

DOI 10.29254/2077-4214-2019-1-1-148-207-210

УДК 591.156:575.113:616-005.6:616.155.191

<sup>1</sup>Полубень Л. О., <sup>2</sup>Басин М., <sup>2</sup>Вознесенски О., <sup>3</sup>Адам М., <sup>3</sup>Френкель Е.,

<sup>4</sup>Разник Р., <sup>4</sup>Линдал М., <sup>1</sup>Клименко С. В., <sup>2</sup>Балк С., <sup>2</sup>Френкель П.

### ВАРІАНТИ ГЕННИХ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ У ХВОРИХ НА МІЕЛОПРОЛІФЕРАТИВНІ НЕОПЛАЗІЇ, ПОТЕНЦІЙНО ОБУМОВЛЕНІ ДІЄЮ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ ВНАСЛІДОК АВАРІЇ НА ЧОРНОБИЛЬСЬКІЙ АЕС

<sup>1</sup>ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України», відділ медичної генетики (м. Київ)

<sup>2</sup>Бес Израел Диконесс Медичний Центр, відділ гематології/онкології (м. Бостон, МА, США)

<sup>3</sup>Массачусетський технологічний інститут, відділ біологічної інженерії (м. Кембридж, МА, США)

<sup>4</sup>Хебрю університет, школа комп'ютерних наук, відділ біологічної хімії (м. Єрусалим, Ізраїль)

larysa.poluben@gmail.com

klymenko\_sergiy@yahoo.co.uk

paula.fraenkel@gmail.com

sbalk@bidmc.harvard.edu

fraenkel@mit.edu

michall@mail.huji.ac.il

*\*Вклад авторів в роботу рівнозначний.*

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Публікація є фрагментом планової науково-дослідної роботи ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України»: «Молекулярно-генетичні особливості Рn-негативних мієлопроліферативних неоплазій у осіб, які зазнали впливу чинників аварії на Чорнобильській АЕС», № державної реєстрації 0117U000625.

**Вступ.** Іонізуюча радіація (ІР) є добре відомим канцерогеном, що індукує розвиток солідних пухлин та гематологічних неоплазій, серед яких окреме місце займають класичні хронічні Рn-негативні мієлопроліферативні неоплазії (МПН) [1,2,3]. До групи МПН відносять справжню поліцитемію (СП), есенціальну тромбоцитемію (ЕТ) та первинний мієлофіброз (ПМФ). Першим повідомленням щодо підвищення захворюваності на МПН, внаслідок дії ІР було дослідження, проведене в Японії, де були описані випадки хворих на ПМФ, діагностованих в період від 5 до 13 років після ядерного бомбардування Хіросіми 6-го серпня 1945 року [4]. Пізніше, серед групи військових США, які приймали участь у випробовуванні атомної зброї у 1957 році в межах проекту «Смокі», протягом послідовних 12 років була зафіксована підвищена захворюваність на СП [5]. Після аварії на Чорнобильській АЕС серед ліквідаторів її наслідків захворюваність на різні форми хронічних мієлопроліферативних неоплазій є підвищеною. Зокрема СП, ЕТ та ПМФ виявлялись значно частіше серед осіб, які зазнали дії ІР, ніж у контрольній групі [3]. Гематопоетична тканина, як швидко проліферуюча, є найбільш радіочутливою в організмі людини. Тяжкість та тривалість пригнічення функції кісткового мозку залежить від отриманої дози ІР (детерміністичні, або нестохастичні ефекти ІР). Віддалені ефекти ІР виникають через декілька місяців або років після дії низьких доз ІР та не мають дозозалежної закономірності (недетерміністичні, або стохастичні ефекти). Як відомо, виникнення спадкових захворювань, солідних пухлин та гематологічних неоплазій відносять до стохастичних, не залежних від отриманої дози ІР, подій. Пошкодження клітин та

