

Исследование взаимосвязи полиморфизмов I462V гена *CYP1A1* и -9-154C>A гена *CYP1A2* с риском развития колоректального рака у русских жителей Центральной России

Москалев А.С.¹, Солдатов В.О.², Вдовина И.Н.²,
Иванова Н.В.², Иванов В.П.², Полоников А.В.², Бушуева О.Ю.²

¹ Областное бюджетное учреждение здравоохранения «Курский областной клинический онкологический диспансер» комитета здравоохранения Курской области

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

¹ ОБУЗ «КОКОД», 305524, Курская обл., Курский район, х. Кислино, Россия

² ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава РФ, 305041, Курск, Россия, кафедра биологии, медицинской генетики и экологии

Колоректальный рак (КРР) является одним из наиболее часто встречающихся злокачественных новообразований, ассоциирующихся с высокой смертностью у пациентов. Одной из гипотез патогенеза КРР является нарушения в работе системы биотрансформации ксенобиотиков, которые могут быть опосредованы генетическими механизмами. Целью исследования было изучение ассоциации полиморфизмов I462V гена *CYP1A1* и -9-154C>A гена *CYP1A2* с предрасположенностью к КРР у жителей Центральной России. Материалом для исследования послужили 543 образца ДНК: 262 пациентов с КРР и 281 от-носительно здоровых индивидуумов, сопоставимых по полу и возрасту. Генотипирование проводили методом ПЦР в режиме реального времени путем дискриминации аллелей с помощью TaqMan-зондов. Мы обнаружили, что генотип 462II (OR = 1,74, 95%CI = 1,02–2,97, P = 0,04) ассоциируется с повышенным риском развития КРР. При этом у гетерозигот обнаружен протективный эффект относительно развития КРР (OR = 0,55, 95%CI = 0,32–0,96, P = 0,03). При сравнительном анализе частот аллелей и генотипов -9-154C>A гена *CYP1A2* различий между исследуемыми группами обнаружено не было. Таким образом, мы установили, что полиморфизм I462V гена *CYP1A1* связан с развитием КРР в русской популяции.

Ключевые слова: Колоректальный рак, наследственная предрасположенность, биотрансформация ксенобиотиков, *CYP1A1*, *CYP1A2*.

Сведения об авторах:

Москалев А.С. — врач-онколог Курского областного клинического онкологического диспансера

Солдатов В.О. — студент 6 курса лечебного факультета

Вдовина И.Н. — клинический интерн кафедры биологии, медицинской генетики и экологии

Иванова Н.В. — к.м.н., доцент кафедры биологии, медицинской генетики и экологии

Иванов В.П. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой биологии, медицинской генетики и экологии

Полоников А. В. — д.м.н., профессор кафедры биологии, медицинской генетики и экологии Бушуева О.Ю. — к.м.н., доцент кафедры биологии, медицинской генетики и экологии

Для корреспонденции: Бушуева Ольга Юрьевна, к.м.н., доцент кафедры биологии, медицинской генетики и экологии, e-mail: olga.bushueva@inbox.ru, 305004 Курск, ул. Челюскинцев, д.23, кв.62, тел. 8 910 310 35 09.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

The relationship between polymorphism I462V of the *CYP1A1* gene and -9-154C>A of the *CYP1A2* gene and colorectal cancer risk in the population of Central Russia

Moskalev A.S.¹, Soldatov V.O.², Vdovina I.N.², Ivanova N.V.²,
Ivanov V.P.², Polonikov A.V.², Bushueva O.Yu.²

¹ Kursk Regional Clinical Oncology Center, 305524, Kursk region, Kursk region, h.Kislino, Russian Federation

