

На правах рукописи



Москалев Александр Сергеевич

**РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ
БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ В РАЗВИТИИ РАКА ТОЛ-
СТОЙ КИШКИ В ПОПУЛЯЦИИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ РОССИИ**

1.5.7. Генетика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Белгород – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный кандидат медицинских наук, доцент
руководитель: **Бушуева Ольга Юрьевна**

Официальные **Викторова Татьяна Викторовна**
оппоненты: Доктор медицинских наук, профессор;
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой биологии;

Назаренко Мария Сергеевна
Доктор медицинских наук;
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Научно-исследовательский институт медицинской генетики, руководитель лаборатории популяционной генетики

Защита диссертации состоится «23» декабря 2022 г. в 12.00 на заседании диссертационного совета БелГУ.22.02 при ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» по адресу: 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» и на сайте <https://bsuedu.ru>.

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета БелГУ.22.02



И.Н. Сорокина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Колоректальный рак, или рак толстой кишки (РТК) составляет около 10 % всех ежегодно диагностируемых раковых заболеваний, а также случаев смерти, связанных с раком, во всем мире (Bray F. et al., 2018). Данные мировой статистики показывают, что это второй по распространенности рак, диагностируемый у женщин, и третий по частоте у мужчин (Dekker E. et al., 2019). Прогнозируется, что при продолжающемся прогрессировании РТК в развивающихся странах заболеваемость во всем мире вырастет в 2035 г. до 2,5 миллионов (Bray F. et al., 2018; Arnold M. et al., 2017).

РТК по своей природе представляет собой многофакторное заболевание, обусловленное совместным влиянием генетических и средовых факторов риска (Keum N. et al., 2019). Наследуемость РТК колеблется от 12 % до 35 % (Graff R. E. et al., 2017). Однако, несмотря на большое количество генетических исследований, в т.ч. широкогеномных исследований ассоциаций, молекулярные аспекты патогенеза данного заболевания до конца не изучены.

Воздействие неблагоприятных факторов окружающей среды является важной причиной развития РТК и роста его заболеваемости (Keum N. et al., 2019). Ферменты биотрансформации ксенобиотиков (ФБК) могут как детоксифицировать химические вещества, так и превращать их в высокотоксичные метаболиты при активации на этапах биотрансформации (Stipp M.C., et al., 2021). Учитывая, что желудочно-кишечный тракт подвергается обширному воздействию ксенобиотиков (Singh R., 2017) и проявляет высокую активность в процессах биотрансформации, исследования генетически детерминированных изменений активности ФБК в аспекте связи с РТК являются крайне актуальными.

Степень разработанности темы. За последнее десятилетие отмечен существенный прогресс в молекулярно-генетических исследованиях РТК, преимущественно благодаря GWAS, с помощью которых были идентифицированы порядка 60 ассоциативных сигналов более чем в 50 локусах (Tanikawa C. et al., 2018; Nikino K. et al., 2019; Kang B.W. et al., 2015). В то же время большинство генетических факторов, способствующих риску РТК, остаются неустановленными. Это существенно затрудняет понимание биологических процессов, лежащих в основе развития РТК и ограничивает возможности разработки лечебно-профилактических мероприятий.

Проведенные в мире работы уже установили значимую роль полиморфизма отдельных генов ФБК в развитии РТК (Xu L. et al., 2020; Koonrungsesomboon N. et al., 2018; He X.F. et al., 2014; Ding R. et al., 2012; Farmohammadi A. et al., 2020; Gorukmez O. et al., 2016). В то же время в России подобные исследования единичны. Фрагментарность проведенных в мире исследований, которые сосредоточены преимущественно на отдельных семействах генов ФБК, генетическая гетерогенность исследованных популяций не позволяют дать комплексную оценку вовлеченности генов ФБК в молекулярные механизмы развития РТК и оценить их роль в развитии РТК в популяции Центральной России. Кроме того,

отмечается существенный недостаток исследований межгенных и генно-средовых взаимодействий при РТК. Учитывая высокую степень функциональной сопряженности ферментов различных фаз биотрансформации ксенобиотиков и их ключевую роль в детоксикации РТК-ассоциированных проканцерогенов, анализ межгенных и генно-средовых взаимодействий представляется особенно актуальным. Также следует отметить, что полиморфные варианты генов ФБК недостаточно изучены с помощью биоинформатических подходов на предмет оценки их регуляторного потенциала и системных функциональных эффектов. Вышеизложенное диктует необходимость проведения комплексного анализа вовлеченности полиморфных вариантов генов ФБК в развитие РТК в популяции Центральной России.

Цель исследования. Провести комплексный анализ вовлеченности полиморфных вариантов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков в развитие рака толстой кишки в популяции Центральной России.

Задачи исследования:

1. Провести анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков I105V (rs1695) *GSTP1*, A114V (rs1799811) *GSTP1*, E158K (rs2266782) *FMO3*, P187S (rs1800566) *NQO1*, I462V (rs1048943) *CYP1A1*, -154A>C (rs762551) *CYP1A2*, -1295G>C (rs3813867) *CYP2E1*, V432L (rs1056836) *CYP1B1*, 590G>A (rs1799930) *NAT2*, 3435C>T (rs1045642) *MDR1*, +/- *GSTM1*, +/- *GSTT1* с риском развития рака толстой кишки в популяции Центральной России.

2. Исследовать пол-специфические эффекты в ассоциациях полиморфных локусов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с развитием рака толстой кишки.

3. Изучить межгенные взаимодействия, детерминирующие предрасположенность к развитию рака толстой кишки.

4. Установить основные средовые факторы риска колоректального рака и проанализировать генно-средовые взаимодействия, ассоциированные с развитием заболевания.

5. Определить влияние полиморфных вариантов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков на клинические проявления рака толстой кишки, такие как возраст манифестации заболевания и гистологический тип опухоли.

6. Провести комплексный биоинформатический анализ регуляторного потенциала генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков, ассоциированных с раком толстой кишки, и проанализировать молекулярные механизмы их вовлеченности в патогенез заболевания.

Научная новизна. Впервые проведен комплексный анализ ассоциаций полиморфных вариантов различных генов ФБК с развитием рака толстой кишки в популяции Центральной России и установлена связь отдельных генетических вариантов – rs1056836 *CYP1B1* и rs1045642 *MDR1* – с повышенным риском развития заболевания. Впервые установлены пол-специфические эффекты в ассоциациях отдельных полиморфных вариантов генов ФБК – rs1056836 *CYP1B1* и

