

Таблица 2 – Референтные значения титров антител IgG к ВПГ

П/п	IgG, ДЕ (диагностические единицы)	Результат
1	>10	Положительный
2	9-10	Сомнительный
3	<9	Отрицательный

Полученные данные свидетельствуют о том, что половина пациенток с положительными значениями титров антител IgG находились на стадии ранней инфицированности либо выздоровления, 38,7% пациенток находились в периоде позднего заражения (более, чем полгода назад), у 5,6% пациенток наблюдался латентный хронический процесс, указывающий на то, что заражение произошло давно, и у 0,2% пациенток - латентный хронический процесс с персистенцией инфекции в организме, заражение произошло давно, возможно, еще в детстве или в период внутриутробного развития.

Таким образом, при диагностике вируса простого герпеса методом ИФА можно определить не только наличие определенного класса антител к вирусу простого герпеса и их количество, но и стадию инфекционного процесса, которая играет большую роль при выборе схемы лечения больного.

Рассмотрев особенности способов диагностики и интерпретации результатов следует заметить, что в силу вариабельности определяемых параметров и неоднозначности их трактовки, при постановке диагноза лучше использовать совокупность лабораторных методов для получения большей информативности.

По данным проведенных исследований можно сделать вывод, что наиболее перспективным, более чувствительным и специфическим методом диагностики вируса простого герпеса из всех серологических реакций в настоящее время считается иммуноферментный анализ, который внедрен в работу многих медицинских центров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Herpes simplex virus drug-resistance: new mutations and insights / G. Andrei, R. Snoeck // *Curr. Opin. Infect. Dis.* – 2013. – Vol. 26, No 6. – P. 551.
2. Жабентаев, А. И., Каткова, Е. И. Иммуноферментный метод анализа // *Вестник фармации.* – 2013. – № 2. – С. 90-91.
3. Исаков, В.А., Архипова, Е. И., Исаков, Д. В. Герпесвирусные инфекции человека (2-е изд., перераб., доп.): Руководство для врачей / Под редакцией профессора Исакова В.А. . – СПб.: СпецЛит. 2013. — С. 670-672.

РОЛЬ ГЕНОВ *GSTM1*, *GSTP1*, *GSTT1* В УВЕЛИЧЕНИИ ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ – ЭТНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ

ROLE OF *GSTM1*, *GSTP1*, *GSTT1* GENES IN INCREASING THE PROBABILITY OF BREAST CANCER DEVELOPMENT – ETHNIC FEATURES

**В. А. Курносова¹, В. Н. Кипень², Ж. Т. Исакова³, К. А. Айтбаев³, М. А. Юсуфова⁴,
Д. В. Винников^{1,5}, Н. М. Букуев⁶, Б. Б. Султангазиева⁶, Н. М. Алдашева^{3,5}**
**V. A. Kurnosova¹, V. N. Kipen², Zh. T. Isakova³, K. A. Aitbaev³, M. A. Usufova⁴,
D. V. Vinnikov^{1,5}, N. M. Bykyev⁶, B. B. Sultangazieva⁶, B. B. Aldasheva^{3,5}**

¹Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь

²Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси,
г.Минск, Республика Беларусь

³НИИ молекулярной биологии и медицины, г.Бишкек, Кыргызская Республика

⁴Кыргызско-Российский Славянский Университет, г.Бишкек, Кыргызская Республика

⁵Казахский национальный университет имени Аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан

⁶Национальный центр онкологии и гематологии, г.Бишкек, Кыргызская Республика

¹Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

³Research Institute of Molecular Biology and Medicine, Bishkek, Kyrgyz Republic

⁴Kyrgyz-Russian Slavic University, Bishkek, Kyrgyz Republic

⁵Al-Farabi Kazakh National University, School of Public Health, Almaty, Kazakhstan

⁶National Center of Oncology and Hematology, Bishkek, Kyrgyz Republic

Представлены результаты анализа распространенности полиморфизма генов II фазы биотрансформации ксенобиотиков *GSTP1* (rs1695), *GSTM1* (null), *GSTT1* (null) у 80 женщин из Кыргызстана, (из которых 40 – с диагнозом РМЖ, 40 – без онкопатологии в анамнезе), и у 100 женщин из Беларуси (50 – с диагнозом РМЖ,

50 – без онкопатологии в анамнезе). Делеционный полиморфизм гена *GSTM1* ассоциирован с увеличением вероятности развития РМЖ среди женщин кыргызской национальности, наличие генотипа GG по полиморфизму rs1695 гена *GSTP1* ассоциировано с повышенной вероятностью развития РМЖ среди женщин из Беларуси. MDR-анализ выявлял особенности межгенных взаимодействий для групп пациентов из двух стран.