² Kursk State Medical University, 305000, Kursk, Russian Federation

Colorectal cancer (CRC) is one of the most common tumors associated with high mortality in patients. The system of xenobiotics biotransformation mediated by genetic mechanisms is involved in the pathogenesis of colorectal cancer. The aim of this study was to investigate the association of polymorphisms I462V of the *CYP1A1* gene and -9-154C>A of the *CYP1A2* gene with the risk of CRC in population of the Central Russia. We studied DNA samples obtained from 543 subjects, including 262 CRC patients and 281 sex- and age-matched healthy individuals. The polymorphisms were genotyped through a real-time PCR using TaqMan allele-discrimination

assays. We found that the genotype 462II (OR = 1,74, 95% CI = 1,02–2,97, P = 0,04) of the *CYP1A1* gene was associated with increased risk of CRC. Meanwhile we observed the protective effect of 462IV genotype against the risk of CRC development (OR = 0,55, 95% CI = 0,32–0,96, P = 0,03). The comparative analysis showed no differences in allele and genotype frequencies of the *CYP1A2* -9-154C>A polymorphism between cases and controls. Thus, we found that polymorphism I462V of the *CYP1A1* gene is associated with CRC in the Russian population.

Key words: Colorectal cancer, genetic predisposition, biotransformation of xenobiotics, *CYP1A1*, *CYP1A2*.

Corresponding author: Bushueva Olga Yuryevna, associate professor of the department of Biology, Medical Genetics and Ecology, e-mail: olga.bushueva@inbox.ru

Введение

Онкологические заболевания до сих пор продолжают оставаться одной из наиболее актуальных и спорных тем в современной медицине. Ежегодно в мире регистрируется 10 млн новых случаев рака и более 6 млн смертей от злокачественных новообразований [1]. По данным GLOBOCAN 2012, IARC около 13,1% всех злокачественных новообразований приходится на рак толстой и прямой кишки, объединенных в понятие колоректального рака (КРР). Следует отметить, что в последние годы отмечается значительный рост заболеваемости КРР [2]. Эта опухоль до сих пор ассоциируется с высокой смертностью у пациентов. В частности, показатель пятилетней выживаемости больных КРР в Европе составляет около 25% [3].

С точки зрения медицинской генетики КРР представляет собой мультифакторную патологию, развитие которой обусловлено сложными механизмами взаимодействия генетических и средовых факторов риска. Ежедневно кишечник человека подвергается воздействию десятков различных чужеродных веществ с различной степенью химической активности, таких как лекарственные препараты, пищевые добавки, пестициды и реагенты, поступающие с необработанной пищей и т.д. Кроме того, существуют доказательства, указывающие на то, что такие факторы образа жизни, как курение, употребление алкоголя и пищевые привычки также могут способствовать развитию КРР [4].

Изучению роли генетических факторов в развитии КРР посвящено большое количество исследований. Гены, кодирующие ферменты биотрансформации ксенобиотиков (ФБК) — наиболее привлекательные гены-кандидаты КРР, поскольку полиморфные варианты этих генов определяют «уязвимость» индивидов к воздействию токсичных факторов окружающей среды [5]. ФБК создают «первую линию защиты» клетки от многочисленных мутагенов. Активация химических проканцерогенов опосредуется главным образом ферментами цитохрома Р-450 (фаза I биотрансформации).

CYP1A1 и *CYP1A2* — ключевые ферменты I-й фазы биотрансформации. Функционально значимые полиморфизмы I462V гена *CYP1A1* и -9-154C>A гена *CYP1A2* достаточно широко исследованы относительно риска развития КРР, однако результаты проведенных исследований противоречивы. Так, Pande M. с группой соавто-

ров установили ассоциацию полиморфизма I462V гена *CYP1A1* с риском развития КРР в выборке больных синдромом Линча в Техасе. Исследование Little J. и соавт. демонстрирует слабую ассоциацию данного полиморфизма с риском развития заболевания при анализе популяции Северо-Восточного региона Шотландии. В работе, проведенной Slattery M.L. и соавт. в двух популяциях: жителей штата Юта и Северной Калифорнии, выявлено отсутствие взаимосвязи полиморфизма I462V и КРР [6–8].

Исследования влияния полиморфизма -9-154C>A гена *CYP1A2* на вероятность развития КРР также гетерогенны: Landi S. и соавт. выявили ассоциацию данного полиморфизма с развитием злокачественных новообразований толстой кишки, Вае S.Y. и соавт. получили сходные результаты при анализе корейской популяции, в свою очередь, Eichholzer M. и соавт. получили противоположные результаты при исследовании выборки жителей Германии [5, 9, 10]. Исследований полиморфных вариантов генов *CYP1A1* и *CYP1A2* с развитием КРР в русской популяции не проводилось.

