

АНАЛИЗ ЧАСТОТ 13 ПОЛИМОРФИЗМОВ В ГЕНАХ *TP53* И *WRAP53* В РОССИЙСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХМ. В. Олькова<sup>1,2</sup>✉, В. С. Петрушенко<sup>2</sup>, Г. Ю. Пономарев<sup>2</sup><sup>1</sup> Медико-генетический научный центр имени академика Н. П. Бочкова, Москва, Россия<sup>2</sup> Институт общей генетики имени Н. И. Вавилова РАН, Москва, Россия

В последнее десятилетие поиск и аннотация ассоциированных с фенотипом геномных полиморфизмов человека, а также изучение их популяционных частот стали особенно актуальными в связи с возможностью их применения в медицинской и популяционной генетике, фармакогеномике и эволюционной биологии. Целью исследования было рассчитать частоту и проанализировать распространенность в 28 российских популяциях 13 герминальных полиморфизмов двух генов — *TP53*, матрицы «хранителя генома» белка p53 и гена *WRAP53*, влияющего на производство белка p53. Были получены данные для 9 экзонных вариантов гена *TP53* (rs587781663, rs17882252, rs150293825, rs112431538, rs149633775, rs144340710, rs1042522, rs1800371, rs201753350), одного интронного полиморфизма (rs17881850), а также трех вариантов гена *WRAP53* (rs17880282, rs2287499, rs34067256). Для большинства популяций выборка была представлена числом более 50 человек (за исключением пяти популяций, в которых было обследовано от 30 до 49 человек). Популяционные частоты альтернативных аллелей изученных генных вариантов в большинстве российских популяций оказались близки к значениям частот этих аллелей в соответствующей их происхождению европейской или азиатской популяции из мировых баз данных. Исключение составили шесть популяций («Центральный Кавказ», «Дагестан», «северные русские», «юго-восточные русские», «татары» и «Закавказье»), в которых популяционные частоты альтернативных аллелей для большинства маркеров оказались повышенными. Для всех вышеперечисленных популяций, кроме «юго-восточных русских», характерно несоответствие аллелей полиморфизмов с повышенными частотами равновесию Харди–Вайнберга.

**Ключевые слова:** p53, TP53, WRAP53, онкомаркер, полиморфизм, популяционная частота, генетическая эпидемиология

**Благодарности:** О. П. Балановскому, заведующему лабораторией геномной географии Института общей генетики им. Н. И. Вавилова, за руководство исследованием и правку статьи, всем донорам ДНК и АНО «Биобанк Северной Евразии» за предоставленную коллекцию образцов, а также Центру высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины РНИМУ им. Н. И. Пирогова (Москва, Россия) за возможность использования молекулярно-генетических технологий.

**Финансирование:** исследование выполнено в рамках Государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ для Медико-генетического научного центра им. академика Н. П. Бочкова (работы по фенотипированию образцов, созданию базы данных, анализу данных).

**Вклад авторов:** М. В. Олькова — дизайн, статистический анализ, написание текста статьи; В. С. Петрушенко — биоинформатический анализ, Г. Ю. Пономарев — экспериментальные работы.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование проведено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Все образцы для исследования получены из «Биобанка Северной Евразии». От всех доноров получено добровольное информированное согласие.

✉ Для корреспонденции: Марина Викторовна Олькова  
ул. Губкина, д. 3, г. Москва, 119991; genetics@inbox.ru

Статья получена: 26.11.2020 Статья принята к печати: 12.12.2020 Опубликована онлайн: 12.01.2021

DOI: 10.24075/vrgmu.2021.001

ANALYSIS OF 13 *TP53* AND *WRAP53* POLYMORPHISM FREQUENCIES IN RUSSIAN POPULATIONSOlkova MV<sup>1,2</sup>✉, Petrusenko VS<sup>2</sup>, Ponomarev GYu<sup>2</sup><sup>1</sup> Research Centre of Medical Genetics (RCMG), Moscow, Russia<sup>2</sup> Vavilov Institute of General Genetics, Moscow, Russia

In the last decade the search for and annotation of human genome polymorphisms associated with phenotype have become particularly important concerning the opportunity of their use in medical and population genetics, pharmacogenomics and evolutionary biology. The study was aimed to calculate the frequencies and analyze the prevalence of 13 germline polymorphisms of two genes, *TP53* encoding the genome-keeper p53 protein and *WRAP53* involved in regulation of p53 production, in 28 Russian populations. We obtained data on 9 exonic *TP53* variants (rs587781663, rs17882252, rs150293825, rs112431538, rs149633775, rs144340710, rs1042522, rs1800371, rs201753350), one intronic polymorphism (rs17881850), and three variants of *WRAP53* (rs17880282, rs2287499, rs34067256). In the majority of populations the sample size was over 50 people (except five populations with 30–49 surveyed people). The alternative alleles' population frequencies for studies genetic variants in most Russian populations were close to appropriate allele frequencies in European and Asian populations of similar origin taken from global databases. The exceptions were six populations ("Central Caucasus", "Dagestan", "northern Russians", "southeastern Russians", "Tatars" and "Transcaucasia") with increased alternative alleles' population frequencies. All listed populations except the population of "southeastern Russians" are characterized by polymorphisms with high allele frequencies not satisfying the Hardy–Weinberg principle.

**Keywords:** p53, TP53, WRAP53, tumor marker, polymorphism, population frequency, genetic epidemiology

**Acknowledgement:** we would like to express our appreciation to Oleg Balanovsky, head of the Genome Geography Laboratory of the Vavilov Institute of General Genetics for study management and manuscript editing, to all DNA donors and Biobank of North Eurasia for provided collection of samples, as well as to the Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine of the Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia) for the opportunity to use the molecular biology technologies.

**Funding:** the study was carried out as part of the public contract between the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation and the Research Centre of Medical Genetics (phenotyping of samples, database construction, data analysis).

**Author contribution:** Olkova MV — study design, statistical analysis, manuscript writing; Petrusenko VS — bioinformatics analysis, Ponomarev GYu — experiments.

**Compliance with ethical standards:** the study was carried out in accordance with the World Medical Association Declaration of Helsinki. All samples were obtained from Biobank of North Eurasia. The informed consent was obtained from all donors.

✉ Correspondence should be addressed: Marina V. Olkova  
Gubkina 3, Moscow, 119991; genetics@inbox.ru

Received: 26.11.2020 Accepted: 12.12.2020 Published online: 12.01.2021

DOI: 10.24075/brsmu.2021.001

Ген TP53 отвечает за синтез одного из самых известных опухолевых супрессоров — белка p53, играющего ключевую роль в поддержании генетической стабильности клетки и предотвращении развития рака. Однажды активированный в процессе повреждения клетки, p53 запускает ряд клеточных реакций, направленных на восстановление и выживание клеток или, если восстановительный этап невозможен, на запрограммированную гибель клеток. Столь разнообразный плейотропный тканевый эффект белка p53 обусловлен суммарным влиянием клеточных коэкспрессированных изоформ p53. К настоящему моменту описаны по меньшей мере 12 изоформ p53, образуемых путем альтернативной инициации трансляции, использования альтернативных промоторов и альтернативного сплайсинга [1]. Все изоформы белка p53 содержат общий домен связывания с молекулой ДНК, но различные транс-активационный и ингибиторный домены, позволяющие им по-разному воздействовать на генную экспрессию [2].

