

ГАПЛОТИПНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ BRCA1 И TP53

Галина Эльза Ринатовна

студент Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы, РФ, г. Уфа

Аннотация. Проведен анализ различных гаплотипов двух полиморфизмов гена BRCA1 и трех полиморфизмов гена TP53, выявлены ассоциации некоторых гаплотипов с высоким риском развития рака молочной железы.

Ключевые слова: BRCA1, TP53, онкология, рак молочной железы, гаплотипы.

Введение. Онкология – системное заболевание, которое захватывает все органы человека и характеризуется неуправляемым, безграничным размножением клеток. Опухолевые клетки образуются из нормальных клеток любых органов и тканей организма в результате мутаций генов, регулирующих клеточный цикл и рост клеток [4].

Доказано, что ген *BRCA1*, кодирующий белок BRCA1, играет важную роль в регуляции клеточного цикла, транскрипции, репарации ДНК, убиквитинизации белков. Ген *BRCA1* является геном-супрессором опухоли, в норме защищающим клетку от злокачественного перерождения. При возникновении мутации в этом гене значительно повышается вероятность развития рака молочной железы (РМЖ) и яичников [5,10].

Белок p53, кодируемый геном *TP53*, это центральный компонент защитной системы организма, направленный на ограничение возможности возникновения генетически измененных клеток. Основная функция белка p53 связана с возможностью как активировать, так и репрессировать транскрипцию специфических генов. Эта система защиты генома очень уязвима и ее функция не дублируется другими. Поэтому повреждения в структуре гена *TP53* приводят к утрате способности клетки контролировать свое состояние и к быстрому накоплению генетических изменений [1,9].

Полиморфизм *Arg72Pro* (*rs1042522*) гена *TP53* заключается в трансверсии гуанина на цитозин в 72-м кодоне 4-го экзона. Протективный аллель - *Arg, мутантный аллель - *Pro. Аллель *Pro ассоциирован с затрудненным прохождением белка в митохондрии [6].

Полиморфизм *DUP16BP* (*rs17878362*) гена *TP53* характеризуется дупликацией 16 пар нуклеотидов в 3-м интроне. Протективный аллель - *I, мутантный аллель - *D, он ассоциирован с нарушением перехода из стрессовой конформации в латентную, тем самым нарушается стимуляция рекомбинации и репарации ДНК [6].

Полиморфизм *rs1625895* гена *TP53* заключается в замене гуанина на аденозин в 13494 позиции 6-го интрона. Протективный аллель *A ассоциирован с более высоким уровнем апоптоза лейкоцитов по сравнению с пациентами, имеющими в генотипе непротективный аллель *G [2].

Целью данной работы является анализ гаплотипов гена *BRCA1* и гена *TP53* и использование полученных данных в диагностике для предиктивного формирования групп высокого риска и

персонализированного лечения онкологических заболеваний.

Материалы и методы. В работе были использованы образцы с определенными ранее генотипами лабораторией БГПУ им. Акмуллы.

Все образцы геномной ДНК были выделены методом фенольно-хлороформной экстракции [7]. Идентификация аллелей проводилась методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Размеры продуктов амплификации и последующей рестрикции детектировали в 7 % полиакриламидном геле, окрашенном раствором бромистого этидия (1%).

Анализ гаплотипов проведен при помощи программы «SNPstats».

Результаты исследования. Результаты анализа представлены в следующих таблицах. При значениях $p < 0,05$ и ОШ > 1 можно делать вывод о том, что данный гаплотип ассоциирован с высоким риском развития рака молочной железы. Напротив, при значениях $p < 0,05$ и ОШ < 1 делается вывод о том, что данный гаплотип связан с отсутствием риска развития рака молочной железы.

Таблица 1.

Гаплотипный анализ *rs80357629* гена *BRCA1* и *rs1799966* гена *BRCA1*

<i>rs80357629</i>	<i>rs1799966</i>	ОШ (95% ДИ)	
*A	*A	1,00	
*G	*G	0,05 (0,02-0,09)	0,0001
*G	*A	0,61 (0,28-1,31)	
*A	*G	0,64 (0,27-1,53)	

Обнаружена ассоциация гаплотипа *rs80357629**G-*rs1799966**G с отсутствием риска развития РМЖ.

Таблица 2.