Целью данного исследования стало изучение ассоциации полиморфизмов I462V гена *CYP1A1* и -9-154C>A гена *CYP1A2* с риском развития КРР у русских жителей Центральной России.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужили образцы ДНК популяционной выборки русских жителей, проживающих в Курской области. В исследование было вовлечено 262 больных злокачественными новообразованиями толстой кишки, находившихся на стационарном лечении в Областном клиническом онкологическом диспансере г. Курска в период 2013–2016 гг. Группу сравнения составил 281 практически здоровый доброволец. Пациенты включались в исследуемую группу после верификации окончательного диагноза заболевания, подтвержденного с помощью клинических и лабораторно-инструментальных методов обследования. Критерием включения индивидов в контрольную группу было отсутствие у них хронических заболеваний. Средний возраст больных составил $66,85 \pm 9,33$ года, группы контроля — $65,19 \pm 9,27$ года ($p > 0,05$).

У всех пациентов проводился забор венозной крови. Выделение геномной ДНК осуществляли из венозной

крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфизма I462V гена *CYP1A1* и полиморфизма -9-154C>A гена *CYP1A2* проводилось методом ПЦР в режиме реального времени путем дискриминации аллелей с помощью TaqMan-зондов на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad) с использованием праймеров и зондов, синтезированных компанией «Синтол» (Москва).

Для оценки ассоциаций аллелей и генотипов с риском развития рака толстой кишки использовали критерий χ^2 и отношение шансов (OR) с 95%-ным доверительным интервалом (CI). Статистическая обработка данных проводилась на персональном компьютере с использованием программных пакетов Statistica 8.0 («Stat-Soft») и MS Excel 2010.

Результаты исследования

Распределение частот генотипов исследуемого полиморфизма I462V гена *CYP1A1* и полиморфизма -9-154C>A гена *CYP1A2* соответствовало популяционному равновесию Харди–Вайнберга. Сравнительный

анализ частот аллелей и генотипов исследуемых полиморфизмов в группах больных КРР и здоровых представлен в табл. 1 и 2 соответственно.

Как видно из данных таблицы, аллель 462I был связан с повышенным риском КРР на пограничном уровне значимости ($P = 0,055$). Генотип 462II ассоциировался с повышенным риском развития КРР (OR = 1,74; 95%CI 1,02–2,97, $P = 0,04$). При этом у гетерозигот обнаружен протективный эффект относительно развития КРР ($P = 0,03$).

Представленные в табл. 2 данные показывают, что взаимосвязи полиморфизма -9-154C>A гена *CYP1A2* с развитием КРР выявлено не было.

Обсуждение

Согласно полученным нами результатам, генотип II полиморфизма I462V гена *CYP1A1* ассоциирован с повышенным риском КРР у русских жителей Центральной России.

CYP1A1 — типичный представитель семейства цитохромов P450, представляет собой фермент, участвующий

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма I462V гена *CYP1A1* у пациентов с КРР и здоровых лиц

Таблица 1

Аллели, генотипы		Больные КРР, общая группа (n = 262) n (%) ¹	Контрольная группа (n = 281) n (%) ¹	χ^2 (p) ²	OR (95% CI) ³
Аллели	I	0,950	0,922	3,70 (0,055)	1,61 (0,98-2,65)
	V	0,050	0,078		
Генотипы	II	238 (90,8)	239 (85,1)	4,25 (0,04)*	1,74 (1,02-2,97)
	IV	22 (8,4)	40 (14,2)	4,57 (0,03)*	0,55 (0,32-0,96)
	VV	2 (0,8)	2 (0,7)	0,00 (0,94)	1,07 (0,15-7,67)

Примечания.
¹ Абсолютное число и процент лиц с исследуемым генотипом;
² χ^2 и p-уровень значимости (df = 1);
³ Отношение шансов с 95% доверительными интервалами;
* Показаны статистически значимые различия между группами.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма -9-154C>A гена *CYP1A2* у пациентов с КРР и здоровых лиц

