

Сыры, вырабатываемые с использованием плесневых грибов, составляют небольшую долю в общем производстве сыров, но благодаря специфическому, хорошо выраженному вкусу и аромату, нежной консистенции они становятся все более востребованными потребителями функционального питания. Уже несколько столетий особой популярностью пользуются сыры, созревающие при участии молочнокислых бактерий и так называемой голубой плесени. Наиболее известны сыры с голубой плесенью – Рокфор, Горгонзола, Стилтон, Данаблю, Голубой. Грибной специфический запах таких сыров является следствием развития в сырном тесте специально вносимых спор штаммов грибов *Penicillium roqueforti*.

В Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов (БКМ) поддерживаются штаммы *P. roqueforti*, которые квалифицируются как потенциально ценные грибные культуры для использования в пищевой промышленности. Данные культуры грибов выделены из сырной массы, полученной из различных пищевых продуктов коммерческого производства и сыров домашнего приготовления.

Изученные культуры охарактеризованы на основании макро- и микроморфологических признаков, физиолого-биохимических свойств. Выделенные штаммы мицелиальных грибов обладают хорошей радиальной скоростью роста колоний (до 5,2 мм/сут), активным спорообразованием, устойчивостью к высоким показателям содержания поваренной соли (2 %) и кислотности среды культивирования (рН ~ 3,0–3,5). При глубинном культивировании микромицетов характерен высокий уровень накопления биомассы (до 10,8 г/л, средняя удельная скорость роста 0,2–0,30 ч⁻¹). Штаммы мицелиальных грибов депонированы в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов. Оформлены паспорта на новые штаммы микроорганизмов, согласно стандартным правилам, принятым в крупнейших мировых коллекциях микроорганизмов. Обеспечено долгосрочное хранение вновь выделенных культур микроорганизмов методами лиофилизации и низкотемпературной консервации.

В настоящее время в Республике Беларусь успешно развивается производство сыров с плесенью, но штаммы мицелиальных грибов, используемых в сыроделии, закупаются за рубежом. Выделение и характеристика быстрорастущих культур мицелиальных грибов, пригодных для производства сыров, и пополнение ими фонда Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов является актуальной задачей, имеющей большое практическое значение. В перспективе изолированные штаммы грибов могут быть востребованы в отечественной сыродельной промышленности, что позволит снизить денежные затраты на производство сыров с признаками «мраморности» и сделать их более доступными для потребителя.

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *TET1* В МОДИФИКАЦИИ РИСКА РАЗВИТИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ НОСИТЕЛЬСТВЕ ГЕНОТИПОВ ПОВЫШЕННОГО РИСКА p. Q399R (*XRCC1*) И p. T241M (*XRCC3*)

THE ROLE OF *TET1* GENE POLYMORPHISM IN MODIFICATION OF RISK OF DEVELOPING BREAST CANCER AGAINST OF GENOTYPES OF HIGH-RISK p. Q399R (*XRCC1*) AND p. T241M (*XRCC3*)

В. Н. Купень¹, 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 эксцизионной репарации оснований (ЭРО) и гомологичной репарации (ГР) ДНК – p.Q399R (*XRCC1*, rs25487), p.T241M (*XRCC3*, rs861539); 2) процессах метилирования и реметилирования ДНК – g. 10168778G>A (*DNMT1*, rs2162560), p. H97R (*DNMT1*, rs16999593), g. 25512438T>G (*DNMT3a*, rs12999687) и g. 70391172G>T (*TET1*, rs7907322), – в модификации риска развития sporадического рака молочной железы (РМЖ). При наличии патогенетически значимых аллелей для ОНП rs861539 (*XRCC3*) и rs25487 (*XRCC1*) наличие аллели Т по ОНП rs7907322 (*TET1*) может положительно сказываться на нивелировании их негативного влияния в увеличении риска развития sporадического РМЖ.

Using the method of Multifactor Dimensionality Reduction Peculiarities of interaction of polymorphic variants of key genes are revealed. They are involved in: 1) processes, excision repair of bases (BER) and homologous recombination (HR) DNA – p. Q399R (*XRCC1*, rs25487), p. T241M (*XRCC3*, rs861539); 2) the processes of methylation and demethylation DNA – g. 10168778G>A (*DNMT1*, rs2162560), p. H97R (*DNMT1*, rs16999593), g. 25512438T>G (*DNMT3a*, rs12999687) and g. 70391172G>T (*TET1*, rs7907322), – in modification of the risk of developing sporadic breast cancer (BC). In the presence of pathogenetic alleles for SNPS rs861539 (*XRCC3*), and rs25487 (*XRCC1*) the presence of allele T for SNPS rs7907322 (*TET1*) can have a positive impact on the leveling of their negative influence in the increased risk of developing sporadic BC.

