

УДК 575.174.015.3:611.018.53:614.876:539.1.047

СПЕКТР ВАРИАНТОВ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНА *TP53*
У ХРОНИЧЕСКИ ОБЛУЧЕННЫХ ЛЮДЕЙ© 2024 г. В. С. Никифоров^{1,2,*}, А. В. Кореченкова¹, А. В. Аклеев^{1,2}¹Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА России, Челябинск²Челябинский государственный университет, Челябинск

*E-mail: nikiforovx@mail.ru

Поступила в редакцию 15.05.2023 г.

После доработки 13.06.2024 г.

Принята к публикации 24.07.2024 г.

Известно, что ионизирующее излучение способно повреждать генетический аппарат клетки не только за счет прямого воздействия, но и посредством индукции оксидативного стресса. Так, в результате окисления азотистого основания гуанина (G) продуктами оксидативного стресса могут возникать трансверсии типа G:C>T:A и G:C>C:G в гене-супрессоре опухолевого роста *TP53*. В свою очередь, соматические и наследуемые варианты гена *TP53* имеют большое значение в развитии злокачественных новообразований. В связи с этим, целью исследования явился анализ трансверсий G:C>T:A и G:C>C:G гена *TP53* в клетках периферической крови, лиц, подвергшихся хроническому низкоинтенсивному радиационному воздействию. Представлены результаты анализа спектра вариантов последовательности гена *TP53* на основе трансверсий G:C>T:A и G:C>C:G в клетках периферической крови у жителей прибрежных сел реки Течи Челябинской и Курганской областей, которые в 1950-х годах подверглись хроническому низкоинтенсивному радиационному воздействию. Диапазон индивидуальных значений накопленной поглощенной дозы облучения красного костного мозга за счет внешнего γ -излучения и ^{90}Sr составил от 2.1 до 2742.0 мГр (среднее значение – 605.4 ± 191.9 мГр ($M \pm SE$)). В результате исследования у обследованных лиц в было выявлено семь различных вариантов гена *TP53* на основе трансверсий G:C>T:A и G:C>C:G, представляющих собой однонуклеотидные замены. Все обнаруженные варианты присутствовали в базе данных IARC *TP53* Database и не имели клинического значения как «патогенные» или «вероятно патогенные». Различия частот носителей обнаруженных вариантов гена *TP53* между группой сравнения и основной группой не достигали статистически значимого уровня.

Ключевые слова: *TP53*, rs77697176, секвенирование по Сэнгеру, река Теча, хроническое облучение, малые и средние дозы

DOI: 10.31857/S0869803124050028, **EDN:** LNXKON

Клеточная ДНК постоянно окисляется в результате действия различных эндогенных и экзогенных агентов, в том числе и ионизирующего излучения, а возникающее в результате этого повреждения ДНК могут повышать риск развития рака и других заболеваний [1]. Гуанин имеет самый низкий окислительно-восстановительный потенциал из четырех оснований ДНК [2] и, следовательно, наиболее легко окисляется. Окисление гуанина в результате оксидативного стресса может приводить к трансверсиям. Как правило, 8-оксо-7,8-дигидрогуанин (8-охоG), который является одним из наиболее распространенных окислительных повреждений ДНК, вызывает трансверсии G:C>T:A [3], в то время как 2,5-диаминоимидазол-4-он (Iz, 2,5-diamino-4H-imidazol-4-one), являющийся еще одним прямым продуктом окисления гуанина, способен вызывать трансверсии G:C>C:G [4-7].

Во время репликации ДНК включение аденина напротив продукта окисления гуанина вызывает трансверсию G:C>T:A, тогда как включение гуанина напротив продукта окисления гуанина вызывает трансверсию G:C>C:G. Эти мутации обнаружены во многих важных генах и, в частности, в сайтах CpG в гене – супрессоре опухоли *TP53* [8]. Кроме того, в результате репликации ДНК в стволовых клетках могут возникать нонсенс-мутации G:C>T:A, которые составляют до 60 % от всех нонсенс-мутаций в генах – супрессорах опухолей [9].

TP53 расположен на коротком плече хромосомы 17 (17p13). Он содержит 11 экзонов, охватывающих 20 тысяч оснований, и кодирует ядерный фосфопротеин массой 53 кДа. Первоначально он считался онкогеном, но генетические и функциональные данные, полученные через 10 лет после его открытия доказали, что он является супрессором опухоли.