Наследование в гене *TP53* аутосомно-доминантное, клинически связанное с риском развития синдрома Ли–Фраумени и других наследственных опухолевых синдромов. Подтверждено изменение чувствительности человека к определенным лекарственным препаратам при наличии ряда полиморфизмов этого гена (табл. 1).

Область гена *WRAP53*, содержащая как минимум три альтернативных промотора, располагается в регионе 13.1 короткого плеча 17-й хромосомы, частично перекрывая 5'-область гена *TP53*, по отношению к *WRAP53* расположенного на противоположно направленной цепи по принципу «голова к голове» [3]. Функция гена *WRAP53* двойственна. Во-первых, он кодирует антисмысловую РНК (*WRAP53α*), которая, воздействуя на первый экзон *TP53*, регулирует уровни мРНК p53, а также участвует в стимуляции выработки белка p53 за счет воздействия на 5'-нетранслируемую область мРНК p53 [4, 5]. Во-вторых, *WRAP53* отвечает за синтез белка *WRAP53β* (также называемого *WDR79* и *TCAB1*), который принадлежит к семейству WD40-протеинов. Этот белок обеспечивает целостность и нормальное функционирование телец Кахалы, необходимых для процесса созревания аппарата сплайсинга и биогенеза теломер [6–8]. *WRAP53β* также способствует накоплению фактора репарации 53BP1 в местах двухцепочечных разрывов ДНК, стимулируя восстановление структуры ДНК [9]. Белок *WRAP53β* предположительно обладает онкогенными свойствами, на что указывает его сверхэкспрессия в различных линиях раковых клеток, отсутствующая в норме [7, 8]. Следует отметить, что в настоящее время причастность этого белка к процессам онкогенеза подвергают сомнению: есть мнение, что сверхэкспрессия может быть вызвана участием *WRAP53β* в механизмах репарации ДНК при множественных разрывах ДНК, возникающих в случае развития в ткани онкологического процесса [7].

Для мутаций гена *WRAP53* характерен аутосомно-рецессивный тип наследования. Гомозиготное состояние по мутациям в этом гене может провоцировать развитие врожденного дискератоза, синдрома Ли–Фраумени.

Важная клиническая значимость генов *TP53* и *WRAP53* и частое обнаружение герминальных дефектов этих генов при различных распространенных онкопатологиях [10] объясняют необходимость изучения частот их распространения в популяциях разных стран. Частоты полиморфизмов указанных генов уже достаточно детально изучены в некоторых европейских странах и

США: подробную информацию о частотах как клинически значимых полиморфизмов, так и маркеров с пока еще неясным биологическим значением можно найти на сайтах таких проектов, как ClinVar [11] Национального центра биотехнологической информации США, Ensembl (совместный научный проект Европейского института биоинформатики и Института Сенгера) [12], Genome Aggregation Database (gnomAD) [13]. В России активно развивают сайт генетической энциклопедии, созданной сотрудниками Новосибирского государственного университета, «Генокарта» [14]. Наше исследование, посвященное изучению распространения и частот 13 полиморфизмов генов *TP53* и *WRAP53* в российских популяциях, направлено на расширение научных знаний в этой области применительно к популяциям, проживающим в нашей стране.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

### Отбор образцов ДНК

Образцы ДНК для исследования были предоставлены «Биобанком Северной Евразии» [15]. ДНК была выделена по стандартной методике фенол-хлороформного выделения из крови и слюны. В работу было включено 1785 образцов ДНК добровольцев, принадлежащих к 28 российским популяциям, которые по географическому положению проживания охватывают основные регионы России (табл. 2). Критерии включения в исследование: принадлежность добровольцев к определенной этнической группе (самоидентификация добровольцев и их предков с данной этнической группой на протяжении четырех и более поколений). Критерии исключения: образцы, не соответствующие критерию принадлежности к этнической группе. Так как работа предполагала изучение аутосомных маркеров, распределение по полу при подборе образцов не учитывали.

Каждая популяция насчитывала от 30 до 87 человек. Состав обследованных популяций представлен в табл. 2. Следует учитывать, что в связи с тем, что изучаемые гены *TP53* и *WRAP53* являются аутосомными, фактическое число включенных в работу аллелей было в два раза больше — от 60 до 174 аллелей для каждой популяции.

### Отбор полиморфизмов для исследования

Список полиморфизмов в генах *TP53* и *WRAP53* был составлен на основе генных вариантов, входящих в базу данных ClinVar и имеющих подтвержденную клиническую значимость (за исключением интронного варианта гена *TP53* — rs17881850). Интронный вариант rs17881850 был включен в исследование для сравнения частот аллелей в популяционно-нейтральном полиморфизме с популяционными частотами генных вариантов с подтвержденной клинической значимостью. К сожалению, значительную часть полиморфизмов из первоначального списка пришлось исключить после генотипирования, т. е. в расчет частот в популяциях были включены только те маркеры, для которых генотипирование во всех популяциях прошло успешно.

### Генотипирование

Все индивидуумы были генотипированы по девяти экзонным полиморфизмам гена *TP53* (rs587781663, rs17882252, rs150293825, rs112431538, rs149633775, rs144340710, rs1042522, rs1800371, rs201753350) и

Таблица 1. Основная информация о включенных в исследование маркерах, по данным ClinVar (NCBI)

Ген	Маркер	GRCh38.p12	Участок гена	Референсный нуклеотид	Альтернативный нуклеотид	Тип варианта полиморфизма	Аминокислотная замена	Клиническое значение полиморфизма (ClinVar)	Результат анализа в FATHMM	Проверенность маркера	Предрасположенность к заболеваниям
TP53	rs17881850	chr17:7669739	10-й интрон	G	A	Интронный	Нет	Нет информации	Нет расчета	Нет	Нет
	rs587781663	chr17:7670627	10-й экзон	C	T	Миссенс	Glu361Glu	Неясное значение	Нет расчета	Подтвержден	
	rs17882252	chr17:7670694	10-й экзон	C	T	Миссенс	Glu339Lys	Вероятно доброкачественный/неясный	CANCER	Подтвержден. Конфликтная интерпретация	
	rs150293825	chr17:7670695	10-й экзон	G	A	Сайленс	Phe338=	Доброкачественный/вероятно доброкачественный	CANCER	Подтвержден. Нет конфликтной интерпретации	
	rs112431538	chr17:7673767	7-й экзон	C	T	Миссенс	Glu285Lys	Патогенный/вероятно патогенный	CANCER	Подтвержден. Нет конфликтной интерпретации	Синдром Ли-Фраумени и другие наследственные синдромы
	rs149633775	chr17:7673773	7-й экзон	G	A	Миссенс	Arg283Cys	Неясное значение	CANCER	Проверен экспертами FDA	предрасположенности к онкологическим заболеваниям
	rs144340710	chr17:7674259	6-й экзон	T	C	Миссенс	Asp235Ser	Доброкачественный	CANCER	Проверен экспертами FDA	
	rs1042522	chr17:7676154	3-й экзон	G	C	Миссенс	Pro72Arg	Доброкачественный	CANCER	Находится в экспертной панели PharmacoGenomics Knowledgebase (PharmGKB)	
	rs1800371	chr17:7676230	3-й экзон	G	A	Миссенс	Pro47Ser	Доброкачественный	CANCER	Проверен экспертами FDA	
	rs201753350	chr17:7676387	2-й экзон	C	T	Миссенс	Val31Ile	Доброкачественный/вероятно доброкачественный/конфликтная интерпретация	CANCER	Подтвержден. Конфликтная интерпретация	
	rs17880282	chr17:7688679	2-й экзон	C	T	Миссенс	Pro11Ser	Доброкачественный/вероятно доброкачественный	PASSENGER/OTHER	Подтвержден. Нет конфликтной интерпретации	
	rs2287499	chr17:7688650	2-й экзон	C	G	Миссенс	Arg65Gly	Доброкачественный	PASSENGER/OTHER	Подтвержден. Нет конфликтной интерпретации	Синдром Ли-Фраумени, врожденный дискератоз
	rs34067256	chr17:7689055	2-й экзон	C	G	Миссенс	Pro136Ala	Доброкачественный/вероятно доброкачественный	PASSENGER/OTHER	Подтвержден. Нет конфликтной интерпретации	

