



<https://doi.org/10.34883/PI.2023.12.3.004>

УДК 616.155.392.2+616.155.392.8]-036.11:577.152.199.2



Руденкова Т.В.¹✉, Костюк С.А.¹, Климович Н.Н.¹, Демиденко А.Н.², Суворов Д.И.³

¹ Белорусская медицинская академия последипломного образования,

Минск, Беларусь

² Республиканский научно-практический центр радиационной медицины
и экологии человека, Гомель, Беларусь

³ Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии,
Минск, Беларусь

Распространенность полиморфизмов в генах цитохрома P450 у пациентов с острым лимфобластным и острым миелобластным лейкозами

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Руденкова Т.В. – проведение исследования, анализ данных, написание текста; Костюк С.А. – редактирование текста; Климович Н.Н. – сбор материала, анализ данных, написание и редактирование текста; Демиденко А.Н. – сбор материала, анализ данных, написание текста; Суворов Д.И. – сбор материала, анализ данных, написание текста.

Подана: 28.03.2023

Принята: 12.09.2023

Контакты: t.rudenkova@mail.ru

Резюме

Цель. Установить распространенность полиморфизмов в генах цитохрома P450 (CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6) у пациентов с острым лимфобластным и острым миелобластным лейкозами.

Материалы и методы. Обследовано 106 пациентов (дети), страдающих острым лимфобластным лейкозом, и 49 пациентов (взрослые), страдающих острым миелобластным лейкозом. Из клеток периферической крови пациентов выделяли ДНК, после амплификации фрагментов генов CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6 проводили рестрикцию полученных ампликонов и электрофоретический анализ фрагментов.

Результаты. При идентификации полиморфных вариантов гена CYP1A1 (A4889G и T6235C) и гена CYP2E1 (T7632A, G1293C и C1053T) установлено, что у пациентов обследованных групп доминирующими были аллели дикого типа. В ходе изучения полиморфизмов в гене CYP2D6 (A2549del, G1846A и C100T) было выявлено увеличение распространенности гетерозиготных и мутантных аллелей. При изучении полиморфизма A2549del в гене CYP2D6 установлено, что среди пациентов с острым лимфобластным лейкозом преобладали носители аллеля дикого типа AA (83,02%), в то время как среди пациентов с острым миелобластным лейкозом аллель дикого типа был выявлен только в 48,98% случаев. Для полиморфизма G1846A в гене CYP2D6 было установлено преимущественное распространение дикого (59,18% – 64,15%) и гетерозиготного (30,19% – 38,78%) аллелей. Нарушение структуры гена CYP2D6 в области отжига праймеров для идентификации полиморфизма C100T было выявлено в 13 образцах. В остальных успешно амплифицированных образцах (n=142) была установлена распространенность дикого CC (50,00% – 53,06%) и гетерозиготного

СТ (25,51% – 29,55%) аллелей, а также выявлена высокая частота присутствия мутантного аллеля ТТ (25,51% – 29,55%).

Заключение. У пациентов с острым лимфобластным и острым миелобластным лейкозами частота выявления гетерозиготных и мутантных аллелей достоверно выше в гене CYP2D6. В генах CYP1A1 и CYP2E1 у данных пациентов доминирующими являются аллели дикого типа.

Ключевые слова: гены цитохрома P450, CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6, полиморфизм, острый лимфобластный лейкоз, острый миелобластный лейкоз

Tatiana V. Rudenkova¹✉, Svetlana A. Kostiuk¹, Natalia N. Klimkovich¹,
Alla N. Demidenko², Dmitry I. Suvorov³

¹ Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus

² Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Belarus

³ Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Belarus

The Prevalence of Polymorphisms in the Cytochrome P450 Genes in Patients with Acute Lymphoblastic and Acute Myeloid Leukemia

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Tatiana V. Rudenkova – perform of the research, data analysis, text writing; Svetlana A. Kostiuk – text editing; Natalia N. Klimkovich – collection of material, data analysis, writing and editing of the text; Alla N. Demidenko – collection of material, data analysis, writing of the text; Dmitry I. Suvorov – collection of material, data analysis, writing of the text.

Submitted: 28.03.2023

Accepted: 12.09.2023

Contacts: t.rudenkova@mail.ru

Abstract

Purpose. To establish the prevalence of polymorphisms in the cytochrome P450 genes (CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6) in patients with acute lymphoblastic and acute myeloid leukemia.