rs1045642 *MDR1* – с развитием РТК и выявлены механизмы формирования обнаруженного полового диморфизма (связанные с совместной вовлеченностью РТК-ассоциированных SNPs в метаболизм эстрогенов). С помощью подхода MB-MDR установлены эпистатические взаимодействия между генетическими вариантами, которые вносят наиболее значимый вклад в формирование предрасположенности к РТК (rs1045642 *MDR1*, rs1056836 *CYP1B1*, rs1695 *GSTP1*, rs762551 *CYP1A2*, rs1800566 *NQO1*), проанализированы молекулярные механизмы их совместной вовлеченности в развитие заболевания. Впервые с помощью MB-MDR-анализа установлены модели генотип-среда, характеризующиеся наиболее значимым вкладом в формирование риска развития РТК и отражающие взаимодействия между rs1056836 *CYP1B1*, rs1045642 *MDR1*, rs1799930 *NAT2*, rs762551 *CYP1A2* и курением (основным модификатором риска развития РТК в популяции Центральной России). С использованием ресурса Comparative Toxicogenomics Database проведен анализ механизмов взаимодействия между компонентами сигаретного дыма и генами, вовлеченными в наиболее значимые модели генотип-среда при РТК. Впервые обнаружено влияние отдельных полиморфных вариантов генов ФБК на возраст манифестации РТК (rs1045642 *MDR1*, rs1056836 *CYP1B1*, rs1048943 *CYP1A1*) и гистологический тип опухоли (rs1056836 *CYP1B1*). Впервые выполнен комплексный *in silico* анализ регуляторного потенциала генов ФБК, ассоциированных с развитием РТК, и оценена их функциональная роль в развитии заболевания.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные результаты расширяют представления о генетической компоненте подверженности развитию рака толстой кишки в европейских популяциях и позволяют оценить вклад полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков в формирование предрасположенности к развитию заболевания в популяции Центральной России. Материалы данной работы открывают перспективу для дальнейшего изучения вовлеченности генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков в развитие и клиническое течение рака толстой кишки.

Материалы данного исследования внедрены в учебный процесс кафедры биологии, медицинской генетики и экологии при изучении дисциплины «генетика, медицинская экология» у студентов по направлению подготовки «Лечебное дело» и дисциплины «клиническая генетика» у студентов по направлению подготовки «Педиатрия».

Результаты исследования также внедрены в практическую деятельность врачей централизованной медико-генетической консультации Областного бюджетного учреждения здравоохранения «Курская областная многопрофильная клиническая больница» комитета здравоохранения Курской области, в практическую деятельность врачей отделения онкоколопроктологии и тазовой хирургии ОБУЗ «Курский онкологический научно-клинический центр им. Г.Е. Островерхова» комитета здравоохранения Курской области, что способствует улучшению оказания лечебно-профилактической помощи населению.

Методология и методы исследования. В основу методологии данного исследования были положены работы отечественных и зарубежных ученых в области генетики РТК. Работа выполнена на репрезентативных выборках больных РТК и контроля общей численностью 864 чел. Для молекулярно-генетического исследования были отобраны полиморфные варианты генов ФБК, характеризующиеся высоким регуляторным потенциалом и отражающие вовлеченность их белковых продуктов во все фазы биотрансформации ксенобиотиков. Генотипирование образцов ДНК выполнено методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием TaqMan-зондов на термоциклере CFX96™ Real-Time PCR Detection System, а также методом мультиплексной ПЦР. Генетико-статистический анализ осуществлялся с помощью современных программ – PLINK, R, MDR, GMDR, MB-MDR. Для оценки регуляторного потенциала и функциональных эффектов генетических вариантов, ассоциированных с РТК, использовались современные биоинформатические ресурсы – SNP FuncPred, HaploReg, rSNPBase, RegulomeDB, atSNP, QTLbase, GTex Portal, Blood eQTL browser, Gene Ontology, Enrichr, STRING, Comparative Toxicogenomics Database.

Положения, выносимые на защиту:

1. «Главные эффекты» однонуклеотидных полиморфизмов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков – аллеля G rs1056836 *CYP1B1* и аллеля A rs1045642 *MDR1* – связаны с повышенным риском развития РТК в популяции Центральной России и характеризуются выраженными пол-специфическими влияниями на развитие заболевания.
2. Взаимодействия между полиморфными вариантами генов ФБК демонстрируют высокую степень их вовлеченности в полигенные механизмы предрасположенности к РТК и обеспечиваются в первую очередь сложными механизмами взаимодействия между белковыми продуктами этих генов, совместно вовлеченных в метаболизм ксенобиотиков, активных форм кислорода, эстрогенов, жирных кислот, ретинола, апоптоз, аутофагию, ответ на цитокиновый стимул.
3. Патологические эффекты полиморфных локусов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков могут проявляться и/или усиливаться во взаимодействии с курением – наиболее значимым средовым фактором риска развития РТК в популяции Центральной России.
4. Полиморфизм генов ФБК ассоциирован с возрастом манифестации РТК и гистологическим типом опухоли.
5. Полиморфные варианты генов ФБК находятся в сфере компетенций разнообразных транскрипционных факторов и локусов количественных признаков экспрессии (eQTL), влияние которых на уровень экспрессии генов ФБК и их функциональные эффекты определяется носительством референсного/альтернативного аллелей.
6. Биологические пути реализации фенотипических эффектов полиморфных локусов генов ФБК характеризуются не только совместными эффектами исследованных генетических вариантов, но и cis-eQTL-опосредованной регуля-

цией 39 генов, вовлеченных в общие биологический процессы и имеющих высокое патогенетическое значение для развития РТК (метаболизм ксенобиотиков, жирных кислот, жирорастворимых витаминов, эстрогенов).

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности подтверждается достаточным числом участников исследования, подробной клинико-anamnestической характеристикой пациентов, адекватным формированием групп по полу и возрасту, общепринятыми в онкологии методами верификации диагноза, современными молекулярно-генетическими методами и методами генетико-статистического и биоинформатического анализа биомедицинских данных.

Материалы диссертационного исследования доложены на 3-й всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медико-биологические аспекты мультифакториальной патологии» (Курск, 2016), Singapore Health & Biomedical Congress «Forging a Sustainable Relationship-Based Healthcare System» (Singapore, 2016), Systems biology and bioinformatics (SBB-2018): the Tenth International young scientists school (Novosibirsk, 2018), на 84-й Международной научной конференции студентов и молодых ученых «Молодежная наука и современность», посвященной 84-летию КГМУ и 100-летию со дня рождения профессора Г.М. Ткаченко (Курск, 2019), на IX Съезде Российского общества медицинских генетиков (Москва, 2021), на Международном научном форуме «Наука и инновации – современные концепции» (Москва, 2022), на VII Междисциплинарном медицинском форуме с международным участием «Актуальные вопросы совершенствования медицинской помощи и медицинского образования» (Белгород, 2022).

Личный вклад автора. Лично диссертантом проведен анализ отечественных и зарубежных источников литературы по теме диссертации. Автор лично осуществлял сбор клинического и биологического материалов, проводил выделение образцов ДНК у пациентов и генотипирование 12 полиморфных локусов генов ФБК. Диссертант самостоятельно подготовил электронную базу данных пациентов, обрабатывал, анализировал, обобщал полученные данные, формировал текст диссертационного исследования.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе 4 статьи в журналах из перечня рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК РФ, из них 2 статьи в научных изданиях, включенных в мировые базы данных научного цитирования (Web of Science/Scopus).