Инактивация функции *TP53* или сопутствующих ему путей является общей чертой опухолей человека, которая часто коррелирует с повышенной злокачественностью, плохой выживаемостью пациентов и резистентностью к лечению [10].

Трансверсии G>T могут быть вызваны действием различных канцерогенных факторов, в частности показаны замены G>T в гене *TP53* при раке легкого у курильщиков [11], при раке кожи, вызванном действием УФ-излучения [12]. В исследованиях на мышах, подвергшихся воздействию нейтронов и γ -излучения, наблюдалась положительная корреляция между числом переходов C:G>T:A и T:A>C:G и продолжительностью роста опухоли молочной железы. При этом в спектре мутаций замен одной пары оснований преобладали переходы C:G>T:A, и это было характерно как для спонтанных карцином молочной железы, так и для карцином, индуцированных нейтронами и γ -излучением [13].

В связи с этим целью исследования явился анализ трансверсий G:C>T:A и G:C>C:G гена *TP53* в клетках периферической крови у лиц, подвергшихся хроническому низкоинтенсивному радиационному воздействию.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Характеристика исследуемых групп

Секвенирование по Сэнгеру гена *TP53* было проведено для 17 женщин из когорты р. Теча (КРТ) [14]. Использовались следующие критерии включения в исследуемые группы:

- 1) облученные лица из когорты р. Теча — проживавшие в одном из 41 сел, расположенных на побережье р. Теча, в период с 01.01.1950 по 31.12.1960 г.;
- 2) наличие рассчитанной индивидуальной поглощенной накопленной дозы облучения красного костного мозга (ККМ), тимуса и периферических лимфоидных органов.

Критерии исключения:

- 1) наличие у обследованных лиц онкологических, аутоиммунных, острых или хронических (период обострения) воспалительных заболеваний в течение последних трех месяцев.

Средний возраст всех женщин составил $71,0 \pm 1,4$ год ($M \pm SE$), а возрастной диапазон: 58,0–82,0 лет. Возраст участников исследования указан на момент взятия образца крови. По этнической принадлежности наблюдалось следующее распределение: доля женщин славянского происхождения составила 53% (девять человек), представительниц тюркской языковой группы — 47% (восемь человек). Индивидуальные

дозы облучения ККМ у женщин из основной группы составляли от 2,1 до 2742,0 мГр (среднее значение — $605,4 \pm 191,9$ мГр ($M \pm SE$)). Индивидуальные накопленные дозы облучения тимуса и периферических лимфоидных органов находились в диапазоне от 0,8 до 197,3 мГр (среднее значение — $50,4 \pm 13,7$ мГр ($M \pm SE$)) [14, 15].

Условное разделение на основную группу и группу внутреннего контроля (далее группа сравнения) представлено на рис. 1.

В основную группу вошли 10 женщин с накопленными дозами облучения ККМ от 135,8 до 2742,0 мГр (среднее значение — $1003,9 \pm 261,5$ мГр). В группу сравнения были включены семь женщин из КРТ, чьи дозы облучения ККМ не превышали 100 мГр (среднее значение накопленной поглощенной дозы в этой группе составило — $36,1 \pm 9,7$ мГр).

Выделение ДНК и секвенирование

Источником ДНК служили образцы цельной крови, которые хранились в биобанке лаборатории молекулярно-клеточной радиобиологии ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России при температуре -80°C . ДНК выделяли методом органической экстракции с помощью набора реагентов Extra Phen (ООО НПФ «АТГ-Биотех», Россия). Количество ДНК и чистоту образцов ДНК оценивали с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, США). Значения отношения A260/A280 находились в интервале 1,7–1,9. С помощью программы Primer Designer™ Tool (Thermo Scientific, США) были выбраны праймеры для ПЦР фрагментов ДНК, перекрывающих 2–11-й экзоны гена *TP53*, и их секвенирования по Сэнгеру (табл. 1).

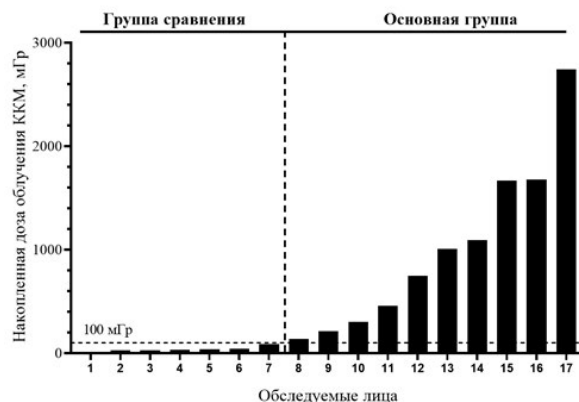


Рис. 1. Разделение обследованной выборки на группу сравнения и основную группу в зависимости от накопленной дозы облучения ККМ.