Таблица 2

Аллели, генотипы		Больные КРР, общая группа (n = 262) n (%) ¹	Контрольная группа (n = 281) n (%) ¹	χ^2 (p) ²	OR (95% CI) ³
Аллели	A	0,639	0,658	0,43 (0,51)	1,09 (0,85-1,40)
	C	0,361	0,342		
Генотипы	AA	116 (44,3)	127 (45,2)	—	—
	AC	103 (39,3)	116 (41,3)	0,22 (0,64)	0,92 (0,65-1,30)
	CC	43 (16,4)	38 (13,5)	0,89 (0,35)	1,26 (0,78-2,02)

Примечания.
¹ Абсолютное число и процент лиц с исследуемым генотипом;
² χ^2 и p-уровень значимости (df = 1);
³ Отношение шансов с 95% доверительными интервалами;
* Показаны статистически значимые различия между группами.

ший в первой фазе биотрансформации. Основными субстратами CYP1A1 являются многие канцерогены, включая алкалоиды и гетероциклические ароматические углеводороды. CYP1A1 также участвует в метаболизме гормонов (например, эстрогена, тестостерона) и некоторых лекарственных препаратов [11]. Полиморфизм Ile462Val достаточно широко исследован при различных видах рака, в том числе колоректального [5–10], однако роль этого полиморфизма остается неоднозначной и не полностью изученной, в том числе из-за низкой частоты минорного аллеля, что требует проведения исследований на больших популяционных выборках.

Результаты нашего исследования противоречат выводам, полученным при исследовании взаимосвязи полиморфизма I462V гена *CYP1A1* с КРР в популяциях жителей Техаса и Северо-Восточного региона Шотландии [6, 7]. Однако сходные с нашими результаты получены исследователями при изучении других форм рака. В частности, в корейской популяции был выявлен протективный эффект носительства аллеля 462V и гетерозиготного носительства 462IV относительно развития множественной миеломы [12]. В японской популяции носительство вариантного аллеля 462V было связано с пониженным риском развития рака легкого [13] и рака молочной железы [14]. Более того, у пациенток-носителей аллеля V были обнаружены менее «агрессивные» формы рака, небольшие размеры опухоли и низкая степень метастазирования. Примечательно, что в японской популяции, имеющей более высокую частоту аллеля V по сравнению с европейскими популяциями, отмечается гораздо более низкий уровень заболеваемости раком молочной железы, что частично может быть объяснимо его протективным эффектом относительно риска развития онкопатологии [14]. Однако и в европейских популяциях (в частности, французской) был обнаружен протективный эффект аллеля 462V относительно развития рака молочной железы [15]. Полученные нами результаты также согласуются с работой M.L. Cotea и соавт., выполненной на многочисленной выборке европейцев и афроамериканцев, в которой был показан выраженный протективный эффект генотипа 462IV относительно риска развития рака легкого даже после статистических поправок на пол, возраст постановки диагноза, стаж курения и наследственную отягощенность [16].

Полученные нами результаты сложно интерпретировать с позиций функциональных исследований. Замена А на G в 7 экзоне гена приводит к замене изолейцина к валин в структуре соответствующего фермента (Ile462Val). В результате замены функциональная активность фермента увеличивается, и, таким образом, более эффективно осуществляются процессы активации ксенобиотиков в первой фазе биотрансформации. Активация ксенобиотиков делает их реагентоспособным в отношении молекулы ДНК, что во многом определяет их канцерогенный эффект. Поэтому синтезированные в первой фазе биотрансформации промежуточные про-

дукты потенциально могут быть вовлечены в канцерогенез [11]. С другой стороны, у носителей функционально более активного аллеля V более эффективно осуществляется процесс активации и биотрансформации ксенобиотиков, которые сами по себе обладают канцерогенными свойствами [17]. Возможно, более интенсивные процессы активации, и, соответственно, элиминации, потенциально канцерогенных ксенобиотиков — более эффективный «инструмент» защиты от КРР.