Структура и объем и диссертации. Диссертационная работа имеет следующую структуру: введение, глава обзора литературы, глава материалов и методов исследования, глава результатов собственных исследований, обсуждение, выводы, практические рекомендации, список сокращений, список литературы и приложения. Работа представлена на 166 страницах машинописного текста, содержит 24 таблицы и 9 рисунков. Библиографический список используемой литературы включает 274 источника, из которых 270 зарубежные.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Материалом для настоящего исследования послужила выборка неродственных индивидов, русских, проживающих в Курской области, общей численностью 864 человека; все участники подписали добровольное информированное согласие на исследование. В исследование вошли 256 пациентов с РТК (134 мужчины, 122 женщины), которые находились на стационарном лечении в Курском областном клиническом онкологическом диспансере в период 2013-2017 гг. Группу сравнения составили 608 практически здоровых добровольцев (279 мужчин, 329 женщин) без хронических заболеваний в анамнезе. Исследуемые группы (больных РТК и контроля) были сопоставимы по полу ($P > 0,05$). Средний возраст больных РТК составил $66,92 \pm 9,68$ лет; средний возраст добровольцев контрольной группы – $67,89 \pm 7,40$ года ($P = 0,11$). Пациенты включались в группу больных только после верификации окончательного диагноза заболевания, подтвержденного гистологически. Исследование было одобрено Региональным этическим комитетом Курского государственного медицинского университета (Протокол № 5 от 1.07.2013 г.).

Молекулярно-генетические исследования. Выделение ДНК из образцов замороженной крови проводилось стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Для выполнения молекулярно-генетических исследований были отобраны полиморфные варианты генов ФБК с учетом следующих критериев: 1) участие в различных фазах биотрансформации ксенобиотиков; 2) экспрессия гена в толстой кишке; 3) частота минорного аллеля не менее 1 %; 4) потенциальная функциональная значимость включенных в исследование SNPs, установленная проведенными ранее экспериментальными исследованиями и/или предсказанная биоинформатически. Предсказание функциональной значимости SNPs осуществлялось с помощью ресурса SNPinfo Web Server (URL: <https://snpinf.niehs.nih.gov/snpinfo/snpfunc.html>). Анализ регуляторного потенциала SNPs осуществляли с использованием биоинформационных ресурсов SNP FuncPred, HaploReg, rSNPBase, RegulomeDB, atSNP, QTLbase, GTex Portal, HaploReg, Blood eQTL browser.

Всего в исследование были отобраны 12 генетических вариантов: 10 SNPs (rs1695 *GSTP1*, rs1799811 *GSTP1*, rs2266782 *FMO3*, rs1800566 *NQO1*, rs1048943 *CYP1A1*, rs762551 *CYP1A2*, rs3813867 *CYP2E1*, rs1056836 *CYP1B1*, rs1799930 *NAT2*, rs1045642 *ABCB1* (*MDR1*)), а также делеционные полиморфные варианты генов глутатион-S-трансфераз M1 и T1: +/0 *GSTM1*, +/0 *GSTT1*.

Генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов генов ФБК проводилось с помощью ПЦР в режиме реального времени на приборе CFX96 (Bio-Rad, США). Генотипирование делеционных полиморфизмов *GSTM1*/*GSTT1* проводилось методом мультиплексной ПЦР.

Оценку качества выполненного генотипирования осуществляли путем оценки доли успешно генотипированных образцов (показатель «call rate»), а также повторного генотипирования 10 % случайно отобранных образцов. Доля

определенных генотипов оценивалась по каждому генетическому варианту и в объединенной группе больных/контроля составила от 92,49 % до 99,54 %. Результаты повторного генотипирования отобранных образцов ДНК показали 100-процентную воспроизводимость первоначальных результатов генотипирования.

Статистический и биоинформатический анализ. Для сравнения категориальных переменных между группами пользовались критерием χ^2 , количественных переменных – критерием Стьюдента/Манна-Уитни. Оценка соответствия распределения частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга осуществлялась с использованием критерия χ^2 . Ассоциации средовых факторов с риском развития РТК оценивали по величине отношения шансов (OR). Расчеты проведены с использованием программной среды R.

Ассоциации генотипов с риском развития РТК оценивали по величине отношения шансов (OR). Анализ ассоциаций генотипов с риском развития РТК осуществляли методом логистического регрессионного анализа с помощью программного обеспечения PLINK v1.07 (URL:<https://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>). Тестировалась аддитивная регрессионная модель с поправкой на курение. Коррекцию на множественные сравнения с учетом количества тестируемых генетических вариантов проводили с помощью адаптивного пермутационного теста (P_{perm}). За статистически значимый уровень принимали $P_{perm} \leq 0,05$.

Анализ межгенных ($G \times G$) и генно-средовых ($G \times E$) взаимодействий осуществляли путем тестирования двух-, трех- и четырехлокусных/уровневых моделей методом Model-Based-MDR (MB-MDR) с помощью статистического пакета mbmdr для R (Calle M. L. et al., 2010). Модели $G \times G$ -взаимодействий оценивались с учетом коррекции на курение. При анализе $G \times E$ -взаимодействий методом MB-MDR в качестве средового фактора риска также анализировалось курение. Расчеты выполняли с использованием программного обеспечения MB-MDR (Version 2.6) для среды R. Коррекцию на множественные сравнения проводили с помощью программного обеспечения GMDR (software Beta 0.9) (URL:<http://sourceforge.net/projects/gmdr>). Выполнялось 1000 пермутаций при 10 кросс-валидациях.

Визуализацию $G \times G$ - и $G \times E$ -взаимодействий, с оценкой характера (синергизм, антагонизм, аддитивное действие) и силы взаимодействий выполняли методом MDR с использованием программного обеспечения MDR v3.0.2 (URL:<http://sourceforge.net/projects/mdr>) (Hahn L. W. et al., 2003).

Для оценки влияния связывания транскрипционных факторов с ДНК в зависимости от носительства референсного/альтернативного аллелей пользовались online-инструментом atSNP Function Prediction (URL:<https://snpinfo.niehs.nih.gov/snpinfo/snpfunc.html>). Для оценки влияния носительства референсного/альтернативного аллеля на eQTL-ассоциированный уровень генной экспрессии в патогенетически значимых для развития РТК органах и тканях пользовались ресурсом GTEx Portal (URL:<https://gtexportal.org/home/>) и поисковым запросом GTEx eQTL Calculator (URL:<https://gtexportal.org/home/testyourown>). Дополнительно с использованием ресурса GTEx Portal (URL:<https://gtexportal.org/home/>) был проведен анализ влияния полиморфных вариантов генов, показавших связь с раз-

витиём РТК, на cis-eQTL-ассоциированный уровень экспрессии генов в других органах и тканях. Затем с использованием ресурсов Gene Ontology (URL:www.geneontology.org/) и Enrichr (URL:https://maayanlab.cloud/Enrichr/) был проведен анализ совместного участия РТК-связанных генов и cis-eQTL-ассоциированных генов в общих биологических процессах и патогенетических путях, связанных с патогенезом заболевания. Уровень значимости генных онтологий с учетом множественных тестов оценивался процедурой FDR (False Discovery Rate) (Benjamini Y., Hochberg Y., 1995). Для анализа модификаций гистонов дополнительно был использован ресурс HaploRegv.4 (URL:https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php). Для анализа механизмов взаимодействия между генетическими вариантами, вовлеченными в наиболее значимые межгенные взаимодействия, а также для поиска основных биологических процессов и метаболических путей, контролируемых данными генами, были привлечены биоинформатические инструменты базы данных STRING Database v10.5 (URL:https://string-db.org/) (Szklarczyk et al., 2017).

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов ФБК с предрасположенностью к раку толстой кишки. Распределения частот генотипов всех SNPs в контрольной группе соответствовали ожидаемым значениям равновесия Харди-Вайнберга ($P > 0,05$). При этом у больных РТК при анализе rs3813867 *CYP2E1* и rs1799811 *GSTP1* отмечено снижение наблюдаемой гетерозиготности ($P < 0,05$ и $P < 0,01$ соответственно).