тканин внаслідок дії ІР відбувається за рахунок прямої іонізації макромолекул або їх реакції із вільними радикалами, утвореними при радіолізі води. Ці події пошкоджують молекули ДНК, ліпідів, білків та порушують їх функції. Серед численних макромолекул, ДНК вважається найбільш вразливою та критичною мішенню. Пошкодження геному, які спричиняють розвиток віддалених ефектів, виникають одразу після дії ІР та включають пошкодження основ ДНК та їх модифікації, зшивки ДНК-ДНК та ДНК-білок, одно- та дволанцюгові розриви ДНК [6,7]. Таким чином, враховуючи накопичені дані щодо механізмів реалізації стохастичних ефектів ІР, було припущено, що у опромінених пацієнтів на МПН, наявні індуковані дією ІР геномні зміни, які передували та були залученими до розвитку захворювання.

**Мета дослідження:** визначити індуковані ІР зміни в геномі, які передували та були залученими до розвитку захворювання у пацієнтів із МПН, які зазнали дії ІР внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС.

**Об'єкт і методи дослідження.** В дослідження було включено 12 хворих на радіаційно-асоційовані та 16 хворих на спонтанні МПН. Контрольну групу складало 96 осіб, які зазнали дії ІР в анамнезі, та 89 осіб без радіаційного анамнезу. Серед осіб контрольної групи не було діагностовано злоякісної або тяжкої соматичної патології на момент отримання зразків ДНК. Дослідження було погоджене з Комітетом медичної етики ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України», і проводилося згідно принципів Гельсінської декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицини та відповідних Законів України. Зразки геномної ДНК хворих на МПН та осіб із групи контролю, які зазнали дії ІР в анамнезі, були отримані із гранулоцитів периферичної крові за допомогою набору для виділення ДНК Nucleospin DNA Mini-Kit (Дюрен, Німеччина), згідно рекомендаціям виробника. Зразки геномної ДНК осіб із групи контролю без радіаційного анамнезу були отримані із гранулоцитів периферичної крові за допомогою набору для виділення ДНК innuPREP Mini (Analytik Jena, Джена, Німеччина), згідно рекоменда-

**Варіанти, ідентифіковані у генах, залучених до транскрипції ДНК, що потенційно передували розвитку радіаційно-асоційованих хронічних Ph-негативних мієлопроліферативних неоплазій**

Назва гена	Заміна нуклеотиду та амінокислоти	Кількість хворих на радіаційно-асоційовані МПН, n (%)	АЧ, (%)	Кількість осіб контрольної групи із радіаційним анамнезом, n (%)	АЧ, (%)	bd SNP (ExAC частота рідкісної алелі, %)
JARID2	c.C2222T p.T741I	1 (8,3)	48	2 (2,0)	48–49	rs147485304 (0,149)
PRDM16	c.A2780C p.H927P, c.A2783C p.H928P, c.T2788C p.F930L	7 (58,3)	18–25	6 (6,3)	15–20	rs763577669 (0,004), rs1431106474 (0,01)
GATA2	c.C481G p.P161A	3 (25,0)	47–56	4 (4,2)	46–56	rs34799090 (0,827)
BCORL1	c.G1123C p.A375P, c.T1126C p.F376L	3 (25,0)	8–11	3 (3,1)	14–18	rs1244839564 (0,01)
PEG3	c.4082_4083insAGA p.D1361delinsED	1 (8,3)	46	2 (2,1)	48–55	
PER1	c.C109T p.P37S	1 (8,3)	48	2 (2,1)	42–53	rs72845601 (1,1)

**Примітки:** 1. АЧ – алельна частота; 2. dbSNP – база даних однонуклеотидних поліморфізмів (Single Nucleotide Polymorphism database); 3. ExAC – Exome Aggregation Consortium.

