

ПОЛІМОРФНІ ВАРІАНТИ ГЕНІВ *UGT1A1*, *MTHFR*, *GSTP1*, *ITPA* І ВІДПОВІДЬ НА ХІМІОТЕРАПІЮ ПРЕПАРАТАМИ НА ОСНОВІ ПЛАТИНИ У ПАЦІЄНТІВ З РАКОМ СЕЧОВОГО МІХУРА

С.А. КРАВЧЕНКО^{1,2*}, В.М. ПАМПУХА¹, С.Ю. ЧЕРНУШИН¹, Р.В. ГУЛКОВСЬКИЙ¹, Л.С. ВОЛКОВА¹, О.С. МАНЬКОВСЬКА¹, Б.О. ГРЕЧКО³, М.В. ПІКУЛЬ^{3,4}, Е.О. СТАХОВСЬКИЙ³, Л.А. ЛІВШИЦЬ¹

¹ Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, вул. Заболотного 150, 03680, Київ, Україна

² Київський інститут Національної гвардії України, МВС України, вул. Оборони Києва 7, 03179, Київ, Україна

³ Національний інститут раку, МОЗ України, вул. Ю. Здановської 33/43, 03022, Київ, Україна

⁴ Університетська клініка Кельна, Кельнський університет, Кельн, Германия

*E-mail: dnatest.imbg@gmail.com

Автор для кореспонденції – Кравченко С.А., e-mail: dnatest.imbg@gmail.com

Визначити зв'язок поліморфних варіантів *UGT1A1* (*rs8175347*), *MTHFR* (*rs1801133*), *GSTP1* (*rs1695*) та *ITPA* (*rs 1127354*) з відповіддю на хіміотерапію препаратами на основі платини у хворих на рак сечового міхура. Група дослідження складалась з 60 пацієнтів, які проходили лікування в Національному інституті раку. Популяційні контрольні групи були сформовані з умовно здорових дорослих з різних регіонів України. Для виділення геномної ДНК зі зразків крові пацієнтів і контрольної групи використовувалися комерційні набори для екстракції ДНК. Генотипування алелів *MTHFR*, *GSTP1* та *ITPA* проводили за допомогою ПЛР з подальшим аналізом ПДРФ. Визначення алельних варіантів *UGT1A1* проводили методом фрагментного аналізу флуоресцентно мічених продуктів ПЛР за допомогою автоматичного лазерного аналізатора ALF-express II. Достовірної різниці в розподілі частот алелів і генотипів за поліморфізмами генів *UGT1A1*, *MTHFR*, *GSTP1* і *ITPA* між популяційною вибіркою та досліджуваною групою хворих на рак сечового міхура не було виявлено. Крім того, не було виявлено статистично значущої різниці в розподілі частот алелів і генотипів для поліморфних локусів генів *UGT1A1*, *MTHFR* і *ITPA* в кодомінантних, домінантних і рецесивних моделях між групами пацієнтів з раком сечового міхура, які мали позитивну відповідь на хіміотерапію та тих, у кого відповідь на терапію була відсутня. Було показано, що в групі пацієнтів, які відповіли на хіміотерапію, частота алеля 313G гена *GSTP1* (0,40) була статистично достовірно вищою, ніж у групі пацієнтів, які не відповіли на лікування (0,22). Встановлено, що носії алеля 313G гена *GSTP1* (генотипи AG і GG) мають вищу ймовірність позитивної відповіді на хіміотерапію, ніж особи з генотипом AA ($OR = 3,05$; ДІ 95 %: 1,053–8,838). Показано, що поліморфізм A313G гена

GSTP1 (*rs1695*) пов'язаний з відповіддю на хіміотерапію препаратами на основі платини, включаючи цисплатин. Наявність алеля 313G в генотипі пацієнта може свідчити про кращу чутливість пухлини до препаратів на основі платини.

Ключові слова: рак сечового міхура, фармакологічні маркери, відповідь на хіміотерапію, *UGT1A1*, *MTHFR*, *GSTP1*, *ITPA*.

Вступ. Онкологічна патологія залишається однією з найпоширеніших причин інвалідизації та смертності у світі. На сьогоднішній день рак сечового міхура є одним із найпоширеніших видів раку у чоловіків, рідше він зустрічається у жінок (Antoni, 2017; Sung, 2021). Найбільш значущими факторами ризику розвитку злоякісних новоутворень сечового міхура є контакт з ароматичними амінами, куріння, хронічні інфекції сечовивідних шляхів, радіаційне опромінення, вік і стать (Galsky, 2017; Srougi, 2017; Ślusarczyk 2023). Поширеним підходом у терапії солідних пухлин є використання алкілюючих препаратів платини (Galsky, 2017; Kim, 2023). Хіміотерапія препаратами на основі платини спочатку може бути ефективною, але більш тривале лікування часто загрожує розвитком резистентності до препарату (Sidaway, 2016; Niedersüss-Beke, 2017). Така стійкість до ліків може бути викликана метаболічними, фізіологічними, біохімічними або генетичними особливостями у пацієнтів. Спадкові особливості зазвичай визначаються генетичним поліморфізмом білків, що беруть участь у фармакокінетиці та фармакодинаміці лікарських засобів. Більшість препаратів, що застосовуються в хіміотерапії злоякісних

