

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА *LSP1* У ХВОРИХ ЖІНОК НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ З УКРАЇНИ

ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМНУ»

(м. Київ)

svitlanapolinyk@gmail.com

Робота виконана в межах НДР «Порівняльне дослідження генетичної схильності до розвитку раку молочної залози у жінок, які зазнали дії іонізуючої радіації внаслідок аварії на ЧАЕС», № державної реєстрації 0114U002848.

Вступ. Незважаючи на поширеність і вираженість раку молочної залози, точний механізм, що лежить в основі ініціювання та прогресування раку молочної залози, до цих пір не є повністю зрозумілим. Рак молочної залози викликаний взаємодією різних генетичних факторів та навколишнього середовища [21,26]. Фізіологічні змінні, такі як репродуктивні чинники, гормональна стимуляція, висока вага при народженні, ожиріння, фізична бездіяльність та вживання алкоголю, є визнаними факторами ризику раку молочної залози [8,9,20]. Крім того, мутації ділянок у деяких високо- та середньо пенетрантних генах, включаючи *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN*, *TP53*, *CHEK2*, *ATM*, *BRIP1* і *PALB2*, пов'язані з високим і середнім ризиком раку молочної залози [12,19]. Проте, мутації в цих генах пояснюють лише 25% ризику раку молочної залози [23].

Генетичні поліморфізми (SNP) в деяких генах можуть змінювати експресію мРНК та білка, а отже, впливати на сприйнятливість до раку. Нещодавно вивчення асоціації геномів (GWAS) виявило SNPs у 5 низько пенетрантних генах як додаткові фактори сприйнятливості з високою частотою та підтвердило їх зв'язок з раком молочної залози [11]. Один з цих генів, лімфоцит специфічний білок 1 (*LSP1*), розташований на хромосомі 11p15.5. Він кодує білок цитоскелетного білка, який виражається в гемопоектичних та ендотеліальних клітинах [11,12]. Виявлено багато поліморфізмів в гені *LSP1*, і один з найбільш поширених поліморфізмів, *LSP1* rs3817198 T> C, був широко вивчений для його потенційного зв'язку з ризиком раку молочної залози. Кілька публікацій повідомляють про значну асоціацію поліморфізму *LSP1* rs3817198 T> C з ризиком раку молочної залози [3,4,14].

Однак інші дослідження не змогли підтвердити подібну асоціацію [5,17,24]. Chen et al. [7] провели мета-аналіз у 2010 році і зробили висновок, що поліморфізм *LSP1* rs3817198 T> C був суттєво корельований з ризиком раку молочної залози. Проте в той час було доступно лише сім досліджень. З тих пір виникли нові дослідження з вивчення випадків захворювання при оцінці асоціації [4,5,15,18,22].

Метою роботи було дослідити частоту поліморфізму rs3817198 гена *LSP1* у жінок різного віку з України, хворих на рак молочної залози.

Об'єкт і методи дослідження. Основну групу хворих було сформовано з 158 жінок віком 35-60 років з діагнозом РМЗ, який був підтверджений гістологічно. Для визначення особливостей клінічного перебігу захворювання були вивчені історії хвороби і медичні картки хворих, створена комп'ютерна база даних. Основну групу розділили на першу групу хворих, яку склали жінки з радіаційним анамнезом і на другу, до якої увійшли жінки без радіаційного анамнезу. До групи порівняння (третя група) включили 57 практично здорових жінок співставного віку.

Першу і другу групу розділили відповідно до віку на дві групи ≤ 40-50 років та 51-60 років.

Для молекулярно-генетичного дослідження використовували зразки периферійної крові. Виділення ДНК здійснювали за стандартним методом з використанням набору NeoPrep¹⁰⁰ DNA Magnet (NeoGene, Україна). Також геномна ДНК екстрагувалася із фіксованих формаліном і залитих парафіном тканин з використанням набору для виділення ДНК Quiamp DNA Mini Kit (Quiagen, Hilden, Німеччина).

Генотипування поліморфних маркерів rs3817198 гена *LSP1*, проводили методом алель-специфічної ПЛР з детекцією результатів в режимі реального часу на ампліфікаторі LightCycler II (Roche, Швейцарія) з використанням специфічних праймерів та зондів. Зонди мають флуоресцентну модифікацію та барвник-гасник (квенчер), який пригнічує флуоресценцію до тих пір, поки ДНК-полімераза, завдяки своїй екзонуклеазній активності не вивільнить флуорохром в процесі елонгації продукту ПЛР. Кожен крок супроводжувався реєстрацією флуоресцентного сигналу в діапазонах, відповідних інтервалам флуоресценції флуорофорів. Праймери для полімеразної ланцюгової Праймер для визначення поліморфізму rs3817198 гена *LSP1*, синтезовані фірмою «TIB MOLBIOL» (Німеччина), представлені в таблиці 1.

