

**REPORTS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN**

ISSN 2224-5227

Volume 6, Number 304 (2015), 114 – 126

**ASSOCIATION OF BREAST CANCER POLYMORPHISM COMBINATIONS IN
TP53 AND *HER2* GENES IN POPULATIONS OF KAZAKHSTAN****Khodayeva A., Abaildayev A., Litus I., Rakhymgozhyn M.,
Balmukhanov T., Aitkhozhina N.**Aitkhozhin Institute of molecular biology and biochemistry
Almaty, Kazakhstan**Keywords:** breast cancer, *TP53* gene, *HER2* gene, APSampler, Kazakhstan.

Abstract. Determination of allele frequencies and genotype distribution were performed in the genes *TP53*: substitution in codon 72 of exon 4 (ex4+ G>C), point mutation in intron 6 (IVS6+G>A), 16 bp insertion/deletion in intron 3 (IVS3+16bp) and codon 655 in exon 21 of *HER2* gene using case-control study between patients with breast cancer (BC) and healthy women in Kazakh and Russian ethnic groups. Statistically significant associations with breast cancer for each polymorphism in both ethnic groups are not detected. In the next step, using the software APSampler had been searched association combinations in these polymorphisms with breast cancer. The analysis was performed in total sample group of patients and in subgroups of patients defined by clinical type of breast cancer. Statistically significant association combinations of alleles/genotypes with breast cancer was shown for Russian ethnic group in the total sample and in subgroup of luminal B breast cancer and also in subgroup of luminal B for Kazakh ethnic group. Carriage of combination alleles in sites IVS3+16bp (W) and IVS6+G>A (A) *TP53* gene in Russian ethnic group in total sample was shown a positive increased risk ($p = 0.01$ ($p_{perm}=0.04$), OR=2.34). For luminal B subgroup of breast cancer for the same ethnic group was identified two positive high increased risk combinations in *TP53* and *HER2*: allele C in site ex4+G>C and allele G in site ex21 + A>G ($p=0.02$ ($p_{perm}=0.01$), OR=2.42) and combination of allele W (IVS3+16bp) and allele A, genotype AG in site IVS6+G>A - OR=3.91 and OR=4.01. The analysis shows cumulated effects and possible epistatic interactions studied genes.

УДК 575.113.2

**Ассоциации сочетаний полиморфизмов в генах *tp53* и *her2*
с раком молочной железы среди населения Казахстана****Ходаева А., Абайлдаев А., Литус И., Рахымгожин М.,
Балмуханов Т., Айтхожина Н.**РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина»
КН МОН РК, г. Алматы, Казахстан**Ключевые слова:** рак молочной железы, ген *TP53*, ген *HER2*, APSampler, Казахстан.

Аннотация. Методом случай-контроль проведено определение частот аллелей и распределения генотипов в генах *TP53*: замена в 72-м кодоне четвертого экзона (ex4+G>C), точечная мутация в шестом интроне (IVS6+G>A), инсерция/делеция 16 п.н. в третьем интроне (IVS3+16bp) и в 655-м кодоне 21 экзона гена *HER2* среди больных раком молочной железы (РМЖ) и здоровых женщин в казахской и русской этнических группах. Статистически значимые ассоциации с РМЖ каждого полиморфного участка в обеих этнических группах не выявлены. Далее с использованием программного обеспечения APSampler был проведен поиск ассоциаций сочетаний указанных полиморфизмов генов с РМЖ. Анализ проводился в общей группе пациентов и в подгруппах, сформированных по клиническому типу РМЖ. Статистически достоверные ассоциации сочетаний аллелей/генотипов с РМЖ показаны для русской этнической группы в полной выборке и в подгруппе люминального типа В РМЖ, а также в подгруппе люминального типа В для казахской этнической группы. В русской этнической группе в полной выборке положительный рисковый характер носительства показало сочетание аллелей в участках IVS3+16bp (W) и IVS6+G>A (A) гена *TP53* ($p=0.01$ ($p_{perm}=0.04$), ОШ=2.34). Для подгруппы РМЖ люминального типа В для той же этнической группы выявлены следующие положительные высокорисковые сочетания полиморфизмов генов *TP53* и *HER2*: аллель С участка ex4+G>C и аллель G участка ex21+A>G ($p=0.02$ ($p_{perm}=0.01$), ОШ=2.42) и сочетание аллеля

W (IVS3+16bp) с аллелем А и генотипом AG в участке IVS6+G>A – ОШ=3.91 и ОШ=4.01. Результаты анализа свидетельствует о кумулятивных эффектах и возможном эпистатическом взаимодействии изученных генов.