The results of the analysis of the prevalence of gene polymorphism of phase II biotransformation of xenobiotics *GSTP1* (rs1695), *GSTM1* (null), *GSTT1* (null) in 80 women from Kyrgyzstan, (of which 40 with a history of breast cancer, 40 without a history of cancer), and by 100 women from Belarus (50 with a diagnosis of breast cancer, 50 without a history of cancer). Deletion polymorphism of the *GSTM1* gene is associated with an increased possibility of developing breast cancer among women of Kyrgyz nationality, the presence of the GG genotype for rs1695 polymorphism of the *GSTP1* gene is associated with an increased possibility of developing breast cancer among women from Belarus. MDR analysis revealed the specific features of intergenic interactions for groups of patients from two countries.

Ключевые слова: РМЖ, ФМК, биотрансформация ксенобиотиков, полиморфизм генов *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*, Кыргызстан, Беларусь

Key words: breast cancer, xenobiotic metabolism enzymes, biotransformation of xenobiotic, gene polymorphism *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*, Kyrgyzstan, Belarus

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2020-2-224-228>

В настоящее время во всем мире продолжает увеличиваться заболеваемость злокачественными новообразованиями, и рак молочной железы (далее – РМЖ) является одним из самых распространенных видов онкологических заболеваний у женщин [1]. Проблема РМЖ в последние годы для Республики Беларусь, как и для многих других стран мира, приобретает чрезвычайно важное значение по причине безусловного роста заболеваемости РМЖ, а также ввиду возрастания его удельного веса в структуре злокачественных новообразований среди женского населения. В структуре всех злокачественных новообразований женского населения Республики Беларусь (включая гемобластозы) частота злокачественных новообразований молочной железы в 2019 году составила более 18 %. В Кыргызстане также наблюдается стойкий рост и омоложение заболеваемости, но у большинства женщин РМЖ диагностируется на поздней (III-IV) стадии, когда лечение становится затратным и малоэффективным [2].

Ферменты метаболизма ксенобиотиков (далее – ФМК), которые кодируются генами семейства глутатион-трансфераз, составляют основу II фазы детоксикации ксенобиотиков. Функциональные полиморфизмы генов *GSTM1*, *GSTP1* и *GSTT1* могут быть связаны с равновесием промежуточных метаболитов, образующихся в процессе биотрансформации, последние, в свою очередь, могут индуцировать структурные изменения в ДНК [3]. Считается, что полиморфные варианты *GSTM1* null, rs1695 (*GSTP1*) и *GSTT1* null, – увеличивают восприимчивость человека к различным заболеваниям и к нозологическим формам рака, в том числе к РМЖ [4,5].

Индивидуальные различия в этих и других компонентах человеческого генома, связанные с воздействием мутагенных факторов, могут видоизменять риск развития экологически обусловленных заболеваний. Сочетанное носительство отдельных полиморфных вариантов генов *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1* также может обуславливать индивидуальные особенности предрасположенности к развитию рака молочной железы. Таким образом, для РМЖ, как и других болезней с наследственной предрасположенностью, существует свой специфический набор генов-кандидатов, взаимодействием которых, в основном, и определяется развитие опухолевого процесса. Своевременно проведенная пациент-ориентированная профилактика будет способствовать снижению частоты распространённости РМЖ, повышению качества и продолжительности активной жизни населения.

Целью исследования было – изучить вклад полиморфных вариантов генов *GSTM1*, *GSTP1* и *GSTT1* в отдельности, а также их сочетанное межгенное взаимодействие в формирование предрасположенности к раку молочной железы у женщин из Беларуси и Кыргызстана.