пухлин, характеризуються високою цитотоксичністю. Завдання фармакогенетичного тестування — оцінити дію певного препарату на окремого пацієнта. Оскільки генетичний поліморфізм може змінювати детоксикаційну активність, а також хіміочутливість раку, асоціації генного поліморфізму з індивідуальною відповіддю на терапію інтенсивно вивчаються (Peklak-Scott, 2008; Barbarino, 2014; Moradveisi, 2019; Kang, 2020; Petrone, 2021; Singh, 2021).

Фермент, який кодується геном *GSTP1* (глутатіон-S-трансфераза P1), бере участь у II фазі детоксикації ксенобіотиків, а також задіяний у регулюванні клітинної проліферації та апоптозу (Henderson, 2014). Ген *UGT1A1* (uridine diphosphate glucuronosyltransferase family 1, member A1) кодує одну з ізоформ ферменту уридин дифосфат-глюкоронозил трансферази (УДФ-ГТ). УДФ-ГТ контролює утворення водорозчинних сполук білірубину, стероїдів і різноманітних ксенобіотиків з молекулами глюкуронової кислоти (Kaivosaari, 2011). Ген *MTHFR* кодує метилентетрагідрофолатредуктазу, фермент, який бере участь у перетворенні гомоцистеїну в метіонін. Зниження активності ферменту призводить до підвищення рівня гомоцистеїну в крові, активації онкогенів і підвищення чутливості до факторів, здатних пошкоджувати ДНК (Fernandez-Peralta, 2010). Ген *ITPA* кодує інозинтрифосфат пірофосфатазу — ІТП-азу. ІТП-аза каталізує пірофосфогідроліз інозинтрифосфата (ІТФ) в інозинмонофосфат і запобігає накопиченню потенційно токсичних сполук, таких як ІТФ, дезокси-ІТФ, ксантозинтрифосфат, які можуть включатися до складу РНК та ДНК, і призводити до апоптозу клітин (Cao, 2002; Cheok, 2006; Wan Rosalina, 2012).

Пошук інформативних фармакогенетичних маркерів для персоніфікованого прогнозу ефективності хіміотерапії раку сечового міхура продовжується, однак отримані дані щодо ролі поліморфних варіантів перелічених генів у відповіді пацієнта на терапію є суперечливими, зокрема певні відмінності у ефективності терапії було виявлено у різних расових та етнічних груп пацієнтів (DeGeorge, 2017).

Метою нашого дослідження було визначити зв'язок поліморфних варіантів *UGT1A1* (rs8175347), *MTHFR* (rs1801133), *GSTP1* (rs1695)

та *ITPA* (rs1127354) з відповіддю на хіміотерапію препаратами на основі платини в українських хворих на рак сечового міхура.

Матеріали і методи. Створення колекції зразків ДНК та бази клінічних даних про лікування хворих на злоякісні солідні пухлини сечового міхура. Матеріалом для досліджень були зразки периферійної крові 60 осіб, надані Науково-дослідним відділенням пластичної та реконструктивної онкоурології Національного інституту раку МОЗ України. Дослідна група включає в себе пацієнтів, які були хворі на рак сечового міхура. Участь в дослідженні та забір крові проводились за умови інформованої згоди. Вік пацієнтів становив від 40 до 80 років, середній вік пацієнтів складав $66,2 \pm 9,1$ років. Дані пацієнти проходили курс хіміотерапії GC (Гемцитабін + Цисплатин). Було створено базу клінічних даних цих пацієнтів з метою розподілу їх на групи в залежності від результатів ефективності лікування. В подальшому досліджувану групу було розділено на підгрупи згідно результатів відповіді пухлини на лікування (результати відповіді пухлини на терапію GC). Такий розподіл базувався на основі класифікації RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors, критерії оцінки відповіді солідних пухлин) (Eisenhauer, 2009).

Відповідно до цієї класифікації розрізняють: (i) повна відповідь (Complete Response — CR) — повне зникнення всіх пухлинних уражень впродовж 4 тижнів з моменту фіксування позитивної відповіді; (ii) часткова відповідь (Partial Response — PR) — зменшення пухлинних уражень, порівняно з вихідними на 50 % і більше, що визначається в 2 спостереженнях впродовж 4 тижнів, при цьому мають бути відсутніми ознаки прогресування захворювання; (iii) прогресування захворювання (Progressive Disease — PD) — збільшення розмірів пухлини або поява нового утворення, пов'язаного з пухлиною; (iv) стабілізація захворювання (Stable Disease — SD) — невідповідність критеріям CR або PR при відсутності PD. Дослідну групу було розділено на дві підгрупи: є відповідь на лікування (CR + PR) та відсутня відповідь на лікування (PD + SD).