Materials and methods. 106 patients (children) suffering from acute lymphoblastic leukemia and 49 patients (adults) suffering from acute myeloid leukemia were examined. DNA was isolated from the patients' peripheral blood cells, after amplification of the CYP1A1, CYP2E1 and CYP2D6 gene fragments, the resulting amplicons were restricted and the fragments were analyzed by electrophoresis.

Results. During polymorphic variants of the CYP1A1 gene (A4889G and T6235C) and the CYP2E1 gene (T7632A, G1293C and C1053T) identification, it was found that wild-type alleles were dominant in the patients of the examined groups. During the study of polymorphisms in the CYP2D6 gene (A2549del, G1846A and C100T), an increase in the prevalence of heterozygous and mutant alleles was revealed. In the course of studying the A2549del polymorphism in the CYP2D6 gene, it was found that carriers of the wild type AA allele prevailed among patients with acute lymphoblastic leukemia (83.02%), while



among patients with acute myeloid leukemia, the wild type allele was detected only in 48.98% of cases. For the G1846A polymorphism in the CYP2D6 gene, the predominant distribution of wild (59.18% – 64.15%) and heterozygous (30.19% – 38.78%) alleles were established. Violations of the CYP2D6 gene structure in the region of primer annealing for the identification of C100T polymorphism were detected in 13 samples. In the remaining successfully amplified samples (n=142), the C100T polymorphism was determined, for which the prevalence of wild (50.00% – 53.06%) and heterozygous (25.51% – 29.55%) alleles were established, as well as a high frequency of the presence of the TT mutant allele was revealed (25.51% – 29.55%).

Conclusion. In patients with acute lymphoblastic and acute myeloblastic leukemia, the frequency of heterozygous and mutant alleles detection in the CYP2D6 gene is significantly higher. In the CYP1A1 and CYP2E1 genes of these patients, wild alleles are dominant.

Keywords: cytochrome P450 genes, CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6, polymorphism, acute lymphoblastic leukemia, acute myeloid leukemia

■ ВВЕДЕНИЕ

Острые лейкозы являются одним из наиболее распространенных видов рака, поражающих все возрастные группы. Несмотря на успехи в области улучшения лечения острых лейкозов, причины их развития остаются малоизученными. Множество исследований, направленных на анализ генетических, социальных и экологических факторов, не позволили выявить четких критериев, ассоциированных с развитием острых лейкозов. Общепринятой является точка зрения о том, что значительная роль в развитии этой патологии принадлежит генетическим факторам, однако влияние факторов окружающей среды, в том числе и инфекционных агентов, также вносит большой вклад в процессы формирования и прогрессирования заболевания [1–4].

Острые лейкозы представляют собой злокачественные клональные заболевания органов кроветворения с вовлечением одного или нескольких клеточных ростков кроветворной системы. Эти нарушения характеризуются диффузным замещением костного мозга аномальными незрелыми и недифференцированными кроветворными клетками [1–3]. Последовательное приобретение клетками крови генетических и эпигенетических изменений обуславливает формирование специфического для заболевания фенотипа с нарушением дифференцировки и повышением пролиферации [5].

На долю острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) приходится примерно 80% от всех диагностированных лейкозов среди детей в возрасте 0–19 лет. Детские формы ОЛЛ отличаются от форм, встречающихся во взрослом возрасте, по молекулярным (цитогенетическим) характеристикам, факторам риска, лейкемогенной восприимчивости и прогнозу [6, 7].

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) чаще встречается среди взрослых и пожилых людей, без терапии быстро прогрессирует и имеет негативный прогноз [8–10].

На развитие заболевания оказывают влияние сложные взаимодействия между факторами окружающей среды и индивидуальными генетическими особенностями конкретного организма. К значимым факторам, ассоциированным с риском развития

острых лейкозов, относят присутствие в геноме пациента полиморфных вариантов генов, контролирующих синтез ферментов, участвующих в метаболизме ксенобиотиков, в том числе и полиморфных вариантов генов цитохрома P450 (CYP) [7, 11].

