

DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-162-2-45-49

УДК 575.224.22:616–006.04

## Полиморфизм гена опухолевого супрессора *tp53* среди здоровых доноров и больных раком прямой кишки

Волков А. Н.<sup>1</sup>, Падюкова А. Д.<sup>1</sup>, Зинчук П. В.<sup>1</sup>, Кутихин А. Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, 650056, Кемерово, Россия

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», 650002, Кемерово, Россия

### Polymorphism of tumor suppressor gene *tp53* among healthy donors and patients with rectal cancer

A. N. Volkov<sup>1</sup>, A. D. Padukova<sup>1</sup>, P. V. Zinchuk<sup>1</sup>, A. G. Kutikhin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Kemerovo State Medical University, 650056, Kemerovo, Russia

<sup>2</sup> Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, 650002, Kemerovo, Russia

**Для цитирования:** Волков А. Н., Падюкова А. Д., Зинчук П. В., Кутихин А. Г. Полиморфизм гена опухолевого супрессора *tp53* среди здоровых доноров и больных раком прямой кишки. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2019;162(2): 45–49. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-162-2-45-49

**For citation:** Volkov A. N., Padukova A. D., Zinchuk P. V., Kutikhin A. G. Polymorphism of tumor suppressor gene *tp53* among healthy donors and patients with rectal cancer. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2019;162(2): 45–49. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-162-2-45-49

**Волков Алексей Николаевич**, к.б.н., доцент кафедры биологии с основами генетики и паразитологии; с.н.с. центральной научно-исследовательской лаборатории

**Падюкова Асия Дамировна**, научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории

**Зинчук Полина Вадимовна**, студент

**Кутихин Антон Геннадьевич**, младший научный сотрудник лаборатории геномной медицины

Aleksey N. Volkov, PhD, assistant professor; senior researcher of Central Research Laboratory

Asiya D. Padukova, researcher of Central Research Laboratory

Polina V. Zinchuk, student

Anton G. Kutikhin, junior researcher of Laboratory for Genomic Medicine

✉ **Corresponding author:**

**Волков Алексей Николаевич**,

Volkov Aleksey N.

volkov\_alex@rambler.ru

## Резюме

**Цель исследования.** Изучить частоты генетических вариантов маркера *rs1042522* (*Arg72Pro*) гена *TP53* среди лиц без онкопатологий и больных раком прямой кишки.

**Материалы и методы.** С помощью аллель-специфической ПЦР проводили генотипирование маркера *rs1042522* с последующим сопоставлением частот аллелей и генотипов в двух группах обследованных: группе сравнения ( $n=119$ ) и группе больных раком прямой кишки ( $n=105$ ).

**Результаты.** Доля минорного аллеля Pro с предполагаемым патологическим эффектом в группе сравнения составила 26,9%, а среди больных раком прямой кишки — 26,7%. Частота генотипа Pro/Pro в двух группах — 6,7% и 5,7% соответственно. Отличия показателей не были статистически достоверными.

**Заключение.** На основании полученных данных можно заключить, что сами по себе отдельные аллельные и генотипические варианты маркера *rs1042522* (*Arg72Pro*) гена *TP53* не сопряжены с повышенным риском возникновения рака прямой кишки. Опираясь на данные литературы, можно допустить этиологическое значение данного полиморфизма в сочетании с иными генетическими и негенетическими факторами, что требует дальнейшего исследования.

**Ключевые слова:** рак прямой кишки, *TP53*, *rs1042522*, *Arg72Pro*

## Summary

**The aim** was to investigate the prevalence of genetic variants of marker *rs1042522* (Arg72Pro) of *TP53* among individuals without cancer and patients with colon cancer.

**Materials and methods.** Using allele specific PCR we performed genotyping of *rs1042522* marker with subsequent comparing of alleles and genotypes frequencies in two studied groups: the comparison group (n=119) and the group of patients with rectal cancer (n=105).

**Results.** Proportion of the minor allele Pro with the expected pathological effect in the comparison group was 26,9%, and among patients with rectal cancer — 26,7%. The frequency of the Pro/Pro genotype in the two groups was 6,7% and 5,7%, respectively. The distinction in indicators was not statistically significant.

