

Для цитирования: Башмакова Е.Е., Панамарев Н.С., Кудрявцев А.Н., Черняев Д.В., Слепов Е.В., Зуков Р.А., Франк Л.А. Анализ связи полиморфизма -31G/C (rs9904341) в гене *BIRC5* с риском возникновения рака мочевого пузыря. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 64–71. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-64-71

For citation: Bashmakova E.E., Panamarev N.S., Kudryavtsev A.N., Chernyaev D.V., Slepov E.V., Zukov R.A., Frank L.A. Relationship of -31G/C (rs9904341) polymorphism in the survivin gene *BIRC5* and the risk of bladder cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 64–71. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-64-71

АНАЛИЗ СВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМА -31G/C (rs9904341) В ГЕНЕ *BIRC5* С РИСКОМ ВОЗНИКНОВЕНИЯ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Е.Е. Башмакова¹, Н.С. Панамарев^{1,2}, А.Н. Кудрявцев¹, Д.В. Черняев^{3,4},
Е.В. Слепов³, Р.А. Зуков^{3,4}, Л.А. Франк^{1,2}

ФГБУН «Институт биофизики» СО РАН, ФГБНУ ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН»,
Красноярск, Россия¹

Россия, 660036, г. Красноярск, Академгородок, 50/50. E-mail: lfrank@yandex.ru¹

ФГБАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», Красноярск, Россия²

Россия, 660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 79²

КГБ УЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского»,
Красноярск, Россия³

Россия, 660133, г. Красноярск, ул. 1-я Смоленская, 16³

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет

им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, Россия⁴

Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1⁴

Аннотация

Цель исследования – изучить связь полиморфизма – 31G/C (rs9904341) в промоторной области гена белка сурвивина *BIRC5* с риском возникновения рака мочевого пузыря (РМП) у пациентов Красноярского края. **Материал и методы.** Аллельный состав исследуемого гена был определен в группе из 158 пациентов (128 мужчин и 30 женщин) с клинически установленным РМП, средний возраст – 65,6 ± 10,7 года (медиана: 66,5; C₂₅–C₇₅: 59–72), а также в контрольной группе из 117 здоровых доноров (90 мужчин и 27 женщин), средний возраст – 60,2 ± 5,1 года (медиана: 60; C₂₅–C₇₅: 57–63,25). Аллельный состав определяли биолюминесцентным способом, ранее разработанным авторами. В качестве контроля использовали образец с генотипом GC, подтвержденным секвенированием по Сэнгеру (ЦКП Геномика, Новосибирск, Россия). Для сравнения количественных данных использовали U-тест Манна–Уитни. Для сравнения частот вариантов гена среди контрольных образцов и случаев РМП применяли критерий χ^2 Пирсона. Исследуемая выборка находилась в равновесии Харди–Вайнберга ($p > 0,05$). Ассоциация между вариантами rs9904341 и РМП оценивали по отношению шансов (ОШ) с 95 % доверительным интервалом (ДИ), с уровнем значимости $p < 0,05$. **Результаты.** Определен аллельный состав в генах пациентов и в контрольной группе: GG – 62 (39,2 %) vs 43 (36,8 %); GC – 82 (51,9 %) vs 54 (46,2 %); CC – 14 (8,9 %) vs 20 (17,15 %). Связь между наличием аллеля C и РМП оценивали по рецессивной модели наследования, объединив всех носителей – гетерозигот и гомозигот. Установлена частота встречаемости генотипов для пациентов и контрольной группы: GG + GC – 144 (91,1 %) vs 97 (82,9 %); CC – 14 (8,9 %) vs 20 (17,1 %). Носителей генотипа CC достоверно меньше в группе пациентов: ОШ (95 % ДИ) 0,47 (0,23–0,98), $p = 0,04$. Связь с инвазией опухоли не достоверна ($p = 0,08$). **Заключение.** По результатам исследования полиморфизма rs9904341(G/C) среди больных РМП в Красноярском крае обнаружен защитный эффект носительства генотипа CC ($p = 0,04$).

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, ген *BIRC5*, однонуклеотидный полиморфизм (SNP) rs9904341, сурвивин, биолюминесцентный анализ.

RELATIONSHIP OF -31G/C (rs9904341) POLYMORPHISM IN THE SURVIVIN GENE *BIRC5* AND THE RISK OF BLADDER CANCER

E.E. Bashmakova¹, N.S. Panamarev^{1,2}, A.N. Kudryavtsev¹, D.V. Chernyaev^{3,4},
E.V. Slepov³, R.A. Zukov^{3,4}, L.A. Frank^{1,2}

Institute of Biophysics, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russia¹

50/50, Akademgorodok, 660035, Krasnoyarsk, Russia. E-mail: lfrank@yandex.ru¹

Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia²

79, Svobodny Ave., 660041, Krasnoyarsk, Russia²

Regional Clinical Oncology Center named after A.I. Kryzhanovskiy, Krasnoyarsk, Russia³

16, Smolenskaya St., 660133, Krasnoyarsk, Russia³

State Medical University named after V.F. Voyno-Yasenetsky of the Ministry of Health of Russia,
Krasnoyarsk, Russia⁴