Результаты проведенного анализа ассоциаций выявили связь двух генетических вариантов – rs1056836 *CYP1B1* (OR=1,29; 95%CI=1,03-1,60; $P_{\text{perm}}=0,022$) и rs1045642 *MDR1* (OR=1,39; 95%CI=1,12-1,73; $P_{\text{perm}}=0,002$) – с повышенным риском развития РТК (таблица 1).

Последующий анализ ассоциаций полиморфных локусов генов ФБК с риском развития РТК в группах пациентов, стратифицированных по полу, показал, что rs1056836 *CYP1B1* (OR=1,40; 95%CI=1,03-1,91; $P_{\text{perm}}=0,009$; аллель риска – G) и rs1045642 *MDR1* (OR=1,55; 95%CI=1,45-2,10; $P_{\text{perm}}=0,003$; аллель риска – A) связаны с развитием РТК исключительно у женщин.

Затем был проведен анализ связи полиморфных вариантов генов ФБК с возрастом манифестации РТК. В качестве пограничного для разделения зависимости от возраста манифестации болезни был выбран средний возраст пациентов ($66,9 \pm 9,7$). С ранней манифестацией РТК (до 66,9 лет включительно) ассоциировался rs1045642 *MDR1* (OR=1,52; 95%CI=1,11-2,09; $P_{\text{perm}}=0,009$; аллель риска – A). При этом с поздней манифестацией РТК (67 лет и старше) были связаны 2 SNPs: аллель G rs1056836 *CYP1B1* – с повышенным риском (OR=1,61; 95%CI=1,18-2,20; $P_{\text{perm}}=0,003$); аллель C rs1048943 *CYP1A1* – с пониженным риском развития РТК (OR=0,40; 95%CI=0,20-0,81; $P_{\text{perm}}=0,01$).

Последующий анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов ФБК в зависимости от гистологического типа опухоли установил связь rs1056836

CYP1B1 с высокодифференцированной аденокарциномой (OR=1,42; 95% CI=1,10-1,84; $P_{\text{perm}}=0,009$; аллель риска – G).

Таблица 1 – Результаты анализа ассоциаций исследуемых генетических маркеров с развитием РТК

| Ген | Генетический вариант | A1 | N | OR | 95 % CI | | P | N _{perm} | P _{perm} |
|---------------|----------------------|----|-----|------|---------|------|--------------|-------------------|-------------------|
| | | | | | L95 | U95 | | | |
| <i>GSTM1</i> | +/-0 | 0 | 848 | 0,94 | 0,81 | 1,10 | 0,446 | 41 | 0,333 |
| <i>FMO3</i> | rs2266782 | A | 818 | 1,00 | 0,81 | 1,25 | 0,969 | 6 | 1 |
| <i>CYP1B1</i> | rs1056836 | G | 803 | 1,29 | 1,03 | 1,60 | 0,025 | 916 | 0,022 |
| <i>MDR1</i> | rs1045642 | A | 827 | 1,39 | 1,12 | 1,73 | 0,002 | 10208 | 0,002 |
| <i>NAT2</i> | rs1799930 | A | 850 | 0,86 | 0,69 | 1,08 | 0,202 | 55 | 0,268 |
| <i>CYP2E1</i> | rs3813867 | C | 800 | 1,15 | 0,56 | 2,36 | 0,700 | 16 | 0,588 |
| <i>GSTP1</i> | rs1695 | G | 861 | 0,93 | 0,74 | 1,16 | 0,495 | 22 | 0,478 |
| <i>GSTP1</i> | rs1799811 | T | 829 | 0,78 | 0,54 | 1,14 | 0,201 | 57 | 0,259 |
| <i>CYP1A1</i> | rs1048943 | C | 815 | 0,76 | 0,48 | 1,20 | 0,234 | 46 | 0,319 |
| <i>CYP1A2</i> | rs762551 | C | 808 | 1,20 | 0,96 | 1,49 | 0,103 | 159 | 0,113 |
| <i>NQO1</i> | rs1800566 | A | 822 | 0,83 | 0,63 | 1,09 | 0,182 | 77 | 0,205 |
| <i>GSTT1</i> | +/-0 | 0 | 848 | 0,86 | 0,71 | 1,05 | 0,135 | 101 | 0,167 |

Представлены результаты лог-аддитивной регрессионной модели; расчеты выполнены с учетом коррекции на курение; статистически значимые ассоциации отмечены жирным шрифтом; A1 – минорный аллель; OR – отношение шансов; 95 % CI – 95 % доверительный интервал; L95 – нижняя граница 95 % CI, U95 – верхняя граница 95 % CI; P – P-уровень значимости; N_{perm} – количество пермутаций; P_{perm} – P-уровень значимости для адаптивного пермутационного теста

Анализ межгенных взаимодействий, детерминирующих предрасположенность к развитию рака толстой кишки. Использование метода MB-MDR позволило выявить 10 наиболее значимых G×G-моделей, ассоциированных с развитием РТК, ($P_{\text{perm}} \leq 0,01$) (таблица 2). Рассчитанные с помощью метода GMDR показатели кросс-валидации для всех этих моделей свидетельствуют об их 100-процентной воспроизводимости (CVC=10/10, $P_{\text{perm}} \leq 0,001$). Визуализация полученных результатов в виде дендрограммы показала, что G×G-взаимодействия между исследуемыми полиморфными локусами характеризуются преимущественно умеренным и выраженным антагонизмом (рисунок 1).



Рисунок 1 – Дендрограмма наиболее значимых G×G-взаимодействий, ассоциированных с РТК (получена методом MDR). Цвет линии отражает характер взаимодействия: зеленый и синий – умеренный и выраженный антагонизм

Таблица 2 – Наилучшие модели межгенных взаимодействий, ассоциированных с предрасположенностью к РТК (моделирование методом Model-Based Multifactor Dimensionality Reduction)

