

О.В. Палійчук^{1,2}
 З.І. Россоха³
 Л.З. Поліщук¹
 В.Ф. Чехун¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

²КЗ «Черкаський обласний онкологічний диспансер» ЧОР, Черкаси

³ДЗ «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України», Київ, Україна

Ключові слова: пухлини органів жіночої репродуктивної системи, родоводи, сімейний раковий синдром, поліморфізм гена CYP2D6*4.

ТЕСТУВАННЯ НА ПОЛІМОРФНІ ВАРІАНТИ ГЕНА CYP 2D6*4 У ПАЦІЄНТОК ІЗ ДОБРОЯКІСНОЮ ПАТОЛОГІЄЮ ТА РАКОМ ОРГАНІВ ЖІНОЧОЇ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ З РОДИН ІЗ СІМЕЙНИМ РАКОВИМ СИНДРОМОМ

Мета: визначити генетичний ризик внеску поліморфізму гена CYP 2D6 у розвиток доброякісних та злоякісних пухлин органів жіночої репродуктивної системи (ОЖРС) у пацієнток із обтяжених на рак родин. **Об'єкт і методи:** представлено результати комплексного клінічного, морфологічного, клініко-генеалогічного і молекулярно-генетичного обстеження 210 жінок: 90 хворих на рак ОЖРС, у тому числі пацієнток із первинно-множинними пухлинами, з агрегацією пухлинної патології у родинах; 65 пацієнток з доброякісною патологією ОЖРС; 55 жінок — група контролю без ускладненого сімейного онкологічного анамнезу. **Результати:** встановлено, що у родинах хворих із доброякісною та злоякісною патологією ОЖРС наявні злоякісні пухлини переважно молочної залози та/або яєчника і шлунково-кишкового тракту, що відповідає синдрому Лінча II типу (сімейний раковий синдром). Молекулярно-генетичне дослідження геномної ДНК периферичної крові та гістологічних зрізів пухлин на SNP гена CYP 2D6*4 у пацієнток із доброякісною патологією та у хворих на рак ОЖРС виявило вірогідне підвищення частоти генотипів 1846GA + 1846AA. Статистична обробка одержаних результатів показала, що за наявності несприятливого поліморфного варіанта в гомо- або гетерозиготному стані ризик розвитку доброякісної патології (odds ratio за 95% довірчого інтервалу) зростає в 2,34 раза, а ризик виникнення раку ОЖРС — в 2,25 раза. **Висновок:** одержані результати свідчать про доцільність визначення поліморфізму гена CYP 2D6*4 для оцінки ризику виникнення доброякісної і злоякісної патології ОЖРС при проведенні медико-генетичного обстеження жінок з обтяженим на рак сімейним анамнезом.

ВСТУП

Протягом останніх років у клінічній практиці при обстеженні хворих зі злоякісними пухлинами все частіше застосовують молекулярно-генетичні методи, за допомогою яких ідентифікують поліморфні варіанти генів або геномні зміни. Останні можуть модифікувати розвиток злоякісних новоутворень, при цьому ризик виникнення раку є найвищим у родинах з агрегацією пухлинної патології за типом сімейного ракового синдрому [1–3].

У процесах знешкодження в організмі більшості відомих шкідливих сполук екзогенного походження, ендогенних метаболітів та лікарських препаратів важлива роль належить сімейству ферментів цитохромксидаз CYP. Активність ферментів CYP, що здійснюють I фазу детоксикації, залежить від структури генів, які їх кодують. Фізіологічна роль зазначених ферментів ви-

значається у процесі взаємодії з ферментами II фази детоксикації. В окремих випадках при високій активності ферментів I фази та низькій активності ферментів II фази відбувається посилення шкідливого впливу на організм за рахунок збільшення клітинної токсичності проміжних сполук та їх недостатнього виведення з організму. Окрім того, спрямованість метаболічних перетворень ліків впливає на співвідношення ефективності лікування і ризику виникнення токсичних ефектів в організмі хворих. У перетворенні майже 90% шкідливих сполук, ендогенних метаболітів та ліків задіяний на клітинному рівні фермент CYP 2D6, оцінку якого можна використовувати як для визначення ризику розвитку онкологічних захворювань, так і для прогнозування особливостей відповіді пухлин на лікування, у тому числі чутливості до застосованої цитостатичної терапії. Формування у пацієнтів фенотипу підвищеної чутливості до дії несприятливих чинни-

ків та небажаного ефекту при прийомі ліків пов'язане з успадкованою зміною у структурі гена *CYP 2D6**4.