Гаплотипный анализ *rs80357629* гена *BRCA1* и *DUP16BP* гена *Trp53*

<i>rs80357629</i>	<i>DUP16BP</i>	ОШ (95% ДИ)	P
*G	*D	1,00	...
*A	*D	4,70 (3,00-7,36)	0,0001
*G	*I	1,80 (0,48-6,67)	0,38
*A	*I	0,71 (0,02-29,36)	0,86

Обнаружена ассоциация гаплотипа *rs80357629**G-*DUP16BP**D с риском развития РМЖ.

Таблица 3.

Гаплотипный анализ *rs80357629* гена *BRCA1* и *rs1625895* гена *Trp53*

<i>rs80357629</i>	<i>rs1625895</i>	ОШ (95% ДИ)	P
*G	*A	1,00	...
*A	*G	42,84 (15,83-115,92)	0,0001

*A	*A	2,96 (1,48-5,90)	0,0022
*G	*G	14,49 (4,40-47,65)	0,0001

Обнаружена ассоциация гаплотипа *rs80357629**A-*rs1625895**G, гаплотипа *rs80357629**A-*rs1625895**A и гаплотипа *rs80357629**G-*rs1625895**G с риском развития онкологии. Причем риск развития РМЖ гораздо выше в случае присутствия в гаплотипе сразу двух мутантных аллелей, а вклад в развитие РМЖ мутантного аллеля *G полиморфизма *rs80357629* гена *BRCA1* больше, чем вклад мутантного аллеля *A полиморфизма *rs1625895* гена *TP53*.

Таблица 4.

Гаплотипный анализ *rs1799966* гена *BRCA1* и *rs1625895* гена *Trp53*

<i>rs1625895</i>	<i>rs1799966</i>	ОШ (95% ДИ)	P
*A	*G	1,00	...
*G	*A	32,41 (13,06-80,43)	0,0001
*A	*A	4,96 (2,20-11,18)	1e-04
*G	*G	726008510,17	0,0001

Обнаружена ассоциация гаплотипов *rs1625895**G-*rs1799966**A, *rs1625895**A-*rs1799966**A, *rs1625895**G-*rs1799966**G с риском развития РМЖ. Для гаплотипа *rs1625895**G-*rs1799966**G этот риск наибольший.

Таблица 5.

Гаплотипный анализ *rs1799966* гена *BRCA1* и *DUP16BP* гена *Trp53*

<i>DUP16BP</i>	<i>rs1799966</i>	ОШ (95% ДИ)	P
*D	*G	1,00	...
*D	*A	4,70 (3,00-7,36)	0,0001
*I	*G	1,80 (0,48-6,67)	0,38
*I	*A	0,71 (0,02-29,36)	0,86

Обнаружена ассоциация гаплотипа *DUP16BP**D-*rs1799966**A с риском развития онкологии.

Таблица 6.

Гаплотипный анализ *rs1042522* гена *Trp53* и *rs1625895* гена *Trp53*

<i>rs1042522</i>	<i>rs1625895</i>	ОШ (95% ДИ)	P
*Arg	*A	1,00	...
*Arg	*G	20,25 (10,00-40,98)	0,0001
*Pro	*G	23565401423973149835264,00	0,0001
*Pro	*A	153845684444884598784,00	0,0001

Обнаружена ассоциация гаплотипов *rs1042522*Arg-rs1625895*G*, *rs1042522*Pro-rs1625895*G*, *rs1042522*Pro-rs1625895*A* с риском развития онкологии. В случае присутствия в гаплотипе двух мутантных аллелей риск развития РМЖ очень высокий. Причем, вклад мутантного аллеля *Pro полиморфизма *rs1042522* в развитие РМЖ гораздо больше, чем мутантного аллеля *G полиморфного варианта *rs1625895* гена *TP53*.

Таблица 7.

Гаплотипный анализ *rs1042522* гена *Trp53* и *DUP16BP* гена *Trp53*

<i>rs1042522</i>	<i>DUP16BP</i>	ОШ (95% ДИ)	P
*Arg	*D	1,00	...
*Pro	*D	224411046797135433728,00	0,0001
*Arg	*I	0,30 (0,09-1,00)	0,05
*Pro	*I	5408974942079600640,00	0,0001

Обнаружена ассоциация гаплотипов *rs1042522*Pro-DUP16BP*D*, *rs1042522*Pro-DUP16BP*I* с риском развития онкологии. В присутствии двух мутантных аллелей риск возникновения РМЖ очень высокий, при этом такой риск в большей степени обусловлен присутствием мутантного аллеля *Pro полиморфизма *rs1042522* гена *TP53*. Так же обнаружена ассоциация гаплотипа *rs1042522*Arg-DUP16BP*I* с отсутствием риска развития онкологии, оба аллеля являются в этом случае протективными.