Реакційна суміш складалася із зондів виготовлених фірмою Roche Diagnostics (Німеччина). Ампліфікацію проводили в наступних умовах: початкова денатурація 10 хв. при 95°C; 45 циклів ампліфікації, які експоненціально збільшують кількість ампліконів для молекулярного аналізу та включають денатурацію при 95°C – 10 с, реасоціацію при 60°C – 10 с, синтез при 72°C 15 с; плавлення за температури 95°C – 20 с, 40°C – 40 с та; охолодження при 40°C – 30 с. Після закінчення реакції ампліфікації проводили

Таблиця 1.

Праймери для визначення поліморфізму rs3817198 гена *LSP1*

Праймер	Послідовність (5' → 3')
Прямий	TCACCTGATACCAGATTCAAACCTCTC
Зворотній	GCTCATTTCACTAGAGTCAGCCCGG

облік і аналіз одержаних результатів згідно рекомендацій фірми-виробника.

Пошук мутацій відбувався за допомогою методу ПЛР та аналізу точки температурного плавлення T_m отриманих ампліконів. Реакцію ПЛР проводили з використанням реактивів фірми «TIB MOLBIOL» (Німеччина). Зміщення точки плавлення свідчило про зміни в нуклеотидній послідовності амплікону. Аналіз точки T_m проводили за допомогою програми Light Cycler Software (build 4.1.1.21.) (Roche, Швейцарія). Статистичні розрахунки виконували за допомогою пакету програми StatPlus Pro.

Визначення частоти поліморфних алелей та відповідності розподілу генотипів оцінювали за рівнянням Харді-Вайнберга. Силу асоціації алелей, генотипів та їх сполучень за поліморфними варіантами генів, що вивчались, з ризиком розвитку захворювання оцінювали за величиною відношення шансів (ВШ) (odds ratio, OR) у межах 95%-го довірчого інтервалу (confidence interval, CI) за допомогою за допомогою методів варіаційної статистики, прийнятих для біологічних досліджень [1,2] і рекомендованих для обробки результатів молекулярно-генетичних досліджень розраховували за рекомендаціями Бабиць і співавторів [2].

Результати дослідження та їх обговорення. У результаті проведеного молекулярно-генетичного аналізу ДНК у 158 хворих на РМЗ (у 80 та 78 пацієнтів з радіаційно-обумовленим та спонтанним РМЗ, відповідно) та 57 пацієнтів без РМЗ встановлено генотипи щодо поліморфізму rs3817198 гена *LSP1*. Встановлений розподіл генотипів і алелей за поліморфним варіантом rs3817198 гена *LSP1* у першій та другій групах вірогідно не відрізнявся від теоретично очікуваного щодо рівноваги Харді-Вайнберга (табл. 2).

При аналізі частоти поліморфного локусу rs3817198 гена *LSP1* у всіх обстежених жінок, незалежно від віку частота мінорного алелю становила 53,16%. Розподіл генотипів і частот алелей даного поліморфізму представлено на **рисунку**.

За результатами молекулярно-генетичного тестування та статистичних розрахунків встановлено розподіл генотипів та алелей генетичного поліморфізму rs3817198 гена *LSP1* серед жінок хворих на

РМЗ з іонізуючим випромінюванням в анамнезі та без нього порівняно з контрольною групою, які були поділені також на дві вікові групи (табл. 3). Також для досліджуваного поліморфного локусу наведені результати статистичного обчислення відносного ризику за рецесивною та домінантною моделями (табл. 3).

Аналіз розподілу генотипів генетичного поліморфізму rs3817198 гена *LSP1* показав статистично вірогідні відмінності для двох вікових груп жінок хворих на РМЗ з радіаційним анамнезом (віком ≤ 40 -50 років $\chi^2=10,89$; $p=0,001$ та віком 51-60 років $\chi^2=10,24$; $p=0,001$).