Авторами всех исследований, посвященных оценке распространенности и влияния полиморфных вариантов генов CYP на развитие и течение заболевания, а также на формирование осложнений, подчеркивается, что полученные на определенной выборке результаты валидны только для конкретных изученных групп пациентов, так как распространенность полиморфизмов, а также характер их ассоциации с развитием лейкозов варьирует в различных этнических и расовых группах, а также может изменяться в зависимости от межгенных взаимодействий, возраста пациента, подтипа лейкоза и др.

Способность организма человека противостоять воздействию неблагоприятных факторов (токсины, канцерогены) основана на функционировании ферментных систем организма, преобразовывающих токсичные соединения в полярные водорастворимые метаболиты, которые могут быть выведены из организма. Белки суперсемейства цитохрома P450 являются ферментами, участвующими в фазе I метаболизма чужеродных соединений. Их структура, функции и активность контролируются генами CYP, среди которых широко распространены полиморфные варианты, играющие важную роль в межиндивидуальной вариативности реакций на лекарственные средства, а также во взаимодействиях между различными лекарственными средствами (drug-drug interaction), лекарственными средствами и другими ксенобиотиками (drug-xenobiotic interaction) [11, 12].

Вариации в генах цитохрома P450 лежат в основе синтеза белков с измененной каталитической активностью, что проявляется высокой индивидуальной вариативностью метаболизма лекарственных средств и фармакологических эффектов. Поэтому актуальным представляется изучение распространенности полиморфизмов генов цитохрома P450 среди пациентов с острыми лейкозами.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установить распространенность полиморфизмов в генах цитохрома P450 (CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6) у пациентов с острым лимфобластным и острым миелобластным лейкозами.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом основной группы исследования явились 106 пациентов с ОЛЛ в возрасте от 1 года до 17 лет, медиана возраста 5,2 года. Распределение по гендерной принадлежности равновеликое – 55 девочек (51,9%) и 51 мальчик (48,1%). Критериями включения пациентов в исследование являлось наличие диагноза ОЛЛ, проведение полихимиотерапии (ПХТ) не менее 2 месяцев по поводу основного заболевания, отсутствие токсических осложнений, включая синдромальную патологию, до начала лечения. Все пациенты основной группы на момент обследования получали специфическую терапию по протоколу ALL-MB-2015 на базе государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» и гематологического отделения для детей государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека».



Группу сравнения составили 49 пациентов с первичным острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) в возрасте от 25 до 64 лет (медиана возраста 42,6 года), находившихся на лечении в отделениях гематологии УЗ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии». Распределение по гендерной принадлежности равновеликое – 26 мужчин (53,06%) и 23 женщины (46,95%). На момент обследования все пациенты группы сравнения получали специфическую терапию согласно клиническому протоколу «Диагностика и лечение пациентов старше 18 лет с вновь диагностированным острым миелоидным лейкозом», утвержденному Министерством здравоохранения Республики Беларусь 01.06.2017 (постановление № 43).

В качестве биологического материала у пациентов проводили взятие периферической крови, которую забирали в стерильные вакуумные пробирки («МиниМед», РФ). Цитрат натрия или ЭДТА использовали как антикоагулянт. Пробирки с кровью замораживали и оставляли для хранения при температуре –18 °С. Выделение ДНК из крови проводили с использованием коммерческого набора реагентов NucleoSpin Blood (Macherey-Nagel).

Для определения концентрации и степени чистоты выделенной ДНК проводили спектрофотометрические исследования (NanoDrop 1000, Thermo Fisher Scientific), при этом определяли отношение поглощения на длинах волн 260 и 280 нм ($A_{260/280}$).

ДНК, выделенную из биологического материала пациентов, использовали для амплификации фрагментов генов CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6. Амплификацию ДНК проводили с применением специфических пар праймеров (табл. 1) и мастер-микса «ArtMix Форез ДНК-полимераза» («АртБиоТех», Республика Беларусь) на приборе QuantStudio™ 3 (Thermo Fisher Scientific).

