



УДК: 575.174.015.3:616.12-007-053.1

## ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА I462V ГЕНА CYP1A1 С РАЗВИТИЕМ ВРОЖДЕННОГО ДЕФЕКТА МЕЖЖЕЛУДОЧКОВОЙ ПЕРЕГОРОДКИ СЕРДЦА В КРАСНОДАРСКОМ КРАЕ

### ASSOCIATION STUDY OF POLYMORPHISM I462V OF THE CYP1A1 GENE WITH THE DEVELOPMENT OF CONGENITAL VENTRICULAR SEPTAL DEFECT IN KRASNODAR REGION

Я.Д. Швецов<sup>1</sup>, К.Ю. Лазарев<sup>2</sup>, О.Ю. Бушуева<sup>1</sup>, О.П. Брайко<sup>2</sup>,  
В.И. Голубцов<sup>2</sup>, А.В. Полоников<sup>1</sup>  
Y.D. Shvetsov<sup>1</sup>, K.Yu. Lazarev<sup>2</sup>, O.Yu. Bushueva<sup>1</sup>, O.P. Brayko<sup>2</sup>,  
V.I. Golubtsov<sup>2</sup>, A.V. Polonikov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Курский государственный медицинский университет  
305041, Курск, ул. К. Маркса, д. 3

<sup>1</sup> Kursk State Medical University, 305041, Kursk, K. Marx str., 3

<sup>2</sup> Кубанский государственный медицинский университет  
350063, Краснодар, ул. Седина, д. 4

<sup>2</sup> Kuban State Medical University, 350063, Krasnodar, Sedina str., 4

e-mail: shvecov.miogu@rambler.ru

e-mail: lazarev\_ku@mail.ru

**Резюме.** Целью настоящего исследования было изучение ассоциации полиморфизма I462V гена CYP1A1 с развитием врожденного дефекта межжелудочковой перегородки сердца. Материалом для исследования послужили образцы ДНК 103 неродственных детей славянского происхождения (жители Краснодарского края) с врожденным пороком межжелудочковой перегородки сердца, рожденных в родильных домах Краснодарского края и 219 здоровых детей. Генотипирование полиморфизма I462V гена CYP1A1 проводили методами полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием TaqMan-зондов. Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов полиморфизма I462V гена CYP1A1 между группами больных и здоровых детей не выявил ассоциации с развитием врожденного дефекта межжелудочковой перегородки сердца плода. Таким образом, в исследованной популяции полиморфизм I462V гена CYP1A1 не оказывает влияния на риск развития врожденного дефекта межжелудочковой перегородки сердца.

**Summary.** The present study investigated an association between polymorphism I462V of the CYP1A1 gene and the risk of congenital ventricular septal defect in Krasnodar region. We investigated DNA samples obtained from 103 unrelated children of Slavic origin (residents of the Krasnodar region) with congenital ventricular septal and 219 healthy children. Genotyping of polymorphism I462V was performed through a real time PCR with TaqMan-probes. A comparative analysis of the frequencies of alleles and genotypes polymorphism I462V gene CYP1A1 showed no association with the development of congenital ventricular septal defect in both entire groups and those stratified by gender. Nevertheless, we cannot exclude a possibility that the CYP1A1 gene plays a role in the predisposition to congenital heart disease in other populations.

**Ключевые слова:** врожденный дефект межжелудочковой перегородки сердца, ДНК-полиморфизм, CYP1A1.

**Key words:** congenital heart disease, ventricular septal defect of the heart, Krasnodar region, polymorphism I462V of the gene CYP1A1.

#### Введение

Врожденный порок сердца (ВПС) является распространенной патологией сердечнососудистой системы у детей, составляющей от 19 до 75 случаев на 1000 новорожденных [Richards et al., 2010]. Врожденные пороки сердца формируются вследствие неправильного развития сердца во время эмбриогенеза и внутриутробной жизни плода в период между второй и девятой неделями беременности. Наиболее распространенной формой ВПС в детском возрасте является дефект межжелудочковой перегородки (ДМЖП), который встречается у 50% детей с ВПС. Выявляемость ДМЖП резко возросла благодаря достижениям в области обработки изображений и скрининга новорожденных, а частота порока колеблется от 1.56 до 53.2 на 1000 новорожденных [Minette et al., 2006]. Как правило, ВПС возникает спорадически. Однако, значительная часть пороков сердца, как известно, имеет мультифакториальное происхождение и развивается в результате комплексного взаимодействия генетических и



средовых факторов. Существенный вклад в формирование ВПС могут вносить экологические факторы, среди которых химическое загрязнение характеризуется наиболее неблагоприятным воздействием на внутриутробно развивающийся организм [Lage et al., 2012]. Изучение распространенности врожденных пороков развития (ВПР) на экологически неблагоприятных территориях Российской Федерации на сегодняшний день является актуальной задачей. Значение этого показателя особенно возрастает, если учесть, что ВПР занимают ведущее место в структуре младенческой смертности. В последние годы в ряде промышленных регионов России ВПР вышли на первое место в структуре неонатальной и младенческой смертности.