| Модели межгенных взаимодействий | NH | beta H | WH | NL | beta L | WL | Wmax | P _{perm} |
|---|----|--------|--------|----|--------|--------|--------|-------------------|
| Наилучшие двухлокусные модели межгенных взаимодействий (для моделей с P _{min.} ≤ 0,0002, 1000 пермутаций) | | | | | | | | |
| <i>MDR1 rs1045642×CYP1B1 rs1056836</i> | 3 | 0,152 | 17,013 | 1 | -0,121 | 6,296 | 17,013 | 0,006 |
| <i>GSTP1 rs1695×CYP1B1 rs1056836</i> | 1 | 0,218 | 14,688 | 1 | -0,066 | 3,103 | 14,688 | 0,008 |
| <i>NQO1 rs1800566×CYP1B1 rs1056836</i> | 2 | 0,116 | 7,684 | 2 | -0,200 | 13,581 | 13,581 | 0,005 |
| Наилучшие трехлокусные модели межгенных взаимодействий (для моделей с P _{min.} ≤ 2×10 ⁻⁶ , 1000 пермутаций) | | | | | | | | |
| <i>GSTP1 rs1695×MDR1 rs1045642×CYP1B1 rs1056836</i> | 6 | 0,208 | 28,179 | 4 | -0,203 | 19,328 | 28,18 | 0,001 |
| <i>NQO1 rs1800566×CYP1A2 rs762551×CYP1B1 rs1056836</i> | 2 | 0,376 | 23,730 | 1 | -0,267 | 8,795 | 23,73 | 0,003 |
| <i>NQO1 rs1800566×MDR1 rs1045642×CYP1B1 rs1056836</i> | 2 | 0,241 | 10,719 | 3 | -0,297 | 23,123 | 23,12 | 0,007 |
| Наилучшие четырехлокусные модели межгенных взаимодействий (для моделей с P _{min.} ≤ 1×10 ⁻⁹ , 1000 пермутаций) | | | | | | | | |
| <i>CYP1A2 rs762551×GSTP1 rs1695×CYP1B1 rs1056836× FMO3 rs2266782</i> | 9 | 0,355 | 41,080 | 2 | -0,231 | 6,252 | 41,08 | 0,001 |
| <i>NQO1 rs1800566×CYP1A2 rs762551×GSTP1 rs1695×CYP1B1 rs1056836</i> | 6 | 0,438 | 39,431 | 3 | -0,267 | 15,335 | 39,43 | 0,004 |
| <i>NQO1 rs1800566×CYP1A2 rs762551× GSTP1 rs1695× MDR1 rs1045642</i> | 5 | 0,436 | 38,883 | 5 | -0,290 | 31,853 | 38,88 | 0,003 |
| <i>CYP1A2 rs762551×GSTP1 rs1695×MDR1 rs1045642× CYP1B1 rs1056836</i> | 12 | 0,332 | 47,856 | 5 | -0,238 | 22,179 | 47,86 | 0,005 |
| NH – количество взаимодействующих генотипов высокого риска; beta H – коэффициент регрессии для взаимодействий высокого риска; WH – статистика Вальда для взаимодействий высокого риска; NL – количество взаимодействующих генотипов низкого риска; beta L – коэффициент регрессии для взаимодействий низкого риска; WL – статистика Вальда для взаимодействий низкого риска; Wmax – максимальные показатели статистики Вальда; P _{perm} – пермутационные Р-уровни значимости (скорректированы по курению); жирным шрифтом отмечены локусы, вошедшие в 2 и более лучшие G×G-модели. | | | | | | | | |

Для изучения функциональной роли генов, вовлеченных в наиболее значимые межгенные взаимодействия, использовались биоинформатические инструменты базы данных STRING, с помощью которой была построена интерактивная сеть белок-белковых взаимодействий (рисунок 2).

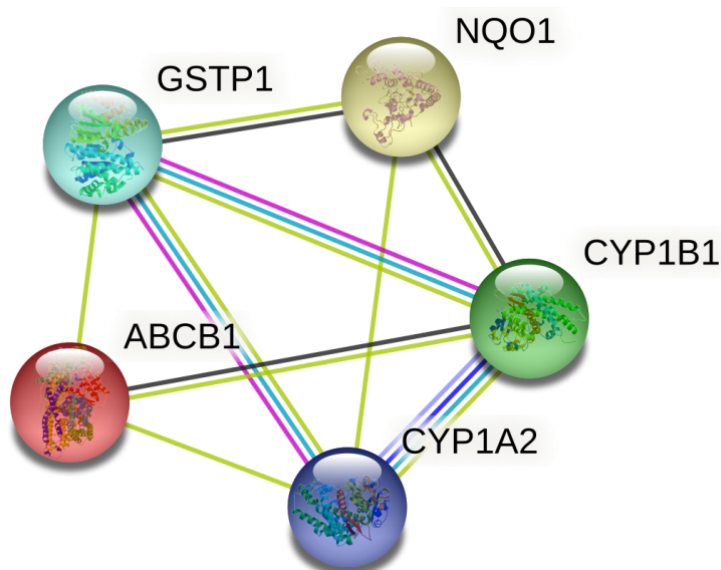


Рисунок 2 – Интерактивная сеть, отражающая взаимодействия между белковыми продуктами генов, вовлеченных в наиболее значимые G×G-взаимодействия.

Цвет линий отражает совместное участие белков в детерминации общей функции:

- | | |
|--|--|
| | – получены из различных биоинформатических баз данных; |
| | – определены экспериментально; |
| | – отражают слияния генов; |
| | – отражают общее происхождение генов; |
| | – получены из различных литературных источников; |
| | – отражают совместную экспрессию белков; |
| | – представляют собой белковые гомологи |

P-значение коэффициента «обогащения» для данной сети (PPI enrichment p-value) составило $4,82 \times 10^{-13}$.

Анализ результатов полученного с помощью ресурса STRING функционального обогащения интерактивной сети при РТК выявил основные биологические процессы, отражающие взаимодействия между данными генами/белками: GO:0006805 (процесс метаболизма ксенобиотиков, FDR=0,0001); GO:1903409 (процесс биосинтеза активных форм кислорода, FDR=0,0001); GO:0097267 (путь омега-гидроксилазы P450, FDR=0,006); GO:0033559 (процесс метаболизма ненасыщенных жирных кислот; FDR=0,006); GO:0120254 (процесс метаболизма олефиновых соединений, FDR=0,006); GO:0006690 (процесс метаболизма эйкозаноидов, FDR=0,006); GO:0001676 (процесс метаболизма длинноцепочечных жирных кислот, FDR=0,006); GO:0032355 (ответ на эстрадиол, FDR=0,006); GO:0006809 (процесс биосинтеза оксида азота, FDR=0,008); GO:0009404 (процесс метаболизма токсинов, FDR=0,009); GO:0019373 (путь эпоксигеназы P450, FDR=0,01); GO:0000302 (ответ на активные формы кислорода, FDR=0,01);

GO:0034599 (клеточный ответ на окислительный стресс, FDR=0,02); GO:0014070 (ответ на органическое циклическое соединение, FDR=0,02); GO:0008210 (процесс метаболизма эстрогена, FDR=0,02); GO:0042759 (процесс биосинтеза длинноцепочечных жирных кислот, FDR=0,02); GO:0042572 (процесс метаболизма ретинола, FDR=0,04).

Согласно базе данных STRING, наиболее значимыми функциональными партнерами генов, вовлеченных в наилучшие G×G-модели при РТК, являются *TP53*, *NAT2*, *MAPK8*, *JUN*, *GAPDH*, которые совместно с генами ФБК участвуют в биологических процессах регуляции окислительного стресса, апоптоза, аутофагии, клеточного ответа на цитокиновый стимул.

Анализ генно-средовых взаимодействий, детерминирующих предрасположенность к развитию рака толстой кишки. Для моделирования генно-средовых (G×E) взаимодействий было выбрано курение (в связи с установленной значимостью данного средового фактора для развития РТК в популяции Центральной России). В таблице 3 представлены наилучшие двух-, трех- и четырех-уровневые G×E-модели, ассоциированные с развитием РТК. Показатели кросс-валидации этих моделей, рассчитанные в программе GMDR, показали их 100-процентную воспроизводимость (CVC=10/10, $P_{\text{perm}} \leq 0,001$).

Визуализация результатов выполненного методом MDR анализа генно-средовых взаимодействий представлена в виде графа (рисунок 3).