Таблица 1
Последовательности праймеров и ферменты для рестрикции фрагментов генов CYP1A1, CYP2E1, CYP2D6

Table 1
Primer sequences and restriction enzymes for CYP1A1, CYP2E1, and CYP2D6 gene fragments

Ген	№ rs	Фермент	Последовательность праймера
CYP1A1	rs1048943	BsrDI	F-CTGTCTCCCTCTGGTTACAGGAAGC
			R-TTCACCCGTTGCAGCAGGATAGCC
	rs4646903	MspI	F-TAGGAGTCTTGTCTCATGCCT
			R-CAGTGAAGAGGTGTAGCCGCT
CYP2E1	rs6413432	DraI	F-TCGTCAAGTTCCTGAAAGCAGG
			R-GAGCTCTGATGCAAGTATCGCA
	rs3813867	Pst I	F-CCAGTCGAGTCTACATTGTCA
			R-TTCATTCTGTCTTCTAACTGG
	rs2031920	RsaI	F-CCAGTCGAGTCTACATTGTCA
			R-TTCATTCTGTCTTCTAACTGG
CYP2D6	rs35742686	MspI	F-ATGAGCTGCTAACTGAGCCC
			R-CCGAGAGCATACTCGGGAC
	rs3892097	MvaI	F-TGCCGCTTCGCCAACCCT
			R-TGCCCTCTCAGAGACTCCTC
	rs1065852	HphI	F-GTGCTGAGAGTGTCTGCC
			R-CACCCACCATCCATGTTTGC

Для идентификации уровней амплификации специфических и неспецифических фрагментов проводили анализ кривых плавления и электрофоретический анализ полученных ампликонов. Далее проводили рестрикцию амплифицированных фрагментов и анализ результатов в 2%-ном агарозном геле методом электрофоретического анализа.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась при помощи компьютерной программы SPSS, версия 16. Анализ категориальных признаков проводили с помощью критерия χ^2 -Пирсона (χ^2) и точного критерия Фишера (F). При уровне значимости $p < 0,05$ различия считались статистически достоверными. Для описания частот выявления признака приводили абсолютные (n) и относительные (%) значения. Количественные данные представляли в виде медианы (Me) и размаха (min...max).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Клиническая картина острого лейкоза как в основной, так и в группе сравнения характеризовалась преимущественно анемическим (76,4% и 81,6% соответственно) и геморрагическим (66,9% и 71,4% соответственно) синдромами.

В гемограмме при ОЛЛ у детей анемия установлена в 88,7% случаев (гемоглобин 86,2 (50...118) г/л), тромбоцитопения выявлена у 58,5% (55,8 (5...133)×10⁹/л). Количество лейкоцитов варьировало от лейкопении (2,9 (1,3...3,6)×10⁹/л) в 20,7% случаев до лейкоцитоза (37,4 (10,4...185)×10⁹/л) у 45,2% детей. Абсолютная нейтропения диагностирована у 19,8% пациентов (0,68 (0,29...1,37)×10⁹/л). При исследовании костного мозга установлена бластная инфильтрация в количестве от 33% до 99% при количестве миелокариоцитов 257 (31...910)×10⁹/л.

В гемограмме при ОМЛ у взрослых анемия выявлена в 67,3% случаев (88,2 (57...114) г/л), тромбоцитопения – в 83,7% (33,8 (8...123)×10⁹/л), количество лейкоцитов периферической крови варьировало от лейкопении (2,9 (0,8...3,4)×10⁹/л) в 53,1% случаев до лейкоцитоза (18,6 (12,2...102)×10⁹/л у 28,6% пациентов. Бластная инфильтрация КМ представлена в количестве от 52% до 98%. Большинство взрослых пациентов с ОМЛ (81,6%) имели промежуточный риск по кариотипу.

Таблица 2
Результаты выявления полиморфных вариантов гена CYP1A1 у пациентов основной группы и группы сравнения
Table 2
Results of the CYP1A1 gene polymorphic variants detection in patients of the main group and the comparison group

Ген	Генотип	Частота выявления			
		Основная группа (n=106)		Группа сравнения (n=49)	
		%	n	%	n
CYP1A1 (BsrDI) rs1048943	AA	94,33	100	93,88	46
	AG	3,77	4	6,12	3
	GG	1,89	2	0,00	0
CYP1A1 (MspI) rs4646903	TT	82,08	87	85,71	42
	TC	17,92	19	14,28	7
	CC	0,00	0	0,00	0



В образцах крови пациентов основной группы и группы сравнения с применением метода ПЦР и рестрикционного анализа была проведена идентификация полиморфных вариантов гена CYP1A1 (A4889G и T6235C). Полученные результаты, характеризующие частоту выявления различных геновариантов, представлены в табл. 2.