В исследовании Шабалдина А.В. и др. [2014] показано, что концентрация бензапирена в атмосферном воздухе имеет прямую положительную ассоциацию с частотой рождения детей с ВПС. Реализация тератогенеза посредством бензапирена происходит непосредственно путем прямого тератогенного эффекта полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) на эмбрион. Во время беременности эмбрион и плод надежно защищены от воздействия химических тератогенов детоксикационной ферментной системой, как собственной, так и материнского организма. Между тем, исследования показали, что полиморфизм генов, кодирующих ферменты системы детоксикации ксенобиотиков, может вносить вклад в предрасположенность к формированию врожденных пороков развития. Так, в исследовании Гордеевой Л.А. [2012] изучался вклад полиморфизмов генов II стадии детоксикации ксенобиотиков матери – GSTT1, M1, P1 и их сочетаний в формировании различных ВПР плода. Выявлено, что генотип del GSTT1 положительно ассоциировался с пороками сердечнососудистой системы плода, ЦНС и мочевыделительной системы [Гордеева и др., 2012]. В связи с выше изложенным, изучение генов, вовлеченных в инициацию токсических эффектов ксенобиотиков на развивающийся плод, представляет собой принципиально важную задачу медицинской генетики в понимании молекулярных механизмов индивидуальной чувствительности к химическому воздействию окружающей среды и их роли в формировании врожденных пороков развития системы кровообращения.

#### Цель исследования

Изучить связь полиморфизма I462V гена CYP1A1 с риском развития врожденного дефекта межжелудочковой перегородки сердца в популяции детей Краснодарского края.

#### Объекты и методы исследования

Объектом данного исследования явилась выборка детей славянского происхождения (преимущественно русской национальности) из 44 административных образований Краснодарского края, родившихся в период 1998–2012 гг., не состоявших в родственной связи друг с другом. В исследование было включено 322 человека. Объектом исследования были больные дети с дефектами межжелудочковой перегородки сердца ( $n=103$ ) и здоровые дети, составляющую группу контроля ( $n=219$ ). Средний возраст детей с ДМЖП составил  $3.11 \pm 0.81$  лет (40 мальчиков – 38.8% и 63 девочки – 61.2%). Группу контроля составляли 219 здоровых детей (104 мальчика – 47.5% и 115 девочек – 52.5%), не имеющих врожденных пороков развития, проживающих в Краснодарском крае. Средний возраст здоровых детей составил  $3.53 \pm 0.42$  лет. Включение в группу больных с ВПС осуществлялось только после верификации диагноза комплексом методов обследования, включающих клинические методы с использованием физикального обследования, анкетирования и специальные (ЭКГ, УЗИ, рентгенографии сердца и др.).

У всех обследуемых проводился забор венозной крови из кубитальной вены. Выделение геномной ДНК осуществляли из размороженной крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфизма I462V гена CYP1A1 осуществлялось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени и дискриминации аллелей с помощью TaqMan-зондов на амплификаторе CFX96 фирмы Bio-Rad (США) путем индивидуального подбора соответствующих условий ПЦР путем титрования для исследуемого ДНК-маркера. Для оценки качества генотипирования в отношении 10% образцов по каждому ДНК-маркеру было проведено повторное генотипирование, результаты которого полностью соответствовали первоначальным данным. Для оценки соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди-Вайнберга (РХВ) и для сравнения распределений частот аллелей и генотипов в выборках больных ДМЖП и здоровых детей использовали критерий  $\chi^2$  Пирсона с поправкой Йетса на непрерывность. Об ассоциации аллелей или генотипов с предрасположенностью к ВПС судили по величине отношения шансов (OR), границам 95%-ного доверительного интервала (CI) для OR. Статистическая обработка данных проводилась на персональном компьютере с использованием программных пакетов Statistica 6.0 («Statsoft») и Excel 2010 («Microsoft»).