Во-первых, следует отметить, что курение во взаимодействии с SNPs, вовлеченными в 2 и более наилучших моделей G×E-взаимодействий, характеризуется умеренным и выраженным антагонизмом. Во-вторых, вклад курения в энтропию РТК максимален (составляет 6,37 %) и превышает энтропию генно-средовых взаимодействий (-2,66 % – -4,65 %). В-третьих, среди SNPs, вовлеченных в наиболее значимые G×E-взаимодействия, самым выраженным «моноэффектом» характеризуется rs762551 *CYP1A2* (3,35 % энтропии). В-четвертых, процент энтропии генно-средовых взаимодействий SNPs (-2,66% – -4,65%) превышает моноэффекты данных генетических вариантов (0,81% – 3,35%) (рисунок 3).

Резюмируя результаты проведенного анализа ассоциаций отдельных генетических вариантов, межгенных и генно-средовых взаимодействий можно сделать вывод о том, что с развитием РТК ассоциированы 7 SNPs: rs1056836 *CYP1B1*, rs1045642 *MDR1*, rs1799930 *NAT2*, rs1695 *GSTP1*, rs1048943 *CYP1A1*, rs762551 *CYP1A2*, rs1800566 *NQO1*.

Анализ функциональной роли SNPs, ассоциированных с раком толстой кишки. С помощью ресурса atSNP были проанализировали транскрипционные факторы, которые связываются с участками ДНК, расположенными в области локализации SNPs генов ФБК, ассоциированных с развитием РТК по результатам данного исследования. Наибольшее количество транскрипционных факторов, связывающихся с референсным/альтернативным аллелями, характерно для полиморфных вариантов *CYP1A1* (rs1048943), *CYP1A2* (rs762551) – 27 и 28 соответственно; наименьшее – для rs1056836 *CYP1B1* (12).

Таблица 3 – Наилучшие модели генно-средовых взаимодействий, ассоциированных с предрасположенностью к РТК (моделирование методом Model-Based Multifactor Dimensionality Reduction)

| Модели межгенных взаимодействий | NH | beta H | WH | NL | beta L | WL | Wmax | Pperm |
|---|----|--------|--------|----|--------|--------|-------|-------|
| Наилучшие двухлокусные модели межгенных взаимодействий (для моделей с $P_{min.} \leq 0,001$, 1000 пермутаций) | | | | | | | | |
| КУРЕНИЕ× <i>MDR1</i> rs1045642 | 2 | 0,116 | 10,848 | 1 | -0,102 | 3,165 | 10,85 | 0,019 |
| Наилучшие трехлокусные модели межгенных взаимодействий (для моделей с $P_{min.} \leq 0,0003$, 1000 пермутаций) | | | | | | | | |
| КУРЕНИЕ× <i>MDR1</i> rs1045642×<i>CYP1B1</i> rs1056836 | 3 | 0,193 | 18,589 | 1 | -0,098 | 3,459 | 18,59 | 0,008 |
| КУРЕНИЕ× <i>GSTP1</i> rs1799811×<i>NAT2</i> rs1799930 | 4 | 0,339 | 10,092 | 3 | -0,155 | 13,087 | 13,08 | 0,023 |
| КУРЕНИЕ× <i>CYP2A2</i> rs762551×<i>GSTP1</i> rs1695 | 2 | 0,237 | 13,557 | 0 | NA | NA | 13,56 | 0,036 |
| Наилучшие четырехлокусные модели межгенных взаимодействий (для моделей с $P_{min.} \leq 1 \times 10^{-7}$, 1000 пермутаций) | | | | | | | | |
| КУРЕНИЕ× <i>NAT2</i> rs1799930×<i>MDR1</i> rs1045642× <i>CYP1B1</i> rs1056836 | 5 | 0,349 | 35,045 | 1 | -0,254 | 3,050 | 35,04 | 0,003 |
| КУРЕНИЕ× <i>NQO1</i> rs1800566×<i>CYP2A2</i> rs762551× <i>CYP1B1</i>×rs1056836 | 4 | 0,420 | 29,308 | 2 | -0,209 | 8,597 | 29,31 | 0,016 |
| <p>NH – количество взаимодействующих генотипов высокого риска;</p> <p>beta H – коэффициент регрессии для взаимодействий высокого риска, выявленных на 2-м этапе анализа;</p> <p>WH – статистика Вальда для взаимодействий высокого риска;</p> <p>NL – количество взаимодействующих генотипов низкого риска;</p> <p>beta L – коэффициент регрессии для взаимодействий низкого риска, выявленных на 2-м этапе анализа;</p> <p>WL – статистика Вальда для взаимодействий низкого риска;</p> <p>Wmax – максимальные показатели статистики Вальда;</p> <p>Pperm – пермутационные уровни значимости для моделей (все модели скорректированы по курению);</p> <p>полужирным шрифтом отмечены локусы, вошедшие в 2 и более наилучшие G×E-модели</p> | | | | | | | | |

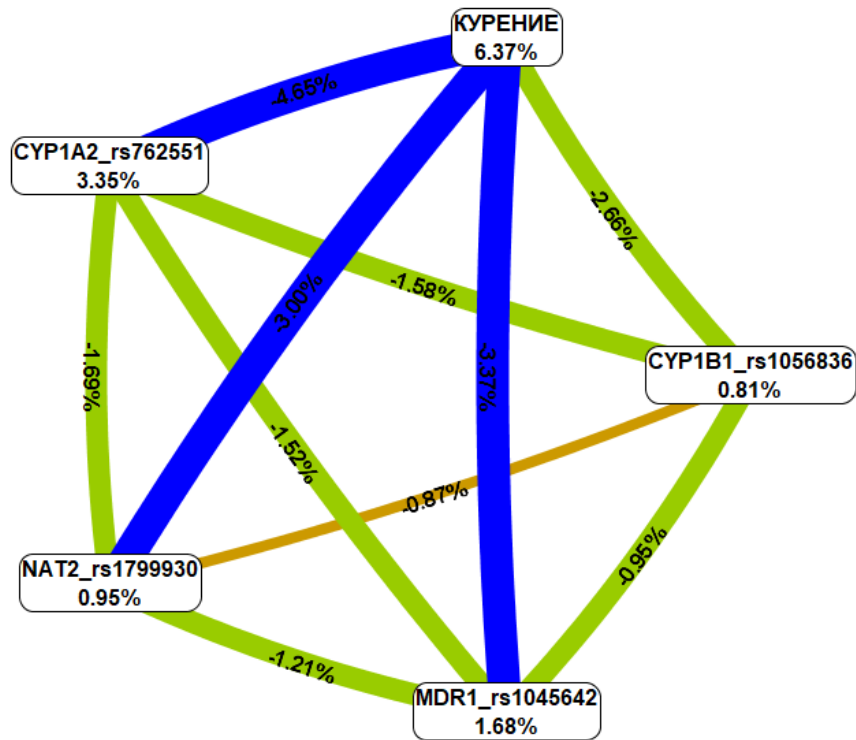


Рисунок 3 – Граф, отражающий структуру и силу наиболее значимых G×E-взаимодействий, ассоциированных с РТК. Коричневый цвет отражает аддитивное действие генов, а зеленый и синий – антагонизм; % отражает силу и направленность эффекта взаимодействия генов (% энтропии)

Для оценки влияния SNPs, ассоциированных с развитием РТК, на уровень экспрессии соответствующих генов в патогенетически важных для развития РТК органах и тканях (толстая кишка, печень, цельная кровь) был привлечен ресурс GTExPortal и поисковый запрос eQTLcalculator. Установлено, что аллель G rs1695 ассоциирован со снижением экспрессии *GSTP1* в сигмовидной кишке ($P=6,0 \times 10^{-6}$), поперечной ободочной кишке ($P=0,0007$), цельной крови ($P=0,001$); аллель A rs1800566 – с повышением экспрессии *NQO1* в поперечной ободочной кишке; аллель C rs1056836 – с повышением экспрессии *CYP1B1* в поперечной ободочной кишке ($P=0,017$), печени ($P=6,0 \times 10^{-5}$); аллель A rs1799930 – со снижением экспрессии *NAT2* в печени ($P=0,0001$).