Одной из основных причин злокачественной трансформации является процесс возникновения или проявления генетических мутаций. Мутации в гене *TP53* являются наиболее распространенными генетическими аномалиями при развитии онкологических заболеваний [1, 2]. Мутации в гене *TP53* наблюдаются в 50% опухолей человека, в том числе и раке молочной железы (РМЖ), где потеря активности гена выступает в качестве важного фактора в развитии онкопатологий [1].

Из восьмидесяти пяти полиморфизмов, обнаруженных в гене *TP53*, наиболее изученными в функциональном отношении, распространенности в популяциях и ассоциациях с РМЖ являются нуклеотидная замена в 72-м кодоне четвертого экзона (ex4+G>C или Arg72Pro), точечная мутация в шестом интроне (IVS6+G>A), и инсерция/делеция 16 п.н. в третьем интроне (IVS3+16bp) [1].

Ген *HER2*, кодирующий тирозиновую киназу, представляет собой трансмембранный белок семейства рецепторов эпидермальных факторов роста *ERBB*. Являясь протоонкогеном, рецептор *HER2* вовлечен в передачу сигналов между клетками, клеточную пролиферацию и играет важную роль в возникновении РМЖ [3]. Мутации в трансмембранном регионе *neu*, гомолога гена *HER2* у крыс, приводят к повышенному фосфорилированию тирозина и вызывают нейробластомы [4].

Зародышевая (germline) мутация в кодирующем регионе гена *HER2* кодоне 655, описанная Rapewalis et. al приводит к замене аминокислоты изолейцина на валин [5]. Хотя функциональные характеристики носительства валинового варианта полностью не изучены, однако опубликованы данные, которые указывают на повышение риска РМЖ у гомозиготных носителей по валину [6].

Целью данной работы является поиск ассоциаций некоторых полиморфных участков генов *TP53* и *HER2* с раком молочной железы у женщин Казахстана.

Материалы и методы

Исследование проводилось методом случай-контроль и включало 251 образец женщин, больных РМЖ. Сбор образцов проходил в Казахском НИИ онкологии и радиологии и Алматинском онкологическом диспансере г. Алматы. Контроль (273 образца) составили здоровые женщины без РМЖ в семейном анамнезе. Сбор контрольных образцов проходил в Городском центре крови г. Алматы. Каждый пациент и донор проинформированы о проведении исследований и дали на него согласие.

Выделение геномной ДНК из образцов периферической крови проводилось с использованием набора QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, США) по протоколу. Генотипирование полиморфных участков гена *TP53* в четвертом экзоне (ex4+G>C), шестом интроне (IVS6+G>A) и в гене *HER2* – экзон 21 (ex21+A>G) проводилось с использованием методов полимеразной цепной реакции и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ). Генотипирование инсерции/делеции длиной 16 п.н. в третьем интроне (IVS3+16bp) гена *TP53* анализировали с помощью Touchdown ПЦР. Условия амплификации, последовательность праймеров, размеры ПЦР-ПДРФ продуктов приведены в таблицах 1 и 2. Праймеры подобраны с помощью программы Primer3 (<http://primer3.ut.ee/>). Последующий рестрикционный анализ проводился с использованием одной единицы фермента (Сибэнзим, Россия) (таблица 2).

Таблица 1. Последовательность праймеров и условия амплификации исследуемых участков.

Участок	Праймеры	Условия амплификации
ex4+G>C	F 5'-GTCCCTGACTGCTCTTTTCACCCATCTAC-3' R 5'-GGGATACGGCCAGGCATTGAAGTCTC-3'	95°C-5 мин, 35 цик. (95°C-30 с, 58°C-30 с, 72°C-40 с), 72°C-7 мин.
IVS6+G>A	F 5'-TGGCCATCTACAAGCAGTCA-3' R 5'-TTCCACATCTCATGGGGTTA-3'	94°C-1 мин, по 10 цик. (94°C-30 с, 60 (58 и 56)°C-30 с, 72°C-30 с); 72°C-7 мин.
IVS3+16bp	F 5'-TGGGACTGACTTTCTGCTCTT-3' R 5'-TCAAATCATCCATTGCTTGG-3'	94°C-5 мин, по 10 цик. (94°C-30 с, 56 (54 и 51)°C-30 с, 72°C-30 с); 72°C-7 мин.
ex21+A>G	F 5'-AGAGCGCCAGCCCTCTGACGTCCAT-3' R 5'-TCCGTTTCCTGCAGCAGTCTCCGCA-3'	94°C-30 мин, 35 цик. (94°C-30 с, 62°C-30 с, 72°C-30 с), 72°C-7 мин.

F – прямой праймер, R – обратный праймер

Таблица 2. Размеры ПЦР-ПДРФ продуктов и эндонуклеазы рестрикции исследуемых участков.

