

Выявление экспансии тринуклеотидных повторов при болезни Гентингтона

Назаров В.Д.¹, Лапин С.В.¹, Гавриченко А.В.¹, Хуторов Д.В.¹, Лобачевская Т.В.¹, Хальчицкий С.Е.², Брачунов С.П.³, Красаков И.В.⁴, Виссарионов С.В.², Баиндурашвили А.Г.², Эмануэль В.Л.¹, Тотолян А.А.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197022 Санкт-Петербург, Россия; e-mail: nazarov19932@mail.ru

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский детский ортопедический институт им. Г.И. Турнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197022 Санкт-Петербург, Россия; e-mail: s_khalchitski@mail.ru

³ Общество с ограниченной ответственностью «Медико-биологический центр», 173011 Великий Новгород, Россия; e-mail: http://info@dnk-test.com

⁴ ФГБУ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, 194044, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: ikrasakov@gmail.com

Болезнь Гентингтона является тяжелым наследственным нейродегенеративным заболеванием центральной нервной системы, проявляющимся двигательными и психическими расстройствами, а также снижением когнитивных функций. Заболевание входит в группу болезней экспансии тринуклеотидных повторов и характеризуется увеличением количества CAG-триплетов в гене *HTT*. Определение количества тринуклеотидных повторов является важным этапом не только диагностики, но и прогнозирования течения болезни Гентингтона. Работа посвящена оценке клинко-лабораторных характеристик методологии определения количества CAG-триплетов в гене *HTT* с использованием полимеразной цепной реакции с праймингом тройных повторов и капиллярного электрофореза. Обследовано 8 пациентов с болезнью Гентингтона и 50 доноров контрольной группы. Проведенная валидация системы дала возможность определить основные аналитические параметры и показала высокую воспроизводимость и точность теста. Апробация тестовой системы позволила обнаружить увеличение количества CAG-повторов в пределах умеренной или выраженной экспансии у всех пациентов с болезнью Гентингтона. Количество CAG-повторов в контрольной группе было в пределах нормы. Методология полимеразной цепной реакции с праймингом тройных повторов позволяет с высокой точностью определять количество CAG-триплетов.

Ключевые слова: Болезнь Гентингтона, CAG-повторы, экспансия, ПЦР тройных повторов.

Информация о конфликте интересов: Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо предупредить

Investigation of trinucleotides expansion level in Huntington disease with triplet repeats PCR

Nazarov V.D.¹, Lapin S.V.¹, Gavrichenko A.V.¹, Chutorov D.V.¹, S.E.², Brachunov S.P.³, Krasakov I.V.⁴, Vissarionov S.V.², Baidurashvili A.G.², Totolyan A.A.¹

¹ Center for Molecular Medicine, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg 197022, Russia; E-mail: Nazarov19932@mail.ru

² The Turner Scientific Research Institute for Children's Orthopedics, Saint Petersburg 197022, Russia; E-mail: s_khalchitski@mail.ru

³ Limited liability company «Medico-biological center», 173011 Veliky Novgorod, Russia; E-mail: info@dnk-test.com

⁴ The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, Saint Petersburg 194044, Russia; E-mail: ikrasakov@gmail.com

Huntington disease is a debilitating genetic neurodegenerative disease of the central nervous system manifested by various movement disorders, neuropsychiatric symptoms and mood abnormalities. Huntington disease is categorized by trinucleotide repeat expansion disorder and characterized by increase in number of CAG-triplet in *HTT* gene. Determination of expansion of CAG-repeats is obligatory for the diagnosis of Huntington disease. Besides that, measuring of CAG-repeats quantity can help to predict future course of the disease. This article is dedicated to the study of the quantity of CAG-repeats in *HTT* gene in patients with the Huntington disease and in the control group of persons without neurological symptoms. Triplet repeat PCR technique and capillary electrophoresis were used for the detection of CAG-repeats. Validation of system helped to determine basic analytic parameters of test and showed its high reproducibility and precision. Apr probation of test system in patients with the Huntington disease showed that in all tested samples had moderate or significant expansion of CAG-repeats. The amount of CAG-triplets in the control group did not exceed limits of normal. Triplet repeats PCR allows determining the quantity of CAG-triplets with high precision and reproducibility, to decrease the time of the test conduction and to simplify the whole procedure.

Key words: Huntington disease, CAG-repeats, expansion, triplet repeats PCR.

Введение

Болезнь Гентингтона (БГ) представляет собой наследственное аутосомно-доминантное нейродегенеративное заболевание, проявляющееся двигательными нарушениями, расстройством когнитивных функций и психоэмоциональными отклонениями [1]. Распространенность заболевания в европейской популяции составляет от 7 до 10 чел. на 100 000 населения. В основе патогенеза заболевания лежит патологическая экспансия тринуклеотидных CAG повторов в локусе 4p16.3 на 5-конце 1-го экзона гена *HTT*, кодирующего белок гентингтин (ГЕНТ) [2]. Экспансией называется патологическое увеличение количества нуклеотидных последовательностей в нестабильных участках генома, приводящих к нарушению функции кодируемого белка и других протеинов. Причиной появления экспансии при БГ называют образование аномальных и неклассических ДНК форм, таких, как инвертированные повторы и «шпильки», триплекс и квадриплекс нуклеотидные пары. Данные структуры нарушают нормальную репликацию ДНК, приводя к остановке репликационного аппарата или «проскальзыванию» и дальнейшему увеличению количества повторов [3]. Кроме этого, было показано, что нарушение различных механизмов репарации и рекомбинации ДНК также приводит к появлению патологических экспансий. В случае с БГ в норме в гене *HTT* количество CAG-повторов не превышает 35, хотя при умеренном увеличении CAG-повторов в пределах 27–35 существует риск до 10% развития БГ у последующих поколений [4]. Патологическая экспансия более 36 CAG-повторов приводит к образованию аномального белка ГЕНТ с удлинённым полиглутаминовым участком на N-конце молекулы. Изменение первичной структуры ГЕНТ приводит к дестабилизации молекулы, повышению склонности к агрегации и образованию внутриядерных отложений. Некоторые авторы называют данный механизм главной причиной селективной гибели ГАМК-ергических шипиковых нейронов полосатого тела при БГ, однако значимую роль играет и нарушение убиквитин-протеасомной системы деградации белков, аксонального транспорта, транскрипции ДНК, а также эксайтотоксичность, вызванная мутантным белком, и появление токсичного N-фрагмента белка ГЕНТ с экспансионной полиглутаминовой последовательностью [5].

Было показано, что уровень экспансии находится в обратной корреляции со временем начала первых неврологических симптомов и скоростью прогрессии [6]. Количество CAG повторов мутантной аллели объясняет только 50–70% вариаций в возрасте манифестации и тяжести БГ. Другие генетические, а также внешнесредовые факторы могут оказывать влияние на течение БГ [7].

Лабораторное подтверждение и определение уровня экспансии при БГ является важным этапом не только дифференциального диагноза, но и прогнозирования течения заболевания и определения рисков его развития у последующего поколения.

Наиболее распространенным подходом для определения количества CAG-повторов в гене *HTT* является классическая полимеразная цепная реакция (ПЦР) с использованием меченых «репортерами» праймеров, которые фланкируют зону CAG-триплетов [8, 9].

При использовании данного метода существуют сложности при дифференцировке одинакового количества CAG-повторов на обеих аллелях и псевдогемоаллелизма, вызванного отсутствием продукта ПЦР одной из аллелей гена пациента. Данный феномен может возникать при очень высоком уровне экспансии или при полиморфизме нуклеотидов в участке связывания праймеров. В соответствии с рекомендациями, для исключения псевдогемоаллелизма требуется проведение саузерн-блоттинга [8, 9].

Одним из альтернативных подходов к определению точного количества CAG-повторов, исключения псевдогемоаллелизма, а также подтверждения наличия очень высокой экспансии является метод ПЦР с праймингом тройных повторов, описанный в 1993 г. Warner et al. [10, 11].

Работа посвящена оценке клинико-лабораторных характеристик методологии определения количества CAG-триплетов в гене *HTT* с использованием ПЦР с праймингом тройных повторов и капиллярного электрофореза.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 7 пациентов с клиническим диагнозом БГ и 1 пациент с генетическим диагнозом БГ с отсутствием симптоматики заболевания (основная группа). Группу контроля составили 50 доноров крови, которые никогда ранее не госпитализировались с неврологической симптоматикой и не имеют родственников, страдающих неврологическими заболеваниями (контрольная группа). Исследование одобрено Этическим комитетом ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова от 31 октября 2016 года на заседании № 189.

Геномная ДНК, использованная для генетического анализа, была выделена из лейкоцитов периферической крови с использованием коммерческой системы QIAGEN (Германия). Очищенная ДНК была разведена в элюирующем ТЕ-буфере. При проведении анализа концентрации ДНК индекс абсорбции 260/280 во всех образцах варьировал в пределах 1,8–1,9. После измерения концентрации ДНК была разведена до 100 нг/мкл и хранилась при 20°C

Количество CAG-повторов в обеих группах было определено с помощью методики ПЦР с праймингом тройных повторов.

Для проведения ПЦР с праймингом тройных повторов была синтезирована пара олигонуклеотидов, один из которых был мечен FAM-6 «репортером». Прямой праймер граничил с 5-концом участка CAG-повторов и отступал от него на три нуклеотида (TCC) по причине

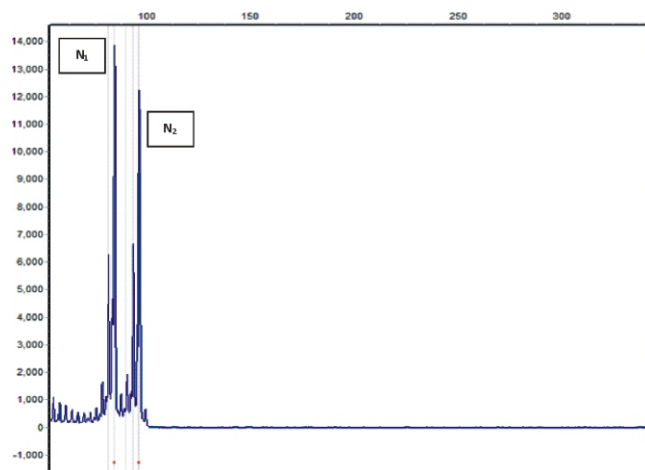


Рис. 2. Пример электрофореграммы пациента без увеличения количества CAG-повторов. N₁-15 CAG-повторов, N₂-16 CAG-повторов.