ціям виробника. Для проведення мішеневого секвенування була створена платформа із включенням 309 генів, потенційно залучених до розвитку МПН. Дизайн SureSelect збагачених проб для охоплення усіх кодуючих екзонів 309 генів (загальним розміром 1487 Мб) було виконано за допомогою програмного забезпечення SureSelect майстер дизайну. Бібліотеки були згенеровані із геномної ДНК гранулоцитів периферичної крові, використовуючи набір SureSelectXT2 Target Enrichment System for Illumina Paired-End Multiplexed Sequencing (Agilent Technologies, Санта Клара, Каліфорнія, США), відповідно до рекомендацій виробника. Зразки зчитувались за допомогою Illumina HiSeq інструмента в обох напрямках по 150 пар нуклеотидів в одній лінії 350 мільйонів разів. Отримані дані секвенування були опрацьовані для виключення послідовностей адаптерів, ПЛР-праймерів та зчитувань низької якості за допомогою тримммоатичної програми. Якість зчитувань перевіряли за допомогою FastQC програми. Чисті зчитування високої якості були співставлені із асамблеєю людського геному hg38. Ідентифікацію варіантів було здійснено за допомогою програмного забезпечення GATK. Для анотації варіантів використовували програмне забезпечення ANNOVAR. Щоб запобігти включення до аналізу тих варіантів, які були виявлені в результаті помилок ПЛР або секвенування, далі працювали лише з тими варіантами, які задовольнили наступні критерії: (1) варіант був виявлений принаймні при 5 (абсолютних) зчитуваннях, (2) варіант був виявлений у > 5% зчитувань.

Обробка даних: статистичні розрахунки проводили за допомогою статичного пакету для аналізу даних в середовищі Microsoft Excel 2016. Дані оцінювали із використанням точного тесту Фішера у двобічному варіанті. Різницю між показниками вважали значимою при  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.** Для аналізу змін генних послідовностей, які потенційно обумовлені дією IP в анамнезі, були визначені спільні та унікальні варіанти, ідентифіковані серед групи хворих на радіаційно-асоційовані МПН (12 хворих) та осіб

із групи контролю, які попередньо зазнали дії IP внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС (96 осіб). Зазначені варіанти не зустрічались серед хворих на спонтанні МПН (16 хворих) та здорових осіб із групи контролю без радіаційного анамнезу (89 осіб).

Загалом, вагома частка варіантів генних послідовностей, потенційно обумовлених дією IP, які могли передувати розвитку радіаційно-асоційованих МПН, була ідентифікована у генах, залучених до транскрипції ДНК. Серед них: PRDM16, GATA2, BCORL1,

JARID2, PEG3 та PER1 (табл.).

В першу чергу привертає увагу варіант генної послідовності JARID2, ідентифікований у одного хворого на радіаційно-асоційовану МПН та у двох осіб із групи контролю (табл.). За даними бази даних Exome Aggregation Consortium (ExAC), частота рідкісної алелі цього варіанта складає 0,149 %, біологічна функція якого залишається дотепер не вивченою. Відомо, що продукт гена JARID2 бере участь у епігенетичній супресії оновлення гематопоетичних клітин-попередників, опосередкованій за рахунок Polycomb Repressive Complex 2, а мутації JARID2 асоційовані із хронічними мієлоїдними неоплазіями [8].

Частота варіантів генної послідовності регулятора транскрипції PRDM16 була значно вищою серед хворих на МПН (58,3 %), ніж серед осіб із групи контролю (6,3 %),  $p < 0,001$ , що може свідчити на користь ризику маніфестації МПН у осіб із змінами гена PRDM16. За даними секвенування, навантаження за альтернативною алеллю у цих випадках складало від 18 % до 25 %, що може вказувати на персистенцію окремого пулу клітин із зміненим геном PRDM16, залученого до розвитку захворювання, однак не впливаючого на його еволюцію. Більше того, частота рідкісної алелі ідентифікованого варіанта PRDM16 у популяції за даними ExAC становить < 1 %. Важливе значення PRDM16 протеїну у нормальному кровотворенні за даними літературних джерел свідчить на користь залучення зміненого гена до розвитку радіаційно-асоційованих МПН. Ген PRDM16 вибірково експресується стовбуровими гематопоетичними клітинами та клітинами-попередниками, що є важливим для формування та підтримання їх пулу. Ген PRDM16 може бути залученим до лейкомогенних транслокацій, а також бути експресованим при ГМЛ із нормальним каріотипом. Результати попередніх досліджень вказують, що протеїн PRDM16 контролює значну кількість генів, акселеруючих або пригнічуючих функції гематопоетичної стовбурової клітини (спокій, клітинний цикл, оновлення, диференціацію, апоптоз) [9]. Відомо, що ген PRDM16

