



New Day in Medicine
Новый День в Медицине

NDM



TIBBIOVIYOTDA YANGI KUN

Ilmiy referativ, marifiy-ma'naviy jurnal



AVICENNA-MED.UZ



ISSN 2181-712X.
EiSSN 2181-2187

3 (53) 2023

**Сопредседатели редакционной
коллегии:**

**Ш. Ж. ТЕШАЕВ,
А. Ш. РЕВИШВИЛИ**

Ред. коллегия:

М.И. АБДУЛЛАЕВ
А.А. АБДУМАЖИДОВ
А.Ш. АБДУМАЖИДОВ
Р.Б. АБДУЛЛАЕВ
М.М. АКБАРОВ
Х.А. АКИЛОВ
М.М. АЛИЕВ
С.Ж. АМИНОВ
Ш.Э. АМОНОВ
Ш.М. АХМЕДОВ
Ю.М. АХМЕДОВ
Т.А. АСКАРОВ
Ж.Б. БЕКНАЗАРОВ (главный редактор)
Е.А. БЕРДИЕВ
Б.Т. БУЗРУКОВ
Р.К. ДАДАБАЕВА
М.Н. ДАМИНОВА
К.А. ДЕХКОНОВ
Э.С. ДЖУМАБАЕВ
А.Ш. ИНОЯТОВ
С. ИНДАМИНОВ
А.И. ИСКАНДАРОВ
С.И. ИСМОИЛОВ
Э.Э. КОБИЛОВ
Д.М. МУСАЕВА
Т.С. МУСАЕВ
Ф.Г. НАЗИРОВ
Н.А. НУРАЛИЕВА
Б.Т. РАХИМОВ
Ш.И. РУЗИЕВ
С.А. РУЗИБОВЕВ
С.А. ГАФФОРОВ
Ж.Б. САТТАРОВ
Б.Б. САФОВЕВ (отв. редактор)
И.А. САТИВАЛДИЕВА
Д.И. ТУКСАНОВА
М.М. ТАДЖИЕВ
А.Ж. ХАМРАЕВ
А.М. ШАМСИЕВ
А.К. ШАДМАНОВ
Н.Ж. ЭРМАТОВ
Б.Б. ЕРГАШЕВ
Н.Ш. ЕРГАШЕВ
И.Р. ЮЛДАШЕВ
Д.Х. ЮЛДАШЕВА
А.С. ЮСУПОВ
М.Ш. ХАКИМОВ
К.А. ЕГЕЗАРЯН (Россия)
DONG JINCHENG (Китай)
КУЗАКОВ В.Е. (Россия)
Я. МЕЙЕРНИК (Словакия)
В.А. МИТИШ (Россия)
В.И. ПРИМАКОВ (Беларусь)
О.В. ПЕШИКОВ (Россия)
А.А. ПОТАПОВ (Россия)
А.А. ТЕПЛОВ (Россия)
Т.Ш. ШАРМАНОВ (Казахстан)
А.А. ЩЕГОЛОВ (Россия)
Prof. Dr. KURBANHAN MUSLUMOV (Azerbaijan)
Prof. Dr. DENIZ UYAK (Germany)

www.bsmi.uz

<https://newdaymedicine.com>

E: ndmuz@mail.ru

Тел: +99890 8061882

**ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН
НОВЫЙ ДЕНЬ В МЕДИЦИНЕ
NEW DAY IN MEDICINE**

Илмий-рефератив, маънавий-маърифий журнал

*Научно-реферативный,
духовно-просветительский журнал*

УЧРЕДИТЕЛИ:

**БУХАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
ООО «ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН»**

Национальный медицинский
исследовательский центр хирургии имени
А.В. Вишневского является генеральным
научно-практическим
консультантом редакции

Журнал был включен в список журнальных
изданий, рецензируемых Высшей
Аттестационной Комиссией
Республики Узбекистан
(Протокол № 201/03 от 30.12.2013 г.)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

