

КЫРГЫЗСКО-РОССИЙСКИЙ СЛАВЯНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени Б.Н. Ельцина

На правах рукописи

УДК 618.1 -006.6-056.7(575.2)(043.3)

ЮСУФОВА МӨЛТҮР АНВАРОВНА



**«РОЛЬ ГЕНОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ В РАЗВИТИИ РАКА
РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ У ЖЕНЩИН КЫРГЫЗСКОЙ
НАЦИОНАЛЬНОСТИ»**

Д и с с е р т а ц и я

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12-онкология

Научный руководитель:

д.м.н., профессор

Макимбетов Эмил Кожошевич

БИШКЕК 2024

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
СОДЕРЖАНИЕ.....	2-3
ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	4-4
ВВЕДЕНИЕ.....	5-15
ГЛАВА 1	
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	
	16-44
1.1. Полиморфизмы различных генов при раке шейки матки.....	16-36
1.2 Роль ферментов глутатион S-трансферазы (GST) в генезе злокачественных опухолей человека	36-44
ГЛАВА 2	
МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	
	44-49
2.1. Характеристика обследованных групп.....	44-46
2.2 Молекулярно-генетические исследования.....	46-47
2.3. Исследование полиморфизмов генов <i>GSTM1</i> /rs366631, <i>GSTP1</i> /rs1695 и <i>TP53</i> (rs104252) и <i>GSTT1</i> /rs17856199.....	47-49
2.4. Статистический анализ.....	49-53
ГЛАВА 3	
РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	
	53-63
3.1 Оценка роли однонуклеотидных полиморфизмов генов <i>GSTM1</i> ,	

GSTP1 и GSTT1 в возникновении злокачественных новообразований шейки матки у лиц кыргызской этнической группы.....	53-57
3.2 Взаимоотношения между генами полиморфных вариантов глутаминтрансфераз GSTM1, GSTP1 и GSTT1 при раке шейки матки ...	57-62
3.3 Характеристика ассоциации полиморфизма генов группы глутатионтрансфераз GSTM1, GSTP1 и GSTT1 с некоторыми клиническими и гистологическими данными злокачественных новообразований шейки матки	62-63
3.4 Взаимоотношения между генами группы глутатионтрансфераз, факторов репарации ДНК и контроля клеточного цикла при злокачественных опухолях шейки матки.....	63-69
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	69-78
ВЫВОДЫ.....	78-79
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	79-80
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	80-93
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	94-94

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ВПЧ – вирус папилломы человека

РШМ – рак шейки матки

РМЖ – рак молочной железы

НЦОГ – Национальный центр онкологии и гематологии МЗ КР

КРСУ – Кыргызско-Российский Славянский университет

ВИН – внутриэпителиальные неоплазии

ОНП – однонуклеотидные полиморфизмы

ОР – относительный риск

ОШ – отношение шансов

ПЦР – полимеразно-цепная реакция

CIN – cervical intraepithelial neoplasia

GST – Глутатион S-трансфераза

HPV – human papilloma virus

HIV – human immunodeficiente virus

FIGO – Federation International Gynecology and Obstetrics

ВВЕДЕНИЕ

Проблема рака шейки матки (РШМ) является одной из наиболее актуальных проблем в современной онкологии, так как это заболевание является одним из самых распространенных среди женской популяции. РШМ является ведущим в структуре женской онкологической заболеваемости и смертности в развивающихся странах Азии и Африки [Давыдов М.И., Аксель Е.М., 2014; Hansen B.T. et al., 2014], а также важной медицинской и социальной проблемой в экономически развитых странах мира [Бахлаев И.Е. 2011; Kelava I. et al., 2012; Jung K.W. et al., 2013; Karadag G. et al., 2014].

По данным ВОЗ, ежегодно в мире выявляется более 530 тыс. больных РШМ, что составляет 5% от всех локализаций [Parkin D.M., et al., 2014]. В Российской Федерации по сравнению с другими экономически развитыми странами заболеваемость РШМ остается довольно высокой — 17-19 на 100 тыс. женского населения [Зароченцева Н.В., 2017; Клинышкова Т.В. и др. 2018]. В России РШМ занимает 6-е место (5,2%) в структуре заболеваемости и 7-е место (5,0%) в структуре смертности от злокачественных новообразований, а среди онкогинекологической патологии РШМ удерживает 2-е ранговое место [Чиссов В.И., 2011; Давыдов М.И., Аксель Е.М., 2014].

В большинстве развитых странах мира, например в США, РШМ занимает третье место среди гинекологических злокачественных новообразований. В целом, в развитых странах мира заболеваемость относительно низкая из-за интенсивной программы скрининга. В этом огромную роль сыграл тест по Папаниколау, который часто обнаруживает и бессимптомные преинвазивные поражения шейки матки, особенно на ранних стадиях [Коломиец Л.А. и др., 2002; Parkin D.M., et al., 2011]. Частота заболеваемости РШМ уменьшилась с 32,0 на 100 тыс. в 1940-х годах до 8,3 на 100 тыс. в 1980-х годах [Curado M. P. et al., 2007]. Однако, во многих

частях развивающегося мира цервикальный рак продолжает причинять существенный вред в отношении высокой частоты заболеваемости и смертности. После рака молочной железы РШМ наиболее типичная опухоль женской популяции [Мерабишвили В.М., 2012; Bosch F.X., et al. 2009; Bouchbika Z., et al. 2013; Lynge E. et al., 2014; Asthana S. et al., 2014].

Показатели заболеваемости РШМ варьируют по всему миру. Максимальные показатели заболеваемости зарегистрированы на Гаити, в Никарагуа, Боливии, Гвинее; минимальные – в Китае, Турции, Сирии, Греции, Израиле. Имеются этнические особенности в распространении РШМ в мире [Mihajlović J., et al., 2013; Bagcchi S. etl., 2014; Song B.,2017; Chan D.N.S., 2017].

Повозрастной показатель заболеваемости РШМ имеет тенденцию к омоложению. Если ранее большинство женщин заболели в 40-50 лет, то в последнее десятилетие, несмотря на то, что имеет место снижение уровня заболеваемости РШМ в экономически развитых странах, отмечается рост заболеваемости женщин в возрасте до 35 лет (Англия, Австралия, Новая Зеландия) [Gompel A., et al., 2013; Henley S.J. et al., 2014; Lynge E. et al., 2014].

В Кыргызстане РШМ в общей структуре заболеваемости занимает 4-е место, что составляет 11% среди всех опухолей женщин. Среди заболеваемости онкопатологией у женщин РШМ занимает 2-е место после рака молочной железы. Отличительной чертой РШМ в Кыргызстане является запущенность опухолевого процесса. По данным некоторых авторов РШМ II-III стадией составляет 83,9%, а пятилетняя выживаемость больных с этими стадиями составляет 30-32% [Камарли З.П., 2003; Измайлова З.М. и др., 2007]. При Iб стадии метастазирование наблюдается в 20%; II стадии – до 30-35% больных.

Выявляемость больных на поздних стадиях заболевания является неблагоприятным фактором в лечении РШМ.

Решение проблемы РШМ предусматривает улучшение качества выявляемости, диагностики и усовершенствование методов лечения РШМ. В целях профилактики и лечения ранних форм необходимо отметить, что РШМ возникает не на «голом» месте. Для развития РШМ 0-I стадии необходимо пройти поэтапные процессы: фоновые заболевания, такие как: псевдоэрозия, лейкоплакия, полип, плоские кондиломы; предраковые процессы: дисплазия – слабая, умеренная, тяжелая [Вакуленко В.А., 2003; Сафронникова Н.Р. и др., 2003; Новикова Е.Г. и др. 2014].

В настоящее время изучены факторы риска, приводящие к развитию предопухолевых процессов и РШМ: количество сексуальных партнеров, курение, этническая принадлежность, низкий социально-экономический статус и наличие папилломавирусной инфекции. Так рядом исследований последних лет доказана роль высокоонкогенных типов вирусов папилломы человека (ВПЧ) в возникновении цервикальных внутриэпителиальных неоплазий и их прогрессии в РШМ [Новик В.И., 2002; Мзарелуа Г.М., и др., 2018; Vaccarella S. et al., 2014; Thompson B., et al, 2014].

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в настоящее время ВПЧ инфицировано не менее 630 млн. населения. ВПЧ выявляется в 99,7% случаев РШМ и относится к основному этиологическому фактору развития этого заболевания. В мировом масштабе РШМ относится ко второму по частоте онкологическому заболеванию органов репродуктивной системы. Ежегодно около 250 тыс. случаев РШМ приводят к летальному исходу [Дикке Г.Б., 2018].

Молекулярный механизм действия белков ВПЧ (Е2, Е5, Е6, Е7) описан в ряде работ, в которых установлено действие этих белков на репликацию и транскрипцию генома клеток, инактивацию функции некоторых генов, а также их связь с рецепторами факторов роста [Сафронникова Н.Р. и др., 2003; Суламанидзе Л.А. и др., 2016; Рудакова А.В. и др. 2017]. По международным данным пик инфицирования ВПЧ приходится на 25-29 лет, а первый пик заболевания РШМ возникает через 10 лет у женщин в возрасте

35-39 лет. Около 76,7% случаев РШМ в мире вызывается ВПЧ 16 и 18 типов [Bosch F.X. et al., 2002; Tay S.K. et al., 2012; Guan P. et al., 2012; Agorastos T., et al., 2014].

По данным ученых Санкт-Петербурга ВПЧ-инфекция диагностирована у 29% обследованных. При этом распределение по типам вирусов было аналогичным таковому в США и Европе; наряду с этим инфекция ВПЧ не коррелировала с возрастом больных, возрастом начала половой жизни [Александрова Ю.Н. и др., 2000].

Учитывая вышеизложенное, необходимо широкое использование скрининг-тестов для выявления РШМ на ранних стадиях и адекватное лечение фоновых, предопухолевых заболеваний РШМ с максимальным устранением факторов риска [Чиссов В.И., 2006; Байназарова А.А., 2010; Барчук А.А. и др., 2017; Mvundura M., et al. 2014]. С открытием вируса иммунодефицита человека появились сообщения, что у таких больных часто обнаруживался РШМ. Цервикальная неоплазия стала одним из составляющих ВИЧ-синдрома [White H.L., et al., 2012; Chen M., et al, 2014].

За последние годы появились несколько новых технологий по ранней диагностике РШМ, цель которых была попытка увеличить чувствительность и уменьшить ложно – отрицательные результаты, которые были характерны для традиционного скрининга. Для этого были предложены два автоматизированных устройства рескрининга, которые были разрешены Департаментом по разрешению продовольственных и фармацевтических продуктов (США) [Lynge E., et al., 2014; Thompson B., et al., 2014].

Другой новый метод, так называемая жидкостная цитология, основана на том, что цервикальные клетки помещаются в жидкостную среду и посредством фильтрации через кровь слизистых и воспалительных клеток производится их анализ. При этом получают однослойные клетки, которые затем обследуются традиционно [Dickson E.L., et al., 2014; Mai R.Q., et al., 2014].

Работами Швец Н.А. (2008 г) доказано, что при морфологической диагностике РШМ важно учитывать не только степень выраженности терапевтического патоморфоза, но и стадию, степень дифференцировки и другие гистологические особенности новообразования, которые являются независимыми признаками, а также необходимо исследовать экспрессию онкобелков p53, p16, COX-2 и PTEN. Также продемонстрировано, что высокий уровень экспрессии онкобелка p53 является показателем резистентности РШМ к терапии.

Определяющим фактором прогноза у операбельных больных РШМ является метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов. 5-летняя выживаемость снижается на 50% при поражении лимфатических узлов таза и не превышает 25% при метастазах в поясничные лимфатические узлы. При двухсторонних множественных метастазах риск регионарного рецидива РШМ в 2 раза выше, чем у больных с 1-3 метастазами, локализованными в лимфатических узлах таза с одной стороны. При размерах первичной опухоли менее 2 см 5-летняя выживаемость составляет 90%, от 2 до 4см – только 40% [Вакуленко Г.А., и др., 2003; Шевчук А.С. и др., 2015, 2017].

Успешная борьба со злокачественными новообразованиями, в т.ч. РШМ, заключается в постоянном совершенствовании организационных форм. При этом совершенствование системы оперативной статистики создает предпосылки для развития информационных систем, разработке проблем методологии и методики эпидемиологических исследований, создания популяционного ракового регистра [Мерабишвили В.М. и др., 2012; Левшин В.Ф., Завельская А.Я., 2017].

Целенаправленное эпидемиологическое изучение злокачественных опухолей, в т.ч. РШМ в различных частях мира показывает неравномерность распространения их в отдельных зонах, регионах в зависимости от возрастного, этнического состава населения [Новик В.И. и др., 2001; Леонов

М.Г., 2011; Ковчур П.И., 2011; Busolo D.S. et al., 2014; Carozzi F., et al., 2014; Chasimpha S.J.D., et al., 2017].

Несмотря на успехи в изучении механизмов канцерогенеза шейки матки и усилия по разработке методов ранней диагностики, РШМ остается одной из важнейших проблем современной онкологии [Киселев Ф. Л. и др., 2004; Кузнецов В.В. и др., 2006;]. Известно, что вирусы папиллом человека (HPV) высокого риска, в первую очередь HPV 16 и 18 типов, являются наиболее значимыми факторами риска возникновения дисплазий различной степени тяжести (CIN I-III) и РШМ [Christopher P., et al., 2003; Elhamidi A., et al., 2005; Chatterjee K., et al, 2009]. В подавляющем большинстве случаев инфекция HPV проходит транзиторно, однако примерно у одной десятой части инфицированных женщин возникают дисплазии шейки матки и лишь 1% легких дисплазий переходит в РШМ [Garland S.M., et al., 2012; Gaudet M., et al., 2014; Vicus D., et al., 2014; Whiteman D.C., et al., 2015].

Персистенция вируса с длительной активной экспрессией вирусных онкобелков инициирует многостадийный процесс, в результате которого клетки эпителия шейки матки приобретают генетические и эпигенетические нарушения, способствующие опухолевой прогрессии [Киселева В.И. и др., 2014 Ueda M., et al., 2006; Zhang Z., et al., 2009; Xiong X., et al., 2014;]. Эти нарушения могут затрагивать гены, ответственные за злокачественную трансформацию. В связи с этим особое значение приобретает изучение ранних генетических изменений с целью выявления маркеров, позволяющих прогнозировать развитие дисплазий. Метод анализа потери гетерозиготности – это распространенный способ выявления участков хромосом, повреждающихся в процессе канцерогенеза. Наиболее высокая частота гетерозиготности была показана для хромосом 3, 4, 6 и 11. При этом отдельный интерес вызывает короткое плечо хромосомы 6, где располагаются гены главного комплекса гистосовместимости [Stanczuk G.A., et al., 2013].

Гистологическая верификация послойных срезов операционного или биопсийного материала, выявляет множественность фокусов патологически измененного эпителия шейки матки в ряде случаев CIN и РШМ [Актанко А.П., 2009]. Подробный молекулярный анализ всех таких фокусов дисплазий различной степени тяжести и/или РШМ у больных с использованием микродиссекционной техники, делает возможным выявление генетической и вирусной гетерогенности неоплазий [Киселев В.И. и др., 2008; Бахидзе Е.В. и др., 2016; Bansal A., et al., 2016].

Особенности иммунной системы организма хозяина, способствующие выживаемости HPV-инфицированных, а также неопластических клеток эпителия шейки матки, могут влиять на развитие РШМ [Bastirik B., et al., 2005; Nunobiki O., et al., 2011; Fang J., et al., 2014]. Активная роль иммунной системы в канцерогенезе РШМ подтверждается тем, что больные с иммуносупрессивными состояниями, в частности, ВИЧ инфицированные, часто имеют HPV-ассоциированные дисплазии и рак шейки матки [Bais A.G., et al., 2006; Giuliano A.R., et al., 2014]. Поскольку гены, отвечающие за иммунный ответ (группа генов HLA, гены цитокинов) являются высокополиморфными, представлялось актуальным изучить генетический полиморфизм этих генов у больных с дисплазиями и РШМ [Chen X., et al., 2011; Habbous S., et al., 2012].

Среди причин летальности онкологических больных РШМ выходит на ведущие позиции. Вопросы планирования, экономии и упорядочения материальных ресурсов поставлены не на должном уровне. Генетические особенности РШМ в разных этнических группах населения республики вообще не изучались. Известно, что определенные гены, участвующие в регуляции клеток и развитии опухоли шейки матки, могут изменяться, подвергаться повышенной экспрессии. Изучение данных феноменов носит фундаментальный характер, т.к. позволяет выявить этиологические ключи, наметить пути профилактики и определить прогноз злокачественных опухолей человека.

Сопутствующая химиолучевая терапия (ХТ) на основе цисплатина является стандартным методом лечения местнораспространенного рака шейки матки (РШМ). Глутатион S-трансфераза (GST), антиоксидантный фермент II фазы, индуцируется окислительным стрессом, генерируемым лекарственными средствами и реактивными окислителями. Abbas M., (2015 г) оценили связи полиморфизмов GSTM1, T1 и P1 с исходом лечения у пациентов с РШМ. В общей сложности 227 больных РШМ с IIВ-IIIВ стадиями, получавших одинаковую схему химиолучевой терапии, были включены в исследование и генотипированы по полиморфизмам генов GSTM1, T1 и P1. Стратифицированный анализ показал, что нулевой (M1-) генотип GSTM1 ассоциирован со значительно лучшей выживаемостью среди пациентов РШМ IIВ стадии (log-rank $p=0,004$), чем у пациентов с IIIА/IIIВ стадией. Летальность и рецидив были достоверно выше у пациентов с генотипом GSTM1 present (M1+) ($p=0,037$ и $p=0,003$ соответственно), а у пациентов с генотипом M1 – показали снижение риска смерти с скорректированным коэффициентом риска HR – hazard ratio 0,47 (95% ДИ, 0,269-0,802, $p=0,006$). Женщины с M1-генотипом, а также в комбинации с GSTT1 null (T1-, GSTP1 (AG+GG) и GSTT1 null/GSTP1 (AG+GG) показали лучшую выживаемость, а также сниженный риск смерти (HR = 0,31, $p=0,016$; HR = 0,45, $p=0,013$; HR = 0,31, $p=0,02$ соответственно). Насколько нам известно, это первое исследование, которое коррелирует ассоциацию полиморфизмов генов GSTM1, T1 и P1 с исходом лечения. Показано, что особи с нулевым генотипом GSTM1 и в комбинации с нулевым генотипом GSTT1 и GSTP1 (AG+GG) имели преимущество в выживаемости. Такие генетические исследования могут дать прогностическую информацию.

Цель исследования – изучить межгенные взаимодействия и вклад полиморфных вариантов генов *GSTM1*, *GSTP1* и *GSTT1* в формирование предрасположенности к раку шейки матки у женщин кыргызской национальности.

Задачи исследования

1. Изучить генетический профиль кыргызской популяции по полиморфизмам генов *GSTM1*/rs366631, *GSTP1*/rs1695 и *TP53* (rs104252) и *GSTT1*/rs17856199.
2. Оценить роль однонуклеотидных полиморфизмов генов *GSTM1*/rs366631, *GSTP1*/rs1695 и *TP53* (rs104252) и *GSTT1*/rs17856199 при раке шейки матки в кыргызской популяции.
3. Изучить межгенные взаимодействия и вклад полиморфных вариантов генов *GSTM1*, *GSTP1* и *GSTT1* в формирование предрасположенности к раку шейки матки у женщин кыргызской национальности.

Научная новизна

1. Впервые в Кыргызстане определена роль полиморфизмов *GSTM1*/rs366631, *GSTP1*/rs1695 и *TP53* (rs104252) и *GSTT1*/rs17856199 в генезе РШМ.
2. Впервые охарактеризована связь исследуемых полиморфизмов с некоторыми клинико-морфологическими характеристиками опухоли.
3. Впервые определено влияние обозначенных генотипов на развитие РШМ в кыргызской этнической группе, что может быть впоследствии использовано для профилактики и ранней диагностики заболевания.

Практические рекомендации

- 1) Результаты молекулярно-генетических исследований рекомендуются к использованию при подготовке студентов высших учебных заведений биологического и медицинского профиля, а также в учреждениях здравоохранения и академических лабораториях молекулярно-генетической направленности при формировании групп риска рака шейки матки.

- 2) Метод поможет выявлять группы высокого онкологического риска, проводить профилактические мероприятия в этих группах и, таким образом, существенно снижать заболеваемость.
- 3) Полученные результаты работы могут внести вклад в создание «генетической карты» рака шейки матки в кыргызской популяции и послужить дальнейшему изучению молекулярно-генетического разнообразия опухоли, ведь насчитывается множество генов предрасположенности к раку шейки матки. Более того, некоторые из этих изученных генов могут в дальнейшем стать новой мишенью для терапевтического воздействия.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Делеция участка гена *GSTM1* является генетическим маркером, ассоциированным с повышенной вероятностью развития РШМ – ОШ=2,02, 95% ДИ (1,28-3,20), $p=0,002$.
2. Делеция участка полиморфизма null в гене *GSTT1* – может рассматриваться как генетический маркер, ассоциированным с повышенной вероятностью развития РШМ – ОШ=3,04, 95% ДИ (2,00-4,64), $p < 0,0001$.
3. Сочетанное носительство конкретных вариантов полиморфных локусов в генах *GSTM1* и *GSTT1* ассоциировано с повышенной вероятностью развития РШМ у женщин кыргызской национальности.

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на Международной научно-практической конференции Международной высшей школы медицины, посвященной 70-летию проф. Чынгышпаева Ш.М. (Бишкек, октябрь, 2018); на Международной конференции «Вопросы науки и практики – 2019 (2 сессия)», Москва, октябрь 2019 г.; Ежегодной научно-практической конференции

преподавателей Кыргызско-Российского Славянского университета (2020, 2021, 2022 гг.); Межотделенческой конференции кафедры хирургических болезней Международной высшей школы медицины, кафедры онкологии и лучевой терапии Кыргызско-Российского Славянского университета, кафедры онкологии Кыргызской Государственной Медицинской Академии им. Академика И.К. Ахунбаева, кафедры онкологии Кыргызского Государственного Медицинского института переподготовки и повышения кадров им. Академика Даниярова С.Б.