Участок	Размер продукта	ПЦР	Размер рестрикционных фрагментов	Эндонуклеаза рестрикции
<i>P53</i> (код 72)	396 пн.		G аллель – 231, 165 пн. С аллель – 396 пн.	<i>BstFNI</i>
IVS6+G>A	404 пн.		G аллель – 336, 68 пн. А аллель – 404 пн.	<i>MspI</i>
IVS3+16bp	180, 196 пн.		делеция – 180 пн., инсерция – 196 пн.	-
ex21+A>G	146 пн.		A аллель – 122, 26 пн. G аллель – 90, 32, 26 пн.	<i>BstMAI</i>

п.н. – пар нуклеотидов

Сравнение частот носительства аллелей и распределение генотипов в группах случая и контроля проводили с помощью Пирсона (χ^2) при уровне значимости $p \leq 0.05$ программы Statistica 5.0.

Для анализа связи сочетаний аллелей/генотипов каждого полиморфного участка с РМЖ использовали программное обеспечение APSampler, включающий метод Монте-Карло Марковскими цепями и Байесовскую непараметрическую статистику [7]. Достоверность выявленных ассоциаций носительства сочетаний аллелей/генотипов определяли по значениям точного критерия Фишера. Достоверными считались различия при значении p (и величиной пермутаций p_{perm} с поправкой на сто сравнений) ≤ 0.05 . Рисковое/протективное действие сочетаний аллелей/генотипов оценивали по значениям показателя отношения шансов (ОШ) с доверительным интервалом (ДИ) равным 95%.

Результаты и обсуждение

В настоящем исследовании проведен анализ комплексного вклада сочетаний аллелей/генотипов полиморфных участков генов *TP53* и *HER2* в возникновение РМЖ. Анализ проводили путем сравнения групп случая и контроля, как для группы РМЖ в целом (полная выборка) так и в подгруппах, сформированных по типу РМЖ в казахской и русской этнических группах.

Результаты анализа ассоциаций исследуемых полиморфных участков: ex4+G>C, IVS6+G>A, IVS3+16bp, ex21+A>G с РМЖ для каждого участка в отдельности не выявили статистически значимых различий, как в частоте аллелей, так и в распределении генотипов (данные не приводятся).

Следующий этап исследования включил в себя поиск сочетаний аллелей/генотипов, статистически значимо ассоциированных с РМЖ, проведенный с использованием алгоритма APSampler. Результаты, выявленные в процессе анализа, представлены в таблицах 3, 4 и 5. Статистически достоверные результаты были получены для полной выборки в русской этнической группе, для РМЖ люминального типа В в той же группе и для РМЖ люминального типа В в казахской этнической группе.

Сформированная полная выборка казахской этнической группы и выборки в подгруппы с РМЖ люминального типа А и трипл-негативного типа для обеих этнических групп не показали статистически достоверных различий во встречаемости полиморфизмов между пациентами и контролем.

Сравнение результатов, приведенных в таблицах, указывает на участие каждого полиморфного участка в предрасположенность к РМЖ. Как следует из данных таблицы 3, полученных в ходе анализа полной выборки русской этнической группы, носительство аллеля А в участке IVS6+G>A является рисковым фактором РМЖ ($p=0.02$, ($p_{perm}=0.05$), несмотря на отсутствие данных о его ассоциации с РМЖ в других популяциях [3-6, 8]. Мета-анализ 37 исследований, осуществленных методом случай-контроль указывает на отсутствие ассоциации полиморфного участка IVS6+G>A с РМЖ [8]. Эти же данные подтверждает и мета исследование Xiao-Feng He et al. в различных сравнительных моделях [9]. Носительство данного аллеля в сочетании с генотипом WW в участке IVS3+16bp приводит в возрастанию уровня значимости ассоциации ($p=0.01$ ($p_{perm}=0.04$)), и значения ОШ с 1.51 до 2.34, что говорит о положительном (взаимоусиливающем) взаимодействии указанных участков. Носительство генотипа CC в участке ex4+G>C в русской этнической группе показало положительную ассоциацию с РМЖ (таблица 3). Схожие результаты показывают исследования популяций арабских женщин [10], в которых

показано увеличение риска РМЖ при носительстве аллеля С и среди японских женщин (ОШ=2.10) [11]. С другой стороны, носительство аллеля С у жителей Средиземноморья и северной Европы снижает риск РМЖ: ОШ=0.40 и ОШ=0.27, соответственно [8].

Направленность эффекта одиночного носительства и входящих в сочетание аллелей/генотипов согласуется с тем, что альтернативные аллели/генотипы оказывают протективное действие, а значение ОШ<1 говорит об отрицательном (компенсаторном) взаимодействии. Для аллеля G (ex4+G>C) показан высокий протективный эффект как в одиночном носительстве, так и в сочетаниях. Наиболее значимым оказались аллель G (ex4+G>C) в сочетании с аллелью G в участке IVS6+G>A (ОШ=0.50 ДИ:0.27-0.92). Однако большого эффекта в сочетании аллель G в участке IVS6+G>A не вкладывает, так как в ее отсутствие протективный эффект не снижается. Небольшое снижение протективного эффекта показывает добавление в это сочетание аллель A в полиморфном участке ex21+ A>G (ОШ=0.05) (таблица 3).