Контрольну популяційну групу представляли умовно здорові індивіди з різних регіонів

України. Зразки геномної ДНК цих осіб були взяті з ДНК-колекцій, створених нами раніше (Tatarskyu, 2010; Tatarskyu, 2011; Kucherenko, 2015; Naiboniuk, 2020).

Виділення ДНК та генотипування. Для виділення геномної ДНК використовувалися комерційні набори Quick-DNA™ Miniprep Kit («Zymo Research», США).

Алельні варіанти генів *MTHFR* (rs1801133; C677T), *GSTP1* (rs1695; A313G) та *ITPA* (rs1127354; C94A) ідентифікували за допомогою ПЛР з наступним аналізом ПДРФ (поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів). Амплікацію проводили в 25 мкл реакційної суміші, що містила 0,5 мкмоль кожного праймера, 50–100 нг геномної ДНК, 200 мкмоль кожного dNTP («Solis BioDyne», Тарту, Естонія), 1 × ПЛР буфер («Solis BioDyne», Тарту, Естонія), 1 U FIREPol ДНК-полімерази (Solis BioDyne, Тарту, Естонія) (табл. 1). Для розпізнавання поліморфних сайтів C677T, A313G та C94A використовували відповідні ендонук-

леази рестрикції HinfI, Alw26I та PdmI («ThermoFisher Scientific», Вільнюс, Литва). Гідролізовані продукти ПЛР аналізували в 2%-вому агарозному гелі.

Аналіз кількості ТА повторів в промоторній ділянці гена *UGT1A1* проводили за допомогою двохетапної полімеразної ланцюгової реакції (табл. 1) з наступним фрагментним аналізом флюоресцентно мічених продуктів ПЛР з використанням автоматичного лазерного аналізатора «A.L.F. Express» («Amersham Pharmacia Biotech», Швеція)

Статистична обробка даних. Статистичні розрахунки проводили за допомогою пакетів програм STATISTICA 10 (StatSoft, 2011), MDR 2.0 (Ritchie, 2003) та відкритого онлайн-ресурсу: <http://www.openepi.com>. Достовірними вважалися результати з рівнем значущості понад 95 % ($p < 0,05$).

Результати та обговорення. Проведено аналіз поліморфізмів *UGT1A1* (A(TA)₆₋₇TAA), *MTHFR* (C677T), *GSTP1* (A313G) та *ITPA* (C94A) серед

Таблиця 1. Послідовності олігонуклеотидних праймерів та умови проведення специфічної полімеразної ланцюгової реакції досліджуваних генів

Ген	Поліморфізм	Послідовність олігонуклеотидних праймерів	Температурний режим ПЛР
<i>UGT1A1</i>	A(TA) ₆₋₇ TAA	Етап I	95 °C – 10 хв
		F-GGGTTCCTAAGGGTTGGA	95 °C – 15 с
		TGGTGTATCGATTGTTTTTGCC	65 °C – 50 с
		R-GTGTCTTTGCTCCTGCCAGAGGTTTCG	20 циклів
<i>UGT1A1</i>	A(TA) ₆₋₇ TAA	Етап II	95 °C – 10 хв
		F-Cy5 GGGTTCCTAAGGGTTGGA	95 °C – 15 с
		R-GTGTCTTTGCTCCTGCCAGAGGTTTCG	60 °C – 50 с
			25 циклів
<i>ITPA</i>	C94A	F-CAGGTCGTTTCAGATTCTAGGAGAAAAGT	95 °C – 5 хв
		R-CAAGAAGAGCAAGTGTGGGACAAG	95 °C – 1 хв
			58 °C – 1 хв
			72 °C – 1 хв
<i>MTHFR</i>	C677T		30 циклів
		F-CAGGGAGCTTTGAGGCTGACCT	95 °C – 5 хв
		R-GCGGAAGAATGTGTTCAGCCTCA	95 °C – 1 хв
			55 °C – 1 хв
<i>GSTP1</i>	A313G		72 °C – 1 хв
			30 циклів
		F-ACCCAGGGCTCTATGGGAA	95 °C – 5 хв
		R-TGAGGGCACAAGAAGCCCCT	95 °C – 25 с
			60 °C – 30 с
			70 °C – 45 с
			30 циклів

60 пацієнтів досліджуваної групи. Генотипування цих поліморфних локусів серед осіб контрольної групи було проведено нами в попередніх дослідженнях (Tatarskyu, 2010; Tatarskyu, 2011; Kucherenko, 2015; Haiboniuk, 2020). Аналіз відповідності фактичних частот генотипів теоретично очікуваним не виявив достовірних відхилень від рівноваги Харді-Вайнберга для усіх досліджуваних локусів як серед пацієнтів, так і в контрольній групі (дані не наведено).

