Научная статья
Original article
УДК 575.162

ИССЛЕДОВАНИЕ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕНОВ СИСТЕМЫ РЕПАРАЦИИ (XPD1) И ГОРМОНАЛЬНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА (COMT) В НОРМЕ И ПРИ ОНКОПАТОЛОГИИ

STUDY OF THE ALLEL STATE OF THE REPAIR SYSTEM GENES (XPD1) AND HORMONAL CARCINOGENESIS (COMT) IN NORM AND IN ONCOPATOLOGY

Каипова Алсу Фанилевна, Студентка 4 курс, факультет «Естественно-географический», Башкирский государственный педагогический университет им. М.Акмуллы, Россия ,г. Уфа

Kaipova Alsu Fanilevna, 4th year student, Faculty of Natural Geographic, Bashkir State Pedagogical University. M. Akmulla, Russia, city Ufa

Аннотация: В рамках исследования проведен анализ ассоциации полиморфных маркеров генов XPD1 (rs13181) и COMT (rs4680) с предрасположенностью к раку молочной железы. Увеличение частоты аллеля *L и генотипа *LL гена COMT в группе больных РМЖ по сравнению со здоровыми, свидетельствует об ассоциации данного варианта полиморфного маркера с развитием рака молочной железы. Установлено, что полиморфный локус rs13181 гена XPD1 не ассоциирован с риском развития РМЖ.

Summary: As part of the study, an analysis was made of the association of polymorphic markers of the XPD1 (rs13181) and COMT (rs4680) genes with

predisposition to breast cancer. The increase in the frequency of the *L allele and the *LL genotype of the COMT gene in the group of patients with breast cancer compared with healthy ones indicates the association of this variant of the polymorphic marker with the development of breast cancer. It was found that the rs13181 polymorphic locus of the XPD1 gene is not associated with the risk of developing breast cancer.

Ключевые слова: рак молочной железы ,гормональный канцерогенез, COMT, эксцизионная репарация, XPD1, полиморфизм.

Key words: breast cancer, hormonal carcinogenesis, COMT, excision repair, XPD1, polymorphism.

Рак молочной железы (РМЖ) на сегодняшний день является наиболее часто диагностируемым онкологическим заболеванием среди женского населения. Несмотря на наличие значительного прогресса в разработке подходов к диагностике и лечению РМЖ, распространенность и смертность от данного онкозаболевания остаются стабильными и имеют интенсивную тенденцию к росту [1].

В настоящее время обнаружено большое количество генов-кандидатов, ответственных за формирование рака молочной железы. Мутации в генах COMT и XPD1 являются распространенными генетическими причинами развития РМЖ.

Ген, кодирующий фермент COMT расположен на 22-й хромосоме в локусе q11.2, содержит 6 экзонов [2]. Существует два варианта белка: растворимая (S-COMT, 221 аминокислота), включенная в активность таких тканей, как печень, почки, кровь. Эта форма позволяет контролировать уровень некоторых гормонов. Нервными клетками головного мозга главным образом продуцируется мембранный белок (MB-COMT, 271 аминокислота). Канцерогенное действие эстрогена основано на том, что он стимулирует процессы деления клеток молочной железы, а при активном делении

увеличивается вероятность внесения случайных нарушений в гененетический материал.

Наиболее изученным полиморфизмом в гене COMT rs4680 (Val158Met). Это миссенс-мутация в кодирующей области, которая приводит к замене валина на метионин в аминокислотной последовательности белка в 158 положении. Метионин-содержащий белок кодируется аллелем, в котором находится A; этот аллель принято называть аллелем низкой активности (аллель L, от англ. low). Валин-содержащий белок кодируется аллелем, в котором находится G; этот аллель называют аллелем высокой активности (аллель H, от англ. high).

Пониженная активность метионин-содержащего белка (у лиц с аллелем L) может привести к накоплению свободных радикалов и, как следствие, созданию окислительного стресса и повреждению ДНК [4].

Одним из важных генов, участвующих в эксцизионном восстановлении, является ген XPD1, дисфункция которого приводит к злокачественной трансформации клеток.

Ген XPD1 расположен на 19 хромосоме в локусе 19q13.3, содержит 23 экзона и кодирует АТФ-зависимую 5'-3' ДНК-геликазу. Транслируемый белок XPD состоит из 760 аминокислот и имеет молекулярную массу 86,9 кДа. Данный фермент является важным компонентом протеинового комплекса TFIIH, который участвует в восстановлении нуклеотидов (NER - путь), повреждение которых индуцировано УФ или массивными аддуктами ДНК, блокирующих последующую транскрипцию и репликацию [5].