1, Partizana Zheleznyaka St., 660022, Krasnoyarsk, Russia⁴

Abstract

Purpose: To study the relationship between the -31G/C (rs9904341) polymorphism in the promoter region of the survivin protein gene and the predisposition to bladder cancer (BC) in patients of the Krasnoyarsk region. **Material and methods.** The allelic composition of the studied gene was determined in a group of 158 BC patients, consisting of 30 women and 128 men (mean age 65.6 ± 10.7 , median: 66.5; C₂₅-C₇₅: 59–72). The control group included 117 healthy donors and consisted of 27 women and 90 men with an average age of 60.2 ± 5.1 (median: 60; C₂₅-C₇₅: 57–63.25). The allelic composition was determined using the bioluminescent method. A sample with the GC genotype confirmed by Sanger sequencing (Center for Collective Use “Genomika”, Novosibirsk, Russia) was used as a control. The Mann–Whitney U test was used to compare quantitative data. The studied sample was in Hardy–Weinberg equilibrium ($p > 0.5$). The Pearson χ^2 test was used to compare the frequencies of gene variants among BC cases and control samples. The association between variants rs9904341 and BC was assessed in terms of odds ratio (OR) with a 95 % confidence interval (CI); p values < 0.05 were considered significant. **Results.** The allelic composition was determined for the genes of patients and control group participants: GG – 62 (39.2%) vs 43 (36.8%); GC – 82 (51.9%) vs 54 (46.2%); CC – 14 (8.9%) vs 20 (17.15%). The relationship between the presence of the C allele and BC was assessed using the recessive inheritance model, combining all carriers – heterozygotes and homozygotes. The frequency of occurrence of genotypes for patients and the control group was established: GG + GC – 144 (91.1%) vs 97 (82.9%); CC – 14 (8.9%) vs 20 (17.1%). Thus, carriers of the CC genotype were significantly less in patients: OR (95% CI) 0.47 (0.23–0.98), $p = 0.04$. The relationship with tumor invasion was not significant ($p = 0.08$). **Conclusion.** Based on the results of detecting the rs9904341 (G/C) polymorphism among BC patients of the Krasnoyarsk region, a protective effect of the carriage of the CC genotype was found. In order to study the allelic composition with the threat of recurrence of the disease, additional research is needed.

Key words: bladder cancer, single nucleotide polymorphism (SNP) rs9904341, survivin, bioluminescent analysis.

Введение

Доля рака мочевого пузыря (РМП) составляет 3–5 % всех злокачественных новообразований и около 40 % от опухолевых заболеваний мочеполовой системы [1, 2]. До 80 % случаев РМП составляет немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря (НМИ РМП), для которого характерна склонность к рецидивированию. Поиск диагностических и предикторных параметров, позволяющих предсказать течение заболевания, является актуальной проблемой. Принимая во внимание сложность и неоднозначность процессов онкогенеза, можно предположить, что наиболее успешным будет интегративный подход, сочетающий клинико-морфологические и молекулярно-генетические

параметры [3]. В ряде исследований были обнаружены факторы генетической предрасположенности к риску развития РМП и прогрессированию этого заболевания. В частности, была подтверждена взаимосвязь полиморфизма -31G/C, расположенного в промоторной области гена белка сурвивина, приводящего к изменению уровня мРНК этого белка, с риском развития рецидивирующего рака. Сурвивин – это одноцепочечный низкомолекулярный белок (м.м. 16,5 кДа), относящийся к группе белков-ингибиторов апоптоза (IAP), все члены которого имеют как минимум один бакуловирусный IAP повтор (BIR), состоящий примерно из 70 аминокислот. Данный повтор обеспечивает их взаимодействие с проапоптотическими белками

ми. Сурвивин – мультифункциональный белок, способный ингибировать апоптоз, регулировать деление клеток и способствовать ангиогенезу [4]. Практически во всех типах рака наблюдается сверхэкспрессия сурвивина [5, 6], что может объясняться нуклеотидными вариациями в регуляторной области гена этого белка. В частности, было показано, что полиморфизм -31G>C (rs9904341), расположенный в промоторной области гена сурвивина, коррелирует с экспрессией этого гена: аллель 31C проявляет существенно более высокую активность по сравнению с 31G [7]. По данным мета-анализа 2019 г., выполненного Moazeni-Roodi et al., наличие 31C аллеля коррелирует с риском возникновения большинства типов рака либо в целом, либо среди азиатского населения [8]. Для случая рака мочевого пузыря в азиатской популяции установлена ассоциация полиморфизма rs9904341 для рецессивной модели наследования (CC vs GG+GC, ОШ 1,8, 95 % ДИ 1,36–2,54 $p < 0,001$). В то же время этот генотип у европейской популяции был связан с защитой против рака полости рта, рака легких, уротелиального рака и опухоли Вильмса, а для таких типов рака, как гепатоцеллюлярная карцинома, карцинома пищевода, рак кожи и рак шейки матки, ассоциаций вообще не было выявлено. В работах [9–11] показана ассоциация полиморфизма rs9904341 с риском уротелиального рака. Исследования, демонстрирующие связь данного полиморфизма с риском возникновения РМП, немногочисленны, проведены только для азиатского населения [12–14]. Во всех публикациях отмечается необходимость дополнительных исследований данной ассоциации.

Целью нашего исследования было изучить связь между полиморфизмом -31G/C (rs9904341) в промоторной области гена белка сурвивина *BIRC5* и риском возникновения заболевания РМП у пациентов Красноярского края.