Личный вклад автора

Все материалы необходимые для проведения данного исследования были проработаны непосредственно автором: на этапах постановки цели и задач, проведения исследования. Статистическая обработка и анализ полученных данных были выполнены автором лично.

Опубликованность результатов

По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ, из них 8 в журналах рекомендуемых Высшей Аттестационной Комиссии Российской Федерации и Национальной Аттестационной Комиссии Кыргызской Республики для опубликования основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук.

Структура и объем диссертации. Работа состоит из введения; двух глав, включающих обзор литературы и материалы и методы исследования; 2-х глав собственных наблюдений; заключения; выводов; практических рекомендаций и списка использованных источников (114), из которых 38 на русском и 86 на иностранных языках. Диссертация изложена на 93 страницах, иллюстрирована 6 таблицами и 6 рисунками.

ГЛАВА 1

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.2. Полиморфизмы различных генов при раке шейки матки

Понимание природы опухолевого роста стало принимать более очерченные формы лишь в течение двух последних десятилетий прошлого века, благодаря взрывоподобному развитию молекулярной онкологии [2]. Разработка метода гибридизации нуклеиновых кислот привела к новому революционному открытию: оказалось, что все вирусные онкогены имеют гомологов в составе человеческого генома. Более того, данные гомологи являются необходимым компонентом клеточной жизнедеятельности; они отвечают за такие важнейшие процессы, как пролиферация, дифференцировка и т.д. Венцом примерно 10-летней серии экспериментов стало доказательство факта активации онкогенов в опухолях увеличения количества копий и/или функциональной модификации. К середине 1980-х гг. онкогенная теория рака приобрела удивительную стройность. Генетические повреждения в онкогенах могут возникать вследствие случайного мутационного процесса, однако вероятность мутаций существенно повышается при увеличении канцерогенной нагрузки.

В настоящее время молекулярная онкология вошла в XXI век с достаточно чёткими представлениями о патогенезе новообразований. Суть молекулярно-генетических изменений в опухолях сводится к трём компонентам: 1) активирующие мутации в онкогенах; 2) инактивирующие мутации в антионкогенах; 3) геномная нестабильность. Спектр генетических

повреждений в неоплазмах характеризуется удивительным разнообразием. К таковым относятся амплификации (увеличение копийности генов), делеции, инсерции, транслокации, микромутации (точковые замены, микроделеции, микроинсерции) и т.д. В последнее время большое внимание уделяется наследуемым изменениям в уровне экспрессии генов, что связано с аномальным метилированием их промоторов.

Последние 25 лет были отмечены поистине революционными событиями в фундаментальной онкологии. Бурное развитие молекулярной генетики, в частности открытие онкогенов и антионкогенов, кардинально изменило представления о механизмах возникновения новообразований [2, 13]. К настоящему моменту молекулярно-генетические подходы рутинно используются на всех этапах онкологической помощи, т.е. в профилактике, диагностике, лечении и мониторинге пациентов. Наиболее заметные успехи отмечены в развитии лабораторных методов выявления групп онкологического риска, поиске диагностических и прогностических маркеров новообразований, разработке патогенетически обоснованных подходов к химиопрофилактике и химиотерапии неоплазм и, наконец, в генотерапии рака.

Наибольшей практической значимостью обладают исследования последнего десятилетия, установившие причастность папилломавирусов (Human papillomaviruses - HPV) к возникновению рака гениталий [23]. HPV являются условно-патогенными вирусами, т.е. в большинстве случаев их носительство протекает бессимптомно. Однако при неблагоприятном стечении (пока неизвестных) обстоятельств HPV инициируют процесс злокачественной трансформации. Папилломавирусы представляются основным этиологическим агентом рака шейки матки (РШМ) – наиболее частой опухоли репродуктивного тракта у женщин [12]. Встречаемость бессимптомной HPV-инфекции исключительно высока: наши собственные исследования показали, что около 30% здоровых посетительниц гинекологических консультаций заражены ВПЧ [6]. Нужно оговориться, что

онкологическую опасность представляет не носительство как таковое, а хронизация этого процесса, наблюдающаяся несколько реже - примерно у 5 - 10% женщин [35]. В любом случае HPV-тестирование имеет чрезвычайную социальную значимость, так как позволяет надёжно выделить группы высокого риска РШМ. Известно, что для РШМ характерна строгая стадийность развития, причём возникновению злокачественной опухоли предшествует относительно длительный этап предракового поражения. Следовательно, выявление групп с онкологической предрасположенностью, которое позволяет сконцентрировать клинические превентивные мероприятия на относительно узких группах пациенток, может существенно увеличить эффективность детекции опухолей шейки матки на ранних, до злокачественных стадиях [56]. Наиболее достоверным методом диагностики HPV является молекулярно-генетический метод – полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Рак шейки матки (РШМ) следует за раком молочной железы (РМЖ), который является первым распространенным видом новообразований среди женщин во всем мире [Denslow et al., 2012]. Кроме того, начало РШМ приходится на самый репродуктивный возраст 15-49 лет в развивающихся странах [Forouzanfar et al., 2011]. Рак шейки матки представляет собой серьезную угрозу здоровью и качеству жизни женщин, а также является основным источником трудностей для медицинских работников. Следовательно, поиск факторов риска и людей, которые могут быть в группе высокого риска развития РШМ, является значительной и важной работой для профилактики. Как известно, курение [Sood, 1991 ; Zeng et al., 2012] и инфекции, вызванной вирусом папилломы человека (ВПЧ) [Patel et al., 2016] являются классическим фактором риска развития РШМ. Однако некоторые женщины без курения и ВПЧ инфекции также приобретают РШМ, почему? Следовательно, могут быть и другие факторы, играющие определенную роль в возникновении РШМ, такие как генетический фон.

Наиболее широко изучено семейство генов цитохрома P450 (CYP) и предрасположенность его ко многим видам рака [Rodriguez-Antona et al., 2010]. *CYP1A1* принадлежит к семейству CYP гена 1, подсемейству A, полипептиду 1 и имеет два основных функциональных не синонимных полиморфизма: msp1 полиморфизм m1 и Ile462Val полиморфизм m2 [Sugawara et al., 2003]. Полиморфизм Ile462Val является гем-связывающим участком из-за замены изолейцина (Ile) валином (Val), которая вызвана G к переходу (A4889G) в экзоне 7 на кодон 462, также называемом rs1048943. В пяти опубликованных мета-анализах прямо или косвенно исследована ассоциация между полиморфизмом Cyp1a1 Ile462Val и риском развития РШМ [Sergentanis et al., 2012; Yang et al., 2012; Wu et al., 2013; Qin et al., 2014; Wang et al., 2015], однако они получили противоречивые результаты.

Полиморфизм Ile462Val был связан с повышенным риском развития РШМ в общей популяции. Кроме того, анализ этнических подгрупп показал, что значительная ассоциация была обнаружена у кавказцев, но не у азиатов [Yang et al., 2012]. Однако две публикации [Geng et al., 2010; Shi et al., 2011] были вовлечены одни и те же субъекты, которые были включены в вышеприведенный метаанализ. Кроме того, было проведено несколько новых оригинальных исследований [Abbas et al., 2014; Roszak et al., 2014; Li et al., 2016]. Недавний метаанализ Wang et al. объединив данные 8 исследований случай-контроль и указал, что полиморфизм Cyp1a1 Ile462Val может быть фактором риска развития РШМ [Wang et al., 2015]. Поскольку данные извлечены из двух статей [Sugawara et al., 2003; Joseph et al., 2006] и были неоднократно включены в метаанализ, шесть исследований случай-контроль были фактически включены. Кроме того, из-за различных критериев включения и неравномерных размеров выборки, несколько мета-анализов [Wu et al., 2013; Qin et al., 2014] представил противоположные выводы. Кроме того, анализ подгрупп по этническому признаку не мог быть проведен из-за ограниченного числа исследований.

В литературе [Люо Х., 2012 г] описана достоверная связь между полиморфизмом гена EXO1 K589G и риском развития РШМ. Также было выявлено, что аллель А гена EXO1 K589E имел повышение риска РШМ, по сравнению с аллелем G (OR=1,67, 95% ДИ 1,13-2,45).

В механизме контроля и интеграции бесконтрольных клонов играет феномен апоптоза, в котором большую роль играет Fas ген. Результаты показали сильную ассоциативную связь между комбинацией AG (OR=3,0, 95% ДИ=1,68-5,09, $p < 0,001$) и комбинации AG+GG (OR=2,54, 95% ДИ=1,47-4,40, $p < 0,001$) с риском развития РШМ. Гетерозиготный генотип (AG) показал высокую связь с РШМ (OR=2,57, 95% ДИ=1,47-4,50, $p < 0,001$). Также было выявлено, что наблюдалась повышенная связь развития РШМ у пациентов с генотипом (AG), и особенно к комбинации генотипа (AG+GG), подвергшихся пассивному курению – OR=4,6, 95% ДИ=2,07-10,32, $p < 0,001$ – и OR=4,9, 95% ДИ=2,20-10,32, $p < 0,001$, соответственно. Это было первое изучение, доказывающее связь между полиморфизмом гена Fas -670 (A/G) и риском РШМ [Kordi Tamandani D.M., 2008].

В эпидемиологических исследованиях четко показано, что повышение риска чаще наблюдается среди кавказской популяции и среди курильщиков. Следовательно, существуют расовые особенности в характеристиках РШМ, выявленные на генетическом уровне. Так, Sergentanis T.N. и др. (2012 г.) показали влияние полиморфизма MspI and Ile462Val в цитохромах P-450 1A1 (CYP1A1) на риск развития РШМ. Полиморфизм гена MspI сочетался с повышением риска РШМ при гетерозиготности (OR=1,50, ДИ 0,93-2,42) и OR=2,66, ДИ 1,14-6,19 – для гомозиготности.

Результаты исследований показали, что у онкологических больных со злокачественными новообразованиями женских репродуктивных органов преобладают гаплотипы G197/197A аллелей гена IL-17A: нормальный гомозиготный и гетерозиготный (46,0% и 42,0%), реже выявляется патологическая гомозигота (12,0%). При анализе распределения гаплотипов и аллелей IL-17A у онкологических больных выявлены достоверно ($p=0,05$)

более высокие частоты G197 нормального аллеля в сравнении с донорами. У русских женщин достоверно ($p=0,026$) чаще выявляется 0197 аллель 17Л. Авторы резюмируют, что полиморфизм провоспалительного 17Л может быть использован как неспецифический маркер системных воспалительных реакций организма, вовлеченных в патогенез рака. Это подтверждается независимыми исследованиями для географически удаленных популяций китайцев, русских и адыгов [37].

Возникновение многих патологических изменений в организме связано с нарушением баланса провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. В связи с этим важной задачей современной науки является изучение полиморфизма генов цитокинов. Это позволяет выявить предрасположенность и скорректировать патологический процесс у определенного человека с учетом индивидуальностей его генома, сведения о котором можно получить задолго до проявления заболевания, что позволяет предупредить развитие патологии. Среди многочисленных факторов, приводящих к раку, особая роль отводится цитокинам, вовлеченных в системный воспалительный процесс. Нарушения в работе цитокиновой системы, приводящее к развитию опухоли, может быть вызвано мутацией в генах, кодирующих цитокины и их рецепторы, меняя их экспрессию [4]. Впервые у жителей Ульяновской области типированы аллельные варианты генов основных про- и противовоспалительных цитокинов: IL-1 β (T- 31C), TNF- α (G-308A), IL-17A (G-197A), IL-4 (C-589T), IL-10 (G-1082A, C- 592A). В экспериментальную группу вошли пациентки Ульяновского областного клинического онкологического диспансера, проходившие лечение с 2014 по 2016 г. с диагнозами «рак яичников» ($n=60$), «рак шейки матки» ($n=50$), «рак тела матки» ($n=50$). Для цитокина IL-17A (G-197A) были выявлены достоверные различия ($OR = 2.13$; $p = 0.64$) между здоровыми женщинами и пациентками с онкопатологией только в группе больных с раком шейки матки. С данным заболеванием ассоциирован полиморфизм A-197A, что отличается от результатов других авторов, изучающих данную патологию в

европейской популяции женщин. Так по данным Тугуз (2013) с ЗНО женских репродуктивных органов ассоциирован генотип G-197G гена IL-17A [7]. Подобное различие можно объяснить гетерогенностью нашей выборки. Для C-589T полиморфизма IL-4 подтверждена ассоциированность генотипа T-589T у женщин с раком шейки матки (OR = 3.33; p = 0.13). Авторы резюмировали, что у женщин РШМ определены статистически значимые однонуклеотидные полиморфизмы генов цитокинов TNF- α (G-308G), IL-17A (A-197A), IL-4 (T-589T) [2].

Риск РШМ связан с установлением этиологической роли ВПЧ. Специфические вирусные белки E-6 и E-7 выполняют ключевую роль в трансформации клеток шейки матки. Наиболее важным является взаимодействие E-6 с белком p53, с последующей его деградацией. Это оказывает воздействие, аналогичное по эффекту соматическим мутациям p53: вызывает нарушение контроля за прохождением клеточного цикла и сбои в системе восстановления повреждений ДНК, что способствует дестабилизации генома. E-6 также подавляет запрограммированную смерть клетки (апоптоз), выработку интерферона и др. Ключевым для E-7 является взаимодействие с продуктом гена-супрессора RB и высвобождение транскрипционного фактора E2F, регулирующего клеточную пролиферацию. Кроме того, E-7 способствует дестабилизации хромосом и усиливает мутагенное действие химических канцерогенов. Длительный латентный период инфекции, продолжающийся обычно 10-20 лет, и тот факт, что лишь у небольшого числа инфицированных женщин латентная инфекция приводит к развитию рака, указывают на то, что инфекция вирусом папиллом запускает многостадийный процесс, который в значительной степени контролируется различными клеточными факторами. Для развития опухоли требуются дополнительные факторы: иммуносупрессия, курение, контрацептивы, многократные роды.

Работами Дмитриева А.А. (2013 г) для рака легкого, шейки матки и яичников обнаружено более 40 генов, включая известные гены-супрессоры

опухолевого роста, с частотой метилирования и/или делеций выше 15%. Наибольшая частота нарушений во всех 3-х видах рака показана для 10-ти генов: IQSEC1, NKIRAS1, RPL15, ITOA9, LRRC3B, RBSP3 (CTDSPL), GORASP1, TTC21A, THRB и LRRNI. Для 17-ти генов впервые показана вовлеченность в онкогенез. Все эти гены являются потенциальными генами-супрессорами опухолевого роста. Обнаружены гены с высокой частотой нарушений только при одном из трех видов рака: ANKRD28 и KY (рак легкого), PDZRN3 и SOX14 (рак шейки матки), ABTB1 и PODXL2 (рак яичников). Перечисленные гены могут быть использованы для создания специфичных к виду рака наборов маркеров для неинвазивной диагностики.

Взаимосвязь между полиморфизмом генов и различными заболеваниями доказана уже давно. Так, например, связь между группой крови и высоким риском онкологических заболеваний желудочно-кишечного тракта была установлена еще в 50-х гг. XX в. (Billington B.P.). В зарубежных исследованиях подтверждены факты наличия полиморфизма генов при поликистозе яичников, эндометриозе, миоме матки, раке яичников и шейки матки, преждевременном истощении яичников, привычном невынашивании и преэклампсии [Escobar-Morreale H.F., Ferreira P.M., Goswami D., Layman L.C. Levanat S., Modugno F.]

Короленкова Л.И. (2013 г.) считает, что недостаточно изучена генетическая предрасположенность к персистенции ВПЧ и развитию РШМ, но имеются данные об особенностях генотипа больных РШМ, таких как: вставки нуклеотидов в хромосомах 1q, 3q и 20q и утраты в 2q, 3q, 4q, 6q, 11q и 13q, хромосомные аномалии в 3p12, 4q25, 5q15 и q21,18p11, 6q, 3q26; специфические аллели HLA, определенные гаплотипы и полиморфизм генов p53, GSTT1, CYP1A1, и CYP2E1, ИЛ-1 А, ФНО-а, ИЛ-6, ИЛ-10 и Fas, инактивация гена TSLC1. Изучается профиль метилирования генов при CIN и РШМ. Все типы ВПЧ имеют сходную генетическую структуру, их ДНК содержит две группы генов: ранние (E1, E2, E4, E5, E6, E7), кодирующие

функциональные белки, и поздние (L1,L2), кодирующих структурные белки оболочки вириона.

Петренко А. А. [2013 г.] с помощью метода метилчувствительной ПЦР со статистическими GC-богатыми праймерами было выявил 7 GC-богатых фрагментов ДНК длиной от 300 до 1200 пар оснований, пять из которых (более двух третей) обладают свойствами CpG-островков. Из пяти выявленных CpG-островков два оказались непредставленными в опубликованных версиях генома человека: фрагмент 26 был представлен неполностью (отсутствовала область, фланкирующая 5' конец гена /33A-адаптина), фрагмент 22 до сих пор отсутствует в опубликованных базах данных. В работе впервые показано подавление экспрессии мРНК гена f33A-адаптина в клеточных линиях рака шейки матки. Продукт гена /33A-адаптина представляет собой одну из субъединиц адаптерного комплекса AP-3, вовлеченного во внутриклеточный транспорт белков. Показана возможность восстановления экспрессии мРНК (33A-адаптина под действием деметилирующего агента 5-азациитидина, что указывает на связь процессов метилирования и транскрипции гена. Впервые определена нуклеотидная последовательность района, прилегающего к 5' концу гена. Установлены размер первого экзона гена /33A-адаптина и размер CpG-островка, ассоциированного с геном. CpG-островок гена /33A-адаптина включает 5' нетранскрибируемый район гена, первый экзон и начало первого интрона. Теоретическое значение работы заключается в получении новых данных об участии клеточных генов в механизме злокачественной трансформации под действием вирусов папиллом человека.

Гумилевская О.П., и др. [2016 г.] выявили, что особенности рецепции toll-like рецепторами играют важную роль в персистенции вируса ВПЧ и наличие определенных аллельных вариантов полиморфных маркеров A2848G гена TLR 9, Phe-412Leu гена TLR 3 может предрасполагать к неэффективности клиринга от инфекции. Кроме того, уровень синтеза иммуносупрессорного цитокина IL-10, определяемого полиморфизмом G-

1082A гена IL-10 также способен оказать значимое влияние на эффективность иммунного ответа при инфекции ВПЧ. Выявленные ассоциации необходимо учитывать в прогностической диагностике ВПЧ-инфекции.

По мнению Рахманалиева Э.Р. (2004) на сегодняшний день не существует четкой классификации методов картирования: одни авторы относят цитогенетические методы (FISH, PRINS и т.п.) к генетическим методам, другие - к физическим. Однако следует помнить, что по сути все методы являются генетическими, так как конечный результат картирования - получение максимально подробной карты взаимного расположения структурных, функциональных и полиморфных последовательностей генома и определение расстояний между ними.

В публикациях Международного агентства по изучению рака указано, что от 9 до 23% злокачественных новообразований могут быть связаны с вирусами, бактериями и паразитами. Климов Е.А. (2010 г) считает, что наиболее чувствительным методом идентификации ДНК ВПЧ в настоящее время признана ПЦР с типоспецифическими и видоспецифическими праймерами, позволяющая выявлять последовательности вируса в геноме клеток опухолей шейки матки в 95-100% случаев [45]. В настоящее время идентифицировано более 100 типов ВПЧ, подробно описаны более 70 типов, твердо установлен факт, что определенные типы ВПЧ могут инфицировать строго определенный вид эпителия и вызывать характерные изменения. Выявление многовариантности генотипов ВПЧ и идентификация специфических генотипов, а также накопление данных о злокачественной трансформации генитальных кондилом позволили рассматривать папилломавирус как возможный этиологический фактор развития РШМ [53].

Из всех идентифицированных типов вирусов папилломы 34 ассоциированы с поражением аногенитальной области. Детальный анализ молекулы ДНК ВПЧ стал возможен после разработки методики расщепления ДНК с использованием рестрицирующих эндонуклеаз и анализа этих

фрагментов с помощью гель-электрофореза. Данный метод позволил определить характерные карты рестрикции ДНК и создать физическую карту расположения сайтов рестрикции в геноме различных папиллома-вирусов [34]. Клеточные линии, полученные из опухолевой ткани шейки матки, позволили проводить сравнительный анализ линий и опухолей на персистенцию вирусной ДНК, функцию и экспрессию генов вируса [34]. Было показано, что в клетках РШМ геном вируса активно транскрибируется [67].

Известные типы папилломавирусов человека сходны по своей генетической структуре. Генетический материал вируса представлен кольцевой двухцепочечной молекулой ДНК длиной около 7200-8000 пар оснований. Одна нить ДНК содержит восемь открытых рамок считывания, которые кодируют восемь протеинов, и регуляторный участок генома (URR - upstream regulatory region). Другая нить ДНК некодирующая. Для собственной репликации вирус использует клеточные белки [56]. Регуляторный участок генома (около 1 т.п.н.) содержит область вирусного промотора, локус репликации, энхансерные элементы, сайты связывания для вирусного белка E2 и клеточных факторов транскрипции. В URR также содержатся сайты связывания для рецепторов прогестерона и глюкокортикоидных гормонов, увеличивающих транскрипцию в 2-3 раза [7].

Волгаревой Г.М., и др. (2007 г) исследована экспрессия одного из интерферонрегулируемых генов (STAT1) в опухолях шейки матки и в клеточных линиях, содержащих геном ВПЧ) из группы высокого риска. В инвазивных карциномах шейки матки транскрипция этого гена поддерживается на определенном уровне, который существенно не отличается от такового в прилегающей нормальной ткани. Установлено, что уровень экспрессии гена STAT1 специфичен для каждой опухоли и обусловлен гетерогенностью опухолевой популяции. Отмечено, что статус генома вируса (эписомальный или интегрированный), по-видимому, не влияет на транскрипцию гена STAT1. Анализ экспрессии гена STAT1

свидетельствует в пользу того, что она носит индивидуальный и специфический характер для каждой опухоли шейки матки, содержащей HPV, и клеточных культур, несущих трансформирующие гены этих вирусов.