Таблица 2. Частоты полиморфизмов генов TP53 и WRAP53 в исследуемых российских популяциях и референсных мировых популяциях

Популяция	Численность	rs17881860	rs587781663	rs17882252	rs150293825	rs112431538	rs149633775	rs144340710	rs1042522	rs1800371	rs201753350	rs17880282	rs2287499	rs34067256
Алтайцы	77	0,026	0,000	0,007	0,000	0,000	0,000	0,000	0,766	0,000	0,000	0,006	0,156	0,000
Башкиры	43	0,000	0,012	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,720	0,000	0,000	0,000	0,116	0,000
Белорусы и русские северо-западные	30	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017	0,650	0,000	0,000	0,000	0,117	0,033
Буряты, хамнигане, якуты	57	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,772	0,000	0,000	0,000	0,158	0,000
Центральный Кавказ	64	0,071	0,048	0,063	0,047	0,032	0,032	0,000	0,697	0,032	0,032	0,047	0,125	0,016
Чукчи и коряки	67	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,657	0,000	0,000	0,000	0,313	0,000
Дагестан	79	0,025	0,013	0,019	0,013	0,013	0,013	0,000	0,643	0,019	0,025	0,013	0,165	0,025
Дальний Восток (народы Амура)	84	0,000	0,000	0,000	0,000	0,006	0,000	0,000	0,690	0,000	0,000	0,012	0,208	0,000
Карелы и велсы	59	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,717	0,000	0,000	0,000	0,113	0,000
Казахи, каракалпаки, уйгуры, ногайцы	44	0,025	0,000	0,008	0,000	0,000	0,000	0,000	0,797	0,000	0,000	0,000	0,042	0,000
Ханты, манси, ненцы	53	0,034	0,011	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,727	0,011	0,000	0,000	0,216	0,000
Коми и удмурты	84	0,006	0,006	0,006	0,000	0,012	0,000	0,000	0,645	0,006	0,000	0,006	0,232	0,000
Мари и чуваша	53	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,651	0,000	0,000	0,000	0,264	0,009
Монголы (халха)	49	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,688	0,000	0,000	0,000	0,198	0,020
Монголы (прочие группы) и калмыки	78	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,654	0,000	0,000	0,000	0,231	0,000
Мордва	40	0,013	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,700	0,000	0,000	0,000	0,125	0,000
Русские северные	83	0,060	0,025	0,018	0,018	0,018	0,024	0,006	0,756	0,024	0,018	0,030	0,120	0,012
Русские юго-востока Центральной России	51	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010	0,039	0,622	0,020	0,000	0,029	0,127	0,059
Русские юго-запада Центральной России	50	0,020	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010	0,796	0,000	0,000	0,000	0,140	0,010
Русские севера Архангельской области	70	0,029	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,766	0,000	0,000	0,000	0,093	0,000
Сибирские татары	68	0,007	0,000	0,015	0,015	0,007	0,000	0,000	0,684	0,009	0,000	0,007	0,184	0,000
Таджики, памирские народы, ягнобцы	72	0,014	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,681	0,007	0,000	0,000	0,208	0,000
Татары	52	0,102	0,160	0,143	0,140	0,130	0,120	0,031	0,717	0,127	0,100	0,135	0,225	0,039
Закавказье	77	0,059	0,034	0,040	0,032	0,020	0,019	0,000	0,669	0,027	0,026	0,026	0,125	0,007
Тувинцы и тофалары	55	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,764	0,000	0,000	0,000	0,236	0,000
Украинцы	79	0,019	0,000	0,026	0,000	0,000	0,000	0,000	0,753	0,000	0,000	0,000	0,152	0,000
Узбеки, туркмены, киргизы	80	0,006	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,700	0,000	0,000	0,000	0,156	0,000
Западный Кавказ	87	0,012	0,006	0,000	0,006	0,000	0,000	0,000	0,622	0,000	0,000	0,000	0,149	0,011
Европа	Данные из NCBI, gnomAD	0,013	0,000	0,000	0,0005	0,00001	0,0003	0,0004	0,717	0,00	0,00001	0,0006	0,120	0,0001
Африка		0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,571	0,013	0,000	0,076	0,422	0,000
Азия		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,600	0,000	0,010	0,000	0,250	0,030

одному его интронному варианту (rs17881850), а также по трем полиморфизмам гена *WRAP53* (rs17880282, rs2287499, rs34067256). Генотипирование проводили с использованием технологии геномного анализа Illumina (Illumina Inc.; США) на основе биочиповых тест-систем. Для исключения некачественно типированных образцов использовали стандартное пороговое значение GenCall score, равное 0,15.

### Основные данные по включенным в исследование полиморфизмам

Вся информация по изучаемым полиморфизмам была получена с сайта Национального центра биотехнологической информации США [16], в частности, из публичного архива ClinVar [17] и базы данных Genome Aggregation Database (gnomAD) [18]. Положение полиморфизма в геноме человека было указано исходя из GRCh38.p12 версии сборки референсного генома (табл. 1).

Так как для некоторых полиморфизмов информация в открытых источниках была неполной, все маркеры были дополнительно исследованы методом функционального анализа с помощью скрытых марковских моделей для прогнозирования функциональных эффектов миссенс-вариантов белка на сайте fathmm (functional analysis through hidden Markov models) [19]. Для минимизации количества ложных срабатываний в анализе был выбран консервативный порог, равный  $-3,0$ . Полученные данные были внесены в табл. 1.