В ходе анализа результатов, полученных при изучении частоты выявления полиморфизма A4889G (rs1048943) в гене CYP1A1, у обследованных пациентов обеих групп доминирующим был аллель дикого типа – AA (основная группа – 94,33%, n=100; группа сравнения – 93,88%, n=46). Среди обследованных пациентов распространенность полиморфизма T6235C (rs4646903) в гене CYP1A1 составила: TT (аллель дикого типа) – 82,08% (n=87) случаев в основной группе и 85,71% (n=42) случаев в группе сравнения; гетерозиготный аллель TC – 17,92% (n=19) случаев в основной группе и 14,28% (n=7) случаев в группе сравнения. Мутантный аллель CC у обследованных пациентов не был выявлен.

Для гена CYP2E1 было проведено выявление трех полиморфизмов: T7632A (rs6413432), G1293C (rs3813867) и C1053T (rs2031920). Полученные результаты, характеризующие частоту выявления различных геновариантов, представлены в табл. 3.

Анализ полученных результатов позволил установить, что у обследованных пациентов распространенность полиморфизма T7632A (rs6413432) составила: TT (аллель дикого типа) – 87,74% (n=93) случаев в основной группе и 85,71% (n=42) случаев в группе сравнения; гетерозиготный (аллель) TA – 12,26% (n=13) случаев в основной группе и 14,29% (n=7) случаев в группе сравнения. Мутантный аллель AA у обследованных пациентов не был выявлен.

Среди обследованных пациентов обеих групп для полиморфизмов G1293C (rs3813867) и C1053T (rs2031920) доминирующими геновариантами были аллели дикого типа, частота выявления которых составила более 90%.

В ходе проведения исследований в гене CYP2D6 определяли три полиморфизма: A2549del (rs35742686), G1846A (rs3892097), C100T (rs1065852). Полученные результаты, характеризующие частоту выявления полиморфизмов A2549del и G1846A, представлены в табл. 4.

Таблица 3

Результаты выявления полиморфных вариантов гена CYP2E1 у пациентов основной группы и группы сравнения

Table 3

Results of the CYP2E1 gene polymorphic variants detection in patients of the main group and the comparison group

Ген	Генотип	Частота выявления			
		Основная группа (n=106)		Группа сравнения (n=49)	
		%	n	%	n
CYP2E1 (DraI) rs6413432	TT	87,74	93	85,71	42
	TA	12,26	13	14,29	7
	AA	0,00	0	0,00	0
CYP2E1 (Pst I) rs3813867	GG	95,28	101	93,88	46
	GC	4,72	5	6,12	3
	CC	0,00	0	0,00	0
CYP2E1 (RsaI) rs2031920	CC	92,45	98	93,88	46
	CT	5,66	6	6,12	3
	TT	1,89	2	0,00	0

Таблица 4

Результаты выявления полиморфных вариантов гена CYP2D6 у пациентов основной группы и группы сравнения

Table 4

Results of the CYP2D6 gene polymorphic variants detection in patients of the main group and the comparison group

Ген	Генотип	Частота выявления			
		Основная группа (n=106)		Группа сравнения (n=49)	
		%	n	%	n
CYP2D6 (Mspl) rs35742686	AA	83,02	88	48,98	24
	A/del	11,32	12	32,65	16
	del/del	5,66	6	18,37	9
CYP2D6 (Mval) rs3892097	GG	64,15	68	59,18	29
	GA	30,19	32	38,78	19
	AA	5,66	6	2,04	1

При проведении анализа результатов, полученных для полиморфизма A2549del (rs35742686), было установлено, что среди обследованных пациентов основной группы преобладают носители аллеля дикого типа AA – 83,02% (n=88) случаев, в то время как среди пациентов группы сравнения аллель дикого типа был выявлен только в 48,98% (n=24) случаев. Частота выявления гетерозиготного аллеля (A/del) составила 11,32% (n=12) случаев среди пациентов основной группы и 32,65% (n=16) случаев среди пациентов группы сравнения. Мутантный аллель (del/del) был выявлен в 5,66% (n=1) случаев среди пациентов основной группы и в 18,37% (n=9) случаев среди пациентов группы сравнения.

Распространенность полиморфизма G1846A (rs3892097) в гене CYP2D6 составила: GG (аллель дикого типа) – 64,15% (n=68) случаев среди пациентов основной группы и 59,18% (n=29) случаев среди пациентов группы сравнения; гетерозиготный аллель GA – 30,19% (n=32) случаев среди пациентов основной группы и 38,78% (n=19) случаев среди пациентов группы сравнения.