#### Результаты и их обсуждение

Распределение частот генотипов изучаемого полиморфизма I462V гена CYP1A1 и его соответствие популяционному равновесию Харди-Вайнберга проводилось отдельно в группе детей с ДМЖП и в контрольной группе. Не было отклонений в частотах генотипов от равновесия Харди-Вайнберга в



обеих группах ( $p > 0.05$ ). Частоты вариантных аллелей и результаты их сравнительного анализа между группами представлены в табл. 1.

Таблица 1

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма I462V гена CYP1A1 у больных с ДМЖП и здоровых детей  
Frequency distribution of alleles and genotypes of polymorphism I462V of gene CYP1A1 in patients with VSD and healthy children

Аллели	Частоты аллелей				Критерий различий p	OR (95%CI)
	ДМЖП (n=103)		Контроль (n=219)			
462I	0.985		0.968		0.20	0.45 (0.13-1.57)
462V	0.015		0.032			
Генотипы	Частоты генотипов				p	OR (95%CI)
	n	%	n	%		
462II	100	97.1	206	94.1	0.24	0.48 (0.13-1.71)
462IV	3	2.9	12	5.5	0.46	0.58 (0.17-1.94)
462VV	0	0	1	0.5	0.70	0.70 (0.3-17.42)

Из таблицы 1 следует, что статистически значимых различий между выборками больных ДМЖП и контрольной группы по частотам аллелей полиморфизма I462V гена CYP1A1 выявлено не было. Далее был проведен стратифицированный анализ ассоциации полиморфизма I462V гена CYP1A1 отдельно у мальчиков и девочек (табл. 2). Тем не менее, статистически значимых различий между группами больных детей с ДМЖП и контроля в зависимости от пола также выявлено не было.

Таблица 2

Распределение частот генотипов полиморфизма I462V гена CYP1A1 у больных с ДМЖП и здоровых детей в зависимости от пола  
Frequency distribution of alleles and genotypes of polymorphism I462V of gene CYP1A1 in patients with VSD and healthy children according to sex

Мальчики	CYP1A1 I462V			Девочки	CYP1A1 I462V		
	462II	462IV	462VV		462II	462IV	462VV
Больные мальчики с ДМЖП (n=40)	39 (97.5%)	1 (2.5%)	0 (0%)	Больные девочки с ДМЖП (n=63)	61 (96.8%)	2 (3.2%)	0 (0%)
Здоровые мальчики (n=104)	97 (93.3%)	7 (6.7%)	0 (0%)	Здоровые девочки (n=115)	109 (94.8%)	5 (4.4%)	1 (0.8%)
p	0.32	0.56	0	p	0.53	0.99	0.46

Ключевым звеном в развитии ВПС, как мультифакториальной патологии, является система биотрансформации ксенобиотиков, которая во время беременности приобретает трехуровневый характер, функционируя в материнско-плацентарно-плодном комплексе в соответствии со степенью биологической зрелости. «Слабым» звеном в этой системе является плод, метаболизм которого протекает медленнее, чем у взрослых, в связи с отсутствием или низкой экспрессией большинства ферментов биотрансформации ксенобиотиков. Большинство изоферментов цитохромов CYP450 экспрессируются уже в первом триместре беременности – то есть на ранних стадиях развития и роста плода, когда существует наибольшая вероятность воздействия тератогенов. Ген CYP1A1 является одним из представителей ферментов I фазы детоксикации ксенобиотиков, экспрессируется во многих эпителиальных тканях и играет важную роль в метаболической активации ксенобиотиков, таких как полициклические ароматические углеводороды, приводящие к повреждению макромолекул и клеточных мембран [Tsuchiya et al., 2003; Vani et al., 2009; Aydos et al., 2009; Akgül et al., 2001; Arpana Vibhuti et al., 2010]. Многочисленными исследованиями обнаружена связь между воздействием ПАУ (к примеру, содержащегося бензопирена в табачном дыме) и полиморфизмом гена CYP1A1 с повышенным риском развития рака легкого [Lin et al., 2014; Jiang et al., 2014], прямой кишки [Saeed et al., 2013; Hou et al., 2005], мочевого пузыря [Lu et al., 2014], женской половой сферы (рак тела матки и яичников) [Heubner et al., 2010; Irmakova et al., 2012] и поверхностной базальноклеточной карциномы [Yang et al., 2006].

Доказано, что ген CYP1A1 вовлечен в патогенез сердечнососудистых заболеваний и атеросклероза [Marinković et al., 2013; Taspinar et al., 2012; Demirdöğen et al., 2013]. Однако исследований по оценке влияния полиморфных вариантов гена CYP1A1 до настоящего времени не проводилось, по крайней мере, в российских популяциях.

