

Б. С. НАБИЕВА^{1,2}, Г. С. ЖҮНІСОВА^{1,2}, Б. Б. ЖҮНІСБЕКОВА^{1,2}, О. А. ИКСАН²,
О. Б. МУХАМБЕТОВ^{1,2}, Б. О. БЕКМАНОВ^{1,2}, Э. М. ХУСАИНОВА², Л. Б. ЖАНСУГІРОВА^{1,2}

¹ Өл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан,

² ҚР БҒМ ҒК «Жалпы генетика және цитология институты» Алматы, Қазақстан)

КОЛОРЕКТАЛЬДЫ ІСІК АУРУЫНЫҢ ДАМУЫНДА *TP53 (arg⁷²pro)* ГЕНІНІҢ РӨЛІ

Аннотация. Бұл жұмыста ісік супрессоры болып табылатын *TP53* генінің *arg72pro* полиморфизмі мен колоректальды ісік ауруының дамуы арасындағы байланыс зерттелді. Нәтижесінде *TP53* генінің *pro/pro* генотипінің салыстырмалы қалып көрсеткіші OR = 3,80 (CI95%: 2,46–5,88); *arg/pro* генотипінде OR = 1,01 (CI95%: 0,78–1,59); *arg/arg* генотипінде OR = 0,23 (CI95%: 0,15–0,36) тең болатындығы анықталды. Осыдан *TP53* генінің *pro/pro* генотипінің колоректальды ісік ауруының дамуында айтарлықтай маңызы бар деп тұжырымдауға болады.

Тірек сөздер: колоректальды ісік, ген, *TP53*, полиморфизм.

Ключевые слова: колоректальный рак, ген, *TP53*, полиморфизм.

Keywords: colorectal cancer, genes, *TP53*, polymorphism.

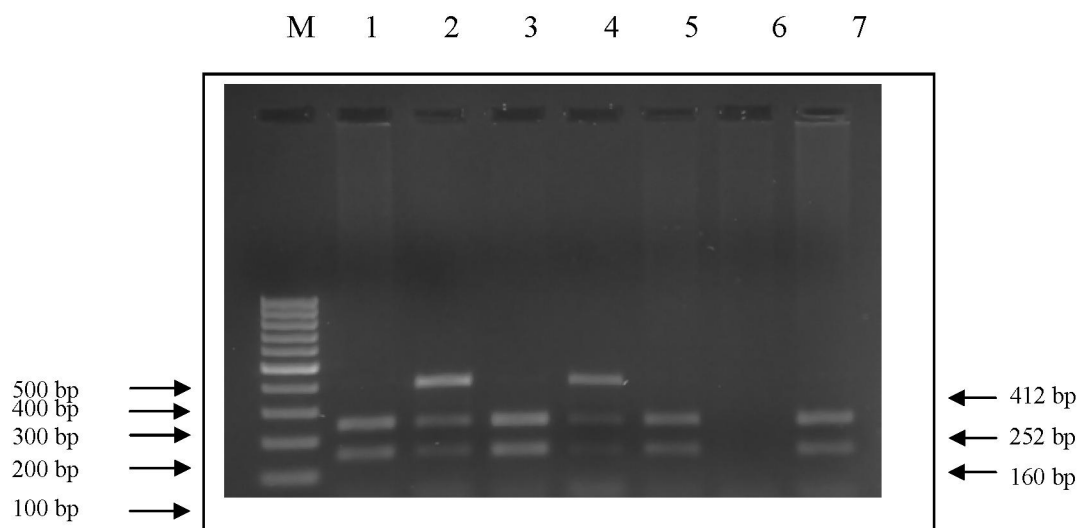
Әлемде жыл сайын колоректальды ісік ауруымен ауыратын шамамен 1 миллион 200 мыңнан астам адам тіркеледі және де оның 700-ден астамы летальды жағдайға ұшырайды [1]. Колоректальды ісік ауруының пайда болу жиілігі адамдардың географиялық орналасуына және этникалық ерекшеліктеріне байланысты әр елде әртүрлі жағдайда болады. Мысалы, Еуропа, АҚШ және Жапония елдерімен салыстырғанда Оңтүстік-Шығыс Азия елдерінде колоректальды ісік ауруының дамуы 10-20 есеге көп. Бірақ та соңғы жылдары Жапонияда аурудың туындау жиілігі ерлер арасында екі есеге, әйелдер арасында бір жарым есеге, ал Кореяда әйелдер және ерлер арасында екі есеге дейін өскендігі туралы мәліметтер тіркелді [1, 2]. ТМД елдері арасында Қазақстан колоректальды ісік ауруының көрсеткіші бойынша жетінші орынды алады [3]. Көпшілік жағдайда ауру 3-4 кезеңмен сипатталып, ары қарай емдеу қиынға соғады. Колоректальды ісік ауруы көпфакторлы ауру, яғни аурудың туындауына гендердің де әсері болады. Қазіргі кезде көптеген ғылыми-зерттеу жұмыстарының арқасында аталған аурудың туындауына бірнеше гендердегі мутациялық жағдайдың әсер ететіндігі анықталды (*APC* аденоматозды полипоз гені, *k-Ras* онкогені және т.б.) [4-7]. Оның ішінде ісік супрессоры болып табылатын *TP53* (17p13.1) (rs1042522) геніндегі кейбір мутациялар да колоректальды ісік ауруының дамуында негізгі рөл атқарады [8-10]. Адам организмінде *TP53* гені геномның қалыпты жағдайына жауапты болады. ДНҚ молекуласы бұзылысқа ұшырағанда *TP53* гені белсенді жағдайға көшеді де, клетканы апоптоз процесіне әкеледі. *TP53* генінің активсізденуі клеткада мутацияның жинақталуына әкеледі және нәтижесінде онкогендер активтенеді де антионкогендер активсіз жағдайға көшеді. Соңғы кездері *TP53* генінің активсізденуі мен