С использованием ресурса NaploReg v.4 дополнительно проведен анализ влияния РТК-ассоциированных генетических вариантов на модификации гистонов: метилирование лизина 4 гистона H3 (H3K4me1); метилирование 4-го остатка лизина белка гистона H3 (H3K4me3); ацетилирование на 9-м остатке лизина белка гистона H3 (H3K9ac); ацетилирование на 27-м остатке лизина белка гистона H3 (H3K27ac). Установлено, что аллель G rs1695 *GSTP1* связан с H3K4me1, H3K27ac в различных отделах толстой и прямой кишки, печени; с H3K4me3, H3K9ac в различных отделах толстой и прямой кишки. Аллель A rs762551 *CYP1A2* влияет на все исследуемые модификации гистонов в печени; аллель A *NQO1* – ассоциирован с H3K27ac во всех представленных ресурсом NaploReg v.4 отделах толстой кишки, а также с H3K4me1 и H3K4me3 в слизистой

оболочке прямой кишки, предполагая выраженную эпигенетическую регуляцию генов, связанных с РТК, в патогенетически значимых для развития данного заболевания тканях.

С использованием ресурса GTExPortal также установлено, что SNPs, ассоциированные с развитием РТК, значимо связаны ($P_{FDR} \leq 0,05$) с уровнем экспрессии mRNA 39 генов в различных тканях и органах посредством cis-eQTL-эффектов. Функциональная роль данных генов в развитии РТК, изученная с использованием биоинформатического ресурса Enrichr, может определяться их совместным участием в GO, имеющих отношение к патогенезу РТК через регуляцию метаболизма ксенобиотиков, жирных кислот, витаминов, эстрогенов, в т.ч. посредством таких GO, как GO:0097267 (путь омега-гидроксилазы P450: $P_{adj} = 0,0003$); GO:0034308 (процесс метаболизма алкоголя: $P_{adj} = 0,0003$); GO:0019373 (путь эпоксигеназы P450: $P_{adj} = 0,001$); GO:0042572 (процесс метаболизма ретинола: $P_{adj} = 0,001$); GO:0008210 (процесс метаболизма эстрогенов: $P_{adj} = 0,002$); GO:0042759 (процесс биосинтеза длинноцепочечных жирных кислот: $P_{adj} = 0,002$); GO:0001676 (процесс метаболизма длинноцепочечных жирных кислот: $P_{adj} = 0,002$); GO:0008202 (процесс метаболизма стероидов: $P_{adj} = 0,004$); GO:0019369 (процесс метаболизма арахидоновой кислоты: $P_{adj} = 0,01$); GO:0042359 (процесс метаболизма витамина D: $P_{adj} = 0,016$); GO:0001523 (процесс метаболизма ретиноидов: $P_{adj} = 0,03$); GO:0006775 (метаболизм жирорастворимых витаминов: $P_{adj} = 0,035$).

Таким образом, полиморфные варианты генов ФБК вносят значимый вклад в генетическую компоненту подверженности РТК и влияют как на риск развития заболевания, так и на клинические проявления, а также определяют выраженный половой диморфизм в ассоциациях генетических маркеров. Молекулярные механизмы вовлеченности исследованных полиморфных вариантов генов ФБК определяются их ролью не только в метаболизме ксенобиотиков, но и в регуляции окислительного стресса, метаболизме эстрогенов, жирных кислот, витаминов, в первую очередь жирорастворимых.

Выводы

1. Установлена статистически значимая связь аллеля G rs1056836 *CYP1B1* ($OR = 1,29$, $95\%CI = 1,03-1,60$, $P_{perm} = 0,022$) и аллеля A rs1045642 *MDR1* ($OR = 1,39$, $95\%CI = 1,12-1,73$, $P_{perm} = 0,002$) с повышенным риском развития рака толстой кишки в популяции Центральной России.

2. В отношении ассоциаций полиморфных вариантов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с развитием РТК наблюдаются выраженные пол-специфические эффекты: rs1056836 *CYP1B1* ($OR = 1,40$, $95\%CI = 1,03-1,91$, $P_{perm} = 0,009$) и rs1045642 *MDR1* ($OR = 1,55$, $95\%CI = 1,15-2,10$, $P_{perm} = 0,003$) связаны с развитием заболевания исключительно у женщин.

3. С помощью метода MB-MDR было установлено, что формирование РТК определяется эпистатическими взаимодействиями между 5 SNPs: rs1045642 *MDR1*, rs1056836 *CYP1B1*, rs1695 *GSTP1*, rs762551 *CYP1A2*, rs1800566 *NQO1*, совместно вовлеченными в метаболизм активных форм кислорода, ксенобиоти-

ков, жирных кислот, эстрогенов, ретинола. Наиболее значимыми функциональными партнерами данных генетических вариантов являются *TP53*, *NAT2*, *MAPK8*, *JUN*, *GAPDH*, патогенетическое значение которых для развития заболевания определяется их ролью в регуляции апоптоза, аутофагии, окислительного стресса, ответа на цитокиновый стимул.

4. Установлено, что курение является значимым модификатором риска развития рака толстой кишки у жителей Центральной России и совместно с SNPs rs1056836 *CYP1B1*, rs1045642 *MDR1*, rs1799930 *NAT2* и rs762551 *CYP1A2* формирует наиболее значимые взаимодействия генотип-среда. Курение во взаимодействии с данными SNPs характеризуется умеренным и выраженным антагонистическим влиянием на подверженность развитию колоректального рака.

5. Обнаружено, что полиморфные варианты генов ФБК связаны с клиническими проявлениями РТК. С ранним возрастом манифестации РТК (до 66,9 лет включительно) ассоциирован rs1045642 *MDR1* (OR=1,52, 95%CI=1,11-2,09, $P_{\text{perm}}=0,009$). С поздним возрастом манифестации (67 лет и старше) связаны rs1056836 *CYP1B1* (OR=1,61, 95%CI=1,18-2,20, $P_{\text{perm}}=0,003$) и rs1048943 *CYP1A1* (OR=0,40, 95%CI=0,20-0,81, $P_{\text{perm}}=0,01$).

6. Полиморфные варианты генов ФБК, ассоциированные с развитием рака толстой кишки, характеризуются высоким регуляторным потенциалом. Cis-eQTL-опосредованное влияние на генную экспрессию в патогенетически значимых для развития РТК тканях имеют rs1695 *GSTP1*, rs762551 *CYP1A2*, rs1800566 *NQO1*, rs1056836 *CYP1B1*, rs1799930 *NAT2*. Тканеспецифические модификации гистонов установлены для rs1695 *GSTP1*, rs1800566 *NQO1*. SNPs rs1056836 *CYP1B1*, rs1045642 *MDR1*, rs1799930 *NAT2*, rs1695 *GSTP1*, rs1048943 *CYP1A1*, rs762551 *CYP1A2*, rs1800566 *NQO1* значимо связаны ($P_{\text{FDR}} \leq 0,05$) с cis-eQTL 39 генов в различных тканях и органах, совместно участвующих в биологических процессах, вовлеченных в метаболизм ксенобиотиков, жирных кислот, жирорастворимых витаминов, эстрогенов.