Зокрема, одним з лікарських препаратів, які широко застосовуються для лікування хворих на рецептор-позитивний рак молочної залози (РМЗ), є тамоксифен [4]. Для оптимізації терапії останнім нещодавно показана [5] цінність генотипування *CYP 2D6* у таких хворих. У більшості опублікованих на сьогодні робіт досліджувалися механізми зниження чутливості до тамоксифену за наявності певних алельних варіантів гена *CYP 2D6* [6–8]. Фермент *CYP 2D6* визнано необхідним для перетворення тамоксифену в проміжний активний метаболіт ендоксифен, що має виражену терапевтичну антиестрогенну дію. Генетичні варіанти впливають на швидкість та ефективність утворення активного метаболіту і відповідь на лікування. Тому окремі дослідники, проаналізувавши значну кількість робіт, виконаних у декількох популяціях, пропонують застосування молекулярно-генетичного аналізу цього гена як прогностичного маркера у комплексі з іншими клініко-лабораторними показниками [9–11].

При попередньому аналізі сімейних випадків злоякісної та доброякісної патології у жінок із Черкаського регіону ми відмітили зростання ризику захворювання залежно від наявних поліморфних варіантів гена *ESR1*, які впливають на зниження чутливості рецепторів естрогенів, та появу гіперестрогенемії [3]. Питання оцінки поєданого впливу стану естрогенових рецепторів та проканцерогенів довкілля, що активуються в I фазі детоксикації, на ризик розвитку новоутворень, їх перебіг і результати лікування досі не вивчали. Тому необхідні подальші дослідження, присвячені комбінованому аналізу генетичних змін з урахуванням патоморфологічних особливостей пухлин.

Мета роботи: визначити генетичний ризик внеску поліморфізму гена *CYP 2D6* у розвиток доброякісних та злоякісних пухлин органів жіночої репродуктивної системи (ОЖРС) у пацієнток з обтяжених на рак родин.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідження залучено 65 хворих із доброякісною патологією ОЖРС (молочної залози, матки, яєчника); 90 хворих на РМЗ, рак яєчника (РЯ), первинно-множинні пухлини (ПМП) ОЖРС із обтяжених на рак родин; 55 практично здорових жінок без випадків раку у родовах. Усі обстежені жінки за етнічною приналежністю — українки.

Усі пробанди самостійно заповнювали клініко-генеалогічні карти, які потім аналізувалися і доповнювалися гінекологом-онкологом при особистій бесіді з пробандами та при перегляді медичної документації після комплексного обстеження останніх згідно зі стандартами, прийнятими в Україні. Під час бесіди з пробандом звертали увагу на такі дані: кількість родичів I–III ступеня спорідненості, які хворіли на рак, їх родинний зв'язок з пробандом. Клініко-генеалогічний аналіз здійснювали за Амстердамськими критеріями II — 3 або більше родичів з пухлинами, асоційованими з синдромом Лінча (колоректальний рак, РМЗ, РЯ,

рак матки, шлунка та інші); при цьому один з онкологічних хворих повинен мати I ступінь спорідненості з іншими родичами, а злоякісні пухлини — визначатися мінімум у 2 поколіннях. В обстежених здорових жінок не було хворих на рак родичів у 3 поколіннях родово, тобто не виявлено спадкових факторів ризику.

Усі пацієнтки із доброякісними та злоякісними пухлинами ОЖРС, у яких проведено клініко-генеалогічне обстеження, отримали медичну допомогу, у тому числі хірургічне, комплексне або комбіноване лікування згідно зі стандартами терапії хворих онкологічного профілю в Україні у КЗ «Черкаський обласний онкологічний диспансер» Черкаської обласної ради. Стадію пухлинного процесу оцінювали за класифікацією FIGO, верифікацію пухлин здійснювали гістологічним методом. Усі пробанди дали письмову згоду на використання даних дослідження їх біологічного матеріалу у наукових розробках.

Молекулярно-генетичне дослідження поліморфних варіантів гена *CYP 2D6**4 проведено у пацієнток з обтяженим на рак сімейним анамнезом, а саме: у гістологічних зразках пухлин 46 хворих із ПМП ОЖРС; у периферичній крові хворих на РМЗ (n = 21), РЯ (n = 23); у 65 хворих із доброякісною патологією ОЖРС. Також були проведені молекулярно-генетичні дослідження у 55 практично здорових жінок із групи контролю.