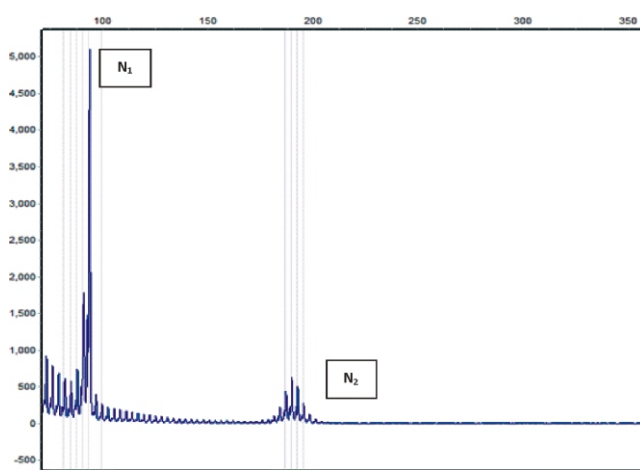


Рис. 3. Пример электрофореграммы с экспансией одной из аллелей. N₁-15 CAG-повторов, N₂-40 CAG-повторов.

нентов реакции с помощью BigDye XTerminator Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, USA) и далее анализировался с помощью автоматического капиллярного электрофореза в генетическом анализаторе ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems).

Были определены внутрипостановочная и межпостановочная воспроизводимость метода у отрицательных контрольных образцов и у пациентов. После этого у 50 доноров и 8 пациентов был проведен анализ на количество CAG-повторов.

Результаты исследования

При использовании методики ПЦР с праймингом тройных повторов продукты ПЦР, разделенные с помощью высокоточного капиллярного электрофореза, образуют характерную картину флуоресцентной «лестницы» с разницей между пиками в три нуклеотида. Несмотря на то, что обратный праймер может связываться с любым участком CAG-повторов, что и создает характерную электрофоретическую картину, наибольшей специфичностью праймер обладает к последним

5 CAG-повторам, поэтому размеры пиков с наибольшей высотой являются размерами ПЦР-продукта, включающего область с CAG-повторами двух аллелей пациента. Примеры электрофореграмм отрицательного контрольного образца и пациента с ХГ приведены на рис. 2 и 3.

Проведенная оценка клинико-диагностических характеристик теста по определению количества CAG-повторов в гене *HTT* с помощью ПЦР-ПТП позволила определить воспроизводимость и аналитическую точность теста. Полученные данные воспроизводимости приведены в табл. 1.

Было проведено исследование количества CAG-повторов у 50 доноров и у 8 пациентов с диагнозом ХГ методом ПЦР с праймингом тройных повторов и секвенирования.

Количество CAG-триплетов у пациентов с диагнозом ХГ, рассчитанное с помощью метода ПЦР с праймингом тройных повторов, полностью совпадало с результатами прямого автоматического секвенирования участка экспансии и нормального аллеля.

Количество триплетов на обеих аллелях в когорте доноров не превышало 26 и варьировало от 12 до 26. В группе пациентов с ХГ количество CAG-повторов в мутантном аллеле варьировало от 37 до 48. У одного

Таблица 1

Результаты исследования воспроизводимости тестовой системы

Валидационный критерий	Среднее значение размера продукта ПЦР ± SD		Коэффициент вариации CV %	
	1 аллель	2 аллель	1 аллель	2 аллель
Внутрипостановочная воспроизводимость отрицательного образца в 30 повторах	86,21 ± 0,3	91,96 ± 0,1	0,34	0,2
Внутрипостановочная воспроизводимость положительного образца в 30 повторах	91,67 ± 0,35	171,54 ± 0,34	0,27	0,17
Межпостановочная воспроизводимость отрицательного образца в 30 тестах	86,52 ± 0,37	92,98 ± 0,41	0,39	0,35
Межпостановочная воспроизводимость положительного образца в 30 тестах	91,31 ± 0,39	171,98 ± 0,4	0,37	0,19

пациента нами было обнаружено увеличение количества триплетов на двух аллелях: на одной в пределах патологической экспансии, на второй в пределах умеренного увеличения. График распределения количества триплетов в двух группах приведен на рис. 4.

Обсуждение результатов и выводы

С каждым годом обнаруживается все больше неврологических генетических нозологий, характеризующихся увеличением повторяющихся нуклеотидных комплексов. Болезнь Гентингтона является одной из первых патологий, для которой было доказано, что экспансия триплетов может приводить к развитию серьезных нарушений функции нейронов. Несмотря на то, что мутация в гене *HTT*

была обнаружена в 1993 г., до настоящего времени БГ остается неизлечимым инвалидизирующим заболеванием со средней продолжительностью жизни от 15 до 18 лет после появления первых симптомов [13]. Генетическое тестирование БГ важно не только для проведения дифференциального диагноза, но и определения прогноза, тяжести течения болезни, а также рисков развития заболевания в следующем поколении или у родственников.

Наиболее распространенным подходом для детекции экспансии является классическая ПЦР с использованием меченых «репортерами» праймеров, которые фланкируют зону CAG-триплетов. Разделение продуктов реакции с помощью капиллярного, агарозного или полиакриламидного электрофореза позволяет воспроизводимо выявлять до 125 CAG-повторов в гене *HTT* [14]. Для более высоких уровней

Таблица 2

Клиническое описание пациентов с диагнозом «Хорея Гентингтона»

Пациент	Пол	Количество CAG-повторов. ПЦР с праймингом тройных повторов*		Количество CAG-повторов. Метод автоматического секвенирования		Возраст появления первых моторных нарушений	Неврологический статус при последней госпитализации	Анамнез
		1 аллель	2 аллель	1 аллель	2 аллель			
Пациент 1	М	15,3	47,2	16	48	23 года	Хореический гиперкинез. Торсионная дистония Левосторонняя пирамидная микросимптоматика Смешанная атаксия. Умеренные когнитивные нарушения	Нет
Пациент 2	Ж	14,8	40	15	40	45 лет	Хореический гиперкинез. Элементы псевдо-бульбарного паралича Левосторонняя пирамидная симптоматика Смешанная атаксия. Умеренные когнитивные нарушения	Больны мать, дочь
Пациент 3	М	15,1	39,8	16	40	43	Хореический гиперкинез Элементы мозжечковой атаксии Деменция Гипомимия, агрессия, апатия	Больны де-душка, мать, брат
Пациент 4	Ж	14,5	41,9	15	42	Симптоматика отсутствует	Симптоматика отсутствует	Больны отец, дядя, бабушка, прадедушка
Пациент 5	Ж	33,5	39,5	34	40	43	Хореический гиперкинез Элементы мозжечковой атаксии Деменция	Нет
Пациент 6	Ж	19	38	19	38	41	Хореический гиперкинез. Левосторонняя пирамидная симптоматика Умеренные когнитивные нарушения	Нет
Пациент 7	Ж	14	46,4	14	47	27	Хореический гиперкинез. Легкие когнитивные нарушения Депрессия	Болен отец
Пациент 8	Ж	14,3	37	15	37	62	Хореический гиперкинез. Деменция	Нет

Примечание. Количество CAG-повторов приведено без учета округления в большую сторону

экспансии CAG-повторов требуется использование трудоемкого и длительного анализа саузерн-блоттинга.

Альтернативным лабораторным подходом к определению количества CAG-триплетов является ПЦР с праймингом тройных повторов с использованием капиллярного электрофореза и меченых праймеров. Данная методика не только позволяет точно определять уровень экспансии, но также дифференцировать случаи псевдогомозиготности и подтверждать наличие очень высоких уровней экспансии у пациентов [10].

В ходе валидации методологии нами были использованы специфические добавки в ПЦР-смесь, а также альтернативный TouchDown-протокол с удлинённой элонгацией ПЦР продукта, что позволило значительно повысить специфичность и робастность проводимой реакции.

Были исследованы основные аналитические характеристики ПЦР с праймингом тройных повторов. Продемонстрирована высокая внутрилабораторная воспроизводимость при анализе в одной лаборатории одних и тех же положительных и отрицательных проб с полным повтором процедуры приготовления образцов и выполнения всех измерений в разных сериях. Коэффициент вариации CV% ни в одной из серий измерений не превысил порога в 1%.

Было проведено прямое подтверждение количества CAG-повторов в группе пациентов с БГ с использованием автоматического секвенирования. Количество CAG-повторов, определенное с помощью секвенирования, совпадало с количеством CAG-повторов, выявленных с помощью ПЦР с праймингом тройных повторов, учитывая уровень приемлемой ошибки [8, 9].

В ходе апробации тестовой системы и исследования количества повторов в группе доноров ни в одном образце не было найдено количества повторов, соответствующего умеренной или выраженной экспансии. В группе пациентов с клинически подтвержденной БГ у всех исследуемых была обнаружена хотя бы одна аллель с умеренной или выраженной экспансией. Пациент с компаундным увеличением количества триплетов вызывает интерес в связи с данными о возможном влиянии немутатной аллели на фенотип и течение БГ [15]. И хотя ряд работ отрицают какое-либо влияние нормальной аллели на проявления БГ, данные о влиянии умеренно увеличенных аллелей отсутствуют [7].

Таким образом, нами была проведена валидация и апробация методологии точного определения количества CAG-повторов при диагностике БГ. Методология ПЦР с праймингом тройных повторов может использоваться в качестве альтернативного подхода генетической диагностики БГ. Недостатком данного исследования является маленькая выборка группы пациентов. Потенциально применение данного метода в клинической практике с использованием высокоточного капиллярного электрофореза и меченых праймеров поможет избежать возможных ложноотрицательных результатов и дифференцировать случаи псевдогомозиготности.

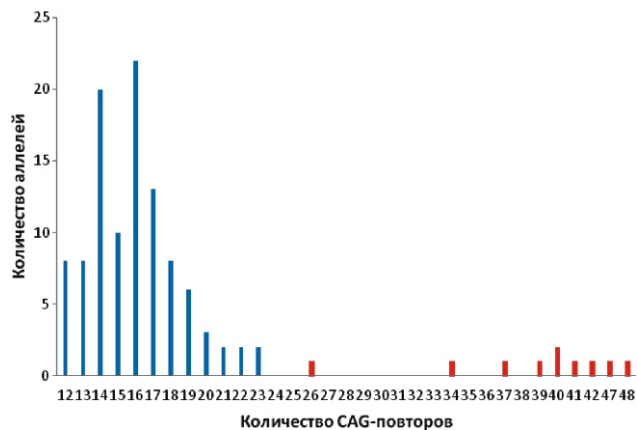


Рис. 4. Распределение количества CAG-повторов на всех аллелях пациентов с БГ и в контрольной группе. Синим цветом отмечены столбы с количеством CAG-повторов в пределах нормы, красным — с умеренным увеличением или экспансией.