експресує коротку та довгу ізоформи протеїну. Довга ізоформа PRDM16 містить додатковий N-кінцевий PR домен. Патогенні варіанти, транслокації та порушення експресії гена *PRDM16* зустрічаються при гострій мієлоїдній лейкемії (ГМЛ), що часто зумовлює вибірковою втрату PR домену, імітуючи експресію короткої ізоформи PRDM16 [10]. Також було встановлено, що протеїн PRDM16 є метилтрансферазою гістону H3K4, внутрішня ензимна активність якої повністю втрачається у випадку пошкодження N-кінцевого PR домену PRDM16. Було показано, що метилтрансферазна активність протеїну необхідна для специфічної супресії лейкемічного процесу, пов'язаного із мутаціями гена *змішаної лінійної лейкемії (Mixed Lineage Leukemia)* [11].

Варіанти генних послідовностей *GATA2* та *BCORL1* були частішими у хворих на радіаційно-асоційовані МПН, ніж серед осіб із групи контролю із радіаційним анамнезом ( $p = 0,029$  та  $p = 0,018$ , відповідно) (табл.). Ген *GATA2* кодує один із протеїнів сімейства факторів транскрипції, який відіграє важливе значення для нормального кровотворення, а порушення його функції зустрічаються при різноманітних доброякісних та злоякісних гематологічних захворюваннях. Герміногенні мутації *GATA2* асоціюються із синдромом дефіциту *GATA2*, а набуті мутації визначаються у хворих на мієлодиспластичний синдром (МДС), ГМЛ та хронічну мієлоїдну лейкемію (ХМЛ) із трансформацією у бластний криз. В нещодавніх дослідженнях було відомлено, що ген *GATA2* може бути новим маркером

схильності до МДС/ГМЛ [12,13]. Ідентифікований варіант *GATA2* за даними архіву даних щодо асоціації варіантів генних послідовностей із клінічно значимими фенотипами (ClinVar) розцінюється, як доброякісний, хоча не були проведені функціональні дослідження для підтвердження нейтральності його продукту. Мутації гена *BCORL1* зустрічаються при МДС (< 1 % випадків) та ГМЛ із мієлодиспластичними змінами (близько 9 %) та не погіршують показник загальної виживаності [14]. Частота навантаження за альтернативною алеллю ідентифікованих у представленому дослідженні варіантів *BCORL1* серед хворих на радіаційно-асоційовані МПН та осіб із групи контролю складала від 8 % до 18 %, що також свідчить про можливість персистенції окремого субстрату клітин у хворих на МПН, що попередньо сформувався внаслідок дії ІР та потенційно був залучений до розвитку захворювання.

**Висновки.** В представленому дослідженні ідентифіковані варіанти генних послідовностей, вірогідно обумовлені дією ІР внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС, а також обґрунтована їх можлива причетність до розвитку радіаційно-асоційованих МПН, за рахунок порушення транскрипції ДНК.

**Перспективи подальших досліджень.** Функціональні дослідження ідентифікованих варіантів генних послідовностей у змодельованій системі клітинної культури зможуть дати оцінку змінам протеїнам та розширити розуміння механізмів, за допомогою яких відбувається реалізація встановлення мієлопроліферативного фенотипу.