Частота генотипу *TT* серед жінок I та II групи віком

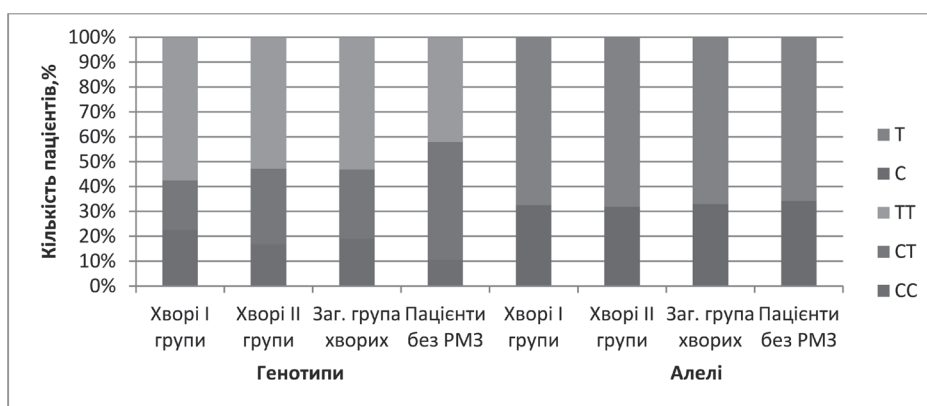


Рис. Розподіл генотипів і частот алелей rs3817198 гена *LSP1* у досліджуваних когортах.

≤ 40 -50 років становила 44,4% та 40,9% відповідно. В контрольній групі частота генотипу *TT* становила 37,5%. Не виявлено значних відмінностей і в частоті *T* алелі у групі жінок віком ≤ 40 -50 I, II та контрольній групі, 55,6, 61,4 та 64,1% відповідно. Частота гетерозиготного генотипу в групах жінок віком ≤ 40 -50 хворих на РМЗ з радіаційним анамнезом (22,2%) та жінок хворих на РМЗ без радіаційного анамнезу (40,9%) була нижчою порівняно з контрольною групою (53,1%).

Проведення статистичного обчислення відношення шансів (OR) виявило підвищення ризику появи раку молочної залози при наявності генотипу поліморфного локусу rs3817198 гена *LSP1* у жінок віком ≤ 40 -50 з радіаційним випромінюванням в анамнезі (OR=1,33), межі довірчого інтервалу склали (CI95%: 0,50-3,52). Отримані нами результати свідчать про асоціацію генетичного поліморфізму rs3817198 гена *LSP1* у жінок віком ≤ 40 -50 хворих на РМЗ з радіаційним анамнезом.

У результаті проведених досліджень Т.В. Gorodnova et al. зробили висновок, про те що наявність генотипу поліморфного локусу rs3817198 гена *LSP1* у жінок асоціацію з підвищеним ризиком РМЗ і також підтверджено в кількох незалежних дослідженнях [14].

Так, у роботі Celine M. Vachon et al. порівнювали асоціацію локусу rs3817198 гена *LSP1* та віковими групами жінок хворих на РМЗ ($p=0,04$) [25].

За результатами молекулярно-генетичного аналізу генетичного поліморфізму rs3817198 гена *LSP1*

Таблиця 2.

Частота генотипів та алелів поліморфного локусу rs3817198 гена *LSP1* серед пацієнтів з раком молочної залози з радіаційним анамнезом та без нього

Генотипи/алелі	Частота алелів та генотипів, %														
	Хворі на РМЗ з радіаційним анамнезом					Хворі на РМЗ без радіаційного анамнезу					Контрольна група				
	N	Фактична частота	HWE	χ^2	p	N	Фактична частота	HWE	χ^2	p	N	Фактична частота	HWE	χ^2	p
віком ≤ 40-50 років															
CC	12	33,3	19,8			8	18,2	14,9			3	9,4	12,9		
CT	8	22,2	49,4	10,89	0,001	18	40,9	47,4	0,83	0,36	17	53,1	46,0	0,76	0,38
TT	16	44,4	30,9			18	40,9	37,7			12	37,5	41,0		
C	32	44,4	-			34	38,6	-			23	35,9	-		
T	40	55,6	-			54	61,4	-			41	64,1	-		
віком 51-60 років															
CC	6	13,6	5,2			4	11,8	7,0			3	12,0	10,2		
CT	8	18,2	35,1	10,24	0,001	8	29,4	38,9	2,03	0,15	10	40,0	43,5	0,16	0,69
TT	30	68,2	59,7			18	58,8	54,1			12	48,0	46,2		
C	20	22,7	-			18	26,5	-			16	32,0			
T	68	77,3	-			34	73,5	-			34	68,0			

Примітка. N – кількість спостережень; HWE (Hardy-Weinberg equilibrium) – теоретично очікувана частота при рівновазі Харді-Вайнберга.