Fig. 1. Division of the examined sample into a comparison group and a main group depending on the accumulated radiation dose of the red bone marrow.

Таблица 1. Праймеры для ПЦР фрагментов ДНК, перекрывающих 2–11-й экзоны гена *TP53*
Table 1. Primers for PCR of DNA fragments covering exons 2–11 of the *TP53* gene

№ п/п	AB #	Последовательности праймеров (5'→3')	№ амплификации	Длина, п.н.
1	Hs00346583_CE	F: GGGACTGTAGATGGGTGAAAAGAG R: CTGTCTCAGACACTGGCATGGT	1	463
2	Hs00346582_CE	F: GAATCCCAAAGTTCCAAACAAAAGAA R: AGACTTCCTGAAAACAACGTTCTG	2	500
3	Hs00818498_CE	F: GAGAGATGCTGAGGGTGTGATG R: CTGGGCTTCTTGCACTTCTGG	3	274
4	Hs00346581_CE	F: GTGAACAGATAAAGCAACTGGAAGAC R: ATCCCATCACACCCTCAGCATCT	4	511
5	Hs00346580_CE	F: CTCATAGGGCACCACCACTA R: CTGAGGTGTAGACGCCAACTCT	5	517
6	Hs00424883_CE	F: GGGAGGCCCTTAGCCTCTGTAA R: TTTGCCAACTGGCCAAGACC	6	546
7	Hs00346578_CE	F: AAAGAGAAGCAAGAGGCAGTAAGG R: CTTGCCACAGGTCTCCCAAG	7	497
8	Hs00346577_CE	F: TGTGTGTTGGGCAGTGCTAGGA R: CATACTACTACCCATCCACCTCTC	8	494
9	Hs00494729_CE	F: CATCTGTATCAGGCAAAGTCATAGAAC R: CAGAGGAAGAGAATCTCCGCAAGAA	9	506
10	Hs00516544_CE	F: TAAAAGTAGGCTAGGCAGGCC R: AAGGACCAGACCAGCTTTCAA	10	531
11	Hs00439701_CE	F: GGCTGGGAGTTGCGGAGAAT R: GCAGTTTCTACTAAATGCATGTTGCTT	11	488
12	Hs00462018_CE	F: GGACAGCTTCCCTGGTTAGTACGG R: GGGTGTGGCCACCATCTTGA	12	566
13	Hs00454657_CE	F: CAAGTCTTGGTGGATCCAGATCAT R: CCACTGAACAAGTTGGCCTGC	13	578
14	Hs00346570_CE	F: TTCACCCCTCAGACACAGGTT R: TCCACACCCTGGAGCATTTTCAT	14	543
15	Hs00346569_CE	F: GGCTCAGCCTTGCTAAATCAGA R: CAGCTGGAAGGGTCAACATCTT	15	493

Состав ПЦР-смеси для амплификации и условия проведения реакции представлены в табл. 2. ПЦР проводили в амплификаторе C1000™ ThermalCycler (Bio-Rad, США).

Наличие целевого продукта в ПЦР-смеси после проведения амплификации оценивали с помощью

агарозного гель-электрофореза. С помощью набора ExoSAP-IT (Thermo Fisher, USA) осуществлялась ферментативная очистка продуктов ПЦР.

По завершении очистки проводили секвенирующую реакцию. На 5'-конце праймеров для ПЦР находился универсальный сайт прикрепления

Таблица 2. Состав ПЦР-смеси для амплификации соответствующих ампликонов
Table 2. Composition of the PCR mixture for amplification of the corresponding amplicons

№ ампликона	Условия ПЦР (объем ПЦР-смеси 10 мкл)							
	Мастермикс	Объем*	10 мкмоль/л Fw	10 мкмоль/л Rev	GC-enhancer	dH ₂ O	ДНК**	T _a ***, °C
№1	360 MasterMix****	5	0.3	0.3	0.5	1.9	2	58
№3–11, 13–15	360 MasterMix	5	0.2	0.2	-	3.6	1	60
№2, 12	360 MasterMix	5	0.3	0.3	-	2.4	2	58

Примечание. * Объемы выражены в мкл; ** образцы ДНК нормировали до концентрации 20 нг/мкл; *** T_a – температура отжига праймеров; **** AmpliTaq Gold™ 360 MasterMix – готовая смесь для ПЦР.