М.М. АБДУРАХМАНОВ (Бухара)
Г.Ж. ЖАРЫЛКАСЫНОВА (Бухара)
А.Ш. ИНОЯТОВ (Ташкент)
Г.А. ИХТИЁРОВА (Бухара)
Ш.И. КАРИМОВ (Ташкент)
У.К. КАЮМОВ (Ташкент)
Ш.И. НАВРУЗОВА (Бухара)
А.А. НОСИРОВ (Ташкент)
А.Р. ОБЛОКУЛОВ (Бухара)
Б.Т. ОДИЛОВА (Ташкент)
Ш.Т. УРАКОВ (Бухара)

3 (53)

2023

март

Received: 20.02.2023, Accepted: 20.02.2023, Published: 25.02.2023.

УДК 61.575.616.155.392.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ГЕНОТИПИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ ПОЛИМОРФНОГО ГЕНА TP53 (RS1042522) В ОПРЕДЕЛЕНИЕ РИСКА РАЗВИТИЯ ГЕМОБЛАСТОЗОВ

Куязов А.М. <https://orcid.org/0009-0003-8157-4654>

Бобоев К.Т. <https://orcid.org/0000-0002-0297-1447>

Абдурахманова Ш. <https://orcid.org/0009-0008-6492-3193>

Республиканский специализированный научно практический медицинский гематологический центр, Узбекистан Ташкент, 42А, Чиланзар-5Б, Tel.: (+99 871) 278 9478; Email: hematology.uz@mail.ru

✓ Резюме

Данной работе проведено изучение частоту встречаемости полиморфизмов гена TP53 при гемобластозах по сравнению здоровой популяцией для определения риска развития онкопатологии.

Проведение молекулярно-генетических исследований полиморфизма rs1042522 гена TP53 в группе больных и условно здоровых в отношении гемобластоза лиц позволило выявить значимость для риска развития онкогематологического заболевания гомозиготного по мутантному аллелю генотипа Pro/Pro.

Ключевые слова: гемобластоз, ген TP53, генотип, полиморфизм, мутация.

ГЕМАБЛАСТОЗ РИВОЖЛАНИШ ХАВФИНИ АНИҚЛАШДА ПОЛИМОРФ ГЕН TP53 (RS1042522) ГЕНОТИПИК ВАРИАНТЛАРИНИНГ КЛИНИК АҲАМИЯТИ

Куязов А.М., Бобоев К.Т., Абдурахмонова Ш.А.

Республика ихтисослашган илмий амалий тиббий гематология маркази, Ўзбекистон

✓ Резюме

Ушбу илмий ишда гемобластоз беморлари билан соғлом кишилар популяциясидаги TP53 генининг полиморфизми қиёсий нисбатда ўрганилиб онкопатология ривожланиш rischi аниқланди. Турли хилдаги гемобластоз беморлари билан соғлом кишилар популяциясида ўтказилган молекуляр генетик текширувлар TP53 генининг rs1042522 полиморфизми гомозигот турдаги мутант аллели Pro/Pro генотипи онкогематологик касалликларнинг юзага келишида аҳамиятли эканлиги аниқланди.

Калит сўзлар: гемобластоз, ген TP53, генотип, полиморфизм, мутация.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF GENOTYPIC VARIANTS OF THE POLYMORPHIC TP53 GENE (RS1042522) IN DETERMINING THE RISK OF DEVELOPING HEMOBLASTOSES

Kuryazov A.M., Boboev K.T., Abdurakhmonova Sh.A.

The Republican Specialized Scientific Practical Medical Center for Hematology, Uzbekistan.

✓ Resume

In this scientific research, we have studied the frequency of occurrence of TP53 gene polymorphisms in hemoblastoses compared with a healthy population to determine the risk of developing oncopathology.