Збір периферичної крові здійснювали в стерильні пробірки закритої системи «Моновет» (2,5 мл) з етилендіамінтетраоцтовою кислотою (ЕДТА) («Sarstedt»). Зразки зберігали при -20°C (не більше 1 міс) до транспортування в молекулярно-генетичну лабораторію Державного закладу «Референс-центр з молекулярної діагностики Міністерства охорони здоров'я України» (Київ). Транспортування здійснювали в замороженому стані в холодильних контейнерах.

Гістологічні зрізи парафінових блоків операційного матеріалу депарафінували за стандартною методикою з використанням ксилолу (100%) та подальшим відмиванням зразків етанолом (100; 95; 75%) і двічі дистильованою H_2O .

Геномну ДНК для молекулярно-генетичного дослідження виділяли з цільної крові та операційного матеріалу за допомогою комерційної тест-системи innuPREPBloodDNAMiniKit («Analytik Jena», Німеччина) з використанням центрифужних фільтрів згідно з методичними рекомендаціям фірми-виробника.

Супернатанти, що містили очищену ДНК, використовували для проведення полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Для визначення поліморфних варіантів гена *CYP 2D6**4G1934A (rs3892097) використовували модифіковані протоколи з олігонуклеотидними праймерами із застосуванням методу ПЛР та подальшим аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів. Досліджувані ділянки генів ампліфікували за допомогою специфічних праймерів («Metabion», Німеччина)¹. Специфічні фрагменти гена:

¹Послідовність праймерів (5'–3').

GGTGTTCCTCGCGCGSTATG,
STCGGTCTCTCGTCCGCAC, розмір амплі-
фікованої ділянки ДНК — 421 п.н.

CYP2D6*4G1934A (rs.3892097) ампліфікували із застосуванням комерційного набору Dream TaqGreen PCR MasterMix («ThermoScientific», США) в ампліфікаторі FlexCyclerBU («Analytic Jena», Німеччина) із дотриманням умов проведення реакції для забезпечення відповідного температурного режиму, згідно з рекомендаціями фірми-виробника.

Продукти ампліфікації фрагментів ДНК гена CYP2D6*4G1934A (rs.3892097) підлягали гідролітичному розщепленню за допомогою ендонуклеази рестрикції MvaI («ThermoScientific», США) за методикою фірми-виробника. Рестрикцію проводили в мікротермостаті при 37 °С протягом 12 год. Стан фрагментів аналізували в 3% агарозному гелі (агароза фірми «ThermoScientific», США) з додаванням бромистого етидію, маркера молекулярної маси GeneRuler 50 bpDNALadder («ThermoScientific», США) та подальшою візуалізацією в транслюмінаторі за допомогою комп'ютерної програми Vitran. Аналізували такі рестрикційні фрагменти: генотип GG: 183; 161 і 77 п.н.; генотип GA: 344; 183; 161 і 77 п.н.; генотип AA: 344 і 77 п.н.

Статистичну обробку виконували із використанням програм MSeXcel 2010 та Statistica 10. Для аналізу відмінностей отриманих числових показників використовували методи варіаційної статистики, а частот генотипів — критерій Пірсона χ^2 ; при об'ємі вибірки < 10 застосовували поправку Йетса та розраховували показник співвідношення шансів (odds ratio — OR) з 95% довірчим інтервалом (confidence interval — CI).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Серед загальної кількості обстежених (n = 210) кількість хворих із доброякісною патологією ОЖРС становила 65 (31,0%), із ПМП ОЖРС — 46 (21,9%), хворих на РМЗ та РЯ — 44 (20,9%), практично здорових жінок без спадкових факторів ризику — 55 (26,2%). Розподіл 155 пацієток з обтяженим на рак сімейним анамнезом за пухлинною патологією ОЖРС наведено в табл. 1.

Таблиця 1

Розподіл і характеристика пухлин ОЖРС у пацієток (n = 155) з обтяженим на рак сімейним анамнезом

Злоякісна патологія ОЖРС (n = 90/100%)	Кількість пацієток, n (%)	Доброякісна патологія ОЖРС (n = 65/100%)	Кількість пацієток, n (%)
РЯ	23 (25,6)	Лейомиома матки, аденоміоз тіла матки	19 (29,2)
РМЗ	21 (23,3)	Кіста яєчника	18 (27,7)
ПМП (комбінація злоякісних пухлин ОЖРС та шлунково-кишкового тракту)	46 (51,1)	Фіброаденома, кіста молочної залози	11 (16,9)
		Комбінація різних форм доброякісної патології: матки + додатків, молочної залози + додатків, молочної залози + матки	17 (26,2)

Вік пацієток із доброякісною патологією, хворих на рак ОЖРС із обтяжених на рак родин, а також здорових жінок групи контролю коливався в однакових межах — від 21 до 75 років. Значення середнього віку та медіани віку не мали достовірних відмінностей (p > 0,05) у групах обстежених.