Список литературы

- Иллариошкин С.Н. и др. ДНК диагностика и медико-генетическое консультирование в неврологии. М., 2002.
- Bates GHPJL: Huntington's disease. 3 edn, Oxford, UK: Oxford University Press, 2002.
- Budworth H, McMurray CT. A brief history of triplet repeat diseases. *Methods Mol Biol.* 2013; 1010: 3-17.
- Harper PS. Huntington Disease. In: eLS. John Wiley & Sons, Ltd; 2006.
- Ross CA, Tabrizi SJ. Huntington's disease: from molecular pathogenesis to clinical treatment. *Lancet Neurol.* 2011; 10(1): 83-98.
- Иллариошкин С.Н., Игараша С., Онодера О., Маркова Е.Д., Никольская Н.Н., Танака Х., Чабрашвили Т.З., Инсарова Н.Г., Эндо К., Иванова-Смоленская И.А., Тсуц С. Trinucleotide repeat length and rate of progression of huntington's disease. *Annals of Neurology.* 1994; 36. № 4: 630-635.
- Lee JM, Ramos EM, Lee JH, et al. CAG repeat expansion in Huntington disease determines age at onset in a fully dominant fashion. *Neurology.* 2012; 78(10): 690-695.
- Losekoot M, van Belzen MJ, Seneca S, Bauer P, Stenhouse SaR, Barton DE. EMQN/CMGS best practice guidelines for the molecular genetic testing of Huntington disease. *Eur J Hum Genet.* 2013; 21(5): 480-486.
- Bean L, Bayrak-Toydemir P. American College of Medical Genetics and Genomics Standards and Guidelines for Clinical Genetics Laboratories, 2014 edition: technical standards and guidelines for Huntington disease. *Genet Med.* 2014; 16(12): e2.
- Jama M, Millson A, Miller CE, Lyon E. Triplet repeat primed PCR simplifies testing for huntington disease. *J Mol Diagnostics.* 2013; 15(2): 255-262.
- Warner JP, Barron LH, Brock DJ. A new polymerase chain reaction (PCR) assay for the trinucleotide repeat that is unstable and expanded on Huntington's disease chromosomes. *Mol Cell Probes.* 1993; 7(3): 235-239.
- Roy H, Perlis et al. Prevalence of incompletely penetrant Huntington's disease alleles among individuals with major depressive disorder. *Am J Psychiatry.* 2010; 167: 574-579.
- McMurray CT. Mechanisms of trinucleotide repeat instability during human development. *Nat Rev Genet.* 2010; 11(11): 786-799.
- Nance MA, Mathias-Hagen V, Brenningstall G, Wick MJ, McGlennen RC. Analysis of a very large trinucleotide repeat in a patient with juvenile Huntington's disease. *Neurology.* 1999; 52: 392-394.
- Williams LC, Hegde MR, Nagappan R, et al. Null alleles at the Huntington disease locus: implications for diagnostics and CAG repeat instability. *Genet Test.* 2000; 4(1): 55-60.

УДК 57.575.577.2.27. 61.616-006.04.618.1.11.

Роль вовлеченных в иммунный ответ и воспаление генов в патогенезе рака яичников (обзорная статья)

Мингажева Э.Т.¹, Прокофьева Д.С.¹, Сакаева Д.Д.², Фаисханова Р.Р.², Хуснутдинова Э.К.^{1,3}

¹ Башкирский государственный университет, кафедра генетики и фундаментальной медицины, Уфа 450076; e-mail: Elvira.F91@mail.ru

² ГБУЗ Республиканский клинический онкологический диспансер, Уфа

³ Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа 450054

Рак яичников (РЯ) занимает одно из лидирующих мест по смертности среди онкологических заболеваний репродуктивной сферы у женщин. Данная патология имеет полигенный характер. Одним из важных факторов риска РЯ выступает генетическая предрасположенность. В последнее время при исследовании патогенеза злокачественных новообразований яичников особое внимание уделяется роли иммунной системы. В данном обзоре представлен анализ отечественной и зарубежной литературы, посвященной изучению роли провоспалительных цитокинов, обеспечивающих мобилизацию воспалительного ответа, противовоспалительных цитокинов, ограничивающих развитие воспаления, транскрипционных факторов и других участников иммунного ответа в канцерогенезе яичников.

Ключевые слова: рак яичников, иммунная система, ядерный транскрипционный фактор NF-κB, цитокины, циклооксигеназы, хемокины.

Информация о конфликте интересов: Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо предупредить.

Role of genes involved in immune response and inflammation and the pathogenesis of ovarian cancer

Mingajeva E.T.¹, Prokofyeva D.S.¹, Sakaeva D.D.², Faishanova R.R.², Khusnutdinova E.K.^{1,3}

¹ Department of Biology, Bashkir State University, Ufa, Russian Federation, e-mail: Elvira.F91@mail.ru

² Republic Clinical Oncology Center, Ufa, Russian Federation

³ Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Ufa, Russian Federation

Ovarian cancer (OC) is one of the leading places in mortality among the cancers of the female reproductive system. This pathology is polygenic in nature. One of the important risk factors for ovarian cancer acts is a genetic predisposition. Recently in the study of the malignant neoplasms pathogenesis of ovary special attention is paid to the role of the immune system. This review presents the analysis of domestic and foreign literature devoted to studying the role of proinflammatory cytokines that mobilize inflammatory response, inflammatory cytokines limiting the development of inflammation, the transcription factors and other participants of the immune response in the ovarian carcinogenesis.

Key words: ovarian cancer, immune system, nuclear factor NF-κB, cytokines, cyclooxygenases, chemokines.

Введение

Злокачественные новообразования женской репродуктивной системы, вследствие высокой заболеваемости и смертности, являются актуальной социально-медицинской проблемой современного общества. К одним из широко распространенных опухолей относится рак яичников, который в структуре онкогинекологической смертности женщин занимает первое место. Ежегодно в мире регистрируется более 238 000 новых случаев заболевания РЯ и 151 000 смертельных исходов. Важной особенностью рака яичников является то, что продолжительное время он протекает без выраженных симптомов и, как правило, диагностируется на поздних стадиях развития (III–IV), когда общая 5-летняя выживаемость пациентов не превышает 45% [1].

Рак яичников относится к многофакторным заболеваниям, развитие которого обусловлено наследственной предрасположенностью, возрастом, гормональным дисбалансом, воздействием окружающей среды и образом жизни. Высокий риск данной патологии в первую очередь связан с мутациями в важных генах-кандидатах *BRCA1* и *BRCA2*, белковые продукты которых являются ключевыми участниками сигнального пути клетки в ответ на воздействие ионизирующей радиации. Однако нарушения в этих генах объясняют не более 15% всех случаев заболевания. В последнее время важная роль в возникновении и прогрессии злокачественных опухолей яичников отводится компонентам иммунной системы. При канцерогенезе нередко происходит снижение функциональных параметров пациентов,

служащее сигналом о неполноценности иммунного контроля или неспособности иммунной системы сопротивляться росту опухоли. Благодаря различным механизмам растущая опухоль способна ускользать от полноценного иммунного ответа или подавлять его. Клетки новообразования синтезируют различные молекулы, которые блокируют пролиферацию Т-лимфоцитов и вызывают их апоптоз, а также приводят к иммунологической толерантности опухоли. Немаловажную роль в процессе опухолевого роста играют цитокины, являющиеся регуляторными молекулами иммунной системы и посредниками межсистемных взаимодействий, но до настоящего времени нет единого мнения о степени их участия в патогенезе рака яичников. Несмотря на то, что на сегодняшний день достигнуты определенные успехи в области изучения генетической предрасположенности к раку яичников, остается еще множество невыясненных аспектов. Дальнейшие исследования патогенетических механизмов возникновения и развития РЯ будут способствовать более глубокому пониманию данной проблемы [2].

Эпидемиология рака яичников

Рак яичников является одной из наиболее частых злокачественных опухолей женских половых органов и в мировой статистике занимает третье место после рака тела и шейки матки [3]. Высокая смертность в первую очередь вызвана диагностированием данной патологии на поздних стадиях развития (III–IV). Как правило, на первом году после установления диагноза погибает каждая третья пациентка. Обобщенные данные популяционных раковых регистров стран Европы свидетельствуют, что одногодичная выживаемость больных раком яичников в целом составляет 63%, трехлетняя — 41%, пятилетняя — 35% [4].

Похожая ситуация складывается и в России. Так, в 2013 г. было зарегистрировано более 13 000 новых случаев заболевания раком яичников и 7000 смертельных исходов от данной патологии. Злокачественные опухоли яичников встречаются у женщин всех возрастов, начиная с младенчества. Средний возраст манифестации заболевания, как правило, приходится на 58 лет [5].

В целом, выявление РЯ на поздних стадиях развития и низкий уровень выживаемости пациентов в первую очередь связаны с бессимптомным течением заболевания, а также распространением рака яичников у женщин различных возрастных групп, недостаточной эффективностью существующих на сегодняшний день диагностических методов исследования и отсутствием персонализированного подхода к лечению пациенток [2]. Понимание генетических механизмов, лежащих в основе развития рака яичников, будет способствовать формированию групп повышенного риска и лучшей диагностике заболевания.

Патогенез рака яичников

Важную роль в канцерогенезе яичников играют изменения в сигнальном пути ответа клетки на воздействие ионизирующего излучения. Данный сигнальный путь включает в себя множество участников *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *NBN*, *ATM*, *MDC1*, *PALB2*, *RAD51D*, *TP53*, *MRE11* и другие [6]. В первую очередь, развитие РЯ ассоциировано с мажорными мутациями в высокопенетрантных генах *BRCA1* (Breast cancer gene 1) и *BRCA2* (Breast cancer gene 2). Белковые продукты данных генов вовлечены в процессы регуляции пролиферации клеток, геномной стабильности и репарации двухцепочечных разрывов ДНК путем гомологичной рекомбинации. У носительниц мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* риск развития заболевания раком яичников составляет 37–62% и 11–23% соответственно [7]. Однако не более 15% всех случаев заболевания опосредованы мутациями в этих генах. В развитие рака яичников также вовлечены гены со средней и низкой пенетрантностью. В патогенезе различных гистологических форм злокачественных опухолей яичников важную роль играют нарушения в других сигнальных путях, таких, как ILK, MAPK/ERK, EGFR/AKT и других [8]. Кроме того, исследования последних лет свидетельствуют о существенном воздействии на канцерогенез яичников компонентов иммунного ответа и воспаления [2, 9, 10].

Вклад нарушений в генах иммунной системы в развитие рака яичников

За последние 30–40 лет благодаря успехам в области фундаментальной иммунологии получено множество данных, свидетельствующих об участии иммунной системы в канцерогенезе [2]. К числу ключевых сигнальных молекул, опосредующих функциональную связь между воспалением и развитием рака, относят ядерный фактор транскрипции NF-κB, гипоксия-индуцибельный фактор-1α (HIF-1α), индуцибельную синтазу оксида азота (iNOS), индуцибельный фермент циклооксигеназу 2-го типа (COX-2), IL-1, IL-6, IL-8, интерферон-α (IFN-α), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), фактор некроза опухоли-α (TNF-α), трансформирующий фактор роста-β (TGF-β) и некоторые другие.