Conducting molecular genetic studies of the rs1042522 polymorphism of the TP53 gene in a group of patients and healthy individuals with respect to hemoblastosis revealed the significance of the Pro/Pro genotype homozygous for the mutant allele for the risk of developing oncohematological disease.

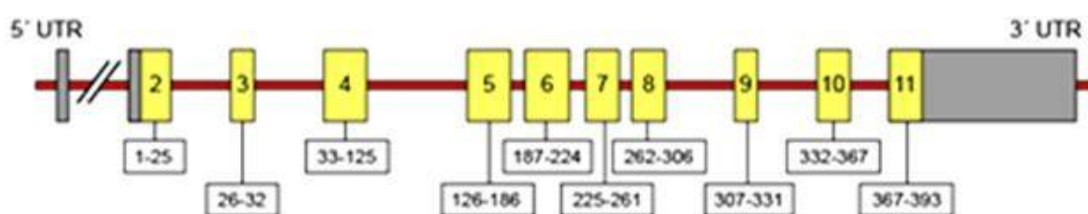
Key words: hemoblastosis, TP53 gene, genotype, polymorphism, mutation.

Актуальность

Нарушение механизма программируемой гибели клетки — апоптоз является одним из важных патогенетических механизмов онкогенеза. Апоптоз регулируется белками *p53* и *Bcl-2*. Дикий (т. е. нормальный) тип *p53* индуцирует апоптоз, а *Bcl-2* и *Bcl-X* его блокируют [1]. В результате мутации дикого типа *TP53* образуется мутантный тип гена *TP53*, клетка теряет способность к апоптозу, вследствие чего может возникать опухоль. Апоптоз — запрограммированная и регулируемая гибель клетки — предотвращает размножение клеток с поврежденной ДНК, в том числе и с онкогенными мутациями. Важно подчеркнуть, что апоптоз способствует элиминации из организма не только поврежденных клеток, но и клеток, в которых наблюдается нерегулируемая стимуляция пролиферации, вызываемая, например, онкогеном. При мутационном изменении гена-супрессора, его продукты могут утратить свою рост-тормозящую активность, что ведет к освобождению клеточных протоонкогенов, отмене апоптоза, накоплению онкотрансформирующих мутаций в клетке, а в итоге, к неконтрольному делению клетки и превращению ее в раковую.

Ген *TP53*, кодирующий белок *p53*, у человека расположен на коротком плече хромосомы 17 (локус 17p13.1). Кодирующая область гена содержит 11 экзонов (Рис. 1).

Продукт данного гена — белок *p53* жестко контролирует активность протоонкогенов, разрешая ее только в строго определенные периоды жизни клетки, когда имеется физиологическая необходимость вступления определенных типов клеток в процесс деления.



Структурная организация гена *TP53* и белка *P53*

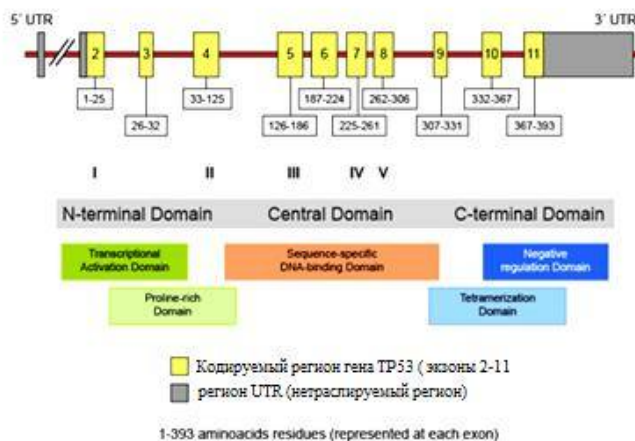


Рисунок 1. Структурная организация гена *TP53*

Также *p53* контролирует апоптоз, направляя клетку к самоубийству, если у нее поврежден генетический аппарат. При этом белок *p53* либо временно блокирует процесс деления клетки для репарации ДНК, либо запускает апоптоз, если повреждения генома невозможно устранить. Тем самым *p53* стабилизирует генетическую структуру клетки, предотвращая появление и накопление негативных мутаций, в том числе и онкогенных. Тот факт, что 50% опухолей содержит в клетках мутантный *TP53*, подтверждает его важную роль в онкогенезе [3]. При некоторых видах опухолей идентифицированы спектры мутаций *TP53*, специфичные для