Репродуктивно-менструальний статус обстежених жінок із доброякісною патологією, хворих на рак ОЖРС і жінок групи контролю описано у табл. 2.

Таблиця 2

Репродуктивно-менструальний статус обстежених хворих із доброякісною патологією та злоякісними пухлинами ОЖРС і жінок групи контролю

Показники		Хворі на рак ОЖРС, n (%) (n = 90/100%)	Жінки з доброякісними пухлинами ОЖРС, n (%) (n = 65/100%)	Здорові жінки (група контролю), n (%) (n = 55/100%)
Початок менархе	До 12 років	20 (22,2)	20 (30,8)	3 (5,5)
	12–15 років	57 (63,3)	42 (64,6)	45 (81,8)
	Старше 15 років	13 (14,5)	3 (4,6)	7 (12,7)
Кількість пологів	0	3 (3,3)	22 (33,9)	11 (20)
	1–2 пологів	59 (65,6)	42 (64,6)	40 (72,7)
	> 3	28 (31,1)	1 (1,5)	4 (7,3)
Кількість абортів	0	54 (60,0)	56 (86,2)	35 (63,6)
	1–2	30 (33,3)	7 (10,7)	15 (27,3)
	> 3	6 (6,7)	2 (3,1)	5 (9,1)
Кількість викиднів	0	74 (82,2)	19 (29,2)	0
	1–2	10 (11,1)	46 (70,8)	0
	> 3	6 (6,7)	0	0
Лактація ¹	Не було	15 (17,2)	1 (2,3)	0 (0,0)
	До 6 міс	30 (34,5)	23 (53,5)	8 (18,2)
	6–12 міс	26 (29,9)	15 (34,9)	14 (31,8)
	> 1 року	16 (28,4)	4 (9,3)	22 (50,0)
Кількість днів менструації	До 3 днів	19 (21,1)	13 (20,0)	6 (10,9)
	4–6 днів	58 (64,4)	42 (64,6)	42 (76,4)
	≥ 7 днів	13 (14,5)	10 (15,4)	7 (12,7)
Тривалість менструального циклу	Регулярний (24–32 днів)	69 (76,7)	49 (75,4)	53 (96,3)
	Нерегулярний (> 32 днів)	21 (23,3)	16 (24,6)	2 (3,6)
Тривалість менопаузи ²	До 5 років	10 (27,8)	7 (43,8)	5 (33,3)
	5–10 років	10 (27,8)	4 (25)	5 (33,3)
	> 10 років	16 (44,4)	5 (31,2)	5 (33,3)
Операції на ОЖРС в анамнезі	Не було	56 (62,2)	60 (92,3)	0
	На додатках матки	9 (10,0)	3 (4,6)	0
	На молочних залозах	25 (27,8)	2 (3,1)	0
Діагностика пухлин	На профогляді	24 (26,7)	30 (46,2)	0
	Самостійно	26 (28,9)	2 (3,1)	0
	Онкологом	40 (44,4)	33 (50,7)	0

¹Відносна кількість обстежених (%) у кожній з градацій показника лактації розрахована щодо кількості жінок відповідної групи, що мали пологи: хворих на рак ОЖРС — 87, із доброякісними пухлинами — 43, група контролю — 44.

²Відносна кількість (%) обстежених в кожній з градацій показника тривалості менопаузи розрахована щодо кількості жінок в менопаузі в кожній групі: хворих на рак ОЖРС — 36, із доброякісними пухлинами — 16, група контролю — 15.

Як видно, у хворих порівняно зі здоровими жінками достовірно частіше (p < 0,05) зафіксовано менархе у більш ранньому віці та більша кіль-

кість пологів та викиднів. У 20,0% (18 з 90) хворих на рак ОЖРС не було лактації; зареєстровано у 2 рази більше хворих з тривалістю менструації до 3 днів, причому у 23,3% менструальний цикл був нерегулярним; у 37,8% в анамнезі були операції з приводу доброякісних процесів у молочній залозі та додатках матки, тоді як у здорових жінок в анамнезі не було жодних хірургічних втручань на ОЖРС. При доброякісній патології ОЖРС відзначено подібну тенденцію. Пухлини у пацієнок із доброякісною патологією достовірно частіше діагностували під час профілактичного огляду у гінеколога (46,2%), ніж у хворих на рак ОЖРС (26,7%). В останніх у 28,9% випадках пухлини молочної залози були виявлені самими жінками. Найбільша кількість хворих була з виявленою як доброякісною, так і злоякісною патологією ОЖРС під час огляду онкологом (50,7 та 44,4% відповідно). Вищенаведене також свідчить про нагальну необхідність проведення клініко-генеалогічного аналізу родоводів при первинному огляді хворих сімейним лікарем, гінекологом чи іншими спеціалістами.