Материал и методы

Образцы крови пациентов с диагнозом РМП отобраны специалистами КГБУЗ «Красноярского краевого клинического онкологического диспансера им. А.И. Крыжановского». Исследование одобрено на заседании локального этического комитета, протокол № 27 от 02.07.2020. От всех пациентов, принявших участие в исследовании, получено информированное согласие. После клинического обследования и опроса у врача-онколога заболевание было охарактеризовано по клинико-морфологическим признакам, к которым относились: стадия, степень дифференцировки, прогрессирование заболевания и инвазия опухоли в стенку мочевого пузыря. Образцы венозной крови здоровых доноров получены от Красноярского краевого центра крови № 1.

Всего исследовали 158 образцов ДНК пациентов, среди них: 30 женщин и 128 мужчин (средний

возраст $65,6 \pm 10,7$ года, медиана: 66,5; $C_{25} - C_{75}$: 59 – 72). В контрольной группе были образцы ДНК 117 здоровых доноров, среди которых 27 женщин и 90 мужчин, средний возраст $60,2 \pm 5,1$ года (медиана: 60; $C_{25} - C_{75}$: 57 – 63,3). В группе пациентов и контрольной группе русские составляли 95,4 и 96,6 % соответственно.

ДНК выделяли набором «ExtractDNA Blood» (Евроген, Россия). Синтез участка, содержащего полиморфизм rs9904341, проводили с помощью ПЦР с использованием ДНК-полимеразы Hot Start Taq (Евроген, Россия) и праймеров, фланкирующих целевой участок: Up праймер – 5'- GAAGGCCGCGGGGGGTGGACC – 3'; Dn праймер – 5'- GCGGTGGTCCTTGAGAAA-GGGCTGCC – 3'.

Олигонуклеотиды, использованные в работе, синтезированы ООО Биосан (Россия).

Высокоочищенные препараты белков репортеров – мутантных вариантов Ca^{2+} -регулируемого фотопротеина обелина (OL) с разными характеристиками биолюминесценции, а также их конъюгатов: OL(W92F,H22E)-политимидилат (dT)₃₀ и OL(Y138F)-антитело к 6-карбоксифлуоресцеину (FAM), получали, как описано ранее [15].

Реакцию удлинения специфичных праймеров (PEXT) проводили в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 1-кратный буфер SNPdetect (Евроген, Россия), по 2,5 мМ каждого dNTP, 2,5 мМ Bio-dUTP (Биосан, Россия), по 1 pmol праймеров PEXTG–FAM–CCATTAACCGCCAGATTTGAATCGCG и PEXT C – (A)₂₇–CCATTAACCGCCAGATTTGAATCGCC, 2 ед. акт. полимеразы SNPdetect (Евроген, Россия). Условия реакции: 95 °C в течение 5 мин; 3 цикла (95 °C – 15 сек, 60 °C – 15 сек, 72 °C – 15 сек); 95 °C в течение 5 мин.

Биолюминесцентный анализ продуктов реакции PEXT проводили, как описано ранее [15]. Кратко: в лунки планшета (Costar, США), активированные стрептавидином [16], вносили 47 мкл гибридизационного буфера и 3 мкл раствора продуктов PEXT-реакции или буфера (контрольные образцы), инкубировали 30 мин и промывали. Далее в лунки вносили по 50 мкл смеси конъюгатов OL(W92F,H22E)-(dT)₃₀ и OL(Y138F)-антитела к FAM, инкубировали, промывали и измеряли биолюминесценцию сформированных на поверхности комплексов с помощью планшетного люминометра Mithras LB 940 Multimode Reader (Berthold, Германия) сразу после впрыскивания 70 мкл 0,1 М CaCl₂ в 0,1 М Tris-HCl pH 8,8. Интегральные сигналы записывали по очереди: фиолетовый через оптический фильтр ФС6 (ЛенЗОС, Россия) в течение 1 с и далее зеленый через оптический фильтр ЖС17 (ЛенЗОС, Россия) – в течение 3 с. Все измерения проводили в 2 повторностях, учитывали сигналы от контрольных лунок. Генотип определяли по отношению величины зеленого сигнала к фиолетовому (дискриминационный фактор, D).

Последовательности трех образцов с генотипами GG, GC, CC дополнительно подтверждены секвенированием по Сэнгеру (ЦКП «Геномика» СО РАН, Россия). При генотипировании образец GC использовали как внутренний контроль.

Статистическую обработку проводили с помощью программного обеспечения Statistica 12 (Statsoft, Россия) и Microsoft Excel для Windows 10. Для сравнения количественных данных использовали U-тест Манна–Уитни. Для качественных характеристик использовали тест χ^2 . Для сравнения частот вариантов гена среди контрольных образцов и случаев РМП применяли критерий χ^2 -Пирсона. Исследуемая выборка находилась в равновесии Харди–Вайнберга для контролей и для случаев ($p > 0,05$). Ассоциацию между вариантами rs9904341 и РМП оценивали по отношению шансов (ОШ) с 95 % доверительным интервалом (ДИ), с уровнем значимости $p < 0,05$.

Для вычисления отношения шансов использовали калькулятор расчета статистики в исследованиях «случай–контроль» на сайте «Ген Эксперт» <http://84.201.145.131/>.

Среднее значение величин указано с квадратичным отклонением.