Исследование проводилось по типу случай-контроль и включало: 80 женщин кыргызской национальности, из которых 40 женщин с гистологически верифицированным диагнозом РМЖ (основная группа), и 40 женщин без онкопатологии в индивидуальном анамнезе (группа сравнения); 100 женщин белорусской национальности, из которых 50 женщин с гистологически верифицированным диагнозом РМЖ (основная группа), и 50 женщин без онкопатологии в индивидуальном анамнезе (группа сравнения).

Сбор биологического материала и анкетных данных проводился после получения у участниц исследования добровольного информированного согласия. Для проведения молекулярно-генетических исследований был сделан забор 5 мл венозной крови, из которой ДНК выделяли стандартным двухэтапным методом фенольно-хлороформной экстракции. Делеции в генах *GSTM1* и *GSTT1* анализировали с использованием аллель-специфической ПЦР в реальном времени, как описано в работе [3]. Наличие однонуклеотидного полиморфизма (далее – ОНП) p.I105V гена *GSTP1* проводили методом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (далее – ПЦР-ПДРФ) с использованием эндонуклеазы рестрикции Tail (ThermoFisher, США). ПЦР-смесь готовили в объеме 25 мкл: 2,5 мкл 10x буфера, содержащего $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2,5 мкл 10x смеси dNTPs, 1,5 mM MgCl_2 , по 5 пмоль прямого (F: 5'-TATGGGAAGGACCAGCAGGA-3') и обратного (R: 5'-CAAGCCACCTGAGGGGTAAG-3') праймеров, 0,01 ед. Taq-полимеразы и 1 мкл ДНК исследуемых образцов (10-50 нг/мкл). Для нахождения различий между номинальными показателями использовали метод χ^2 -квадрат. Уровень статистической значимости p при

множественных сравнениях вычислялся экспериментально для каждого конкретного случая (сравнения) в процессе моделирования в пакете SPSS v.20.0. Использовали точный критерий Фишера.

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. 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.

Нами изучено распределение аллелей для трех полиморфных вариантов в генах: *GSTM1* (null), *GSTP1* (p.Ile105Val), *GSTT1* (null), – у женщин с РМЖ и в группе сравнения из Кыргызстана и Беларуси. В группе сравнения распределение генотипов по всем проанализированным вариантам соответствовало ожидаемому распределению Харди-Вайнберга ($p > 0,05$).

Анализ полиморфизма null гена *GSTM1* выявил статистически значимые различия в распределении частот аллелей между пациентами с РМЖ и женщинами из группы сравнения из Кыргызстана. В группе больных РМЖ наблюдалось достоверное увеличение частоты делеционного полиморфизма по отношению к группе сравнения.

Таким образом, у женщин кыргызской национальности делеция участка гена *GSTM1* является генетическим маркером, ассоциированным с повышенной вероятностью развития РМЖ ($p = 0,013$), тогда как отсутствие протяженной делеции в данном гене напротив, ассоциировано с протективным эффектом. Анализ полиморфных вариантов null (ген *GSTT1*) и p.Ile105Val (*GSTP1*) не выявил статистически значимых различий в распределении частот генотипов или аллелей между больными РМЖ и женщинами из группы сравнения ($p > 0,05$).

В то же время, анализ полиморфизма rs1695 гена *GSTP1* выявил статистически значимые различия в распределении частот аллелей между пациентами с РМЖ и женщинами из группы сравнения из Беларуси. В группе больных РМЖ наблюдалось достоверное увеличение частоты генотипа GG по отношению к группе сравнения. Таким образом, у женщин белорусской национальности полиморфизм гена *GSTP1* является генетическим маркером, ассоциированным с повышенной вероятностью развития РМЖ ($p = 0,016$). Анализ полиморфных вариантов null (*GSTT1*) и null (*GSTM1*) не выявил статистически значимых различий в распределении частот генотипов или аллелей между больными РМЖ и женщинами из группы сравнения ($p > 0,05$).