Аналіз клініко-генеалогічних даних у родовах хворих виявив широкий спектр пухлинної патології, в якому переважали злоякісні пухлини ОЖРС, а саме: рак тіла матки (РТМ), РЯ, РМЗ та колоректальний рак. Частота РМЗ становила 23,0%, РТМ — 21,2%, РЯ — 18,1%, тобто частота пухлин гормонозалежних органів була достатньо високою і становила разом 62,3%.

Як зазначено вище, молекулярно-генетичне дослідження включало виявлення продуктів рестрикційного аналізу фрагмента гена *CYP 2D6*4* у гістологічних зрізах злоякісних ПМП та в периферичній крові. Рестрикційні фрагменти ДНК гена *CYP 2D6*4 G1934A* з молекулярною масою 183; 161 і 77 п.н. відповідали генотипу *GG*, з молекулярною масою 344 і 77 п.н. — генотипу *AA*, а з молекулярною масою 344; 183; 161 і 77 п.н. — генотипу *GA* (рисунок).

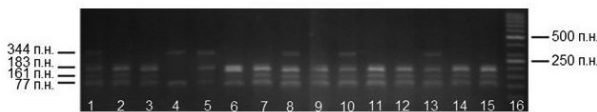


Рисунок. Електрофореграма продуктів рестрикційного аналізу поліморфізму *CYP 2D6*4 G1934A*. Зразки 1, 5, 8, 10, 13 — генотип *GA*; зразки 2, 3, 6, 7, 9, 11, 12, 14, 15 — генотип *GG*; зразок 4 — генотип *AA*; 16 — маркер молекулярної маси

За результатами молекулярно-генетичного дослідження пухлин виявлено відмінності у розповсюдженні генотипів за геном *CYP 2D6*4* у пацієнок із доброякісною патологією та хворих на рак порівняно з результатами, отриманими у здорових жінок (табл. 3). У хворих з доброякісною та злоякісною патологією ОЖРС встановлено вірогідне підвищення частоти генотипів *1846GA* + *1846AA* за цим геном, відповідно 35,38% ($p = 0,032$)

та 33,33% ($p = 0,047$) проти 18,18% у контрольній групі. Натомість, за наявності *1846GG* генотипу гена *CYP 2D6*4* ризик розвитку захворювання знижується (при порівнянні контролю з групою доброякісної патології $p = 0,035$; з групою раку ОЖРС — $p = 0,074$).

Таблиця 3

Частота виявлення генотипів за поліморфними варіантами гена *CYP 2D6*4 (G1846A)* при доброякісній патології та раку ОЖРС в групах порівняння

Ген <i>CYP 2D6*4 (G1846A)</i>	Доброякісна патологія (n = 65)		Контроль (n = 55)		Результати статистичного аналізу			
	n	%	n	%	χ^2	p	OR	95% CI
<i>GG</i>	42	64,62	45	81,82	4,42	0,035	0,41	0,17–0,95
<i>GA</i>	17	26,15	10	18,18	0,68	0,411	1,59	0,66–3,84
<i>AA</i>	6	9,23	0	0,00	3,58	0,059	–	–
<i>GA + AA</i>	23	35,38	10	18,18	4,53	0,032	2,34	1,05–5,14
Генотипи	Рак (n=90)		Контроль (n=55)		Результати статистичного аналізу			
	n	%	n	%	χ^2	p	OR	95% CI
<i>GG</i>	60	66,67	45	81,82	3,2	0,074	0,44	0,20–1,00
<i>GA</i>	28	31,11	10	18,18	2,32	0,128	2,03	0,90–4,60
<i>AA</i>	2	2,22	0	0,00	0,14	0,704	–	–
<i>GA + AA</i>	30	33,33	10	18,18	3,92	0,047	2,25	1,00–5,07