статистично вірогідних відмінностей у частотах генотипів і алелів не встановлено ні у групі жінок хворих на РМЗ з радіаційним анамнезом, ні у жінок хворих на РМЗ без радіаційного анамнезу віком 51-60 років.

Генотип *TT* у групі жінок хворих на РМЗ з радіаційним анамнезом та без радіаційного анамнезу траплявся з більшою частотою (68,2 і 58,8%), ніж у контрольній групі (48,0%), хоча в дослідних групах виявилось менше гетерозигот за генотипом *CT* (18,2 та 29,4% при 40,0% в контрольній групі). Встановлено вищу частоту алеля *T* у групі жінок хворих на

РМЗ з радіаційним анамнезом (77,3%) та нижчу частоту в групі жінок із РМЗ без радіаційного анамнезу (73,5%) порівняно з контрольною групою (68,0%) (**табл. 2**).

Як свідчать результати обчислення показника відношення шансів, наявність генотипу *TT* не асоціюється з ризиком виникнення раку молочної залози у жінок з радіаційним анамнезом (OR=2,32 (CI95% 0,85-6,37)) та без нього (OR=1,55 (CI95% 0,55-4,38)) у віці 51-60 років.

Ген *LSP1* кодує білок з комплектування F-actin, який експресується в лімфоцитах, нейтрофілах і

Таблиця 3.

Розподіл генотипів та алелів поліморфного локусу rs3817198 гена *LSP1* серед пацієнтів з раком молочної залози з радіаційним анамнезом та без нього порівняно з контрольною групою

Генотипи алелі	Контрольна група (n=57)	Хворі на РМЗ з радіаційним анамнезом (n=80)				Хворі на РМЗ без радіаційного анамнезу (n=78)			
	n (%)	n (%)	χ^2	p	OR (95% CI)	n (%)	χ^2	p	OR (95% CI)
віком ≤ 40-50 років									
CC	3 (9,4)	12 (33,3)			4,83 (1,22-19,13)	8 (18,2)			2,15 (0,52-8,84)
CT	17 (53,1)	8 (22,2)	9,01	0,01	0,25 (0,09-0,72)	18 (40,9)	1,65	0,44	0,61 (0,24-1,53)
TT	12 (37,5)	16 (44,4)			1,33 (0,50-3,52)	18 (40,9)			1,15 (0,45-2,94)
C	23 (35,9)	32 (44,4)	1,02	0,31	1,43 (0,71-2,84)	34 (38,6)	0,12	0,73	1,12 (0,58-2,19)
T	41 (64,1)	40 (55,6)			0,70 (0,35-1,40)	54 (61,4)			0,89 (0,46-1,74)
віком 51-60 років									
CC	3 (12,0)	6 (13,6)			1,16 (0,26-5,10)	4 (11,8)			0,98 (0,20-4,82)
CT	10 (40,0)	8 (18,2)	4,01	0,13	0,33 (0,11-1,01)	8 (29,4)	0,79	0,67	0,63 (0,21-1,86)
TT	12 (48,0)	30 (68,2)			2,32 (0,85-6,37)	18 (58,8)			1,55 (0,55-4,38)
C	16 (32,0)	20 (22,7)	1,42	0,23	0,63 (0,29-1,36)	18 (26,5)	0,43	0,51	0,77 (0,34-1,71)
T	34 (68,0)	68 (77,3)			1,60 (0,74-3,48)	34 (73,5)			1,31 (0,59-2,92)

Примітка. n – кількість осіб, P – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контрольною і дослідною групою, OR (odds ratio) – коефіцієнт відношення шансів.