Для пациентов из Кыргызстана при оценке сочетанного носительства полиморфных вариантов генов *GSTM1* (null), *GSTP1* (p.Ile105Val) и *GSTT1* (null) были выявлены статистически значимые ассоциации совокупности генотипов с повышенной вероятностью развития РМЖ. Так, частота встречаемости следующих сочетаний генотипов была статистически значимо выше у пациентов с РМЖ, чем среди женщин из группы сравнения: wild (*GSTT1*) // del (*GSTM1*) // AA/AG (*GSTP1*). Как показывают результаты, среди парных комбинаций, ассоциированных с повышенной вероятностью развития РМЖ, преобладали комбинации, включающие делеционный полиморфизм гена *GSTM1* – у женщин, имеющих генотип null (*GSTM1*), вероятность развития РМЖ возрастала не менее чем в 2,0–3,5 раза. Наибольший вклад в увеличение вероятности возникновения РМЖ вносит делеционный полиморфизм гена *GSTM1*, показатель энтропии которого составил 6,59%. Показатели энтропии по генам *GSTT1* (null) и *GSTP1* (p.Ile105Val) составили 2,19% и 1,34% соответственно. Нами была построена модель с использованием программы MDR v.3.0.2, отражающая характер взаимодействия анализируемых полиморфных вариантов при РМЖ (рис. 1). В результате моделирования было выделено 2 кластера: 1. null (ген *GSTT1*); 2. p.Ile105Val (ген *GSTP1*) и null (ген *GSTM1*). Полученные данные свидетельствуют о том, что в отношении пары полиморфных вариантов – null (ген *GSTM1*) и p.Ile105Val (ген *GSTP1*), – имеются взаимодействия выраженного синергетического характера (рис. 1).

Для пациентов из Беларуси при оценке сочетанного носительства полиморфных вариантов генов *GSTM1* (null), *GSTP1* (p.Ile105Val) и *GSTT1* (null) также были выявлены статистически значимые ассоциации совокупности генотипов с повышенной вероятностью развития РМЖ. Так, частота встречаемости следующих сочетаний генотипов была статистически значимо выше среди женщин из группы сравнения, чем среди пациентов с РМЖ: wild (*GSTT1*) // wild/del (*GSTM1*) // AG (*GSTP1*). Как показывают результаты, среди парных комбинаций, ассоциированных с пониженной вероятностью развития РМЖ, преобладали комбинации, включающие полиморфизм гена *GSTT1* (wild type) – у женщин, имеющих данный генотип, вероятность развития РМЖ уменьшалась более чем в 2,3 раза. Наибольший вклад в увеличение вероятности возникновения РМЖ вносит полиморфизм rs1695 гена *GSTM1*, показатель энтропии которого составил 6,32%. Показатели энтропии по генам *GSTT1* (null) и *GSTM1* (null) составили 1,18% и 0,02% соответственно. Нами была построена модель с использованием программы MDR v.3.0.2, отражающая характер взаимодействия анализируемых полиморфных вариантов при РМЖ (рис. 2). В результате моделирования было выделено 2 кластера: 1. null (ген *GSTM1*); 2. p.Ile105Val (ген *GSTP1*) и null (ген *GSTT1*). Полученные данные свидетельствуют о том, что в отношении пары полиморфных вариантов – null (ген *GSTM1*) и p.Ile105Val (ген *GSTP1*), – имеются взаимодействия дублирующего характера (рис. 2).

Таким образом, делеционный полиморфизм гена *GSTM1* ассоциирован с увеличением вероятности развития РМЖ среди женщин кыргызской национальности, а для полиморфных вариантов p.Ile105Val (*GSTP1*) и null (*GSTT1*) данная связь обнаружена не была. Также у женщин с РМЖ из Кыргызстана имеются особенности по наличию сочетанного генетического профиля полиморфных вариантов генов глутатионтрансфераз – полиморфизм null (ген *GSTM1*) вносит наибольший вклад в увеличение вероятности развития РМЖ.