### Математическая и статистическая обработка данных

Расчет популяционных частот альтернативных аллелей исследуемых полиморфизмов, расчет критерия  $\chi^2$  и  $p$ -значения для оценки равновесия частот генотипов в популяциях, согласно правилу Харди–Вайнберга, оценка нормальности распределения частот альтернативных аллелей в исследуемых популяциях были произведены с использованием среды RStudio R, версия 4.0.2 (RStudio; США) и Microsoft Excel (Microsoft Corp.; США). Различия считали значимыми при  $p < 0,01$ .

### Многомерное шкалирование

Для двумерного представления взаиморасположения популяций в пространстве на основе полученных частот альтернативных аллелей изучаемых генетических маркеров *TP53* и *WRAP53* в статистическом пакете STATISTICA10 (StatSoft; США) был проведен анализ методом многомерного шкалирования с применением генетических расстояний Нея, рассчитанных в программе DJ genetic (ФГБНУ «МГНЦ»; Россия).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### Расчет частот альтернативных аллелей исследуемых маркеров в российских популяциях

На основе данных генотипирования 28 российских популяций были рассчитаны частоты альтернативных аллелей по девяти экзонным полиморфизмам гена *TP53* (2-й экзон — rs201753350; 3-й экзон — rs1042522, rs1800371; 6-й экзон — rs144340710; 7-й экзон — rs112431538, rs149633775; 10-й экзон — rs587781663, rs17882252, rs150293825), одному интронному варианту *TP53*

(rs17881850), а также по трем полиморфизмам второго экзона гена *WRAP53* (rs17880282, rs2287499, rs34067256). Данные по полученным частотам альтернативных аллелей данных маркеров в популяциях отражены в табл. 2.

#### Взаимосвязь частот альтернативных аллелей и равновесия Харди–Вайнберга

Для оценки равновесия Харди–Вайнберга по изучаемым маркерам *TP53* и *WRAP53* в популяциях были произведены расчеты критерия  $\chi^2$  с учетом существующего соотношения аллелей и их рассчитанных по правилу Харди–Вайнберга частот в популяции. Для визуализации взаимосвязи частот альтернативных аллелей и равновесия Харди–Вайнберга была составлена табл. 3. В пяти из 28 исследованных популяций («Центральный Кавказ», «Дагестан», «северные русские», «татары» и «Закавказье») по большинству маркеров наблюдается сочетание повышенных (по сравнению с указанными в табл. 2 соответствующими им по происхождению референсными частотами в мировых популяциях) частот альтернативных аллелей и их неравновесного состояния в популяциях (оранжевые ячейки). Это позволяет предположить, что на состояние исследуемых аллелей в этих популяциях могли оказать влияние внешние факторы — например, случайный инбридинг. Ошибки при генотипировании также могут сказываться на полученных результатах.

В популяции «юго-восточные русские» наличие альтернативных аллелей было обнаружено для многих маркеров, их частоты также были выше, чем в референсной европейской популяции, однако состояние аллелей в популяции не отклонялось от равновесия Харди–Вайнберга.

В нескольких популяциях («коми и удмурты», «сибирские татары», «западный Кавказ») разнообразие найденных маркеров было выше, чем в соответствующих им по происхождению референсных популяциях, однако при этом их частоты были низкими, близкими к референсным, и подчинялись правилу Харди–Вайнберга. Среди исследуемых маркеров два (rs1042522, находящийся в третьем экзоне *TP53*, и rs2287499, принадлежащий второму экзону гена *WRAP53*) отличались высокими частотами и соответствием правилу Харди–Вайнберга во всех популяциях.

#### Оценка нормальности распределения частот альтернативных аллелей в популяциях

Так как нейтральные аллели теоретически не должны подвергаться воздействию отбора и их частоты в популяциях могут подчиняться закону нормального распределения, для дополнительной оценки нейтральности изучаемых альтернативных аллелей была выполнена оценка нормальности распределения частот маркеров в популяциях с помощью теста Шапиро–Уилка. Результаты теста позволили подтвердить гипотезу о нормальном распределении для двух маркеров — rs1042522 ( $W = 0,95$ ,  $p = 0,18$ ) и rs2287499 ( $W = 0,97$ ,  $p = 0,46$ ). Для остальных маркеров нормальность распределения не подтвердилась.

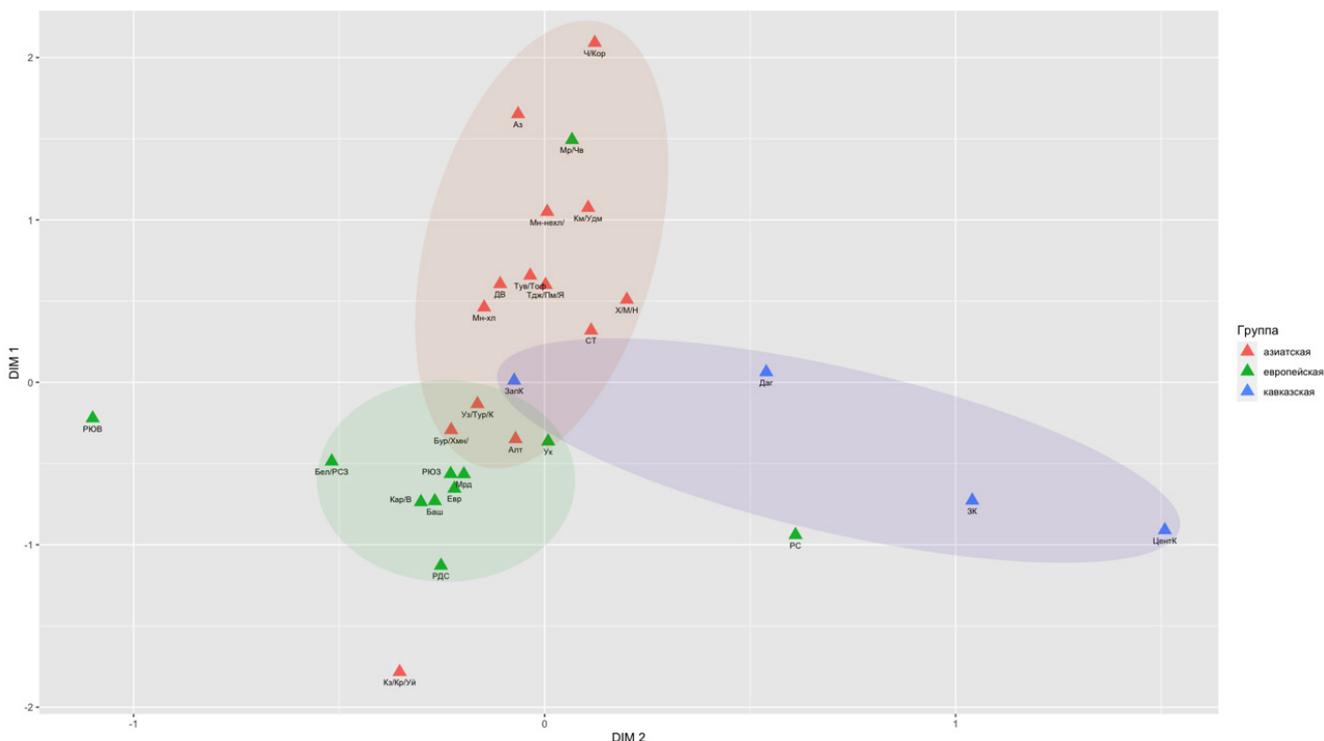
#### Анализ популяционных частот маркеров методом многомерного шкалирования (ММШ)

