

СОЧЕТАННОЕ НАЛИЧИЕ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ В ГЕНАХ, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА КОНТРОЛЬ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА И МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК *DE NOVO*, В УВЕЛИЧЕНИИ РИСКА РАЗВИТИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

THE COMBINED PRESENCE OF PATHOGENIC SIGNIFICANCE OF POLYMORPHIC VARIANTS IN THE GENES RESPONSIBLE FOR THE FOLATE CYCLE AND DNA METHYLATION *DE NOVO*, INCREASES THE RISK OF DEVELOPING BREAST CANCER

**В. Н. Кипень¹, Е. В. Снытков², С. Б. Мельнов³
V. Kipen¹, E. Snytkov², S. Melnov³**

¹ГУ «Научно-практический центр Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь»,

²Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,

³РУП «БелНИЦ «Экология», г. Минск, Республика Беларусь
evsnytkov@gmail.com

¹Scientific and Practical Centre of the State Committee of Forensic Expertises,

²Belarusian State University, ISEI BSU,

³Belarusian Research Center «Ecology», Minsk, Republic of Belarus

С помощью метода Multifactor Dimensionality Reduction выявлены особенности взаимодействия полиморфных вариантов ключевых генов, задействованных в: 1) процессах метилирования и реметилирования ДНК – г. 10168778G>A (*DNMT1*, rs2162560), п.Н97R (*DNMT1*, rs16999593), г. 25512438T>G (*DNMT3A*, rs12999687) и г. 70391172G>T (*TET1*, rs7907322); 2) фолатного цикла – п. Е429А (*MTHFR*, rs1801131), – в модификации риска развития спорадического РМЖ. Повышенный риск развития РМЖ выявлен при наличии генетического профиля (сочетании генотипов для неаллельных генов): АА (*MTHFR*, rs1801131) и ТG (*TET1*, rs7907322), – ОШ = 2,41 (95 % ДИ = [1,56–3,41], $p < 0,01$).

Using the method of Multifactor Dimensionality Reduction identified features of interaction of polymorphic variants of key genes involved in: 1) the processes of methylation and remethylation DNA – g. 10168778G>A (*DNMT1*, rs2162560), p.Н97R (*DNMT1*, rs16999593), g. 25512438T>G (*DNMT3A*, rs12999687) and g. 70391172G>T (*TET1*, rs7907322); 2) folate cycle – p. E429A (*MTHFR*, rs1801131), – in modification of the risk of developing sporadic breast cancer. An increased risk of developing breast cancer identified by the presence of a genetic profile (combination of genotypes for nonallelic genes): AA (*MTHFR*, rs1801131) and TG (*TET1*, rs7907322), – OR = 2,41 (95 % CI = [1,56–3,41], $p < 0,01$).

Ключевые слова: рак молочной железы, отношение шансов, предрасположенность, метилирование ДНК, фолатный цикл, DNMT1, DNMT3A, TET1, MTHFR, Multifactor Dimensionality Reduction.

Keywords: breast cancer, odds ratio, susceptibility, DNA methylation, folate cycle, DNMT1, DNMT3A, TET1, MTHFR, Multifactor Dimensionality Reduction.

Введение. Процессы метилирования ДНК в рамках физиологической нормы зависят от корректного функционирования ряда метаболических путей, ключевыми из которых являются метаболизм фолатов (ген *MTHFR*), ре-/деметилирование ДНК и метилирование *de novo* (гены *DNMT1*, *DNMT3a*, *TET1*).

Метаболизм фолатов – важное звено первичного метаболизма клетки. Является поставщиком одноуглеродных фрагментов для таких жизненно важных клеточных процессов, как регенерация метионина, биосинтез пуриновых нуклеотидов и превращение уридинмонофосфата в тимидилат, метилирование ДНК и РНК и др. Нарушения метаболизма фолатов влияют на стабильность ДНК – данные процессы лежат в основе канцерогенеза [1]. Ген *MTHFR* (methylene tetrahydrofolate reductase, NCBI Gene ID 4524) играет ключевую роль в метаболизме фолиевой кислоты. Наиболее изученными ОНП гена *MTHFR* являются С677Т (п. А222V, rs1801133) и А1298С (п. Е429А, rs1801131) – уменьшение ферментативной активности на 60–70 % в зависимости от генотипа ассоциировано с модификацией риска развития гормонально зависимой онкопатологии, например, РМЖ и/или раком яичников (РЯ) [2]. В ряде исследований была показана статистически значимая ассоциация между наличием патогенетически значимого генотипа для ОНП rs1801133 и rs1801131 и повышенным риском развития РМЖ [3].

Метилирование цитозина в составе CpG островков является необходимым инструментом регулирования активности генов, импринтинга, инактивации X-хромосомы, поддержания целостности генома и его защиты от встраивания ретровирусов и транспозонов. В клетках млекопитающих важную роль в этом процессе играют

ДНК-метилтрансферазы (DNMT) и метилдиоксигеназы (TET). Аберрантное метилирование регуляторных областей генов-онкосупрессоров показано для подавляющего большинства известных спорадических онкопатологий и происходит на самых ранних стадиях заболевания до проявления клинических признаков профиля метилирования в дочерней цепи во время репликации ДНК. В ряде исследований была продемонстрирована роль ОНП генов *DNMT1* (DNA methyltransferase 1, NCBI Gene ID 1786), *DNMT3a* (DNA methyltransferase 3 alpha, NCBI Gene ID 1788) и *TET1* (tet methylcytosine dioxygenase 1, NCBI Gene ID 80312) в модификации риска развития РМЖ [4–5].