определенной опухоли, что актуально для генодиагностики и таргетного лечения. Соответственно, мутации *TP53* являются генетическим предиктором ответа опухоли на лечение и выживаемости пациента [4,5,6,9]. Проводимые исследования некоторых авторов показали, что имеется сильная корреляция между мутацией *p53* и прогрессией гематологических злокачественных заболеваний [2,8].

Цель работы - изучение частоты встречаемости полиморфизмов гена *TP53* при гемобластозах по сравнению со здоровой популяцией для определения риска развития онкопатологии.

Материал и методы

Для верификации диагноза и установления формы гемобластоза методом стандартного цитогенетического исследования проводилось выявление генетических маркеров гемобластоза – выявление генетической нестабильности, маркерных, рекуррентных, клональных дополнительных и редко встречаемых хромосомных изменений. В том числе: цитогенетического проявления транслокации $t(9;22)(q34;q11.2)$ – $der(22)/Ph$ -хромосомы и $der(9)$, $t(9;22;V)$, а также $-5/del(5)q$, $-5/del(5)q$, $+8$, хромосомные дериваты и другие количественные изменения и структурные aberrации, ассоциированные с клональными неопластическими заболеваниями системы кроветворения.

Хромосомный анализ проводили стандартным (конвенциональным) цитогенетическим исследованием (СЦИ) с применением методики GTG-бэндинга. Соблюдались единые условия забора материала, культивирования и фиксации. Поиск метафазных пластинок осуществляли при микроскопическом сканировании цитологических препаратов. При микроскопировании использовали:

Идентификацию хромосом проводили в соответствии с международной системой цитогенетической номенклатуры ISCN, предложенной для исследования хромосом человека [7].

Объектом исследования стала ДНК, выделенная из периферической крови больных гемобластозами, находившихся на обследовании и лечении в клинических отделениях РСНПМЦГ МЗ РУз (до 2020 г – НИИГиПК МЗ РУз), и условно здоровых лиц контроля.

Для молекулярно-генетических исследований использовали набор для выделения ДНК/РНК «Рибо-Сорб» ООО ИнтерЛабСервис (г. Москва), набор для тестирования полиморфизмов фирмы ООО НПФ Литех, Генотехнология и Синтол (г. Москва).

Амплификацию проводили с использованием термоциклера ПЦР в реальном времени проводили на Rotor Gene 6000 (65H0-100, Австралия). Концентрацию и чистоту выделенной ДНК измеряли на спектрофотометре Nano Drop 2000 (США) при длине волны A260/280 нм.

В качестве инструмента вычислений использован пакет прикладных программ «OpenEpi 2009, Version 2.3».

Результат и обсуждение

К настоящему времени в гене *TP53* идентифицировано порядка 10 полиморфизмов. Полиморфизм rs1042522 расположен в 4 экзоне (72 кодон). В результате нуклеотидной замены цитозина на гуанин происходит замена аргинина (Arg) на пролин (Pro) в аминокислотной цепи белкового продукта гена. Считается, что данный полиморфизм может влиять на течение заболевания за счет более сильной апоптогенной активности одного из генотипических вариантных состояний.

Исследование показало, что частота встречаемости аллелей Arg и Pro полиморфизма rs1042522 гена *TP53* у больных лейкозом составила 64,8% и 34,8%, тогда как в группе контроля – 74,7% и 23,7%, соответственно. Частоты распределения генотипов Arg/Arg, Arg/Pro и Pro/Pro в группе больных составили: 40,8%, 47,3% и 10,5%; в группе контроля эти показатели составили 52,8%, 44,9% и 1,9% (табл. 1).