Роль ядерного транскрипционного фактора NF-κB в развитии рака яичников

Ядерный фактор транскрипции NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) является одним из главных транскрипционных факторов, регулирующий экспрессию множества генов, вовлеченных в процессы пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток, а также генов воспалительного и иммунного ответа. К семейству транскрипционных факторов

NF-κB относятся 5 белков: NF-κB1 (p50/p105), NF-κB2(p52/p100), RELA (p65), RelB и REL (c-Rel). Основной формой существования данных белков в большинстве клеток млекопитающих является гетеродимер p50/RelA(p65). В цитоплазме клетки белок NF-κB находится в неактивном состоянии в комплексе с ингибиторными протеинами IκB (Inhibitor of kappa B) [11].

Активация фактора транскрипции NF-κB происходит под действием широкого спектра сигнальных молекул, таких как гормоны, факторы роста и др. Активированный белок NF-κB, связываясь с промоторами генов-мишеней, регулирует биосинтез десятков протеинов и факторов, ответственных за физиологические и патофизиологические клеточные процессы (рис. 1). Основное его предназначение заключается в переключении клеток с одной программы развития на другую в целях сохранения функции органа и всего организма [12].

В злокачественных опухолях различной локализации, включая рак яичников, наблюдается значительно более высокое содержание белка NF-κB. Так, в исследовании Guo с соавт. при изучении роли белкового продукта гена *NFKB1* в развитии эпителиального рака яичников было установлено, что повышенное содержание протеина NF-κB в опухоли ассоциировано с поздней клинической стадией заболевания и высокой степенью злокачественности [14]. В работе Plewka с соавт., направленной на оценку уровня экспрессии ряда провоспалительных факторов, в том числе белка NF-κB, в карциномах яичников, было выявлено более высокое содержание данного протеина в пограничных и серозных злокачественных опухолях по сравнению с доброкачественными новообразованиями. Однако, в муцинозных опухолях не было установлено различий в уровне белка NF-κB между доброкачественными, пограничными и злокачественными новообразованиями. Данные, полученные в работе Plewka с соавт., свидетельствуют о различиях в уровне содержания протеина NF-κB между разными типами опухолей яичников [15].

Ядерный транскрипционный фактор NF-κB кодируется геном *NFKB1*, который локализован на хромосоме 4q24. Ген *NFKB1* имеет размер 156 кб и состоит из 24 экзонов, разделенных интронами, длина которых варьирует в диапазоне от 323 до 40 000 п.н. [16].

В промоторной области данного гена известен полиморфный вариант rs28362491 (-94 insertion/deletion (I/D) *ATTG*), который влияет на экспрессию гена *NFKB1*. Делеция четырех нуклеотидов *ATTG* приводит к значительному снижению активности промотора, и, как следствие, более низкому уровню белка NF-κB. Согласно данным литературы, указанный полиморфный вариант может оказывать влияние на риск развития злокачественных новообразований, в том числе РЯ [17]. Так, в одном из исследований «случай-контроль» было показано достоверное увеличение риска развития рака яичников у лиц гомозиготных по аллелю *I* по сравнению

с гомозиготами по аллелю *D* полиморфного варианта rs28362491 в гене *NFKB1* (OR = 1,39, 95% CI = 1,00-1,92) [18]. Также установлено, что делеция четырех нуклеотидов *ATTG* в промоторной области гена *NFKB1* ассоциирована с риском развития злокачественных новообразований различной этиологии в европейских и азиатских популяциях, однако результаты исследований разных авторов неоднозначны. Данные Wang с соавт. указывают на то, что аллель *D* исследуемого полиморфного локуса является протективным для азиатской популяции и рисковым — для европейской [19]. В метаанализе, проведенном Luo с соавт., получены противоположные результаты [17].

В целом, на сегодняшний день не вызывает сомнения важная роль белка NF-κB в патогенезе злокачественных новообразований, в том числе рака яичников.

Гипоксия-индуцибельный фактор -1α (hypoxia-inducible factor — HIF-1α)

Известно, что сильнейшим стимулятором ангиогенеза опухоли является гипоксия. Гипоксия-индуцибельный фактор-1α (HIF-1α) является одним из основных факторов транскрипции, который обеспечивает адаптацию раковых клеток к гипоксии и инициирует различные пути, поддерживающие рост и прогрессию опухоли [20]. Кроме того, HIF-1α участвует в контроле ряда генов, вовлеченных в энергетический метаболизм, эритропоэз, ангиогенез, клеточную пролиферацию, дифференцировку и апоптоз. HIF-1 представляет собой гетеродимер, состоящий из двух субъединиц: HIF-1α и HIF-1β [21]. Важное значение в патогенезе злокачественных опухолей, в том числе РЯ, отводят субъединице HIF-1α, которая кодируется геном *HIF1A*. Согласно некоторым исследованиям, высокий уровень белка HIF-1α ассоциирован с низкой степенью дифференцировки раковых клеток, наличием метастазов в лимфоузлах и снижением общей 5-летней выживаемости больных РЯ [22].

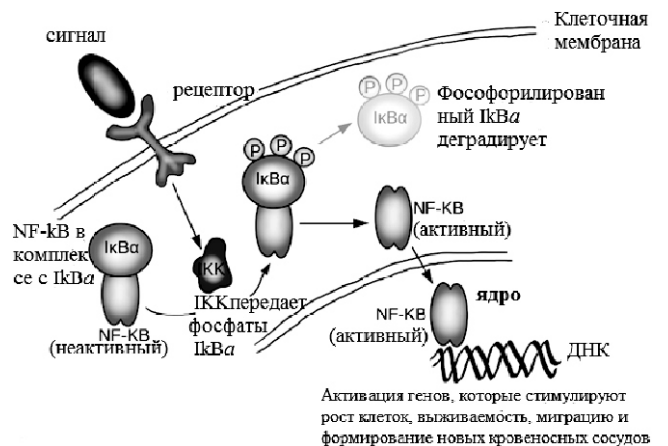


Рис. 1. Активация фактора транскрипции NF-κB [13].

Индукцибельная синтаза оксида азота

Индукцибельная NO-синтаза оксида азота (iNOS) — это ключевой фермент, катализирующий образование оксида азота (N_2O_3). Высокие концентрации оксида азота участвуют в противоопухолевой, антимикробной защите, оказывают влияние на эозинофильное воспаление и образование свободных радикалов [23].

Оксид азота играет важную роль в процессе канцерогенеза, выступая в качестве медиатора роста раковых клеток. На поздних стадиях развития злокачественного новообразования N_2O_3 усиливает кровоснабжение и активирует метаболизм опухолевых клеток, ослабляет реактивность специфических иммуннокомпетентных клеток организма [24]. В некоторых исследованиях было обнаружено повышенное содержание фермента iNOS в пограничных и злокачественных серозных опухолях яичников по сравнению с доброкачественными новообразованиями и здоровыми тканями. Лучшее понимание роли данного белка в развитии злокачественных новообразований яичников будет способствовать разработке более эффективных методов лечения, которые, в свою очередь, приведут к улучшению показателей терапии и выживаемости пациентов [15].

Роль циклооксигеназ (COX) в развитии рака яичников

Циклооксигеназы (Cyclooxygenase (COX); Prostaglandin-endoperoxide synthase (PTGS)) — семейство ферментов, катализирующих реакции превращения простагландинов из арахидоновой кислоты. В настоящее время известно две разновидности фермента циклооксигеназа-1 (COX-1) и циклооксигеназа-2 (COX-2). Ген *COX-1* является геном домашнего хозяйства и имеет постоянный уровень экспрессии. Ген *COX-2* индуцируется только под воздействием определенных стимулов, таких, как цитокины, факторы роста или гормоны, и имеет провоспалительную функцию [25].

Согласно современным представлениям, высокое содержание белка COX-2 в клетке, ассоциировано с активацией неоангиогенеза, повышением пролиферации и инвазивностью. Для злокачественных и пограничных опухолей яичников характерно значительное повышение уровня данного протеина [15].

Циклооксигеназа-2 кодируется геном *COX-2*, который расположен на длинном плече первой хромосомы (1q25.2-q25.3) [26]. В 3'-нетранслируемой области данного гена известен полиморфный вариант rs5275 (8473T>C), который влияет на его экспрессию. Согласно данным литературы, полиморфный локус rs5275 ассоциирован с риском развития злокачественных новообразований различной этиологии, в том числе РЯ. Так, в результате метаанализа, проведенного Liu et al. (2010), было показано достоверное снижение риска развития не серозного рака яичников у лиц гомозиготных по аллелю С полиморфного варианта 8473T>C в гене *COX-2* (OR = 0,66; CI: 0,44-0,98, p<0,005). Кроме того,

низкий риск развития заболевания наблюдался среди носителей генотипа СС, которые пользовались неаспиринными нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВП) в отличие от носителей генотипа ТТ или лиц, не использовавших НПВП (OR = 0,43; CI: 0,20-0,93, p<0,005) [27].

Таким образом, белок *COX-2* играет важную роль в ключевых процессах патогенеза рака, таких, как трансформация, пролиферация и развитие резистентности к лечению. Высокое содержание данного протеина в опухолевых тканях связано с неблагоприятным прогнозом течения онкологических заболеваний, в том числе рака яичников.

Цитокины и канцерогенез яичников

Цитокины — это группа веществ белковой природы, которые участвуют в регуляции иммунного ответа на всех этапах его развития и являются медиаторами воспаления. К цитокинам относятся интерлейкины, группа факторов некроза опухолей, хемокины, интерфероны, колониестимулирующие факторы, трансформирующие факторы роста и некоторые другие. Продуцентами цитокинов являются макрофаги, лимфоциты, нейтрофилы, тромбоциты, фибробласты, эндотелиоциты, кератиноциты, стромальные клетки, а также ряд других типов клеток. По механизмам действия в условиях воспаления они делятся на провоспалительные (инициирующие воспалительную реакцию), противовоспалительные (подавляющие воспалительную реакцию), и ростовые. Основными функциями цитокинов являются: регуляция гемопоэза, иммунного ответа и воспалительных процессов, а также участие в ангиогенезе, апоптозе, хемотаксисе и эмбриогенезе. В целом, цитокины осуществляют связь между иммунной, эндокринной, кроветворной и нервной системами, как в нормальных условиях, так и в ответ на разнообразные патологические воздействия (таблица) [28].

При исследовании патогенеза яичников таким представителям цитокинов, как IL-1, TNF- α и TGF- β , уделяют особое внимание.