Цитохром P450 CYP1A1 представляет собой ксенобиотик фазы 1, метаболизирующий фермент, участвующий в метаболизме токсинов, эндогенных гормонов и фармацевтических препаратов. Поэтому возможно, что полиморфизм гена CYP1A1, продуцирующий функциональные изменения в ферменте, может быть восприимчивым фактором в канцерогенезе шейки матки. Целью исследования Jain V. и др. (2017 г) было изучение ассоциации полиморфизмов генов CYP1A1m1 (T>C) и m2 (A>G) в популяции Чхаттисгарха (Индия). В этом случай-контрольном исследовании авторы проанализировали ДНК лейкоцитов из общего числа 200 испытуемых формы Chhattisgarh (100 случаев и 100 контрольных). Все испытуемые были генотипированы для CYP1A1m1 (T>C) и M2 (a>Г) с использованием ПЦР-ПДРФ. Среди двух вариантов генов rs4646903 (T>C) и rs1048943 (A>G) лица с генотипами AG и GG полиморфизма CYP1A1m2 имеют достоверно более высокий и повышенный риск развития цервикального рака (OR=2,0, 95% ДИ=1,04-3,84, p=0,035; OR=62,9, 95% ДИ=3,72-1063,83, p=0,004 соответственно), а ассоциация полиморфизма CYP1A1m1 не выявила достоверной связи с больными РШМ (p=0,23). Аллель " G " показал сильную ассоциацию с болезнью (p<0,0001). Таким образом, полиморфизм CYP1A1m2 показал повышенный риск РШМ. Это исследование показало, что наличие аллеля ' C ' rs4646903 (T>C) не указывает на риск, а аллель ' G ' rs1048943 (A>G) может быть ведущим аллелем, вызывающим повышенную восприимчивость к РШМ из-за значительной ассоциации полиморфизма гена CYP1A1m2.

Цель исследования Gong J.M. и др. (2018 г) состояла в том, чтобы проиллюстрировать взаимосвязь между полиморфизмами метилен тетрагидрофолат редуктазы (MTHFR) или метионинсинтазы редуктазы (MTRR) и РШМ. Было исследовано 372 женщины, которым провели

генетическую оценку и уровень фолиевой кислоты. Для MTHFR C677T не было выявлено достоверных различий в распределении аллелей с и т в трех группах. Однако мутантный с-аллель MTHFR A1298C был достоверно выше в группе рака, чем в нормальной группе. Аналогично, мутантный G-аллель MTRR A66G также был выше, чем в нормальной группе. Уровень фолиевой кислоты в сыворотке крови постепенно снижался по мере развития поражения шейки матки. Уровни сывороточного фолата в 4-9 нг/мл и ≤ 4 нг/мл были достоверно связаны с риском развития РШМ. Однако полиморфизм MTHFR C677T не был связан с риском развития РШМ или CIN. Напротив, полиморфизм MTHFR A1298C может увеличить риск развития, как РШМ матки, так и CIN. Кроме того, полиморфизм MTRR A66G был связан только с риском развития РШМ, но не CIN.

Рак шейки матки является основной проблемой репродуктивного здоровья женщин, вызванной персистирующей инфекцией вируса папилломы человека высокого риска (HR-HPV). Металлопротеиназа-2 (ММП-2) является эндопептидазой, высоко экспрессируемой при раке шейки матки; однако генетическая связь между aberrантной экспрессией ММП-2 и канцерогенезом шейки матки неизвестна. Генотипическое распределение, характер экспрессии ММП-2 и ВПЧ-инфекции были проанализированы Singh N. И др. (2016 г.) в общей сложности в 300 свежих хирургически резецированных биоптатах ткани шейки матки. Доминантная модель промоторного полиморфизма ММП-2 C1306T (rs243865) (CC v/s CT + CT + TT) выявила, что генотип CC имеет в 4,33 раза достоверно повышенный риск развития РШМ (OR = 4,33; 95% CI = 2,36-4,02, p = 0,0001) по сравнению с генотипами вариантов (-1306 CT + TT). Аллель с ассоциировался с 3-кратным достоверным повышением риска (OR = 2,95; 95% ДИ = 1,90-4,60, p=0,0002) по сравнению с аллелем Т. Интересно, что была обнаружена достоверная корреляция между высокой экспрессией белка ММП-2 и генотипом CC у больных раком (p=0,001) по сравнению с нормальным контролем (p=0,012). Дальнейший анализ показал, что риск развития рака

был крайне выражен у ВПЧ-положительных пациентов (ОР = 9,33; 95% ДИ = 2,88-30,20, $p=0,0001$) по сравнению с ВПЧ-негативными, что свидетельствует о возможном взаимодействии генотипа-1306СС и ВПЧ-инфекции в повышении риска развития рака ($p=0,0001$). Выводы из настоящего исследования свидетельствуют о защитной роли варианта гена-1306С>Т в промоторной области ММП-2 против ВПЧ-опосредованного рака шейки матки. Полученные данные подтверждают функциональную роль полиморфизма ММП-2 С1306Т в значительном снижении регуляции белка ММП-2 у женщин с вариантным генотипом (СТ/ТТ) по сравнению с нормальным диким генотипом СС.

Ху Х.Л. и др. (2013 г) провели мета-анализ, исследующий ассоциацию полиморфизма МТНFR С677Т и предрасположенности к РШМ. Все исследования случай-контроль, опубликованные на английском и китайском языках с оценками взаимосвязи между полиморфизмом МТНFR С677Т и риском развития РШМ, были проанализированы с использованием отношения шансов (ОШ) с 95% доверительным интервалом (ДИ). Всего в метаанализ было включено 10 исследований (2023 случая и 2570 контрольных случаев). Не было отмечено достоверной ассоциации между аллелями Т и С (ОШ = 0,90; 95 %ДИ = 0,70-1,17; $p=0,43$), а также для генотипа ТТ по сравнению с СС (ОШ = 1,09; 95 %ДИ = 0,74-1,61; $p = 0,67$), КТ по сравнению с КК (ОШ = 0,95; 95% Ди = 0,75-1,20; $p= 0,65$), КТ + ТТ по сравнению с КК (ОШ = 0,91; 95% ДИ = 0,66-1,24; $p = 0,55$). Текущие результаты мета-анализа позволяют предположить, что полиморфизм МТНFR С677Т может быть не связан с РШМ.

Toll-подобный рецептор 9 (TLR9) играет ключевую роль в элиминации вирусных патогенов путем распознавания их CpG-ДНК. Полиморфизмы в гене TLR9 могут влиять на их распознавание и последующую элиминацию. Исследование Chauhan A. и др. (2018 г) было направлено на выяснение роли редкого неисследованного полиморфизма гена TLR9 С296Т/ Pro99Leu (rs5743844) в предрасположенности индийских женщин к РШМ.

Генотипирование полиморфизма TLR9 Pro99Leu у 110 больных РШМ и 141 здоровых контрольных больных проводили методом ПЦР и полиморфизма длины рестрикционного фрагмента (PCR-RFLP). Частота генотипов, выявленных как в популяции РШМ, так и в контрольной популяции, составила 1,0 (CC), 0,0 (CT) и 0,0 (TT), а частота аллелей-1,0 (C) и 0,0 (T). Авторы резюмировали, что настоящее исследование демонстрирует отсутствие вовлечения полиморфизма TLR9C296T/ Pro99Leu в предрасположенность к РШМ и поддерживает незначительную частоту аллелей (MAF) (0,0002), поскольку ни у одного из исследуемых пациентов не было обнаружено нуклеотидных вариаций.

Предыдущие исследования показали, что полиморфизм CTLA4 (rs5742909) связан с предрасположенностью к РШМ. Ху Н.В. и др. (2014 г) провели мета-анализ, чтобы систематически суммировать возможную ассоциацию между rs5742909 и риском развития РШМ. Был проведен поиск исследований случай-контроль по ассоциациям rs5742909 с предрасположенностью к РШМ в PubMed, EMBASE, ISI Web of Science, Cochrane Central Register of Controlled Trials, базе данных Wanfang Китая. Ассоциацию риска развития РШМ с rs5742909 оценивали с помощью Объединенных коэффициентов шансов (ORs) и 95% ДИ. Результаты показали, что частота Т-аллеля (OR = 1,63, 95% ДИ 1,06-2,50; p=0,03) и распределение генотипов (ТТ + СТ) (OR = 1,72, 95% ДИ 1,07-2,77; p = 0,03) rs5742909 ассоциированы с риском развития РШМ.

Лизилоксидаза (LOX) – это медьзависимая аминоксидаза, которая играет важную роль в гомеостазе опухолей. Целью исследования Ву М. и др. (2014) было изучение связи между полиморфизмами LOX и РШМ, а также влияние этих полиморфизмов на экспрессию генов. Оценены два полиморфизма LOX, rs1800449G/A (G473A) и rs2278226C/G, в 262 случаях РШМ и 298 здоровых в контроле. Результаты показали, что распространенность генотипа rs1800449AA была достоверно выше в случаях, чем в контроле (p=0,004). У лиц, носивших аллель rs1800449A, риск развития

РШМ был в 1,56 раза выше, чем у лиц с аллелем rs1800449G ($P=0,003$). Генотип rs2278226CG также выявил значительно более высокую долю случаев (20,6%), чем в контроле (7,7%, $p<0,001$). Интересно, что при анализе этих двух полиморфизмов с сывороточным уровнем LOX выявлено, что у больных РШМ, носящих генотип rs2278226CG, уровень LOX был значительно выше, чем у больных с диким типом rs2278226CC, тогда как в контроле такого же явления не наблюдалось. Полиморфизм rs1800449 не влиял на уровень LOX в сыворотке крови ни в контроле, ни у пациентов. Эти результаты позволяют предположить, что полиморфизмы в гене LOX могут быть вовлечены в развитие РШМ через различные механизмы.

Для оценки связи между полиморфизмом в области промотора интерлейкина (IL)-10 1082 Г/А и риском развития РШМ и цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) Zhang S. и др. (2014 г) использовали мета-анализ. Поиск соответствующих исследований проводился в базах данных электронной литературы PubMed®, Embase® и Web of Science. Прочность связи между полиморфизмом IL-10 -1082 гена и РШМ был изучен в 4-х генетических моделях: модель аллелей (аллель против аллеля G); аддитивные модели (A/A по сравнению с G/G); рецессивная модель (a/a по сравнению с G/A + G/G); доминантная модель (A/B+ G/A против G/G). Было выявлено и включено в метаанализ 8 исследований, включающих 1983 случая заболевания и 1618 контрольных случаев. Ни в одной из генетических моделей не было обнаружено значимых ассоциаций между полиморфизмом гена IL-10 -1082 G/A и РШМ и/или CIN. Следовательно, полиморфизм гена IL-10 -1082 G/A, по-видимому, не связан с риском развития РШМ и/или CIN.

Целью исследования Li S. и др. (2016 г) было изучение связи между полиморфизмом гена CYP1A1 и риском развития РШМ, а также влияние взаимодействия SNP-SNP на риск развития РШМ у китайских женщин. Всего было отобрано 728 женщин со средним возрастом $60,1 \pm 14,5$ лет, в том числе 360 больных РШМ и 368 нормальных контрольных групп. Для изучения связи между однонуклеотидными полиморфизмами (SNP) и риском развития

РШМ была проведена логистическая регрессия. Для анализа взаимодействия SNP-SNP была использована обобщенная многофакторная редукция размерности (GMDR). Логистический анализ показал значимую связь между rs4646903 и повышенным риском развития РШМ. Носители гомозиготного мутанта полиморфизма rs4646903 выявили повышенный риск развития РШМ, чем носители гомозигот дикого типа, или (95%Ди) составили 1,45 (1,20-1,95). Была обнаружена значимая модель с двумя локусами ($p=0,0107$), включающая rs4646903 и rs1048943, что указывает на потенциальное взаимодействие SNP-SNP между rs4646903 и rs1048943. В целом, модели с двумя локусами имели согласованность перекрестной валидации 10 из 10 и точность тестирования 60,72%. Пациенты с ТК или СС генотипа rs4646903 и АГ или GG генотипа rs1048943 имеют самый высокий риск развития РШМ, по сравнению с пациентами с ТТ генотипа rs4646903 и АА генотипа rs1048943, или (95%ДИ) составил 2,03 (1,42-2,89). Были сделаны выводы, что минорные аллели rs4646903 и взаимодействие между rs4646903 и rs1048943 были связаны с повышенным риском развития РШМ.

Pu X. и др. (2016 г) изучили ассоциацию между полиморфизмом гена IL-6 и риском развития РШМ, а также влияние множественного взаимодействия генов на риск развития РШМ на основе китайской популяции Хань. Всего было отобрано 1088 женщин, в том числе 360 больных РШМ и 728 контрольных субъектов. Модель логистической регрессии была использована для изучения связи между SNPs в пределах IL-6 и риском развития РШМ. Рассчитывали отношение шансов (ОШ) и 95% ДИ. Для анализа взаимодействия ген-ген была использована обобщенная многофакторная редукция размерности (GMDR). Риск развития РШМ был достоверно выше у носителей аллеля С полиморфизма rs1800795, чем у носителей генотипа GG (GC+CC против GG), скорректированного или (95% ДИ) 1,60 (1,24-2,19), а также достоверно выше у носителей аллеля G полиморфизма rs2069837, чем у носителей генотипа АА (AG+GG против АА), скорректированного или (95% Ди) 1,49 (1,19-2,07). Анализ GMDR

выявил значимое ген-генное взаимодействие между rs1800795 и rs2069837 ($p=0,0010$). В целом, модели с двумя локусами имели согласованность перекрестной валидации 10 из 10 и точность тестирования 61,72%. Было также рассчитано отношение шансов и 95 % ДИ для этого взаимодействия, и обнаружено, что субъекты с GC или CC rs1800795 и AG или GG генотипа rs2069837 имеют самый высокий риск РШМ, по сравнению с субъектами с GG rs1800795 и AA генотипа rs2069837, или (95% ДИ) 3,35 (2,01-4,78). Минорные аллели rs1800795 и rs2069837 и его взаимодействие были связаны с повышенным риском развития РШМ.

Грицко Т.М. (2000 г) результате исследования и в опухолевых и в прилегающих нормальных тканях шейки матки были выявлены последовательности ВПЧ тип 16 и/или 18. Вирусная ДНК в опухолевых тканях персистировала как в эписомальной, так и в интегративной формах. Интеграция ВПЧ тип 16 происходила неспецифично, в разные участки клеточного генома. Ими впервые показано, что в некоторых опухолях интегрированная вирусная ДНК не экспрессировалась. При исследовании клеточных последовательностей в сайтах интеграции оказалось, что они являются транскрипционно активными как в опухолевых, так и в нормальных тканях шейки матки.

Кононова И.Н. (2017 г) отмечают, что частота встречаемости цервикальных интраэпителиальных неоплазий выросла за 15 лет в 2 раза и составила в 2000-2004гг. - 44,4, в 2005-2009гг. -54,26, в 2010-2014гг. - 86,42 на 100 тысяч женского населения старше 14 лет. В структуре цервикальных интраэпителиальных неоплазий превалирование высокой степени поражения в 2000-2004гг. и 2005-2009гг. (67,57% и 64,89%, соответственно) сменилось достоверным снижением данного показателя до 49,69% в 2010-2014гг. Возникновение и прогрессирование цервикальных интраэпителиальных неоплазий происходит на фоне вагинального анаэробного дисбиоза, генетически детерминированных локальных иммунных дисфункций, где ВПЧ является определяющим фактором. Прогностически значимой для ВПЧ-

ассоциированной интраэпителиальной неоплазии шейки матки I степени является сочетанная персистенция 16, 31, 44 генотипов с высокой вирусной нагрузкой, для цервикальной интраэпителиальной неоплазии II степени - 16, 33, 58 генотипов, для цервикальной интраэпителиальной неоплазии III степени - 16, 18, 31, 44 генотипов ВПЧ. Комплексный персонифицированный подход к терапии ВПЧ-ассоциированных цервикальных интраэпителиальных неоплазий с учетом стратификационного прогнозирования развития заболевания способствует клиническому выздоровлению у 97,2% пациенток, элиминации ВПЧ у 92,4% пациенток, позволяет достичь эффективности лечения без применения деструктивных методов у 63,7% пациенток с ВПЧ-ассоциированными цервикальными интраэпителиальными неоплазиями I степени, приводит к снижению рецидивирования цервикальных интраэпителиальных неоплазий в 4 раза, постдеструктивных патологических процессов – в 5,4 раза.

При исследовании генетического полиморфизма ферментов метаболизма эстрогенов у женщин, больных, как саркомой тела матки, так и миомой тела матки, в отличие от здоровых женщин, Барковым Е.С. (2008) выявлено достоверное снижение частоты встречаемости мутантного аллеля сульфотрансферазы (SULT1A1). В опухолевых тканях саркомы и миомы матки регистрируется существенное усиление экспрессии гена ERα в постменопаузе при отсутствии изменений или уменьшении экспрессии в пременопаузе.

С использованием чувствительного метода гибридизации ДНК на МоИ-микрочипах и разработанного программного обеспечения Дмитриев А.А. впервые оценил частоту нарушений 188-ми генов хромосомы 3 в опухолях легкого, шейки матки и яичников. Для каждого вида рака выявили более 40 генов с частотой метилирования и/или делеций выше 15%. Среди них есть как известные гены-супрессоры опухолевого роста, так и гены, для которых вовлеченность в онкогенез показана впервые. Полученные результаты выборочно подтвердили методом бисульфитного

секвенирования. Показано, что метилирование и/или делеции вносят значительный вклад в снижение экспрессии двух известных генов-супрессоров опухолевого роста, 1Т0А9 и КВБРЗ, при раке легкого и шейки матки. Впервые обнаружили общие и специфичные нарушения для трех видов рака, а также в группах опухолей с различными гистологическими и патологическими характеристиками для каждого из видов рака. Выявленные нарушения позволили построить оригинальные предсказательные модели и предложить наборы генов для определения каждого из трех видов рака, а также гистологических и патологических характеристик опухоли.

Брага Э.А. (2007 г) исследовал роль метилирования в изменении активности TSG RASSF1A и SEMA3B и онкогенов RHOA и MST1R/RON в эпителиальных опухолях некоторых локализаций, а также изучена связь метилирования TSG RASSF1A и SEMA3B с профессией определенных опухолей, что позволило наметить пути применения этих тестов в клинической онкологии. Установлено распределение ди-, три- и тетрануклеотидных микросателлитов в 150 NotI-связующих и -прыжковых клонированных фрагментах ДНК хромосомы 3 и в 22 космидных ДНК из района LUCA (3p21.31), а также в клонированных фрагментах ДНК упорядоченной космидной клонотекы хромосомы 13. Определены нуклеотидные последовательности фрагментов ДНК (до 33 т.п.н.), содержащих микросателлиты. Исследован полиморфизм 15 локусов микросателлитов и идентифицированы 7 полиморфных и 8 STS-маркеров. Проведен анализ аллельных дисбалансов на коротком плече хромосомы 3 (3p) в 5-ти видах эпителиальных опухолей (почки, легкого, молочной железы, яичников и шейки матки) с применением идентичного набора полиморфных микросателлитных маркеров. Эти 5 видов опухолей характеризуются высокой частотой случаев с аллельными дисбалансами в маркерах 3p. Преобладание множественных внутренних делеций может указывать на присутствие нескольких генов-супрессоров опухолевого роста (TSG). Показано частое снижение уровня мРНК 6-ти генов 3p

(RBSP3/HYA22, RASSF1A, SEMA3B, GPX1, DAG1 и W91914) в клетках опухолей. В 4-х из этих генов (RBSP3/HYA22, RASSF1A, SEMA3B и GPX1) выявлены структурные дефекты, которые могут снижать содержание мРНК или приводить к образованию неактивного белкового продукта. Анализ метилирования промоторных областей генов RASSF1A и SEMA3B можно использовать для разработки новых эпигенетических маркеров и их применения в комплексной диагностике злокачественных новообразований.

Ранее были идентифицированы однонуклеотидные полиморфизмы (SNPs) rs7958904 и rs4759314 в длинных некодирующих РНК НОХ-транскрипта антисмысловой РНК (HOTAIR), достоверно ассоциированные с риском развития колоректального и желудочного рака соответственно. Jin H. и др. исследовали связь между SNPs HOTAIR и восприимчивостью к РШМ. В общей сложности 1209 случаев и 1348 контрольных были включены в исследование Ассоциации и генотипированы с помощью метода аллельной дискриминации TaqMan. База данных Cancer Genome Atlas (TCGA) была использована для анализа *in vivo* аллель-специфической экспрессии HOTAIR. Для оценки аллель-специфической клеточной пролиферации использовали МТТ-анализ. Генотип rs7958904 CC был связан с повышенным риском развития РШМ по сравнению с генотипами GG/GC (OR = 1,57, 95% ДИ = 1,10-2,25). База данных TCGA показала, что ткани с генотипом rs7958904 CC имели более высокую экспрессию HOTAIR, чем ткани с генотипом GG (p=0,046). Тест показал рост rs7958904 аллеля. В заключение следует отметить, что HOTAIR rs7958904 может влиять на восприимчивость РШМ через модуляцию пролиферации клеток и может служить диагностическим биомаркером.

1.2 Роль ферментов глутатион S-трансферазы (GST) в генезе злокачественных опухолей человека

До недавнего времени основной изученной функцией глутатион S-трансферазы (GST) считалась детоксикационная, именно она обуславливает

парадоксальный феномен лекарственной устойчивости, изучение механизмов которого является актуальной проблемой. Еще одна весьма значимая функция GST – это двойная роль в защите от окислительного стресса.

В последние годы выявлен целый ряд новых и крайне важных функций: выяснено, что GST являются участниками регулирования сложнейших процессов клеточного цикла, сигнализации и апоптоза, контроля энергетического баланса клетки, а также вовлечены в биосинтез лейкотриенов, простагландинов, тестостерона, прогестерона и в деградацию тирозина []. Многообразие и фундаментальность функций GST в клетке явились основой для исследований этих ферментов при патологических состояниях организма человека.

В последнее время были опубликованы результаты многочисленных работ, выполненных при помощи мета-анализа и посвященных изучению влияния GST (и прежде всего полиморфизмов ее генов) на предрасположенность к различным онкологическим заболеваниям. Результаты этих исследований нельзя назвать однозначными.

Выяснено, что для различных видов онкологических заболеваний наличие полиморфизма в генах GST является сильным и однозначным фактором риска только для возникновения рака мочевого пузыря. Однако, имеются публикации, указывающие на имеющийся, но существенно меньший риск возникновения онкологической патологии при колоректальном раке, лейкозе, неходжжкинской лимфоме, раке шейки матки.