ендотеліальних клітинах. Білок *LSP1* регулює рухливість нейтрофілів, адгезію до білків матриці фібриногену та трансендотеліальної міграції [16,25]. Поліморфізми в генів *LSP1* можуть призвести до змін у вираженні та функції білка, а також регулювати шляхи передачі сигналів вниз, тим самим модулізуючи прихильність до раку молочної залози [12,13,19]. rs3817198 T> C поліморфізм був широко вивчений для його потенційної зв'язку з ризиком раку молочної залози, однак, висновки були безпідставними. Поліморфізм як при гомозиготній моделі, так і порівняння моделі алельних частот. Подальший стратифікований аналіз показав, що ця асоціація була помітною в кавказьких популяціях, в азіатських популяціях і в популяційних дослідженнях. Наші результати свідчать, що поліморфізм *LSP1* rs3817198 T> C є фактором ризику раку молочної залози. Раніше єдиний мета-аналіз (у 2011 році) досліджував зв'язок між поліморфізмом *LSP1* rs3817198 T> C і ризиком ракової стадії молочної залози [7]. Попередній мета-аналіз включав лише 7 досліджень з 33920 випадків і 35 671 контролем і виявив суттєву зв'язок між поліморфізмом *LSP1* rs3817198 T> C і молочною залозою раку за гомозиготною моделлю і порівнянням моделі частот алелей.

Висновки. Таким чином, проведення статистичного обчислення відношення шансів (OR) виявило

підвищення ризику появи раку молочної залози при наявності генотипу поліморфного локусу rs3817198 гена *LSP1* у жінок віком ≤ 40-50 з радіаційним випромінюванням в анамнезі (OR=1,33), межі довірчого інтервалу склали (CI95%: 0,50-3,52). Отримані нами результати свідчать про асоціацію генетичного поліморфізму rs3817198 гена *LSP1* у жінок віком ≤ 40-50 хворих на РМЗ з радіаційним анамнезом.

Отримані дані підтверджують вклад одонуклеотидного поліморфного локусу rs3817198 гена *LSP1* в розвиток РМЗ, зокрема радіаційно-асоційованого віком ≤ 40-50. Генотип T/T поліморфізму rs3817198 гена *LSP1* в молодшій віковій групі (≤ 40-50/51-60 років) хворих з радіаційним анамнезом зумовлює статистично підвищений ризик розвитку радіаційно-асоційованого РМЗ.

Перспективи подальших досліджень. Визначення особливостей поліморфізму поліморфного локусу rs3817198 гена *LSP1* серед пацієнтів з раком молочної залози з радіаційним анамнезом та без нього порівняно з контрольною групою інших країн зокрема Польщі та Швеції.

