

DOI 10.37882/2223–2966.2022.03–2.01

АНАЛИЗ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ЗАМЕН В ГЕНАХ TP53, HIF-1A, ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К НЕКОНТРОЛИРУЕМОМУ ДЕЛЕНИЮ КЛЕТОК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ANALYSIS OF SINGLE-NUCLEOTIDE SUBSTITUTIONS IN TP53, HIF-1A GENES IN THE FORMATION OF A PREDISPOSITION TO UNCONTROLLED DIVISION OF BREAST CELLS

V. Abdullina
Siham Mazouni
E. Galimova
G. Galikeeva

Summary. The association of alleles and genotypes for the TP53 (rs1042522), HIF-1A (rs11549465) genes has been analyzed to identify risk groups with a predisposition to oncology, severe course due to the hypoxic factor.

Keywords: normoxia, hypoxia, breast cancer, tumor suppressor (TP53), hypoxia-inducible factor 1α (HIF-1A), missense mutation..

Абдуллина Виктория Викторовна

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы» (Уфа)
Vika.abdullina.97@mail.ru

Сихам Мазуни

Аспирант, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы» (Уфа)
mazounisiham3@gmail.com

Галимова Эльвира Мансуровна

К.б.н., доцент, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы» (Уфа)
vetngen@gmail.com

Галикеева Гузель Фанилевна

К.б.н., доцент, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы» (Уфа)
galikeevagf@yandex.ru

Аннотация. Проанализирована ассоциация аллелей и генотипов по генам TP53 (rs1042522), HIF-1A (rs11549465), для выявления групп риска с предрасположенностью к образованию онкологии, тяжелого течения за счет гипоксического фактора.

Ключевые слова: нормоксия, гипоксия, рак молочной железы, онкосупрессор (TP53), индуцируемый гипоксией фактор 1α (HIF-1A), миссенс-мутация.

Рак молочной железы (РМЖ) — одна из наиболее распространенных форм рака у женщин и второй, наиболее часто встречающийся тип рака во всем мире и 90 процентов смертей от рака молочной железы происходят из-за образования отдаленных метастазы органов. Появляется все больше доказательств того, что продукты генов регулируют возникновение болезни; в частности, они, наблюдаются и сверхэкспрессируются при широком диапазоне заболеваний, связанных с процессом ангиогенеза [3].

Микроокружение опухоли может также влиять на патогенез, поэтому и гены, отвечающие за гипоксию, набирают актуальность. Гипоксия является общим

признаком опухолей и индуцирует передачу сигналов, которая способствует выживанию, инвазии и метастазированию опухолевых клеток, но влияние передачи сигналов фактора, индуцируемого гипоксией (HIF) в первичной опухоли, на распространение в кости, в частности, остается неясным [4].

В не гипоксических условиях продукты генов TP53 — супрессор опухолевого роста (Tumor protein p53), HIF-1A — гипоксией индуцированный фактор один альфа (Hypoxia Inducible Factor 1α) удовлетворяют метаболические потребности пролиферирующих клеток превышают поступление кислорода и питательных веществ из существующих кровеносных сосудов, и контролируют

ют качество репарации и осуществляют контроль клеток входящих в деление. Нарушение слаженной работы за счет полиморфизмов приводит к формированию неблагоприятной картины развития онкологии [5].

Ген TP53 расположен на коротком плече хромосомы 17. Продукт данного гена содержит кислый N-концевой домен трансактивазии, богатый пролином домен, центральный ДНК-связывающий домен, домен тетрамеризации (TD) и карбоксиконцевой негативный регуляторный домен (CTD) и каждый участок выполняет незаменимую функцию содействует регуляторным факторам, опосредует апоптоз и модулирует термодинамическую стабильность [2].

Так, белок-супрессор опухоли TP53 представляет собой фактор транскрипции, который ингибирует деление или выживание клеток в ответ на различные стрессы, тем самым действуя как важный механизм клеточной противораковой защиты. В международных наборах, данных по раку груди соматические мутации TP53 встречаются в 22,8–34% случаев, наиболее встречаемая мутация G72C (*rs1042522*) расположена на хромосоме 17p13.1 [1].

Фактор, индуцируемый гипоксией (HIF), представляет собой фактор транскрипции, который содержит субъединицы α и β . В достаточном количестве кислорода HIF-1 α и HIF-2 α могут быть изменены пролилгидроксилазами (PHD) после убиквитинируются убиквитинлигазой E3 von Hippel Lindau (VHL), разрушаются протеасомами. При падении концентрации кислорода HIF α не праймируется для убиквитинирования, но накапливается и связывается со своей субъединицей β и может свободно перемещаться в ядро. Так запускается программа эпителиально-мезенхимального перехода (EMT), взаимодействуя с другими сильными проинвазивными факторами, такими как рецептор Met и рост растворимых гепатоцитов. фактор (HGF) или рецептор VEGF (VEGFR) / VEGF.

Цель работы

Цель работы представляет собой изучение вклада супрессора опухоли (TP53), фактора один альфа индуцируемого гипоксией (HIF-1A), в возникновении и развитии ткани, необходимой в выявлении групп риска с предрасположенностью к образованию онкологии.

Материалы и методы

Выборка исследования состояла из 353 образцов ДНК индивидов. Число индивидов с РМЖ 194, контрольную группу составили 159 людей без данной патологии (*rs1625895*).

Биологический материал был предоставлен ГБУЗ «Республиканским клиническим онкологическим диспансером», лабораторией центра молекулярных и биотехнических исследований при кафедре генетики и химии естественно-географического факультета БГПУ им. М. Акмуллы.