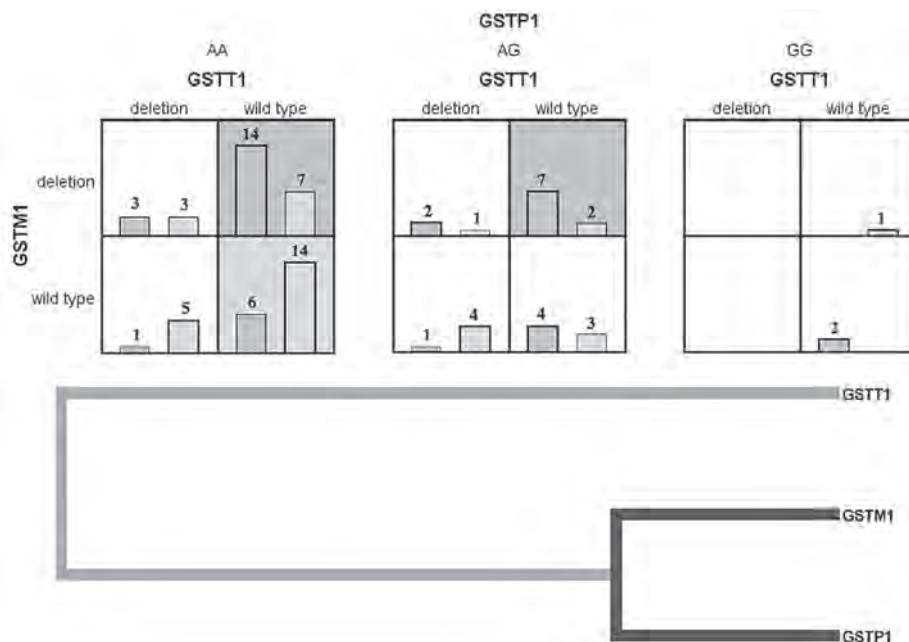


Рисунок 1 – Межгенные взаимодействия для генов *GSTT1*, *GSTM1* и *GSTP1* (выборки из Кыргызстана)

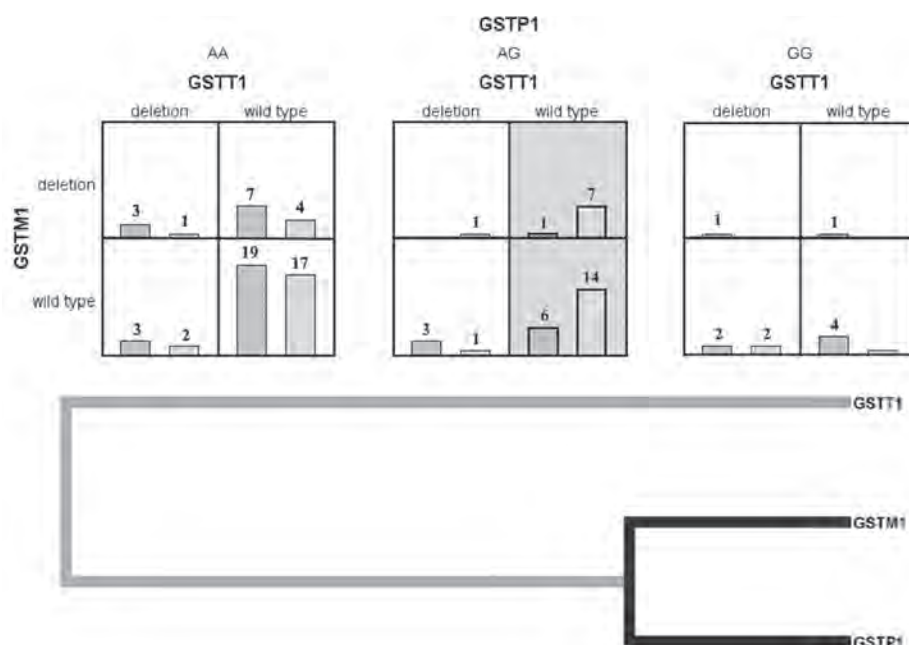


Рисунок 2 – Межгенные взаимодействия для генов *GSTT1*, *GSTM1* и *GSTP1* (выборки из Беларуси)