#### Заключение

Проведенное исследование показало, что полиморфизм I462V гена CYP1A1 не оказывает влияния на риск развития дефекта межжелудочковой перегородки сердца в Краснодарском крае. Однако, учитывая генетическую гетерогенность врожденных пороков сердца и межпопуляционные различия в спектре полиморфных аллелей и генотипов CYP1A1, необходимо продолжить исследование вовлеченности данного гена в формирование предрасположенности к развитию врожденных дефектов межпредсердной перегородки сердца в других популяциях.

#### Литература

- Гордеева Л.А. 2012. Полиморфизм генов II стадии детоксикации ксенобиотиков у матери и формирование врожденных пороков развития у ребенка. Медицинская генетика, 11: 43–48.
- Шабалдин А.В. 2014. Сравнительная характеристика встречаемости различных врожденных пороков развития плода с позиции оценки экологической опасности в крупном промышленном центре. Мать и дитя в Кузбассе, 4: 19–24.
- Aydos S.E. 2009. Association of CYP1A1 and glutathione S-transferase polymorphisms with male factor infertility. Fertility and Sterility, 92 (2): 541–547.
- Vani G.T. 2009. Association of CYP1A1\*2A polymorphism with male infertility in Indian population. Clinica Chimica Acta, 410: 43–47.
- Irmiačkova A.R. 2012. Association of polymorph variants of CYP1A2 and CYP1A1 genes with reproductive and thyroid diseases in female workers of petrochemical industry. Meditsina truda i promyshlennaia ekologiia, 5: 41–48.
- Hobbs C.A. 2005. Congenital heart defects and maternal biomarkers of oxidative stress. The American journal of clinical nutrition, 82: 598–604.
- Akgül I. 2011. CYP1A1 polymorphism in adolescents with polycystic ovary syndrome. International Journal of Gynecology & Obstetrics, 112: 8–10.
- Lin J. 2014. CYP1A1 Ile462Val polymorphism and the risk of non-small cell lung cancer in a Chinese population. Tumori, 100 (5): 547–552.
- Hou L. CYP1A1 Val462 and NQO1 Ser187 polymorphisms, cigarette use, and risk for colorectal adenoma. Carcinogenesis, 26 (6): 1122–1128.
- Arpana Vibhuti A. 2010. CYP1A1, CYP1A2 and CYBA gene polymorphisms associated with oxidative stress in COPD. Clinica chimica acta, 411: 474–480.
- Saeed H.M. 2013. Cytochrome P450 1A1, 2E1 and GSTM1 gene polymorphisms and susceptibility to colorectal cancer in the Saudi population. Asian Pacific journal of cancer prevention, 14 (6): 3761–3768.
- Demirdöğen B.C. 2013. Cytochrome P4501A1 genotypes and smoking- and hypertension-related ischemic stroke risk. Human & experimental toxicology, 32 (5): 483–491.
- Tsuchiya Y. 2003. Effects of dietary habits and CYP1A1 polymorphisms on blood dioxin concentrations in Japanese men. Chemosphere, 52: 213–219.
- Lage K. 2012. Genetic and environmental risk factors in congenital heart disease functionally converge in protein networks driving heart development. PNAS, 109 (35): 14035–14040.
- Taspinar M. 2012. Impact of genetic variations of the CYP1A1, GSTT1, and GSTM1 genes on the risk of coronary artery disease. DNA and cell biology, 31 (2): 211–218.
- Yang R.X. 2006. Influence of glutathione-S-transferase (GSTM1, GSTP1, GSTT1) and cytochrome p450 (CYP1A1, CYP2D6) polymorphisms on numbers of basal cell carcinomas (BCCs) in families with the naevoid basal cell carcinoma syndrome. Journal of medical genetics, 43 (4): 1–5.
- Lu Y. 2014. Lack of association between CYP1A1 polymorphisms and risk of bladder cancer: a meta-analysis. Asian Pacific journal of cancer prevention, 15 (9): 4071–4077.
- Marinković N. 2013. Polymorphisms of genes involved in polycyclic aromatic hydrocarbons' biotransformation and atherosclerosis. Biochemical medicine, 23 (3): 255–265.
- Minette M.S. 2006. Ventricular Septal Defects. Circulation, 114: 2190–2197.
- Richards A. 2010. Genetics of Congenital Heart Disease. Current Cardiology Reviews, 6: 91–97.
- Jiang X.Y. 2014. Susceptibility of lung cancer with polymorphisms of CYP1A1, GSTM1, GSTM3, GSTT1 and GSTP1 genotypes in the population of Inner Mongolia region. Asian Pacific journal of cancer prevention, 15 (13): 5207–5214.
- Heubner M. 2010. The CYP1A1 Ile462Val polymorphism and platinum resistance of epithelial ovarian neoplasms. Oncology research, 18 (7): 343–347.