Выделение ДНК проводили из цельной венозной крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Амплификация на «Терцик». Амплификаты оценивались путем проведения вертикального электрофореза в 7% полиакриамидном геле, окрашивали бромистым этидием и идентифицировали в ультрафиолетовом свете.

Для оценки возможности случайного отклонения применили метод χ^2 , рассчитанный при помощи таблицы сопряженности 2x2.

Используемы программы: «ProtParam», «Vadar», Discovery Studio 3.5. Visualizer, Microsoft Excel.

Результаты исследования и их обсуждение

Первый этап работы — подсчет распределения частот взаимодействия генотипов однонуклеотидной замены (SNP) *rs1042522* гена онкосупрессора (TP53) и SNP *rs1154946* гипоксией индуцированный фактор-1 альфа (HIF-1a) выявил достоверное различие у гомозигот по двум аллелям ($p=0,0005$; $\chi^2=74,63$), а также у второго сочетания G/G C/T ($p=0,0005$; $\chi^2= 25,321$).

Возникший в результате мутационного процесса аллель *C формирует функциональное изменение p53, приводит к серьезным проблемам в поддержании стабильности генома и целостности клеток, что приводит к клеточной трансформации. Не удивительно, что в нашей выборке данный аллель встречался достоверно чаще в группе с бесконтрольным делением клеток в целом ряде сочетаний.

Аллель *T гена HIF-1A благоприятствует поддержанию малой концентрации кислорода ткани, тем самым запускает ряд генов, способствующих метаболической перестройки. Так, обеспечивает преимущества для раковых клеток, продуцируя различные метаболиты, необходимые для пролиферации, злокачественного прогрессирования и химио- / радиорезистентности. Было выявлено сочетание с гетерозиготой G/C и гомозиготой T/T, которое характеризуется неблагоприятной картиной для индивидов.

В группе с гомозиготой по нормальному алелю онкосупрессора и гомозиготой по мутантному гипок-

сическому фактору значимых различий не выявлено ($p=0,03$; $\chi^2=5,2234$).

Во второй части работы мы провели биоинформатическое моделирование белковой структуры в пятьдесят одну аминокислоту с помощью программы Discovery Studio 3.5. Visualizer.

В итоге прогнозирования модели белка без мутации и однонуклеотидной замены *Arg72Pro (rs1042522) TP53*, где в последовательности аминокислот наблюдается замена аргинина (СГС) на пролин (ССС) наблюдается пропадание альфа цепи, что в полном объеме белке приводит к разрыву альфа цепи. В последствии наблюдается трансформация рабочей площади в сторону увеличения (G-6464,6; C-6503,7), смещается в сторону повышения индекс нестабильности (G=99,35; C=116,38).

Визуализация замены срина на пролин *rs1154946* гена гипоксии показала исчезновению бета цепи. Так, наблюдаются существенные изменения в рабочем объеме полномасштабного белка, открытой площади

белка. Возможно, данные изменения ведут к преимущественному присоединению к пролилгидроксилазам или увеличению сродства к ядерному транслокатор арилуглеводородному рецептору (**ARNT / HIF-1 beta**).

ВЫВОДЫ

При выполнении расчетной работы было выявлено, что сочетание аллелей и генотипов по генам *TP53 (rs1042522)*, *HIF-1A (rs1154946)* в данной выборке, могут применяться как диагностические маркеры определения предрасположенности к раку молочной железы, потому как аллели увеличивают неконтролируемую пролиферацию клеток, способствуют ангиогенезу, инвазивному росту патологической ткани что приводит к развитию онкологии, а наличие гипоксии ухудшает картину течения.

Моделирование при однонуклеотидной замене, изучение физико-химических свойств дает фундамент для анализа сигнальных путей, формировании групп риска с РМЖ и персонифицированной предикции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lasham A., Knowlton N., Mehta S.Y., Braithwaite A.W., Print C.G. Breast Cancer Patient Prognosis Is Determined by the Interplay between TP53 Mutation and Alternative Transcript Expression: Insights from TP53 Long Amplicon Digital PCR Assays. *Cancers (Basel)*. 2021;13(7):1531. Published 2021 Mar 26. doi:10.3390/cancers13071531
2. Jiang Y., Gao S.J., Soubise B., Douet-Guilbert N., Liu Z.L., Trodec M.B. TP53 in Myelodysplastic Syndromes. *Cancers (Basel)*. 2021;13(21):5392. Published 2021 Oct 27. doi:10.3390/cancers13215392
3. Hussen B.M., Abdullah S.T., Rasul M.F., et al. MicroRNAs: Important Players in Breast Cancer Angiogenesis and Therapeutic Targets. *Front Mol Biosci*. 2021; 8:764025. Published 2021 Oct 26. doi:10.3389/fmolb.2021.764025
4. Todd V.M., Vecchi L.A. 3rd, Clements M.E., et al. Hypoxia inducible factor signaling in breast tumors controls spontaneous tumor dissemination in a site-specific manner. *Commun Biol*. 2021;4(1):1122. Published 2021 Sep 23.
5. Semenza G.L. The hypoxic tumor microenvironment: A driving force for breast cancer progression. *Biochim Biophys Acta*. — 2016. № 3. — P:382–391.

© Абдуллина Виктория Викторовна (vika.abdullina.97@mail.ru), Сихам Мазуни (mazounisiham3@gmail.com), Галимова Эльвира Мансуровна (vemgen@gmail.com), Галикеева Гузель Фанилевна (galikeevagf@yandex.ru).
Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»