В нашем случае многомерное шкалирование — это способ наиболее эффективного размещения изучаемых

Таблица 3. Взаимоналожение частот маркеров в популяциях и оценка равновесия Харди-Вайнберга

Популяция	TP53										IFAP53		
	rs17881850	rs587781663	rs17882252	rs150293825	rs112431538	rs149633775	rs144340710	rs1042522	rs1800371	rs201753350	rs17880282	rs2287499	rs34067256
Алтайцы	0,026	0	0,007	0	0	0	0	0,766	0	0	0,006	0,156	0
Башкиры	0	0,01	0	0	0	0	0	0,720	0	0	0	0,116	0
Белорусы и русские северо-западные	0,017	0	0	0	0	0	0,017	0,650	0	0	0	0,117	0,033
Буряты, ханнигане, якуты	0	0	0	0	0	0	0	0,772	0	0	0	0,158	0
Центральный Кавказ	0,071	0,048	0,063	0,047	0,032	0,032	0	0,697	0,032	0,032	0,047	0,125	0,016
Чукчи и коряки	0	0	0	0	0	0	0	0,657	0	0	0	0,313	0
Дагестан	0,025	0,013	0,019	0,013	0,013	0,013	0	0,643	0,019	0,025	0,013	0,165	0,025
Дальний Восток (народы Амура)	0	0	0	0	0,006	0	0	0,690	0	0	0,012	0,208	0
Карелы и вепсы	0,025	0	0,008	0	0	0	0	0,797	0	0	0	0,042	0
Казахи, каракалпаки, уйгуры, ногайцы	0,034	0,011	0	0	0	0	0	0,727	0,011	0	0	0,216	0
Ханты, манси, ненцы	0	0	0	0	0	0	0	0,717	0	0	0	0,113	0
Коми и удмурты	0,006	0,006	0,006	0	0,012	0	0	0,645	0,006	0	0,006	0,232	0
Мари и чувашаи	0	0	0	0	0	0	0	0,651	0	0	0	0,264	0,01
Монголы (халха)	0,010	0	0	0	0	0	0	0,688	0	0	0	0,198	0,02
Монголы (прочие группы) и калмыки	0	0	0	0	0	0	0	0,654	0	0	0	0,231	0
Мордва	0,013	0	0	0	0	0	0	0,700	0	0	0	0,125	0
Русские северные	0,060	0,025	0,018	0,018	0,018	0,024	0,01	0,756	0,024	0,018	0,030	0,120	0,012
Русские юго-востока Центральной России	0,010	0	0	0	0	0,010	0,039	0,622	0,02	0	0,029	0,127	0,059
Русские юго-запада Центральной России	0,020	0	0	0	0	0	0,01	0,796	0	0	0	0,140	0,010
Русские севера Архангельской области	0,029	0	0	0	0	0	0	0,766	0	0	0	0,093	0
Сибирские татары	0,007	0	0,015	0,015	0,007	0	0	0,664	0,009	0	0,007	0,184	0
Таджики, памирские народы, ягнобцы	0,014	0	0	0	0	0	0	0,681	0,007	0	0	0,208	0
Татары	0,102	0,160	0,143	0,140	0,130	0,120	0,031	0,717	0,127	0,100	0,135	0,225	0,039
Закавказье	0,059	0,034	0,040	0,032	0,020	0,019	0	0,669	0,027	0,026	0,026	0,125	0,007
Тувинцы и тофалары	0,009	0	0	0	0	0	0	0,764	0	0	0	0,236	0
Украинцы	0,019	0	0,026	0	0	0	0	0,753	0	0	0	0,152	0
Узбеки, туркмены, киргизы	0,006	0	0	0	0	0	0	0,700	0	0	0	0,156	0
Западный Кавказ	0,012	0,006	0	0,006	0	0	0	0,622	0	0	0	0,149	0,011

**Примечание:** равновесие Харди-Вайнберга оценивали на основании значения  $p$  теста  $\chi^2$  ( $p < 0,01$ ). Оранжевые ячейки — гипотеза о равновесии Харди-Вайнберга для альтернативного аллеля отвергается, зеленый — гипотеза не отвергается.



Алт	Алтайцы
Баш	Башкиры
Бел/РСЗ	Белорусы и русские северо-западные
Бур/Хмн/	Буряты, хамнигане, якуты
ЦентК	Центральный Кавказ
Ч/Кор	Чукчи и коряки
Даг	Дагестан
ДВ	Дальний Восток (народы Амура)
Кар/В	Карелы и вепсы
Кз/Кр/Уй	Казахи, каракалпаки, уйгуры, ногайцы
Х/М/Н	Ханты, манси, ненцы
Км/Удм	Коми и удмурты
Мр/Чв	Мари и чуваш
Мн-хл	Монголы (халха)
Мн-нехл/	Монголы (прочие группы) и калмыки
Мрд	Мордва
РС	Русские северные
РЮВ	Русские юго-востока Центральной России
РЮЗ	Русские юго-запада Центральной России
РДС	Русские севера Архангельской области
СТ	Сибирские татары
Тдж/Пм/Я	Таджики, памирские народы, ягнобцы
ЗК	Закавказье
Тув/Тоф	Тувинцы и тофалары
Ук	Украинцы
Уз/Тур/К	Узбеки, туркмены, киргизы
ЗапК	Западный Кавказ
Евр	Европа
Аз	Азия

**Рис.** График многомерного шкалирования, основанный на матрице генетических расстояний Нея для 29 популяций (татарская и африканская были исключены из анализа из-за чрезмерно больших частотных различий с остальными популяциями). Уровень стресса составляет 0,068, алиенации — 0,058. Популяции разделены на три группы: азиатскую (красный треугольный значок), европейскую (зеленый треугольник) и кавказскую (синий значок). Соответственно группам популяций выделены кластеры: оранжевый — азиатские популяции, зеленый — европейские, синий — кавказские

популяций в пределах плоскости, позволяющий приблизительно оценить генетические расстояния между ними. ММШ выполнили для 29 популяций (татарская и африканская популяции были исключены ввиду резкого отличия частот их маркеров от данных для основного пула популяций) (см. рисунок). Для выполненного ММШ уровень стресса составил 0,068, а алиенации — 0,058.

Популяции были предварительно помечены как принадлежащие к одной из трех групп: азиатской, европейской и кавказской. Следует отметить группировку популяций на графике (см. рисунок) в зависимости от происхождения, позволившую выделить три соответствующих кластера — азиатский, европейский и кавказский. При этом в азиатском и европейском кластерах, имеющих значительную область пересечения, популяции расположены ближе друг к другу по значениям частот полиморфизмов, а в кавказском наблюдается большой разброс по частотам между популяциями.