В 8 образцах (7,55%) пациентов основной группы и в 5 образцах (n=10,20%) пациентов группы сравнения после проведения амплификации фрагмента гена CYP2D6 для идентификации полиморфизма C100T (rs1065852) не было выявлено специфических ампликонов ни при анализе кривых плавления, ни при электрофоретической детекции. При этом в данных пробах фрагменты других анализируемых генов (CYP1A1, CYP2E1), а также фрагменты гена CYP2D6 для идентификации полиморфизмов A2549del (rs35742686), G1846A (rs3892097) были успешно амплифицированы. Повторное выделение ДНК и амплификация данного фрагмента гена CYP2D6 подтвердили отсутствие специфических ампликонов в данных образцах (n=13), что связано со сложной структурной организацией гена CYP2D6 и наличием межиндивидуальных особенностей структуры гена в области отжига подобранных пар праймеров. Таким образом, анализ полиморфизма C100T (rs1065852) в гене CYP2D6 проводили для 98 пациентов основной группы и 44 пациентов группы сравнения. Полученные результаты представлены в табл. 5.

Присутствие дикого аллеля (CC) было выявлено у 53,06% (n=52) обследованных пациентов основной группы и у 50,00% (n=22) пациентов группы сравнения;



Таблица 5

Результаты выявления полиморфизма C100T (rs1065852) гена CYP2D6 у пациентов основной группы и группы сравнения

Table 5

Results of the CYP2D6 gene polymorphism C100T (rs1065852) detection in patients of the main group and the comparison group

Ген	Генотип	Частота выявления			
		Основная группа (n=98)		Группа сравнения (n=44)	
		%	n	%	n
CYP2D6 (HphI) rs1065852	CC	53,06	52	50,00	22
	CT	21,43	21	20,45	9
	TT	25,51	25	29,55	13

гетерозиготного геноварианта CT – у 21,43% (n=21) обследованных пациентов основной группы и у 20,45% (n=9) пациентов группы сравнения; мутантного аллеля TT – у 25,51% (n=25) обследованных пациентов основной группы и у 29,55% (n=13) пациентов группы сравнения.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Ген CYP1A1 кодирует фермент (гидроксилазу), который участвует в процессах биотрансформации и метаболической активации ароматических углеводов. Полиморфизм T6235C гена CYP1A1 (CYP1A1*2A, m1 или rs4646903) характеризуется нуклеотидной заменой Т на С в положении 6235 в 3'-фланкирующей области гена CYP1A1, что создает сайт расщепления для рестриктазы MspI. Наличие полиморфизма T6235C ассоциировано с изменением уровня экспрессии гена и стабильности матричной РНК, что приводит к увеличению каталитической активности фермента [11]. В ходе проведенного исследования доминирующим геновариантом в обеих группах обследованных пациентов был дикий тип аллеля (более 80% обследованных). Статистический анализ с использованием критерия χ^2 ($\chi^2=0,32$; $p=0,65$) и точного критерия Фишера ($F=0,33$, $p=0,65$) не выявил ассоциации между носительством измененного аллеля и заболеванием ($p>0,05$).

Полиморфизм A4889G в гене CYP1A1 (CYP1A1*2C, m2, Ile462Val или rs1048943) характеризуется нуклеотидной заменой А на G в 7-м экзоне гена в кодоне 462, что приводит к замене изолейцина (Ile) на валин (Val) в положении 462 и создает сайт расщепления для рестриктазы BsrDI. Этот полиморфизм ассоциирован с двукратным увеличением активности микросомальных ферментов [7, 11, 12]. В изученных образцах преобладал дикий тип аллеля, частота выявления которого в обеих группах была выше 90%; количество образцов, в которых были идентифицированы гетерозиготный и мутантный аллели, составило от 0 до 6,1%. Статистический анализ позволил установить отсутствие взаимосвязи между присутствием различных геновариантов и заболеванием ($\chi^2=1,34$; $p=0,51$; $F=1,11$, $p=0,38$).