Таблица 8.

Гаплотипный анализ *rs1625895* гена *Trp53* и *DUP16BP* гена *Trp53*

<i>rs1625895</i>	<i>DUP16BP</i>	ОШ (95% ДИ)	P
*A	*D	1,00	...
*G	*D	16,79(9,39-29,76)	0,0001
*G	*I	16,81 (2,29-123,14)	0,0057
*A	*I	0,00	1

Обнаружена ассоциация гаплотипа *rs1625895*G-DUP16BP*D* и гаплотипа *rs1625895*G-DUP16BP*I* с риском развития онкологии. Учитывая что риски для этих двух гаплотипов примерно равны, можно сделать вывод что именно мутантный аллель *G полиморфизма *rs1625895* гена *TP53* вносит наибольший вклад в развитие рака молочной железы по сравнению с аллелем *D полиморфизма *DUP16BP* того же гена.

При проведении гаплотипного анализа сразу по 5 полиморфизмам выявлено, что гаплотипы *DUP16BP*D-rs1042522*Arg-rs1625895*A-rs80357629*A-rs1799966*A* и *DUP16BP*D-rs1042522*Arg-rs1625895*G-rs80357629*A-rs1799966*A* ассоциированы с риском развития РМЖ. Но самый высокий риск онкологии соответствует гаплотипу *DUP16BP*D-rs1042522*Pro-rs1625895*A-rs80357629*A-rs1799966*A*.

Заключение. При анализе различных гаплотипов двух полиморфизмов гена *BRCA1* и трех полиморфизмов гена *TP53* наблюдается, что риски развития рака молочной железы гораздо выше в гаплотипах с двумя и более мутантными аллелями. Замечено, что наибольший вклад среди 5 полиморфизмов в развитие онкозаболевания вносит мутация в полиморфном варианте *rs1042522* гена *TP53*. Так же весомый вклад вносят полиморфизмы *rs1625895* гена *TP53* и *rs80357629* гена *BRCA1*.

Анализ наследования индивидуумом определенных аллелей полиморфных вариантов данных генов позволит составить предварительный персональный прогноз о предрасположенности к проявлению онкопатологии.

Список литературы:

1. Алмазов В.П., Кочетков Д.В., Чумаков П.М. Р53 – инструмент для терапии злокачественных заболеваний человека // Молекулярная биология. - 2007. – Т.41. №5. – С.1-17.
2. Воропаева Е.Н. и др. Молекулярно-генетический подход к прогнозированию эффективности терапии больных агрессивными неходжкинскими лимфомами // Бюллетень СО РАМН. – 2014. – Т.34. – С.39-43.
3. Генные карты: база данных генов человека. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.genecards.org>
4. Каррасса Л. Клеточный цикл, контрольные точки, рак // Атлас генетики и Цитогенетика в онкологии и гематологии. - 2013. – С.67-75.
5. Кропельницкий В.А., Захарцева Л.М., Чешук В.Е. Структура и функция белка BRCA1. Роль в процессах репарации ДНК // Онкология. - 2014. - Т.16.№4.- С.244-246.
6. Муххамадиева Г.Ф., Бакиров А.Б., Каримова Л.К., Валеева Э.Т. Анализ ассоциаций полиморфных локусов гена-супрессора опухолевого роста TP53 со злокачественными новообразованиями у работающих в условиях производства стекловолокна // Коллектив авторов. - 2014. – С.59-61.
7. Мэтью С. Выделение высокомолекулярной эвкариотической ДНК. Методы молекулярной биологии // Под ред. Уокер Дж.М.Н. Y. Human Press. – 1984. - С. 31-34.
8. Национальный центр биотехнологической информации. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>
9. Обри Б.Ж., Штрассер А., Келли Г.Л. Опухолевые функции пути TP53 // Cold Spring Harb Perspect Med. - 2016.
10. Пфеффер СМ. Эволюция, функции и применение генов рака молочной железы BRCA1 и BRCA2 // Отдел биологии, Отделение естественных и социальных наук, Карфагенский колледж, Кеноша, Висконсин, США. – 2017.