колоректальды ісік ауруының арасында байланыстардың болатыны туралы мәліметтер пайда болды [11-13].

Бұл жұмыстың негізгі мақсаты *TP53* генінің *arg72pro* полиморфизмі мен колоректальды ісік ауруының дамуы арасындағы байланысты зерттеу болып табылады.

Зерттеу материалдары мен әдістері. Зерттеуге керекті материалдар Алматы қаласы қалалық онкологиялық диспансеріне емделуге келген және алғашқы зерттеулер арқылы диагнозы колоректальды ісік ауруы деп табылған 247 адамнан перифериялық қан үлгілері жиналды. Биоматериалдарды жинау алдында емделетін адамның өз еркімен қан өткізуге келісімі алынды және сәйкес сауалнама жүргізілді. Зерттеу хаттамасы С.Д. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медициналық университеті Этикалық Комитеті (Алматы, Қазақстан) арқылы мақұлданған. Бақылау ретінде аталған аурумен ауырмайтын «Жалпы генетика және цитология институты» молекулалық генетика лабораториясы базасында жинақталған сау адамдардан жиналған қан үлгілері қолданылды (241 адам).

Генотиптік талдау. Зерттеуге жиналған қан үлгілерінен геномдық ДНҚ молекуласын бөліп алу стандартты фенол-хлороформдық әдіспен және шығарушы фирма хаттамасына сай арнайы жиынтықтар арқылы жүзеге асырылды (*Thermoscientific, USA*). Бөлініп алынған ДНҚ молекуласының концентрациясы және сапасы арнайы биофотометрдің көмегімен анықталды (*BioPhotometer plus, Eppendorf, Germany*). Ары қарай геномдық ДНҚ молекуласына ПТР әдісі жүргізілді (*Mastercycler Gradient, Eppendorf, Germany*). Реакциялық қоспада 20-30 нг ДНҚ молекуласы, 12 пмоль концентрацияда праймерлер, (тура: 5'-TTC AAC TCT GTC TCC TTC C-3' және кері: 5'-CAG CCC TGT CGT CTC TCC-3') және *PCR MasterMix (Thermoscientific, USA)* жиынтығы болды. ПТР реакциясы 94°C – 3 минут, ары қарай 94°C – 15 сек., 68°C – 15 сек., 72°C – 30 сек. (бұл аралық 35 рет қайталанды), 72°C – 5 минут аралығында болды. ПТР реакциясы нәтижесінде туындаған ампликон рестриктаза (*Bsh1236I (BstUI), Thermoscientific, USA*) арқылы 60°C температурада 16 сағат аралығында өңдеуден өткізілді. Рестриктаза арқылы өңделген ампликондар 2% агарозды геледе талданды. Агарозды геледе 252 ж.н. және 160 ж.н. тұратын 2 жолақтың пайда болуы *arg/arg* генотипімен сипатталды. Ал 412 ж.н., 252 ж.н. және 160 ж.н. тұратын 3 жолақ *arg/pro* генотипін көрсетті. Егер 412 ж.н. тұратын бір жолақ болса, онда ол *pro/pro* генотипімен сипатталды (сурет).



М – маркер *GeneRuller 100 bp (ThermoScientific, USA)*; 1, 3, 5 және 7 – *TP53 arg72arg* генотипі;
2 және 4 – *TP53 pro72arg* генотипі

Колоректальды ісік ауруымен ауыратын адамдардағы *TP53 (arg72pro)* генін *Bsh1236I (BstUI)* рестриктазасымен өңдегеннен кейінгі нәтижелер

Зерттеу нәтижелерін статистикалық өңдеу. Зерттеу нәтижелері арнайы компьютерлік бағдарламалар арқылы (*Statistica 10.0*) және интернет беттеріндегі арнайы есептеу арқылы (www.gen-exp.ru және www.medstatistic.ru/calculators) өңдеулерден өткізілді.