секвенирующих праймеров (M13). Олигонуклеотиды были синтезированы фирмой Invitrogen (США), последовательности: Forward — GTTGTAACGACGGCCAGTG, Reverse — AGCGGATAACAATTCACACAGGA. Для секвенирования использовали BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher, США). Секвенирующие смеси очищали с помощью BigDyeX Terminator™ Purification Kit (Applied Biosystems, США).

Статистический анализ

Сборку контиг, выравнивание последовательностей, сравнение с референтной последовательностью гена *TP53* (NG_017013.2) выполняли с помощью программы SeqScapev2.7 (Thermo Fisher, США). Биологическое значение детектированных вариантов анализировали с помощью базы данных IARC *TP53* Database [16]. Значимость различий частоты встречаемости носителей вариантов секвенированной в нашем исследовании последовательности *TP53*-гена между основной группой и группой сравнения оценивали с помощью точного теста Фишера. Уровень статистической значимости установили $p < 0.05$. Расчеты производили с помощью ПО Statistica V. 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Секвенирование экзонных (2–11-й экзоны) и фланкирующих интронных регионов гена *TP53* в образцах геномной ДНК всех обследованных женщин выявило семь различных вариантов, представляющих собой однонуклеотидные замены. Один

вариант находился в кодирующем регионе: rs1042522 в обогащённом пролином домене. Шесть вариантов находились в некодирующей области гена: rs17879353 и rs199729221 в 3'НТО, а rs1642785, rs17883323, rs12947788 и rs77697176 представляли интронные варианты. Ни один из обнаруженных вариантов по данным ClinVar не имел клинического значения как «патогенный» или «вероятно патогенный» (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>). Все из обнаруженных нами вариантов присутствовали в базе данных IARC *TP53* Database [16]. Обнаруженные варианты последовательности представлены в табл. 3.

На сегодняшний день наиболее широко изучен несинонимичный полиморфизм в домене, богатом пролином, расположенном в экзоне 4, где замена цитозина на гуанин приводит к замене пролина (Pro) на аргинин (Arg) в кодоне 72 белка p53 (Arg72Pro, rs1042522). Эти два аллеля различаются по способности индуцировать транскрипцию гена-мишени, модулировать апоптоз с разной скоростью и взаимодействовать с белком p73 [17]. Вариант p53, имеющий полиморфный сайт и кодирующий аргинин (G), обладает более сильным апоптотическим потенциалом, в то время как вариант, кодирующий пролин (C), по-видимому, вызывает более высокий уровень задержки фазы G1 [18]. Частоты аллелей полиморфизма варьируются в разных популяциях и зависят от этнической принадлежности и географического положения. Так, в исследовании Dale L. Bodian et al. среди здоровых людей до 50 лет частота кодирующей аргинин (G) формы кодона 72 составляет 74.1% у европейцев и 37.2% у африканской субпопуляции [19]. В другом исследовании

Таблица 3. Описание обнаруженных вариантов гена *TP53* у обследованных женщин из KPT
Table 3. Description of identified *TP53* gene variants in the examined women of the Techa River cohort

№	Геномная ДНК	кДНК	RefSNP	Экзон/интрон	№ кодона	Тип замены
1	g.7676483G>C	c.74+38C>G	rs1642785	2-intron	0	Интронный вариант*
2	g.7676301G>T	c.97-29C>A	rs17883323	3-intron	0	Интронный вариант
3	g.7676154G>C	c.215C>G	rs1042522	4-exon	72	Миссенс**
4	g.7674109G>A	c.782+72C>T	rs12947788	7-intron	0	Интронный вариант
5	g.7673183G>A	c.993+352C>T	rs77697176	9-intron	0	Интронный вариант
6	g.7668996G>T	c.*613C>A	rs17879353	11-exon	0	3'НТО***
7	g.7668855G>A	c.*754C>T	rs199729221	11-exon	0	3'НТО

Примечание. * Замена в области интрона; ** Миссенс вариант (с изменением аминокислотной последовательности); *** 3' — нетранслируемая область.

