

Для цитирования: Марковский А.В., Страбмовская Н.Н., Терешков П.П. Молекулярно-генетические и сывороточные маркеры нарушений фолатного обмена у больных пролиферативными заболеваниями и раком молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2017; 16 (2): 50–55. - DOI: 10.21294/18144861-2017-16-2-50-55

For citation: Markovsky A.V., Strambovskaya N.N., Tereshkov P.P. Molecular-genetic and serum markers of folate metabolism deficiency in patients with proliferative breast disease and breast cancer. Siberian Journal of Oncology. 2017; 16 (2): 50–55. - DOI: 10.21294/18144861-2017-16-2-50-55

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И СЫВОРОТОЧНЫЕ МАРКЕРЫ НАРУШЕНИЙ ФОЛАТНОГО ОБМЕНА У БОЛЬНЫХ ПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ И РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.В. Марковский, Н.Н. Страбмовская, П.П. Терешков

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия», г. Чита, Россия
672090, г. Чита, ул. Горького, 39А, e-mail: pochta@chitgma.ru

Аннотация

Цель исследования – изучить взаимосвязь уровня гомоцистеина, цистеина и глутатиона в сыворотке крови с носительством отдельных SNP (single nucleotide polymorphism) генов системы фолатного обмена у больных пролиферативными заболеваниями и раком молочной железы. **Материал и методы.** Обследовано 112 пациенток, страдающих пролиферативными заболеваниями и раком молочной железы в Забайкалье. В группу контроля вошли 144 женщины, не имеющие онкологических заболеваний. В сыворотке крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии оценивали уровень гомоцистеина, цистеина и глутатиона. Генотипирование для выявления полиморфизма *MTHFR*(C677T), *MTHFR*(A1298C), *MTR*(A2756G), *MTRR*(A66G) проводилось методом полимеразной цепной реакции с детекцией продукта амплификации в режиме реального времени. **Результаты.** В ходе молекулярно-генетического тестирования у больных с пролиферативными заболеваниями и раком молочной железы ассоциации болезни с носительством генетического полиморфизма *MTHFR*(C677T), *MTHFR*(A1298C), *MTR*(A2756G), *MTRR*(A66G) не выявлено, однако в отличие от контрольной группы в сыворотке крови определено увеличение концентрации гомоцистеина и глутатиона.

Ключевые слова: пролиферативные заболевания и рак молочной железы, генетический полиморфизм, предрасположенность, концентрация тиолов.

В последние годы среди известных причин рака молочной железы (РМЖ) (генетические, эндокринные, иммунные, инфекционные) большое значение придается наследственным и приобретённым факторам, приводящим к нарушению метаболизма фолиевой кислоты. Ряд исследований [1, 2] показал, что РМЖ может являться следствием ферментопатии фолатного цикла, приводящей к дефициту метильных групп и к изменению концентрации гомоцистеина (ГЦ) и других аминотиолов в крови. Ключевой фермент фолатного цикла – *MTHFR* [MIM 236250] – переводит фолиевую кислоту в ее активную форму 5-метилтетрагидрофолат. Фермент *MTRR* [MIM 602568] участвует в восстановлении активности *MTR* [MIM 156570] – фермента, непосредственно осуществляющего метилирование гомоцистеина. Полиморфные варианты генов *MTHFR*, *MTR* и *MTRR*, обуславливая различную функциональную активность белковых продуктов, влияют на рост уровня ГЦ в крови [3].

Гомоцистеин может влиять на регуляцию активности многих генов, среди которых есть выполняющие провоспалительные и проапоптозные функции, а также на развитие ряда злокачественных опухолей [1, 2, 4, 5], а латентные нарушения обмена ГЦ встречаются почти у 50 % обследуемых с нормальным уровнем и чаще отмечаются у наиболее клинически тяжелых больных. Дисбаланс, вызванный метаболитами метионинового цикла, может повлиять на уровень метилирования ДНК в клетках, что определяется еще до появления их злокачественного фенотипа [4]. Таким образом, комплексное исследование генов фолатного обмена может повысить точность выработки прогностических критериев доброкачественных и злокачественных образований молочной железы [6, 7], а коррекция эпигенетических нарушений атипичных клеток является перспективным направлением борьбы со злокачественными новообразованиями.