Выводы

Проведенное исследование показало, что аллель 462I и генотип 462II гена *CYP1A1* связаны с повышенным риском развития КРР у русских жителей Центральной России. Полученные нами результаты требуют подтверждающих исследований в других популяциях, а также функциональных исследований, включая исследования экспрессионного профиля гена и эпигенетический анализ. Функциональные исследования помогли бы гораздо лучше понять механизмы регуляции экспрессии гена *CYP1A1*, оценить функциональные эффекты полиморфизма I462V и его вовлеченность в патогенез колоректального рака. Кроме того, требуются дальнейшие исследования более широкого спектра полиморфных вариантов генов биотрансформации ксенобиотиков, поскольку развитие заболевания является результатом рассогласованности в работе большого количества ферментов и не может быть объяснено исследованиями только одного из них.

Список литературы

1. Белялова НС, Белялов ФИ. Факторы риска и профилактика рака. Часть 1. // Клиническая медицина. 2005;(11):17-21.
2. Барсуков ЮА. Колоректальный рак. // Проблемы клинической медицины. 2006;(2):6.
3. Gil J, Gaj P, Misiak B et al. CYP1A1 Ile462Val polymorphism and colorectal cancer risk in Polish patients. // Medical Oncology. 2014;31(7):1-5.
4. Khan N, Afaq F, Mukhtar H. Lifestyle as risk factor for cancer: Evidence from human studies. // Cancer letters. 2010;293(2):133-143.
5. Landi S, Gemignani F, Moreno V et al. A comprehensive analysis of phase I and phase II metabolism gene polymorphisms and risk of colorectal cancer. // Pharmacogenetics and genomics. 2005;15(8):535-546.
6. Pande M, Amos CI, Osterwisch DR et al. Genetic variation in genes for the xenobiotic-metabolizing enzymes CYP1A1, EPHX1, GSTM1, GSTT1, and GSTP1 and susceptibility to colorectal cancer in Lynch syndrome. // Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention. 2008;17(9):2393-2401.
7. Little J, Sharp L, Masson LF et al. Colorectal cancer and genetic polymorphisms of CYP1A1, GSTM1 and GSTT1: A case-control study in the Grampian region of Scotland. // International journal of cancer. 2006;119(9):2155-2164.
8. Slattery ML, Samowitz W, Ma K et al. CYP1A1, cigarette smoking, and colon and rectal cancer. // American Journal of Epidemiology. 2004;160(9):842-852.

9. Bae SY, Choi SK, Kim KR et al. Effects of genetic polymorphisms of MDR1, FMO3 and CYP1A2 on susceptibility to colorectal cancer in Koreans. // *Cancer science*. 2006;97(8): 774-779.

10. Eichholzer M, Rohrmann S, Barbir A et al. Polymorphisms in heterocyclic aromatic amines metabolism-related genes are associated with colorectal adenoma risk. // *Int J Mol Epidemiol Genet*. 2012;3(2):96-106.

11. Akiyama TE, Gonzalez FJ. Regulation of P450 genes by liver-enriched transcription factors and nuclear receptors. // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2003;1619(3):223-234.

12. Kang SH, Kim TY, Kim HY et al. Protective role of CYP1A1* 2A in the development of multiple myeloma. // *Acta haematologica*. 2008;119(1):60-64.

13. Nakachi K, Imai K, Hayashi SI et al. Polymorphisms of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes associated with susceptibility to lung cancer in relation to cigarette dose in a Japanese population. // *Cancer Research*. 1993;53(13):2994-2999.

14. Miyoshi Y, Takahashi Y, Egawa C et al. Breast cancer risk associated with CYP1A1 genetic polymorphisms in Japanese women. // *The breast journal*. 2002;8(4):209-215.

15. Krajcinovic MPCHSCADD, Ghadirian P, Richer C et al. Genetic susceptibility to breast cancer in French-Canadians: Role of carcinogen-metabolizing enzymes and gene-environment interactions. // *International journal of cancer*. 2001;92(2):220-225.