Полиморфизм rs13181 (Lys751Gln) гена XPD1 является одним из распространенных вариантов. В 23 экзоне происходит замена аденина на цитозин (A>C) , приводящая к замене лизина на глутамин в кодоне 751. Данный полиморфизм может вызывать изменения, связанные с функцией XPD, влияя на способность репарации ДНК [6].

Материалы и методы исследования.

В данной работе проанализированы популяции различной этнической принадлежности. В исследовании использованы данные из статей для популяции словенок [7] и китаянок [8] по полиморфному локусу rs13181 (A/C) гена XPD1, также для популяции финок [9] и тайванок [10] по полиморфному локусу rs4680 (G/A) гена COMT.

В работе использованы образцы ДНК 894 человек, проживающих в Республике Башкортостан. Из них 409 онкологически больных индивидов и 485 здоровых индивидов без отягощенного онкологического анамнеза, носителей нормальных аллелей полиморфных локусов rs4680 (G/A) гена COMT, rs13181 (A/C) гена XPD1.

Для выделения ДНК использовали метод фенольно-хлороформной экстракции ДНК из периферической крови. Генотипирование проводили с использованием метода ПЦР-ПДРФ и детекцией их продуктов в 7 % ПААГ.

Результаты исследования. На первом этапе был проведен анализ генотипической структуры изученных популяций по гену XPD1 на соответствие уравнению Харди-Вайнберга. По гену XPD1 все изученные популяции являлись равновесными и соответствовали уравнению Харди-Вайнберга (χ^2<3,64).

В исследованных выборках по гену COMT обнаружены этнические различия. Для популяции финок и тайванок установлено, что распределение частот генотипов и аллелей как в группе здоровых, так и онкобольных соответствовало распределению Харди-Вайнберга (χ^2<3,64). Для популяции русских установлено, что распределение частот генотипов и аллелей в обеих группах не соответствовало распределению Харди-Вайнберга (χ^2>5,99).

В результате попарного сравнения по полиморфному локусу rs13181 гена XPD1 не было выявлено достоверного повышения частот генотипов, так и аллелей (табл.1). Исходя из этого можно сделать вывод, что данный полиморфизм не ассоциирован с повышенным риском развития онкопатологии.

Таблица 1. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта гена XPD1 rs13181 (Lys751Gln) у здоровых индивидов и в группе с онкопатологией

Генотипы / аллели	**Больные**		**Контроль**		**χ^2**	**p**
	n	**p ±m**	**n**	**p±m**		
*A	310	0,529±0,021	120	0,508±0,033	0,209	0,6483
*C	276	0,471±0,021	116	0,492±0,033		
AA	81	0,276±0,026	26	0,22±0,038	1,1	0,2953
AC	148	0,505±0,029	68	0,577±0,045	1,435	0,2319
CC	64	0,218±0,024	24	0,203±0,037	0,042	0,8395
N	293		118			

В результате попарного сравнения по полиморфному локусу rs4680 (Val158Met) гена COMT было выявлено достоверное повышение частоты гомозиготного генотипа LL и аллеля *L в группе онкобольных (p=0,0016, χ^2=11,2363) (табл. 2).