Частота генотипів *AA*, *GA*, *GG* за геном *CYP 2D6*4* також була різною у хворих із доброякісними та злоякісними пухлинами, але не мала статистично достовірних розбіжностей. Найбільший відносний ризик виникнення доброякісних пухлин ($OR = 2,34$) та раку ($OR = 2,25$) ОЖРС за 95% CI встановлено для генотипу *GA + AA* за тим самим геном (1,05–5,14 при доброякісній та 1,00–5,07 — при злоякісній патології). Отже, наведені дані свідчать про варіабельність ризику розвитку доброякісної патології та раку ОЖРС залежно від генотипу поліморфних варіантів гена *CYP 2D6*4*. Найбільший ризик розвитку доброякісних та злоякісних пухлин у жінок з сімейним раковим синдромом у родині встановлено за умови генотипу *GA + AA* поліморфного варіанта гена *CYP 2D6*4*.

Отже, проведене комплексне дослідження визначило частоту розповсюдження поліморфних варіантів гена *CYP 2D6*4* та продемонструвало можливість оцінки ризику виникнення доброякісної та злоякісної патології ОЖРС у родинах пробандів із сімейним раковим синдромом. Отримані результати доповнюють і поглиблюють дані проведених нами раніше клініко-генеалогічних обстежень та молекулярно-генетичних досліджень периферичної крові пацієнок із раком ОЖРС [12]. З'ясовано, що у схильності жінок до виникнення доброякісної патології та розвитку раку ОЖРС при сімейному раковому синдромі відіграють роль не тільки мутації у генах-супресорах пухлинного росту *BRCA1* та *BRCA2* [3], але й поліморфні варіанти гена *CYP 2D6*4*.

В останні роки роль генетичного поліморфізму у малігнізації клітин широко досліджується і активно обговорюється. Наведені дані є переконливим доказом кардинальної ролі генетичної схильності у патогенезі раку, що не зменшує значення епігенетичних змін, які виникають під впливом внутрішніх факторів організму, впливаючи на особливості його розвитку і викликаючи залежні від віку хвороби [13].

Очевидно, для появи малігнізації мають значення асоціації поліморфізму багатьох генів та епігенетичних змін. Встановлено, що при цьому лише третина таких асоціацій статистично пов'язана з генами, які кодують метаболічні процеси клітинного рівня [14]. Шляхом метааналізу визначено суттєві асоціації поліморфізму інших генів з ризиком неоплазій. Більшість дослідників із різних країн розглядають мутацію одного алейя гена як генетичний фактор схильності до РМЗ — гетерозиготні клони за мутацією генів *BRCA 1/2* призводять до геномної нестабільності клітин, що може бути генетичною основою для малігнізації клітин, а мутації у двох алейя генів — причиною туморогенезу [15, 16]. Деякі автори [17, 18], вивчаючи гермінальні мутації генів, дійшли висновку, що поліморфізм генів діє як генетичний модифікатор прогнозу (кращого або гіршого). Існує думка [19], що геномна нестабільність — це «hallmark of cancer», що призводить до збільшення генетичних змін, туморогенезу та прогресії пухлин. Різні типи генетичної нестабільності (нуклеотидної, мікросателітної, хромосомної) притаманні індивідуальній характеристиці пухлини, а також можуть використовуватися як показник генетичної гетерогенності пухлин при порівняльному аналізі.

Загалом, знання про наявність поліморфних варіантів гена *CYP 2D6*4* надзвичайно важливі при медико-генетичному консультуванні та обстеженні пацієнток, особливо жінок із родин з сімейною історією раку, для визначення можливого ризику виникнення неоплазій. Адекватний прогноз щодо розвитку доброякісної патології та раку ОЖРС у жінок з пухлинною патологією у декількох поколіннях родоходу неможливий без знання сімейної історії раку і досліджень поліморфізму гена *CYP 2D6*4* з огляду на його участь у метаболізмі канцерогенів та медичних препаратів (в тому числі тамоксифену, що особливо важливо при коректному плануванні гормонотерапії після хірургічного лікування з приводу РМЗ). Проведені дослідження та їх продовження є необхідним першим кроком і одним із підходів до предиктивної геноміки, яка починає розвиватися у нашій країні. В аспекті виконаного дослідження це — визначення індивідуальних генетичних змін у пухлинних клітинах та індивідуального ризику розвитку малігнізації в осіб, у родоходах яких є хворі на рак.