Література

1. Babich P.N. Primeneniye sovremennykh staticheskikh metodov v praktike klinicheskikh issledovaniy. Soobshcheniye tret'ye. Otnosheniye shansov: ponyatiye, vychisleniye i interpretatsiya / P.N. Babich, A.V. Chubenko, S.N. Lapach // *Ukrains'kiy medichniy chasopis*. – 2005. – Т. 46, № 2. – С. 113-119.
2. Gubler Ye.V. Primeneniye neparametricheskikh kriteriyev statistiki v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh: nauch. rukovodstvo / Ye.V. Gubler, A.A. Genkin. – Meditsina, 1973. – С. 44-56.
3. Barnholtz-Sloan J.S. FGFR2 and other loci identified in genome-wide association studies are associated with breast cancer in African-American and younger women / J.S. Barnholtz-Sloan, P.B. Shetty, X. Guan, S.J. Nyante [et al.] // *Carcinogenesis*. – 2010. – № 31. – P. 1417-1423.
4. Butt S. Genetic predisposition, parity, age at first childbirth and risk for breast cancer / S. Butt, S. Harlid, S. Borgquist, M. Ivarsson [et al.] // *BMC Res Notes*. – 2012. – № 5. – P. 414.
5. Campa D. Interactions between genetic variants and breast cancer risk factors in the breast and prostate cancer cohort consortium / D. Campa, R. Kaaks, Le L. Marchand, C.A. Haiman [et al.] // *J Natl Cancer Inst*. – 2011. – № 103. – P. 1252-1263.
6. Celine M. Vachor Common Breast cancer Susceptibility Variants in LSP1 and RAD51L1 are Associated with Mamographic density measures that predict breast cancer risk / M. Vachor Celine, Christopher G. Scott, A. Peter [et al.] // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. – 2012. – Vol. 21, № 7. – P. 1156-1166.
7. Chen M.B. Association of a LSP1 gene rs3817198T > C polymorphism with breast cancer risk: evidence from 33,920 cases and 35,671 controls / M.B. Chen, C. Li, W.X. Shen [et al.] // *Mol Biol Rep*. – 2011. – № 38. – P. 4687-4695.
8. Cheung K.L. Endocrine therapy for breast cancer: an overview / K.L. Cheung // *Breast*. – 2007. – № 16. – P. 327-343.
9. Chlebowski R.T. Estrogen plus progestin and breast cancer incidence and mortality in the Women's Health Initiative Observational Study / R.T. Chlebowski, J.E. Manson, G.L. Anderson, J.A. Cauley [et al.] // *J Natl Cancer Inst*. – 2013. – Vol. 105. – P. 526-535.
10. Clerget-Darpoux F. Introduction to the genetic epidemiology of multifactorial diseases / F. Clerget-Darpoux, S. Lyonnnet, P. Broet // *Medecine France*. – 2009.
11. Easton D.F. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci / D.F. Easton, K.A. Pooley, A.M. Dunne, P.D. Pharoah [et al.] // *Nature*. – 2007. – № 447. – P. 1087-1093.
12. Fanale D. Breast cancer genome-wide association studies: there is strength in numbers / D. Fanale, V. Amodeo, L.R. Corsini, S. Rizzo, V. Bazan, A. Russo // *Oncogene*. – 2012. – № 31. – P. 2121-2128.
13. Fletcher O. Candidate gene-environment interactions in breast cancer / O. Fletcher, F. Dudbridge // *BMC Med*. – 2014. – № 12. – P. 195.
14. Gorodnova T.V. Distribution of FGFR2, TNRC9, MAP3K1, LSP1, and 8q24 alleles in genetically enriched breast cancer patients versus elderly tumor-free women / T.V. Gorodnova, E. Kuligina, G.A. Yanus, A.S. Katanugina [et al.] // *Imyanitov EN Cancer Genet Cytogenet*. – 2010. – № 199. – P. 69-72.
15. Jiang Y. Risk of genome-wide association study newly identified genetic variants for breast cancer in Chinese women of Heilongjiang Province / Y. Jiang, J. Han, J. Liu, G. Zhang [et al.] // *Breast Cancer Res Treat*. – 2011. – № 128. – P. 251-257.
16. Lanigan F. Molecular links between mammary gland development and breast cancer / F. Lanigan [et al.] // *Cell Mol Life Sci*. – 2007. – Vol. 64. – P. 3159-3184.
17. Latif A. Breast cancer susceptibility variants alter risks in familial disease / A. Latif, K.D. Hadfield, S.A. Roberts [et al.] // *Med Genet*. – 2010. – № 47. – P. 126-131.

18. Long J. Evaluation of breast cancer susceptibility loci in Chinese women / J. Long, X.O. Shu, Q. Cai, Y.T. Gao [et al.] // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2010. – № 19. – P. 2357-2365.
19. Ripberger T. Breast cancer susceptibility: current knowledge and implications for genetic counseling / T. Ripberger, D. Gadzicki, A. Meindl, B. Eur Schlegelberger // *J Hum Genet.* – 2009. – № 17. – P. 722-731.
20. Silva Idos S. Birth size and breast cancer risk: re-analysis of individual participant data from 32 studies / S. Silva Idos, B. De Stavola, V. McCormack // *PLoS Med.* – 2008. – № 5. – P. 193.
21. Song M. Breast cancer prevention based on gene-environment interaction / M. Song, K.M. Lee, D. Kang // *Mol Carcinog.* – 2011. – Vol. 50. – P. 280-290.
22. Sueta A. A genetic risk predictor for breast cancer using a combination of low-penetrance polymorphisms in a Japanese population / A. Sueta, H. Ito, T. Kawase [et al.] // *Breast Cancer Res Treat.* – 2012. – № 132. – P. 711-721.
23. Thompson D. The genetic epidemiology of breast cancer genes / D. Thompson, D. Easton, J. Mammary // *Gland Biol Neoplasia.* – 2004. – № 9. – P. 221-236.
24. Travis R.C. Gene-environment interactions in 7610 women with breast cancer: prospective evidence from the Million Women Study / R.C. Travis, G.K. Reeves, J. Green, D. Bull [et al.] // *Lancet.* – 2010. – № 375. – P. 2143-2151.
25. Vachon C.M. Common breast cancer susceptibility variants in LSP1 and RAD51L1 are associated with mammographic density measures that predict breast cancer risk / C.M. Vachon, C.G. Scott, P.A. Fasching [et al.] // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2012. – № 21. – P. 1156-1166.
26. Wolff M.S. Breast cancer risk and environmental exposures / M.S. Wolff, A. Weston // *Environ Health Perspect.* – 1997. – Vol. 105. – P. 891-896.