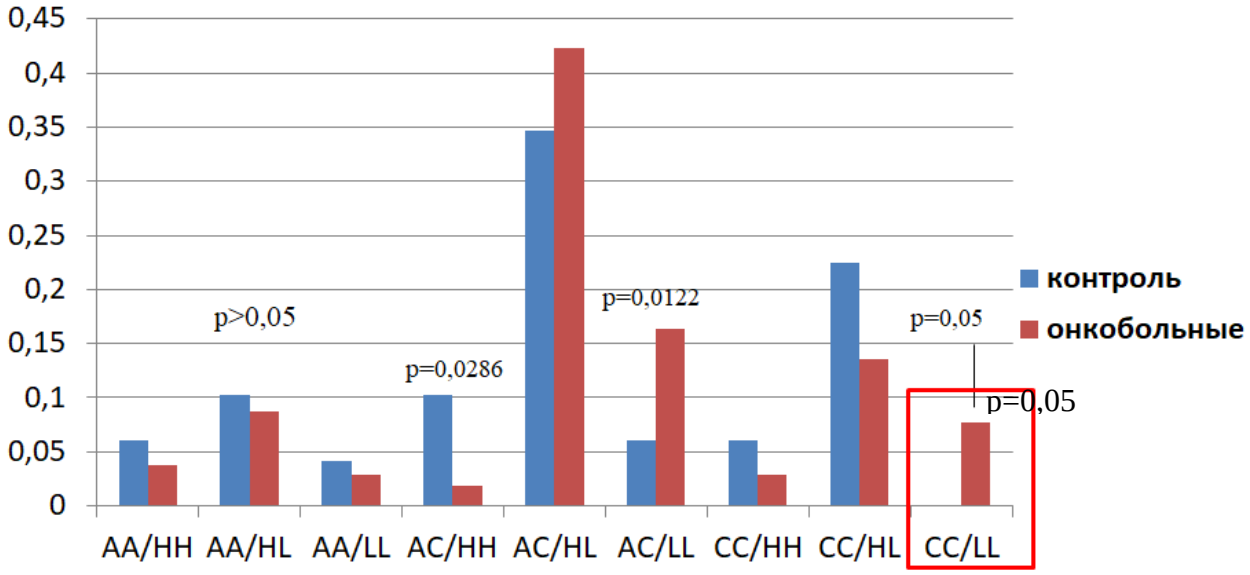
Полученные результаты согласуются с литературными данными, в которых показан риск развития РМЖ у носителей аллеля *L. У гомозигот - носителей аллеля с низкой активностью – риск развития рака молочной железы в целом возрастает в 1,3-1.4 раза. Это объясняется тем, что снижение активности COMT может приводить к меньшей инактивации катехолэстрогенов - эстрогенных дериватов, некоторые метаболиты которых обладают канцерогенным и ДНК-повреждающим действием, что является основной причиной генетической нестабильности и как следствие злокачественного перерождения клетки.

Таблица 2. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта гена COMT rs4680 (Val158Met) у здоровых индивидов и в группе с онкопатологией

Генотипы / аллели	**Больные**		**Контроль**		χ^2	**p**
	n	**p±m**	**n**	**p±m**		
*H	98	0,422±0,032	410	0,559±0,018	12,5696	0,0011
*L	134	0,578±0,032	324	0,441±0,018		
HH	11	0,095±0,027	86	0,234±0,022	9,8368	0,0026
HL	76	0,655±0,044	238	0,649±0,025	0,0008	0,985
LL	29	0,25±0,04	43	0,117±0,017	11,2363	0,0016
N	116		367			

При анализе сочетаний генотипов генов эксцизионной репарации (XPD1) и гормонального канцерогенеза (COMT) выявлено 9 сочетаний. Установлено достоверное повышение частоты сочетания AC/LL (p=0,0122) и CC/LL (p=0,05) у онкобольных (рис.1). Причем, сочетание генотипов, содержащих только полиморфные аллели CC/LL (p=0,05) выявлено только у онкобольных, поэтому данное сочетание может использоваться в качестве прогностического генетического маркека определения повышенного риска развития онкопатологии.

Рис. 1. Распределения частот сочетаний генотипов генов XPD1 и COMT у здоровых индивидов и больных с онкопатологией



Заключение. Полученные результаты позволяют говорить о ключевой роли аллельного состояния генов гормонального канцерогенеза (COMT) в формировании риска злокачественной трансформации клетки.

Литература

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность) / М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. - 250 с.
2. Roffman JL,, Gollub RL, Calhoun VD, Wassink TH, Weiss AP, Ho BC, White T, Clark VP, Fries J, Andreasen NC, Goff DC, Manoach DS. MTHFR 677C--> T genotype disrupts prefrontal function in schizophrenia through an interaction with COMT 158Val-->Met.ProcNatlAcadSci USA.2008 Nov 11;105(45):17573-8. PMID 18988738.
3. Tenhunen J., Salminen M., Lundström K., Kiviluoto T., Savolainen R., Ulmanen I. Genomic organization of the human catechol-O-methyltransferase gene and its expression from two distinct promoters. Eur. J. Biochem. 1994; 223(3):1049–59.
4. Chen J., Lipska B., Halim N., Ma D., Matsumoto M., Melhem S. et al. Functional Analysis of Genetic Variation in Catechol-O-Methyltransferase

(COMT): Effects on mRNA, Protein, and Enzyme Activity in Postmortem Human Brain. Am. J. Hum. Genet. 2004;