Результаты

Для выявления аллельного состава ДНК использовали способ, разработанный и успешно протестированный нами ранее. Он реализуется в 3 этапа: а) синтез фрагмента, содержащего полиморфный сайт, с помощью реакции ПЦР; б) реакция удлинения аллель-специфичных праймеров, несущих разные метки (олиготимидилат либо анти- FAM антители), в ходе которой в состав продукта включаются звенья биотинилированного уридина; в) твердофазный биолюминесцентный анализ полученных биотинилированных продуктов, схема которого приведена на рис. 1. Наличие

аллелей определяют по биолюминесцентному сигналу соответствующих репортеров: зеленый сигнал регистрируется при наличии аллеля G, фиолетовый – аллеля C. Отношение этих сигналов – дискриминационный фактор D – отражает аллельный состав образца ДНК. Данный способ был нами ранее успешно использован при исследовании полиморфизмов, связанных с предрасположенностью к возникновению меланомы кожи [17], нарушениями гемостаза [18], склонностью к развитию нейросенсорной тугоухости [19]. Надежность этого способа генотипирования обеспечивается существенная (около порядка) разница между значениями дискриминационного фактора D для каждого генотипа. Так, в нашем исследовании D принимал следующие значения: $6,52 \pm 2,13$ (n=105) генотип GG; $0,99 \pm 0,21$ (n=136) генотип GC; $0,06 \pm 0,04$ (n=34) генотип CC.

Полиморфизм rs9904341(G/C) определен для всех 275 образцов ДНК (табл. 1). Исследуемые генотипы и аллели находились в равновесии Харди–Вайнберга ($p > 0,05$). Между экспериментальной и контрольной группами не было выявлено статистически значимых различий при анализе распределения генотипов (табл. 1).

Анализ результатов генотипирования аллельных вариантов полиморфизма rs9904341(G/C) показал, что в исследуемой группе (пациенты плюс контроль) частота встречаемости аллелей G и C составила 0,629 и 0,371 соответственно. По данным о частоте исследуемых аллелей, представленным в базе NCBI результатов проекта 1000 Genomes (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>), они сопоставимы с таковыми для европейской популяции: 0,693 и 0,306 для аллелей G и C соответственно.

Связь между наличием аллеля C и риском возникновения рака мочевого пузыря оценивали по рецессивной модели наследования, объединив всех носителей – гетерозигот и гомозигот (табл. 2).

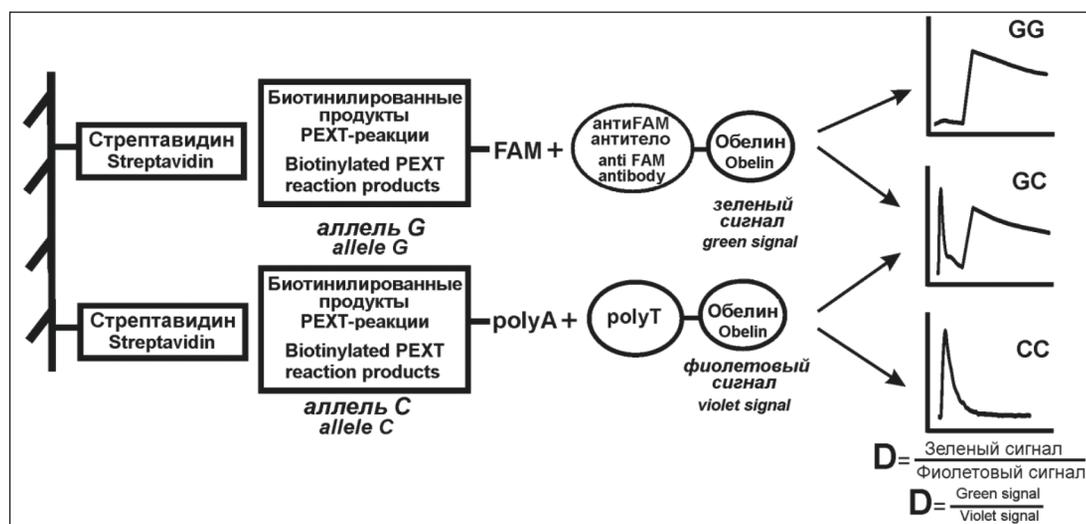


Рис. 1. Схема твердофазного биолюминесцентного анализа продуктов ПЕХТ-реакции
Fig. 1. Scheme of the bioluminescent solid-phase analysis of the PEXT reaction products

Таблица 1/Table 1

Распределение частот генотипов полиморфного варианта среди пациентов и в контрольной группе
Distribution of genotype frequencies for polymorphic variant among patients and in the control group

Генотип/ Genotype	Сравниваемые группы/Study groups		ОШ (95% ДИ)/ OR (95% CI)	P
	Больные/Patients (n=58)	Контроль/Control (n=117)		
GG	62 (39,2 %)	43 (36,8 %)	1,11 (0,68–1,82 %)	0,12
GC	82 (51,9 %)	54 (46,2 %)	1,26 (0,78–2,03 %)	
CC	14 (8,9 %)	20 (17,1 %)	0,47 (0,23–0,98 %)	

Таблица 2/Table 2

Распределение генотипов по рецессивной модели наследования
Genotypes distribution according to the recessive inheritance model

Генотип/ Genotype	Сравниваемые группы/Study groups		ОШ (95% ДИ)/ OR (95% CI)	P
	Больные/Patients (n=58)	Контроль/Control (n=117)		
GG + GC	144 (91,1 %)	97 (82,9 %)	2,12 (1,02–4,4 %)	0,04
CC	14 (8,9 %)	20 (17,1 %)	0,47 (0,23–0,98 %)	

Таблица 3/Table 3

Распределение генотипов среди пациентов с разным типом инвазии РМП
Genotypes distribution among patients with different types of bladder cancer invasion