Ферменты глутатион S-трансферазы (GST) отвечают за клеточную детоксикацию многих канцерогенов и являются важными противоопухолевыми элементами. В исследовании Klusek J. и др. оценивалась потенциальная взаимосвязь между полиморфизмами GSTM1, GSTT1 и GSTP1 и риском развития колоректального рака (КРР) у польских некурящих людей. В исследование были включены 197 пациентов с КРР и 104 здоровых человека из контрольной группы. Полиморфизмы GSTM1, GSTT1 и GSTP1 оценивали с помощью qPCR. Частоты полиморфизма,

наблюдаемые в контрольной группе, соответствовали таковым в других европейских популяциях. Генотипы GSTM1, null и GSTT1 null наблюдались с одинаковой частотой как у пациентов с КРР, так и в контроле (GSTM1, null: 46,7% против 45,2%; GSTT1 null: 15,7% против 20,2%). Частота генотипов GSTP1 Ile/Ile, Ile/Val и Val/Val составила соответственно 42,1%, 48,2% и 9,6% у пациентов и 48,1%, 42,3% и 9,6% в контроле. Полиморфизм GSTT1 коррелировал с более высокой степенью злокачественности опухоли у больных КРР, а генотип GSTM1, null/null был связан с более частым метастазированием в лимфатические узлы (классификация pN). Эти результаты показывают, что полиморфизм гена GST может влиять на степень и стадию опухоли КРР.

Инфицирование вирусом папилломы человека (ВПЧ) является основной причиной РШМ, однако у ряда инфицированных женщин не развиваются инвазивные поражения, что свидетельствует о том, что сама по себе ВПЧ-инфекция не является достаточным фактором и что другие кофакторы, такие как курение, играют важную роль в развитии РШМ. Наряду с активным курением сигарет, пассивное курение является независимым фактором риска развития РШМ. Курение дольше поддерживает цервикальную ВПЧ-инфекцию и снижает потенциал очищения от онкогенной инфекции. Таким образом, вполне возможно, что полиморфизм в детоксицирующих ферментных кодирующих локусах, таких как GSTM1, GSTT1 и GSTP1, может определять предрасположенность к раку шейки матки. В исследовании Sobti R.C., 2006 г. оцениваются комбинированные эффекты генетических полиморфизмов GSTM1, GSTT1 и GSTP1 на предрасположенность к цервикальному раку и взаимодействие этих генов с курением. При индивидуальном анализе генотипов GSTM1, GSTT1 и GSTP1 было отмечено, что пассивные курильщики, имеющие генотипы GSTM1 (null) (OR = 7,0, 95% ДИ = 2,19-22,36, p=0,0005), GSTT1 (null) (OR = 10,2, 95% ДИ = 1,23-84,18, P = 0,02) и GSTP1 (ile/val) (OR = 6,4, 95% ДИ = 2,25-18,38, p=0,0005), имеют повышенный уровень риск развития РШМ. Таким

образом, сделан вывод о том, что риск развития РШМ повышен у пассивных курильщиков с генотипами GSTM1 (null), GSTT1 (null) и GSTP1(ile/val).

Kiran B и др. (2010 г.) исследовали роль ферментов и полиморфизмов глутатион S-трансферазы M1 (GSTM1), глутатион S-трансферазы T1 (GSTT1) и глутатион S-трансферазы P1 (GSTP1), которые обнаруживаются в реакциях детоксикации II фазы в развитии РШМ. Это исследование было проведено с 46 пациентами с диагнозом РШМ и 52 людьми без онкологического анамнеза. Для оценки полиморфизма генов GSTM1 и GSTT1 использовали методы мультиплексной ПЦР и ПЦР-РФЛП. Больные и контрольные группы сравнивались с помощью критерия Хи-Квадрат при $p < 0,05$. В группе пациентов статистическая значимость определялась для степени тяжести ($p = 0,03$), паритета ($p = 0,01$) и количества живых детей ($p = 0,01$) по сравнению с контрольной группой. Оценивали частоту генов полиморфизмов GSTM1, GSTT1 и GSTP1. Показано, что частота нулевых генотипов GSTM1 и GSTT1 составила 54,3% и 32,6% соответственно, в то время как частота генотипов GSTP1 (Ile/Val), (Ile/Ile), (Val/Val) составила 52%, 44% и 4% соответственно у больных РШМ. Статистически значимых различий между группами по полиморфизмам GSTM1, GSTT1 и GSTP1 не выявлено ($p > 0,05$). Авторы заключили, что полиморфизмы GSTT1, GSTM1 и GSTP1 не ассоциированы с РШМ у турецких пациентов.

Palma S. и др. (2010 г) постарались выяснить, могут ли некоторые полиморфизмы GST влиять на риск развития РШМ, как сами по себе, так и в сочетании с привычкой к курению, в когорте инфицированных ВПЧ высокого риска (HR-HPV) итальянских женщин. Исследуемая популяция состояла из 192 итальянских женщин, включая 81 женщину, инфицированную HR-ВПЧ, с поражением шейки матки и 111 здоровых контрольных групп. Эти случаи включали в себя: 26 низкодифференцированных плоскоклеточных интраэпителиальных поражений (Lsil), 30 высокодифференцированных SIL и 25 РШМ, в то время как контрольные группы были все отрицательны на ВПЧ. ДНК

экстрагировали из образцов периферической крови и проводили генотипирование по полиморфизмам GSTM1, GSTT1 и GSTP1 с использованием методов ПЦР и ПЦР/РФЛП. При изучении ассоциации полиморфизмов гена GSTs с поражением раком шейки матки сочетание генотипов GSTM1 null, GSTT1 null и GSTP1 AA, независимо от привычки к курению, было связано с 5,7-кратным повышением риска развития РШМ со значительной статистической значимостью ($p=0,0091$).

Глутатион-S-трансферазы (GSTs) представляют собой класс ферментов, которые детоксицируют канцерогенные соединения путем конъюгирования глутатиона для облегчения их удаления. Полиморфизмы в генах GSTM1, GSTT1 и GSTP1 были связаны с риском развития рака мочевого пузыря. Исследования, посвященные взаимосвязи вариантов генов GSTs с риском развития рака мочевого пузыря, дали противоречивые результаты. Safarinejad M.R. и др. (2013 г) изучили связь между генетическим полиморфизмом генов глутатион S-трансферазы P1, GSTM1, GSTT1 и развитием переходно-клеточного рака мочевого пузыря ($n=166$). Генотипирование проводили с использованием метода ПЦР, а также исследовали комбинированные взаимодействия генов. Генотип GSTP1 Val/Val был достоверно ассоциирован с раком мочевого пузыря (OR = 4,32, 95% ДИ: 2,64-6,34), тогда как ассоциация, наблюдаемая для GSTM1 null (OR = 1,32, 95% ДИ: 0,82-2,62; $p = 0,67$) и GSTT1 null (OR = 1,18, 95% ДИ: 0,79-1,67; $p=0,74$), не достигала статистической значимости. Было обнаружено значительное множественное взаимодействие между генотипами GSTM1, GSTT1 и GSTP1 в риске развития рака мочевого пузыря ($p=0,02$). Риск, связанный с одновременным наличием GSTM1 позитивного и GSTP1 Ile/Val или Val/Val (OR = 3,71, 95% ДИ: 2,34-5,54) и gstt1 позитивного и GSTP1 Ile/Val или Val/Val (OR = 2,66, 95% ДИ: 1,54-4,72), был статистически значимым. Пациенты с генотипом GSTP1 Val / Val имели повышенный риск развития высокодифференцированного (OR = 7,68, 95% ДИ: 4,73-19,25) и мышечно-инвазивного (OR = 10,67, 95% ДИ: 6,34-21,75) рака мочевого

пузыря. Высокий риск развития рака мочевого пузыря также наблюдался в отношении комбинированного варианта генотипа GSTT1 null/GSTP1 Ile/Val или Val/Val (OR = 4,76, 95% ДИ: 2,68-18,72) и gstm1 null/GSTT1 null/GSTP1 Ile/Val или Val/Val (OR = 6,42, 95% ДИ: 4,76-14,72). Это исследование предполагает, что полиморфизм GSTP1 и его сочетание с GSTM1 и GSTT1 могут быть связаны с предрасположенностью к раку мочевого пузыря в иранской популяции.

Глутатион S-трансферазы (GSTs) являются основным детоксицирующим ферментом фазы II для устранения электрофильных соединений. Было обнаружено, что мутации в GSTM1, GSTP1 и GSTT1 у кавказцев и GSTA1 у китайцев снижают активность фермента. Однако данные о влиянии общих генетических полиморфизмов GSTM1 и GSTP1 на активность ферментов у китайцев отсутствуют. Zhong S.L. и др. изучили влияние общих полиморфизмов GSTP1 и GSTM1 на активность GST эритроцитов у здоровых китайцев (n=196). GSTM1 нулевая мутация (GSTM1*0) были проанализированы с помощью мультиплексной ПЦР, а GSTP1 313a-->G полиморфизма (в результате Ile105Val на кодона 105) анализировали с помощью ПЦР-полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Активность GST эритроцитов измеряли с использованием 1-хлор-2,4-динитро-безена в качестве модельного субстрата. Частота нулевого генотипа GSTM1 составила 54,3%, а частота генотипов GSTP1-Ile/Ile, -Ile/Val и -Val/Val-60,7%, 35,2% и 4,1% соответственно, с частотой 21,7% для аллеля 105 валина. Возраст, пол и курение не оказывали существенного влияния на активность GST эритроцитов. Средняя активность фермента GST эритроцитов для группы генотипов GSTP1* - Ile/Val ($3,53 \pm 0,63$ U/gHb) был значительно ниже, чем у испытуемых с генотипом GSTP1-Ile/Ile ($4,25 \pm 1,07$ U/gHb, $P = 0,004$), в то время как субъекты с генотипом GSTP1-Val/Val имели самую низкую активность фермента ($2,44 \pm 0,67$ U/gHb). Кроме того, активность GST у носителей GSTM1*0/GSTP1-Ile/Ile была значительно выше, чем у лиц, унаследовавших GSTM1*0/GSTP1-Ile/Val

или GSTM1*0/GSTP1-Val/Val. Однако не было никакой связи между нулевой мутацией GSTM1 и снижением активности фермента. Мутация GSTP1 кодона 105 привела к снижению активности GST эритроцитов у китайцев. Комбинированные нулевые мутации GSTP1 и GSTM1 также приводили к значительному снижению активности GST.

Некоторые формы химиолучевой терапии генерируют токсичные активные формы кислорода, которые могут быть улучшены антиоксидантными ферментами, такими как глутатион S-трансфераза (GST). Генетические полиморфизмы GST могут предсказывать результаты лечения и могут быть использованы в качестве генетического маркера для скрининга пациентов до начала лечения. Abbas M., и др. (2018 г) выдвинули гипотезу о влиянии полиморфизмов GST на реакцию и токсичность, вызванные химиолучевой терапией. Полиморфизм GST определяли методом мультиплексной ПЦР и полиморфизма длины фрагмента ПЦР-рестрикции (PCR-RFLP) у 227 женщин РШМ, получавших химиолучевую терапию на основе цисплатина. Реакция на лечение и токсичность оценивались по стандартным международно признанным критериям (RECIST и RTOG). Тяжелые (3-4-я степень) желудочно-кишечные и гематологические осложнения имелись у 22 (9,4%) и 16 (7,0%) пациентов, соответственно. При анализе одного локуса GSTP1 AG и GG были связаны с наибольшим риском тяжелой (3-4-й степени) желудочно-кишечной токсичности (OR = 3,12, p=0,035 и OR = 6,99, p=0,01 соответственно). При анализе ген-генного взаимодействия GSTM1 null-GSTP1 GG показал в 4,2 раза более высокий риск тяжелой желудочно-кишечной токсичности (p=0,014). GSTT1 null-GSTP1 AG достиг статистической значимости с 3,9-кратным повышением риска высокой степени желудочно-кишечной токсичности (p=0,038). Несмотря на отсутствие значимых связей между полиморфизмом GST и ответом на лечение, нулевые генотипы GSTM1, GSTT1 и 'G' аллель GSTP1 приводят к более высокому риску тяжелой желудочно-кишечной токсичности вследствие химиолучевой терапии при РШМ.

Сопутствующая химиолучевая терапия (ХТ) на основе цисплатина является стандартным методом лечения местнораспространенного рака шейки матки (РШМ). Глутатион S-трансфераза (GST), антиоксидантный фермент II фазы, индуцируется окислительным стрессом, генерируемым лекарственными средствами и реактивными окислителями. Abbas M., (2015 г) оценили связи полиморфизмов GSTM1, T1 и P1 с исходом лечения у пациентов с РШМ. В общей сложности 227 больных РШМ с IIВ-IIIВ стадиями, получавших одинаковую схему химиолучевой терапии, были включены в исследование и генотипированы по полиморфизмам генов GSTM1, T1 и P1. Стратифицированный анализ показал, что нулевой (M1-) генотип GSTM1 ассоциирован со значительно лучшей выживаемостью среди пациентов РШМ IIВ стадии (log-rank $p=0,004$), чем у пациентов с IIIА/IIIВ стадией. Летальность и рецидив были достоверно выше у пациентов с генотипом GSTM1 present (M1+) ($p=0,037$ и $p=0,003$ соответственно), а у пациентов с генотипом M1 – показали снижение риска смерти с скорректированным коэффициентом риска HR – hazard ratio 0,47 (95% ДИ, 0,269-0,802, $p=0,006$). Женщины с M1-генотипом, а также в комбинации с GSTT1 null (T1-, GSTP1 (AG+GG) и GSTT1 null/GSTP1 (AG+GG) показали лучшую выживаемость, а также сниженный риск смерти (HR = 0,31, $p=0,016$; HR = 0,45, $p=0,013$; HR = 0,31, $p=0,02$ соответственно). Насколько нам известно, это первое исследование, которое коррелирует ассоциацию полиморфизмов генов GSTM1, T1 и P1 с исходом лечения. Показано, что особи с нулевым генотипом GSTM1 и в комбинации с нулевым генотипом GSTT1 и GSTP1 (AG+GG) имели преимущество в выживаемости. Такие генетические исследования могут дать прогностическую информацию.

Ляхович В.В., и др. (2004 г) рассматривают современные направления геномных исследований в онкологии с привлечением собственных результатов. Представлены результаты исследований связи полиморфизма генов метаболизма ксенобиотиков (CYP1A1, GSTM1, GSTT1, NA T2) с предрасположенностью к раку легкого, изучения экспрессии генов апоптоза

и ангиогенеза (IL-8, Vcl-2, VEGF) при раке тела матки, шейки матки и щитовидной железы, а также связи полиморфизма генов множественной лекарственной резистентности (MDR1, GSTP1) и активности Р-гликопротеина с эффективностью химиотерапии у больных с хроническими лимфопролиферативными заболеваниями.

Заключение. Таким образом, обзор литературных данных показал, что рак шейки матки остается актуальной проблемой в онкологии, что обусловлено высокой заболеваемостью и смертностью. В патогенезе и механизмах канцерогенеза РШМ еще имеется много «белых пятен». Однако, определенные аспекты данной проблемы выясняются все четче и четче. Так, уже точно известно, что определенные гены, участвующие в регуляции клеток и развитии опухоли шейки матки, могут изменяться, подвергаться повышенной экспрессии. В целом, анализ научных публикаций позволяет сделать вывод о том, что исследования диагностических возможностей GST имеют большие перспективы, но для их достижения необходимо углубление знаний о физиологических ролях этих ферментов, учет дополнительных факторов и применение современных методов исследования и обработки результатов (биоинформатики, протеомики и др.). Полученные в результате таких исследований знания существенно расширят возможности использования GST для диагностики, анализа риска и прогноза течения широкого спектра заболеваний, в том числе рака шейки матки.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Характеристика обследованных групп

Исследование проведено по типу «случай/контроль». В исследование включено 191 женщин кыргызской национальности (табл.1). Из них 95 женщин с гистологически верифицированным диагнозом рак шейки матки. Средний возраст женщин больных раком шейки матки (РШМ) составил $51 \pm 17,8$ лет.

В группу сравнения (контроль) вошли 96 условно здоровых женщин, которые на момент забора крови не имели онкологической патологии в анамнезе и не состояли в родстве с пациентами из основной группы. Средний возраст женщин группы сравнения – $45,9 \pm 8,8$ лет.

Таблица 1

Средний возраст пациенток РШМ в основной и контрольной группах

Группа	Средний возраст, лет ($M \pm m$)	Ранг, лет
Основная (n=95)	$51 \pm 17,8$	29 - 76
Контрольная (n=96)	$45,9 \pm 8,8$	35 - 74

Группа женщин с онкологическими заболеваниями в период 2014-2016 гг. находилась на стационарном лечении в отделении гинекологии Национального центра онкологии и гематологии министерства здравоохранения Кыргызской Республики.

Всем пациентам были проведены общеклинические, гинекологические, цитоморфологические и лабораторные методы исследования,

рекомендованные клиническим руководством по ведению пациентов с РШМ и утвержденным Министерством здравоохранения Кыргызской Республики.

На рис.1 представлена схема дизайна исследования



Рис. 1. Схема дизайна исследования

Все участники исследования подписали форму информированного согласия, план исследования был одобрен Локальным этическим комитетом НИИ Молекулярной биологии и медицины г. Бишкек Кыргызской Республики (протокол No. IMBM/IEC / 04-13/987 от 28.09.2015).

2.2 Молекулярно-генетические исследования

Забор крови и выделение ДНК

После разъяснительной беседы и добровольного согласия в письменной форме у всех обследуемых пациентов сделан забор 5 мл венозной крови для проведения молекулярно-генетических исследований. Для сбора периферической крови использовались пробирки BD Vacutainer K2E.

ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови пациентов. Выделение ДНК проводили стандартным методом фенол-хлороформной экстракции. После лизирования эритроцитов буфером, содержащим сахарозу, MgCl₂ (5mM), тритон X-100 (1 %), трис HCl (10mM), лейкоциты осаждали центрифугированием 40 мин при 7000 об./мин. Лейкоциты лизировали додецил сульфатом натрия (SDS), деградацию белков осуществляли протеинкиназой K. Депротеинизацию лизата осуществляли добавлением равного объема смеси фенол, смесь фенол/хлороформ и хлороформа с последующим центрифугированием при 10000 g 10 минут. После центрифугирования отбирали водную фазу и повторяли процедуру депротеинизации 2-3 раза. ДНК осаждали преципитацией с использованием 4M NaCl и холодного 96% этанола. ДНК промывали 70% спиртом дважды, затем сушили при комнатной температуре. После высушивания ДНК

растворяли в деионизированной воде. ДНК хранили в низкотемпературном морозильнике при минус 86 градусов.

2.3 Исследование полиморфизмов генов *GSTM1/rs366631*, *GSTP1/rs1695* и *TP53 (rs104252)* и *GSTT1/rs17856199*

Идентификацию генотипа в полиморфных локусах *GSTM1/rs366631*, *GSTP1/rs1695* и *GSTT1/rs17856199* проводили методом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ). Краткая характеристика исследованных *однонуклеотидных полиморфизмов* (ОНП) представлена в таблице 2.

Таблица 2

Краткая характеристика исследованных полиморфных вариантов

Ген/rs	Хромосомная локализация гена*	Аминокислотная замена / делеция (null)
<i>GSTM1/rs366631</i>	Chr.1 (NC_000001.11):109,687,201 – 109,694,340	null
<i>GSTP1/rs1695</i>	Chr.11 (NC_000011.10):67,583,289 – 67,586,959	p.Ile105Val (rs1695)
<i>GSTT1/rs17856199</i>	Chr.22 (NT_187633.1):269,490 – 279,304	null

*GRCh38.p13 (GCF_000001405.39)

Информация о последовательностях олигонуклеотидов для анализируемых полиморфных вариантов, а также об используемой эндонуклеазе рестрикции представлены в таблице 3. Олигонуклеотид определенной длины - это короткая нуклеотидная последовательность той же длины с определенным нуклеотидным составом. Например,

последовательность «АТТАГГАСА» содержит следующие олигонуклеотиды длины 5 — «АТТАГ», «ТТАГГ», «ТАГГА», «АГГАС», «ГГАСА».

Таблица 3

Структура праймеров для амплификации фрагментов в полиморфных вариантах генов *GSTM1*, *GSTP1* и *GSTT1*

Полиморфизм (ген)	Последовательность олигонуклеотида 5'>3'	Эндонуклеаза рестрикции
null (<i>GSTM1</i>)	F: 5'- GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3' R: 5'- GTTGGGCTCAAATATACGGTGG-3'	-
p.Ile105Val (<i>GSTP1</i>)	F: 5'-TATGGGAAGGACCAGCAGGA- 3' R: 5'-CAAGCCACCTGAGGGGTAAG- 3'	Tail (HpyCH4IV)
null (<i>GSTT1</i>)	F: 5'- TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3' R: 5'-TCACCGGATCATGGCCAGC-3'	-

Результаты электрофоретического разделения ампликонов или продуктов реакции рестрикции для исследуемых полиморфных вариантов представлены на рисунке 2.

Результатом проведения электрофореза является электрофореграмма – картина, полученная после разделения сложной смеси с помощью электрофореза и специфического проявления. Электрофореграммы белков-ферментов (зимограммы) позволяют изучать изменения активности и изоферментного спектра белков под действием внешних и внутренних факторов.