**Keywords:** rectal cancer, *TP53*, *rs1042522*, *Arg72Pro*

В числе перспективных кандидатных генов, способных раскрыть механизм канцерогенеза, часто рассматривается ген опухолевого супрессора *TP53* (OMIM \*191170), продуктом которого является многофункциональный белок p53. Образование p53 является универсальной клеточной реакцией на стресс, призванной скорректировать работу ряда таргетных генов, которые в свою очередь индуцируют остановку клеточного цикла, старение и апоптоз, репарацию ДНК или изменение метаболизма клетки [1, 2]. Ключевая роль p53 в противодействии малигнизации клеток стала основным аргументом в пользу создания первого коммерческого генотерапевтического препарата именно на основе синтетической последовательности *TP53* [3].

Соматические мутации *TP53* встречаются практически во всех типах опухолей с частотой от 5% до 40% и более. Так, при изучении спорадического колоректального рака в геноме клеток из 43,2% образцов опухоли обнаруживались такие мутации [4]. С другой стороны, некоторые герминальные мутации *TP53* ассоциированы с наследственными

формами рака с манифестацией в раннем возрасте [5]. В связи с этим большой научно-практический интерес представляет изучение отдельных генетических вариантов *TP53* как предикторов повышенного риска различных онкозаболеваний.

Одним из наиболее хорошо изученных является полиморфизм 72-го кодона *TP53* (*rs1042522*), связанный с аминокислотной заменой Arg72Pro в зрелом белке p53. Высокая частота минорного аллеля и значительный уровень гетерозиготности в большинстве популяций позволяет рассматривать генетические варианты *rs1042522* в качестве потенциальных маркеров предрасположенности к распространенным формам рака. Вместе с тем, проведенные к настоящему времени исследования не дают однозначного ответа на вопрос о значении данного полиморфизма в этиологии онкозаболеваний, в частности, рака прямой кишки (РПК) [6–8].

Цель исследования – изучение частоты генетических вариантов маркера *rs1042522* гена *TP53* среди лиц без онкопатологий и больных раком прямой кишки.

## Материалы и методы

В ходе исследования были сформированы две выборки из жителей Кемеровской области, преимущественно русской этнической принадлежности. Группа сравнения (n=119) включала мужчин и женщин, не имеющих признаков онкопатологий. Средний возраст обследованных составил 60,9±0,65 года при варьировании показателя в пределах 45–74 года (таб. 1).

Клиническая когорта включала лиц обоих полов с диагностированным раком прямой кишки (n=105), средний возраст которых составил 62,1±0,81 года и варьировал в пределах 44–75 лет. Все представители данной группы находились на учете и проходили лечение в ГБУЗ «Областной клинический онкологический диспансер» г. Кемерово.

Источником ДНК послужили образцы цельной венозной крови обследованных с ЭДТА в качестве антикоагулянта. Выделение ДНК осуществляли термокоагуляционным методом с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь» производства НПФ «Литех». Для исследования маркера *rs1042522*, локализованного в гене *TP53*, проводили амплификацию соответ-

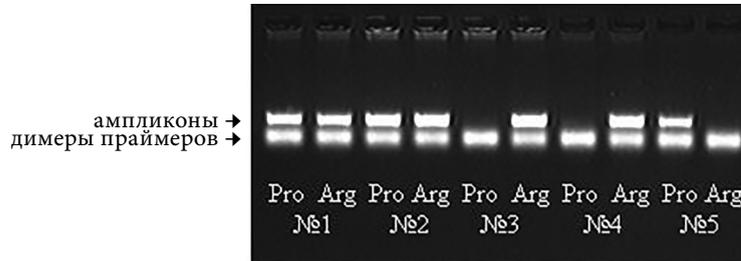
ствующих участков генома методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции с последующей детекцией ампликонов в 3% агарозном геле. В работе использованы тест-системы формата «SNP-экспресс», разработанные в НПФ «Литех» (рис. 1).