Генотип Genotype	Мышечно-инвазивный тип (T2-T4)/ Muscle-invasive type (T2-T4) (n=55)	Немышечно-инвазивный тип (Ta, Tis, T1)/ Non-muscle invasive type (Ta, Tis, T1) (n=103)	ОШ (95% ДИ %) OR (95% CI %)	P
	GG	27 (49,1 %)		
GC	26 (47,3 %)	56 (54,4 %)	0,75 (0,39–1,45 %)	0,08
CC	2 (3,6 %)	12 (11,7 %)	0,29 (0,06–1,33 %)	

Можно видеть, что носителей генотипа CC достоверно меньше в группе пациентов: (8,9 % vs 17,1 %, p=0,04), т.е. риск развития рака мочевого пузыря у них почти в 2 раза меньше по сравнению с GG генотипом.

В табл. 3 приведены результаты исследования по распределению генотипов среди пациентов, имеющих мышечно-инвазивный (T2-T4) и немышечно-инвазивный тип опухоли (Ta, Tis, T1).

Можно видеть, что носители генотипа CC в группе пациентов с мышечно-инвазивным типом опухоли встречались реже, чем в группе с немышечно-инвазивным типом опухоли: 3,6 % vs 11,7 %, однако данное различие не было статистически значимым (p>0,05).

В исследуемой группе у 21 пациента наблюдалось прогрессирование заболевания (как для мышечно-инвазивного, так и для немышечно-инвазивного типа), однако связи прогрессирования с генотипом не обнаружено.

Обсуждение

Обнаруженная нами связь свидетельствует о наличии защитного эффекта для носителей CC генотипа в отношении риска возникновения РМП. Этот факт отличается от опубликованных ранее данных о повышенном риске РМП [12–14], в которых носительство аллеля C связано с повышенным риском

возникновения рака. В то же время Srivastava et al. в своем метаанализе показали, что такая связь характерна только для азиатских популяций. То есть расхождения с опубликованными данными могут быть связаны с этническими различиями между изучаемыми группами населения [20]. При сравнении частот встречаемости этого аллеля среди европейского и азиатского населения и исследованной нами группы людей (275 человек) ее можно отнести к европейской популяции (табл. 1). К сожалению, данные о связи аллельного состава с риском РМП среди европейцев весьма немногочисленны. Единственное исследование на эту тему, проведенное в Европе (Сербия), обнаружило эффект повышенного риска уротелиального рака для носителей GG генотипа [11]. Защитный эффект носительства CC генотипа среди европейцев был показан для некоторых других видов рака [21].

Нельзя исключить, что наблюдаемый нами эффект связан с тем, что контрольная группа в целом моложе экспериментальной (p<0,05) (см. Материал и методы). Однако, поскольку точные сроки возникновения заболевания установить невозможно, более старший возраст в группе пациентов может быть связан с поздним обращением к врачу.

В литературе изложено несколько версий о механизме эффекта данного полиморфизма при изучении других видов опухолей. Так, Antonacopoulou

et al. в своем исследовании колоректального рака показали, что аллель -31C связан с повышенной экспрессией изоформ сурвивина. При этом у пациентов с генотипом GG худшая выживаемость по сравнению с носителями аллеля С [22]. Функции изоформ сурвивина еще не до конца изучены. Однако в ряде публикаций сообщается о проапоптотическом эффекте изоформ сурвивина 2β и 2α [23, 24]. Это связано с тем, что транскрибируемая область этих изоформ не содержит полную последовательность домена В1R, который отвечает за антиапоптотическую форму сурвивина: у сурвивина 2β домен В1R укорочен, а у сурвивина 2α он отсутствует. При этом изоформы сурвивина способны образовывать «молчашие» гетеродимеры с сурвивином дикого типа, блокируя его антиапоптотическую функцию, характерную для гомодимера дикого типа [25]. Andric et al. показали, что снижение экспрессии проапоптотических изоформ сурвивина у носителей генотипа GG может способствовать развитию опухоли [26].

Исследования на клеточных линиях СНО, HeLa показали намного более высокую транскрипционную активность аллеля С по сравнению с аллелем G, что приводит к повышенной экспрессии сурвивина [27]. Однако это не свидетельствует однозначно о плохом прогнозе и повышении шанса

возникновения рака для носителей аллеля С. Не менее важным показателем, кроме абсолютной экспрессии сурвивина, является соотношение экспрессии его изоформ и сурвивина дикого типа. Так, высокий уровень соотношения сурвивин 2β:сурвивин дикого типа коррелирует с благоприятным прогнозом и высокодифференцированным типом рака. Уменьшение этого соотношения ассоциируется с ростом злокачественности опухоли [28, 29].

Описанные выше механизмы не объясняют обратный эффект данного полиморфизма, показанного для азиатской популяции. Очевидно, здесь имеют место более глубокие процессы, связанные с пост-трансляционными модификациями [30], а также эпигенетическими регуляторными факторами.