Зерттеу нәтижелері және оларды талқылау. Ісік ауруымен ауыратын адамдарда шамамен 50% *TP53* генінде бір аллелде миссенс-мутациялар болады және келесі реттегі екінші аллелдің мутациясы аталған геннің жұмысын толық тоқтатады. *TP53* геніндегі туындайтын мутация жиілігі асқазанның инвазиялық ісігінде шамамен 76% тең [14]. Сондай-ақ *TP53* гегінің мутациясы ішектің метаплазиясында 37,5%, ал диспластикалық бұзылыста 53% тең болатыны анықталды [14].

Зерттеуге колоректальды ісік ауруымен ауыратын 248 адамнан және бақылау ретінде аталған аурумен ауырмайтын 242 адамнан жиналған қан үлгілері қолданылды. Нәтижесінде колоректальды ісік ауруымен ауыратын топтарда *TP53* генінің таралу жиілігі *arg/arg* генотипімен 14,52%, *arg/pro* генотипімен 45,56%, ал *pro/pro* генотипімен 39,92% аралығында болды. Бақылау топтарындағы таралу жиілігі *arg/arg* генотипінде 42,15%, *arg/pro* генотипінде 42,98%, ал *pro/pro* 14,88% тең болды (кесте).

Колоректальды ісік және бақылау топтарындағы салыстырмалы қалып көрсеткіштері

Генотип	Колоректальды ісік (%)	Бақылау (%)	Салыстырмалы қалып (OR)	Дәлдік шегі (CI) (95%)	χ^2	P
<i>TP53 pro/pro</i>	99 (39.92)	36 (14.88)	3.80	2.46 – 5.88	61.27	0
<i>TP53 pro/arg</i>	113 (45.56)	104 (42.98)	1.01	0.78 – 1.59		
<i>TP53 arg/arg</i>	36 (14.52)	102 (42.15)	0.23	0.15 – 0.36		

Статистикада зерттеліп жатқан генотиптің салыстырмалы қалып (OR) көрсеткішін есептеу арқылы оның қандай да болмасын аурудың дамуындағы рөлін анықтауға болады. Біздің жүргізген зерттеуде де аталған әдісті қолдану арқылы генотиптердің таралу жиілігі бақылау және зерттеу топтарында қарастырылды. Яғни, салыстырмалы қалып көрсеткіші бірден жоғары болса, онда аталған генотиптің аурудың дамуына әсері болады, ал егер де бірден төмен болса әсері болмайтындығы белгілі. Кестеден көріп тұрғанымыздай, *TP53* генінің *pro/pro* генотипінің салыстырмалы қалып көрсеткіші 3,80 шамасына тең болды (кесте). Егер де *TP53* генінің тек *pro* аллелі бойынша салыстырмалы қалып көрсеткішін есептегенде, ол OR = 2.94 (95% CI = 2.27 – 3.81), ал *arg* аллелі бойынша көрінетін жиілік OR = 0.34 (95% CI = 0.26 – 0.44) шамасына тең болды ($\chi^2 = 67.97$; p = 0). Яғни, *TP53* генінің *pro* аллелінің салыстырмалы қалып көрсеткіші жоғары болып шықты. Осыдан аталған аллелдің колоректальды ісік ауруының дамуында айтарлықтай рөлі бар екендігін көруге болады. Онан басқа көптеген зерттеушілер арқылы *TP53* генінің *pro* аллелінің басқа да ісік ауруларының дамуына әсер ететіндігі көрсетілген [15-17].

Зерттеуде алынған нәтижелер колоректальды ісік ауруының жалпы популяцияда пайда болу туралы мәліметтерді толықтыруға көмегін тигізеді.