Азиатский кластер имеет достаточно четкие границы. Единственное исключение — объединенная популяция, в состав которой входят казахи, каракалпаки, уйгуры и ногайцы; локация этой популяции вне кластера обусловлена более высоким содержанием в ней некоторых равновесных маркеров по сравнению с остальными азиатскими популяциями (табл. 3).

Европейский кластер имеет более компактную форму с высокой плотностью популяций вокруг центральной референсной европейской популяции, значения частот маркеров которой взяты из открытых источников. Три европейские популяции оказались вынесены далеко за пределы кластера — «северные русские», «юго-восточные русские» и объединенная популяция мари и чувашей. «Северные русские» — единственная европейская популяция, в которой наблюдались повышенные частоты многих маркеров, отсутствующих в других европейских популяциях, находящиеся при этом в неравновесном состоянии (табл. 3). Популяция «юго-восточные русские», для которой характерны повышенные частоты некоторых нетипичных для европейских популяций полиморфизмов, большинство из которых находится в равновесии Харди-Вайнберга (табл. 3), вынесена за пределы европейского кластера в противоположную сторону графика, по сравнению с популяцией «северные русские». «Мари и чувашей» оказались в глубине азиатского кластера, что, возможно, обусловлено антропологическим составом чувашей, в котором помимо индивидов европеоидного типа в значительной мере присутствуют индивиды монголоидного типа и смешанные формы.

Для всех популяций кавказского кластера, кроме популяции «Западный Кавказ», оказавшейся в области пересечения с азиатским кластером и поблизости от европейского кластера, характерно присутствие повышенных частот большинства анализируемых полиморфизмов в сочетании с их неравновесным состоянием в популяциях (табл. 3), что сближает их по указанным параметрам с «северными русскими» (см. рис.).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Выполненное исследование полиморфизмов генов *TP53* и *WRAP53* в 28 популяциях, охватывающих все основные регионы России, позволило оценить частоту и распространенность включенных в исследование маркеров в разных российских регионах и народах.

Оценка частот альтернативных аллелей исследуемых маркеров в российских популяциях позволила выявить две основные тенденции:

– для двух из 13 исследованных маркеров (*rs1042522*, находящегося в третьем экзоне *TP53*, и *rs2287499*, принадлежащего второму экзону гена *WRAP53*) характерны высокие частоты во всех популяциях, нормальное распределение частот маркера в популяциях и соответствие аллелей равновесию Харди-Вайнберга;

– для пяти популяций («Центральный Кавказ», «Дагестан», «северные русские», «татары» и «Закавказье») частоты большинства маркеров (кроме упомянутых *rs1042522* и *rs2287499*, а также клинически доброкачественного *rs144340710* из 6-го экзона гена *TP53*) оказались повышенными, при этом аллели этих маркеров находились в неравновесном состоянии. В татарской популяции наличие, частоты и распространенность альтернативных аллелей изучаемых полиморфизмов оказались значительно выше референсных мировых значений, а также заметно отличались в большую сторону от частот и представленности этих полиморфизмов в основном пуле российских популяций (табл. 2). Указанный факт требует дальнейшего изучения.

Два широко распространенных и равновесных маркера, *rs1042522* в гене *TP53* и *rs2287499* во *WRAP53*, указаны в базе данных ClinVar как доброкачественные. Это значит, что частота маркера слишком высока, чтобы он мог быть патогенной мутацией; он встречается в гетеро- и гомозиготном состоянии в отсутствие тяжелого заболевания по этому гену; отсутствует ассоциация с заболеванием в исследованиях «положительный/отрицательный контроль» при статистически оптимальной выборке [20]. Тот факт, что альтернативный аллель полиморфизма *rs1042522*, входящего в состав ДНК-связывающего домена *p53* [21], во всех популяциях доминирует по частоте по сравнению с референсным, может говорить о том, что в референсном геноме случайным образом оказался зафиксирован минорный аллель. Это предположение косвенно подтверждает упоминание о том, что альтернативный вариант *Arg72* белка *p53* обладает лучшей функциональной способностью индуцировать апоптоз и предупреждать развитие рака по сравнению с референсным *Pro72* вариантом [22].

Несмотря на определение *rs1042522* и *rs2287499* в научных базах данных как клинически доброкачественных маркеров, в литературе встречается множество данных об их участии в онкогенезе. В частности, для полиморфизма *p53 Pro72Arg* (табл. 1) было показано, что гетерозиготный вариант *Arg/Pro* связан с повышенным риском развития меланомы по сравнению с гомозиготным вариантом *Pro/Pro* [23]; в другой работе была показана связь генотипа *Pro/Pro* данного маркера с повышенным риском немелкоклеточного рака легких у пациентов из Московской области [21].

Существует множество литературных источников, посвященных изучению выживаемости пациентов с онкологическими заболеваниями при гомо- и гетерозиготном состоянии по *Pro72Arg*, однако они также содержат противоречивую информацию. Есть свидетельства повышения среднего времени выживания у пациентов с раком шейки матки с генотипом *Arg/Pro* по сравнению с пациентами с генотипами *Arg/Arg* и *Pro/Pro* [24], однако обширное исследование датских ученых [25] показало отсутствие связи указанного полиморфизма с более низкой смертностью от рака и более низкой заболеваемостью раком в общей популяции.

Однако rs1042522 в большей степени известен как маркер, входящий в состав экспертной панели фармакогенетической базы данных PharmacoGenomics Knowledgebase, который связан с измененной реакцией организма на некоторые противоопухолевые препараты [26]. Есть данные о высокой корреляции аллеля p53 Pro с токсичностью при химиотерапии [27], а также о том, что генотипы Pro/Pro коррелируют с более низкой скоростью ответа на химиотерапию фторурацилом у пациентов с раком желудка по сравнению с генотипом Arg/Arg [28].

Клиническое значение маркера rs2287499 гена *WRAP53* менее изучено, однако есть свидетельства существования умеренного неравновесия по сцеплению между исследуемыми маркерами rs1042522 и rs2287499. Сочетание их гаплотипов CA/GC связано с повышенным риском рака молочной железы, а сочетание GA/CC, напротив, играет протективную роль при этом заболевании [29].

Представленность и частоты других исследованных полиморфизмов в российских популяциях достаточно сильно варьируют, но для большинства из них рассчитанные частоты соответствуют референсным значениям частот этих маркеров для азиатской и европейской популяций, в соответствии с происхождением рассмотренных российских популяций. Исключение составляют пять перечисленных выше популяций, в которых частоты этих маркеров повышены. Клиническое значение некоторых

изученных полиморфизмов (например, интронного варианта rs17881850) остается неясным, однако недавно появились сведения о том, что интронные полиморфизмы гена *TP53* также могут иметь клиническую значимость [30].

## ВЫВОДЫ

Исследование позволило получить данные по частотам герминальных полиморфизмов генов *TP53* (10 маркеров из пяти экзонов и одного интрона) и *WRAP53* (три маркера из второго экзона) для 28 популяций России. Для большинства популяций полученные значения частот полиморфизмов близки к таковым в соответствующей их происхождения референсной мировой популяции (азиатской или европейской). Шесть популяций отличаются повышенными относительно референсных частотами маркеров («Центральный Кавказ», «Дагестан», «северные русские», «юго-восточные русские», «татары» и «Закавказье»), при этом во всех указанных популяциях, кроме «юго-восточных русских», аллели маркеров с повышенными частотами не подчиняются правилу Харди–Вайнберга. Для татарской популяции характерны особенно высокие частоты неравновесных аллелей полиморфизмов, что говорит о необходимости их более глубокого изучения в данной популяции для выяснения причины таких различий.