Таблица 1. Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма Arg72Pro гена TP53 в основной группе пациентов и контроле

Группа	n	Частота аллелей				Частота распределения генотипов					
		Arg		Pro		Arg / Arg		Arg / Pro		Pro / Pro	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Основная группа	70	60	64.8	32	33.8	35	40.8	38	47.3	8	10.5
Контрольная группа	50	74	74.7	24	23.7	26	52.9	22	43.9	1	1.9

Нами не была отмечена статистически значимая разница между частотой носительства неблагоприятного аллеля в популяционной выборке условно здоровых лиц и группе больных гемобластомами (33,8% против 23,7%, соответственно; $\chi^2 = 0.7$; $P=0.3$; OR =1.8; 95%CI 0.7692-1.921). При этом, обнаружена высокодостоверная ассоциация гомозиготного по мутантному аллелю генотипа Pro/Pro с онкогематологическим заболеванием (10,5% в группе больных против 1,9% в группе контроля; $\chi^2 = 1.9$; $P=0.2$; OR =5.1; 95%CI 0.4739, 39.42). Расчет показателя отношения шансов определил риск формирования мутантного опухолевого клона при носительстве гомозиготного генотипа, который был в 5,1 раза достоверно выше, по сравнению с пациентами, не имеющими генотип Pro/Pro ($\chi^2 = 1.9$; $P=0.2$; OR =5.1; 95%CI: 0.47-39.42).

Статистически значимой разницы в частоте встречаемости гетерозиготного генотипа нами не было выявлено: как в основной, так и в контрольной группе значение частоты генотипа Arg / Pro были очень близки (47,3% и 43,9%, соответственно ($\chi^2 = 0.03$; $P=0.9$; OR =1.4; 95%CI:0.76-4.61). Разница между частотой встречаемости гомозиготного генотипа по дикому аллелю также оказалась недостоверной (42,8% и 52,9%, соответственно; ($\chi^2 = 0.2$; $P=0.5$; OR=0.4; 95%CI:0.34-4.21). Отсутствие достоверной значимости разницы в частоте генотипов Arg/Arg и Arg/Pro между сравниваемыми подгруппами говорит об отсутствии какой-либо связи данных генотипических вариантов с развитием гемобластозов.

Изучение распределения частоты генотипов полиморфизма Arg72Pro гена TP53 и их соответствие популяционному равновесию Харди-Вайберга (PXB) показало, что наблюдаемые частоты генотипов в исследованных группах соответствовали теоретически ожидаемым и находились в равновесии Харди-Вайнберга ($P>0.05$).

В группе больных ожидаемая частота гомозиготного по дикому аллелю генотипа составила Arg/Arg=0,49, тогда как наблюдаемая – Arg/Arg=0,46; ожидаемая частота гетерозиготного генотипа составила Arg/Pro=0,48, также, как и наблюдаемая – Arg/Pro=0,48; ожидаемая частота гомозиготного по мутантному аллелю генотипа составила Pro/Pro=0,03, тогда как наблюдаемая – Pro/Pro=0,06 ($\chi^2 = 2.7$; $P=0.09$).

В группе условно здоровых лиц ожидаемая частота гомозиготного по дикому аллелю генотипа составила Arg/Arg=0,56, тогда как наблюдаемая – Arg/Arg=0,53; ожидаемая частота гетерозиготного генотипа составила Arg/Pro=0,41, также как и наблюдаемая – Arg/Pro=0,46; ожидаемая частота гомозиготного по мутантному аллелю генотипа составила Pro/Pro=0,03, тогда как наблюдаемая – Pro/Pro=0,01 ($\chi^2 = 0.3$; $P=0.5$ между ожид. и набл.). Статистический анализ значимости разницы показателей свидетельствует о том, что отклонение не достоверно. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что в основной и популяционной выборках отмечалось статистически незначимое отклонение наблюдаемого распределения генотипов полиморфизма Arg72Pro гена TP53 от ожидаемого при PXB ($\chi^2 = 1.6$; $P=0.3$).