## Literature

- Gordeeva L.A. 2012. Polymorphism of genes of II stage of detoxification of xenobiotics in the mother and the formation of congenital malformations in children. *Meditinskaya genetika [Medical Genetics]*, 11: 43–48.
- Shabal'din A.V. 2014. Comparative characteristics of the occurrence of various congenital malformations of the fetus from the perspective of assessing environmental hazards in a large industrial center. *Mat' i ditya v Kuzbasse [Mother and child in the Kuzbass]*, 4: 19–24.
- Aydos S.E. 2009. Association of CYP1A1 and glutathione S-transferase polymorphisms with male factor infertility. *Fertility and Sterility*, 92 (2): 541–547.
- Vani G.T. 2009. Association of CYP1A1\*2A polymorphism with male infertility in Indian population. *Clinica Chimica Acta*, 410: 43–47.
- Irmakova A.R. 2012. Association of polymorph variants of CYP1A2 and CYP1A1 genes with reproductive and thyroid diseases in female workers of petrochemical industry. *Meditcina truda i promyshlennaia ekologiya*, 5: 41–48.
- Hobbs C.A. 2005. Congenital heart defects and maternal biomarkers of oxidative stress. *The American journal of clinical nutrition*, 82: 598–604.
- Akgül I. 2011. CYP1A1 polymorphism in adolescents with polycystic ovary syndrome. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 112: 8–10.
- Lin J. 2014. CYP1A1 Ile462Val polymorphism and the risk of non-small cell lung cancer in a Chinese population. *Tumori*, 100 (5): 547–552.
- Hou L. CYP1A1 Val462 and NQO1 Ser187 polymorphisms, cigarette use, and risk for colorectal adenoma. *Carcinogenesis*, 26 (6): 1122–1128.
- Arpana Vibhuti A. 2010. CYP1A1, CYP1A2 and CYBA gene polymorphisms associated with oxidative stress in COPD. *Clinica chimica acta*, 411: 474–480.
- Saeed H.M. 2013. Cytochrome P450 1A1, 2E1 and GSTM1 gene polymorphisms and susceptibility to colorectal cancer in the Saudi population. *Asian Pacific journal of cancer prevention*, 14 (6): 3761–3768.
- Demirdöğen B.C. 2013. Cytochrome P450 1A1 genotypes and smoking- and hypertension-related ischemic stroke risk. *Human & experimental toxicology*, 32 (5): 483–491.
- Tsuchiya Y. 2003. Effects of dietary habits and CYP1A1 polymorphisms on blood dioxin concentrations in Japanese men. *Chemosphere*, 52: 213–219.
- Lage K. 2012. Genetic and environmental risk factors in congenital heart disease functionally converge in protein networks driving heart development. *PNAS*, 109 (35): 14035–14040.
- Taspinar M. 2012. Impact of genetic variations of the CYP1A1, GSTT1, and GSTM1 genes on the risk of coronary artery disease. *DNA and cell biology*, 31 (2): 211–218.
- Yang R.X. 2006. Influence of glutathione-S-transferase (GSTM1, GSTP1, GSTT1) and cytochrome p450 (CYP1A1, CYP2D6) polymorphisms on numbers of basal cell carcinomas (BCCs) in families with the naevoid basal cell carcinoma syndrome. *Journal of medical genetics*, 43 (4): 1–5.
- Lu Y. 2014. Lack of association between CYP1A1 polymorphisms and risk of bladder cancer: a meta-analysis. *Asian Pacific journal of cancer prevention*, 15 (9): 4071–4077.
- Marinković N. 2013. Polymorphisms of genes involved in polycyclic aromatic hydrocarbons' biotransformation and atherosclerosis. *Biochemical medicine*, 23 (3): 255–265.
- Minette M.S. 2006. Ventricular Septal Defects. *Circulation*, 114: 2190–2197.
- Richards A. 2010. Genetics of Congenital Heart Disease. *Current Cardiology Reviews*, 6: 91–97.
- Jiang X.Y. 2014. Susceptibility of lung cancer with polymorphisms of CYP1A1, GSTM1, GSTM3, GSTT1 and GSTP1 genotypes in the population of Inner Mongolia region. *Asian Pacific journal of cancer prevention*, 15 (13): 5207–5214.
- Heubner M. 2010. The CYP1A1 Ile462Val polymorphism and platinum resistance of epithelial ovarian neoplasms. *Oncology research*, 18 (7): 343–347.