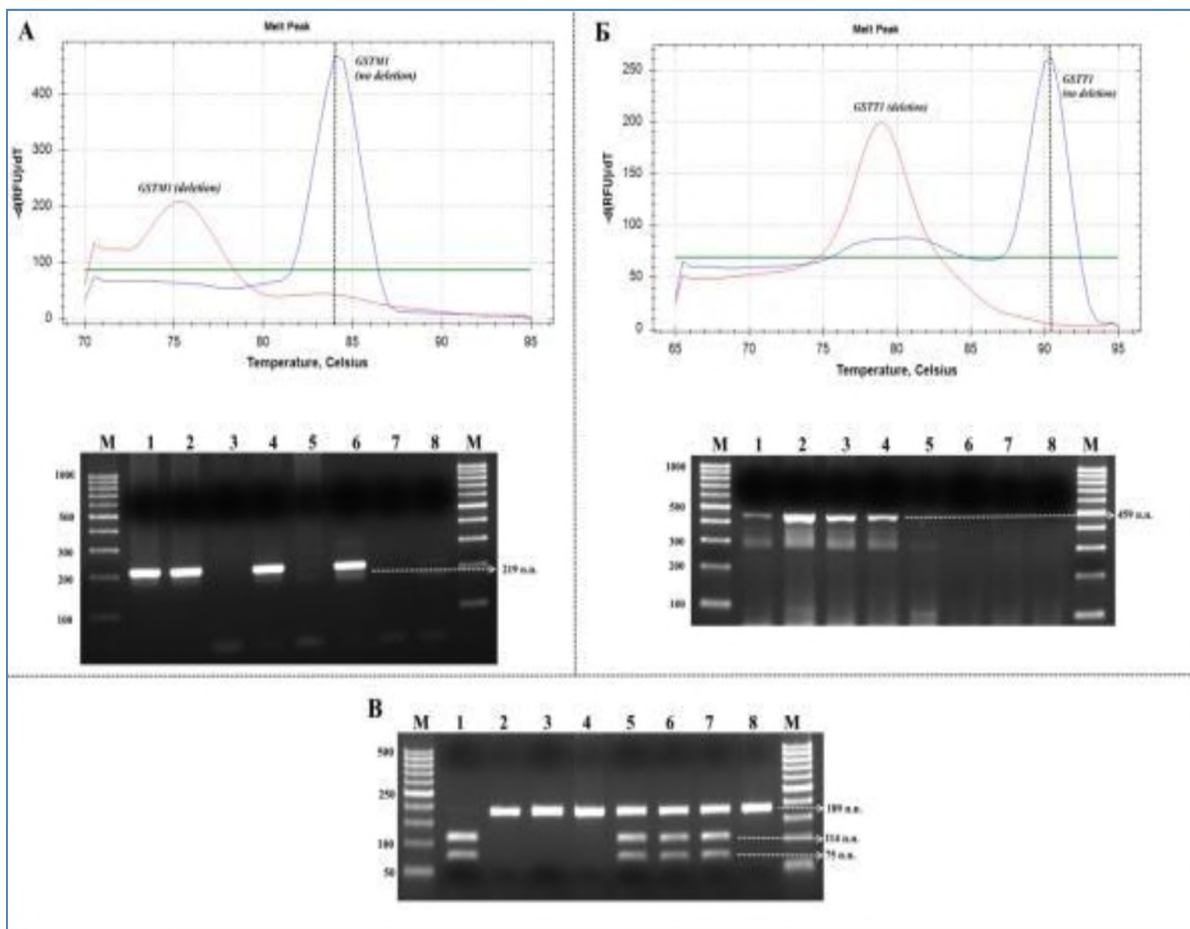


Рис.2. Электрофореграммы и профиль плавления ампликонов: А. – null (ген *GSTM1*): №№ 3, 5, 7, 8 – делеция, №№ 1, 2, 4, 6 – делеция отсутствует; Б. – null (ген *GSTT1*): №№ 5-8 – делеция, №№ 1-4 – делеция отсутствует; В. – ОНП р.Ile105Val (ген *GSTP1*) – №№ 2-4, 8 – генотип АА, №№ 5-7 – АГ, № 1 – GG; М – маркер молекулярного веса (Jena Bioscience M-214 и M-213)

2.4 Статистический анализ

Для всех женщин, составивших основную группу (пациенты с РШМ) и группу сравнения (контроль), были определены частоты носительства аллелей и генотипов и проведено сравнение распределения частот генотипов на соответствие равновесию Харди-Вайнберга (Hardy Weinberg equilibrium, HWE). Равновесие Харди-Вайнберга – это принцип, утверждающий, что

генетическая изменчивость в популяции будет оставаться постоянной от одного поколения к следующему при отсутствии нарушающих факторов. Когда спаривание происходит случайным образом в большой популяции без каких-либо разрушительных обстоятельств, закон предсказывает, что частоты, как генотипов, так и аллелей останутся постоянными, поскольку они находятся в равновесии.

Равновесие Харди-Вайнберга может быть нарушено целым рядом факторов, включая мутации, естественный отбор, неслучайное спаривание, генетический дрейф и поток генов. Например, мутации нарушают равновесие частот аллелей, вводя новые аллели в популяцию. Аналогичным образом, естественный отбор и неслучайное спаривание нарушают равновесие Харди-Вайнберга, поскольку приводят к изменению частот генов. Это происходит потому, что определенные аллели помогают или вредят репродуктивному успеху организмов, которые их несут. Другим фактором, который может нарушить это равновесие, является генетический дрейф, который возникает, когда частоты аллелей случайно повышаются или понижаются, и обычно имеет место в небольших популяциях. Поток генов, который возникает, когда скрещивание между двумя популяциями переносит новые аллели в популяцию, также может изменить равновесие Харди-Вайнберга.

Поскольку все эти разрушительные силы обычно встречаются в природе, равновесие Харди-Вайнберга редко применяется в реальности. Следовательно, равновесие Харди-Вайнберга описывает идеализированное состояние, и генетические вариации в природе могут быть измерены как отклонения от этого равновесного состояния.

Анализ ассоциации генотипов с риском развития заболевания проводился путем вычисления показателя отношения шансов (ОШ) для аллелей каждого анализируемого полиморфного варианта (с расчетом 95% ДИ). Статистическая обработка данных проводилась с использованием SPSS v.20.0 (IBM, США) и GraphPad Prism v 5.0.

Анализ межгенных взаимодействий проводился биоинформатическим методом многофакторного сокращения размерности (Multifactor Dimensionality Reduction, MDR) с использованием размещенного в открытом доступе (англ. open-source software) ПО MDR v.3.0.2. (<http://www.multifactor dimensionality reduction.org/>). В процессе моделирования были использованы строгие настройки поиска конфигурации модели, которые позволили однозначно дифференцировать наличие/отсутствие статистически значимых эффектов: количество атрибутов – от 1 до n (где n – количество переменных в модели); воспроизводимость модели – 100; анализ топ-моделей – 1000; поиск конфигурации модели – всесторонний; метод сравнения – точный тест Фишера; классификация ячеек – неклассифицированные. Математической базой данной программы является непараметрический кластерный анализ для обнаружения и описания нелинейного типа взаимодействия между дискретными генетическими атрибутами.

ГЛАВА 3

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Оценка роли однонуклеотидных полиморфизмов генов *GSTM1*, *GSTP1* и *GSTT1* в возникновении злокачественных новообразований шейки матки у лиц кыргызской этнической группы

В предыдущей главе и во введении нами было указано, что планируется исследование для выявления распределения аллелей для различных или полиморфных вариантов в генах. В двух группах (основной и контрольной) были исследованы следующие гены – *GSTM1* (null), *GSTP1* (p.Ile105Val) и *GSTT1* (null).

Результаты исследования гена *GSTM1* (null) в основной (злокачественные опухоли шейки матки) и группе сравнения (здоровые лица без рака шейки матки) показал статистически значимые различия. Статистическая достоверность была высокой и составила $p = 0,002$, что отражено в табл. 4.

Таблица 4

Характеристика генотипирования по полиморфизму гена глутатионтрансферазы null (*GSTM1*) исследуемых группах

Полиморфизм (ген)	Генотип /аллель	Больные РШМ, % (абс)	Группа сравнения, % (абс)	p	ОШ (95% ДИ)
null (<i>GSTM1</i>)	Делеция	34,7% (33)	20,8% (20)	0,002	2,02 (1,28- 3,20)

	Нет делеции	65,3% (62)	79,2% (76)		0,49 (0,31-0,78)
--	-------------	------------	------------	--	------------------

Это означало, что в группе больных со злокачественными опухолями шейки матки отмечалось достоверное или статистически значимое увеличение частоты делеции (делеционного полиморфизма) по сравнению с группой сравнения. В основной группе частота составила 34,7%, а в контрольной – 20,8%. Обе группы принадлежали к лицам кыргызской этнической группы.

Следовательно, у женщин со злокачественными опухолями шейки матки делеция участка гена *GSTM1* (null) может являться конкретным генетическим маркером, который ассоциируется с возникновением рака. Об этом свидетельствовало значение такого коэффициента, как отношение шансов (ОШ) превышающее 2,0: ОШ = 2,02, 95% ДИ 1,28 -3,20 или $p = 0,002$. Необходимо отметить, что отсутствие протяженной делеции в изучаемом гене *GSTM1* (null), наоборот, ассоциировано с защитным действием, если даже там присутствовала одна функциональная аллель.

При исследовании другого гена null (*GSTT1*) в сравнительном аспекте среди лиц со злокачественными опухолями шейки матки и без рака данной локализации частота делеции (хромосомная перестройка, при которой происходит потеря участка хромосомы) в основной группе составила 56,8%, а в контрольной группе данная делеция составила 43,2% (табл. 5).

Таблица 5

Характеристика генотипирования по полиморфизму гена глутатионтрансферазы null (*GSTT1*) исследуемых группах

Полиморфизм (ген)	Генотип /аллель	Больные РШМ, % (абс)	Группа сравнения, % (абс)	p	ОШ (95% ДИ)
null (<i>GSTT1</i>)	Делеция	56,8% (54)	30,2% (29)	<0,001	3,04 (2,00-4,64)
	Нет делеции	43,2% (41)	69,8% (67)		

					0,50)
--	--	--	--	--	-------

При сравнении полученных данных и соответствующем статистическом анализе было выявлено, что разность была достоверной или значимой. Следовательно, хромосомная перестройка участка гена *GSTT1* null являлась генетическим маркером, ассоциированным с повышенной вероятностью возникновения или этиологически рака шейки матки у лиц кыргызской национальности – ОШ=3,04, 95% ДИ (2,00-4,64), $\chi^2=27,57$, $p<0,0001$. При отсутствии протяженной делеции в данном гене было показано, что это может сочетаться с протективным эффектом.

Далее нами был изучен профиль полиморфного варианта гена p.105Val (*GSTP1*) – табл. 6.

Частота аллеля 105/105 в сравниваемых группах составила 61,1% в основной и 67,7% в контрольной группах, соответственно. Отношение шансов было равно 0,75 с 95% ДИ 0,41 -1,35 (не достоверно).

Частота аллеля 105/Val в сравниваемых группах составила 32,6% в основной и 28,1% в контрольной группах, соответственно. Доверительный интервал был в пределах 0,67 – 2,30, а ОШ = 1,24. Разность была так же, как и в предыдущей серии, статистически не достоверной ($p > 0,05$).

При рассмотрении генотипа/аллели Val/Val у 6 больных РШМ (в основной группе) и 4 здоровых лиц (контрольная группа) оказалось, что по частоте (6,3% и 4,2%, соответственно) разность была статистически не достоверной или критерий Стьюдента «р» больше 0,05. Отношение шансов при этом было равно 1,55 с 95% ДИ – 0,42 – 5,68.

Анализ сравнения следующего генотипа/аллели 105/Val // Val/Val в двух изучаемых группах показал, что частота в основной группе составила 38,9%, а в группе сравнения (здоровый контингент) 32,3%, что было несколько меньше, чем в основной. Однако разность между сравниваемыми величинами была статистически не достоверной ($p = 0,342$ или $p > 0,05$). Отношение шансов было равно 1,34 с 95% ДИ (0,74-2,42).

Частота аллеля Ile составила 77,4% в группе больных со злокачественными опухолями шейки матки и несколько больше (81,8%) в группе здоровых женщин кыргызской национальности. Разность между ними была статистически не достоверной ($p = 0,290$).

Такая же тенденция наблюдалась при сравнении аллеля Val – 22,6% в основной и 18,2% – в контрольной группах, соответственно. При статистическом анализе достоверность между значениями была не значимая ($p > 0,05$).

Таблица 6

Анализ генотипирования по исследуемым полиморфизмам генов p.Ile105Val (*GSTP1*) в группе больных РШМ и практически здоровых женщин кыргызской национальности

Полиморфизм (ген)	Генотип /аллель	Больные РШМ, % (абс)	Группа сравнения, % (абс)	p	ОШ (95% ДИ)
p.Ile105Val (<i>GSTP1</i>)	Ile/Ile	61,1% (58)	67,7% (65)	0,591	0,75 (0,41-1,35)
	Ile/Val	32,6% (31)	28,1% (27)		1,24 (0,67-2,30)
	Val/Val	6,3% (6)	4,2% (4)		1,55 (0,42-5,68)
	Ile/Ile	61,1% (58)	67,7% (65)	0,342	0,75 (0,41-1,35)
	Ile/Val // Val/Val	38,9% (37)	32,3% (31)		1,34 (0,74-2,42)
	Ile/Ile // Ile/Val	93,7% (89)	95,8% (92)	0,513	0,64 (0,18-2,36)
	Val/Val	6,3% (6)	4,2% (4)		1,55 (0,42-5,68)
	Аллель Ile	77,4%	81,8%	0,290	0,76 (0,46-1,26)
	Аллель Val	22,6%	18,2%		1,31 (0,80-2,16)

Таким образом, наши исследования по анализу полиморфного варианта p.Ile105Val (*GSTP1*) не обнаружили статистически значимых различий в двух группах сравнения. Это касалось в распределении частот генотипов или аллелей.

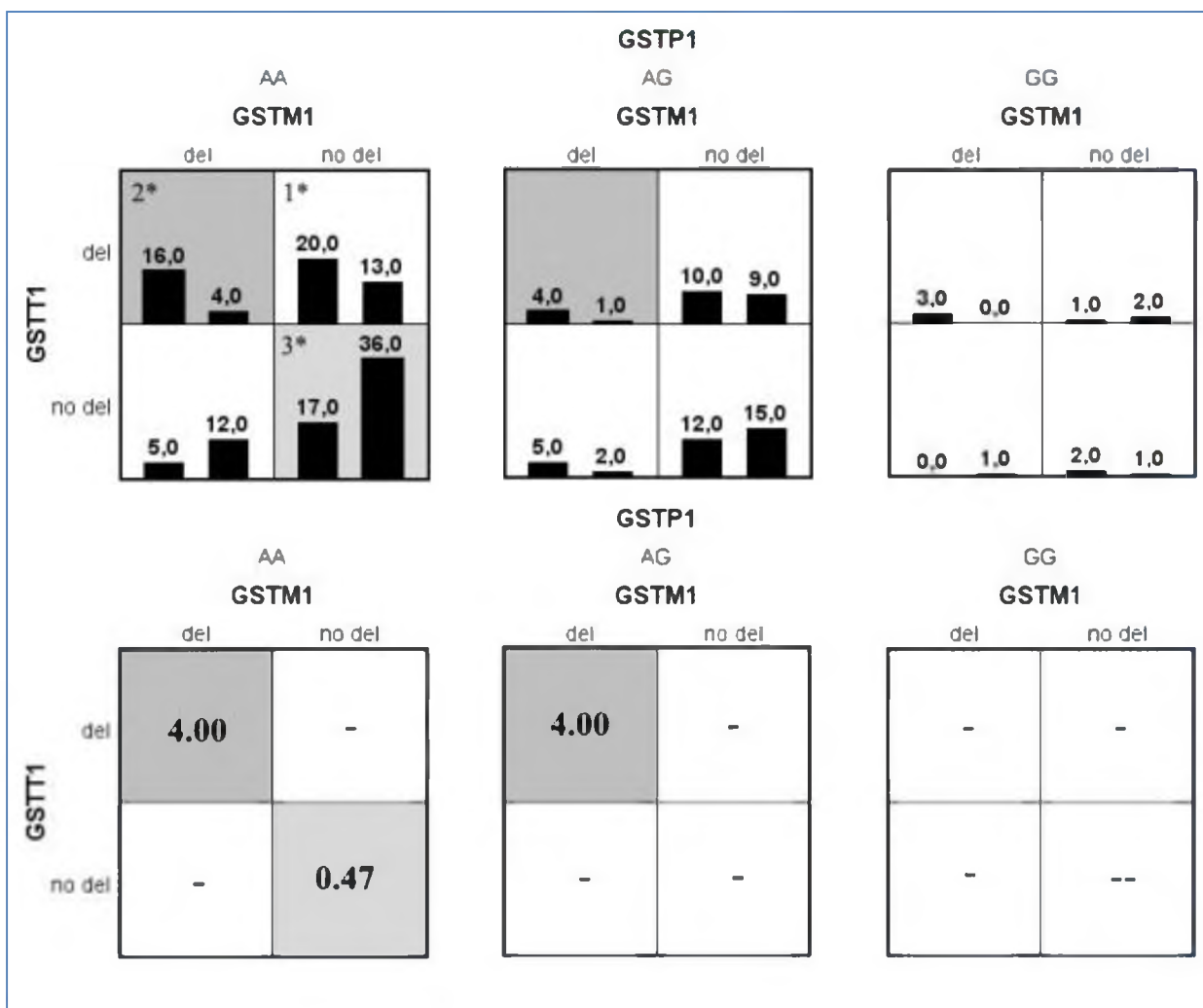
3.2 Взаимоотношения между генами полиморфных вариантов глутаминтрансфераз *GSTM1*, *GSTP1* и *GSTT1* при раке шейки матки

Анализ сочетанного носительства полиморфных вариантов изучаемых генов глутамин трансфераз *GSTM1* (null), *GSTP1* (p.Ile105Val) и *GSTT1* (null) показал определенные закономерности. При этом эти ассоциации были довольно выраженными, а статистически достоверно значимыми, где была показана увеличенная вероятность возникновения злокачественных опухолей шейки матки.

На рис. 3 продемонстрированы наиболее выраженные комбинации в парах, которые ассоциированы с развитием злокачественных опухолей шейки матки.

Значения, выраженные в процентах (частота), характеризующие сочетания генотипов del (*GSTT1*) // del (*GSTM1*) // AA/AG (*GSTP1*) были статистически значимо выше у лиц кыргызской этнической группы в основной группе или у больных со злокачественными опухолями шейки матки, чем у здоровых лиц той же этнической группы (контрольной когорты).

При этом нами было обнаружено, что среди этих сочетаний или комбинаций выявлены определенные делеционные полиморфизмы, которые преобладали над другими. Такими были делеционные полиорфизмы, включающие гены *GSTM1* и *GSTT1*, при которых отмечалась повышенная вероятность возникновения злокачественных опухолей шейки матки.



Примечание:

Отметка 1* (обозначен белым цветом) показывает отличия в частоте встречаемости генотипа в основной и контрольной группах (достоверности нет)

Отметка 2* (обозначен темно-серым цветом) – генотипные ассоциации, связанные с высоким риском развития РШМ (риск-ассоциированный эффект)

Отметка 3* (обозначен светло-серым цветом) – генотипные ассоциации, связанные с увеличением риска возникновения РШМ (протективный эффект)

Рис. 3. Полиморфные вариации изучаемых генов *GSTM1*, *GSTP1* и *GSTT1* в группах с учетом взаимоотношений между генами и их комбинаций (указаны значения отношения шансов)

Как показывают результаты, среди парных комбинаций, ассоциированных с повышенной вероятностью развития злокачественных новообразований шейки матки, при которых преобладают плоскоклеточные карциномы, превалировали те, которые включали делеционные полиморфизмы генов глутамин-С-трансфераз, представленных двумя видами – *GSTM1* и *GSTT1*.

Следовательно, у лиц женского пола, которые имели генотипы null (*GSTM1*) и null (*GSTT1*), способность возникновения злокачественного новообразования изучаемого органа увеличивалась почти в четыре раза и больше.

Нами было отмечено ранее, что женщины кыргызской национальности имели определенные особенности по присутствию сочетания профиля генов, в частности вариаций *GSTM1*, *GSTP1* и *GSTT*, связанных с повышенным риском развития злокачественных опухолей шейки матки.

Используя специальную программу MDR 3.0.2. (Multifactor Dimensionality Reduction) нами было сконструировано моделирование взаимоотношений изучаемых полиморфных вариантов генов глутамин С трансфераз (M1, P1 и T1).

Данная модель отражала долю полиморфизма и его вклад полиморфизма конкретного гена в риск или возможность возникновения злокачественного новообразования шейки матки.

Данный вклад вычислялся в процентах и отражал определенную частоту в исследуемой группе, будь то основная группа, будь то контрольная группа (рис.4).