В то же время, анализ полиморфизма rs1695 гена *GSTP1* выявил статистически значимые различия в распределении частот аллелей между пациентами с РМЖ и женщинами из группы сравнения из Беларуси. В группе больных РМЖ наблюдалось достоверное увеличение частоты генотипа GG по отношению к группе сравнения. Протективный эффект – снижение вероятности развития РМЖ, – связан в основном с полиморфизмом null гена *GSTT1*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 // *Int. J. Cancer*, 2015. – Vol.136. – P.359–386.
2. Iginov, N., Kokteubaeva, N., Kudaibergenova, I. Epidemiology of breast cancer in females of reproductive age in Kyrgyzstan // *Asian Pac J Cancer Prev*, 2005. – Vol.6. – P.36–39.
3. Смирнова, Е.Г., Купень, В.Н., Мельнов, С.Б., Мохорт, А.А. Полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз при раке почки // *Молекулярная и прикладная генетика*, 2017. – Т. 23. – С.75-82.
4. Spurdle, A.B., Fahey, P., Chen, X. et al. Pooled analysis indicates that the *GSTT1* deletion, *GSTM1* deletion, and *GSTP1* Ile105Val polymorphisms do not modify breast cancer risk in *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers // *Breast Cancer Res Treat*, 2010. – Vol.122. – P.281–285.

КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИЙ РАСЧЕТ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ СУЛЬФОРАФАНА QUANTUM-CHEMICAL CALCULATION OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SULFORAPHANE

В. М. Макейчик, С. Н. Шахаб
V. Makeichyk, S. Shahab

*Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь
valya.makeychik@gmail.com
Belarusian State University, ISEI BSU,
Minsk, Republic of Belarus*

В настоящей работе проведена полная оптимизация и расчет электронной структуры молекулы сульфорафана методом теории функционала плотности (DFT) в водной среде, рассчитаны геометрические равновесные параметры, УФ- и электронные спектры неэмпирическими методами, определен самый важный фактор антиоксидантных свойств - ширина запрещенной зоны.

In the present study geometry optimization and electronic structure of the molecule sulforaphane have been carried out using the Density Functional Theory (DFT) in the water environment for the first time, geometric equilibrium parameters, UV and electronic spectra were calculated using nonempirical methods, the most important factor of antioxidant properties (the band gap) was determined.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, сульфорафан, электронный спектр, теория функционала плотности, квантово-химическое моделирование.

Keywords: antioxidant activity, sulforaphane, electronic spectrum, density functional theory, quantum-chemical modeling.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2020-2-228-230>

Каждый год химики синтезируют, выделяют и характеризуют от 100 до 200 тысяч новых веществ. Многие из этих веществ проходят так называемый скрининг, заключающийся в их первичных испытаниях для обнаружения биологической активности. Результатом скрининга становится отбор из огромного количества веществ лишь нескольких наиболее активных препаратов, которые затем подвергаются дальнейшим испытаниям.

В настоящее время существует возможность определения потенциала биоактивности соединений путем компьютерного анализа, по окончании которого оператор получает рекомендации о целесообразности или нецелесообразности испытаний данного вещества на тот или иной вид активности. Скрининг экономит время, материалы и силы при аналоговом поиске лекарственных веществ.

В последнее время возрос интерес к скринингу веществ природного происхождения, преимущества которых в том, что вещества - кандидаты уже обладают некоторыми свойствами, необходимыми для лекарств (например, абсорбцией в ЖКТ и метаболизмом), а также высоким химическим разнообразием, необходимым для изучения корреляций активность – структура [1].

Таким соединением является сульфорафан. Он представляет собой органическое соединение растительного происхождения, обладающее противораковым и антибактериальным эффектами. Предшественник сульфорафана, глюкорафанин, находится в овощах семейства капустных, таких как брокколи, капуста, цветная капуста, кольраби, кресс-салат и др. Наиболее богаты глюкорафанином побеги брокколи и цветной капусты [2].

При повреждении растения (что происходит, например, при пережевывании) растительный фермент мирозиназа трансформирует глюкорафанин в сульфорафан, который является антибактериальным агентом и участвует в системе растительной защиты от инфекции [3]. Анализ употребления брокколи в пищу показал, что такое питание эффективно в подавлении роста *Helicobacter pylori*, а сульфорафан был, по крайней мере, одним из самых активных составляющих. Противораковая активность сульфорафана связана с индукцией фазы II фермента ксенобиотиков преобразования (например, хинон-редуктазы и глутатион S-трансферазы), а также расширения транскрипции опухолевого супрессора белков, возможно, через ингибирующее влияние на деацетилазы гистонов. Сульфорафан подавляет развитие раковых клеток *in vitro* и у экспериментальных животных. При местном применении, сульфорафан может защитить кожу от УФ излучения, и, таким образом, потенциально работает