Таблица 4. Наличие вариантов гена *TP53* у обследованных женщин
Table 4. Presence of *TP53* gene variants in the examined women

Группы	Замены							
	№ варианта*	1	2	3	4	5	6	7
Основная группа	8_135,8	<u>G</u>	C	<u>G</u>	C	C	C	C
	9_212,0	<u>G</u>	C	<u>G</u>	C	C	C	C
	10_301,1	<u>G</u>	C	<u>G</u>	C	C	<u>M</u>	C
	11_459,4	<u>S</u>	C	<u>S</u>	C	C	C	<u>T</u>
	12_749,5	<u>G</u>	C	<u>G</u>	C	C	C	<u>T</u>
	13_1006,4	<u>G</u>	C	<u>G</u>	C	C	C	<u>T</u>
	14_1092,0	C	C	C	C	C	C	<u>T</u>
	15_1665,4	<u>G</u>	C	<u>G</u>	C	C	C	C
	16_1675,2	<u>S</u>	C	<u>S</u>	C	C	C	C
	17_2742,0	<u>S</u>	C	<u>S</u>	<u>Y</u>	C	C	C
Группа сравнения	1_2,1	<u>G</u>	C	<u>G</u>	C	<u>Y</u> ****	C	T
	2_26,2	<u>G</u>	C	<u>G</u>	C	<u>Y</u>	C	C
	3_27,5	C	<u>M</u> ***	C	<u>Y</u>	C	C	<u>T</u>
	4_31,5	<u>G</u>	C	<u>G</u>	C	<u>T</u>	C	C
	5_36,5	<u>G</u>	C	<u>G</u>	C	C	C	<u>T</u>
	6_42,1	<u>S</u> **	<u>M</u>	<u>S</u>	C	C	C	C
	7_86,7	<u>G</u>	C	<u>G</u>	C	C	C	<u>T</u>

Примечание. * Номер варианта от 1 до 7 соответствует номеру варианта гена *TP53*, описанному в табл. 4. Описание обнаруженных вариантов гена *TP53* у обследованных женщин из КРТ. Подчеркнутые нуклеотиды – выявленная замена. Нуклеотидная последовательность приведена в соответствии с IUPAC кодировкой [Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry (NC-IUB) (1986). Nomenclature for incompletely specified bases in nucleic acid sequences. Recommend]; ** S – замена G или C; *** M – замена A или C; **** Y – замена C или T.

P.T. Diamantopoulos et al. сообщают, что среди больных хроническим лимфоцитарным лейкозом (медианный возраст пациентов составлял 70 лет) 98.6% обследованных имели полиморфный сайт, кодирующий аргинин (G) [20]. Однако данные о связи полиморфизма rs1042522 с риском развития злокачественных новообразований носят противоречивый характер и не дают однозначных ответов.

Согласно данным литературы, обнаруженные интронные варианты с.74+38C>G (rs1642785), с.782+72C>T (rs12947788) демонстрируют наличие связи с рисками развития злокачественных новообразований в ряде исследований [21–22], что вызывает споры о их клинической значимости. В свою очередь, полиморфизмы rs77697176 (с.993+352C>T), rs17883323 (с.97–29C>A), rs17879353 (с.*613C>A) и rs199729221 (с.*754C>T) не имеют достоверной ассоциации с заболеваниями, в частности, полиморфизм rs77697176 не вносит вклад в повышение риска развития колоректального рака [23].

Варианты последовательности гена *TP53*, обнаруженные для каждой обследованной женщины, представлены в табл. 4.

В табл. 5 представлены частоты встречаемости носителей вариантов гена *TP53* в основной группе и группе сравнения.

Как видно из данных, различия частот носителей обнаруженных вариантов гена *TP53* между группой сравнения и основной группой не достигали статистически значимого уровня. Вариант последовательности rs77697176, находящийся в 9-м интроне, был выявлен у трех женщин из группы сравнения и не встречался среди женщин из основной группы. Вероятность различия между группой сравнения и основной группой для этого варианта составила 0.051.

Однонуклеотидные замены могут иметь характерные паттерны, которые коррелируют с воздействием радиации. Так, описаны специфические мутационные сигнатуры, характерные для облучения [11, 13, 24]. Например, переходы C→T часто встречаются в ДНК облученных клеток и могут быть

Таблица 5. Частота встречаемости гомо- и гетерозиготных носителей вариантов гена *TP53* в основной группе и группе сравнения
Table 5. Frequency of occurrence of homo- and heterozygous carriers of *TP53* gene variants in the main group and comparison group

	RefSNP	MAF**, %	Основная группа (n = 10)		Группа сравнения (n = 7)		p
			число обследованных *	частота, %	число обследованных	частота, %	
1	rs1642785	0.42	9	0.90	6	0.86	1.000
2	rs17883323	0.08	0	0.00	2	0.29	0.154
3	rs1042522	0.46	9	0.90	6	0.86	1.000
4	rs12947788	0.18	1	0.10	1	0.14	1.000
5	rs77697176	0.02	0	0.00	3	0.43	0.051
6	rs17879353	0.01	1	0.10	0	0.00	1.000
7	rs199729221	< 0.01	4	0.40	4	0.57	0.637

Примечание. * Учитывались носители и гомозиготных, и гетерозиготных генотипов, содержащих вариантный аллель;
** усредненная частота минорного аллеля для европеоидных популяций (<http://www.ensembl.org>).