Цель исследования – изучить ассоциацию носительства полиморфизма генов белков фолатного

цикла с развитием болезни, а также с уровнем гомоцистеина, цистеина и глутатиона в сыворотке крови у больных пролиферативными заболеваниями молочной железы в Забайкалье.

Материал и методы

В исследование вошли 35 больных с пролиферативными заболеваниями молочной железы (ПЗМЖ) – фиброаденомой, фиброзно-кистозной мастопатией – и 77 пациенток с РМЖ, в возрасте 46–66 лет. Диагноз подтвержден гистологически. Контрольную группу составили 144 здоровые женщины Забайкальского края в возрасте 31–50 лет, не имеющие на момент исследования онкологической патологии. Все участницы исследования подписывали информированное согласие. Протокол исследования № 69 одобрен ЛЭК при ФГБОУ ВО ЧГМА от 24 декабря 2014 г.

Определение в сыворотке крови цистеина (Cys), гомоцистеина, глутатиона (GSH) осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [8]. Экстракцию ДНК из лейкоцитов цельной периферической крови проводили посредством комплекта реагентов «ДНК-Экспресс Кровь» (ООО НПФ «Литех», Россия), согласно инструкции производителя. Генотипирование проводилось с использованием набора «Генетика Метаболизма Фолатов» для выявления полиморфизма *MTHFR*(C677T), *MTHFR*(A1298C), *MTR*(A2756G), *MTRR*(A66G) (ООО «НПО ДНК-Технология», Москва) методом полимеразной цепной реакции с детекцией продукта амплификации в режиме реального времени (амплификатор ДТ-96 (ООО «ДНК-Технология», Россия)).

Статистический анализ данных проведен с помощью Ms Excel 10.0, Statistica 6.0. Для оценки соответствия распределений наблюдаемых генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди – Вайнберга и для сравнения распределений частот генотипов и аллелей между исследуемыми группами использовали критерий χ^2 .

Для оценки аддитивного эффекта изучаемых аллелей нами была предложена модель генетического индекса с переводом носительства отдельных аллеломорфов в количественный признак, характеризующий увеличение рискового эффекта на фоне увеличения количества минорных аллелей: гомозиготам по «нормальному» (дикому) аллелю присваивали 1 балл, гетерозиготам – 2 балла, гомозиготам по минорному аллелю – 3 балла. Затем для каждого человека суммировали баллы всех исследованных генотипов и определяли среднюю величину (М). Проверка характера распределения значений в выборке проводилась с помощью теста Shapiro – Wilk's. Изучение статистических связей между показателями выборки проводили с помощью корреляционного анализа Спирмена (R). Статистическую значимость различий количественных признаков определяли по критерию

Манна – Уитни. Показатели считали значимыми при $p < 0,05$. Результаты представлены в виде Me [P25–P75].

Результаты и обсуждение

Фолатный обмен – важный поставщик одноуглеродных фрагментов для жизненно важных клеточных процессов (регенерации метионина, биосинтеза пуриновых нуклеотидов). Нарушение метаболизма производных фолиевой кислоты вследствие недостаточной продукции S-аденозилгомоцистеина (SAM) в клетке способствует гипометилированию ДНК, что вызывает нарушение хромосомной сегрегации и аномальную генную экспрессию. Данные процессы могут лежать в основе канцерогенеза, и, следовательно, гены белков фолатного цикла могут быть рассмотрены в качестве генов-кандидатов, участвующих в развитии онкологических заболеваний [9, 10].