Цель и задачи. С помощью метода Multifactor Dimensionality Reduction выявить особенности взаимодействия полиморфных вариантов ключевых генов, задействованных в: 1) процессах метилирования и реметилирования ДНК – г. 10168778G>A (*DNMT1*, rs2162560), р. Н97R (*DNMT1*, rs16999593), г. 25512438T>G (*DNMT3A*, rs12999687) и г. 70391172G>Т (*TET1*, rs7907322); 2) фолатном цикле – р. Е429А (*MTHFR*, rs1801131), – в модификации риска развития спорадического РМЖ.

Материалы и методы. В исследование были включены 169 пациентов со спорадической формой РМЖ. В группу сравнения вошли 185 условно здоровых пациентов без онкологической патологии в анамнезе на момент забора крови. Результаты генотипирования ОНП р. Е429А (*MTHFR*, rs1801131) представлены в [1], г. 10168778G>А (*DNMT1*, rs2162560), р. Н97R (*DNMT1*, rs16999593), г. 25512438T>G (*DNMT3A*, rs12999687) и г. 70391172G>Т (*TET1*, rs7907322) – в [6]. Анализ межгенных взаимодействий проводили с помощью программы MDR v.3.0.2. Математической базой данной программы является непараметрический кластерный анализ, который служит альтернативой логистической регрессии для обнаружения и описания нелинейного типа взаимодействия между дискретными генетическими предикторами.

Результаты исследования. В проведенном исследовании были проанализированы все возможные комбинации полиморфных вариантов для приведенных выше ОНП генов *DNMT1*, *DNMT3a*, *TET1* и *MTHFR*, – у пациентов со спорадической формой РМЖ и в группе сравнения. В процессе моделирования были использованы высоко консервативные настройки поиска конфигурации модели, которые позволили однозначно дифференцировать наличие/отсутствие статистически значимых эффектов [8].

В результате анализа межгенных взаимодействий были установлены четыре статистически значимые модели. Наилучшие показатели сбалансированной точности (BA, Balanced accuracy), чувствительности (Sen., Sensitivity), специфичности (Spe., Specificity) и воспроизводимости (CVC, Cross-validation Consistency) были отмечены для модели «*MTHFR* (rs1801131) / *TET1* (rs7907322)» – BA = 71,85 %, Sen. = 70,69 %, Spe. = 73,02, CVC = 100/100.

Повышенный риск развития РМЖ выявлен при наличии генетического профиля (сочетании генотипов для неаллельных генов): AA (*MTHFR*, rs1801131) и TG (*TET1*, rs7907322), – ОШ = 2,41 (95 % ДИ = [1,56–3,41], p < 0,01). Протективный эффект показан при сочетании генотипов: AC (*MTHFR*, rs1801131) и TG (*TET1*, rs7907322), – ОШ = 0,37 (95 % ДИ = [0,16–0,68], p < 0,01).

Выводы. В результате анализа межгенных взаимодействий полиморфных вариантов генов метаболизма фолатов (*MTHFR*), а также ре-/деметилирования ДНК и метилирования *de novo* (*DNMT1*, *DNMT3a*, *TET1*) в развитии спорадического РМЖ с использованием метода Multifactor Dimensionality Reduction были найдены статистически значимые ассоциации, приводящие к возрастанию риска развития данной патологии относительно среднепопуляционных значений – при наличии генетического профиля AA (*MTHFR*, rs1801131) и TG (*TET1*, rs7907322) риск возникновения РМЖ возрастает не менее чем в 1,5 раза. Ключевая роль в модификации риска принадлежит ОНП rs1801131 (*MTHFR*).

ЛИТЕРАТУРА

1. Кипень, В. Н. Роль полиморфизма р. Е429А (rs1801131) гена *MTHFR* в увеличении риска развития спорадического рака молочной железы // Международная научно-практическая конференция «Молекулярная онкология: итоги и перспективы». Успехи молекулярной онкологии. – 2015. – Т. 2. – № 4. – С. 46.
2. Jiang, S. Association of *MTHFR* C677T and A1298C polymorphisms with oral cancer susceptibility: evidence from a meta-analysis / S. Jiang, JD Xu, ZJ Zhuo, ZM Hua // *Onco Targets Ther.* – 2017. – № 10. – P. 303–310.
3. Ericson, U. Folate intake, methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, and breast cancer risk in women from the Malmö Diet and Cancer cohort / U. Ericson [et al.] // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2009. №18(4). – P. 1101–1110.
4. Haggarty, P. Human intelligence and polymorphisms in the DNA methyltransferase genes involved in epigenetic marking / Haggarty P [et al.] // *PLoS One.* – 2010. 25;5(6):e11329.
5. Kvaratskhelia, E. Expression pattern of DNA-methyltransferases and its health implication (short review) / E. Kvaratskhelia, T. Tkemaladze, E. Abzianidze // *Georgian Med News.* – 2014. – № 228. – P. 76–81.
6. Снытков, Е. В. Оценка вклада патогенетически значимых полиморфных вариантов генов семейств метилтрансфераз (DNMT) и метилдиоксигеназ (TET) в возрастание риска развития спорадических форм рака молочной железы / Е. В. Снытков, В. Н. Кипень, С. Б. Мельнов // IX Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА – 2017»: сб. тр. – 2017. – С. 1–2.