Заключение

В рамках данного исследования по выявлению полиморфизма rs9904341(G/C) среди пациентов с заболеванием РМП нами обнаружен защитный эффект носительства генотипа СС. Обнаруженный эффект является основанием для проведения дополнительных исследований о связи данного полиморфизма с предрасположенностью к возникновению РМП.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Аксель Е.М., Матвеев В.Б. Статистика злокачественных новообразований мочевых и мужских половых органов в России и странах бывшего СССР. Онкоурология. 2019. 15(2): 15–24. [Axel E.M., Matveev V.B. Statistics of malignant tumors of urinary and male urogenital organs in Russia and the countries of the former USSR. Cancer Urology. 2019; 15(2): 15–24. (in Russian)]. doi: 10.17650/1726-9776-2019-15-2-15-24.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2018; 68(6): 394–424. doi: 10.3322/caac.21492.
3. Черняев Д.В., Слепов Е.В., Мазаев А.В., Сафонцев И.П., Зукров Р.А. Интегративные модели оценки риска развития рецидива немусечно-инвазивного рака мочевого пузыря. Эффективная фармакотерапия. 2021. 17(2): 38–42. [Chernyaev D.V., Slepov Ye.V., Mazayev A.V., Safontsev I.P., Zukov R.A. Assessing the recurrence risk of non-muscle-invasive bladder cancer by integrative models. Effective Pharmacotherapy. 2021; 17(2): 38–42. (in Russian)]. doi: 10.33978/2307-3586-2021-17-2-38-42.
4. Jaiswal P.K., Goel A., Mittal R.D. Survivin: A molecular biomarker in cancer. Indian J Med Res. 2015; 141(4): 389–97. doi: 10.4103/0971-5916.159250.
5. Martínez-García D, Manero-Rupérez N, Quesada R, Korrodi-Gregório L, Soto-Cerrato V. Therapeutic strategies involving survivin inhibition in cancer. Med Res Rev. 2019; 39(3): 887–909. doi: 10.1002/med.21547.
6. Слепов Е.В., Башмакова Е.Е., Панамарев Н.С., Франк Л.А., Зукров Р.А. Белок сурвивин как перспективный маркер диагностики и лечения злокачественных новообразований. Эффективная фармакотерапия. 2021. 17(2): 58–63. [Slepov Ye.V., Bashmakova Ye.Ye., Panamarev N.S., Frank L.A., Zukov R.A. The survivin protein as novel anti-cancer diagnosis and treatment marker. Effective Pharmacotherapy. 2021; 17(2): 58–63. (in Russian)]. doi: 10.33978/2307-3586-2021-17-2-58-63.
7. Xu Y, Fang F, Ludewig G, Jones G, Jones D. A mutation found in the promoter region of the human survivin gene is correlated to overexpression of survivin in cancer cells. DNA Cell Biol. 2004; 23(9): 527–37. doi: 10.1089/dna.2004.23.527.
8. Moazeni-Roodi A, Ghavami S, Hashemi M. Survivin rs9904341 polymorphism significantly increased the risk of cancer: evidence from an updated meta-analysis of case-control studies. Int J Clin Oncol. 2019; 24(4): 335–49. doi: 10.1007/s10147-019-01408-y.
9. Mazoochi T, Karimian M, Ehteram H, Karimian A. Survivin c-31G>C (rs9904341) gene transversion and urinary system cancers risk: a systematic review and a meta-analysis. Per Med. 2019; 16(1): 67–78. doi: 10.2217/pme-2018-0053.
10. Lin Y.C., Hour T.C., Tsai Y.C., Huang S.P., Wu W.J., Chen C.H., Pu Y.S., Chung S.D., Huang C.Y. Preliminary evidence of polymorphisms of cell cycle regulatory genes and their roles in urinary tract urothelial cancer susceptibility and prognosis in a Taiwan population. Urol Oncol. 2017; 35(9). doi: 10.1016/j.urolonc.2016.08.001.
11. Bogdanovic L, Lazić M, Bogdanovic J, Soldatovic I, Nikolic N, Radunovic M, Radojevic-Skodric S, Milasin J, Basta-Jovanovic G. Polymorphisms of survivin-31 G/C gene are associated with risk of urothelial carcinoma in Serbian population. J BUON. 2017; 22(1): 270–7.
12. Kawata N, Tsuchiya N, Horikawa Y, Inoue T, Tsuruta H, Maita S, Satoh S, Mitobe Y, Narita S, Habuchi T. Two survivin polymorphisms are cooperatively associated with bladder cancer susceptibility. Int J Cancer. 2011; 129(8): 1872–80. doi: 10.1002/ijc.25850.
13. Jaiswal P.K., Goel A., Mandhani A., Mittal R.D. Functional polymorphisms in promoter survivin gene and its association with susceptibility to bladder cancer in North Indian cohort. Mol Biol Rep. 2012; 39(5): 5615–21. doi: 10.1007/s11033-011-1366-1.
14. Huang Z.M., Chiang Y.T., Tung M.C., Wu C.C., Chen K.C., Huang M.T., Wang Y.H., Shen C.H. Survivin promoter rs9904341 polymorphism is associated with tumor stage and grade in patients with bladder cancer. Adv Biosci Biotechnol. 2013; 4(1): 1–5. doi: 10.4236/abb.2013.41001.
15. Krasitskaya V.V., Kudryavtsev A.N., Shimomura O., Frank L.A. Obelin mutants as reporters in bioluminescent dual analyte binding assay. Anal Methods. 2013; 5(3): 636–40. doi: 10.1039/C2AY25976A.
16. Башмакова Е.Е., Кудрявцев А.Н., Франк Л.А. Разработка способа получения функционально активного рекомбинантного стрептавидина в клетках *Escherichia coli*. Журнал Сибирского федерального университета. Биология. 2020. 13(2): 218–29. [Bashmakova E.E., Kudryavtsev A.N., Frank L.A. Development of the method to produce functionally active recombinant streptavidin in *Escherichia coli* cells. J Sib Fed Univ. Biol. 2020; 13(2): 218–29. (in Russian)]. doi: 10.17516/1997-1389-0324.
17. Bashmakova E.E., Krasitskaya V.V., Bondar A.A., Eremina E.N., Slepov E.V., Zukov R.A., Frank L.A. Bioluminescent SNP genotyping technique: Development and application for detection of melanocortin 1 receptor gene polymorphisms. Talanta. 2018; 189: 111–5. doi: 10.1016/j.talanta.2018.06.057.