Отклонение от равновесного состояния определяли также по показателю относительного отклонения ожидаемой гетерозиготности от наблюдаемой или индексу дефицита гетерозигот (индекс D) (табл. 2). Относительное отклонение ожидаемой гетерозиготности от наблюдаемой (D) рассчитывали по формуле:

$$D=(h_{obs} - h_{exp})/h_{exp},$$

где h_{obs} и h_{exp} – наблюдаемая (observed) и наблюдаемая (expected) гетерозиготность соответственно. При этом положительное значение индекса D означает дефицит гетерозигот, отрицательное – их избыток. Исследование показало, что как в основной, так и контрольной группе индекс D имел положительное значение, что говорит о дефиците гетерозигот полиморфизма Arg72Pro гена TP53.

Таблица 2. Различие между ожидаемой и наблюдаемой частотами гетерозиготности полиморфизма Arg72Pro гена TP53 в основной и контрольной группах

Группы	Наблюдаемая гетерозиготность	Ожидаемая гетерозиготность	D *
Основная группа	0.47	0.45	+0.1
Контрольная группа	0.45	0.43	+0.2
D=(0.47-0.45)/0.45 = +0.1 для основной группы			
D=(0.45-0.43)/0.43 = +0.2 для контрольной группы			

Заключение

Таким образом, полученные нами результаты позволяют предположить, что гомозиготный по мутантному аллелю генотип и гетерозиготный генотип Pro/Pro полиморфизма Arg72Pro гена TP53 является значимым для выявления повышенного риска формирования опухолевой клетки из гемопоэтических предшественников и может быть использован в качестве информативного маркера развития гемобластозов ($p < 0.05$).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Виноградов А.В., Резайкин А.В., Литвинова Д.В., Лобода А.Н., Сазонов С.В., Сергеев А.Г. Патогенетическое значение точечных мутаций гена TP53 при острых миелоидных лейкозах взрослых // *Российский иммунологический журнал*, 2020; 23(2):195-202.
2. Bellamy WT, Richter L, Sirjam D et al Vascular endothelial cell growth factor is an autocrine promoter of abnormal localized immature myeloid precursors and leukemia pro genitor formation in myelodysplastic syndromes // *Blood* 2001; (97):1427-1434.
3. Eroğlu C. et al. Assessment of the anticancer mechanism of ferulic acid via cell cycle and apoptotic pathways in human prostate cancer cell lines // *Tumor Biology*. 2015; (36):9437-9446.
4. Herold T. et al. Validation and refinement of the revised 2017 European LeukemiaNet genetic risk stratification of acute myeloid leukemia // *Leukemia*. 2020; 34(12):3161-3172.
5. Huang R., Liao X., Li Q. Identification of key pathways and genes in TP53 mutation acute myeloid leukemia:evidence from bioinformatics analysis // *OncoTargets Ther*. 2017; 11:163-173.
6. Hunter A.M., Sallman D.A. Current status and new treatment approaches in TP53 mutated AML. // *Best Pract. Res. Clin. Haematol*. 2019; 32(2):134-144.
7. McGowan-Jordan J. (ed.). ISCN 2016: an international system for human cytogenomic nomenclature (2016); *Recommendations of the international standing human committee on human cytogenomic nomenclature including new sequence-based cytogenomic*. – Karger, 2016; 1-150.
8. Sandoval A, Consoli U, Plunkett W. Fludarabine-mediated inhibition of nucleotide excision repair induces apoptosis in quiescent human lymphocytes. // *Clin Cancer Res*. 1996; 2:1731-1741.
9. Welch J.S. Patterns of mutations in TP53 mutated AML. // *Best Pract. Res. Clin. Haematol*. 2018; 31(4):379-383.

Поступила 20.02.2023