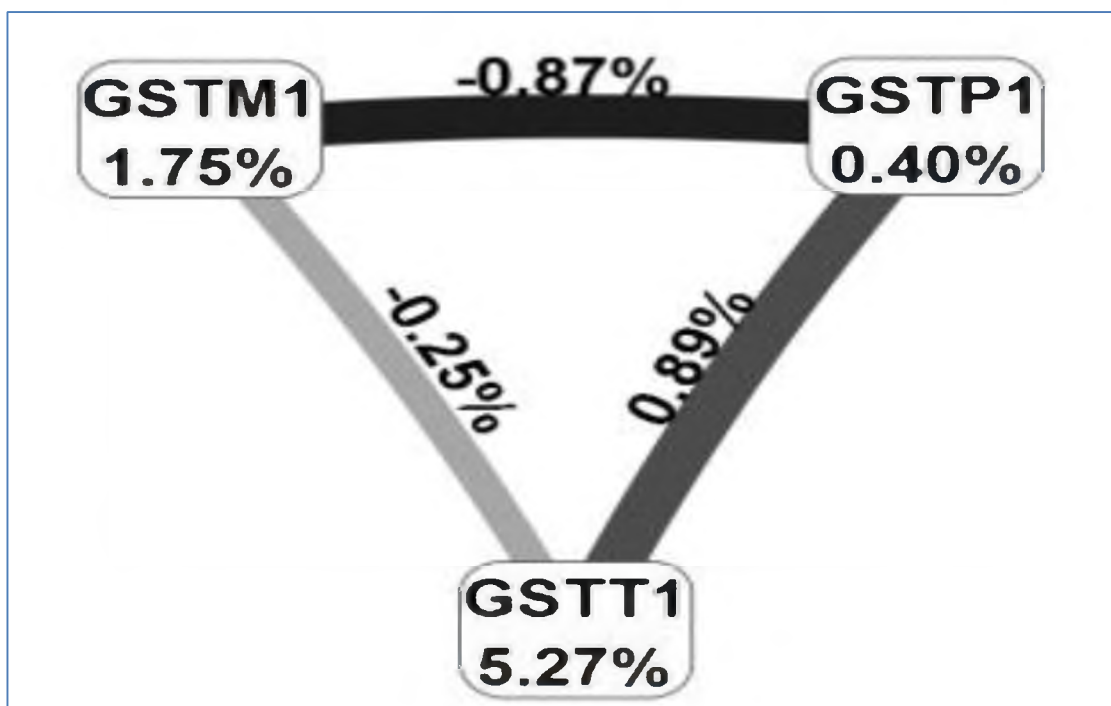
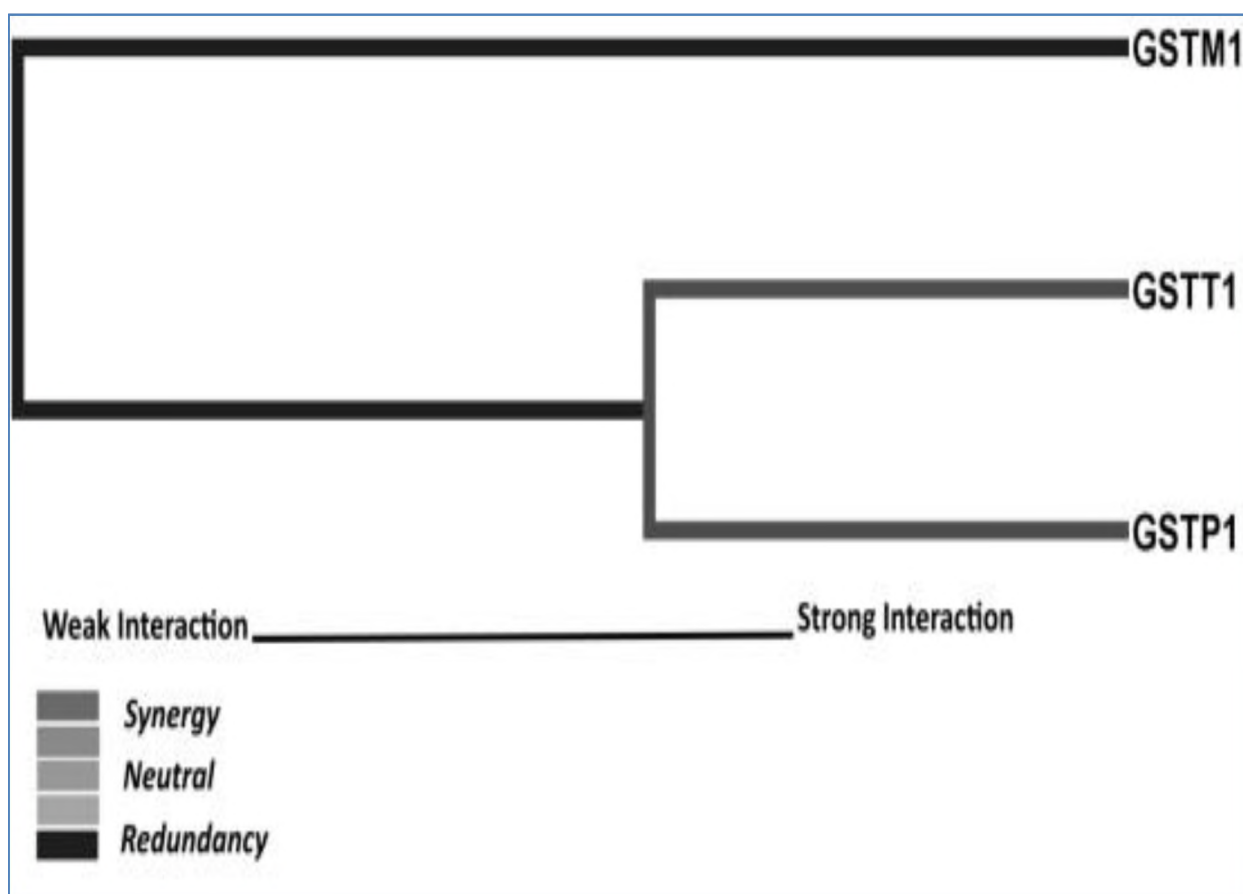


Рис.4. Демонстрация в виде графика исходов анализирования взаимоотношений между вариантами (полиморфными) генов глутамин С трансфераз у женщин кыргызской этнической группы со злокачественными опухолями шейки матки

Рисунок 2 демонстрирует радиальную диаграмму, которая показывает три исследованных полиморфных варианта, где самый большой вклад в возникновение злокачественной опухоли вносит делеционный полиморфизм гена *GSTT1*. Значение энтропии или мера беспорядка, хаоса, степень неопределенности для гена *GSTT1* был равен 5,27%. Однако по другим генам, таким как *GSTM1* (null) и *GSTP1* (p.Ile105Val) данный показатели энтропии были значительно меньше и составили 1,75% и 0,40%, соответственно.

В соответствии с программой MDR v.3.0.2 нами была сконструирована модель, которая отражала механизм взаимодействия анализируемых генов. Эти полиморфные варианты были ассоциированы с соответствующими

хромосомными локализациями в пределах конкретного исследования (рис. 3).



Примечание:

weak interaction – слабое взаимодействие

strong interaction – сильное взаимодействие

Synergy – синергия

Neural – невральный

Redundancy – избыточный

Рис. 5. Анализ расстояния связи или результат взаимодействия генов между обозначенными полиморфными вариантами null (ген *GSTM1*), p.Ile105Val (ген *GSTP1*) и null (ген *GSTT1*) для пациентов со злокачественными опухолями шейки матки

Построенное моделирование способствовало выделению двух кластеров: первый кластер – нулевой ген глутамин С трансферазы M1 и второй кластер – глутамин С трансферазы P1 и T1.

Таким образом, полученные в результате ПЦР и анализа относительно полиморфных вариантов других рассматриваемых генов, а именно p.Le105Val (ген *GSTP1*) и null (ген *GSTT1*) демонстрируются значительно выраженные взаимодействия, характеризующиеся заметным синергизмом. Эти экспрессии обозначены линиями темно-серого цвета. Но, необходимо отметить, что эти связи между генами выражены относительно слабо для данных полиморфных вариантов.

3.3 Характеристика ассоциации полиморфизма генов группы глутатионтрансфераз GSTM1, GSTP1 и GSTT1 с некоторыми клиническими и гистологическими данными злокачественных новообразований шейки матки

Известно, что при раке шейки матки важное значение для выбора тактики лечения, а также вычисления прогноза заболевания или оценке степени распространенности опухолевого процесса имеют такие характеристики, как состояние регионарных лимфатических узлов (наличие или отсутствие метастазов – положительный или отрицательный нодулярный статус), гистологический вариант новообразования (аденокарцинома или плоскоклеточный рак), степень гистологической дифференцировки (умеренный, низкий или высокий), наличие или отсутствие отдаленных метастазов (M0 или M1), наличие или отсутствие местных рецидивов. Безусловно важными критериями степени распространенности опухоли являются также размер первичного очага, отсутствие или наличие прорастания первичной опухоли в соседние органы, а также некоторые лабораторные тесты. К таким тестам относят определение опухолевых маркеров таких, как маркер плоскоклеточной карциномы, раково-

эмбриональный антиген, вирусы папилломы человека 16 и 18 типов (онкогенных).

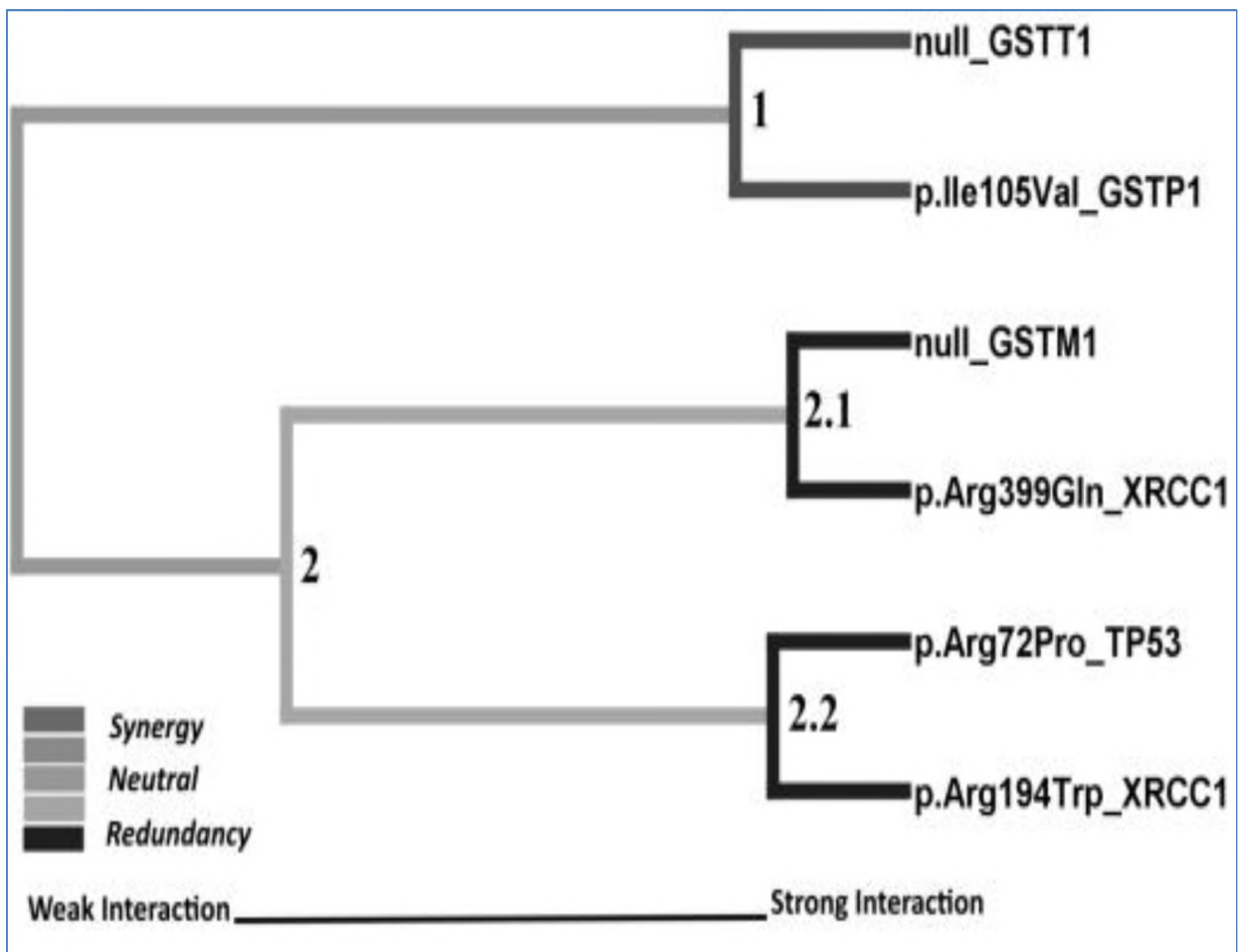
В данном анализе ассоциация полиморфизма генов глутамин трансфераз в зависимости от выше перечисленных вариантов или клинико-морфологических характеристик опухоли нами не выявлено. То есть не были определены статистически достоверные или значимые различия.

3.4 Взаимоотношения между генами группы глутатионтрансфераз, факторов репарации ДНК и контроля клеточного цикла при злокачественных опухолях шейки матки

Одной из дополнительных задач нашего научного исследования было изучить или оценить вероятность возникновения злокачественной опухоли шейки матки при носительстве полиморфных хромосомно-перестроечных генов *GSTM1* и *GSTT1*, а также однонуклеотидных полиморфизмов p.Le105Val гена *GSTP1* в зависимости от генотипа по однонуклеотидному гены p.Arg399Gln (ген *XRCCI*), p.Arg194Trp (ген *XRCCI*), p.Arg72Pro (ген *TP53*).

Для выяснения данной задачи нами также была сконструирована модель с помощью MDR-анализа.

С помощью данной модели мы могли выявить характер взаимодействия полиморфных вариантов исследованных данных генов при злокачественных новообразованиях шейки матки (рис. 6).



Примечание:

Weak interaction – слабое взаимодействие

Strong interaction – сильное взаимодействие

Synergy – синергия

Neural – невральный

Redundancy – избыточный

Рис. 6. Характеристика расстояния (дистанции) ассоциации между исследуемыми полиморфными вариантами генов группы глутатион С-трансфераз, а также генов репарации дезоксирибонуклеиновой кислоты и контроля клеточного цикла; 1 и 2 – номера кластеров

Данное моделирование позволило нам идентифицировать два кластера. Первый кластер включал два вида - null (ген *GSTT1*) и p.Le105Val (ген *GSTP1*). Второй кластер включал следующие кластеры null (ген *GSTM1*), p.Arg399Gln (ген *XRCCI*), p.Arg72Pro (ген *TP53*) и p.Arg194Trp (ген *XRCCI*).

Необходимо выделить, что в рамках второго кластера нами были выделены еще субкластеры, которых было также два. Эти результаты способствовали тому, что в определенной точке наблюдался выраженный синергический эффект. Эти местом явилась пара полиморфных вариантов, а именно null (ген *GSTT1*) и p.Le105Val (ген *GSTP1*). Это означало, что в сумме ассоциированный эффект, связанный с риском конкретных полиморфизмов превышал их вклад при независимом влиянии.

Далее, при рассмотрении других полиморфных вариантов действующие влияния и взаимоотношения имели среднюю силу. Эти эффекты колебались в различных пределах. Так они могли колебаться от совсем слабого дублирующего эффекта, как например, в паре null (ген *GSTM1*) и p.Arg399Gln (ген *XRCCI*), до практически нейтрального эффекта (отсутствие эффекта эпистаза), определяемых на уровне целых кластеров. Эпистаз — тип взаимодействия генов, при котором проявление одного гена находится под влиянием другого гена (генов), неаллельного ему.

Следует упомянуть, что практически во всех парах для полиморфных вариантов генов семейства глутамин-С-трансфераз, генов репарации, то есть для генов *GSTM1*, *GSTP1*, *GSTT1* и *TP53*, *XRCCI* не было обнаружено статистически значимых ассоциаций генотипов, которые могли бы повышать возникновения злокачественных новообразований шейки матки.

Анализ полиморфизма данных генов достаточно широко представлен в научной литературе.

Так, в литературе описан ряд вариаций полиморфизма гено глутамин-С-трансфераз, в зависимости от этнической или географической принадлежности. При этом, размер исследуемых выборок был различным. Однако в общем указан определенный вклад данных полиморфизмов в

увеличении риска развития рака различных локализаций, в том числе и рака шейки матки

Некоторые исследователи считают, что делеционные полиморфизмы генов семейства глутамин-С-трансфераз и их связь с развитием злокачественных опухолей именно шейки матки является довольно дискуссионным. Так, работы некоторых ученых, проведенных в Италии, Индии и Казахстане показали, что нулевой полиморфизм генов глутамин-С-трансфераз (M1 и T1) являются факторами риска возникновения плоскоклеточного рака шейки матки.

Однако, работы, проведенные в других популяциях, таких как в тайландской, турецкой или сербской, показали, что такого риска не существует. То есть они не обнаружили статистически достоверной связи.

Заслуживает внимание исследования, проведенные в Южной Америке, где колумбийские ученые обнаружили очень незначительные ассоциации полиморфизма генов глутамин-С-трансфераз и увеличением риска предрака шейки матки (интраэпителиальные неоплазии шейки матки различной степени дифференцировки). При этом роль папилломавирусной инфекции была даже выше, чем вклад исследуемых полиморфизмов. Правда были взяты в исследование только высокоонкогенные типы папилломавирусной инфекции.

Тем не менее, в доступной литературе нами были обнаружены восемь исследований в виде мета-анализов, которые осветили роль делеционных полиморфизмов генов *GSTM1* и *GSTT1* и их влияние на повышение риска развития злокачественных новообразований шейки матки. При этом была обнаружена существенная или статистически значимая связь изучаемых явлений. Ассоциация нулевого генотипа *GSTT1* была выявлена лишь в одном исследовании, в котором была показана значимая связь полиморфизма и риском развития рака шейки матки. Данные соответствия можно объяснить различными подходами в разных этнических популяциях, а также разной частотой исследуемых полиморфизмов.

По подтвержденным литературным данным, частота полиморфизма при нулевом генотипе глутамин-С-трансферазы варьирует от 26%, определяемой у африканцев до 53,1% - у европеоидной расы.

Следовательно, полученные нами результаты исследования по полиморфизму генов семейства глутамин-С-Трансфераз в принципе и в целом соответствуют литературным данным. Но наши исследования показали и определенные региональные и этнические особенности. Так у женщин кыргызской национальности оба полиморфизма с хромосомными перестройками в генах *GSTM1* и *GSTT1* были вовлечены в патогенез развития или увеличения риска возникновения злокачественной опухоли шейки матки.

Заключение к данному разделу

В каждой определённой популяции, где основным отличием является этническая принадлежность, имеются специфические наборы генотипов, в том числе по набору глутамин-С-трансфераз и их разновидностей.

Проведенные нами исследования показали, что имеются некоторые особенности в генетическом полиморфизме изучаемых генов глутамин-С-трансфераз в ассоциации с развитием рака шейки матки. Нами были изучены полиморфизмы у лиц коренной этнической группы – кыргызов. Установлено, что хромосомная перестройка на определенном локуса гена *GSTM1* является маркером при генетическом исследовании, который связан с увеличенным риском развития РШМ, причем статистически достоверно с высокой долей вероятности.

Подобные или аналогичные результаты были выявлены при изучении нулевого генотипа *GSTT1*. Это позволило нам считать, что делеция участка или локуса *GSTT1* также может считаться генетическим маркером, который ассоциирован с увеличением риска развития злокачественной опухоли шейки матки. Значение отношения шансов было довольно высоким (более 3), что свидетельствовало о наличии высокой степени достоверности рассматриваемых сравнений.

При рассмотрении другого полиморфизма, такого как p.Le105Val (ген *GSTP1*), наши результаты не выявили статистически значимых различий между исследуемыми группами. Следовательно данная делеция в конкретном локусе выше обозначенного гена не могла быть генетическим маркером и фактором риска в развитии рака шейки матки.

Полученные нами результаты демонстрируют не только связь полиморфных вариантов генов глутатион-S-трансфераз с вероятностью возникновения РШМ, но и необходимость в проведении дальнейших научных изысканий. Эти исследования вносят определенный вклад в выяснении этиологии патогенеза развития рака шейки матки, с учетом механизмов биотрансформации, репарации или клеточного апоптоза.

Необходимо, однако, выделить, что связь между клиническими параметрами, такими, как размер опухоли, морфологические особенности и другие (статус лимфоузлов, например), не были статистически достоверно связаны с генетическим полиморфизмом исследованных генов в плане повышения риска развития рака шейки матки.

В общей популяции, так в некоторых семьях с отягощенным онкологическим анамнезом необходимо выявлять определенные группы лиц с повышенным риском развития рака шейки матки. Это возможно как раз на основе молекулярно-генетического анализа полиморфных вариантов генов глутамин трансфераз, особенно *GSTM1* и *GSTT1* типов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В структуре злокачественных новообразований у женского населения в мировом пространстве на третьей позиции находится рак шейки матки, и ведущую роль в развитии данного заболевания играет персистирующая инфекция, а именно вирус папилломы человека. Развитие данного заболевания тесно связано с взаимодействием таких факторов, как генетическая разнородность ДНК-содержащих вирусов папилломы человека и эндогенными факторами индивидуума. стратегическое значение имеют генетические особенности индивидуума, играющую важную роль в развитии данного заболевания, одним из которых является наличие локусов хромосом, обладающие особенной чувствительностью к злокачественным новообразованиям шейки матки. Несмотря, на наличие в мировой литературе результатов общегеномных исследований (GWAS) и исследований в доклинический период, указывающих о существовании линейных связей генетических модификации в определенных аллелях, чувствительных к раку шейки матки, картина продолжает оставаться недостаточно ясной и остается много «слепых зон». Данное исследование является результатом изучения имеющихся в настоящий момент генов, обладающих статусом кандидатов, и GWAS, при злокачественных новообразованиях шейки матки. Также обсуждаются ассоциации между этими генетическими вариациями и реакцией на химиотерапию.

Особенностью женщин, проживающих в развивающихся странах, является существенная доля заболевших раком шейки матки, и вирус папилломы человека, даже учитывая его доказанное участие в развитии данного заболевания, не является монофактором в патогенезе злокачественной трансформации. Наличие доказательной базы о незначительном количестве персистирующих формах вируса папилломы человека, способствующих развитию злокачественного новообразования, на

фоне значительного количества информации о регрессирующих инфекций, указывает на сопричастность многих сопутствующих факторов и ВПЧ-инфекции к процессу развития злокачественного новообразования шейки матки и особенной чувствительности человека в данной патологии. Безусловно, генетический анализ, в особенности полиморфизм генов, и изучение апоптоза клеток являются ответом на ключевой вопрос об этиологии развития восприимчивости в определенных злокачественным патологиям. В данной работе представлены, результаты аналитической работы, связанной с обработкой последних литературных данных мирового медицинского сообщества, с акцентом на изучение полиморфизма генов, являющихся одним из факторов восприимчивости к раку шейки матки.

В литературном обзоре, представлен анализ роли характерных вариантов ВПЧ 16-го типа в комбинации с полиморфизмом гена P52, а именно его 72 кодона. Первоначальный анализ последовательности длинных контрольных участков HPV-16, E6 и E7 53 четко определенных образцов шейки матки, содержащих HPV-16, показал, что переход от Т к G в положении 350 нуклеотида в открытой рамке считывания E6 был наиболее распространенным изменением, частота которого, по-видимому, уменьшалась с увеличением тяжести заболевания. очаг поражения. Таким образом, в общей сложности 246 образцов шейки матки жителей Нидерландов были специально проанализированы на наличие вариантов ВПЧ-16 350G/T и/или генотипов 72-го кодона p53. Они включали ВПЧ-отрицательные нормальные соскобы с шейки матки (n=40), нормальные соскобы с шейки матки, содержащие ВПЧ-16 (n=46), соскобы, содержащие ВПЧ-16 от женщин с аномальной цитологией шейки матки, участвовавших в последующем исследовании без вмешательства (n=38) и с (n=51) гистологически подтвержденная цервикальная интраэпителиальная неоплазия (CIN) III поражения в конце исследования и плоскоклеточный рак шейки матки (n=71). Ни специфические варианты ВПЧ-16 350G/T, ни специфические генотипы p53 не были связаны с более высоким риском

развития CIN III или рака шейки матки. Однако варианты HPV-16350T были значительно превышены у гомозиготных по p53 Arg женщин с раком шейки матки. Это говорит о том, что у женщин с p53 Arg/Arg инфицирование вариантами HPV-16350T повышает риск развития рака шейки матки.