18. *Bashmakova E.E., Krasitskaya V.V., Frank L.A.* Simultaneous genotyping of four single nucleotide polymorphisms associated with risk factors of hemostasis disorders. *Comb Chem High Throughput Screen.* 2015; 18(10): 930–6. doi: 10.2174/1386207318666150917100134.

19. *Башмакова Е.Е., Крассицкая В.В., Юшкова А.Д., Добрецов К.Г., Франк Л.А.* К вопросу о генетической предрасположенности к развитию хронической нейросенсорной тугоухости. *Вестник оториноларингологии.* 2021; 86(1): 15–9. [*Bashmakova E.E., Krasitskaya V.V., Yushkova A.D., Dobrecov K.G., Frank L.A.* To the question of genetic predisposition to the development of professional sensorineural hearing loss. *Bulletin of Otorhinolaryngology.* 2021; 86(1): 15–9. (in Russian)]. doi: 10.17116/otorino20218601115.

20. *Srivastava K., Srivastava A., Mittal B.* Survivin promoter -31G/C (rs9904341) polymorphism and cancer susceptibility: a meta-analysis. *Mol Biol Rep.* 2012; 39(2): 1509–16. doi: 10.1007/s11033-011-0889-9.

21. *Andric M., Nikolic N., Boskovic M., Milicic B., Skodric S., Basta Jovanovic G., Milasin J.* Survivin gene promoter polymorphism -31G/C as a risk factor for keratocystic odontogenic tumor development. *Eur J Oral Sci.* 2012; 120: 9–13. doi: 10.1111/j.1600-0722.2011.00919.x.

22. *Antonacopoulou A.G., Floratou K., Bravou V., Kottorou A., Dimitrakopoulos F.I., Marousi S., Stavropoulos M., Koutras A.K., Scopa C.D., Kalofonos H.P.* The survivin-31 snp in human colorectal cancer correlates with survivin splice variant expression and improved overall survival. *Anal Cell Pathol (Amst).* 2010; 33(5): 177–89. doi: 10.3233/ACP-CLO-2010-0537. Erratum in: *Cell Oncol (Dordr).* 2011; 34(4): 407–8.

23. *Krieg A., Mahotka C., Krieg T., Grabsch H., Müller W., Takeno S., Suschek C.V., Heydthausen M., Gabbert H.E., Gerharz C.D.* Expression

of different survivin variants in gastric carcinomas: first clues to a role of survivin-2B in tumour progression. *Br J Cancer.* 2002; 86(5): 737–43. doi: 10.1038/sj.bjc.6600153.

24. *Caldas H., Honsey L.E., Altura R.A.* Survivin 2a: a novel survivin splice variant expressed in human malignancies. *Mol Cancer.* 2005; 4: 11. doi: 10.1186/1476-4598-4-11.

25. *Pavlidou A., Kroupis C., Dimas K.* Association of survivin splice variants with prognosis and treatment of breast cancer. *World J Clin Oncol.* 2014; 5(5): 883–94. doi: 10.5306/wjco.v5.i5.883.

26. *Jang J.S., Kim K.M., Kang K.H., Choi J.E., Lee W.K., Kim C.H., Kang Y.M., Kam S., Kim I.S., Jun J.E., Jung T.H., Park J.Y.* Polymorphisms in the survivin gene and the risk of lung cancer. *Lung Cancer.* 2008; 60(1): 31–9. doi: 10.1016/j.lungcan.2007.09.008.

27. *Suga K., Yamamoto T., Yamada Y., Miyatake S., Nakagawa T., Tanigawa N.* Correlation between transcriptional expression of survivin isoforms and clinicopathological findings in human colorectal carcinomas. *Oncol Rep.* 2005; 13(5): 891–7.

28. *Koike H., Sekine Y., Kamiya M., Nakazato H., Suzuki K.* Gene expression of survivin and its spliced isoforms associated with proliferation and aggressive phenotypes of prostate cancer. *Urology.* 2008; 72(6): 1229–33. doi: 10.1016/j.urolgy.2007.12.064.

29. *Zhang M., Yang J., Li F.* Transcriptional and post-transcriptional controls of survivin in cancer cells: novel approaches for cancer treatment. *J Exp Clin Cancer Res.* 2006; 25(3): 391–402.

Поступила/Received 29.10.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 09.06.2022

Принята к публикации/Accepted 30.06.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Башмакова Евгения Евгеньевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биоломинесцентных и экологических технологий, ФГБУН «Институт биофизики» СО РАН, ФГБНУ ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН» (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 1701-0350. Researcher ID (WOS): J-7833-2017. Author ID (Scopus): 56626153500. ORCID: 0000-0002-8951-8599.

Панамарев Никита Сергеевич, младший научный сотрудник лаборатории биоломинесцентных и экологических технологий, ФГБУН «Институт биофизики» СО РАН, ФГБНУ ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН»; магистрант, ФГБАОУ ВО «Сибирский федеральный университет» (г. Красноярск, Россия). ORCID: 0000-0001-6954-7280.