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА *LSP1* У ХВОРИХ ЖІНОК НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ З УКРАЇНИ

Поліник С. І., Рибченко Л. А., Захарцева Л. М., Клименко С. В.

Резюме. Рак молочної залози викликаний взаємодією різних генетичних факторів та навколишнього середовища. Генетичні поліморфізми (SNP) в деяких генах можуть змінювати експресію мРНК та білка, а отже, впливати на сприйнятливості до раку. Метою роботи було дослідити частоту поліморфізму rs3817198 гена *LSP1* у жінок різного віку з України, хворих на рак молочної залози. Основну групу хворих було сформовано з 158 жінок віком 35-60 років з діагнозом РМЗ, який був підтверджений гістологічно. Пошук мутацій відбувався за допомогою методу ПЛР та аналізу точки температурного плавлення T_m отриманих ампліконів. Реакцію ПЛР проводили з використанням реактивів фірми «TIB MOLBIOL» (Німеччина). Зміщення точки плавлення свідчило про зміни в нуклеотидній послідовності амплікону. Аналіз точки T_m проводили за допомогою програми Light Cycler Software (build 4.1.1.21.) (Roche, Швейцарія). Статистичні розрахунки виконували за допомогою пакету програми StatPlus Pro. Генотип ТТ у групі жінок хворих на РМЗ з радіаційним анамнезом та без радіаційного анамнезу траплявся з більшою частотою (68,2 і 58,8%), ніж у контрольній групі (48,0%), хоча в дослідних групах виявилось менше гетерозигот за генотипом СТ (18,2 та 29,4% при 40,0% в контрольній групі). Встановлено вищу частоту алеля Т у групі жінок хворих на РМЗ з радіаційним анамнезом (77,3%) та нижчу частоту в групі жінок із РМЗ без радіаційного анамнезу (73,5%) порівняно з контрольною групою (68,0%). Встановлений розподіл генотипів і алелів за поліморфним варіантом rs3817198 гена *LSP1* у першій та другій групах вірогідно не відрізнявся від теоретично очікуваного щодо рівноваги Харді-Вайнберга. Проведення статистичного обчислення відношення шансів (OR) виявило підвищення ризику появи раку молочної залози при наявності генотипу поліморфного локусу rs3817198 гена *LSP1* у жінок віком $\leq 40-50$ з радіаційним випромінюванням в анамнезі (OR=1,33), межі довірчого інтервалу склали (CI95%: 0,50-3,52). Отримані нами результати свідчать про асоціацію генетичного поліморфізму rs3817198 гена *LSP1* у жінок віком $\leq 40-50$ хворих на РМЗ з радіаційним анамнезом.

За результатами молекулярно-генетичного аналізу генетичного поліморфізму rs3817198 гена *LSP1* статистично вірогідних відмінностей у частотах генотипів і алелів не встановлено ні у групі жінок хворих на РМЗ з радіаційним анамнезом, ні у жінок хворих на РМЗ без радіаційного анамнезу віком 51-60 років.

Ключові слова: ген *LSP1*, іонізуюче випромінювання, рак молочної залози.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *LSP1* У БОЛЬНЫХ ЖЕНЩИН РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С УКРАИНЫ

Полиник С. И., Рыбченко Л. А., Захарцева Л. М., Клименко С. В.

Резюме. Рак молочной железы вызван взаимодействием различных генетических факторов и окружающей среды. Генетические полиморфизмы (SNP) в некоторых генах могут менять экспрессию мРНК и белка, а следовательно, влияют на восприимчивость к раку. Целью работы было исследовать частоту полиморфизма rs3817198 гена *LSP1* у женщин разного возраста из Украины, больных раком молочной железы. Основную группу больных было сформировано из 158 женщин в возрасте 35-60 лет с диагнозом РМЖ, который был подтвержден гистологически. Поиск мутаций происходил с помощью метода ПЦР и анализа точки температурного плавления T_m полученных ампликонов. Реакцию ПЦР проводили с использованием реактивов фирмы «TIB MOLBIOL» (Германия). Смещение точки плавления свидетельствовало об изменениях в нуклеотидной последовательности ампликона. Анализ точки T_m проводили с помощью программы Light Cycler Software (build 4.1.1.21.) (Roche, Швейцария). Статистические расчеты выполняли с помощью пакета программы StatPlus Pro. Генотип ТТ в группе женщин больных РМЖ с радиационным анамнезом и без радиационного анамнеза случался с большей частотой (68,2 и 58,8%), чем в контрольной группе (48,0%), хотя в опытных группах оказалось меньше гетерозигот по генотипу СТ (18,2 и 29,4% при 40,0% в контрольной группе). Установлено высокую частоту аллеля Т в группе женщин больных РМЖ с радиационным анамне-