Практические рекомендации

1. Для оценки индивидуального риска развития РТК в популяции Центральной России рекомендуется проведение молекулярно-генетического тестирования генетических вариантов rs1056836 гена *CYP1B1* и rs1045642 гена *MDR1*: маркерами высокого риска развития заболевания являются аллель G rs1056836 *CYP1B1* и аллель A rs1045642 гена *MDR1*.

2. Для выявления пациентов с повышенным риском развития РТК в возрастной группе младше 67 лет использовать генетическое тестирование rs1045642 *MDR1*: маркером высокого риска развития заболевания является аллель A rs1045642 гена *MDR1*.

3. Для формирования среди населения групп риска по развитию РТК в возрастной группе 67 лет и старше использовать генетическое тестирование rs1056836 *CYP1B1* и rs1048943 *CYP1A1*: маркером высокого риска развития заболевания является аллель G rs1056836 *CYP1B1*; маркером низкого риска развития РТК – аллель C rs1048943 *CYP1A1*.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. Исследование взаимосвязи полиморфизмов I462V гена CYP1A1 и-9-154C> А гена CYP1A2 с риском развития колоректального рака у русских жителей Центральной России / **А. С. Москалев**, В. О. Солдатов, И. Н. Вдовина [и др.] // Медицинская генетика. – 2017. – Т. 16, № 3. – С. 41-45. – 0,28 п.л. (личный вклад автора – 0,196 п.л.)
2. Ассоциация полиморфного варианта C3435T (rs1045642) гена *MDR1* с повышенным риском развития колоректального рака у русских женщин Центральной России / **А. С. Москалев**, Е. М. Барышева, В. О. Солдатов [и др.] // Генетика. – 2019. – Т. 55, № 12. – С. 1417-1423. (**Web of Science, Scopus**). – 0,4 п.л. (личный вклад автора – 0,28 п.л.)
3. **Moskalev, A. S.** Association of L432V (rs1056836) polymorphism of the CYP1B1 gene with the increased risk of colorectal cancer in the population of Central Russia / **A. S. Moskalev** // Research Results in Biomedicine. – 2020. – Vol. 6, № 3. – P. 318-322. (**Scopus**). – 0,28 п.л. (личный вклад автора – 0,28 п.л.)
4. Полиморфизм генов цитохрома P450 CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 и риск колоректального рака в популяции Центральной России / **А.С. Москалев**, Ф.В. Подольский, С.М. Зайцев [и др.] // Медицинская генетика. – 2020. – Т. 19, № 6. – С. 60-61. – 0,11 п.л. (личный вклад автора - 0,077 п.л.)

Публикации в других изданиях:

5. Изучение ассоциации полиморфизма I114V гена GSTP1 с развитием колоректального рака у русских жителей Центральной России / **А. С. Москалев**, Е. М. Барышева, А. С. Барышев [и др.] // Медико-биологические аспекты мультифакториальной патологии : сборник материалов 3 всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Курск, 17-19 мая 2016 г. / КГМУ, Рос. о-во мед. генетиков, РАЕН ; пред. оргкомитета В.А. Лазаренко. – Курск, 2016. – С. 69-70. – 0,11 п.л. (личный вклад автора – 0,077 п.л.)
6. Glutathione S-Transferases M1 and T1 Gene Polymorphisms and the Risk of Colorectal Cancer in Russians / E. V. Prazdnova, A. V. Polonikov, **A. S. Moskalev** [et al.] // Annals Academy of Medicine, Singapore. – 2016. – Vol. 45, № 9, suppl. : Proceedings of the Singapore Health & Biomedical Congress «Forging a Sustainable Relationship-Based Healthcare System», 23-24 September 2016. – P. S153. – 0,05 п.л. (личный вклад автора – 0,035 п.л.)
7. Association of MDR1 gene C3435T (rs1045642) polymorphism with colorectal cancer in the population of Central Russia / **A. S. Moskalev**, E. M. Barysheva, O. Yu. Bushueva // Systems biology and bioinformatics (SBB-2018) : The Tenth International young scientists school (27-31 Aug. 2018, Novosibirsk, Russia); abstracts / Institute of cytology and genetics, Siberian branch of Russian academy of sciences. – Novosibirsk: ICG SB RAS, 2018. – P. 31. – 0,05 п.л. (личный вклад автора – 0,035 п.л.)

8. Анализ ассоциации полиморфизма rs1799930 NAT2 с развитием колоректального рака в популяции Центральной России. / **А. С. Москалев**, Е. М. Барышева, С. Я. Запесоцкая [и др.] // Молодежная наука и современность : материалы 84-ой междунар. науч. конф. студентов и молодых ученых, посвящ. 84-летию КГМУ и 100-летию со дня рождения проф. Г.М. Ткаченко, Курск, 24-25 апр. 2019 г. / КГМУ ; ред. кол.: В.А. Лазаренко [и др.]. – Курск, 2019. – С. 238-241. – 0,23 п.л. (личный вклад автора – 0,161 п.л.)

9. Биоинформатический анализ регуляторного потенциала частого однонуклеотидного полиморфизма rs1695 (Ile105Val) гена GSTP1 / **А. С. Москалев**, О. К. Кудрявцева, Р.Е. Громов, О. Ю. Бушуева // Наука и инновации – современные концепции : сборник науч. статей по итогам работы междунар. науч. форума, Москва, 25 февр. 2022 г. / отв. ред. Д.Р. Хисматуллин. – Москва, 2022. – С. 125-128. – 0,23 п.л. (личный вклад автора – 0,161 п.л.)

10. Проявления полового диморфизма в ассоциациях полиморфного варианта rs1056836 гена CYP1B1 с риском развития рака толстой кишки в популяции Центральной России / **А. С. Москалев**, К. А. Кобзева, М. О. Солдатова, О. Ю. Бушуева // Актуальные вопросы совершенствования медицинской помощи и медицинского образования : сборник материалов VII междисциплинар. науч. форума с междунар. участием, Белгород, 10-11 марта 2022 г. / НИУ «БелГУ» ; под ред. Н.И. Белоусова, Н.И. Жернаковой, О.А. Ефремовой. – Белгород, 2022. – С. 90-93. – 0,23 п.л. (личный вклад автора – 0,161 п.л.)

Список сокращений

РТК – рак толстой кишки

ФБК – ферменты биотрансформации ксенобиотиков

GO – генные онтологии

G×G – межгенные взаимодействия

G×E – генно-средовые взаимодействия

H3K27ac – ацетилирование на 27-м остатке лизина белка гистона H3

H3K4me1 – метилирование лизина 4 гистона H3

H3K4me3 – метилирование 4-го остатка лизина белка гистона H3

H3K9ac – ацетилирование на 9-м остатке лизина белка гистона H3

MDR – метод снижения размерности

OR – отношение шансов

95 % CI – 95 % доверительный интервал

perm – пермутационный тест

eQTL – локусы количественных признаков экспрессии

SNP – однонуклеотидный полиморфизм