В ходе статистического анализа рассчитывались частоты генотипов и аллелей по изучаемому маркеру в двух группах обследованных. Сравнение показателей осуществляли с помощью теста  $\chi^2$  для четырехпольных таблиц использованием программы «Statistica, v.6.0». Достоверным считали отличия, достигающие уровня  $p < 0,05$ . Вычисление отношения шансов (odds ratio, OR) проводили по формуле  $OR = (a/b)/(c/d)$ , где a – количество обследованных из клинической группы, имеющих изучаемый аллель или генотип; b – количество обследованных из клинической группы без данного аллеля или генотипа; c – количество здоровых обследованных, имеющих изучаемый аллель или генотип; d – количество здоровых обследованных без данного аллеля или генотипа. Для каждого значения отношения шансов определяли 95% доверительный интервал (95% CI) [9].

| Группы              |         | Количество человек | Возраст (лет),<br>M ± S.E. | Возрастной<br>диапазон (лет) |
|---------------------|---------|--------------------|----------------------------|------------------------------|
| группа<br>сравнения | мужчины | 55                 | 61,9 ± 0,98                | 46–74                        |
|                     | женщины | 64                 | 60,0 ± 0,86                | 45–73                        |
| РПК                 | мужчины | 59                 | 63,9 ± 1,04                | 45–75                        |
|                     | женщины | 46                 | 59,7 ± 1,19                | 44–74                        |

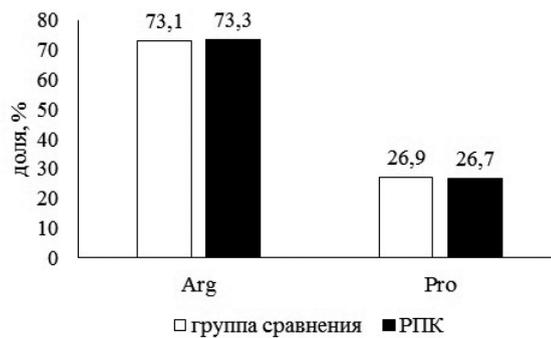
**Таблица 1.**  
Характеристика групп  
обследованных

**Примечания:**  
РПК – рак прямой кишки; M –  
среднее арифметическое значе-  
ние; S.E. – стандартная ошибка  
среднего арифметического



**Рисунок 1.**  
Электрофоретическая де-  
текция продуктов ПЦР при  
генотипировании полимор-  
фного маркера *rs1042522*

**Примечания:**  
№ 1, № 2 – генотип Arg/Pro;  
№ 3, № 4 – генотип Arg/Arg;  
№ 5 – генотип Pro/Pro



**Рисунок 2.**  
Соотношение аллелей поли-  
морфного маркера *rs1042522*  
в двух группах обследо-  
ванных

| Этнос            | Группа сравнения        |         |         | Онкобольные             |         |         | Источник           |
|------------------|-------------------------|---------|---------|-------------------------|---------|---------|--------------------|
|                  | Генотипы <i>TP53</i> ,% |         |         | Генотипы <i>TP53</i> ,% |         |         |                    |
|                  | Arg/Arg                 | Arg/Pro | Pro/Pro | Arg/Arg                 | Arg/Pro | Pro/Pro |                    |
| Русские          | 52,9                    | 40,3    | 6,7     | 52,4                    | 41,9    | 5,7     | Собственные данные |
| Венгры           | 63,9                    | 29,9    | 6,2     | 64,7                    | 31,4    | 3,9     | [10]               |
| Европеоиды (США) | 55,1                    | 38,8    | 6,1     | 51,6                    | 42,1    | 6,3     | [7]                |
| Корейцы          | 43,2                    | 45,6    | 11,2    | 40,5                    | 46,1    | 13,3*   | [8]                |
| Малайцы          | 37                      | 50      | 13      | 35                      | 44      | 21*     | [6]                |

**Таблица 2**  
Частоты генотипических  
вариантов полиморфного  
маркера *rs1042522* (Arg72Pro)  
гена *TP53* в различных эт-  
нических группах с учетом  
нозологии

**Примечание.**  
\* – частота генотипа досто-  
верно отличалась в сравни-  
ваемых группах

## Результаты исследования и их обсуждение

Соотношение аллелей полиморфного маркера *rs1042522* гена *TP53* практически совпадало в двух рассматриваемых когортах. Так, доля минорного аллеля Pro в группе сравнения составила 26,9%, а среди обследованных с РПК – 26,7% ( $\chi^2 < 0,01$ ;  $p = 0,96$ ). Величина отношения шансов при наличии более редкого мутантного аллеля составила 0,99 (95%CI: 0,65–1,50) (рис. 2).