Полиморфизмы C1053T/G1293C в гене CYP2E1 (CYP2E1*5B; rs2031920/rs3813867) характеризуются заменами в регионе, расположенном в 5'-фланкирующей области гена, что создает сайты расщепления для рестриктаз RsaI/PstI. В экспериментах in vitro было показано, что присутствие данных полиморфизмов ассоциировано с изменением уровня экспрессии фермента [12–14]. Анализ частоты данных

полиморфизмов среди пациентов с ОЛЛ и ОМЛ позволил установить, что дикий тип аллелей обоих генов был преобладающим с частотой более 90%.

Полиморфизм T7632A в гене CYP2E1 (CYP2E1*6, rs6413432) характеризуется заменой нуклеотида в интроне 6, что создает сайт расщепления для рестриктазы DraI. Наличие данного полиморфизма ассоциировано со снижением активности фермента и увеличением количества одноцепочечных разрывов ДНК [12, 13]. В ходе проведенного исследования у обследованных пациентов с ОЛЛ и ОМЛ были идентифицированы дикий и гетерозиготный варианты аллелей с преобладанием частоты дикого аллеля, которая составила более 85%. Ассоциации между присутствием полиморфных вариантов в гене CYP2E1 и заболеванием установлено не было ($p > 0,05$).

Ген CYP2D6 локализован на 22-й хромосоме (22q13.2) и содержит 9 экзонов. Это высокополиморфный ген, который имеет более 100 аллельных и субаллельных вариантов [14]. Различные полиморфные варианты гена CYP2D6 ассоциированы как со статусом организмов с низким уровнем метаболизма ксенобиотиков, так и со сверхбыстрым уровнем метаболизма [11, 14].

Полиморфизм A2549del в гене CYP2D6 (CYP2D6*3, rs35742686) характеризуется делецией нуклеотида в положении 2549, что создает сайт рестрикции для фермента MspI. Присутствие в геноме данного измененного аллеля приводит к синтезу функционально неактивного фермента, что существенно замедляет метаболизм ксенобиотиков у носителя, снижает эффективность лечения, приводит к накоплению промежуточных токсичных продуктов метаболизма в организме и появлению побочных реакций [11, 14]. У пациентов основной группы исследования доминирующим был дикий тип аллеля (частота 83,02%), в то время как для пациентов с ОМЛ (группа сравнения) было установлено распределение аллелей без явного доминирования, частота выявления находилась в пределах от 48,98% для аллеля дикого типа до 18,37% для мутантного аллеля. С применением методов статистического анализа было установлено, что присутствие гетерозиготного A/del и мутантного del/del аллелей в гене CYP2D6 ассоциировано с ОМЛ ($\chi^2 = 19,41$; $p < 0,001$; $F = 18,63$, $p < 0,001$). Так как ОМЛ поражает в основном пациентов взрослого и пожилого возраста, у которых скорость метаболических процессов снижается, то присутствие в геноме аллеля, который обуславливает синтез фермента биотрансформации со сниженной или отсутствующей активностью, является фактором, способствующим развитию заболевания.

Полиморфизм G1846A в гене CYP2D6 (CYP2D6*4, rs3892097) характеризуется заменой нуклеотида в положении 1846, в результате чего исчезает сайт расщепления для фермента MvaI. Так же, как и в случае присутствия полиморфного варианта A2549del, у носителей полиморфизма G1846A происходит синтез неактивной формы фермента [11, 14]. Анализ результатов по выявлению геновариантов для данного полиморфизма позволил установить, что дикий тип аллеля был преобладающим как у пациентов с ОЛЛ (64,15%), так и у пациентов с ОМЛ (59,18%), также высокой была и частота выявления гетерозиготного аллеля: от 30,19% до 38,78. Статистический анализ не выявил взаимосвязи данного геноварианта с развитием заболевания ($p > 0,05$).

Полиморфизм C100T в гене CYP2D6 (CYP2D6*10, rs1065852) характеризуется заменой нуклеотида С на Т в положении 100, что создает сайт расщепления для фермента NspI. Присутствие данного аллеля в геноме приводит к синтезу фермента со сниженной активностью и замедляет реакции метаболизма чужеродных соединений [14]. В связи со сложной структурой гена и его высокой межиндивидуальной



полиморфностью удалось проанализировать только 98 образцов от пациентов с ОЛЛ и 44 образца от пациентов с ОМЛ. Для данного полиморфизма была установлена высокая частота выявления мутантного аллеля ТТ в обеих группах: 25,51% для основной группы и 29,55% для группы сравнения. Частота выявления дикого аллеля составила около 53,06% и 50,00% для основной группы и группы сравнения соответственно. Статистический анализ не выявил достоверной взаимосвязи данного геноварианта с развитием заболевания ($p > 0,05$).