В результате исследования полиморфизма генов белков фолатного цикла нами обнаружены все возможные мутации в гомо- и гетерозиготном состоянии с частотным подчинением закону Харди – Вайнберга (табл. 1). Частоты генотипов и аллелей генов *MTHFR*(C677T), *MTHFR*(A1298C), *MTR*(A2756G), *MTRR*(A66G) не отличались в группах сравнения (в двух клинических и контрольной группе).

Учитывая, что суммарный эффект полиморфизмов разных генов фолатного цикла может значительно влиять на развитие патологического процесса, была проведена оценка всех исследуемых групп по генетическому индексу (табл. 2). Так, средняя сумма баллов у больных РМЖ и ПЗМЖ практически не отличалась от показателей контрольной группы ($p > 0,05$). То есть для изучаемых заболеваний молочной железы аддитивный эффект исследуемых дефектов генов белков фолатного обмена отсутствует.

Однако нами отмечено, что среди 112 больных пролиферативными заболеваниями и раком молочной железы в геноме довольно часто встречаются определенные сочетания аллельных вариантов: *MTHFR*677T × *MTHFR*1298C × *MTR*2756A × *MTRR*66A - у 2 и *MTHFR*677T × *MTHFR*1298A × *MTR*2756G × *MTRR*66A у 4 исследуемых. Среди 144 здоровых женщин такие аллельные комбинации нами выявлены не были.

Было проведено исследование содержания ГЦ, цистеина и глутатиона в сыворотке крови у больных с ПЗМЖ и РМЖ (табл. 3). Уровень общего ГЦ у больных РМЖ и ПЗМЖ ($p < 0,05$) был выше, чем у практически здоровых лиц, что, вероятно, связано с нарушением метаболизма метионина в злокачественных клетках, и, в частности, баланса между реметилированием и транссульфированием, а в случае с ПЗМЖ – усугублением пролиферативных и регрессивных изменений ткани молочной железы с ненормальным соотношением эпителиального и соединительнотканного компонентов, что может

Таблица 1

Частота полиморфизма генов *MTHFR*(C677T), *MTHFR*(A1298C), *MTR*(A2756G), *MTRR*(A66G) в группах сравнения

Генотипы Аллели	Контрольная (n=144)	Группы		χ^2 (p) ¹	χ^2 (p) ²
		ПЗМЖ ¹ (n=35)	РМЖ ² (n=77)		
MTHFR(C677T)					
C/C	65 (45,1)	16 (45,7%)	39 (50,6%)	1,56 (0,46)	2,14 (0,34)
C/T	66 (45,8%)	18 (51,4%)	28 (36,4%)		
T/T	13 (9%)	1 (2,9%)	10 (13%)		
C	196 (0,681)	50 (0,714)	106 (0,688)	0,30 (0,59)	0,03 (0,87)
T	92 (0,319)	20 (0,286)	48 (0,312)		
MTHFR(A1298C)					
A/A	73 (50,7%)	16 (45,7%)	40 (51,9%)	2,67 (0,26)	0,04 (0,98)
A/C	57 (39,6%)	18 (51,4%)	30 (39%)		
C/C	14 (9,7%)	1 (2,9%)	7 (9,1%)		
A	203 (0,705)	50 (0,714)	110 (0,714)	0,02 (0,88)	0,04 (0,84)
C	85 (0,295)	20 (0,286)	44 (0,286)		
MTR(A2756G)					
A/A	94 (65,3%)	25 (71,4%)	53 (68,8%)	1,23 (0,54)	0,29 (0,87)
A/G	46 (31,9%)	10 (28,6%)	22 (28,6%)		
G/G	4 (2,8%)	–	2 (2,6%)		
A	234 (0,813)	60 (0,857)	128 (0,831)	0,76 (0,38)	0,24 (0,63)
G	54 (0,188)	10 (0,143)	26 (0,169)		
MTRR(A66G)					
A/A	33 (22,9%)	9 (25,7%)	19 (24,7%)	2,64 (0,27)	0,25 (0,88)
A/G	78 (54,2%)	14 (40%)	39 (50,6%)		
G/G	33 (22,9%)	12 (34,3%)	19 (24,7%)		
A	144 (0,500)	32 (0,457)	77 (0,500)	0,41 (0,52)	0,00 (1)
G	144 (0,500)	38 (0,543)	77 (0,500)		

Примечание: ^{1,2}(χ^2 -тест) – сравнение распределений частот генотипов и аллелей групп больных РМЖ и ПЗМЖ с соответствующим показателем в группе контроля.