REFERENCES

- Migliore L., Migheli F., Spisni R. et al. Genetics, cytogenetics, and epigenetics of colorectal cancer. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2011. Vol. 11. P. 19.
- Deschoolmeester V., Baay M., Specenier P. et al. A Review of the most promising biomarkers in colorectal cancer: one step closer to targeted therapy. The Oncologist. 2010. Vol. 15. P. 699-731.
- <http://yvision.kz/post/361082>
- Arends M.J. Pathways of colorectal carcinogenesis. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013. Vol. 21. P. 97-102.
- Malhotra P., Anwar M., Nanda N. et al. Alterations in *K-ras*, *APC* and *p53*-multiple genetic pathway in colorectal cancer among Indians. Tumour Biol. 2013. Vol. 34. P. 1901-1911.
- Xu X.M., Qian J.C., Cai Z. et al. DNA alterations of microsatellite DNA, *p53*, *APC* and *K-ras* in Chinese colorectal cancer patients. Eur. J. Clin. Invest. 2012. Vol. 42. P. 751-759.
- Jenkinson F., Steele R.J. Colorectal cancer screening – methodology. Surgeon. 2010. Vol. 8. P. 164-171.
- Liu Y., Qin H., Zhang Y. et al. *P53* codon 72 polymorphism and colorectal cancer: a meta-analysis of epidemiological studies. Hepatogastroenterology. 2011. Vol. 58. P. 1926-1929.
- Aizat A.A., Shahpuhin S.N., Mustapha M.A. et al. Association of *arg72pro* of *P53* polymorphism with colorectal cancer susceptibility risk in Malaysian population. Asian Pac. J. Cancer Prev. 2011. Vol. 12. P. 2909-2913.
- Economopoulos K.P., Sergentanis T.N., Zagouri F., Zografos G.C. Association between *p53 arg72pro* polymorphism and colorectal cancer risk: a meta-analysis. Onkologie. 2010. Vol. 33. P. 666-674.
- Grady W.M., Markowitz S.D. Genetic and epigenetic alterations in colon cancer. Ann. Rev. Genomics. Hum. Genet. 2002. Vol. 3. P. 101-128.
- Haydon A.M., Jass J.R. Emerging pathways in colorectal cancer development. Lancet Oncol. 2002. Vol. 3. P. 83-88.

13 Houlston R.S. What we could do now: molecular pathology of colorectal cancer. *Mol. Pathol.* 2001. Vol. 54. P. 206-214.

14 Fenoglio-Preiser C., Wang J., Stemmermann G., Noffsinger A. *TP53* and gastric carcinoma: a review. *Hum. Mutat.* 2003. Vol. 21. P. 258-270.

15 Salehi Z., Hadavi M. Analysis of the codon 72 polymorphism of *TP53* and human papillomavirus infection in Iranian patients with prostate cancer. *J. Med. Virol.* 2012. Vol. 84. P. 1423-1427.

16 Wang S., Lan X., Tan S. et al. *P53* codon 72 *arg/pro* polymorphism and lung cancer risk in Asians: an updated meta-analysis. *Tumour Biol.* 2013. Vol. 34. P. 2511-2520.

17 Hou J., Jiang Y., Tang W., Jia S. *P53* codon 72 polymorphism and breast cancer risk: A meta-analysis. *Exp. Ther. Med.* 2013. Vol. 5. P. 1397-1402.

Резюме

Б. С. Набиева^{1,2}, Г. С. Жунусова^{1,2}, Б. Б. Жунусбекова^{1,2}, О. А. Иксан^{1,2},
О. Б. Мухамбетов^{1,2}, Б. О. Бекманов^{1,2}, Э. М. Хусаинова², Л. Б. Джансугурова^{1,2}

¹Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Республика Казахстан,
²«Институт общей генетики и цитологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан)

РОЛЬ ГЕНА *TP53* (*arg*⁷²*pro*) В РАЗВИТИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

В работе рассмотрена связь между полиморфизмом гена опухолевого супрессора *TP53 arg72pro* и развитием колоректального рака. В результате определены относительные риски для генотипов *pro/pro* OR = 3,80 (CI95%: 2,46 – 5,88); *arg/pro* OR = 1,01 (CI95%: 0,78–1,59) и *arg/arg* OR = 0,23 (CI95%: 0,15–0,36). Согласно полученным данным, сделан вывод, что генотип *pro/pro* гена *TP53* может влиять на развитие колоректального рака.

Ключевые слова: колоректальный рак, ген, *TP53*, полиморфизм.

Summary

B.S. Nabyeva^{1,2}, G.S. Zhunusova^{1,2}, B.B. Zhunusbekova^{1,2}, O.A. Ixsan²,
O.B. Mukhambetov^{1,2}, B.O. Bekmanov^{1,2}, E.M. Khussainova², L.B. Djangugurova^{1,2}

¹ Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Republic of Kazakhstan,
² «Institute of General Genetics and Cytology» CS MES RK, Almaty, Republic of Kazakhstan)

THE ROLE OF *TP53* (*arg*⁷²*pro*) GENE IN DEVELOPMENT OF COLORECTAL CANCER

The paper considers the relationship between the polymorphism of tumor suppressor gene *TP53 arg72pro* and development of colorectal cancer. As a result, the relative risks identified for genotypes *pro/pro* OR = 3,80 (CI95%: 2,46–5,88); *arg/pro* OR = 1,01 (CI95%: 0,78–1,59) and *arg/arg* OR = 0,23 (CI95%: 0,15–0,36). According to the findings, it is concluded that the genotype *pro/pro* *TP53* gene may influence the development of colorectal cancer.

Key words: colorectal cancer, genes, *TP53*, polymorphism.

Поступила 20.05.2014 г.