## Литература

- Joruz SM, Bourdon JC. P53 isoforms: Key regulators of the cell fate decision. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2016; 6: 8.
- Surget S, Khoury MP, Bourdon JC. Uncovering the role of p53 splice variants in human malignancy: a clinical perspective. *Oncotargets and Therapy*. 2013; 7: 57–68.
- Rassoolzadeh H. Unwrapping the role of *WRAP53β* in DNA damage response [Internet]. [Solna]; 2016. Available from: <http://ceder.graphics>.
- Mahmoudi S, Henriksson S, Corcoran M, Méndez-Vidal C, Wiman KG, Farnebo M. *Wrap53*, a natural p53 antisense transcript required for p53 induction upon DNA damage. *Molecular Cell*. 2009; 33 (4): 462–71.
- Farnebo M. *Wrap53*, a novel regulator of p53. *Cell Cycle*. 2009; 8 (15): 2343–6. DOI: 10.4161/cc.8.15.9223.
- Henriksson S, Farnebo M. On the road with *WRAP53β*: guardian of Cajal bodies and genome integrity. *Front Genet*. 2015; 6: 91. doi: 10.3389/fgene.2015.00091.
- Bergstrand S, O'Brien EM, Farnebo M. The Cajal body protein *WRAP53β* prepares the scene for repair of DNA double-strand breaks by regulating local ubiquitination. *Front Mol Biosci*. 2019; 6: 51. Published 2019 Jul 4. DOI:10.3389/fmolb.2019.00051.
- Mahmoudi S. *WRAP53* unwrapped; roles in nuclear architecture and cancer. 2011.
- Coucoravas C, Dhanjal S, Henriksson S, Böhm S, Farnebo M. Phosphorylation of the Cajal body protein *WRAP53β* by ATM promotes its involvement in the DNA damage response. *RNA Biol*. 2017; 14(6): 804–13. DOI:10.1080/15476286.2016.1243647.
- Rogoża-Janiszewska E, Malińska K, Górski B, Scott RJ, Cybulski C, Kluzniak W, et al. Prevalence of germline *TP53* variants among early-onset breast cancer patients from Polish population. *Breast Cancer*. 2020.
- rs2287499 RefSNP Report - dbSNP - NCBI [Internet]. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2287499#frequency\\_tab](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2287499#frequency_tab).
- rs2287499 (SNP) — Population genetics — Homo\_sapiens — Ensembl genome browser 101 [Internet]. Available from: [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=17:7688350-7689350;v=rs2287499;vdb=v](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=17:7688350-7689350;v=rs2287499;vdb=v) ariation;vf=87573072
- rs2287499 | gnomAD v2.1.1 | gnomAD [Internet]. Available from: [https://gnomad.broadinstitute.org/variant/rs2287499?dataset=gnomad\\_r2\\_1](https://gnomad.broadinstitute.org/variant/rs2287499?dataset=gnomad_r2_1)
- rs2287499 C>G | Генокарта — генетическая энциклопедия [Internet]. Available from: [https://genokarta.ru/snps/rs2287499\\_CG](https://genokarta.ru/snps/rs2287499_CG).
- Балановская Е. В., Жабагин М. К., Агджоян А. Т., Чухряева М. И., Маркина Н. В., Балаганская О. А. и др. Популяционные биобанки: принципы организации и перспективы применения в геногеографии и персонализированной медицине. *Генетика*. 2016; 52 (12): 1371–87.
- National Center for Biotechnology Information [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.
- What is ClinVar? [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/intro/>.
- gnomAD [Internet]. Available from: <https://gnomad.broadinstitute.org/>.
- fathmm — Home [Internet]. Available from: <http://fathmm.biocompute.org.uk/>.
- Pesaran T, Karam R, Huether R, Li S, Farber-Katz S, Chamberlin A, et al. Beyond DNA: an integrated and functional approach for classifying germline variants in breast cancer genes. *Int J Breast Cancer*. 2016; 2016: 2469523. DOI: 10.1155/2016/2469523.
- Zavarykina T, Byrdenny A, Loginov V, Atkarskaya M, Zhizhina G. A84: Polymorphic markers Arg72Pro and Gln157Lys of *TP53* gene in nonsmall cell lung cancer. *European Journal of Cancer Supplements* [Internet]. 2015; 13 (1): 69. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359634915001238>.
- Желтухин А. О., Чумаков П. М. Повседневные и индуцируемые функции гена p53. 2010; 50: 447–516.
- Geng P, Liao Y, Ruan Z, Liang H. Increased risk of cutaneous melanoma associated with p53 Arg72pro polymorphism. *PLoS ONE* [Internet]. 2015; 10 (3): e0118112. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0118112>.
- Coelho A, Nogueira A, Soares S, Assis J, Pereira D, Bravo I, et al. *TP53* Arg72Pro polymorphism is associated with increased overall survival but not response to therapy in Portuguese/Caucasian patients with advanced cervical cancer. *Oncology*

- Letters [Internet]. 2018; 15 (5): 8165–71. Available from: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2018.8354/abstract>.
25. Kodal JB, Vedel-Krogh S, Kobylecki CJ, Nordestgaard BG, Bojesen SE. TP53 Arg72Pro, mortality after cancer, and all-cause mortality in 105,200 individuals. *Scientific Reports*. 2017; 7 (1): rs1042522 - Clinical Annotations [Internet]. Available from: <https://www.pharmgkb.org/variant/PA166155173/clinicalAnnotation>.
  26. rs1042522 - Clinical Annotations [Internet]. Available from: <https://www.pharmgkb.org/variant/PA166155173/clinicalAnnotation>.
  27. Henríquez-Hernández LA, Murias-Rosales A, González-Hernández A, de León AC, Díaz-Chico N, Fernández-Pérez L. Distribution of TYMS, MTHFR, p53 and MDR1 gene polymorphisms in patients with breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *Cancer Epidemiology*. 2010; 34 (5): 634–8. DOI: 10.1016/j.canep.2010.06.013.
  28. Huang ZH, Hua D, Li LH, Zhu J De. Prognostic role of p53 codon 72 polymorphism in gastric cancer patients treated with fluorouracil-based adjuvant chemotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2008; 134 (10): 1129–34. DOI: 10.1007/s00432-008-0380-8.
  29. Pouladi N, Abdolahi S, Farajzadeh D, Feizi MAH. Haplotype and linkage disequilibrium of TP53-WRAP53 locus in Iranian-Azeri women with breast cancer. Roemer K, editor. *PLOS ONE* [Internet]. 2019; 14 (8): e0220727. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0220727>.
  30. Voropaeva EN, Pospelova TI, Voevoda MI, Mabimov N. Changes in non-coding sequences of the tp53 gene in diffuse large b-cell lymphoma. *Gematologiya i Transfusiologiya*. 2018; 63 (3): 239–49.