Порівняльний аналіз не виявив достовірної різниці в розподілі частот алелів та генотипів для усіх досліджуваних поліморфізмів між пацієнтами та контрольною групами (табл. 2). Такі результати можуть бути свідченням про те, що досліджувані генетичні поліморфізми не

асоційовані з раком сечового міхура у пацієнтів з України.

Для визначення ролі алельних варіантів усіх досліджуваних поліморфізмів як генетичних факторів, що можуть впливати на ефективність лікування пацієнтів з раком сечового міхура, було проведено порівняльний аналіз частот алелів та генотипів між підгрупами пацієнтів, які проходили терапію GC з відповіддю на лікування (CR та PR пацієнти) та без відповіді на лікування (PD та SD пацієнти). Результати порівняльного аналізу наведено в табл. 3.

Порівняльний аналіз не виявив статистично вірогідної різниці в розподілі частот алелів та генотипів в досліджуваних поліморфних локусах генів *UGT1A1*, *MTHFR* та *ITPA* між групами пацієнтів, які мали позитивну відповідь на

Таблиця 2. Розподіл частот генотипів та алелів за досліджуваними поліморфними локусами у контрольній та дослідній групах

Група, n-кількість (джерело)	Гени (поліморфізм)						
	UGT1A1 (rs8175347; A(TA)6-7TAA)						
	Генотипи, n(f)			Алелі		χ²*	p*
	6/6	6/7	7/7	6 TA	7 TA		
Популяційний контроль, n = 50 (25)	22 (0,44)	25 (0,5)	3 (0,06)	0,69	0,31	0,27	0,87
Пацієнти, n = 60 (дане дослідження)	29 (0,483)	27 (0,45)	4 (0,067)	0,71	0,29		
	MTHFR (rs1801133; C677T)						
	Генотипи, n(f)			Алелі		χ²*	p*
	CC	CT	TT	C	T		
Популяційний контроль, n = 88 (23)	44 (0,5)	37 (0,42)	7 (0,08)	0,71	0,29	0,36	0,83
Пацієнти, n = 60 (дане дослідження)	27 (0,45)	28 (0,47)	5 (0,08)	0,68	0,32		
	ITPA (rs1127354; C94A)						
	Генотипи, n(f)			Алелі		χ²*	p*
	CC	CA	AA	C	A		
Популяційний контроль, n = 100 (22)	81 (0,5)	17 (0,42)	2 (0,08)	0,9	0,1	1,33	0,52
Пацієнти, n = 60 (дане дослідження)	44 (0,45)	14 (0,47)	2 (0,08)	0,85	0,15		
	GSTP1 (rs1695; A313G)						
	Генотипи, n(f)			Алелі		χ²*	p*
	AA	AG	GG	A	G		
Популяційний контроль, n = 88 (24)	41 (0,47)	37 (0,42)	10 (0,11)	0,68	0,32	0,18	0,9
Пацієнти, n = 60 (дане дослідження)	30 (0,5)	24 (0,4)	6 (0,1)	0,7	0,3		

Примітка. n – абсолютна кількість; f – частота; * розрахунки для порівняння розподілу генотипів.

хіміотерапію, та тих, у яких відповідь на терапію була відсутня (табл. 3). Також не було виявлено статистично вірогідної різниці в розподілі частот алелів за кодомінантною, домінантною та рецесивною моделями між групами (CR та PR) та (PD та SD) за цими поліморфними локусами.

Слід зазначити, що в групі пацієнтів, які відповіли на хіміотерапію, частота алеля 313G гена *GSTP1* була вірогідно вищою (табл. 3), ніж у групі пацієнтів, які не відповіли на лікування (40 та 22 % відповідно; $\chi^2 = 4,7$, $p = 0,015$). Також було встановлено, що носії алеля 313G гена *GSTP1* (індивіди з генотипом AG та GG) мають вірогідно вищу ймовір-

ність позитивної відповіді на хіміотерапію, ніж особи з генотипом AA (табл. 4), а саме у носіїв алеля 313G ймовірність позитивної відповіді на хіміотерапію може бути в 3 рази вищою, ніж у індивідів з генотипом AA ($OR = 3,05$; $CI\ 95\ \%: 1.053-8.838$).