результатом дезаминирования цитозина под действием активных форм кислорода, образовавшихся в следствие воздействия ионизирующего излучения [24]. Такие специфические мутационные паттерны могут указывать на то, что ионизирующее излучение могло сыграть ключевую роль в их возникновении. Однако для точного ответа на вопрос, являются ли данные замены радиационно-индуцированными, требуется проведение дополнительных исследований с изучением кровных родственников исследуемых лиц, а также оценки профиля мутаций в других биоматериалах участников исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате анализа трансверсий G:C>T:A и G:C>C:G гена *TP53* в клетках периферической крови у облученных лиц в отдаленные сроки после хронического радиационного воздействия было выявлено семь различных вариантов, представляющих собой однонуклеотидные замены. Ни один из обнаруженных вариантов не имел клинического значения как «патогенный» или «вероятно патогенный», а различия частот носителей обнаруженных вариантов гена *TP53* между группой сравнения и основной группой не достигали статистически значимого уровня.

В дальнейшем будет проведено сравнительное исследование трансверсий G:C>T:A гена *TP53* у облученных лиц, имеющих онкологические заболевания, с облученными лицами без таковых.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Федерального медико-биологического агентства в рамках выполнения федеральной целевой программы «Обеспечение ядерной и радиационной безопасности на 2016—2020 годы и на период до 2030 года» (контракт № 27.501.21.2 от 11.06.2021 г).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИНФОРМИРОВАННОЕ СОГЛАСИЕ НА УЧАСТИЕ В ИССЛЕДОВАНИИ

Все участники исследования до включения в исследование добровольно подписали форму информированного согласия, утвержденную в составе протокола исследования этическим комитетом ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России (протокол № 2 от 13 апреля 2023 г.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kasai H. What causes human cancer? Approaches from the chemistry of DNA damage. *Genes Environ.* 2016;38:19. <https://doi.org/10.1186/s41021-016-0046-8>
2. Steenken S., Jovanovic S.V. How easily oxidizable is DNA? One-electron reduction potentials of adenosine and guanosine radicals in aqueous solution.