Ключевые слова: рак молочной железы, отношение шансов, предрасположенность, метилирование, репарация, *TET1*, *XRCC1*, *XRCC3*, Multifactor Dimensionality Reduction.

Keywords: breast cancer, odds ratio, susceptibility, methylation, repair, *TET1*, *XRCC1*, *XRCC3*, Multifactor Dimensionality Reduction.

Введение. Система репарации ДНК является первым барьером на пути возникновения геномной нестабильности и канцерогенеза под действием мутагенов. Известно более 150 генов, принимающих участие в различных путях репарации. Экцизионная репарация оснований (ЭРО) – необходима для точечного удаления поврежденных оснований ДНК, индуцированных окислительными и алкилирующими агентами. Один из известных однонуклеотидных полиморфных вариантов (ОНП) гена *XRCC1* (X-ray repair cross complementing 1, NCBI Gene ID 7515) представляет собой нуклеотидную замену в 399 кодоне и приводит к замене аминокислоты аргинин (Arg) на глутамин (Gln). Исследование функциональных последствий замены p. Q399R (rs25487) показало, что вариант генотипа A/A (Gln/Gln) связан с 3–4-кратным снижением репарационной мощности всего комплекса ЭРО [1]. Еще одна система репарации – гомологичная рекомбинация (ГР), – имеет важное значение для точной репарации двухцепочечных разрывов ДНК, которые являются потенциально летальными повреждениями для клетки. Brenneman M. et al. было доказано, что модельные культуры клеток с мутациями в гене *XRCC3* имеют в значительной степени сниженную функциональную мощность процессов ГР, что приводит, в целом, к удлинению репарационных путей и отражается на увеличении частоты локальных трансверсий и транзиций. В ряде исследований по типу случай-контроль была доказана связь гена *XRCC3* (X-ray repair cross complementing 3, NCBI Gene ID 7517) с риском развития РМЖ. В нескольких исследованиях Romanowicz-Makowska H. et al. приводятся данные о связи ОНП p. T241M (rs861539) с увеличением метастатического поражения лимфоузлов, а также степенью злокачественности опухоли [2].

Нами также была показана модифицирующая роль полиморфных вариантов p.Q399R (*XRCC1*, rs25487) и p. T241M (*XRCC3*, rs861539) в возрастании риска развития РМЖ среди пациентов из Республики Беларусь [3].

Также известно, что aberrантное 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.

Цель и задачи. С помощью метода Multifactor Dimensionality Reduction выявить особенности взаимодействия полиморфных вариантов ключевых генов, задействованных в: 1) процессах ЭРО и ГР репарации ДНК – p. Q399R (*XRCC1*, rs25487), p. T241M (*XRCC3*, rs861539); 2) процессах метилирования и реметилирования ДНК – g. 10168778G>A (*DNMT1*, rs2162560), p. H97R (*DNMT1*, rs16999593), g. 25512438T>G (*DNMT3a*, rs12999687) и g. 70391172G>T (*TET1*, rs7907322), – 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 – подробная характеристика групп приведена в [5]. Результаты генотипирования для ОНП g.10168778G>A (*DNMT1*, rs2162560), p.H97R (*DNMT1*, rs16999593), g.25512438T>G (*DNMT3A*, rs12999687) и g.70391172G>T (*TET1*, rs7907322) представлены в [4]. Анализ межгенных взаимодействий проводили с помощью программы MDR v.3.0.2..

Результаты исследования. В проведенном исследовании были проанализированы все возможные комбинации полиморфных вариантов для приведенных выше ОНП генов *DNMT1*, *DNMT3a*, *TET1* (блок «Метилирование ДНК») и *XRCC1*, *XRCC3* (блок «Репарация ДНК») – у пациентов со спорадической формой РМЖ и в группе сравнения. В процессе моделирования были использованы настройки поиска конфигурации модели, которые позволили однозначно дифференцировать наличие статистически значимых эффектов [8].

В результате анализа межгенных взаимодействий были установлены пять статистически значимых модели. Наилучшие показатели сбалансированной точности (BA, Balanced accuracy), чувствительности (Sen., Sensitivity), специфичности (Spe., Specificity) и воспроизводимости (CVC, Cross-validation Consistency) были отмечены для модели «*XRCC1* (rs25487) / *TET1* (rs7907322) / *XRCC3* (rs861539)» – BA = 78,48 %, Sen. = 86,36 %, Spe. = 70,59, CVC = 99/100.