Таблица 2

Характеристика групп наблюдения по генетическому индексу

Показатель	Группа контроля (n=144)	Группа больных ПЗМЖ (n=35)	Группа больных РМЖ (n=77)
Генетический индекс	1,651	1,628	1,633

Примечание: (U-тест) – p>0,05.

Таблица 3

Содержание тиолов в сравниваемых группах, Ме [P25-P75]

Показатель (мкмоль/л)	Группа контроля (n=144)	Группа больных ПЗМЖ (n=35)	Группа больных РМЖ (n=77)
Гомоцистеин	7,9 [7,1–8,7]	8,0 [7,6–8,8]*	9,1 [8,4–9,9]*
Цистеин	197,5 [161,8–236,3]	168,4 [153,0–194,7]	190,4 [152,8–235,5]
Глутатион	2,9 [2,5–3,4]	3,2 [2,9–3,7]*	3,8 [3,4–4,2]*

Примечание * – сравнение уровня тиолов с соответствующим показателем в группе контроля (U-тест) – p<0,05.

лежать в основе нарушения механизмов реализации противоопухолевой защиты организма. Важно отметить, что полученные результаты в клинических группах превышали оптимальный интервал уровня гомоцистеина – 4,5–7,9 мкмоль/л (в возрасте от 30 до 59 лет), который рассчитан для здоровых лиц K. Rasmussen [11]. Но вопрос о цитотоксическом эффекте ГЦ как физиологическом регуляторе уровня метилирования, где гипометилирование может приводить к повышенному уровню экспрессии онкогенов, а гиперметилирование ДНК опухолей подавлять активность генов-супрессоров, остается открытым, поскольку известно, что другие серосодержащие аминокислоты и аминотиолы, такие как цистеин, глутатион, цистеинилглицин, циркулирующие в больших концентрациях, не оказывают повреждающего действия на клетки [1, 10, 12, 13].

Концентрация глутатиона у больных РМЖ и ПЗМЖ ($p < 0,05$) была выше, чем в контрольной группе. Повышение GSH и/или ферментов его метаболизма в плазме крови может свидетельствовать о гибели или апоптозе клеток, а дефицит – о напряжении антиоксидантной защиты, выступая в качестве наиболее раннего показателя усиления окислительных процессов в клетках и способствуя прогрессированию заболевания [14]. Глутатион – один из наиболее изученных антиоксидантов, но в отношении канцерогенеза его роль недостаточно исследована и может носить двойственный характер: как защитный, при участии в устранении и детоксикации канцерогенов, так и патогенный, когда повышенный уровень глутатиона, возможно, способен защитить опухолевые клетки и придать им устойчивость к ряду химиотерапевтических препаратов [15].

Между концентрацией ГЦ и GSH отмечалась сильная прямая линейно-корреляционная связь в обеих клинических группах ($R = 0,9$, $p < 0,05$), что, вероятно, является результатом ускоренного катаболизма серосодержащих аминокислот и может свидетельствовать о случае нарушения утилизации гомоцистеина, сопровождающегося оксидантным стрессом, а, следовательно, и повышением GSH.

Уровень цистеина у больных пролиферативными заболеваниями и раком молочной железы ($p > 0,05$) был вариабелен и не отличался от значений в контрольной группе, что может быть объяснено недостаточным числом наблюдений и/или скрытыми нарушениями метаболизма тиолов. Однако определялась тенденция к снижению уровня Cys, что по результатам проспективного исследования S.M. Zhang et al. [16] может быть прогностическим признаком РМЖ.