### Література

1. Klymenko SV, Smida J, Atkinson MJ, Bebeszko VG, Nathrath M, Rosemann M. Allelic imbalances in radiation-associated acute myeloid leukemia. *Genes (Basel)*. 2011;2(2):384-93.
2. Mishcheniuk OY, Kostukevich OM, Dmytrenko IV, Sholoyko VV, Prokopenko IM, Martina ZV, et al. Molecular characterization of ph-negative myeloproliferative neoplasms in Ukraine. *Exp Oncol*. 2013;35(3):202-6.
3. Chekhun VF, Gluzhman DF, redaktory. Ioniziruyushchaya radiatsiya i onkogematologicheskije zabolovaniya. Kiyev: DIA; 2016. 284 s. [in Russian].
4. Anderson RE, Hoshino T, Yamamoto T. Myelofibrosis with Myeloid Metaplasia in Survivors of the Atomic Bomb in Hiroshima. *Intern Med*. 1964;60(1):1-18.
5. Caldwell GG, Kelley DB, Heath CW, Zack M. Polycythemia Vera Among Participants of a Nuclear Weapons Test. *JAMA J Am Med Assoc*. 1984;252(5):662-4.
6. Shao L, Luo Y, Zhou D. Hematopoietic Stem Cell Injury Induced by Ionizing Radiation. *Antioxid Redox Signal*. 2014;20(9):1447-62.
7. Fajardo L-G LF, Berthrong M, Anderson RE, editors. Radiation pathology. Oxford University Press, Inc.; 2001. p. 379-86.
8. Celik H, Koh WK, Kramer AC, Ostrander EL, Mallaney C, Fisher DAC, et al. JARID2 Functions as a Tumor Suppressor in Myeloid Neoplasms by Repressing Self-Renewal in Hematopoietic Progenitor Cells. *Cancer Cell*. 2018;34(5):741-56.
9. Aguilo F, Avagyan S, Labar A, Sevilla A, Lee DF, Kumar P, et al. Prdm16 is a physiologic regulator of hematopoietic stem cells. *Blood*. 2011;117(19):5057-66.
10. Corrigan DJ, Luchsinger LL, De Almeida MJ, Williams LJ, Strikoudis A, Snoeck HW. PRDM16 isoforms differentially regulate normal and leukemic hematopoiesis and inflammatory gene signature. *J Clin Invest*. 2018;128(8):3250-64.
11. Zhou B, Wang J, Lee SY, Xiong J, Bhanu N, Guo Q, et al. PRDM16 Suppresses MLL1r Leukemia via Intrinsic Histone Methyltransferase Activity. *Mol Cell*. 2016;62(2):222-36.
12. Crispino JD, Horwitz MS. GATA factor mutations in hematologic disease. *Blood*. 2017;129(15):2103-10.
13. Hahn CN, Chong CE, Carmichael CL, Wilkins EJ, Brautigan PJ, Li XC, et al. Heritable GATA2 mutations associated with familial myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. *Nat Genet*. 2011;43(10):1012-7.
14. Damm F, Chesnais V, Nagata Y, Yoshida K, Scourzic L, Okuno Y, et al. BCOR and BCORL1 mutations in myelodysplastic syndromes and related disorders. *Blood*. 2013;122(18):3169-77.

### ВАРІАНТИ ГЕННИХ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ У ХВОРИХ НА МІЕЛОПРОЛІФЕРАТИВНІ НЕОПЛАЗІЇ, ПОТЕНЦІЙНО ОБУМОВЛЕНІ ДІЄЮ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ ВНАСЛІДОК АВАРІЇ НА ЧОРНОБІЛЬСЬКІЙ АЕС

Полубень Л. О., Басин М., Вознесенски О., Адам М., Френкель Е.,

Разник Р., Линдал М., Клименко С. В., Балк С., Френкель П.