Для ідентифікації та характеристики можливих комбінацій мультилокусних генотипів, які можуть бути асоційовані з ефективністю лікування (відповіддю на хіміотерапію) у хворих на злоякісні солідні пухлини сечового міхура було застосовано пакет програми MDR 2.0 (Ritchie, 2003). Метод MDR (Multifactor Dimensionality Reduction) дозволяє оцінити всі можливі двохфакторні та багатфакторні

Таблиця 3. Розподіл частот генотипів та алелів за досліджуваними поліморфними локусами у пацієнтів з відповіддю на хіміотерапію та без відповіді

Відповідь на хіміотерапію	Гени (поліморфізм)						
	UGT1A1 (rs8175347; A(TA)6-7TAA)						
	Генотипи, n(f)			Алелі		χ ^{2*}	p*
	6/6	6/7	7/7	6 TA	7 TA		
Присутня (CR + PR); n = 26	12 (0,46)	12 (0,46)	2 (0,08)	36 (0,69)	16 (0,30)	0,13	0,94
Відсутня (PD + SD); n = 34	17 (0,50)	15 (0,44)	2 (0,06)	49 (0,72)	19 (0,28)		
	MTHFR (rs1801133; C677T)						
	Генотипи, n(f)			Алелі		χ ^{2*}	p*
	CC	CT	TT	C	T		
Присутня (CR + PR); n = 26	13 (0,50)	11 (0,42)	2 (0,08)	37 (0,71)	15 (0,29)	0,46	0,79
Відсутня (PD + SD); n = 34	14 (0,41)	17 (0,50)	3 (0,09)	45 (0,66)	23 (0,34)		
	ITPA (rs1127354; C94A)						
	Генотипи, n(f)			Алелі		χ ^{2*}	p*
	CC	CA	AA	C	A		
Присутня (CR + PR); n = 26	21 (0,81)	4 (0,15)	1 (0,04)	46 (0,88)	6 (0,12)	1,63	0,44
Відсутня (PD + SD); n = 34	23 (0,68)	10 (0,29)	1 (0,03)	56 (0,82)	12 (0,17)		
	GSTP1 (rs1695; A313G)						
	Генотипи, n(f)			Алелі		χ ^{2*}	p*
	AA	AG	GG	A	G		
Присутня (CR + PR); n = 26	9 (0,35)	13 (0,50)	4 (0,15)	31 (0,60)	21 (0,40)	4,65	0,10
Відсутня (PD + SD); n = 34	21 (0,62)	11 (0,32)	2 (0,06)	53 (0,78)	15 (0,22)		

Примітка. CR + PR – пацієнти з повною та частковою відповідями до хіміотерапії; PD + SD – пацієнти з ознаками прогресування захворювання та стабільним захворюванням; n – абсолютна кількість; f – частота; * розрахунки для порівняння розподілу генотипів.

Таблиця 4. Розподіл генотипів з наявністю алеля G за поліморфним локусом *GSTP1* (A313G) у групах пацієнтів з різною відповіддю на лікування

Генотипи	Група (CR + PR)		Група (PD + SD)		Статистичні показники		
	n	f	n	f	χ^2 *	p*	OR (CI 95 %)
AA	9	0,385	21	0,611	4,34	0,037	0,33 (0,1131–0,9493)
AG + GG	17	0,654	13	0,389			3,05 (1,053–8,838)
Разом	26	1	34	1	—	—	—

Примітка. CR+PR – пацієнти з повною та частковою відповідями до хіміотерапії; PD + SD – пацієнти з ознаками прогресування захворювання та стабільним захворюванням; n – абсолютна кількість; f – частота; * розрахунки для порівняння розподілу генотипів.

алельні комбінації поліморфізмів та визначити вірогідну значимість цих комбінацій. В результаті проведених досліджень статистично вірогідних відмінностей розподілу комбінованих генотипів в групах пацієнтів, які дали відповідь на хіміотерапію та у яких відповідь була відсутня, виявлено не було, що може свідчити про відсутність фармакогенетичної взаємодії досліджуваних генів при терапії раку сечового міхура або є результатом недостатнього розміру вибірки.

На підставі отриманих результатів ми припустили можливу роль поліморфізму гена *GSTP1* у відповіді пацієнтів на хіміотерапію. В інших дослідженнях *in vitro* було виявлено статистично значущий зв'язок між високим рівнем експресії *GSTP1* в пухлинних клітинах і зниженням чутливості до препаратів платини (Ogug, 2000). Цілком імовірно, що глутатіон S-трансферази відіграють дві різні ролі у розвитку резистентності до ліків через пряму детоксикацію, а також діючи як інгібітор MAP-кіназного шляху. Так, *GSTP1* взаємодіє зі сполуками на основі платини, і глутатіон-кон'югована платина може швидко експортуватися з клітин, таким чином, висока активність *GSTP1* може привести до більш швидкого метаболізму лікарських засобів, що зменшує цитотоксичну дію хіміотерапії на пухлинні клітини (Hargpole, 2001). Багато протипухлинних хіміотерапевтичних агентів, серед яких і Цисплатин, індукують апоптоз в пухлинних клітинах за допомогою MAP-кіназного шляху (Davis, 2000). Підвищена експресія *GSTP1* може вплинути на процес апоптозу, і тим са-

мим обмежити ефективність внутрішньоміхурової та системної хіміотерапії при раку сечового міхура (Towsend, 2003; Chen, 2019; Singh, 2021).