Цитокины семейства интерлейкина-1

Цитокины семейства интерлейкина-1 (IL-1) являются важными медиаторами острого и хронического воспаления. Данное семейство включает в себя 11 белков, выполняющих как провоспалительные, так и противовоспалительные функции [39].

Наиболее изученными цитокинами являются IL-1 α , IL-1 β и IL-1Ra, которые кодируются генами *IL1A*, *IL1B* и *IL1RA* соответственно [40]. Клетки организма не способны к спонтанному синтезу представителей семейства IL-1, а отвечают их секрецией на инфекцию, действие микробных токсинов, воспалительных агентов и других цитокинов [40]. Белки семейства IL-1 имеют плейотроп-

ное действие и регулируют все стадии воспалительного процесса [41]. Белок IL-1 β представляет собой полипептид с молекулярной массой 17 кДа, который преимущественно секретируется моноцитами и макрофагами (в меньшей степени лимфоцитами, фибробластами, эпителиальными клетками) [42]. Данный цитокин инициирует и регулирует воспалительные и иммунные процессы, активирует нейтрофилы, Т- и В-лимфоциты, стимулирует синтез белков острой фазы, молекул адгезии, простагландинов [43]. Согласно данным литературы, IL-1 β может влиять на рост опухолевых клеток, а также на процессы метастазирования и ангиогенеза за счет активации факторов транскрипции NF- κ B и AP-1, выработки матриксных металлопротеиназ, факторов роста и молекул адгезии [44]. IL-1 α активирует преимущественно Т-лимфоциты, обладает аутокринным и паракринным действием. Однако иногда данный цитокин может выступать в роли противовоспалительного белка. Мембранно-ассоциированная форма IL-1 α , секретируемая злокачественными клетками, может стимулировать противоопухолевый иммунитет [45]. Ген человека, кодирующий белок IL-1 α (*IL1A*), расположен на хромосоме 2q14.2 и имеет размер 430 кб [40]. Наиболее изученным полиморфным вариантом, который влияет на экспрессию гена *IL-1A*, является rs17561 (с.340G>T, p.Ala114Ser). Так, в одном из

исследований «случай-контроль» была найдена ассоциация редкого аллеля *T* данного полиморфного локуса с повышенным риском развития карциномы яичников светлоклеточного, муцинозного и эндометриоидного гистологического типов [46]. IL-1Ra (рецепторный антагонист интерлейкина-1) — противовоспалительный цитокин, который продуцируется моноцитами, макрофагами, нейтрофилами, клетками микроглии, гепатоцитами и другими клетками. Противовоспалительные эффекты IL-1Ra связаны с ингибированием действия IL-1. В частности, Triozzi с соавт. было показано, что подавление IL-1 с помощью IL-1Ra *in vivo* способно уменьшать опухолевый рост путем модификации стромы опухоли, снижения количества миелоидных супрессорных клеток и макрофагов [47]. В исследовании Mustea с соавт. было установлено, что уровень белка IL-1Ra в асцитической жидкости у больных РЯ на поздних стадиях развития был значительно выше по сравнению с содержанием данного протеина у пациентов со злокачественными новообразованиями на ранних стадиях или доброкачественными опухолями яичников [48].

Таким образом, цитокины семейства IL-1 играют важную роль в развитии рака яичников, а также участвуют во взаимодействии злокачественных клеток с иммунной системой.

Таблица

Некоторые представители цитокинов и их роль в канцерогенезе яичников

Цитокин	Функция	Роль в патогенезе РЯ	Ссылка
Интерлейкин-6 (IL-6)	Регулирует иммунный и острофазный ответ, воспаление, онкогенез, гемопоэз, секрецию иммуноглобулинов и активацию Т-лимфоцитов.	Участвует в контроле клеточного роста, пролиферации, дифференцировки, ангиогенеза, адгезии, миграции и инвазии опухолевых клеток. Повышенное содержание цитокина IL-6 в злокачественных опухолях яичников сопровождается неблагоприятным клиническим течением заболевания.	15, 29, 30
Интерлейкин-8 (IL-8)	Отвечает за активацию нейтрофилов и моноцитов, способствует привлечению данных клеток в очаг воспаления.	Регулирует клеточную пролиферацию и миграцию, индуцирует эпителиально-мезенхимальный переход раковых клеток, а также стимулирует опухолевый ангиогенез, адгезию и инвазию. Повышенное содержание белка IL-8 в кистозной жидкости яичника, асците, сыворотке и опухолевой ткани больных РЯ ассоциировано с плохим прогнозом течения заболевания и низкой выживаемостью пациентов.	31–33
Интерферон- α (IFN- α)	Оказывает антипролиферативное действие на опухолевые клетки, стимулирует активность макрофагов и других клеток-участников иммунного ответа; обладает значительной иммуномодулирующей активностью; модулирует экспрессию молекул главного комплекса гистосовместимости I класса (HLA-DR1); угнетает репликацию вирусов.	Подавляет пролиферацию и стимулирует апоптоз опухолевых клеток; повышает активность цитотоксических Т-лимфоцитов, NK-клеток и макрофагов; усиливает экспрессию антигенов опухоли; угнетает пролиферацию В-лимфоцитов.	34–36
Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF)	Стимулирует рост и дифференцировку гематопоэтических клеток таких линий, как гранулоциты, макрофаги, эозинофилы, эритроциты. Активирует Th1-зависимый иммунный ответ, ангиогенез, развитие аутоиммунных заболеваний и аллергического воспаления.	У онкобольных, в том числе пациентов, страдающих раком яичников, применяется после химиотерапии для снижения содержания в крови нейтрофилов, что, в свою очередь, может приводить к осложнениям после лечения.	37, 38

Фактор некроза опухоли альфа (TNF- α)

Фактор некроза опухоли альфа (TNF- α) — цитокин плейотропного действия, играющий важную роль во многих клеточных и биологических процессах, таких как дифференцировка и пролиферация клеток, апоптоз, энергетический обмен, направленная миграция клеток, воспаление, поддержание состава и структуры лимфатической системы, иммунные функции, а также защита организма от различных патогенов. Основными источниками синтеза белка TNF- α являются моноциты и тканевые макрофаги [49].

Действие белка TNF- α опосредуется через связывание с расположенными на поверхности клетки рецепторами TNFR1 (TNF Receptor-1) и TNFR2 (TNF Receptor-2). Протеин TNFR1 экспрессируется во всех тканях организма человека и является рецептором для сигнальной молекулы TNF- α . Экспрессия белка TNFR2 в основном наблюдается в клетках иммунной системы. Данный рецептор способен связываться как с TNF- α , так и TNF- β [50]. Основное различие между данными рецепторами заключается в наличии домена DD (домен смерти) в белке TNFR1, который определяет способность индуцировать апоптоз клетки. Данный рецептор имеет двойственную природу и кроме запуска апоптоза также способен передавать сигналы о клеточной пролиферации. После связывания молекулы TNF- α с рецептором TNFR-1 происходит высвобождение ингибитора домена DD (Silencer of death domain (SODD)). Затем домен DD связывается с белком TRADD (TNFR-associated death domain), который запускает ряд адаптерных белков RIP (receptor interacting protein), TRAF-2 (TNFR-associated factor 2) и FADD (Fas-associated death domain). Активированные протеины, в свою очередь, фосфорилируют белки, вовлеченные в дальнейшую передачу сиг-

нала внутри клетки. При передаче сигнала об апоптозе, белок FADD взаимодействует с каспазой-8, которая запускает дальнейший каскад реакций. Финальным событием при передаче сигнала об апоптозе является активация эндонуклеаз, приводящих к фрагментации ДНК [51]. В случае передачи сигнала о пролиферации, белок TRAF-2, связанный с рецептором TNFR1, инициирует комплекс протеинов, ингибирующих апоптоз. Взаимодействие с белком TRAF-2 запускает процессы фосфорилирования, которые приводят к активации факторов транскрипции cFos/cJun опосредовано через сигнальные молекулы MAPK и JNK. Кроме того, через белки TRAF-2 и RIP происходит активация важного транскрипционного фактора NF- κ B опосредовано через белки NIK (NF- κ B-inducing kinase) и комплекс IKK. Активные факторы транскрипции NF- κ B и cFos/cJun запускают антиапоптотические, пролиферативные, иммуномодулирующие и противовоспалительные гены [52] (рис. 2).

Белок TNF- α принимает участие практически во всех этапах канцерогенеза. Он индуцирует инициацию и промоцию опухоли, повышает пролиферацию раковых клеток, а также стимулирует ангиогенез новообразования [54]. В ряде работ была отмечена высокая экспрессия гена TNF- α при раке. В частности, в исследовании, проведенном Block с соавт., было выявлено повышение экспрессии данного гена в злокачественных опухолях яичников по сравнению с доброкачественными новообразованиями [55]. В работе Kolomeyevskaya с соавт. комбинация высоких уровней протеинов TNF- α и IL-6 в асцитической жидкости была ассоциирована со снижением общей и безрицидивной выживаемости больных РЯ [56].

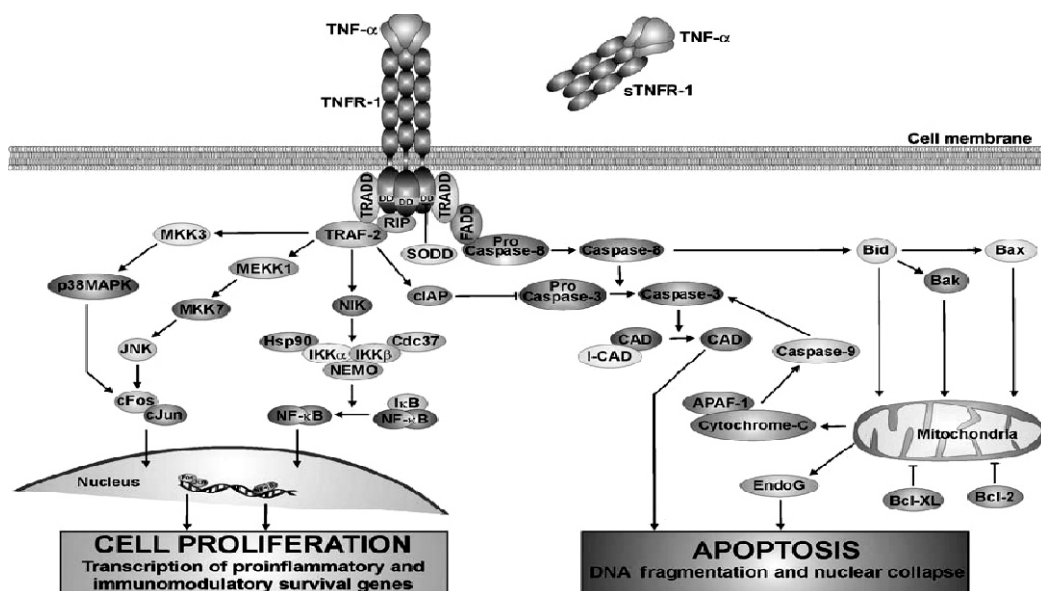


Рис. 2. Сигнальный путь TNFR1 [53].