Противоречивые результаты получены при тестировании участка ex4+G>C в индийской популяции. Опубликованы данные (Nizam's Institute of Medical Science) демонстрирующие, что гомозиготное носительство генотипа GG и, в частности, аллеля G, свидетельствуют о положительной ассоциации с РМЖ ($p=0.003$) [12], что не согласуется с полученными нами данными. Однако, с другой стороны, исследования, проведенные среди жителей северной Индии в городах Лакнау, Варанаси, Канпур, Агра указывают на протективный характер носительства гетерозиготного GC в общей группе и группе женщин в постменопаузе с показателями ОШ=0.42 и ОШ=0.25, соответственно [13]. Тестирование полиморфизма в участке ex4+G>C китайской и португальской популяциях ассоциаций с РМЖ не выявили [14, 15].

Данные мета-анализа указывают на то, что носительство гетерозиготного генотипа GC носит умеренно протективный характер в сравнении с гомозиготным носительством GG: ОШ=0.91. Такой же эффект показан и для доминантной модели носительства генотипов CC/GC по сравнению с GG в европейской, азиатской и африканской популяциях [16].

Другие сочетания аллелей/генотипов, в том числе генотип WW (IVS3+16bp), также оказывают протективное действие с вариациями ОШ между 0.61 и 0.65 (таблица 3).

Таблица 3. Ассоциации одиночных и сочетаний аллелей/генотипов полиморфных участков TP53 и HER2 с РМЖ в русской этнической группе в полной выборке.

Аллели/генотипы в составе сочетания				Носители/неносители		p по Фишеру	P _{perm}	ОШ (95% ДИ)
ex4+G>C	IVS3+1 6bp	IVS6+G >A	ex21+ A>G	РМЖ n=251	Контроль n=273			
Носительство сочетаний двух аллелей/генотипов								
G	WW			169/77	212/59	0.009	0.03	0.61 (0.41-0.90)
G		GG		168/73	213/58	0.01	0.04	0.62 (0.42-0.93)
	WW	A		22/223	11/261	0.01	0.04	2.34 (1.11-4.93)
G		G		211/30	253/18	0.01	0.04	0.50 (0.27-0.92)
		GG	A	159/80	204/67	0.01	0.04	0.65 (0.44-0.95)
	WW		A	167/77	206/66	0.04	0.08	0.69 (0.47-1.02)
Носительство сочетаний трех аллелей/генотипов								
G	WW		A	152/88	199/71	0.0076	0.02	0.61 (0.41-0.89)
G		GG	A	149/86	199/71	0.008	0.03	0.61 (0.42-0.90)
G		G	A	188/47	236/34	0.01	0.04	0.57 (0.35-0.93)
Носительство одного аллеля/генотипа								
G				217/29	254/17	0.02	0.05	0.50 (0.26-0.93)
CC				29/217	17/254	0.02	0.05	1.99 (1.06-3.73)

	A		67/178	54/218	0.02	0.05	1.51 (1.00-2.28)
	GG		178/67	218/54	0.02	0.05	0.65 (0.43-0.99)

Следующим этапом анализа было разделение полной выборки по типам РМЖ и анализ с помощью ПО APSampler. Полученные данные представлены в таблицах 4 и 5 для русской и казахской этнических групп соответственно.

В целом, сочетания аллелей/генотипов, выявленные при анализе полной выборки, сохраняются. Как следует из данных, приведенных в таблице 4, наблюдается увеличение количества генотипов в составе сочетаний, появились другие комплексные сочетания аллелей/генотипов.

В подгруппе РМЖ люминального типа В в русской этнической группе сохраняется рисковое сочетание аллелей участков IVS6+G>A и IVS3+16bp. Аллель А в комплексе с W (IVS6+G>A и IVS3+16bp, соответственно, обнаруживают положительную ассоциацию высокорисковых аллелей ($p=0.0005$, ОШ=3.91, $p_{perm}=3.65 \times 10^{-5}$). Замена аллеля А на генотип GA (IVS6+G>A) в приведенном выше сочетании повышает рисковую эффект на 0.1. Данное сочетание аллелей показало самый высокий рисковую эффект среди других сочетаний, полученных в анализе (ОШ=4.01). Значительный вклад в приведенные выше сочетания вносят аллель А и генотип AG (IVS6+G>A), что подтверждается результатами одиночных носительств (таблица 4).