Наразі, результати досліджень щодо асоціації поліморфних варіантів гена *GSTP1* з відповіддю на хіміотерапію на основі платини є суперечливими. Так мета-аналіз, що базувався на чотирьох публікаціях і включав 425 пацієнтів, не показав зв'язку між поліморфізмом A313G гена *GSTP1* і відповіддю на хіміотерапію (Yin, 2012). В інших роботах було виявлено достовірну асоціацію між наявністю алеля G та позитивною відповіддю на хіміотерапію. Так пацієнти з генотипами AG та GG мали більшу ймовірність повної та часткової відповіді (CR+PR) на лікування платиновими препаратами (Joerger, 2012; Yang, 2012; Han, 2015).

Таким чином, згідно отриманих нами даних, ми схиляємось до твердження, що різна функціональна активність *GSTP1*, обумовлена генетичним поліморфізмом A313G гена *GSTP1*, може вплинути на процес детоксикації хіміотерапевтичних агентів і модулювати реакцію на лікарський засіб.

Висновки. Отримані результати демонструють, що поліморфізм A313G гена *GSTP1* корелює з відповіддю на лікування Цисплатином у пацієнтів з раком сечового міхура. Наявність алеля 313G в генотипі пацієнта з раком сечового міхура може призводити до покращення відповіді на лікування пухлини Цисплатином.

Дотримання етичних стандартів. Дослідження виконані в межах теми «Development of panel of pharmacogenetic markers for prognosis of the

course and efficiency of treatment of social important human diseases at Ukrainian patients» 2015–2019 pp., № ДР 0115U002944 НАН України та теми «Вдосконалити показання та тактику комплексного лікування хворих з місцево-поширеним раком сечового міхура» 2015–2017 pp. Затверджено на засіданні Комісії з питань етики Національного інституту раку, МОЗ; протокол № 59 від 3 квітня 2014 р.

Конфлікт інтересів. У цій роботі конфлікт інтересів авторів відсутній.

Фінансування. Тематика «Development of panel of pharmacogenetic markers for prognosis of the course and efficiency of treatment of social important human diseases at Ukrainian patients» 2015–2019, № ДР 0115U002944 НАН України – КПКВК 6541030. Джерело фінансування тематики «Вдосконалити показання та тактику комплексного лікування хворих з місцево-поширеним раком сечового міхура» 2015–2017 pp. – бюджетна тематика МОЗ України

POLYMORPHIC VARIANTS OF *UGT1A1*, *MTHFR*, *GSTP1*, *ITPA* GENES AND RESPONSE TO PLATINUM-BASED CHEMOTHERAPY IN PATIENTS WITH BLADDER CANCER

S.A. Kravchenko, V.M. Pampukha,
S.Y. Chernushyn, R.V. Gulkovskyi,
L.S. Volkova, O.S. Mankovska,
B.O. Hrechko, M.V. Pikul,
E.O. Stakhovsky, L.A. Livshits

Institute of Molecular Biology and Genetics,
NAS of Ukraine,
150 Zabolotnogo str., 03680, Kyiv, Ukraine
Kyiv Institute of the National Guard of Ukraine, MIA
of Ukraine, 7 Oborony Kyieva str.,
03179, Kyiv, Ukraine
National Cancer Institute of the Ministry of Health
of Ukraine, 33/43 Yu. Zdanovska str., 03022, Kyiv,
Ukraine
University Hospital Cologne, University Cologne,
Köln, Germany, 62 Kerpener str., 50937, Germany
E-mail dnatest.imbg@gmail.com

To determine the association of polymorphic variants of *UGT1A1* (rs8175347), *MTHFR* (rs1801133), *GSTP1* (rs1695) and *ITPA* (rs 1127354) with response to platinum-based chemotherapy in patients with bladder cancer. The study group consisted of 60 patients who were treated at the National Cancer Institute. The population control groups were formed from conditionally healthy adults from different regions of Ukraine. Commercial

DNA extraction kits were used to isolate genomic DNA of patients' and controls' blood samples. Genotyping for *MTHFR*, *GSTP1* and *ITPA* alleles was performed using PCR followed by RFLP assay. Determination of allelic variants of *UGT1A1* was carried out by fragment analysis of fluorescently labeled PCR products using an automatic laser analyzer ALF-express II. No significant difference was found in the distribution of allele and genotype frequencies of *UGT1A1*, *MTHFR*, *GSTP1* and *ITPA* gene polymorphisms between the population samples and the study group of patients with bladder cancer. Similar to above, no statistically significant difference was found in the distribution of alleles and genotypes frequencies for the polymorphic loci of the *UGT1A1*, *MTHFR* and *ITPA* genes in codominant, dominant and recessive models between the groups of patients with bladder cancer who had a positive response to chemotherapy and those in whom the response for the therapy was absent. It was shown that in the group of patients who responded to chemotherapy, the frequency of the 313G allele of the *GSTP1* gene (0.40) was statistically significantly higher than in the group of patients who did not respond to treatment (0.22). It was established that carriers of the 313G allele of the *GSTP1* gene (AG and GG genotypes) have a higher probability of a positive response to chemotherapy than individuals with the AA genotype (OR = 3.05; CI 95 %: 1.053–8.838). It has been shown that the A313G polymorphism of the *GSTP1* gene (rs1695) is associated with the response to chemotherapy with platinum-based drugs, including Cisplatin. The presence of the 313G allele in the patient's genotype may indicate a better sensitivity of the tumor to platinum-based drugs.