Повышенный риск развития РМЖ выявлен при наличии генетического профиля (сочетании генотипов для неаллельных генов): AG/GG (*XRCC1*, rs25487), CT/TT (*XRCC3*, rs861539), TG/GG (*TET1*, rs7907322) – расчетные значения ОШ находились в диапазоне 2,2–3,0; ОШ = 3,00 (95 % ДИ = [1,78–5,24], $p < 0,05$) показано при наличии генетического профиля – AG (*XRCC1*, rs25487), TT (*XRCC3*, rs861539), TG (*TET1*, rs7907322). Выраженный протективный эффект показан при сочетании генотипов: GG (*XRCC1*, rs25487), CT (*XRCC3*, rs861539), TT/TG (*TET1*, rs7907322) – ОШ = 0,20–0,30 ($p < 0,01$).

Выводы. В результате анализа межгенных взаимодействий полиморфных вариантов генов репарации ДНК (*XRCC1*, *XRCC3*), а также ре-/деметилирования ДНК и метилирования *de novo* (*DNMT1*, *DNMT3a*, *TET1*) в развитии sporadического РМЖ с использованием метода Multifactor Dimensionality Reduction были найдены статистически значимые ассоциации, приводящие к модификации риска развития данной патологии – при наличии патогенетически значимых аллелей для ОНП rs861539 (*XRCC3*) и rs25487 (*XRCC1*) наличие аллели Т по ОНП rs7907322 (*TET1*) может положительно сказываться на нивелировании их негативного влияния. В то же время, вклад ОНП rs7907322 (*TET1*) в увеличение риска развития РМЖ существенно ниже, по сравнению с ОНП в генах *XRCC3* и *XRCC1*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ginsberg, G. Polymorphism in the DNA repair enzyme XRCC1: utility of current database and implications for human health risk assessment / G. Ginsberg [et al.] // *Mutat Res.* – 2011. – 727(1–2). – P. 1–15.
2. Romanowicz-Makowska, H. Single nucleotide polymorphism (SNP) Thr241Met in the XRCC3 gene and breast cancer risk in Polish women / H. Romanowicz-Makowska [et al.] // *Pol J Pathol.* – 2012. 63(2). – P. 121–125.
3. Кипень, В. Н. Роль генов XRCC1, XRCC3 и PALB2 в генезе sporadических форм рака молочной железы / В. Н. Кипень, С. Б. Мельнов, Р. М. Смолякова // *Экологическая генетика.* – 2015. – № 4. – С. 91–98.
4. Снытков, Е. В. Оценка вклада патогенетически значимых полиморфных вариантов генов семейств метилтрансфераз (DNMT) и метилдиоксигеназ (TET) в возрастание риска развития sporadических 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.

РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ В ГЕНАХ СЕМЕЙСТВА P450 В МОДИФИКАЦИИ РИСКА РАЗВИТИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ – ИССЛЕДОВАНИЕ ПО ТИПУ СЛУЧАЙ-КОНТРОЛЬ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ MDR-АНАЛИЗА

THE ROLE OF POLYMORPHIC VARIANTS IN THE GENES OF THE P450 FAMILY IN MODIFYING THE RISK OF DEVELOPING BREAST CANCER – CASE-CONTROL STUDY USING MDR-ANALYSIS

В. Н. Кипень¹, Е. В. Снытков², Н. С. Смольник², С. Б. Мельнов³

V. Kipen¹, E. Snytkov², N. Smolnik², S. Melnov³

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

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

В результате анализа межгенных взаимодействий полиморфных вариантов генов системы биотрансформации ксенобиотиков в развитии sporadического РМЖ с использованием метода Multifactor Dimensionality Reduction были найдены значимые ассоциации, приводящие к значительному возрастанию риска возникновения данной патологии – при одновременном наличии патогенетически значимых генотипов для CYP2D6 и CYP1A1 рассчитанные значения риска возникновения РМЖ значительно превышают общепопуляционный.

The analysis of intergenic interactions of polymorphic variants of genes of biotransformation systems of xenobiotics in the development of sporadic breast cancer using the method of Multifactor Dimensionality Reduction were found significant associations, leading to a significant increase in the risk of this disease while the presence of pathogenetically significant genotypes for CYP2D6 and CYP1A1 calculated values in the risk of breast cancer far exceed the general population.