Помимо уже выявленных рисковых сочетаний в группу рисковых аллелей в подгруппе РМЖ люминального типа В входит аллель G участка ex21+A>G. В би- и трехаллельных сочетаниях с аллелями С (ex4+G>C) и G (IVS6+G>A) данный аллель вносит вклад в положительную рисковую ассоциацию. Причем наиболее весомый рисковую вклад в сочетания вносит именно аллель G участка ex21+A>G (ОШ=1.90).

Популяционное исследование, проведенное в Китае, указывает на положительную ассоциацию участка ex21+A>G с РМЖ и, в частности, носительство гомозиготного варианта Val/Val (GG) у женщин моложе 45 лет (ОШ=14.1). Показано также, что амплификация гена *HER2* в опухолях гораздо выше у носителей данного аллеля [6]. Тем не менее, результаты исследований, проведенных в китайской популяции, не согласуются с результатами в японской [17], британской [18] турецкой [19] популяциях, а также среди выходцев из Латинской Америки, лиц европейского происхождения и афро-американцев, проживающих на территории США [20, 21].

Мета-анализ, проведенный с использованием различных сравнительных моделей в европеоидной, азиатской и смешанной популяциях подтверждает, что наличие дубликации в участке IVS3+16bp повышает риск РМЖ [8, 22], что согласуется с результатами нашего исследования о рисковом характере аллеля D. Показано рисковое сочетание аллелей D (IVS3+16bp) и G (IVS6+G>A) – ОШ=2.26. Повышение значения отношения шансов на 0.12 наблюдается при сочетании генотипа WD (IVS3+16bp) с аллелем G (IVS6+G>A), что согласуется с данными для одиночного генотипа WD (IVS3+16bp), который и вносит основной рисковую вклад в сочетание.

Исследования, проведенные в Португалии, также говорят о повышении риска развития РМЖ при носительстве генотипа DD при наличии заболевания в семейном анамнезе ОШ=4.40 (ДИ: 1.60-12.0) [15].

Протективными аллелями/генотипами в подгруппе РМЖ люминального типа В остаются аллель G (ex4+G>C), G (IVS6+G>A) и A (ex21+A>G) в различных сочетаниях с показателями ОШ от 0.27 в сочетании G (ex4+G>C) с GG (IVS6+G>A) до 0.49 в сочетании G (IVS6+G>A) и AA (ex21+A>G).

Одним из наиболее значимых участков, как по уровню риска, так и протективности является участок IVS6+G>A. Аллель А увеличивает риск почти в 4 раза, а аллель G значительно повышает протективное действие таблица 4.

В казахской этнической группе подгруппе РМЖ люминального типа В из трех найденных сочетаний аллелей/генотипов только одно достигало уровня порогового значения. Это сочетание генотипа GC в участке ex4+G>C и аллеля А в участке ex21+A>G.

Таблица 4. Ассоциации одиночных и сочетаний аллелей/генотипов полиморфных участков *TP53* и *HER2* в русской этнической группе в подгруппе РМЖ люминального типа В.

Аллели/генотипы в составе сочетания				Носители/неносители		<i>p</i> по Фишеру	<i>p_{perm}</i>	ОШ ДИ) (95%)
ex4+ G>C	IVS3+ 16bp	IVS6+G >A	ex21+A >G	РМЖ n=33	Контроль n=273			
Носительство сочетаний двух аллелей/генотипов								
	W	GA		15/17	49/223	0.0004	1.47x10⁻⁶	4.01 (1.87-8.58)
	W	A		15/17	50/222	0.0005	3.65x10⁻⁵	3.91 (1.83-8.36)
G		GG		16/16	213/58	0.0008	3.67x10 ⁻⁵	0.27 (0.12-0.57)
C			G	13/20	57/213	0.02	0.01	2.42 (1.13-5.17)
G	WW			20/13	212/59	0.02	0.01	0.42 (0.20-0.91)
	WD	G		11/21	49/223	0.02	0.01	2.38 (1.07-5.26)
		G	G	20/12	119/152	0.03	0.02	2.12 (1.00-4.52)
	D	G		11/21	51/221	0.03	0.02	2.26 (1.02-5.00)
		G	AA	12/20	149/122	0.04	0.02	0.49 (0.23-1.04)
CC		G		5/27	15/256	0.04	0.02	3.16 (1.06-9.37)
	W		G	20/13	119/153	0.04	0.03	1.97 (0.94-4.13)
	WW		A	20/13	206/66	0.05	0.03	0.49 (0.23-1.04)
CC	W			5/28	15/256	0.05	0.03	3.04 (1.03-9.01)
	WW	G		21/11	218/54	0.05	0.03	0.47 (0.21-1.03)
Носительство сочетаний трех аллелей/генотипов								
C		G	G	13/19	56/214	0.01	0.008	2.61 (1.21-5.61)
C	W		G	13/20	55/215	0.01	0.008	2.54 (1.19-5.42)
	W	G	G	20/12	118/153	0.03	0.01	2.16 (1.01-4.59)
Носительство одного аллеля/генотипа								
		GA		15/17	51/221	0.0006	3.67x10⁻⁵	3.82 (1.79-8.16)
		A		15/17	54/218	0.001	3.71x10⁻⁵	3.56 (1.67-7.58)
		GG		17/15	218/54	0.001	3.71x10 ⁻⁵	0.28 (0.13-0.59)
	WD			11/22	50/223	0.04	0.02	2.23 (1.01-4.89)
			G	20/13	121/151	0.05	0.04	1.90 (0.91-4.01)
			AA	13/20	151/121	0.05	0.04	0.52 (0.24-1.08)
	D			11/22	54/219	0.06	0.04	2.02 (0.92-4.43)
	WW			22/11	219/54	0.06	0.04	0.49 (0.22-1.07)