- J. Am. Chem. Soc.* 1997;119(3):617–618.
<https://doi.org/10.1021/ja962255b>
3. Kino K., Hirao-Suzuki M., Morikawa M. et al. Generation, repair and replication of guanine oxidation products. *Genes Environ.* 2017;39:21.
<https://doi.org/10.1186/s41021-017-0081-0>
 4. Kino K., Sugiyama H. Possible cause of G-C→C-G transversion mutation by guanine oxidation product, imidazolone. *Chem. Biol.* 2001;8(4):369–378.
[https://doi.org/10.1016/s1074-5521\(01\)00019-9](https://doi.org/10.1016/s1074-5521(01)00019-9)
 5. Jiang D., Rusling J.F. Oxidation Chemistry of DNA and p53 Tumor Suppressor Gene. *Chem. Open.* 2019;8(3):252–265.
<https://doi.org/10.1002/open.201800292>
 6. Kino K., Sugiyama H. UVR-induced G-C to C-G transversions from oxidative DNA damage. *Mutat. Res.* 2005;571(1–2):33–42.
<https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2004.10.010>
 7. Ming X., Matter B., Song M. et al. Mapping structurally defined guanine oxidation products along DNA duplexes: influence of local sequence context and endogenous cytosine methylation. *J. Am. Chem. Soc.* 2014;136(11):4223–4235.
<https://doi.org/10.1021/ja411636j>
 8. Khaled H.M., Bahnassi A.A., Zekri A.R. et al. Correlation between p53 mutations and HPV in bilharzial bladder cancer. *Urol. Oncol.* 2003;21(5):334–341.
[https://doi.org/10.1016/s1078-1439\(03\)00014-0](https://doi.org/10.1016/s1078-1439(03)00014-0)
 9. Zhang M., Yang D., Gold B. Origins of nonsense mutations in human tumor suppressor genes. *Mutat. Res.* 2021;823:111761.
<https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2021.111761>
 10. Dayer N.G., Maiti A., Kadia T.M. et al. *TP53*-Mutated Myelodysplastic Syndrome and Acute Myeloid Leukemia: Biology, Current Therapy, and Future Directions [published correction appears in *Cancer Discov.* 2022 Dec. 2;12(12):2954].
<https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-22-1192>
Cancer. Discov. 2022;12(11):2516–2529.
<https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-22-0332>
 11. Pfeifer G.P., Denissenko M.F., Olivier M. et al. Tobacco smoke carcinogens, DNA damage and p53 mutations in smoking-associated cancers. *Oncogene.* 2002;21(48):7435–7451.
<https://doi.org/10.1038/sj.onc.1205803>
 12. Dumaz N., Drougard C., Sarasin A., Daya-Grosjean L. Specific UV-induced mutation spectrum in the p53 gene of skin tumors from DNA-repair-deficient xeroderma pigmentosum patients. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1993;90(22):10529–1053.
<https://doi.org/10.1073/pnas.90.22.10529>
 13. Moriyama H., Daino K., Ishikawa A. et al. Exome of Radiation-induced Rat Mammary Carcinoma Shows Copy-number Losses and Mutations in Human-relevant Cancer Genes. *Anticancer Res.* 2021;41(1):55–70.
<https://doi.org/10.21873/anticancer.14751>
 14. Дегтева М.О., Напье Б.А., Толстых Е.И. и др. Распределение индивидуальных доз в когорте людей, облученных в результате радиоактивного загрязнения реки Течи. *Мед. радиология и радиац. безопасность.* 2019;64(3):46–53. [Degteva M.O., Napier B.A., Tolstykh E.I. et al. Individual Dose Distribution in Cohort of People Exposed as a Result of Radioactive Contamination of the Techa River. *Medical Radiology and Radiation Safety.* 2019;64(3):46–53. (In. Russ.)].
https://doi.org/10.12737/article_5cf2364cb49523.98590475
 15. Аклеев А.В., Варфоломеева Т.А., Блинова Е.А. и др. Возможности адаптации к малым дозам радиации. Челябинский государственный университет, Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА России. Санкт-Петербург: ООО «Изд-во «СпецЛит»; 2019. 111 с. ISBN 978-5-299-01004-6. [Akleev A.V., Varfolomeeva T.A., Blinova E.A. i dr. Vozmozhnosti adaptatsii k malym dozam radiatsii = Possibilities of adaptation to low doses of radiation. Cheljabinskij gosudarstvennyj universitet, Ural'skij nauchno-prakticheskij centr radiacionnoj mediciny FMBA Rossii. Sankt-Peterburg: Obshhestvo s ogranichennoj otvetstvennost'ju "Izdatel'stvo "SpecLit"; 2019. 111 s. ISBN 978-5-299-01004-6. (In. Russ.)].
 16. Bouaoun L., Sonkin D., Ardin M. et al. *TP53* Variations in Human Cancers: New Lessons from the IARC *TP53* Database and Genomics Data. *Hum. Mutat.* 2016;37(9):865–876.
<https://doi.org/10.1002/humu.23035>
 17. Dumont P., Leu J.I., Della Pietra A.C. 3rd. et al. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. *Nat. Genet.* 2003;33(3):357–365.
<https://doi.org/10.1038/ng1093>
 18. Pim D., Banks L. p53 polymorphic variants at codon 72 exert different effects on cell cycle progression. *Int. J. Cancer.* 2004;108(2):196–199.
<https://doi.org/10.1002/ijc.11548>
 19. Bodian D.L., McCutcheon J.N., Kothiyal P. et al. Germline variation in cancer-susceptibility genes in a healthy, ancestrally diverse cohort: implications for individual genome sequencing. *PLoS One.* 2014;9(4):e94554.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094554>
 20. Diamantopoulos P.T., Samara S., Kollia P. et al. Tumor Protein 53 Gene Mutations Without 17p13 Deletion Have No Significant Clinical Implications in Chronic Lymphocytic Leukemia. Detection of a New Mutation. *Anticancer Res.* 2017;37(5):2387–2391.
<https://doi.org/10.21873/anticancer.11577>
 21. Jha P., Jha P., Pathak P. et al. *TP53* polymorphisms in gliomas from Indian patients: Study of codon 72 genotype, rs1642785, rs1800370 and 16 base pair insertion in intron-3. *Exp. Mol. Pathol.* 2011;90(2):167–172.
<https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2010.11.002>
 22. Zhang G., Xu Q., Liu J. et al. Five P53 SNPs Involved in Low Rectal Cancer Risk and Prognosis in a Chinese Population. *J. Cancer.* 2019;10(7):1772–1780.
<https://doi.org/10.7150/jca.26722>
 23. Škereňová M., Halašová E., Matáková T. et al. Low Variability and Stable Frequency of Common Haplotypes of the *TP53* Gene Region in Colorectal Cancer Patients in a Slovak Population. *Anticancer Res.* 2017;37(4):1901–1907.
<https://doi.org/10.21873/anticancer.11528>
 24. Lee C.L., Mowery Y.M., Daniel A.R. et al. Mutational landscape in genetically engineered, carcinogen-induced, and radiation-induced mouse sarcoma. *JCI Insight.* 2019;4(13):e128698.
<https://doi.org/10.1172/jci.insight.128698>