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У обследованных пациентов с ОЛЛ и ОМЛ в генах CYP1A1 и CYP2E1 преобладали аллели дикого типа (более 80% случаев для всех исследованных полиморфизмов в данных генах). Увеличение частот выявления мутантного и гетерозиготного аллелей среди пациентов с ОЛЛ и ОМЛ было установлено в гене CYP2D6. Среди пациентов с ОМЛ была установлена высокая распространенность полиморфизма A2549del в гене CYP2D6 (CYP2D6*3, rs35742686) как в форме гетерозиготного аллеля (32,65% случаев), так и в форме мутантного аллеля (18,37% случаев).

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Tebbi C.K. Etiology of Acute Leukemia: A Review. *Cancers (Basel)*. 2021;13(9):2256. doi: 10.3390/cancers13092256
2. Deschler B., Lübbert M. Acute myeloid leukemia: Epidemiology and etiology. *Cancer*. 2006;107:2099–2107. doi: 10.1002/cncr.22233
3. Bispo J.A.B., Pinheiro P.S., Kobetz E.K. Epidemiology and Etiology of Leukemia and Lymphoma. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2020;10:a034819. doi: 10.1101/cshperspect.a034819
4. Patel M.J., Ma Y., Mitchell B., Rhoads K.F. How Do Differences in Treatment Impact Racial and Ethnic Disparities in Acute Myeloid Leukemia? *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2015;24:344–349. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-14-0963
5. Hartmann L., Metzeler K.H. Clonal hematopoiesis and preleukemia-Genetics, biology, and clinical implications. *Genes Chromosomes Cancer*. 2019;58(12):828–838. doi: 10.1002/gcc.22756
6. Marcotte E.L., Spector L.G., Mendes-de-Almeida D.P., Nelson H.H. The Prenatal Origin of Childhood Leukemia: Potential Applications for Epidemiology and Newborn Screening. *Front Pediatr*. 2021;9:639479. doi: 10.3389/fped.2021.639479
7. Lu J., Zhao Q., Zhai Y.J. Genetic polymorphisms of CYP1A1 and risk of leukemia: a meta-analysis. *Onco Targets Ther.* 2015;8:2883–2902. doi: 10.2147/OTT.S92259
8. Bain B.J., Béné M.C. Morphological and Immunophenotypic Clues to the WHO Categories of Acute Myeloid Leukaemia. *Acta Haematol.* 2019;141(4):232–244. doi: 10.1159/000496097
9. Medeiros B.C., Chan S.M., Daver N.G. Optimizing survival outcomes with post-remission therapy in acute myeloid leukemia. *Am J Hematol.* 2019;94(7):803–811. doi: 10.1002/ajh.25484
10. Thol F., Klesse S., Köhler L. Acute myeloid leukemia derived from lympho-myeloid clonal hematopoiesis. *Leukemia*. 2017;31(6):1286–1295. doi: 10.1038/leu.2016.345
11. Chen H.C., Hu W.X., Liu Q.X. Genetic polymorphisms of metabolic enzymes CYP1A1, CYP2D6, GSTM1 and GSTT1 and leukemia susceptibility. *Eur J Cancer Prev.* 2008;17(3):251–258. doi: 10.1097/CEJ.0b013e3282b72093
12. Docea A.O., Vassilopoulou L., Fragou D. CYP polymorphisms and pathological conditions related to chronic exposure to organochlorine pesticides. *Toxicol Rep.* 2017;4:335–341. doi: 10.1016/j.toxrep.2017.05.007
13. Coura dos Santos R., de Fátima Silva Marques C., Koifman R. J. CYP1A1 and CYP2E1 polymorphism frequencies in a large Brazilian population. *Genetics and Molecular Biology*. 2007;30(1):1–5. doi: 10.1590/S1415-47572007000100001
14. Nofziger C., Turner A.J., Sangkuhl K. PharmVar GeneFocus: CYP2D6. *Clin Pharmacol Ther.* 2020;107(1):154–170. doi: 10.1002/cpt.1643