Наиболее распространенным генотипическим вариантом *rs1042522* в двух группах обследо-  
ванных был вариант Arg/Arg (таб. 2). В группе  
сравнения и среди больных раком прямой кишки  
его доля составила 52,9% и 52,4% соответственно

( $\chi^2 = 0,01$ ;  $p = 0,93$ ). Отношение шансов для данного  
генотипа составило 0,98 (95%CI: 0,58–1,65). Доля  
гетерозиготного генотипа Arg/Pro в клиниче-  
ской выборке (41,9%) незначительно превышала  
контрольное значение (40,3%) ( $\chi^2 = 0,06$ ;  $p = 0,81$ ).  
Данный генотип не был ассоциирован с высоким  
риском РПК (OR=1,07; 95%CI: 0,63–1,82). Частота  
генотипа Pro/Pro среди здоровых доноров и он-  
кобольных составляла 6,7% и 5,7% соответствен-  
но ( $\chi^2 < 0,01$ ;  $p = 0,97$ ). Наличие генотипа Pro/Pro  
не являлось показателем повышенного риска  
развития рака прямой кишки (OR=0,84; 95%CI:  
0,28–2,512).

Сравнительный анализ собственных результатов и ранее проведенных исследований показал, что этиологическая роль полиморфизма *rs1042522* гена *TP53* в онкогенезе до сих пор нельзя считать однозначной (таб. 2). Имеются данные о информативности рассматриваемого маркера при оценке риска возникновения колоректального рака, также как и противоположные точки зрения.

Csejtei et al. (2008) не установили статистически значимого отличия частот генотипов *rs1042522* у пациентов с колоректальным раком по сравнению со здоровыми донорами. Однако при изучении совместного влияния вариантов *TP53* и гена *GSTM1* были установлены иные закономерности. В частности, нулевой генотип *GSTM1* в комплексе с генотипами Arg/Pro или Pro/Pro гена *TP53* достоверно снижал шанс на выживание пациента с диагностированным раком, тогда как носительство сочетания *GSTM1+* и Arg/Arg было связано с более благоприятным прогнозом [10].

В работе Koushik et al. (2006) было продемонстрировано, что статистический результат исследования определяется способом стратификации исходной общей выборки пациентов с колоректальным раком. При анализе обобщенных данных не было установлено достоверной ассоциации между генотипическими вариантами *TP53* и риском онкопатологии. Вместе с тем, наличие генотипов с аллелем Pro было связано с повышенным риском рака проксимальной части толстой кишки у женщин (OR=2,59; 95%CI: 1,49–4,52). Среди мужчин эти генотипы были ассоциированы с риском рака дистальной части толстой кишки (OR=2,09; 95%CI: 1,28–3,40) [7].

Как было установлено при сопоставлении когорт здоровых и онкобольных жителей Южной Кореи

наличие генотипа Pro/Pro сопряжено с достоверно повышенным риском развития колоректального рака (OR=1,34; CI: 1,06–1,69). При этом величина отношения шансов зависела от стадии патологического процесса и локализации опухоли. Так, при рассмотрении только случаев с поражением прямой кишки величина отношения шансов даже несколько повышалась (OR=1,39; 95%CI: 1,06–1,82) [8].

По данным Aizat et al. (2011), проводивших исследование среди малайцев, частота генотипа Pro/Pro достоверно возрастает среди пациентов с колоректальным раком (до 21% против 13% в контроле), что сопряжено с достоверно повышенным риском развития патологии (OR=2,047; 95%CI: 1,063–4,044). Отмечено, что лица старше 50 лет при наличии генотипа Pro/Pro характеризуются еще более высоким риском возникновения колоректального рака [6].

