in genes encoding two proteins of BER system: OGG1-rs1052133 and XRCC1-rs25487 in MDS and healthy population.
Materials and methods: In this study, we recruited 20 health control group [median 47.9 years, 9 MDS subjects [median 46.2 years] were included in this study. Genotyping was carried out by the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technique.
Results: The frequencies of genotypes of BER gene polymorphism. The GG genotype of the XRCC1 gene was associated with an increased risk of MDS patients (frequency of 60%). Mutant GG genotype determined MDS patients of more than 62.5% blast cells.
Conclusion: This study is the first to analyze XRCC1, OGG1 SNPs and their associated risk of MDS in Mongolian samples (p=0.04). To fully understand the role of DNA damage and DNA repair in the carcinogenesis, prospective studies are needed and additional gene should be analyzed.

Keywords: XRCC1-X ray repair cross complementing, OGG1-8-oxoguanine DNA glycosylase, PCR-RFLP-polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, SNP-single nucleotide polymorphism, MDS-myelodysplastic syndromes