Spectrum of *TP53* Sequence Variants on Chronically Exposed Humans

V. S. Nikiforov^{1,2,*}, A. V. Korechenkova¹, A. V. Akleyev^{1,2}

¹Federal State Government-Funded Institution of Science Urals Research Center
for Radiation Medicine of the Federal Medical Biological Agency, Chelyabinsk, Russia

²Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

*E-mail: nikiforovx@mail.ru

It is known that ionizing radiation can damage the genetic apparatus of a cell not only through direct exposure, but also through the induction of oxidative stress. Thus, oxidation of guanine (G) nitrogenous base by oxidative stress products can result in G:C>T:A and G:C>C:G type transversions in the tumor growth suppressor gene *TP53*. Somatic and inherited variants of the *TP53* gene, in its turn, are of great importance in the development of malignant neoplasms. Therefore, the aim of the study was to analyze the G:C>T:A and G:C>C:G transversions of the *TP53* gene in peripheral blood cells of individuals affected by chronic low-dose rate exposure. The paper presents the results of the analysis of the spectrum of *TP53* gene sequence variants based on G:C>T:A and G:C>C:G transversions in peripheral blood cells of the Techa riverside residents of the Chelyabinsk and Kurgan Oblasts, affected by chronic low-dose rate exposure in the 1950s. The range of individual values of the accumulated absorbed dose to red bone marrow due to external gamma radiation and ⁹⁰Sr ranged from 2.1 to 2742.0 mGy (mean value — 605.4 ± 191.9 mGy ($M \pm SE$)). As a result of the study, 7 different variants of the *TP53* gene based on the G:C>T:A and G:C>C:G transversions, which are single nucleotide replacements, were identified in the examined individuals. All detected variants were present in the IARC *TP53* Database and had no clinical significance as “pathogenic” or “probably pathogenic”. Differences in the frequencies of carriers of detected *TP53* gene variants between the comparison group and the main group did not reach a statistically significant level/ were not statistically significant.

Keywords: *TP53*, rs77697176, Sanger sequencing, Techa River, chronic exposure, low and medium doses

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Никифоров Владислав Сергеевич (Vladislav S. Nikiforov), <https://orcid.org/0000-0002-6685-1823>, “Уральский научно-практический центр радиационной медицины” ФМБА России, Челябинск, Россия (Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia); ФГБОУ ВО “Челябинский государственный университет” (Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia); e-mail: nikiforovx@mail.ru

Кореченкова Анастасия Витальевна (Anastasiya V. Korechenkova), <https://orcid.org/0009-0008-6588-3517>, “Уральский научно-практический центр радиационной медицины” ФМБА России, Челябинск, Россия (Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia); e-mail: korechenkova@urcrm.ru

Аклев Александр Васильевич (Alexander V. Akleyev), <https://orcid.org/0000-0003-2583-5808>, “Уральский научно-практический центр радиационной медицины” ФМБА России, Челябинск, Россия (Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia); ФГБОУ ВО “Челябинский государственный университет” (Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia); e-mail: akleyev@urcrm.ru

ВКЛАД АВТОРОВ

В.С. Никифоров — планирование исследования, выполнение лабораторных методов исследования, написание статьи.

А.В. Кореченкова — статистическая обработка результатов, редакция текста статьи и подготовка окончательного варианта статьи.

А. В. Аклев — редакция текста статьи и подготовка окончательного варианта статьи.