REFERENCES

- Antoni S, Ferlay J, Soerjomataram I et al (2017) Bladder cancer incidence and mortality: A global overview and recent trends. *Eur Urol* 71(1):96–108. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.06.010>
- Barbarino JM, Haidar CE, Klein TE and Altma RB (2014) PharmGKB summary: very important pharmacogene information for UGT1A1. *Pharmacogenet Genomics* 24(3):177–183. <https://doi.org/10.1097/FPC.0000000000000024>
- Cao H, Hegele RA (2002) DNA polymorphisms in ITPA including basis of inosine triphosphatase deficiency. *J Hum Genet* 47(11):620–622. <https://doi.org/10.1007/s100380200095>
- Chen H, Wang X, Gou S (2019) A cisplatin-based platinum(IV) prodrug containing a glutathione S-transferase inhibitor to reverse cisplatin-resistance in non-small cell lung cancer. *J Inorg Biochem* 193:133–142. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.01.014>
- Cheok MH, Evans WE (2006) Acute lymphoblastic leu-

- kaemia: a model for the pharmacogenomics of cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 6(2):117–129. <https://doi.org/10.1038/nrc1800>
- Davis RJ (2000) Signal transduction by the JNK group of MAP kinases. *Cell* 103(2):239–252. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)00116-1](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)00116-1)
- DeGeorge KC, Holt HR and Hodges SC (2017) Bladder Cancer: Diagnosis and Treatment. *Am Fam Physician* 96(8):507–514. <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2017/1015/p507.html>
- Eisenhauer E, Therasse P, Bogaerts J et al (2009) New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 45(2):228–247. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2008.10.026>
- Fernandez-Peralta AM, Daimiel L, Nejda N et al (2010) Association of polymorphisms MTHFR C677T and A1298C with risk of colorectal cancer. genetic and epigenetic characteristic of tumors and response to chemotherapy. *Int J Colorectal Dis* 25(2):141–151. <https://doi.org/10.1007/s00384-009-0779-y>
- Galsky MD, Sfakianos JP and Ferket BS (2017) Neoadjuvant Chemotherapy in Muscle-invasive Bladder Cancer: Are Things Now Getting Personal? *Eur Urol* 72(4):555–556. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2017.04.012>
- Harpole D, Moore M, Herndon JE et al (2001) The prognostic value of molecular marker analysis in patients treated with trimodality therapy for esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 7(3):562–569. <https://aacrjournals.org/clincancerres/article/7/3/562/200075/The-Prognostic-Value-of-Molecular-Marker-Analysis>
- Han B, Guo Z, Ma Y et al (2015) Association of GSTP1 and XRCC1 gene polymorphisms with clinical outcome of advanced non-small cell lung cancer patients with cisplatin-based chemotherapy. *Int J Clin Exp Pathol* 8(4):4113–4119. PMID:PMC4466987
- Haiboniuk I, Kravchenko S, Makukh H et al (2020) The frequency of associated with the Gilbert's syndrome UGT1A1 gene low-functional allele 7(TA) (rs8175347) in Ukraine. *Bull Probl Biol Med* 2(156): 91–96. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2020-2-156-91-96>
- Henderson C, McLaren AW, Wolf CR (2014) In vivo regulation of human glutathione transferase GSTP by chemopreventive agent. *Cancer Res* 74(16):4378–4387. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-0792>
- Joerger M, Burgers S, Baas P et al (2012) Germline polymorphisms in patients with advanced nonsmall cell lung cancer receiving first-line platinum-gemcitabine chemotherapy: a prospective clinical study. *Cancer* 118(9):2466–2475. <https://doi.org/10.1002/cncr.26562>
- Kaivosaaari S, Finel M and Kokinen M (2011) N-glucuronidation of drugs and other xenobiotics by human and animal UDP-glucuronosyltransferases. *Xenobiotica* 41(8):652–669. <https://doi.org/10.3109/00498254.2011.563327>
- Kang H, Kim W, Yun S (2020) The therapeutic and prognostic implications of molecular biomarkers in urothelial carcinoma. *Translat Cancer Res* 9(10): 6609–6623. <https://doi.org/10.21037/tcr-20-1243>
- Kim KH, Lee HW, Ha HK, Seo H (2023) Perioperative systemic therapy in muscle invasive bladder cancer: Current standard method, biomarkers and emerging strategies. *Investig Clin Urol*. <https://doi.org/10.4111/icu.20230006>
- Kucherenko A, Pampukha V, Bobrova I et al (2015) ITPA gene variant may protect against anemia induced during pegylated interferon alfa and ribavirin combination treatment in Ukrainian patients with chronic hepatitis. *Tsitol Genet* 49(12):38–41. https://core.ac.uk/reader/141666584?utm_source=linkout
- Moradveisi B, Muwakkit S, Zamani F et al (2019) ITPA, TPMT, and NUDT15 Genetic Polymorphisms Predict 6-Mercaptopurine Toxicity in Middle Eastern Children With Acute Lymphoblastic Leukemia. *Frontiers in pharmacology* 10:916. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00916>
- Niedersüss-Beke D, Puntus T, Kunit T et al (2017) Neoadjuvant Chemotherapy with Gemcitabine plus Cisplatin in Patients with Locally Advanced Bladder. *Cancer Oncol* 93(1):36–42. <https://doi.org/10.1159/000463389>
- Ogur T, Fujiwara Y, Katoh O et al (2000) Glutathione S transferase-pi gene expression and platinum drug exposure in human lung cancer. *Cancer Lett* 156(1): 93–99. [https://doi.org/10.1016/s0304-3835\(00\)00447-x](https://doi.org/10.1016/s0304-3835(00)00447-x)
- Peklak-Scott C, Smitherman PK, Townsend AJ and Morrow CS (2008) Role of glutathione S-transferase P1-1 in the cellular detoxification of cisplatin. *Mol Cancer Ther* 7(10):3247–3255. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-08-0250>
- Petrone I, Bernardo PS, Dos Santos EC, Abdelhay E (2021) MTHFR C677T and A1298C Polymorphisms in Breast Cancer, Gliomas and Gastric Cancer: A Review 12(4):587. <https://doi.org/10.3390/genes12040587>
- Ritchie MD, Hahn L and Moore JH (2003) Power of multifactor dimensionality reduction for detecting gene-gene interactions in the presence of genotyping error, missing data, phenocopy, and genetic heterogeneity. *Genet Epidemiol* 24(2):150–57. <https://doi.org/10.1002/gepi.10218>
- Sidaway P (2016) Bladder cancer: Targeted agents reverse chemotherapy resistance in urothelial carcinoma