Таким образом, белок TNF- α играет важную роль в различных клеточных процессах, в том числе апоптозе и пролиферации. В злокачественных новообразованиях яичников наблюдается высокая экспрессия данного гена.

Трансформирующий фактор роста- β (TGF- β)

Трансформирующий фактор роста- β (TGF- β) — мультифункциональный цитокин, участвующий в регуляции процессов клеточной пролиферации, дифференцировки, апоптоза, иммунного ответа, ремоделирования внеклеточного матрикса [57].

Семейство TGF- β включает группу гомологичных гетеродимерных белков: TGF β -1, TGF β -2 и TGF β -3. Продуцентами TGF- β являются клетки иммунной системы (моноциты, макрофаги, фибробласты, эндотелиоциты, нейтрофилы, эозинофилы, тучные клетки), гладкомышечные клетки, а также клетки многих видов злокачественных опухолей. Основная изоформа, секретируемая клетками иммунной системы — TGF- β 1. Важным механизмом регуляции синтеза TGF- β является изменение его формы (активная и латентная). Белки семейства TGF- β обычно секретируются как латентные молекулы-предшественники, содержащие скрытый ассоциированный пептид (latency-associated peptide, LAP), который образует комплекс с латентным TGF β -связывающим протеином (latent transforming growth factor — binding protein 1, LTBP-1). Активация TGF- β происходит путем отщепления LAP и LTBP-1 с участием протеаз, интегринов, изменения pH, активных форм кислорода [57].

Роль TGF- β в процессе канцерогенеза неоднозначна. На ранних стадиях опухолевого роста данный фактор действует как супрессор, ингибируя пролиферацию эпителиальных клеток, а на более поздних стадиях как промотор опухоли [58].

Антипролиферативное действие TGF- β 1 на рост нормальных и трансформированных клеток достигается путем остановки клеточного цикла от G1 до S фазы. Ключевыми компонентами передачи ингибиторных сигналов являются циклинзависимые киназы семейств Ink4 и Cip/Kip. Транскрипционные комплексы Smad4-Smad2,3, образующиеся при связывании TGF- β 1 со своими рецепторами, транслоцируются из цитоплазмы в ядро и активируют гены ингибиторов циклинзависимых киназ p21WAF1/CIP1, p15INK4b, p27KIP1a, а также подавляют экспрессию гена MYC. Повышение экспрессии генов p21WAF1/CIP1, приводит к подавлению активности комплексов циклин D — Cdk4,6 и циклин E — Cdk2, ответственных за продвижение клеток по G1 и вход в [59].

Установлено, что данный фактор индуцирует апоптоз эпителиальных, эндотелиальных и ряда других клеток как через p53-зависимые, так и p53-независимые механизмы, посредством регуляции про- (Bax) и анти-

апоптотических факторов (Bcl-2, Bcl-x1). По мере накопления мутаций, уменьшающих чувствительность трансформированной клетки к ингибиторным сигналам, повышенный уровень белка TGF- β способствует дальнейшему прогрессированию опухоли посредством трех механизмов: индукции эпителиально-мезенхимального перехода (EMT-epithelial-mesenchymal transition), ангиогенеза и снижения иммунного надзора [58].

Эпителиально-мезенхимальный переход сопровождается межклеточной адгезией и последующей миграцией злокачественных клеток. Так, в недавнем исследовании, проведенном Gao с соавт., было установлено, что все три изоформы белка TGF- β могут индуцировать миграцию клеток серозной аденокарциномы яичников без приобретения клетками полного мезенхимального фенотипа [60].

Повышение степени злокачественности опухолевых клеток также происходит за счет индукции ангиогенеза под влиянием TGF- β 1. Избыточная продукция белка TGF- β 1 в опухолевой ткани и сыворотке крови больных РЯ вызывает иммуносупрессию и стимулирует ангиогенез, что, в свою очередь, приводит к повышению инвазивности и плохому прогнозу [15].

На сегодняшний день TGF- β 1 относится к числу наиболее перспективных молекулярных маркеров, поскольку он вовлечен как в регуляцию процессов клеточной пролиферации, дифференцировки, апоптоза, так и во внутриклеточные процессы, обеспечивающие прогрессию опухоли.

Заключение

Рак яичников является одной из самых важных социально-медицинских проблем в связи с высокой заболеваемостью и смертностью среди женского населения. В последние годы наблюдается тенденция к омоложению данного вида рака, так чаще стали диагностировать заболевание в группе женщин в возрасте до 30 лет.

Рак яичников — это сложное гетерогенное заболевание, в развитие которого вовлечено большое число факторов. В первую очередь, внимание уделяется генетической предрасположенности, поскольку около 10% злокачественных новообразований яичников приходится на наследственные формы. Также существенное влияние на патогенез данной опухоли оказывает состояние иммунной системы.

На возникновение злокачественных новообразований иммунная система реагирует, прежде всего, развитием нормального иммунного ответа путем формирования антибластомных факторов. Однако пролиферирующая опухоль способна ускользнуть от иммунного надзора благодаря факторам иммуносупрессии. К последним относятся экспрессия на поверхности трансформированных клеток рецепторов к факторам роста, приобретение устойчивости к апоптозу, секреция белков IL-6, IL-10 и TNF- α . Подавлению иммунитета и усилению

роста новообразования также способствуют пробластомные факторы, выделяемые иммунной системой хозяина (IL-2, IL-6, фактор роста сосудистого эндотелия). Установлено, что к развитию опухоли приводят угнетение Т-клеточного звена иммунитета, нарушение функции регуляторных и эффекторных (киллерных) клеток. Одним из важных механизмов, предшествующим злокачественной трансформации клеток, считается хроническое воспаление. В качестве регуляторных молекул, опосредующих функциональную связь между воспалением и канцерогенезом, выступают цитокины.

Наиболее изученными на сегодняшний день молекулами, вовлеченными в патогенез рака яичников, являются: ядерный фактор транскрипции NF-κB, гипоксия-индуцибельный фактор-1α (HIF-1α), индуцибельная синтаза оксида азота (iNOS), индуцибельный фермент циклооксигеназа 2-го типа (COX-2), IL-1, IL-6, IL-8, интерферон-α (IFN-α), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), фактор некроза опухоли-α (TNF-α) и трансформирующий фактор роста-β (TGF-β). Белковые продукты данных генов, являясь провоспалительными и противовоспалительными молекулами, вовлечены в жизненно важные сигнальные пути клетки, в процессы пролиферации, дифференцировки и апоптоза, метастазирование и ангиогенез опухоли. Нарушения в работе отмеченных генов ассоциированы с неблагоприятным прогнозом течения патологии, нечувствительностью к лечению и низкой выживаемостью пациенток с раком яичников.

Таким образом, представленные выше данные указывают на чрезвычайно важную роль генов иммунной системы в развитии и прогрессировании злокачественных новообразований яичников. Более глубокое понимание функциональной роли подобных генов в патогенезе рака яичников будет способствовать разработке новых подходов к ранней диагностике и эффективным методам лечения заболевания.

Список литературы

1. GLOBOCAN 2012. Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide [Электронный ресурс] URL: <http://globocan.iarc.fr> (дата обращения: 5.10.2016).
2. Charbonneau B, Goode EL, Kalli KR, et al. The immune system in the pathogenesis of ovarian cancer. *Crit Rev Immunol.* 2013; 33(2): 137-64.
3. Воробьева ЛИ, Свиницкий ВС, Ткаля ЮГ. Гормональный канцерогенез и обоснование применения гормональной терапии в лечении больных раком яичника (обзор литературы). *Онкогинекология.* 2013; 1(9).
4. Аксель ЕМ. Статистика злокачественных новообразований женских половых органов. *Онкогинекология.* 2012; (1): 9-17.
5. Каприн АД, Старинский ВВ, Петрова ГВ. Злокачественные новообразования в России в 2013 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена. Филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России. 2015. 250 с.
6. O'Donovan P, Livingston D. BRCA1 and BRCA2: breast/ovarian cancer susceptibility gene products and participants in DNA double-strand break repair. *Carcinogenesis.* 2010. 31, 961-967.
7. Balmana J., Diez O., Castiglione M. ESMO Guidelines Working Group. BRCA in breast cancer: ESMO clinical recommendations. *Annals of Oncology.* 2009; 20: 19-20.
8. Zeineldin R., Muller C.Y., Stack M.S., Hudson L.G. 2010. Targeting the EGF receptor for ovarian cancer therapy. *J. Oncol.*, 2010; 2010: 414676.
9. Singh M, Loftus T, Webb E, Benencia F Minireview: Regulatory T Cells and Ovarian Cancer. *Immunol Invest.* 2016 Nov; 45(8): 712-720.
10. Auer K, Bachmayr-Heyda A, Sukhbaatar N. et al. Role of the immune system in the peritoneal tumor spread of high grade serous ovarian cancer. *Oncotarget.* 2016 Sep 20; 7(38): 61336-61354.
11. Beinke S, Ley SC. Functions of NF-kappaB1 and NF-kappaB2 in immune cell biology. *Biochem.* 2004; 382: 393-409.
12. Philip M., Rowley, D.A., Schreiber, H. Inflammation as a tumor promoter in cancer induction. *Semin Cancer Biol.* 2004; 14(6): 433-9.
13. Samarasinghe B. The Hallmarks of Cancer 8: Tumor-Promoting Inflammation. *Scientific American.* 2014. [электронный ресурс] URL: <http://blogs.scientificamerican.com>. (дата обращения: 13.09.15).
14. Guo RX, Qiao YH, Zhou Y, et al. Increased staining for phosphorylated AKT and nuclear factor-kappaB p65 and their relationship with prognosis in epithelial ovarian cancer. *Pathol Int.* 2008; (58): 749-756.
15. Plewka D, Kowalczyk AE, Jakubiec-Bartnik B, et al. Immunohistochemical visualization of pro-inflammatory cytokines and enzymes in ovarian tumors. *Folia Histochem Cytobiol.* 2014; 52(2): 124-37.
16. Heron E, Deloukas P, van Loon AP. The complete exon intron structure of the 156-kb human gene NFKB1, which encodes the p105 and p50 proteins of transcription factors NF-kappa B and I kappa B-gamma: implications for NF-kappa B-mediated signal transduction. *Genomics.* 1995; (30): 493-505.
17. Luo YQ, Wang D, Gong T, Zhu. An updated meta-analysis of 37 case-control studies on the association between NFKB1 -94ins/del ATTG promoter polymorphism and cancer susceptibility. *Oncotarget.* 2016; 7(936): 58659-58670.
18. Lu ZH, Gu XJ, Shi KZ, et al. Association between genetic polymorphisms of inflammatory response genes and the risk of ovarian cancer. *J Formos Med Assoc.* 2016; 115(1): 31-7.
19. Wang D, Xie T, Xu J, et al. Genetic association between NFKB1 -94 ins/del ATTG Promoter Polymorphism and cancer risk: a meta-analysis of 42 case-control studies. *Sci Rep.* 2016 22; 6: 30220.
20. Maxwell PH, Pugh CW, Ratcliffe PJ. Activation of the HIF pathway in cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11: 293-299.
21. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3091>
22. Jin Y, Wang H, Liang X et al. Pathological and prognostic significance of hypoxia-inducible factor 1α expression in epithelial ovarian cancer: a meta-analysis. *Tumour Biol.* 2014; 35(8): 8149-59.
23. Ricciardolo FL, Sterk PJ, Gaston B et al. Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiol. Rev.* 2004; 84: 731-765.
24. Wink DA, Vodovotz Y, Laval J. et al. The multifaceted roles of nitric oxide. *Carcinogenesis.* 1998; 19(5): 711-721.
25. Smith W.L., DeWitt DL, Garavito RM. Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Annu. Rev. Biochem.* 2000; 69: 145-182.
26. Kosaka T, Miyata A, Ihara H. et al. Characterization of the human gene (PTGS2) encoding prostaglandin-endoperoxide synthase 2. *Eur. J. Biochem.* 1994; (221): 889-97.