Исследований с оценкой ассоциаций между уровнем тиолов и раком молочной железы очень мало в литературе, а результаты противоречивы. По данным нескольких работ [17, 18], у больных с различными видами рака, в частности молочной

железы, яичников и поджелудочной железы, отмечалось повышение концентрации гомоцистеина. Вероятно, это связано с нарушением метаболизма метионина в злокачественных клетках и, в частности, баланса между реметилированием и транссульфированием, который определяет уровень гомоцистеина. Высокий уровень гомоцистеина провоцирует оксидантный стресс за счет нарушения лактат-пируватного обмена. То есть непосредственными источниками ГЦ в крови могут выступать пролиферирующие клетки, а из пищевых источников в кровь гомоцистеин не поступает [13]. В то же время в исследовании J. Lin et al. [19] описывается отсутствие связи между повышенным уровнем гомоцистеина и общим риском развития РМЖ, но при этом наблюдается положительная связь с уровнем цистеина. Можно предположить, что такая противоречивость данных связана с тем, что повышение уровня ГЦ – это и результат опухолевого роста, и его причина.

Таким образом, при оценке ассоциации концентрации тиолов в сыворотке крови как больных, так и здоровых исследуемых с носительством отдельных полиморфных маркеров генов фолатного обмена связи не выявлено. Однако можно констатировать различия в концентрации тиолов у исследуемых групп, с учетом наибольшего содержания сывороточного гомоцистеина и глутатиона у больных ПЗМЖ и РМЖ. Важно отметить, что у 6 носителей в геноме аллельных комплексов *MTHFR677T* × *MTHFR1298C* × *MTR2756A* × *MTRR66A* и *MTHFR677T* × *MTHFR1298A* × *MTR2756G* × *MTRR66A* из группы больных зарегистрирован наиболее высокий уровень гомоцистеина 9,6 [8,2–11,1] мкмоль/л, цистеина 242,3 [211,5–273,1] мкмоль/л и глутатиона 4,2 [3,4–4,9] мкмоль/л относительно других пациентов, а также группы контроля. Это дает возможность предположить влияние определенного сочетания аллельных вариантов генов фолатного обмена на уровень изучаемых тиолов, а, следовательно, и повреждение ДНК, что подтверждается результатами исследования A. Song et al. [18] и требует дальнейшего изучения данного вопроса на большей выборке.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии явной ассоциации отдельных генотипов и аллелей полиморфизма основных белков фолатного цикла с риском развития пролиферативных заболеваний и рака молочной железы. Однако определенные комбинации генотипов представляют особый интерес и могут быть связаны со значительным повышением уровня тиолов в сыворотке крови, что, вероятно, обусловлено нарушениями утилизации гомоцистеина и механизмов антиоксидантной защиты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sharma P., Senthilkumar R.D., Brahmachari V., Sundaramoorthy E., Mahajan A., Sharma A., Sengupta S. Mining literature for a comprehensive pathway analysis: A case study for retrieval of homocysteine related genes for genetic and epigenetic studies. *Lipids in Health and Disease*. 2006; 5: 1–19.
2. Zetterberg H., Coppola A., D'Angelo A., Palmér M., Rymo L., Blennow K. No association between the MTHFR1298C and transcobalamin C776G genetic polymorphisms and hyperhomocysteinemia in thrombotic disease. *Thromb Res*. 2002 Nov 1; 108 (2–3): 127–31.
3. Тульцева С.Н. Влияние уровня гомоцистеина и полиморфизма гена C677T метилентетрагидрофолатредуктазы на риск развития окклюзии вен сетчатки. *Офтальмологические ведомости*. 2011; 4 (2): 50–61.
4. Davis C.D., Uthus E.O. DNA methylation, cancer susceptibility, and nutrient interactions. *Exp Biol Med*. 2004; 229 (5): 988–995.
5. Widner B., Leblhuber F., Frick B., Laich A., Artner-Dworzak E., Fuchs D. Moderate hyperhomocysteinemia and immune activation in Parkinson's disease. *J Neural Transm*. 2002; 109 (12): 1445–52.
6. Cardoso F., van't Veer L.J., Bogaerts J., Slaets L., Viale G., Delaloge S., Pierga J.Y., Brain E., Causeret S., DeLorenzi M., Glas A.M., Goulioti T., Knox S., Matos E., Meulemans B., Neijenhuis P.A., Nitz U., Pas-salacqua R., Ravdin P., Rubio I.T., Saghachian M., Smilde T.J., Sotiriou C., Stork L., Straehle C., Thomas G., Thompson A.M., van der Hoeven J.M., Vuytsteke P., Bernards R., Tryfonidis K., Rutgers E., Piccart M. 70-Gene signatures as an aid to treatment decisions in early-stage breast cancer. *N Engl J Med*. 2016; 375: 717–729.
7. Sparano J.A., Gray R.J., Makower D.F., Pritchard K.I., Albain K.S., Hayes D.F., Geyer C.E. Jr., Dees E.C., Perez E.A., Olson J.A. Jr., Zujewski J., Lively T., Badve S.S., Saphner T.J., Wagner L.L., Whelan T.J., Ellis M.J., Paik S., Wood W.C., Ravdin P., Keane M.M., Gomez Moreno H.L., Reddy P.S., Goggins T.F., Mayer I.A., Brufsky A.M., Toppmeyer D.L., Kaklamani V.G., Atkins J.N., Berenberg J.L., Sledge G.W. Prospective validation of a 21-gene expression assay in breast cancer. *N Engl J Med*. 2015; 373: 2005–2014.
8. Дутов А.А., Никитин Д.А., Федотова А.А. Определение гомоцистеина и цистеина в плазме/сыворотке крови ВЭЖХ методом с