Кудрявцев Александр Николаевич, младший научный сотрудник лаборатории биоломинесцентных и экологических технологий, ФГБУН «Институт биофизики» СО РАН, ФГБНУ ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН» (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 2241-2382. Researcher ID (WOS): AAR-4880-2020. Author ID (Scopus): 54397467200. ORCID: 0000-0003-0034-1879.

Черняев Денис Владимирович, врач-онколог, КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского»; ассистент кафедры онкологии и лучевой терапии с курсом ПО, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 5046-3349. ORCID: 0000-0002-4625-9531.

Слепов Евгений Владимирович, кандидат биологических наук, заведующий отделом прогностических и молекулярных методов, КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского» (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 2097-0304. Researcher ID (WOS): AAN-1481-2020. ORCID: 0000-0002-3787-3126.

Зуков Руслан Александрович, доктор медицинских наук, главный врач, КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского»; заведующий кафедрой онкологии и лучевой терапии с курсом ПО, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 3632-8415.

Франк Людмила Алексеевна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории биоломинесцентных и экологических технологий, ФГБУН «Институт биофизики» СО РАН, ФГБНУ ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН»; профессор, ФГБАОУ ВО «Сибирский федеральный университет» (г. Красноярск, Россия). E-mail: lfrank@yandex.ru. SPIN-код: 6139-0436. Researcher ID (WOS): P-8560-2015. Author ID (Scopus): 7201908479. ORCID: 0000-0003-4462-1944.

ВКЛАД АВТОРОВ

Башмакова Евгения Евгеньевна: разработка дизайна исследования, получение, анализ и интерпретация результатов.

Панамарев Никита Сергеевич: получение экспериментальных данных, анализ и интерпретация результатов.

Кудрявцев Александр Николаевич: получение экспериментальных данных, анализ и интерпретация результатов.

Черняев Денис Владимирович: получение экспериментальных данных, анализ и интерпретация результатов.

Слепов Евгений Владимирович: получение экспериментальных данных, анализ и интерпретация результатов.

Зуков Руслан Александрович: разработка концепции и планирование научной работы, критический пересмотр текста рукописи.

Франк Людмила Алексеевна: разработка концепции, планирование и корректирование хода научной работы, подготовка рукописи для публикации.

Финансирование

Исследование выполнено при финансировании Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности. Договор № 241 от 28.04.2021.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Eugenia E. Bashmakova, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Bioluminescent and Environmental Technologies, Institute of Biophysics, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Krasnoyarsk, Russia). Researcher ID (WOS): J-7833-2017. Author ID (Scopus): 56626153500. ORCID: 0000-0002-8951-8599.

Nikita S. Panamarev, Junior Researcher, Laboratory of Bioluminescent and Environmental Technologies, Institute of Biophysics, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; graduate student, Siberian Federal University (Krasnoyarsk, Russia). ORCID: 0000-0001-6954-7280.

Alexander N. Kudryavtsev, Junior Researcher, Laboratory of Bioluminescent and Environmental Technologies, Institute of Biophysics, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Krasnoyarsk, Russia). Researcher ID (WOS): AAP-4880-2020. Author ID (Scopus): 54397467200. ORCID: 0000-0003-0034-1879.

Denis V. Chernyaev, MD, Oncologist, Regional Clinical Oncology Center named after A.I. Kryzhanovsky; Assistant, Department of Oncology and Radiation Therapy, State Medical University named after V.F. Voyno-Yasenetsky of the Ministry of Health of Russia (Krasnoyarsk, Russia). ORCID: 0000-0002-4625-9531.

Eugene V. Slepov, PhD, Head of Department of Prognostic and Molecular Methods, Regional Clinical Oncology Center named after A.I. Kryzhanovsky (Krasnoyarsk, Russia). Researcher ID (WOS): AAN-1481-2020. ORCID: 0000-0002-3787-3126.

Ruslan A. Zukov, MD, DSc, Chief Physician, Regional Clinical Oncology Center named after A.I. Kryzhanovsky; Head of the Department of Oncology and Radiation Therapy, State Medical University named after V.F. Voyno-Yasenetsky of the Ministry of Health of Russia (Krasnoyarsk, Russia).

Ludmila A. Frank, DSc, Chief Researcher. Laboratory of Bioluminescent and Environmental Technologies, Institute of Biophysics, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Professor, Siberian Federal University (Krasnoyarsk, Russia). E-mail: lfrank@yandex.ru. Researcher ID (WOS): P-8560-2015. Author ID (Scopus): 7201908479. ORCID: 0000-0003-4462-1944.

AUTHOR CONTRIBUTION

Eugenia E. Bashmakova: drafting of the manuscript, data collection and interpretation.

Nikita S. Panamarev: experimental studies; analysis and interpretation of the results obtained.

Alexander N. Kudryavtsev: experimental studies; analysis and interpretation of the results obtained.

Denis V. Chernyaev: experimental studies; analysis and interpretation of the results obtained.

Eugene V. Slepov: experimental studies; analysis and interpretation of the results obtained.

Ruslan A. Zukov: study conception and design, critical; revision for important intellectual content.

Ludmila A. Frank: study conception, drafting of the manuscript.

Funding

The study was carried out with the support of the Krasnoyarsk Regional Fund for the Support of Scientific and Scientific and Technical Activities, Contract No. 241 (April 28, 2021).

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.