зом (77,3%) и низкую частоту в группе женщин с РМЖ без радиационного анамнеза (73,5%) по сравнению с контрольной группой (68,0%). Установленное распределение генотипов и аллелей по полиморфным вариантам rs3817198 гена *LSP1* у первой и второй групп достоверно не отличался от теоретически ожидаемого по равновесия Харди-Вайнберга. Проведение статистического вычисления отношения шансов (OR) выявило повышение риска появления рака молочной железы при наличии генотипа полиморфного локуса rs3817198 гена *LSP1* у женщин в возрасте $\leq 40-50$ с радиационным излучением в анамнезе (OR = 1,33), границы доверительного интервала составили (СИ95%: 0,50-3,52). Полученные нами результаты свидетельствуют об ассоциации генетического полиморфизма rs3817198 гена *LSP1* у женщин в возрасте $\leq 40-50$ больных РМЖ с радиационным анамнезом.

По результатам молекулярно-генетического анализа генетического полиморфизма rs3817198 гена *LSP1* статистически достоверных различий в частотах генотипов и аллелей не установлено ни в группе женщин больных РМЖ с радиационным анамнезом, ни у женщин больных РМЖ без радиационного анамнеза в возрасте 51-60 лет.

Ключевые слова: ген *LSP1*, ионизирующее излучение, рак молочной железы.

GENE *LSP1* POLYMORPHISM IN WOMEN WITH BREAST CANCER IN UKRAINE

Polinyk S. I., Rybchenko L. A., Zakhartseva L. M., Klymenko S. V.

Abstract. Breast cancer is caused by the interaction of various genetic factors and the environment.

Genetic polymorphisms (SNPs) in some genes may alter the expression of mRNA and protein, and therefore, affect the susceptibility to cancer.

The aim of the work was to investigate the frequency of rs3817198 polymorphism of the *LSP1* gene in women of all ages from Ukraine with breast cancer patients. The main group of patients was formed from 158 women aged 35-60 years old with a diagnosis of breast cancer, which was confirmed histologically. The search for mutations was done using the PCR method and the analysis of the temperature melting point T_m of the amplicons obtained. The PCR reaction was performed using TIB MOLBIOL (Germany) reagents. The displacement of the melting point indicated changes in the nucleic acid sequence of the amplicon. The T_m analysis was performed using Light Cycler Software (build 4.1.1.21.) (Roche, Switzerland). Statistical calculations were performed using the StatPlus Pro program package. The TT genotype in the group of women with breast cancer with a radiation history and radiation history was more frequent (68.2 and 58.8%) than in the control group (48.0%), although the experimental groups showed less heterosis after the genotype of ST (18.2 and 29.4% at 40.0% in the control group). A higher allele T frequency was found in the group of women with breast cancer with a radiation history (77.3%) and a lower frequency in the group of women with breast cancer without a radiation history (73.5%) compared with the control group (68.0%).

The established distribution of genotypes and alleles for the polymorphic version of rs3817198 of the *LSP1* gene in the first and second groups was not significantly different from the theoretically anticipated on the Hardy-Weinberg equilibrium. The statistical analysis of the odds ratio (OR) revealed an increased risk of developing breast cancer in the presence of the genotype of the polymorphic rs3817198 locus of the *LSP1* gene in women aged $\leq 40-50$ with a history of radiation (OR = 1.33), confidence intervals (IC 95%: 0.50-3.52). The results obtained by us confirm the association of genetic polymorphism of rs3817198 of the *LSP1* gene in women $\leq 40-50$ in patients with breast cancer with a radiation anamnesis.

According to the results of the molecular genetic analysis of the genetic polymorphism rs3817198 of the *LSP1* gene, there are no statistically significant differences in the frequencies of genotypes and alleles in the group of women with breast cancer patients with a radiation history, nor in women with breast cancer without a radiation history in the age of 51-60 years.

Keywords: *LSP1* gene, ionizing radiation, breast cancer.

Рецензент – проф. Баштан В. П.

Стаття надійшла 11.10.2017 року