16. Cote ML, Wenzlaff AS, Bock CH et al. Combinations of cytochrome P-450 genotypes and risk of early-onset lung cancer in Caucasians and African Americans: a population-based study. // *Lung Cancer*. 2007;55(3):255-262.

17. Ляхович ВВ, Вавилин ВА, Гуткина НИ и др. Гены и ферменты системы метаболизма ксенобиотиков в онкопатологии. // *Вопросы медицинской химии*. 1997;43(5):330-338.

References

1. Belyalova NS, Belyalov FI. Faktory riska i profilaktika raka. Chast' 1. *Klinicheskaya meditsina*. 2005;(11):17-21.

2. Barsukov YuA. Kolorektal'nyy rak. *Problemy klinicheskoy meditsiny*. 2006;(2):6.

3. Gil J, Gaj P, Misiak B et al. CYP1A1 Ile462Val polymorphism and colorectal cancer risk in Polish patients. // *Medical Oncology*. 2014;31(7):1-5.

4. Khan N, Afaq F, Mukhtar H. Lifestyle as risk factor for cancer: Evidence from human studies. // *Cancer letters*. 2010;293(2):133-143.

5. Landi S, Gemignani F, Moreno V et al. A comprehensive analysis of phase I and phase II metabolism gene polymorphisms and

risk of colorectal cancer. // *Pharmacogenetics and genomics*. 2005;15(8):535-546.

6. Pande M, Amos CI, Osterwisch DR et al. Genetic variation in genes for the xenobiotic-metabolizing enzymes CYP1A1, EPHX1, GSTM1, GSTT1, and GSTP1 and susceptibility to colorectal cancer in Lynch syndrome. // *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2008;17(9):2393-2401.

7. Little J, Sharp L, Masson LF et al. Colorectal cancer and genetic polymorphisms of CYP1A1, GSTM1 and GSTT1: A case-control study in the Grampian region of Scotland. // *International journal of cancer*. 2006;119(9):2155-2164.

8. Slattery ML, Samowitz W, Ma K et al. CYP1A1, cigarette smoking, and colon and rectal cancer. // *American Journal of Epidemiology*. 2004;160(9):842-852.

9. Bae SY, Choi SK, Kim KR et al. Effects of genetic polymorphisms of MDR1, FMO3 and CYP1A2 on susceptibility to colorectal cancer in Koreans. // *Cancer science*. 2006;97(8): 774-779.

10. Eichholzer M, Rohrmann S, Barbir A et al. Polymorphisms in heterocyclic aromatic amines metabolism-related genes are associated with colorectal adenoma risk. // *Int J Mol Epidemiol Genet*. 2012;3(2):96-106.

11. Akiyama TE, Gonzalez FJ. Regulation of P450 genes by liver-enriched transcription factors and nuclear receptors. // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2003;1619(3):223-234.

12. Kang SH, Kim TY, Kim HY et al. Protective role of CYP1A1* 2A in the development of multiple myeloma. // *Acta haematologica*. 2008;119(1):60-64.

13. Nakachi K, Imai K, Hayashi SI et al. Polymorphisms of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes associated with susceptibility to lung cancer in relation to cigarette dose in a Japanese population. // *Cancer Research*. 1993;53(13):2994-2999.

14. Miyoshi Y, Takahashi Y, Egawa C et al. Breast cancer risk associated with CYP1A1 genetic polymorphisms in Japanese women. // *The breast journal*. 2002;8(4):209-215.

15. Krajcinovic MPCHSCADD, Ghadirian P, Richer C et al. Genetic susceptibility to breast cancer in French-Canadians: Role of carcinogen-metabolizing enzymes and gene-environment interactions. // *International journal of cancer*. 2001;92(2):220-225.

16. Cote ML, Wenzlaff AS, Bock CH et al. Combinations of cytochrome P-450 genotypes and risk of early-onset lung cancer in Caucasians and African Americans: a population-based study. // *Lung Cancer*. 2007;55(3):255-262.

17. Lyakhovich VV, Vavilin VA, Gutkina NI i dr. Geny i fermenty sistemy metabolizma ksenobiotikov v onkopatologii. *Voprosy meditsinskoy khimii*. 1997;43(5):330-338.