## References

1. Joruz SM, Bourdon JC. P53 isoforms: Key regulators of the cell fate decision. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2016; 6: 8.
2. Surget S, Khoury MP, Bourdon JC. Uncovering the role of p53 splice variants in human malignancy: a clinical perspective. *Oncotargets and Therapy*. 2013; 7: 57–68.
3. Rassoolzadeh H. Unwrapping the role of WRAP53 $\beta$  in DNA damage response [Internet]. [Solna]; 2016. Available from: <http://ceder.graphics>.
4. Mahmoudi S, Henriksson S, Corcoran M, Méndez-Vidal C, Wiman KG, Farnebo M. Wrap53, a natural p53 antisense transcript required for p53 induction upon DNA damage. *Molecular Cell*. 2009; 33 (4): 462–71.
5. Farnebo M. Wrap53, a novel regulator of p53. *Cell Cycle*. 2009; 8 (15): 2343–6. DOI: 10.4161/cc.8.15.9223.
6. Henriksson S, Farnebo M. On the road with WRAP53 $\beta$ : guardian of Cajal bodies and genome integrity. *Front Genet*. 2015; 6: 91. doi: 10.3389/fgene.2015.00091.
7. Bergstrand S, O'Brien EM, Farnebo M. The Cajal body protein WRAP53 $\beta$  prepares the scene for repair of DNA double-strand breaks by regulating local ubiquitination. *Front Mol Biosci*. 2019; 6: 51. Published 2019 Jul 4. DOI:10.3389/fmolb.2019.00051.
8. Mahmoudi S. WRAP53 unwrapped; roles in nuclear architecture and cancer. 2011.
9. Coucoravas C, Dhanjal S, Henriksson S, Böhm S, Farnebo M. Phosphorylation of the Cajal body protein WRAP53 $\beta$  by ATM promotes its involvement in the DNA damage response. *RNA Biol*. 2017; 14(6): 804–13. DOI:10.1080/15476286.2016.1243647.
10. Rogoża-Janiszewska E, Malińska K, Górski B, Scott RJ, Cybulski C, Kluźniak W, et al. Prevalence of germline TP53 variants among early-onset breast cancer patients from Polish population. *Breast Cancer*. 2020.
11. rs2287499 RefSNP Report - dbSNP - NCBI [Internet]. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2287499#frequency\\_tab](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2287499#frequency_tab).
12. rs2287499 (SNP) — Population genetics — Homo\_sapiens — Ensembl genome browser 101 [Internet]. Available from: [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=17:7688350-7689350;v=rs2287499;vdb=v\\_ariation;vf=87573072](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=17:7688350-7689350;v=rs2287499;vdb=v_ariation;vf=87573072)
13. rs2287499 | gnomAD v2.1.1 | gnomAD [Internet]. Available from: [https://gnomad.broadinstitute.org/variant/rs2287499?dataset=gnomad\\_r2\\_1](https://gnomad.broadinstitute.org/variant/rs2287499?dataset=gnomad_r2_1).
14. rs2287499 C>G | Genokarta — geneticheskaja enciklopedija [Internet]. Available from: [https://genokarta.ru/snps/rs2287499\\_CG](https://genokarta.ru/snps/rs2287499_CG).
15. Balanovskaya EV, Zhabagin MK, Agdzhoyan AT, Chukhryaeva MI, Markina NV, Balaganskaya OA et al. Populyacionnye biobanki: principy organizacii i perspektivy primeneniya v genogeografii i personalizirovannoj mediczine. *Genetika*. 2016; 52 (12): 1371–87.
16. National Center for Biotechnology Information [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.
17. What is ClinVar? [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/intro/>.
18. gnomAD [Internet]. Available from: <https://gnomad.broadinstitute.org/>.
19. fathmm — Home [Internet]. Available from: <http://fathmm.biocompute.org.uk/>.
20. Pesaran T, Karam R, Huether R, Li S, Farber-Katz S, Chamberlin A, et al. Beyond DNA: an integrated and functional approach for classifying germline variants in breast cancer genes. *Int J Breast Cancer*. 2016; 2016: 2469523. DOI: 10.1155/2016/2469523.
21. Zavarykina T, Byrdenny A, Loginov V, Atkarskaya M, Zhizhina G. A84: Polymorphic markers Arg72Pro and Gln157Lys of TP53 gene in nonsmall cell lung cancer. *European Journal of Cancer Supplements* [Internet]. 2015; 13 (1): 69. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359634915001238>.
22. Zheltuhin AO, Chumakov PM. Povednevnye i inducirovannye funkcii gena p53. 2010; 50: 447–516.
23. Geng P, Liao Y, Ruan Z, Liang H. Increased risk of cutaneous melanoma associated with p53 Arg72pro polymorphism. *PLoS ONE* [Internet]. 2015; 10 (3): e0118112. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0118112>.
24. Coelho A, Nogueira A, Soares S, Assis J, Pereira D, Bravo I, et al. TP53 Arg72Pro polymorphism is associated with increased overall survival but not response to therapy in Portuguese/Caucasian patients with advanced cervical cancer. *Oncology Letters* [Internet]. 2018; 15 (5): 8165–71. Available from: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2018.8354/abstract>.
25. Kodal JB, Vedel-Krogh S, Kobylecki CJ, Nordestgaard BG, Bojesen SE. TP53 Arg72Pro, mortality after cancer, and all-cause mortality in 105,200 individuals. *Scientific Reports*. 2017; 7 (1): rs1042522 - Clinical Annotations [Internet]. Available from: <https://www.pharmgkb.org/variant/PA166155173/clinicalAnnotation>.
26. rs1042522 - Clinical Annotations [Internet]. Available from: <https://www.pharmgkb.org/variant/PA166155173/clinicalAnnotation>.
27. Henríquez-Hernández LA, Murias-Rosales A, González-Hernández A, de León AC, Díaz-Chico N, Fernández-Pérez L. Distribution of TYMS, MTHFR, p53 and MDR1 gene polymorphisms in patients with breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *Cancer Epidemiology*. 2010; 34 (5): 634–8. DOI: 10.1016/j.canep.2010.06.013.
28. Huang ZH, Hua D, Li LH, Zhu J De. Prognostic role of p53 codon 72 polymorphism in gastric cancer patients treated with fluorouracil-based adjuvant chemotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2008; 134 (10): 1129–34. DOI: 10.1007/s00432-008-0380-8.
29. Pouladi N, Abdolahi S, Farajzadeh D, Feizi MAH. Haplotype and linkage disequilibrium of TP53-WRAP53 locus in Iranian-Azeri women with breast cancer. Roemer K, editor. *PLOS ONE* [Internet]. 2019; 14 (8): e0220727. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0220727>.
30. Voropaeva EN, Pospelova TI, Voevoda MI, Mabimov N. Changes in non-coding sequences of the tp53 gene in diffuse large b-cell lymphoma. *Gematologiya i Transfusiologiya*. 2018; 63 (3): 239–49.