Полученные данные комплексного анализа полиморфных участков генов *TP53* и *HER2* свидетельствуют о том, что в исследуемых русской и казахской этнических группах генетическая, предрасположенность к РМЖ определяется сочетанным воздействием полиморфизмов данных

генов на риск РМЖ. Прослеживается кумулятивный эффект относительно «слабых», взятых по отдельности генов, не достигающих уровня статистической значимости при отдельном тестировании, так и возможное эпистатическое взаимодействие этих генов. Выявленные сочетания аллелей/генотипов представляют собой составные генетические маркеры РМЖ как полигенного заболевания, которые можно использовать как предиктивные.

Таблица 5. Ассоциации одиночных аллелей и генотипов и их сочетаний в полиморфных участках генов *TP53* и *HER2* в казахской этнической группе в подгруппе РМЖ люминального типа В.

Аллели/генотипы в составе сочетания				Носители/неносители		<i>p</i> по Фишеру	<i>p</i> _{perm}	ОШ (95% ДИ)
ex4+ G>C	IVS3+ 16bp	IVS6+ G>A	ex21+ A>G	РМЖ n=36	Контроль n=344			
Носительство сочетаний двух аллелей/генотипов								
GC			A	20/16	136/203	0.05	0.02	1.86 (0.93-3.72)
GC		G		20/16	138/195	0.07	0.04	1.76 (0.88-3.53)
Носительство одного аллеля/генотипа								
GC				20/16	141/198	0.07	0.04	1.75 (0.87-3.50)

В заключение представляется уместным указать на необходимость обязательного учета этнической принадлежности при поиске генетических маркеров полигенных заболеваний у тестируемых групп пациентов и на перспективность использования программного обеспечения APSampler при поиске данных маркеров.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Ziyaie D. et al. p53 and breast cancer. // *The Breast*. - 2000. - V.9. - P.239-246. doi:10.1054/brst.2000.0199.
- [2] Weinberg R. *Biology of cancer*. - Garland Science. - 2013. - PP.960.
- [3] Porte-Jordan K. et al. Overview of the biologic markers of breast cancer. // *Hematology/Oncology Clinics of North America*. - 1994. - V.8. - P.73-100.
- [4] Prenzel N. et al. The epidermal growth factor receptor family as a central element for cellular signal transduction and diversification. // *Endocrine-Related Cancer*. - 2001. - V.8. - P.11-31.
- [5] Papewalis J. et al. G to A polymorphism at amino acid 655 of the human *erbB2/HER2* gene. // *Nucl Acids Res*. - 1991. - V.19.
- [6] Xie D. et al. Population-based, case-control study of HER2 genetic polymorphism and breast cancer risk // *Journal of the National Cancer Institute*. - 2000. - V.92. - N.5. - P.412-417.
- [7] Favorov AV. et al. A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans. // *Genetics*. - 2005. - V.171. - N.4. - P.2113-21.
- [8] Hu Zheng et al. Three common TP53 polymorphisms in susceptibility to breast cancer, evidence from meta-analysis // *J. Breast Cancer Res Treat*. - 2010. - V.120. - P.705-714.
- [9] He Xiao-Feng et al. Association between the p53 polymorphisms and breast cancer risk: meta-analysis based on case-control study. // *Breast Cancer Res Treat*. - 2011. - V.130. - P.517-529. doi 10.1007/s10549-011-1583-2.
- [10] Shafika Alawadi et al. P53 gene polymorphisms and breast cancer risk in Arab women // *J. Med. Oncol*. - 2011. - Vol.28. - P.709-715.
- [11] Huang Xin-En et al. Association of p53 codon Arg72Pro and p73 G4C 14-to-A4T14 at exon 4 genetic polymorphism with the risk of Japanese breast cancer // *J. Breast Cancer*. - 2003. - V.10 - N.4. - P.307-311.
- [12] Sureckha D. et al. Codon 72 and G13964C intron 6 polymorphisms of TP53 in relation to development and progression of breast cancer in India // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. - 2011. - V.12. - P.1893-1898.
- [13] Virendra S. et al. Association of polymorphism in MDM-2 and p53 genes with breast cancer risk in Indian women // *AEP*. - 2008. - V.18 - N.1. - P.48-57.
- [14] Hongxia Ma et al. Joint effects of single nucleotide polymorphisms in P53BP1 and p53 on breast cancer risk in a Chinese population // *J. Carcinogenesis*. - 2006. - V.27. - N.4. - P.766-771.
- [15] Costa Sandra et al. Importance of TP53 codon 72 and intron 3 duplication 16bp polymorphisms in prediction of susceptibility on breast cancer // *J. BMC Cancer*. - 2008. - V.8. - N.32. - P.1-7.
- [16] Zhang Z. et al. P53 codon 72 polymorphism contributes to breast cancer risk: a meta-analysis based on 39 case-control studies // *J. Breast Cancer Res Treat*. - 2010. - V.120. - P.509-517.
- [17] Hishida A. et al. Re: Population-based, case-control study of HER2 genetic polymorphism and breast cancer risk // *Journal of the National Cancer Institute*. - 2002. - V.94. - N.23. - P.1807-1808.
- [18] Baxter S. et al. Re: Population-based, case-control study of HER2 genetic polymorphism and breast cancer risk // *Journal of the National Cancer Institute*. - 2001. - V.93. - N.7. - P.557-558.
- [19] Kara N. et al. P53 codon 72 and HER2 codon 655 polymorphisms in Turkish breast cancer patients. // *DNA and Cell Biology*. - 2010. - V.29. - N.7. - P.387-392.
- [20] Keshava C. et al. Distribution of Her2V655 genotypes in breast cancer cases and control in the United States // *Cancer letter*. - 2001. - V.173. - P.37-41.
- [21] Millikan R. et al. HER2 codon 655 polymorphism and risk of breast cancer in African Americans and whites. // *Breast Cancer Research and Treatment*. - 2003. - V.79. - P.355-364.