27. Lurie G, Terry KL, Wilkens LR, et al. Pooled analysis of the association of PTGS2 rs5275 polymorphism and NSAID use with invasive ovarian carcinoma risk. *Cancer Causes Control*. 2010; (21): 1731-1741.
28. Мордвинов ВА, Фурман ДП. Цитокины: биологические свойства и регуляция экспрессии гена интерлейкина-5 человека. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2009; 13(1): 53-67.
29. Lippitz BE, Harris RA. Cytokine patterns in cancer patients: A review of the correlation between interleukin 6 and prognosis. *Oncoimmunology*. 2016 11; 5(5): e1093722.
30. Kim S, Gwak H, Kim HS, et al. Malignant ascites enhances migratory and invasive properties of ovarian cancer cells with membranebound IL-6R in vitro. *Oncotarget*. 2016 Dec 13; 7(50): 83148-83159.
31. Browne A, Sriraksa R, Guney T, et al. Differential expression of IL-8 and IL-8 receptors in benign, borderline and malignant ovarian epithelial tumours. *Cytokine* 2013; 64(1): 413-21.
32. Koensgen D, Bruennert D, Ungureanu S, et al. Polymorphism of the IL-8 gene and the risk of ovarian cancer. *Cytokine*. 2015; 71(2): 334-8.
33. Stronach EA, Cunnea P, Turner C, et al. The role of interleukin-8 (IL-8) and IL-8 receptors in platinum response in high grade serous ovarian carcinoma. *Oncotarget*. 2015 Oct 13; 6(31): 31593-603.
34. Park MS, Kim BR, Kang S, Kim DY, Rho SB. The antihypertension drug doxazosin suppresses JAK/STATs phosphorylation and enhances the effects of IFN- α/γ -induced apoptosis. *Genes Cancer*. 2014 Nov; 5(11-12): 470-9.
35. Johnson CL, Green DS, Zoon KC. Human monocytes in the presence of interferons alpha2a and gamma are potent killers of serous ovarian cancer cell lines in combination with paclitaxel and carboplatin. *J Interferon Cytokine Res*. 2015; 35: 55-62.
36. Green DS, Nunes AT, Annunziata CM, Zoon KC. Monocyte and interferon based therapy for the treatment of ovarian cancer. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2016 Jun; 29: 109-15
37. Goshima F, Esaki S, Luo C, Kamakura M, Kimura H, Nishiyama Y. Oncolytic viral therapy with a combination of HF10, a herpes simplex virus type 1 variant and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for murine ovarian cancer. *Int J Cancer*. 2014 Jun 15; 134(12): 2865-77.
38. Liao JB, Swensen RE, Ovenell KJ, et al. Phase II trial of albumin-bound paclitaxel and granulocyte macrophage colony-stimulating factor as an immune modulator in recurrent platinum resistant ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2017 Jan 12. pii: S0090-8258(17)30046-X.
39. Woolery KT, Kruk PA. Ovarian Epithelial-Stromal Interactions: Role of Interleukins 1 and 6. *Obstetrics and Gynecology International* 01/2011; 2011: 358493.
40. Nicklin MJ, Weith A, Duff GW. A physical map of the region encompassing the human interleukin-1 alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-1 receptor antagonist genes. *Genomics* 1994; 19 (2): 382-4.
41. Тоголян АА, Фрейдлин ИС. Клетки иммунной системы. СПб: Наука, 2000: 231 с.
42. Stylianou E, Saklatvala J. Interleukin-1. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 1998; 30(10): 1075-1079.
43. Charles A. Dinarello in *The Cytokine Handbook* / Ed. A.A. Thomson. London: Academic Press, 2003. 643-668.
44. Streicher KL. Activation of a nuclear factor kappaB / interleukin-1 positive feedback loop by amphiregulin in human breast cancer cells / K.L. Streicher, N.E. Willmarth, J. Garcia et al. *Mol. Cancer Res*. 2007; 5(8): 847-861.
45. Apte RN, Krelin Y, Song X, et al. Effects of micro-environment- and malignant cell-derived interleukin-1 in carcinogenesis, tumour invasiveness and tumour-host interactions. *Eur J Cancer* 2006; 42: 751-759.
46. White KL, Schildkraut JM, Palmieri RT, et al. Ovarian Cancer Risk Associated with Inherited Inflammation-Related Variants. *Cancer Res*. 2012; 72: 1064-1069.
47. Triozzi P.L, Aldrich W, Singh A. Effects of Interleukin-1 Receptor Antagonist on Tumor Stroma in Experimental Uveal Melanoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2011; 52: 5529 — 5535.
48. Mustea A., Pirvulescu C., Konsgen D. et al. Decreased IL-1 RA concentration in ascites is associated with a significant improvement in overall survival in ovarian cancer. *Cytokine*. 2008; 42(1): 77-84.
49. Bazzoni F, Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med* 1996; 334: 1717-1725.
50. Baud V, Karin M. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends Cell Biol* 2001; 11(9): 372-7.
51. Rath PC, Aggarwal BB. TNF-induced signaling in apoptosis. *J Clin Immunol* 1999; 19: 350-364.
52. Devin A, Cook A, Lin Y et al. The distinct roles of TRAF2 and RIP in IKK activation by TNF-R1: TRAF2 recruits IKK to TNF-R1 while RIP mediates IKK activation. *Immunity* 2000; 12: 419-429.
53. van Horssen R, Rens JA, Schipper D, et al. EMAP-II facilitates TNF-R1 apoptotic signalling in endothelial cells and induces TRADD mobilization. *Apoptosis*. 2006; 11(12): 2137-45.
54. Johnston DA. TNF induction of jagged-1 in endothelial cells is NF kappa B-dependent. *Gene*. 2009; 435: 36-44.
55. Block MS, Maurer MJ, Goergen K, et al. Plasma immune analytes in patients with epithelial ovarian cancer. *Cytokine*. 2015; 73(1): 108-13.
56. Kolomeyevskaya N, Eng KH, Khan AN, et al. Cytokine profiling of ascites at primary surgery identifies an interaction of tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in predicting reduced progression-free survival in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2015; 138(2): 352-7.
57. Gleizes PE., Munger JS., Nunes I. et al. TGF-beta latency: biological significance and mechanisms of activation. *Stem. Cells*. 1997; 15 (3): 190-197.
58. Derynck R., Akhurst R.J., Balmain A. TGF-beta signaling in tumor suppression and cancer progression. *Nat. Genet*. 2001; 29: 117-129.
59. Datto MB., Hu PP., Kowalik TF. et al. The viral oncoprotein E1A blocks transforming growth factor beta-mediated induction of p21/WAF1/Cip1 and p15/INK4B. *Mol. Cell. Biol*. 1997; 17: 2030-2037.
60. Gao J, Zhu Y, Nilsson M, Sundfeldt K. TGF β isoforms induce EMT independent migration of ovarian cancer cells. *Cancer Cell Int*. 2014; 14(1): 72.

Исследование ассоциации полиморфизма -1293G>C (rs3813867) гена *CYP2E1* с риском развития рака желудка у жителей Центрального Черноземья

Литвякова Е.И., Бушуева О.Ю., Фролова О.Г., Полоников А.В.

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России

Представлены результаты исследования ассоциации полиморфизма rs3813867 гена *CYP2E1* с развитием рака желудка у жителей Центрального Черноземья. Обнаружена тенденция к повышению частоты генотипа -1293G/C *CYP2E1* в группе мужчин больных раком желудка, по сравнению со здоровыми лицами мужского пола, но различие в частоте генотипа не достигало статистического уровня значимости ($p = 0,08$), что может указывать на возможную вовлеченность данного полиморфизма в формирование предрасположенности к болезни. Однако для установления ассоциации полиморфизма -1293G/C гена *CYP2E1* с раком желудка потребуется увеличение объема исследуемых групп пациентов.

Ключевые слова: рак желудка, ДНК-полиморфизм, *CYP2E1*.

The study of association -1293G>C rs3813867 polymorphism of the *CYP2E1* gene and the risk of gastric cancer among inhabitants of Central Russia

Litviakova E.I., Bushueva O.Yu., Frolova O.G., Polonikov A.V.

Kursk State Medical University, 305041, Kursk, Russia

The results of association study between polymorphism rs3813867 of the *CYP2E1* gene and the risk of gastric cancer are present in this paper. We found a tendency in an increased frequency of genotype -1293G/C of *CYP2E1* in patients with gastric cancer in men ($p = 0.08$), as compared with healthy controls. However, larger study samples are needed to confirm a relationship between this polymorphism and gastric cancer risk.

Key words: gastric cancer, genetic polymorphism, *CYP2E1*.