Недавно были исследованы факторы риска развития рака шейки матки, отличные от инфекции, вызванной вирусом папилломы человека (ВПЧ) как таковой. Было высказано предположение, что варианты 16 Е6 ВПЧ и полиморфизм 72 аргинина кодона p53 могут быть маркерами прогрессирования. Действительно, было продемонстрировано, что специфические варианты Е6 и аргинин p53 оба были обогащены при раке. Однако, особенно в отношении последнего, сообщалось о различных результатах. Таким образом, цель состояла в том, чтобы исследовать, важен ли аргинин p53 для канцерогенеза шейки матки, путем масштабирования выборок двух европейских когорт, о первоначальных результатах которых сообщалось ранее. Кроме того, они оценили встречаемость p53-кодона 72 аргинина в сочетании со специфическими генотипами ВПЧ 16 Е6. Они обнаружили, что уровень аргинина p53 повышен при раке в обеих когортах, что согласуется с нашей предыдущей концепцией. Хотя специфические генотипы Е6 постепенно увеличивались с тяжестью поражения, аргинин p53 обогащался только при раке. Более того, частота аллеля аргинина была сходной в группах с разными генотипами Е6. Сделан вывод, что аргинин p53 является фактором риска развития рака шейки матки, но, вероятно, действует независимо от вариантов Е6. Действия происходящие на уровне молекул, а также совокупность белков, способствующих развитию рака шейки матки, продолжают оставаться полностью неизученными оставляя достаточное количество зон для исследования. ТР является основным фактором воздействия на метаболизм и регуляцию белковых изменений. С целью изучения и определения экспрессии определенных белков при определении патогенеза заболевания, нами был проведен анализ изменений происходящих с опухолевыми белками в клеточных линиях СС. Результаты данного

исследования указали на наличие двух белков, способствующих росту регуляции в течении TP, GSTM3 и GSTP1. Проанализированные протеины играют роль в обеспечении стабильности клеток, сохранении и воздействии клеток на раздражитель через пути NF-κB и MAP-киназы во время TP. Мимо вышеперечисленного, нокдаун GSTM3 и GSTP1 продемонстрировал, что рост опухолевой массы идет на спад, при отклонении от апоптоза. Результаты исследования установили жизненно важную роль GST в регуляции и увеличении опухолевой массы при злокачественных новообразованиях шейки матки. Таким образом, наше исследование позволит нам с полной уверенностью рекомендовать GSTM3 и GSTP1, как одни из действующих биомаркеров и как следствие, таргентных мишеней при проведении лечения данной патологии. Учитывая, тяжелые последствия запущенных форм рака шейки матки, проведенный детальный анализ белков опухоли позволил определить и группировать ряд стратегий, содействующий лечению этих форм.

Последствия воздействия вируса папилломы человека проявляются в развитии рака шейки матки, однако, существуют достаточно исследований, указывающих на комбинативной воздействие вируса с другими факторами, одним из которых является курение. Наряду с активным курением сигарет пассивное курение является независимым фактором риска развития рака шейки матки. Курение дольше поддерживает цервикальную ВПЧ-инфекцию и снижает потенциал избавления от онкогенной инфекции. Таким образом, вполне возможно, что полиморфизм в локусах, кодирующих детоксицирующий фермент, таких как GSTM1, GSTT1 и GSTP1, может определять чувствительность к злокачественному новообразованию шейки матки. Данная работа направлена на анализ сочетанного воздействия вариативности генов GSTM1, GSTT1 и GSTP1 на возникновение злокачественного новообразования шейки матки и взаимодействие этих генов с курением. При индивидуальном анализе GSTM1, GSTT1 и GSTP1 было отмечено, что пассивные курильщики, имеющие генотипы GSTM1

(нулевой) (OR = 7,0, 95% ДИ = 2,19-22,36, P = 0,0005), GSTT1 (нулевой) (OR = 10,2, 95% ДИ = 1,23-84,18, P = 0,02) и GSTP1 (ile/val) (OR = 6,4, 95% ДИ = 2,25-18,38, P = 0,0005) имеют повышенный риск развития рака шейки матки. Таким образом, делается вывод, что риск развития рака шейки матки повышен у пассивных курильщиков с генотипами GSTM1 (null), GSTT1 (null) и GSTP1 (ile/val).

Ведутся споры о том, повышают ли полиморфизмы глутатион S-трансферазы (GST) (нулевой/присутствующий генотип GST mu-1 [GSTM1] и нулевой/присутствующий генотип GST theta-1 [GSTT1]) дополнительный риск развития рака шейки матки. Этот метаанализ был направлен на изучение ассоциаций между вышеупомянутыми полиморфизмами и риском развития рака шейки матки. Тринадцать исследований соответствовали критериям GSTM1 (1616 случаев рака шейки матки и 1970 контрольных), а 12 исследований соответствовали критериям GSTT1 (1393 случая и 1766 контрольных). Объединенные коэффициенты шансов (OR) были соответствующим образом выведены из моделей фиксированных эффектов или случайных эффектов. Отдельные анализы были проведены для китайского и неазиатского населения. Также была проведена метарегрессия с указанием года публикации. При общем анализе нулевой генотип GSTM1 был связан с повышенным риском развития рака шейки матки (объединенный OR = 1,272; 95% доверительный интервал [ДИ], 1,014-1,597, случайные эффекты). Ассоциация, по-видимому, ограничивалась неазиатскими популяциями (объединенный OR = 1,392; 95% ДИ 1,003-1,932, случайные эффекты), учитывая, что ассоциация не была значимой в подгруппе китайских исследований (объединенный OR = 1,080; 95% ДИ 0,870-1,340, фиксированные эффекты). С другой стороны, при общем анализе нулевой генотип GSTT1 не был связан с повышенным риском развития рака шейки матки (объединенный OR = 1,301; 95% ДИ 0,948-1,787, случайные эффекты). Аналогичным образом, не было обнаружено никаких значимых ассоциаций ни в неазиатских, ни в китайских популяциях в отношении

нулевого генотипа GSTT1. Нулевой генотип GSTM1 создает дополнительный риск развития рака шейки матки у некитайских популяций. Тенденция, касающаяся GSTT1, не достигла существенного значения.

Факторы хозяина, включая генетические полиморфизмы, могут объяснить некоторые индивидуальные различия в распространенности рака шейки матки, а информация о восприимчивости может быть полезной для разработки эффективных и конкретных профилактических стратегий для разных стран. Целью настоящего исследования было изучение роли кодона 72 p53, полиморфизмов глутатион S-трансферазы класса mu (GSTM1), глутатион S-трансферазы класса theta (GSTT1) и метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) C677T в риске инфекции и/или внутриэпителиальных поражений шейки матки у женщин, посещающих службу кольпоскопии в Катании, Сицилия, где уже сообщалось о высокой распространенности вируса папилломы человека. Для выявления связи между отдельными генетическими полиморфизмами, инфекцией, вызванной вирусом папилломы человека, и гистологическими данными было разработано исследование случай-контроль. Кроме того, чтобы оценить совокупное влияние этих полиморфизмов на риск развития рака шейки матки, частоты комбинированных генотипов были сопоставлены между пациентками и контрольной группой. Женщины, гомозиготные по генотипу Arg 72 кодона p53, имели в 5,6 раза более высокий риск развития интраэпителиальной неоплазии шейки матки (CIN) 2 или 3 по сравнению с теми, у кого была гомозиготность по генотипу Pro или гетерозиготность по генотипу Pro/Arg. Нулевые генотипы GSTM1 и GSTT1 были чрезмерно представлены у инфицированных пациентов и у женщин с CIN 2 или 3, хотя и без каких-либо значимых ассоциаций. Было показано снижение риска развития CIN у лиц, гомозиготных по аллелю MTHFR. После множественных логистических анализов наличие аллеля 677T гена MTHFR было наилучшим объясняющим фактором защиты от канцерогенеза шейки матки, а распределение аллелей в контрольной группе соответствовало ожиданиям

равновесия Харди-Вайнберга. Тем не менее, результаты нашего исследования все еще должны быть подтверждены дополнительными и более масштабными опросами населения.

Является важным выявить преобразования в восстановленном глутатионе (GSH) и глутатион S-трансферазе (GST) возникающих в период проведения неoadьювантной химиотерапии, в сочетании в дальнейшем лучевой терапии и химиотерапии у заболевших раком шейки матки IIВ-IIIВ стадий, а также рассчитать роль в действенности проведенного лечения. В исследование было включено 36 пациентов, страдающих раком шейки матки IIВ-IIIВ стадий, согласно протоколу исследования фазы II, которым в качестве интенсивного курса, был проведен краткосрочный, регулярностью в одну неделю неoadьювантный курс химиотерапии, включающим в себя гемцитабин и цисплатин, в дальнейшем сопровождающийся химиотлучевой терапией, также на базе цисплатина и гемцитабина. В период до начала специального лечения, были взяты образцы крови с целью проведения корреляции полученных результатов в период до, после и во время специфического лечения. Выявлено статистически значимое увеличение концентрации GSH после неoadьювантной химиотерапии. После химиолучевой терапии значения этого показателя значительно снизились в отличие от концентрации GSH после неoadьювантной химиотерапии в случаях второй В стадии, у больных в результатах которых не зарегистрировано наличие регионарных метастазов, пациентов с положительным эффектом на проведенное лечение, а также при отсутствии развития симптом дальнейшего продолжения заболевания в промежуток первых двух лет. Статистическая достоверность полученных результатов указала на отсутствие каких-либо изменений GST в период проведения терапии, в отличии от статистической достоверности полученной при расчетах ситуации после проведенного лечения, указывающей на высокую достоверность полученных результатов, а именно разницу в концентрациях

GST с точки зрения прогрессирования заболевания и заболевания без прогрессирования.

Анализ результатов исследования, указывает на факт наличия взаимосвязи изменений концентрации GSH во время лечения местнораспространенного рака шейки матки с дальнейшим прогнозом проведенной терапии. Результаты статистической значимости полученные в период проведения лечения, указали на низкую достоверность полученных данных.

Предыдущие исследования показали, что генотипы глутатион-S-трансферазы (GST) могут играть определенную роль в определении предрасположенности к злокачественным новообразованиям шейки матки, однако, окончательная точка в данных исследованиях не поставлена. В связи с этим, целью нашего исследования было изучить взаимосвязь развития злокачественного новообразования шейки матки и полиморфизма GSTP1.

Объектом исследования являлись женщины, с верифицированным диагнозом инвазивного рака шейки матки с положительными результатами на вирус папилломы человека (ВПЧ) (n=342), сравнивались со здоровыми, нормальными женщинами контрольной группы (n=707). ДНК из образцов периферической крови исследуемых субъектов, чьи специфические последовательности GSTP1 были определены методом ПЦР с аллель-специфическими праймерами, были проанализированы в сравнении с нормальным контролем. Генетическая восприимчивость GSTP1 (11q 13.1) к канцерогенезу шейки матки была определена путем изучения влияния генов и факторов окружающей среды на различные гистопатологические типы инвазивного рака шейки матки. При оценке полиморфизма GSTP1 процент особей, гомозиготных по аллелю А, гомозиготных по аллелю G и гетерозиготных по двум аллелям, составил 66,8%, 3,9% и 29,3% соответственно в контрольной группе и 64,3%, 4,1% и 31,6% соответственно среди *in* женщины с раком шейки матки. По сравнению с положительным аллелем GSTP1 G (GA или G/G) отношение шансов (OR) (95%

доверительный интервал) для GSTP1 A/A составило 1,0 (0,7 - 1,4) для инвазивного рака шейки матки. Однако риск повышался при GSTP1 A/A среди когда-либо курильщиков (OR=3,9, 95% ДИ 1,7 - 8,9, $p = 0,0012$) по сравнению с положительным аллелем GSTP1 G среди некурящих. В частности, этот риск был выше среди женщин с плоскоклеточным раком (OR=4,7, 95% ДИ 2,0 - 10,8, $p = 0,0003$). Полиморфизм GSTP1 у курящих женщин был связан с более высоким риском развития рака шейки матки.

Таким образом, обзор литературных данных показал, что при раке шейки матки наблюдается генетический полиморфизм, который имеет большое значение в диагностике и прогнозе болезни. В некоторых случаях изучение полиморфизма генов может способствовать проведению правильной терапии, направленной на улучшение выживаемости.

В наших последующих исследованиях мы думаем, что надо продолжить изучения в данном направлении с захватом влияния факторов риска, оцинивающих роль не только ВПЧ, но и таких, как курение, прием алкоголя, ожирение и некоторых других.

ВЫВОДЫ

1. Присутствие делеции локуса гена глутамин-S-трансферазы (GSTM1) рассматривается как генетический маркер, который статистически достоверно связан с увеличением риска рака шейки матки у лиц кыргызской национальности (Отношение Шансов равно 2,02, с 95% ДИ 1,28-3,20, $p=0,002$).
2. Хромосомная перестройка участка полиморфизма нулевого генотипа гена глутамин-S-трансферазы (GSTT1) является маркером при генетическом исследовании, который связан с повышенным риском развития плоскоклеточного рака шейки матки (отношение шансов = 3,04, 95% ДИ (2,00-4,64), $p<0,0001$).
3. Сочетанное носительство конкретных вариантов полиморфных локусов в генах GSTM1 и GSTT1 и их генетическая манифестация способствуют повышению риска рака шейки матки у женщин кыргызской национальности.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Результаты проведенного исследования, могут быть использованы в качестве теоретического и практического материала при подготовке обучающихся в вузах медицинского профиля, а также биологического.
2. В лечебных учреждениях и лабораториях, специализирующихся на генетических исследованиях, полученные данные позволят проведение дальнейшего исследования не только в кыргызской популяции.
3. Формирование групп риска в зависимости от результатов исследования, способствует проведению профилактических мероприятий с целью снижения риска заболеваемости.
4. Создание «генетической карты» при генетическом консультировании, определение мишеней, а также при проведении таргентной химиотерапии, позволит существенно повлиять на показатели выживаемости пациентов больных раком шейки матки.

Список литературы

1. Анохина Е.Н. 1082G/A, 819C/T, 592C/A полиморфизмы промоторного региона гена интерлейкина-10 и их ассоциация со злокачественными новообразованиями женских репродуктивных органов /Е.Н. Анохина [и др.] // Вестник Адыгейского Государственного университета. – 2013. – №1. – С.87-92.
2. Анохина Е.Н. Ассоциация полиморфизмов генов IL-4, IL-2 со злокачественными новообразованиями женских репродуктивных органов / Е.Н.Анохина [и др.] //Вестник Адыгейского государственного университета. – 2014. – №1. – С. 54-58.
3. Анохина Е.Н. Полиморфизмы генов про- и противовоспалительных цитокинов, мутации генов BRCA 1/2 при злокачественных новообразованиях органов женской репродуктивной системы //Автореф. Дисс. Канд. Мед. Наук – 2015. – 25 с.
4. Анохина, Е.Н. 1082G/A, 819C/T, 592C/A полиморфизмы промоторного региона гена интерлейкина-10 и их ассоциация со злокачественными новообразованиями женских репродуктивных органов / Е.Н. Анохина // Вестник Адыгейского Государственного Университета. Серия естественно-математических и технических наук. - 2013. – Выпуск 2. - С. 30-36.
5. Анохина, Е.Н. Этногеографические особенности распределения мутаций генов BRCA 1/2 при злокачественных новообразованиях женских репродуктивных органов /Е.Н. Анохина //Вестник Адыгейского Государственного Университета. Серия естественно-математических и технических наук. - 2012. -Выпуск2(101).-С. 80-93.
6. Барков Е.С. Факторы риска в развитии саркомы и миомы тела матки (молекулярно-эпидемиологический анализ) тема диссертации и автореферата по ВАК РФ 14.00.14, кандидат медицинских наук Барков, Евгений Сергеевич. – 2008. – Томск. – 131 с.

7. Биджиева, Б.А. Исследование генетического полиморфизма цитокинов у больных раком шейки матки / Б. А. Биджиева [и др.] // Кремлевская медицина, Клинический вестник. – 2007. – №3. – С.63-64.
8. Брага Э.А. Идентификация потенциальных онкогенов и генов-супрессоров эпителиальных опухолей человека тема диссертации и автореферата по ВАК РФ 03.00.03, доктор биологических наук Брага, Элеонора Александровна. – Москва. – 2007. – 281 с.
9. Волгарева Г.М., Головина Д.А., Гаспарьян Н.М. и др. Экспрессия гена STAT1 в карциномах шейки матки // БИОХИМИЯ, 2007, том 72, вып. 7, с. 941 - 947
10. Грицко Т.М. Вирусные и клеточные гены, вовлеченные в HPV-ассоциированный канцерогенез шейки матки // диссертации и автореферата по ВАК РФ 14.00.14, кандидат биологических наук Грицко, Татьяна Михайловна. – Москва. – 2000. – 136 с.
11. Громова А.Ю. Полиморфизм генов семейства IL-1 человека / А.Ю. Громова, А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2006. – Т.4, №2. – С. 1- 12.
12. Гумилевская О.П., Киселева Т.С., Риттер М.А., Цыган В.Н. Роль аллельного полиморфизма генов рецепторов врожденного иммунитета в персистенции вируса папилломы человека // Журнал инфектологии. – Том 8, № 4, 2016. – С.46-52.
13. Дмитриев А.А. Применение Not1-микрочипов для диагностики рака шейки матки. Сборник тезисов, Осенний финал по программе «У.М.Н.И.К.» РАН - 2012. Москва. 2012. с. 11-13.
14. Дмитриев А.А. Анализ генетических и эпигенетических нарушений хромосомы 3 человека при раке легкого, шейки матки и яичников // Автореф. Дис.. 03.01.03 - Молекулярная биология, 2013, Москва. – 40 с.

- 15.Имянитов Е.Н. Хансон К.П. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА В КЛИНИЧЕСКОЙ ОНКОЛОГИИ //сибирский онкологический журнал, 2004. - №4. – С. 40-48.
- 16.Имянитов Е.Н., Комочков И.Б., Аыщев А.А., Того Л.К. Молекулярная и клиническая онкология: точки соприкосновения // Эксперим. онкол. 1993. № 5. С. 3—8.
- 17.Имянитов Е.Н., Ксишновскш В.П., Князев П.Г. и др. Мо лекулярная генетика опухолей человека // Бопр. онкологии. 1997. Т. 43, № 1. С 95-101.
- 18.Имянитов Е.Н., Хансон К.П. Молекулярные аспекты патогенеза первично-множественных опухолей // Рос. он кол. журнал. 1998. № 5. С. 47-50.
- 19.Климов Е.А. Интеграция вирусов папилломы человека в геном клетки хозяина и патогенез рака шейки матки //УСПЕХИ СОВРЕМЕННОЙ БИОЛОГИИ, 2010, том 130, № 4, с. 381-389
- 20.Кононова И.Н. Цервикальные интраэпителиальные неоплазии: прогнозирование, лечение, реабилитация //тема диссертации и автореферата по ВАК РФ 14.01.01, доктор медицинских наук Кононова, Ирина Николаевна. – 2017. – Челябинск. – 293 с.
- 21.Кононова И.Н. Эпидемиология папилломавирусной инфекции в крупном промышленном городе / И.Н.Кононова // Ж. Охрана материнства и детства. - Беларусь (Витебск). - 2015. - № 1(25). - С. 52 - 58.
- 22.Кононова И.Н. Эпидемиология цервикальных интраэпителиальных неоплазий в Екатеринбурге / И.Н.Кононова // Материалы VIII Конференции с международным участием «Перинатальная медицина: новые технологии и междисциплинарные подходы». - 2016. - с. 26-29.
- 23.Короленкова Л. И. Клинические и молекулярно-генетические основы предрака и ранних форм рака шейки матки: диссертация ... доктора медицинских наук: 14.01.12 / Короленкова Любовь Ивановна; [Место

- защиты: ГУ "Российский онкологический научный центр РАМН"].- Москва, 2013.- 280 с.: ил.
24. Ляхович В.В., Вавилин В.А., Гришанова А.Ю. и др. Геномная медицина и новые подходы к диагностике и лечению онкозаболеваний // Сибирский научный медицинский журнал. Бюллетень СО РАМН 2004 №2 (112) С.20-27.
25. Обоскалова Т.А. Эпидемиологические особенности рака шейки матки у жительниц крупного промышленного города / Обоскалова Т.А., Кононова И.Н., Севостьянова О.Ю., Берзин С.А. // Уральский медицинский журнал. - 2014. - №4(118). - С.69 - 72.
26. Петренко А. А. Анализ метилирования ДНК при раке шейки матки: Дис. ... канд. биол. наук: 14.00.14: Москва, 2003 110 с.
27. Петрусенко Н.А. Никитина В.П., Спиридонова Д.А. Изменение копийности генов при раке шейки матки // ЖУРНАЛ Research'n Practical Medicine Journal, 2019
28. Рахманалиев Э.Р., Климов Е.А., Сулимова Г.Е. // Методы картирования геномов млекопитающих // Успехи современной биологии, 2004, том 124, № 3, с. 286-302
29. Ризванова Ф.Ф. Генетическая диагностика: полиморфизм генов цитокинов / Ф.Ф. Ризванова [и др.] // Практическая медицина. – 2010. – №6. – С.41-43.
30. Самойлова Э.В. Молекулярные маркеры рака шейки матки // Автореф. Дис. Канд. Мед наук Москва, 1996. – 25 с.
31. Сенченко В.Н., Киселева Н.П., Дмитриев А.А., Краснов Г.С., Кашуба В.И., Забаровский Е.Р. Новые кандидаты в гены-супрессоры хромосомы 3 при раке шейки матки, обнаруженные с применением Nof1-микрочипов. // Вопросы Онкологии. 2013. приложение к 59(3): с. 124.
32. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т.3, №2. – С.16-22.