**Резюме.** Іонізуюча радіація (ІР) є добре відомим канцерогеном, що індукує розвиток солідних пухлин та гематологічних неоплазій, серед яких окреме місце займають класичні хронічні Ph-негативні мієлопроліферативні неоплазії (МПН). Пошкодження геному, які спричиняють розвиток віддалених ефектів (недетерміністичних, або стохастичних), виникають одразу після дії ІР та включають різні пошкодження ДНК. Метою нашого дослідження було визначити індуковані ІР зміни в геномі, що передували та були залученими до розвитку захворювання у пацієнтів із МПН, які зазнали дії ІР в анамнезі внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС. В дослідження було включено 12 хворих на радіаційно-асоційовані та 16 хворих на спонтанні МПН. Контрольну групу склали 96 осіб, які зазнали дії ІР в анамнезі, та 89 осіб без радіаційного анамнезу. Бібліотеки для проведення мішеневого секвенування були згенеровані із геномної ДНК гранулоцитів периферичної крові, використовуючи набір SureSelectXT2 Target Enrichment System for Illumina Paired-End Multiplexed Sequencing (Agilent Technologies, Санта Клара,

Каліфорнія, США), відповідно до рекомендацій виробника. В представленому дослідженні ідентифіковані зміни генних послідовностей *PRDM16*, *GATA2*, *BCORL1*, *JARID2*, *PEG3* та *PER1*, які задіяні у транскрипції ДНК. Показано, що варіанти *PRDM16*, *GATA2* та *BCORL1* генів зустрічались значно частіше серед хворих на МПН, ніж серед осіб із групи контролю (58,3 % проти 6,3 %,  $p < 0,001$ ; 25,0 % проти 4,2 %,  $p = 0,029$  та 25,0 % проти 3,1 %,  $p = 0,018$ , відповідно). Переважна більшість ідентифікованих варіантів представлена у базі даних однонуклеотидних поліморфізмів (Single Nucleotide Polymorphism Database), однак частота їх рідкісних алелей не перевищувала 1 % у загальній популяції згідно Exome Aggregation Consortium. Таким чином, у дослідженні ідентифіковані варіанти генних послідовностей, вірогідно обумовлені дією ІР внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС, а також обґрунтована їх можлива причетність до розвитку радіаційно-асоційованих МПН.

**Ключові слова:** іонізуюча радіація, варіант генної послідовності, ген, мієлопроліферативна неоплазія.

### ВАРИАНТЫ ГЕННЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ У БОЛЬНЫХ С МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ НЕОПЛАЗИЯМИ, ПОТЕНЦИАЛЬНО ОБУСЛОВЛЕННЫ ВОЗДЕЙСТВИЕМ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ ВСЛЕДСТВИЕ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС

Полубень Л. А., Басин М., Вознесенски О., Адам М., Френкель Э.,  
Разник Р., Линдал М., Клименко С. В., Балк С., Френкель П.

**Резюме.** Ионизирующая радиация (ИР) является хорошо известным канцерогеном, индуцирующий развитие солидных опухолей и гематологических неоплазий, среди которых особое место занимают классические хронические Ph-отрицательные миелопролиферативные неоплазии (МПН). Повреждения генома, вызывающие развитие отдаленных эффектов (недетерминистических, или стохастических), возникают сразу после действия ИР и включают различные повреждения ДНК. Целью нашего исследования было определить индуцированные ИР изменения в геноме, которые предшествовали и были вовлечены в развитие заболевания у пациентов с МПН, подвергшихся воздействию ИР в анамнезе вследствие аварии на Чернобыльской АЭС. В исследование было включено 12 больных с радиационно-ассоциированными и 16 больных с спонтанными МПН. Контрольную группу составили 96 человек, подвергшихся воздействию ИР в анамнезе, и 89 человек без радиационного анамнеза. Библиотеки для проведения таргетного секвенирования были сгенерированы с геномной ДНК гранулоцитов периферической крови, используя набор SureSelectXT2 Target Enrichment System for Illumina Paired-End Multiplexed Sequencing (Agilent Technologies, Санта Клара, Калифорния, США), в соответствии с рекомендациями производителя. В представленном исследовании идентифицированы изменения генных последовательностей *PRDM16*, *GATA2*, *BCORL1*, *JARID2*, *PEG3* и *PER1*, которые задействованы в транскрипции ДНК. Показано, что варианты *PRDM16*, *GATA2* и *BCORL1* генотипов встречались значительно чаще среди больных МПН, чем среди лиц из группы контроля (58,3 % против 6,3 %,  $p < 0,001$ ; 25,0 % против 4,2 %,  $p = 0,029$  и 25,0 % против 3,1 %,  $p = 0,018$  соответственно). Подавляющее большинство идентифицированных вариантов представлено в базе данных однонуклеотидных полиморфизмов (Single Nucleotide Polymorphism Database), однако частота их редкостных алелей не превышала 1 % в общей популяции согласно Exome Aggregation Consortium. Таким образом, в исследовании идентифицированы варианты генных последовательностей, вероятно обусловлены воздействием ИР в результате аварии на Чернобыльской АЭС, а также обоснована их возможная причастность к развитию радиационно-ассоциированных МПН.