Введение

Среди многообразия злокачественных новообразований рак желудка (РЖ) продолжает привлекать к себе самое пристальное внимание ввиду его широкой распространенности, разнообразия гистологических типов, раннего метастазирования и высокой запущенности. Как и другие онкологические заболевания, РЖ имеет многофакторную природу, в его патогенезе важную роль наряду с онкогенами и генами опухолевой супрессии играют так называемые гены-модификаторы, патологические эффекты которых во многом определяются средовыми факторами [2, 3, 4]. Особый интерес среди них представляют гены, ответственные за биотрансформацию поступающих в организм чужеродных химических веществ, поскольку их полиморфизм может определять интенсивность накопления генотоксических метаболитов, участвующих в повреждении ДНК и способствующих малигнизации. Способность адаптироваться (устойчивость или чувствительность) к повреждающим внешним факторам определяется генетически запрограммированной системой биотрансформации ксенобиотиков индивидуума [5, 6]. Биотрансформацию ксенобиотиков, в том числе и канцерогенов, в которой принимает участие большое количество ферментативных ре-

акций, принято рассматривать как этапный процесс, включающий в себя по крайней мере две фазы:

1) метаболические реакции превращения эндогенных и экзогенных веществ с помощью микросомальных ферментов в более полярные метаболиты (окисление, восстановление, гидролиз, протекающие с затратой необходимой для этого энергии);

2) реакции конъюгации (соединение с белками, аминокислотами, глюкуроновой и серной кислотами), не требующие использования основных энергетических ресурсов клетки.

Эти реакции направлены на образование нетоксичных гидрофильных соединений, которые хорошо вовлекаются в другие метаболические превращения и выводятся из организма экскреторными органами. В реакциях 1-й фазы биотрансформации участвуют оксидазы смешанной функции: семейства изоформ цитохрома P450 и других суперсемейств энзимов [9–11]. Полиморфизм генов, вовлеченных в метаболизм канцерогенов, широко исследуется в мире в качестве потенциальных факторов генетической предрасположенности к различным онкологическим заболеваниям, в том числе и раку желудка [1, 2, 4, 5]. Первым ключевым событием в инициации химически-индуцированного канцерогенеза яв-

ляется метаболическая активация канцерогенов. Известны тканеспецифичность экспрессии и широкий ДНК-полиморфизм ферментов биотрансформации ксенобиотиков (ФБК).

Цель исследования: провести анализ ассоциации полиморфизма -1293G>C гена *CYP2E1* с риском развития рака желудка в популяции русских жителей Центрального Черноземья.

Материалы и методы исследования

Исследование было одобрено региональным этическим комитетом при Курском государственном медицинском университете. В исследование вошли 82 (средний возраст $66,57 \pm 9,62$) пациента с диагнозом *рак желудка*, из которых 40 мужчин и 42 женщины. Все пациенты находились на лечении в отделении Курского областного клинического онкологического диспансера в период с 2012 по 2016 гг. Диагноз РЖ устанавливался квалифицированными врачами-онкологами с использованием клинических, лабораторных и инструментальных методов обследования. В группы больных РЖ не включали пациентов с семейными случаями рака желудка. Контрольную группу составили 367 относительно здоровых добровольцев (193 мужчины, 174 женщины) без хронических заболеваний (средний возраст $67,15 \pm 10,14$ года). Группы были сопоставимы по полу и возрасту. У всех обследуемых проводился забор венозной крови. Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипи-

рование полиморфизма -1293 G>C (rs3813867) гена *CYP2E1* проводилось методом ПЦР в режиме «реально-го времени» путем дискриминации аллелей с помощью TaqMan-зондов на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad) [7, 8]. Статистическая обработка данных проводилась на персональном компьютере с использованием программных пакетов Statistica for Windows 8.0 («StatSoft») и Excel 2007 («Microsoft»).

Результаты и обсуждение

Отклонения частот аллелей и генотипов полиморфизма -1293 G>C (rs3813867) гена *CYP2E1* от уравнения Харди–Вайнберга в группе больных РЖ и в контрольной группе не наблюдалось ($p > 0,05$). Частоты аллелей и генотипов исследуемого полиморфизма представлены в таблице. Не выявлено различий в частотах аллелей и генотипов между группами больных РЖ и здоровых индивидов. Стратифицированный анализ по полу (таблица) также не выявил статистически значимых различий в частотах аллелей и генотипов исследованного полиморфизма гена *CYP2E1* среди мужчин и женщин, больных РЖ, и контрольной группы ($p > 0,05$). Обнаружена тенденция к повышению частоты генотипа -1293G/C *CYP2E1* в группе мужчин больных раком желудка по сравнению со здоровыми лицами мужского пола, но различие в частоте генотипа не достигало статистического уровня значимости (OR = 2,92 95%CI 0,89–9,32, $p = 0,084$).

Таблица
Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма -1293 G>C (rs3813867) гена *CYP2E1* у пациентов с РЖ и здоровых лиц

Объединенные группы пациентов					
Аллели, генотипы		Больные (РЖ)	Контрольная группа	χ^2 (p) ²	OR (95% CI) ³
Аллели	G	0,957	0,971	0,88 (0,35)	1,39 (0,24)
	C	0,043	0,029		
Генотипы	GG	75 (91,5)	347 (94,6)	1,39 (0,24)	1,71 (0,69–4,21)
	GC	7 (8,5)	19 (5,2)		
	CC	0 (0,0)	1 (0,3)		
Мужчины					
Аллели	G	0,925	34 (85,0)	2,89 (0,09)	2,33 (0,86–6,32)
	C	0,075	6 (15,0)		
Генотипы	GG	34 (85,0)	181 (93,8)	2,97 (0,08)	2,92 (0,89–9,32)
	GC	6 (15,0)	11 (5,7)		
	CC	0 (0,0)	1 (0,5)		
Женщины					
Аллели	G	0,988	0,977	0,41 (0,52)	0,51 (0,06–4,15)
	C	0,012	0,023		
Генотипы	GG	41 (97,6)	166 (95,4)	0,42 (0,52)	0,51 (0,06–4,16)
	GC	1 (2,4)	8 (4,6)		
	CC	0 (0,0)	0 (0,0)		

Примечание. ¹ Абсолютное число и процент лиц с исследуемым генотипом; ² χ^2 и p-уровень значимости (df = 1); ³ Отношение шансов с 95% доверительными интервалами

Биологическая роль фермента CYP2E1, заключается в том, что он играет важную роль в метаболической активации канцерогенов. CYP2E1 активирует диалкиловые НА (N-нитрозодиметиламин), содержащиеся в табачном дыме, органические растворители, хлорзоксазон, тетрагидрид углерода, винила хлорид, хлороформ, ацетон, ацетоацетат, толуол, бензол, бензин, трихлорэтилен, многие из которых являются канцерогенами [16, 17]. CYP2E1 метаболизирует нитрофенол, энфлуран и галотан [16, 17]. Также известно, что совместно с алкогольдегидрогеназой-2 и альдегиддегидрогеназой-2 CYP2E1 катализирует превращение этанола в ацетальдегид, продуцируя реактивные формы кислорода, инициирующие перекисное окисление липидов [15]. Фермент CYP2E1 экспрессируется в большей степени в желудочно-кишечном тракте, в частности в печени и в желудке. В литературе имеются данные об ассоциациях полиморфизма гена CYP2E1 с раком полости рта, раком печени, раком желудка, почечно-клеточной карциномой. Выявленная тенденция в повышение частоты генотипа -1293G/C CYP2E1 у мужчин больных РЖ в сравнении со здоровыми мужчинами, по всей видимости, указывает на возможную связь данного полиморфизма с формированием предрасположенности к болезни, однако для подтверждения этой взаимосвязи потребуются увеличение объема исследуемых групп пациентов. Дальнейшие исследования также должны быть направлены на поиск генно-средовых взаимодействий — совместного влияния гена CYP2E1 и факторов риска, таких, как курение, употребление алкоголя и других, на формирование предрасположенности к раку желудка.

Список литературы

1. Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике. *Генетика*. 2002; 38, № 9: 1173-1195.
2. Баранов В.С., Баранова В.Е., Ивашенко Т.Э., Асеев М.В. Геном человека и гены «предрасположенности». Введение в предиктивную медицину. СПб.: Интермедика, 2000: 272 с.
3. Хансон К.П., Имянитов Е.Н. Функциональная онкогеномика — новое направление в молекулярной онкологии. *Молекулярная медицина*. 2004. № 1: 3-9.
4. Boccia S., La Torre G., Gianfagna F. et al. Glutathione Stransferase T1 status and gastric cancer risk: a meta-analysis of the literature. *Mutagenesis*. 2006; 21: 115-123.
5. Garte S., Gaspari L., Alexandrie A.-K. et al. Metabolic Gene Polymorphism Frequencies in Control Populations. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2001; 10 (12): 1239-1248.
6. Ryberg D., Skaug V., Hewer A. et al. Genotypes of glutathione transferase M1 and P1 and their significance for lung DNA adduct levels and cancer risk. *Carcinogenesis (Lond.)*. 1997; 18: 1285-1289.
7. Белогубова Е.В., Того А.В., Кондратьева Т.В. и др. Полиморфизм гена GSTM1 в группах предрасположенности и резистентности к раку легкого. *Вопросы онкологии*. 2000; 46, № 5: 549-554.
8. Garte S., Gaspari L., Alexandrie A.-K. et al. Metabolic Gene Polymorphism Frequencies in Control Populations. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2001; 10 (12): 1239-1248.
9. Кравченко П.Н., Олейник Е.К. Система регуляторных т-клеток и аутоиммунные процессы. *Журнал Труды Карельского научного центра Российской академии наук*. 2013; № 3: 18-29.
10. Куценко С.А. Основы токсикологии: научно-методическое издание. СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2004: 720 с.
11. Chen Z., Lin F., Gao Y. et al. FoxP3 and RORγt: transcriptional regulation of Treg and Th17. *International Immunopharmacology*. 2011; 11: 536-54212.
12. Кондрашов В.А. Значение кожного пути поступления химических веществ в организм и профилактика перкутанных отравлений / Под ред. В.Р. Рембовского. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2014: 288 с.
13. Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины / Под ред. В.С. Баранова. СПб.: Изд-во Н-Л, 2009: 528 с.
14. Каркищенко Н.Н. Классика и альтернативы биомедицины Том 2. Классика и альтернативы фармакотоксикологии. М.: Межакадем. изд. ВПК, 2007: 448 с. Клиническая фармакокинетика: теоретические, прикладные и аналитические аспекты: руководство / Под ред. В.Г. Кукеса. 2009: 432 с.
15. Raimondi S., Benhamou S., Coutelle C. et al. Association of metabolic gene polymorphisms with alcohol consumption in controls. *Biomarkers*. 2004; 9, № 2: 180-189.
16. Song B.J., Koop D.R., Cederbaum A.I. et al. Ethanol-induced cytochrome p450 (CYP2E1): biochemistry, molecular biology and clinical relevance: 1996 update. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 1996; 20: 138A-146A.
17. Lieber C.S. Cytochrome P-450E1: Its physiological and pathological role. *Physiol. Rev.* 1997; 77: 517-544.