[22] Zheng Hu et al. Intron 3 16bp duplication polymorphism of TP53 contributes to cancer susceptibility: a meta-analysis // *J. Carcinogenesis*. - 2010. - V.31. - N.4. - P.643-647.

REFERENCES

- [1]
[2] Ziyaie D. p53 and breast cancer. *The Breast*. **2000**. V.9. P.239-246 doi:10.1054/brst.2000.0199. (in Eng.)
[3] Weinberg R. Biology of cancer. *Garland Science*. **2013**. PP.960. (in Eng.)
[4] Porte-Jordan K. et. al. Overview of the biologic markers of breast cancer. *Hematology/Oncology Clinics of North America*. **1994**. V.8. P.73-100. (in Eng.)
[5] Prenzel N. et. al. The epidermal growth factor receptor family as a central element for cellular signal transduction and diversification. *Endocrine-Related Cancer*. **2001**. V.8 P.11-31. (in Eng.)
[6] Papewalis J. et. al. G to A polymorphism at amino acid 655 of the human *erbB2/HER2* gene. *Nucl Acids Res*. **1991**. V.19. (in Eng.)
[7] Xie D. et. al. Population-based, case-control study of HER2 genetic polymorphism and breast cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute*. **2000**. V.92. N.5. P.412-417. (in Eng.)
[8] Favorov AV. et al. A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans. *Genetics*. **2005**. V.171. N.4. P.2113-21. (in Eng.)
[9] Hu Zheng et al. Three common TP53 polymorphisms in susceptibility to breast cancer, evidence from meta-analysis. *J. Breast Cancer Res Treat*. **2010**. V.120. P.705-714. (in Eng.)
[10] He Xiao-Feng et al. Association between the p53 polymorphisms and breast cancer risk: meta-analysis based on case-control study. *Breast Cancer Res Treat*. **2011**. V.130. P.517-529 doi 10.1007/s10549-011-1583-2. (in Eng.)
[11] Shafika Alawadi et al. P53 gene polymorphisms and breast cancer risk in Arab women. *J. Med. Oncol*. **2011**. V.28. P.709-715. (in Eng.)
[12] Huang Xin-En et al. Association of p53 codon Arg72Pro and p73 G4C 14-to-A4T14 at exon 4 genetic polymorphism with the risk of Japanese breast cancer. *J. Breast Cancer*. **2003**. V.10. N.4. P.307-311. (in Eng.)
[13] Sureckha D. et al. Codon 72 and G13964C intron 6 polymorphisms of TP53 in relation to development and progression of breast cancer in India. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. **2011**. V.12. P.1893-1898. (in Eng.)
[14] Virendra S. et al. Association of polymorphism in MDM-2 and p53 genes with breast cancer risk in Indian women. *AEP*. **2008**. V.18. N.1. P.48-57. (in Eng.)
[15] Hongxia Ma et al. Joint effects of single nucleotide polymorphisms in P53BP1 and p53 on breast cancer risk in a Chinese population. *J. Carcinogenesis*. **2006**. V.27. N.4. P.766-771. (in Eng.)
[16] Costa Sandra et al. Importance of TP53 codon 72 and intron 3 duplication 16bp polymorphisms in prediction of susceptibility on breast cancer. *J. BMC Cancer*. **2008**. V.8. N.32. P.1-7. (in Eng.)
[17] Zhang Z. et al. P53 codon 72 polymorphism contributes to breast cancer risk: a meta-analysis based on 39 case-control studies. *J. Breast Cancer Res Treat*. **2010**. V.120. P.509-517. (in Eng.)
[18] Hishida A. et. al. Re: Population-based, case-control study of HER2 genetic polymorphism and breast cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute*. **2002**. V.94. N.23. P.1807-1808. (in Eng.)
[19] Baxter S. et. al. Re: Population-based, case-control study of HER2 genetic polymorphism and breast cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute*. **2001**. V.93. N.7. P.557-558. (in Eng.)
[20] Kara N. et. al. P53 codon 72 and HER2 codon 655 polymorphisms in Turkish breast cancer patients. *DNA and Cell Biology*. **2010**. V.29 N.7. P.387-392. (in Eng.)
[21] Keshava C. et. al. Distribution of Her2V655 genotypes in breast cancer cases and control in the United States. *Cancer letter*. **2001**. V.173. P.37-41. (in Eng.)
[22] Millikan R. et. al. HER2 codon 655 polymorphism and risk of breast cancer in African Americans and whites. *Breast Cancer Research and Treatment*. **2003**. V.79. P.355-364. (in Eng.)
[23] Hu Zheng et al. Intron 3 16bp duplication polymorphism of TP53 contributes to cancer susceptibility: a meta-analysis. *J. Carcinogenesis*. **2010**. V.31. N.4. P.643-647. (in Eng.)