- noma. *Nat Rev Urol* 13(9):494–498. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2016.138>
- Singh RR, Reindl KM (2021) Glutathione S-Transferases in Cancer. *Antioxidants* 10(5):701. <https://doi.org/10.3390/antiox10050701>
- Ślusarczyk A, Zapala P, Zapala Ł, Radziszewski P (2023) The impact of smoking on recurrence and progression of non-muscle invasive bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol* 149(6):2673–2691. <https://doi.org/10.1007/s00432-022-04464-6>
- Srougi V, Gallucci FP, Mattedi RL and Srougi M (2017) Carcinosarcoma of the bladder following local schistosomiasis infection. *BMJ Case Rep*. <https://doi.org/10.1136/bcr-2016-218642>
- StatSoft, Inc. (2011) STATISTICA (Data Analysis Software System), Version 10. <http://www.statsoft.com>
- Sung H, Ferlay J, Siegel R et al (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 71(3):209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Tatarsky PF, Kucherenko AM, Kravchenko SA et al (2010) Ischemic stroke in Ukrainian population: possible involvement of the F2 G20210A, F5 G1691A and MTHFR C677T gene variants. *Biopolymers and Cell* 26(4):299–305. <http://biopolymers.org.ua/content/26/4/299/>
- Tatarsky PF, Chumachenko NG, Kucherenko AM et al (2011) Study of possible role of *CYP1A1*, *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP*, *NAT2* and *ADRB2* genes polymorphisms in bronchial asthma development in children. *Biopolym Cell* 27(1):66–73. <http://www.biopolymers.org.ua/content/27/1/066/>
- Townsend D, Tew KD (2003) The role of glutathione S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene* 22(47):7369–7375. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206940>
- Wan Rosalina WR, The LK, Mohamad N et al (2012) Polymorphism of *ITPA* 94C>A and risk of adverse effects among patients with acute lymphoblastic leukaemia treated with 6-mercaptopurine. *J Clin Pharm Ther* 37(2):237–241. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2710.2011.01272.x>
- Yang L-M, Li X-H and Bao C-F (2012) Glutathione S-transferase P1 and DNA polymorphisms influence response to chemotherapy and prognosis of bone tumors. *Asian Pac J Cancer Prev* 13(11):5883–5886. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2012.13.11.5883>
- Yin J-Y, Huang Q, Zhao Y-C et al (2012) Meta-analysis on pharmacogenetics of platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. *PLoS One* 7(6):3–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038150>

Надійшла в редакцію 01.04.2024
Після доопрацювання 18.05.2024
Прийнята до друку 18.09.2024