**Ключевые слова:** ионизирующая радиация, вариант генной последовательности, ген, миелопролиферативная неоплазия.

### SEQUENCE VARIANTS IN PATIENTS WITH MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS POTENTIALLY INDUCED BY IONIZING RADIATION DUE TO CHERNOBYL NUCLEAR ACCIDENT

Poluben L., Bhasin M., Voznesensky O., Adam M., Fraenkel E.,  
Rasnic R., Linial M., Klymenko S., Balk S. P., Fraenkel P. G.

**Abstract.** Ionizing radiation (IR) is a known carcinogen that causes solid tumors and hematologic malignancies, including chronic Ph-negative myeloproliferative neoplasms (MPN). After exposure to low doses of IR delayed effects arise several months or years later. These effects are not dose-dependent (nondeterministic, or stochastic effects). It is known, the occurrence of hereditary diseases, solid tumors and hematologic neoplasms is related to stochastic events. Genomic alterations that result in the development of delayed IR effects appear immediately after exposure. These include base damages and changes, cross linking, single-strand breaks, and double-strand breaks. The aim of the study was to identify IR-induced genomic alterations which predisposed to and were involved in the disease development in MPN patients exposed to IR due to Chernobyl nuclear accident. In the study we enrolled 12 IR-exposed and 16 unexposed MPN patients, 96 healthy people who were previously exposed to IR and 89 healthy people without such history. Libraries for targeted sequencing were generated from genomic DNA of peripheral blood granulocytes using the SureSelectXT2 Target Enrichment System for Illumina Paired-End Multiplexed Sequencing kit (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), according to manufacturer's recommendations. Common and unique sequence variants detected in both, IR-exposed MPN patients and 96 healthy people previously exposed to IR were further analyzed. The identified sequence variants were not found among unexposed patients and 89 healthy unexposed people. In the presented study, significant number of sequence variants were found among genes involved in DNA transcription: *PRDM16*, *GATA2*, *BCORL1*, *JARID2*, *PEG3* and *PER1*. We showed that *PRDM16*, *GATA2* and *BCORL1* gene changes were more frequent in IR-exposed MPN patients compared to healthy controls (58.3% vs. 6.3%,  $p < 0.001$ , 25.0% vs. 4.2%,  $p = 0.029$  and 25.0% vs. 3.1%,  $p = 0.018$ , respectively). The majority of identified sequence variants are reported in the Single Nucleotide Polymorphism Database, but their minor allele frequencies do not exceed 1% in the general population according to the Exome Aggregation Consortium. Thus, the study revealed several gene variants which might be the IR-induced alterations due to Chernobyl nuclear accident involved in the disease development in IR-exposed MPN patients.

**Key words:** ionizing radiation, sequence variant, gene, myeloproliferative neoplasm.

Рецензент – проф. Білаш С. М.  
Стаття надійшла 25.01.2019 року