33. Сулимова Г.Е. ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения // Успехи современной биологии, 2004, том 124, № 3, с. 260-271
34. Тугуз А.Р. G197/197A полиморфизмы гена провоспалительного IL-17A при сердечнососудистых заболеваниях и злокачественных новообразованиях женских репродуктивных органов у жителей Республики Адыгея /А.Р. Тугуз, Д.В. Муженя, Е.Н. Анохина, А.С. Дорошенко, Т.М. Ашканова // Вестник Адыгейского Государственного Университета. Серия естественно-математических и технических наук. -2012. -Выпуск 1(98).- С. 120-129.
35. Тугуз А.Р. Ассоциация G197/197A аллелей гена провоспалительного цитокина IL-17A с низкодифференцированной аденокарциномой при злокачественных новообразованиях женских репродуктивных органов в этнических группах населения Республики Адыгея /А.Р. Тугуз, Е.Н. Анохина, Д.В. Муженя, Л.Д. Алдошина, К.А. Руденко, Т.М. Ашканова, А.Ф. Кизянов // Вестник Адыгейского Государственного Университета. Серия естественно-математических и технических наук.-2012. -Выпуск 3(106). -С. 123-130.
36. Тугуз А. Р. Локусная гетерогенность генов IL-17A (G197) И IL-17F (161ARG) при злокачественных новообразованиях женских репродуктивных органов / А. Р. Тугуз [и др.] // Иммунология. – 2013. – № 3. – С. 152-155.
37. Тугуз А.Р. Сывороточные уровни, спонтанная и стимулированная *in vitro* продукция IL-17A, IL-2, IL-4, IL-10 при злокачественных новообразованиях женских репродуктивных органов / А.Р. Тугуз, Е.Н. Анохина, К.А. Руденко, Д.В. Муженя // Иммунология. - 2014. — № 1. - С. 24-27.
38. Цыган В.Н. Генетический полиморфизм цитокинов / В.Н. Цыган [и др.] // Вестник Российской Военно-Морской Академии. – 2010. – №2. – С. 211-219.

39. Abbas M., Srivastava K., Imran M., Banerjee M. (2014). Association of CYP1A1 gene variants rs4646903 (T>C) and rs1048943 (A>G) with cervical cancer in a North Indian population. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 176, 68–74.
40. Abbas M., Kushwaha V.S., Srivastava K., et al. Glutathione S-Transferase Gene Polymorphisms and Treatment Outcome in Cervical Cancer Patients under Concomitant Chemoradiation. // *PLoS One*. 2015 Nov 16;10(11):e0142501.
41. Abbas M., Kushwaha V.S., Srivastava K., et al. Impact of GSTM1, GSTT1 and GSTP1 genes polymorphisms on clinical toxicities and response to concomitant chemoradiotherapy in cervical cancer. // *Br J Biomed Sci*. 2018 Oct;75(4):169-174.
42. Billington B.P. Gastric cancer; relationships between ABO blood groups, site, and epidemiology. // *Lancet*. 1956; 271: 859–862.
43. Bu M., Li L., Zhang Y., et al. Lysyl oxidase genetic variants affect gene expression in cervical cancer. // *DNA Cell Biol*. 2014 Nov;33(11):787-92.
44. Chauhan A., Pandey N., Raithatha N., et al. Absence of toll-like receptor 9 Pro99Leu polymorphism in cervical cancer. // *Version 2. F1000Res*. 2018 May 17 [revised 2018 Aug 30];7:606.
45. Crofts F., Taioli E., Trachman J., Cosma G. N., Currie D., Toniolo P., et al. . (1994). Functional significance of different human CYP1A1 genotypes. *Carcinogenesis* 15, 2961–2963. 10.1093/carcin/15.12.2961
46. Denslow S. A., Knop G., Klaus C., et al. (2012). Burden of invasive cervical cancer in North Carolina. *Prev. Med.* 54, 3–4.
47. DeSantis C.E., Ma J., Goding Sauer A., et al. Breast cancer statistics, 2017, racial disparity in mortality by state. // *CA Cancer J Clin*. 2017 Nov;67(6):439-448. doi: 10.3322/caac.21412. Epub 2017 Oct 3.
48. Ding F. Y., Ma G. F., Song X. H., et al. (2011). Relationship between CYP1A1 gene polymorphism and genetic susceptibility of cervical carcinoma. *Jiangsu Med. J.* 37, 2562–2564.

49. Dmitriev A.A., Kashuba V.I., Haraldson K., et al. Genetic and epigenetic analysis of non-small cell lung cancer with NotI-microarrays. //Epigenetics. 2012. 7(5): p. 502-513.
50. Escobar-Morreale H.F., Luque-Ramirez M., San Millan J.L. The molecular-genetic basis of functional hyperandrogenism and the polycystic ovary syndrome. *Endocr. Rev.* 2005; 26: 251–282.
51. Ferreira P.M., Catarino R., Pereira D., et al. Cervical cancer and CYP2E1 polymorphisms: implications for molecular epidemiology. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2006; 62: 15–21.
52. Forouzanfar M. H., Foreman K. J., Delossantos A. M., et al. (2011). Breast and cervical cancer in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *Lancet* 378, 1461–1484.
53. Geng J., Shi Y. R., Wang H., Qin R. (2010). Research of cytochrome P450 1A1 Ile/Val polymorphism and genetic susceptibility in cervical cancer. *J. Bengbu Med. Coll.* 35, 762–767.
54. Gong J.M., Shen Y., Shan W.W., et al. The association between MTHFR polymorphism and cervical cancer. // *Sci Rep.* 2018 May 8;8(1):7244.
55. Gönül N, Kadioglu E, Kocabaş NA, Ozkaya M, Karakaya AE, Karahalil B. The role of GSTM1, GSTT1, GSTP1, and OGG1 polymorphisms in type 2 diabetes mellitus risk: a case-control study in a Turkish population. // *Gene.* 2012 Aug 15;505(1):121-7.
56. Gönül N., Kadioglu E., Kocabaş N.A., et al. The role of GSTM1, GSTT1, GSTP1, and OGG1 polymorphisms in type 2 diabetes mellitus risk: a case-control study in a Turkish population. // *Gene.* 2012 Aug 15;505(1):121-7.
57. Gorukmez O, Yakut T, Gorukmez O, et al. Glutathione S-transferase T1, M1 and P1 Genetic Polymorphisms and Susceptibility to Colorectal Cancer in Turkey. // *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016;17(8):3855-9.
58. Goswami D., Conway G.S. Premature ovarian failure. *Hum. Reprod. Update.* 2005; 11: 391–410.

59. Gutman G., Morad T., Peleg B., et al. (2009). CYP1A1 and CYP2D6 gene polymorphisms in Israeli Jewish women with cervical cancer. //Int. J. Gynecol. Cancer 19, 1300–1302.
60. Honma H.N., De Capitani E.M., Perroud M.W. Jr., et al. Influence of p53 codon 72 exon 4, GSTM1, GSTT1 and GSTP1*B polymorphisms in lung cancer risk in a Brazilian population. //Lung Cancer. 2008 Aug;61(2):152-62.
61. Huang Y. K., Hsieh H. C., Sun J. A., et al. (2006). Genetic polymorphisms of phase I and phase II xenobiotic enzymes in human papillomavirus related lesion and cancer of the uterine cervix. //Tzu Chi Med. J. 18, 267-274+328.
62. Jain V., Ratre Y.K., Amle D., et al. Polymorphism of CYP1A1 gene variants rs4646903 and rs1048943 relation to the incidence of cervical cancer in Chhattisgarh. // Environ Toxicol Pharmacol. 2017 Jun;52:188-192.
63. Jin H., Lu X., Ni J., et al. HOTAIR rs7958904 polymorphism is associated with increased cervical cancer risk in a Chinese population. //Sci Rep. 2017 Jun 9;7(1):3144.
64. Joseph T., Chacko P., Wesley R., et al. (2006). Germline genetic polymorphisms of CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 genes in Indian cervical cancer: associations with tumor progression, age and human papillomavirus infection. //Gynecol. Oncol. 101, 411–417.
65. Karam R.A., Pasha H.F., El-Shal A.S., et al. Impact of glutathione-S-transferase gene polymorphisms on enzyme activity, lung function and bronchial asthma susceptibility in Egyptian children. //Gene. 2012 Apr 15;497(2):314-9.
66. Kiran B., Karkucak M, Ozan H, et al. GST (GSTM1, GSTT1, and GSTP1) polymorphisms in the genetic susceptibility of Turkish patients to cervical cancer. //J Gynecol Oncol. 2010 Sep;21(3):169-73.
67. Klusek J., Nasierowska-Guttmejer A., Kowalik A., et al. *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* polymorphisms and colorectal cancer risk in Polish nonsmokers. //Oncotarget. 2018 Apr 20;9(30):21224-21230.

68. Kordi Tamandani D.M. Association of Fas-670 gene polymorphism with risk of cervical cancer in North Indian population. //Clin. Exp. Obstet. Gynecol. – 2008. – V. 35(3). – P.183-6.
69. Lakhdar R, Denden S, Knani J, et al. Combined analysis of EPHX1, GSTP1, GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms in relation to chronic obstructive pulmonary disease risk and lung function impairment.//Dis Markers. 2011;30(5):253-63.
70. Layman L.C. Editorial: BMP15 — the first true ovarian determinant gene on the X-chromosome? J. Clin. Endocrinol. Metab. 2006; 91: 1673–1676.
71. Levanat S., Musani V., Komar A., Oreskovic S. Role of the hedgehog/patched signaling pathway in oncogenesis: a new polymorphism in the PTCH gene in ovarian fibroma. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2004; 1030: 134–143.
72. Li C., Ding X.P., Fu L., et al. Association between glutathione-S-transferase gene polymorphisms (GSTM1, GSTT1 and GSTP1) and idiopathic azoospermia. // Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi. 2013 Feb;30(1):102-5.
73. Li S., Li G., Kong F., et al. (2016). The association of CYP1A1 gene with cervical cancer and additional SNP-SNP interaction in Chinese women. J. Clin. Lab. Anal. 30, 1220–1225.
74. Li-Na Wang, Fen Wang, Jie Liu, et al. *CYP1A1* Ile462Val Polymorphism Is Associated with Cervical Cancer Risk in Caucasians Not Asians: A Meta-Analysis // Front Physiol. 2017; 8: 1081.
75. Luo X. A single nucleotide polymorphism in EXO1 gene is associated with cervical cancer susceptibility in Chinese patients. /X. Luo, X.S. Hong, X.S., et al. //Int. J. Gynecol. Cancer. – 2012. – V. 22(2). – P.220-5.
76. Matic M., Pekmezovic T., Djukic T., et al. GSTA1, GSTM1, GSTP1, and GSTT1 polymorphisms and susceptibility to smoking-related bladder cancer: a case-control study.//Urol Oncol. 2013 Oct;31(7):1184-92.

77. Matos A., Castela C., Pereira da Silva A., et al. (2016). Epistatic Interaction of CYP1A1 and COMT Polymorphisms In Cervical Cancer. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016:2769804. 10.1155/2016/2769804
78. Modugno F. Ovarian cancer and polymorphisms in the androgen and progesterone receptor genes: a HuGE review. // *Am. J. Epidemiol.* 2004; 159: 319–335
79. Ng D. P., Tan K. W., Zhao B., Seow A. (2005). CYP1A1 polymorphisms and risk of lung cancer in non-smoking Chinese women: influence of environmental tobacco smoke exposure and GSTM1/T1 genetic variation. // *Cancer Causes Control* 16, 399–405.
80. Ott K, Lordick F, Becker K, et al. Glutathione-S-transferase P1, T1 and M1 genetic polymorphisms in neoadjuvant-treated locally advanced gastric cancer: GSTM1-present genotype is associated with better prognosis in completely resected patients. // *Int J Colorectal Dis.* 2008 Aug;23(8):773-82.
81. Pabalan N. A. (2010). Meta-analysis in cancer genetics. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 11, 33–38.
82. Palma S., Novelli F., Padua L., et al. Interaction between glutathione-S-transferase polymorphisms, smoking habit, and HPV infection in cervical cancer risk. // *J Cancer Res Clin Oncol.* 2010 Jul;136(7):1101-9.
83. Patel H., Jevé Y. B., Sherman S. M., Moss E. L. (2016). Knowledge of human papillomavirus and the human papillomavirus vaccine in European adolescents: a systematic review. *Sex. Transm. Infect.* 92, 474–479.
84. Pu X., Gu Z., Wang X. Polymorphisms of the interleukin 6 gene and additional gene-gene interaction contribute to cervical cancer susceptibility in Eastern Chinese women. // *Arch Gynecol Obstet.* 2016 Nov;294(6):1305-1310.
85. Qin J., Zhang J. X., Li X. P., et al. (2014). Association between the CYP1A1 A2455G polymorphism and risk of cancer: evidence from 272 case-control studies. // *Tumour Biol.* 35, 3363–3376.

86. Rodriguez-Antona C., Gomez A., Karlgren M., et al. (2010). Molecular genetics and epigenetics of the cytochrome P450 gene family and its relevance for cancer risk and treatment. //Hum. Genet. 127, 1–17.
87. Roszak A., Lianeri M., Sowinska A., Jagodzinski P. P. (2014). CYP1A1 Ile462Val polymorphism as a risk factor in cervical cancer development in the Polish population. //Mol. Diagn. Ther. 18, 445–450.
88. Rotondi M. A., Bull S. B. (2012). Cumulative meta-analysis for genetic association: when is a new study worthwhile? //Hum. Hered. 74, 61–70. 10.1159/000345604
89. Safarinejad M.R., Shafiei N., Safarinejad S. The association of glutathione-S-transferase gene polymorphisms (GSTM1, GSTT1, GSTP1) with idiopathic male infertility. //J Hum Genet. 2010 Sep;55(9):565-70.
90. Safarinejad M.R., Shafiei N., Safarinejad S.H. Glutathione S-transferase gene polymorphisms (GSTM1, GSTT1, GSTP1) and prostate cancer: a case-control study in Tehran, Iran.//Prostate Cancer Prostatic Dis. 2011 Jun;14(2):105-13.
91. Safarinejad M.R., Safarinejad S., Shafiei N., Safarinejad S. Association of genetic polymorphism of glutathione S-transferase (GSTM1, GSTT1, GSTP1) with bladder cancer susceptibility. //Urol Oncol. 2013 Oct;31(7):1193-203.
92. Safarinejad M.R., Shafiei N., Safarinejad S. The association of glutathione-S-transferase gene polymorphisms (GSTM1, GSTT1, GSTP1) with idiopathic male infertility.//J Hum Genet. 2010 Sep;55(9):565-70.
93. Safarinejad MR, Shafiei N, Safarinejad SH. Glutathione S-transferase gene polymorphisms (GSTM1, GSTT1, GSTP1) and prostate cancer: a case-control study in Tehran, Iran. //Prostate Cancer Prostatic Dis. 2011 Jun;14(2):105-13.
94. Senchenko V.N., Kisseljova N.P., Ivanova T.A., et al. Novel tumor suppressor candidates on chromosome 3 revealed by NotI-microarrays in cervical cancer. //Epigenetics. 2013. 8(4): p. 409-420.

95. Sargentanis T. N., Economopoulos K. P., Choussein S., Vlahos N. F. (2012). Cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) gene polymorphisms and cervical cancer risk: a meta-analysis. *Mol. Biol. Rep.* 39, 6647–6654.
96. Shi Y. R., Geng J., Cheng L. Q., et al. (2011). Association of Cytochrome P450 1A1 gene polymorphisms with cervical cancer. // *Fudan Univ. J. Med. Sci.* 38, 428–431.
97. Singh N., Hussain S., Sharma U., et al. The protective role of the -1306C>T functional polymorphism in matrix metalloproteinase-2 gene is associated with cervical cancer: implication of human papillomavirus infection. // *Tumour Biol.* 2016 Apr;37(4):5295-303.
98. Sobti R.C., Kaur S., Kaur P., et al. Interaction of passive smoking with GST (GSTM1, GSTT1, and GSTP1) genotypes in the risk of cervical cancer in India. // *Cancer Genet Cytogenet.* 2006 Apr 15;166(2):117-23.
99. Sood A. K. (1991). Cigarette smoking and cervical cancer: meta-analysis and critical review of recent studies. // *Am. J. Prev. Med.* 7, 208–213.
100. Sreeja L., Syamala V., Hariharan S., et al. Glutathione S-transferase M1, T1 and P1 polymorphisms: susceptibility and outcome in lung cancer patients. // *J Exp Ther Oncol.* 2008;7(1):73-85.
101. Sugawara T., Nomura E., Sagawa T., et al. (2003). CYP1A1 polymorphism and risk of gynecological malignancy in Japan. // *Int. J. Gynecol. Cancer* 13, 785–790.
102. Taskiran C., Aktas D., Yigit-Celik N., et al. (2006). CYP1A1 gene polymorphism as a risk factor for cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer. *Gynecol. Oncol.* 101, 503–506.
103. Tian S., Zhang J., Xiao Q., Zhai J., et al. The association between genetic polymorphisms of GSTM1, GSTT1, GSTP1 and susceptibility to laryngeal carcinoma from the Han people in Guangdong zone. // *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi.* 2011 Mar;25(5):204-10.
104. Tulsyan S., Chaturvedi P., Agarwal G., et al. Pharmacogenetic influence of GST polymorphisms on anthracycline-based chemotherapy

- responses and toxicity in breast cancer patients: a multi-analytical approach.//Mol Diagn Ther. 2013 Dec;17(6):371-9.
105. V V, K V, Paul SF, P V. Genetic variation of GSTM1, GSTT1 and GSTP1 genes in a South Indian population. //Asian Pac J Cancer Prev. 2006 Apr-Jun;7(2):325-8.
106. Von K. H., Bergmann T., Schuetz M., et al. (2011). Analysis of 4 single-nucleotide polymorphisms in relation to cervical dysplasia and cancer development using a high-throughput ligation-detection reaction procedure. //Int. J. Gynecol. Cancer 21, 1664–1671.
107. Wang S., Sun H., Jia Y., et al. (2015). Association of 42 SNPs with genetic risk for cervical cancer: an extensive meta-analysis. //BMC Med. Genet. 16:25.
108. Wu B., Liu K., Huang H., et al. (2013). MspI and Ile462Val polymorphisms in CYP1A1 and overall cancer risk: a meta-analysis. //PLoS ONE 8:e85166. 10.1371/journal.pone.0085166
109. Xu H.B., Yang H., Liu T., Chen H. Association of CTLA4 gene polymorphism (rs5742909) with cervical cancer: a meta-analysis.// Tumour Biol. 2014 Feb;35(2):1605-8.
110. Xu X.J., Zou L.W., Wang D.B. Cervical cancer with polymorphism in MTHFR C677T gene: a systematic review and meta-analysis.// Mol Biol Rep. 2013 Jan;40(1):255-62.
111. Yang S., Jia C., Zhu H., Han S. (2012). CYP1A1 Ile462Val polymorphism and cervical cancer: evidence from a meta-analysis.//Tumour Biol. 2012 Dec;33(6):2265-72.
112. Zeng X. T., Xiong P. A., Wang F., et al. (2012). Passive smoking and cervical cancer risk: a meta-analysis based on 3,230 cases and 2,982 controls.//Asian Pac J Cancer Prev. 2012;13(6):2687-93.
113. Zhang S., Kong Y.L., Li Y.L., Yin Y.W. Interleukin-10 gene -1082 G/A polymorphism in cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia: meta-analysis. //J Int Med Res. 2014 Dec;42(6):1193-201.

114. Zhong S.L., Zhou S.F., Chen X., et al. Relationship between genotype and enzyme activity of glutathione S-transferases M1 and P1 in Chinese. //Eur J Pharm Sci. 2006 May;28(1-2):77-85. Epub 2006 Feb 20.

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе
Кыргызско-Российского Славянского Университета
им. Б.Н. Ельцина,

Д-р физ.-мат. наук, профессор

В.М. Лелевкин

« 25 » августа 2023 г.



**Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы в учебный процесс
кафедры онкологии и лучевой терапии КРСУ им. Б.Н. Ельцина**

1. **Автор внедрения:** Юсуфова М.А., Кыргызско-Российский Славянский Университет им. Б.Н. Ельцина.
2. **Наименование научно-исследовательской работы:** «Роль генов биотрансформации в развитии рака репродуктивной системы у женщин кыргызской национальности»
3. **Краткая аннотация:** Объект исследования: пациентки женского пола больные раком шейки матки. Цель исследования – оценить роль однонуклеотидных полиморфизмов генов *GSTM1/rs366631*, *GSTP1/rs1695* и *TP53 (rs104252)* и *GSTT1/rs17856199* при раке шейки матки в кыргызской популяции. Методы и методология проведения исследования: клинический, дизайн – ретро и проспективный, когортный анализ. Впервые в Кыргызстане определена роль полиморфизмов *GSTM1/rs366631*, *GSTP1/rs1695* и *TP53 (rs104252)* и *GSTT1/rs17856199* в генезе РШМ. Впервые охарактеризована связь исследуемых полиморфизмов с некоторыми клинико-морфологическими характеристиками опухоли.
4. **Эффект от внедрения** Результаты молекулярно-генетических исследований рекомендуются к использованию при подготовке студентов высших учебных заведений биологического и медицинского профиля, а также в учреждениях здравоохранения и академических лабораториях молекулярно-генетической направленности при формировании групп риска рака шейки матки. Метод поможет выявлять группы высокого онкологического риска, проводить профилактические мероприятия в этих группах и, таким образом, существенно снижать заболеваемость.
5. **Место и время внедрения:** организация здравоохранения в части онкогинекологии. Материалы НИР внедрены в учебный процесс кафедры онкологии лучевой терапии КРСУ (г. Бишкек, ул. Ахунбаева, 92) для обучения студентов 6 курса специальности «Педиатрическое дело» с сентября 2022 года по настоящее время.
6. **Форма внедрения:** теоретический материал для объяснения по теме «Диагностика рака шейки матки».

Зав. каф. онкологии и лучевой терапии
д.м.н., профессор

Начальник управления инноваций в
образовании и науке КРСУ,
к.г.-м.н., профессор



З.П. Камарли

Н.Н. Малюкова

20.04.2023г.

ПОДПИСЬ ЗАВЕРЯЮ
ОК ГОУВПО КРСУ
ИНН 01512199310054

(Handwritten signature)