5. Birkbak, N.J. Telomeric allelic imbalance indicates defective Wang, J.Y. Kim, [et al.] // Cancer Discov. - 2012. - T. 2 - № 4. - P. 366 – 375.
6. Aktas, D. Analysis of CHK2 in patients with myelodysplastic syndromes / D. Aktas, M.J. Arno, F. Rassool, G.J. Mufti // Leuk Res. - 2002. - T. 26. - P. 985 - 987.
7. Lívia Kipikasová // Polymorphisms of the XRCC1 and XPD Genes and Breast Cancer Risk: A Case-Control Study. 2008. URL: https://sci-hub.yncjkj.com/10.1007/s12253-008-9034-z
8. Lianping Zhang // Single nucleotide polymorphisms for DNA repair genes in breast cancer patients. 2005. URL: https://sci-hub.yncjkj.com/10.1016/j.cccn.2005.03.047
9. Ummiye V Onay // Combined effect of CCND1 and COMT polymorphisms and increased breast cancer risk. 2008. URL: https://bmccancer.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1471-2407-8-6.pdf
10. Wei-Yu Lin // Polymorphic catechol-O-methyltransferase gene, duration of estrogen exposure, and breast cancer risk: A nested case–control study in Taiwan. 2005. URL: https://sci-hub.yncjkj.com/10.1016/j.cdp.2005.07.003

Literature

1. Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2015 (morbidity and mortality) / M.: MNIOI im. P.A. Herzen - branch of the Federal State Budgetary Institution "NMIRC" of the Ministry of Health of Russia, 2017. - 250 p.
2. Roffman JL, Gollub RL, Calhoun VD, Wassink TH, Weiss AP, Ho BC, White T, Clark VP, Fries J, Andreasen NC, Goff DC, Manoach DS. MTHFR 677C --> T genotype disrupts prefrontal function in schizophrenia through an interaction with COMT 158Val --> Met.ProcNatlAcadSci USA.2008 Nov 11;105(45):17573-8. PMID 18988738.

3. Tenhunen J., Salminen M., Lundström K., Kiviluoto T., Savolainen R., Ulmanen I. Genomic organization of the human catechol-O-methyltransferase gene and its expression from two distinct promoters. Eur. J Biochem. 1994; 223(3):1049–59.
4. Chen J., Lipska B., Halim N., Ma D., Matsumoto M., Melhem S. et al. Functional Analysis of Genetic Variation in Catechol-O-Methyltransferase (COMT): Effects on mRNA, Protein, and Enzyme Activity in Postmortem Human Brain. Am. J. Hum. Genet. 2004;
5. Birkbak, N.J. Telomeric allelic imbalance indicates defective Wang, J.Y. Kim, [et al.] // Cancer Discov. - 2012. - T. 2 - No. 4. - P. 366 - 375.
6. Aktas, D. Analysis of CHK2 in patients with myelodysplastic syndromes / D. Aktas, M.J. Arno, F. Rassool, G.J. Mufti // Leuk Res. - 2002. - T. 26. - P. 985 - 987.
7. Livia Kipikasová // Polymorphisms of the XRCC1 and XPD Genes and Breast Cancer Risk: A Case-Control Study. 2008. URL: https://sci-hub.yncjkj.com/10.1007/s12253-008-9034-z
8. Lianping Zhang // Single nucleotide polymorphisms for DNA repair genes in breast cancer patients. 2005. URL: https://sci-hub.yncjkj.com/10.1016/j.cccn.2005.03.047
9. Ummiye V Onay // Combined effect of CCND1 and COMT polymorphisms and increased breast cancer risk. 2008. URL: https://bmccancer.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1471-2407-8-6.pdf
10. Wei-Yu Lin // Polymorphic catechol-O-methyltransferase gene, duration of estrogen exposure, and breast cancer risk: A nested case–control study in Taiwan. 2005. URL: https://sci-hub.yncjkj.com/10.1016/j.cdp.2005.07.003

© Каипова А.Ф., 2022 Научно-образовательный журнал для студентов и преподавателей «StudNet» №5/2022.

Для цитирования: Каипова А.Ф. ИССЛЕДОВАНИЕ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕНОВ СИСТЕМЫ РЕПАРАЦИИ (XPD1) И ГОРМОНАЛЬНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА (COMT) В НОРМЕ И ПРИ ОНКОПАТОЛОГИИ// Научно-образовательный журнал для студентов и преподавателей «StudNet» №5/2022.