Известно, что на характер проявления конкретного генетического полиморфизма могут влиять факторы, ассоциированные с этнической принадлежностью: специфическое сочетание прочих генетических компонентов, экологические условия, гастрономические предпочтения, социальные факторы, включая уровень развития здравоохранения на данной территории, и др. [11, 12]. В такой ситуации генетический маркер, клинически значимый для одной популяции, может оказаться неинформативным в другой. Лишь в случае, если этиологический вклад данного генетического фактора существенно «перевешивает» другие, он может оказаться значимым вне зависимости от типа выборки. По-видимому, вариабельность маркера *rs1042522* сама по себе не является достаточным фактором, определяющим риск возникновения рака прямой кишки.

## Заключение

На основании полученных данных можно заключить, что сами по себе отдельные аллельные и генотипические варианты маркера *rs1042522* (Arg72Pro) гена *TP53* не сопряжены с повышенным риском возникновения рака прямой кишки.

Опираясь на данные литературы, можно допустить этиологическое значение данного полиморфизма в сочетании с иными генетическими и негенетическими факторами, что требует дальнейшего исследования.

## Литература | References

1. Копнин Б.П., Копнин П.Б., Хромова Н.В., Агапова Л.С. Многоликий p53: разнообразие форм, функций, опухольсупрессирующих и онкогенных активностей. Клиническая онкогематология. 2008; 1(1): 2–9.  
*Kopnin B. P., Kopnin P. B., Khromova N. V., Agapova L. S. Multifaced p53: variety of forms, functions, tumor-suppressive and oncogenic activities. Clinical oncohematology. 2008; 1(1): 2–9.*
2. Horn H.F., Vousden K.H. Coping with stress: multiple ways to activate p53. *Oncogene*, 2007, vol. 26, no. 9, pp. 1306–1316.
3. Wilson J.M. Gendicine: the first commercial gene therapy product. *Hum Gene Ther.*, 2005, vol. 16, pp. 1014–1015.
4. Olivier M., Hollstein M., Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, 2010, vol. 2, pp. 1–17.
5. Любченко Л.Н., Семьянихина А.В., Фу Р.Г., Прозоренко Е.В. и др. Синдром Ли-Фраумени: TP53-ассоциированные первично-множественные злокачественные опухоли. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2012; 23(2): 52–58.  
*Lyubchenko L. N., Semyanikhina A. V., Fu R. G., Prozorenko E. V. et al. Li-Fraumeni syndrome: TP53-associated multiple primary malignant tumors. Journal of N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS. 2012; 23(2): 52–58.*

6. *Aizat A.A., Shahpudin S.N., Mustapha M.A., Zakaria Z. et al.* Association of Arg72Pro of P53 polymorphism with colorectal cancer susceptibility risk in Malaysian population. *Asian Pacific J Cancer Prev.*, 2011, vol. 12, pp. 2909–2913.
7. *Koushik A., Tranah G.J., Ma J., Stampfer M.J. et al.* P53 Arg72Pro polymorphism and risk of colorectal adenoma and cancer. *Int. J. Cancer*, 2006, vol. 119, pp. 1863–1868.
8. *Song H., Kweon S., Kim H.N.* P53 codon 72 polymorphism in patients with gastric and colorectal cancer in a Korean population. *Gastric Cancer*, 2011, vol. 14, pp. 242–247.
9. *Bland J.M., Altman D.G.* Statistics notes: The odds ratio. *B.M.J.*, 2000, vol. 320, p. 1468.
10. *Csejtei A., Tibold A., Varga Z.* GSTM, GSTT and p53 polymorphisms as modifiers of clinical outcome in colorectal cancer. *Anticancer Research*, 2008, vol. 28, pp. 1917–1922.
11. *Степанов В. А.* Геномы, популяции, болезни: этническая геномика и персонализированная медицина. *Acta Naturae*. 2010; 2(4): 19–34.  
*Stepanov V.A.* Genoms, populations, diseases: ethnogenomics and personify medicine. *Acta Naturae*. 2010; 2(4): 15–30.
12. *Brevik A., Amit D., Onland-Moret N.* Polymorphisms in base excision repair genes as colorectal cancer risk factors and modifiers of the effect of diets high in red meat. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 2010, vol. 19, pp. 3167–3173.