Қазақстан тұрғындары арасында *tp53* және *her2* гендеріндегі полиморфизмдер комбинацияларының сүт безі ісігімен ассоциациясы

Ходаева А., Абайлдаев А., Литус И., Рахымгожин М.,
Балмуханов Т., Айтхожина Н.

ҚР БҒМ ҒК «М.Ә. Айтхожин атындағы молекулалық биология және биохимия институты», Алматы қ.

Түйін сөздер: сүт безі ісігі, *TP53* гені, *HER2* гені, APSSampler, Қазақстан.

Аннотация. Қазақ және орыс этникалық топтарындағы сүт безі ісігімен (СБІ) ауыратын науқастар және сау әйелдер арасында *HER2* генінің 21 экзонның 665 кодондағы және үшінші интрондағы (IVS3+16bp) 16 ж.н. инсерция/делециясы, алтыншы интрондағы (IVS6+G>A) нүктелік мутациясы, төртінші экзонның (ex4+G>C) 72-ші кодондағы ауысулар *TP53* геніндегі генотиптердің таралуы мен аллельдер жиілігін анықтау жағдай-бақылау (случай-контроль) әдісімен жүргізілді. Екі этникалық топтарда полиморфты ауданның әрқайсы СБІ - мен статистикалық маңызды ассоциациялар анықталмады. СБІ-мен көрсетілген гендердің полиморфизмдерімен байланысты ассоциациясын іздеу APSSampler бағдарламасын қолдану арқылы жүргізілді. СБІ-нің клиникалық типінің қалыптасуына байланысты, анализ жалпы іріктеме және топшілік жүргізілді. Қазақ этникалық тобы үшін В типті люминальді топшілікте, СБІ-нің В типті люминальді топшілік және толық іріктемеде орыс этникалық тобы үшін СБІ-мен аллельдер/генотиптер байланысында статистикалық маңызды ассоциациялар көрсетті. *TP53* ($p=0.01$ ($pperm=0.04$), $OR=2.34$) генінің IVS6+G>A (A) және IVS3+16bp (W) аудандарында аллельдердің байланысуы орыс этникалық тобында толық іріктемеде оң қатерлі тасымалдау көрсеткіш көрсетті. Сол этникалық топтағы СБІ-нің В типті люминальді топшілікте *TP53* және *HER2* гендерінің полиморфизмдерімен келесі жоғары қатерлі оң байланыстар анықталды: ex4+G>C ауданының С аллельі және ex21+ A>G ($p=0.02$ ($pperm=0.01$), $OR=2.42$) ауданының G аллельі және (IVS3+16bp) W аллельінің А аллельімен және IVS6+G>A – $OR=3.91$ және $OR=4.01$ ауданындағы АG генотипімен байланысы.

Поступила 14.09.2015 г.