Отримані нами результати відкривають перспективу нової стратегії подальших досліджень все ще існуючої проблеми ранньої діагностики і профілактики злоякісних пухлин ОЖРС. Її спрямованість полягає у виявленні не тільки родин з накопиченням злоякісних пухлин у родоходах, але й носіїв мутацій генів-супресорів *BRCA1* та *BRCA2*, поліморфних варіантів генів *ESR1* та *CYP2D6*4* у родинах з сімейним раковим синдромом або при виявленні хворих на ПМП. Тому створення клініко-генетичного реєстру таких осіб у межах окремих регіонів України для вирішення питань щодо моніторингу їх здоров'я, профілактики та доклінічної діагностики спадкових форм раку ОЖРС та інших пухлин у межах сімейного ракового синдрому є одним з актуальних завдань клінічної онкології.

ВИСНОВКИ

1. Клініко-генеалогічне обстеження хворих з доброякісними та злоякісними процесами в ОЖРС виявило широкий спектр пухлинної патології. Найбільшу кількість (62,3%) становили гормонозалежні пухлини (РТМ, РМЗ, РЯ). Асоціація пухлин у родоходах пацієнток із доброякісною патологією та раком ОЖРС відповідала сімейному раковому синдрому (синдром Лінча 2).
2. У пацієнток з доброякісною патологією ОЖРС встановлено вірогідне підвищення частоти генотипів *1846GA + 1846AA* за геном *CYP 2D6*4*. Ризик розвитку захворювання за наявності несприятливого поліморфного варіанта в гомо- або гетерозиготному стані підвищується в 2,34 раза, тоді як за наявності *1846GG* генотипу за цим геном ризик розвитку захворювання знижується.
3. У хворих на рак ОЖРС було вірогідне підвищення частоти генотипів *1846GA+1846AA* за геном *Cyp2D6*4*. Ризик розвитку захворювання за наявності поліморфного варіанта в гомо- або гетерозиготному стані збільшується в 2,25 раза.
4. Одержані результати свідчать про необхідність проведення клініко-генеалогічних та молекулярно-генетичних досліджень у хворих на рак ОЖРС з ускладненим сімейним онкологічним анамнезом для формування груп генетичного ризику та впровадження профілактичних заходів серед здорових членів родин із сімейним раковим синдромом. Визначення поліморфізму гена *CYP 2D6*4* як генетичного маркера впливу факторів зовнішнього середовища на виникнення пухлинних процесів допоможе в подальшому також у плануванні схем комплексного лікування хворих онкологічного профілю, враховуючи участь цього гена в метаболізмі не лише канцерогенів, а й лікарських препаратів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Lee YH, Kim JH, Song GG. Genome-wide pathway analysis of breast cancer. *Tumour Biol* 2014; **35** (8): 7699–705.
2. Mancini-DiNardo D, Judkins T, Woolstenhulme N, et al. Design and validation of an oligonucleotide microarray for the detection of genomic rearrangements associated with common hereditary cancer syndromes. *J Exp Clin Cancer Res* 2014; **33**: 74. doi: 10.1186/s13046-014-0074-9.

3. Paliychuk OV, Polishchuk LZ, Rossokha ZI, Chekhun VF. Clinical significance of estrogen receptor gene *ERS1* SNP in cancer patients from families with oncological pathology in pedigrees. Онкология 2016; 18 (4): 316–24.

4. Hoskins JM, Carey LA, McLeod HL. CYP2D6 and tamoxifen: DNA matters in breast cancer. Nat Rev Cancer 2009; 9 (8): 576–86.

5. Hennig EE, Piatkowska M, Karczmarski J, et al. Limited predictive value of achieving beneficial plasma (Z)-endoxifen threshold level by CYP2D6 genotyping in tamoxifen-treated Polish women with breast cancer. BMC Cancer 2015; 15: 570. doi: 10.1186/s12885-015-1575-4.

6. Mürdter TE, Schroth W, Bacchus-Gerybadze L, et al. Activity levels of tamoxifen metabolites at the estrogen receptor and the impact of genetic polymorphisms of phase I and II enzymes on their concentration levels in plasma. Clin Pharmacol Ther 2011; 89 (5): 708–17.

7. van Schaik RH, Ferrari M, Neumaier M, et al. Clinical application of pharmacogenetics: Where are we now? EJIFCC 2013; 24 (3): 105–12. eCollection 2013.

8. Hennig EE, Piatkowska M, Karczmarski J, et al. Limited predictive value of achieving beneficial plasma (Z)-endoxifen threshold level by CYP2D6 genotyping in tamoxifen-treated Polish women with breast cancer. BMC Cancer. 2015; 15: 570. doi: 10.1186/s12885-015-1575-4.

9. Xu Y, Sun Y, Yao L, et al. Association between CYP2D6*10 genotype and survival of breast cancer patients receiving tamoxifen treatment. Ann Oncol 2008; 19: 1423–9.

10. Hershman DL, Kushi LH, Shao T, et al. Early discontinuation and nonadherence to adjuvant hormonal therapy in a cohort of 8,769 early-stage breast cancer patients. J Clin Oncol 2010; 28: 4120–8.

11. Dezentjé VO, van Blijderveen NJ, Gelderblom H, et al. Effect of concomitant CYP2D6 inhibitor use and tamoxifen adherence on breast cancer recurrence in early-stage breast cancer. J Clin Oncol 2010; 28: 2423–9.

12. Палійчук ОВ, Россоха ЗІ, Галкін ФМ, Поліщук ЛЗ. Оцінка асоціації клініко-патологічних особливостей пухлинного процесу з результатами клініко-генеалогічного обстеження хворих на рак яєчника та грудної залози — носіїв мутацій 5382insC у гені *BRCA1*. Клин онкол 2015; (4 (20)): 23–8.

13. Hartman M, Loy EY, Ku CS, et al. Molecular epidemiology and its current clinical use in cancer management. Lancet Oncol. Ukrainian Edition issue 2010; (3): 41–51.

14. Вайсерман М, Мехова ЛВ, Войтенко ВП. Епігенетичне «програмування» залежних від віку захворювань. Пробл старення дололет 2014; 23 (3): 215–39.

15. Dong LM, Potter JD, White E, et al. Genetic susceptibility to cancer: the role of polymorphisms in candidate genes. JAMA 2008; 299 (20): 2423–36.

16. Zhang HY, Liang F, ZL J, et al. PTEN mutation, methylation and expression in breast cancer patients. Oncol Lett 2013; 6 (1): 161–8.

17. Depowski PL, Rosenthal SI, Ross JS. Loss of expression of the PTEN gene protein product is associated with poor outcome in breast cancer. Mod Pathol 2001; 14 (7): 672–6.

18. Pohlreich P, Kleibl Z, Kleiblová P, et al. The clinical importance of a genetic analysis of moderate risk cancer susceptibility genes in breast and other cancer patients from the Czech Republic. Klin Onkol 2012; 25 (Suppl): S59–66 (in Czech).

19. Kumar P, Yadav U, Rai V. Methylenetetrahydrofolatereductase gene C677T polymorphism and breast cancer risk: Evidence for genetic susceptibility. Meta Gene 2015; 6: 72–84.

TESTING POLYMORPHIC GENE VARIANTS OF CYP 2D6*4 IN PATIENTS WITH BENIGN DISEASE AND FEMALE REPRODUCTIVE SYSTEM CANCER FROM THE FAMILIES WITH FAMILY CANCER SYNDROME

O.V. Paliychuk, Z.I. Rossokha, L.Z. Polishchuk, V.F. Chekhun

Summary. Objective: to determine the risk of genetic contribution of polymorphism of CYP 2D6 gene in the development of benign and malignant tumors of the female reproductive system (FRS) in patients with severe cancer families. **Object and methods:** the results of complex clinical, morphological, and clinical-genealogical and molecular genetic examinations of 210 women: 90 patients with cancer of the FRS, including patients with primary multiple tumors, with aggregation of tumor pathology in families; 65 patients with benign pathology, 55 women — the control group without complicated family cancer history. **Results:** it was found that in families of patients with benign and malignant diseases, the malignant tumors primarily of the breast and/or ovarian and gastro-intestinal tract were observed, which corresponds to the syndrome of Lynch type II (cancer family syndrome). Molecular genetic study, genomic DNA of peripheral blood and histological sections of the tumors on gene SNP CYP 2D6*4 patients with benign disease and cancer patients, family tumors of reproductive system revealed a significant increase in the frequency of genotypes 1846GA + 1846AA. Statistical processing of the obtained results showed that in the presence of adverse polymorphic variant in homo- or heterozygous condition, the risk of developing benign breast disease (odds ratio, 95% confidence interval) increased 2.34 times, and the risk of cancer family tumors of reproductive system — 2.25 times. **Conclusion:** the obtained results indicate the feasibility of determining the gene polymorphism of CYP 2D6*4 to assess the risk of benign and malignant pathology in the medico-genetic examination of women with family cancer history.

Key Words: tumors of the female reproductive system, pedigrees, family cancer syndrome, gene polymorphism of CYP 2D6*4.

Адреса для листування:

Палійчук О.В.

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України
E-mail: oncology@2upost.com

Одержано: 02.02.2017