- УФ детекцией и твердофазной экстракцией на полимерном сорбенте. *Биомедицинская химия*. 2010; 56 (5): 609–615.
9. Марковский А.В., Страмбовская Н.Н. Полиморфизм генов белков фолатного обмена и рак молочной железы в Забайкалье. *Врач-аспирант*. 2015; 70 (3.2): 230–234.
 10. Ma J., Stampfer M.J., Christensen B., Giovannucci E., Hunter D.J., Chen J., Willett W.C., Selhub J., Hennekens C.H., Gravel R., Rozen R. A polymorphism of the methionine synthase gene: association with plasma folate, vitamin B12, homocysteine, and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1999; 8 (9): 825–829.
 11. Rasmussen K., Muller J. Total homocysteine measurement in clinical practice. *Ann Clin Chem*. 2000; 37 (5): 627–648.
 12. Costello J.F., Plass C. Methylation matters. *J Med Genet*. 2001; 38: 285–303.
 13. Ueland P.M., Refsum H. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease and drug therapy. *J Lab Clin Med*. 1989. Nov; 114 (5): 473–501.
 14. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Система глутатиона. *Биомедицинская химия*. 2009; 55 (3): 255–277.
 15. Balendiran G.K., Dabur R., Fraser D. The role of glutathione in cancer. *Cell Biochem Funct*. 2004; 22 (6): 343–52.
 16. Zhang S.M., Willett W.C., Selhub J., Manson J.E., Colditz G.A., Hankinson S.E. A prospective study of plasma total cysteine and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2003 Nov; 12 (11 Pt 1): 1188–93.
 17. Wu J.T., Wu L., Wilson W. Increased levels of plasma homocysteine in patients with various carcinomas. *Ir J Med Sci*. 1995; 164: 29A.
 18. Song A., Zhao L., Li Y., Wu L., Li Y., Liu X., Lan S. Haplotypes of the MTHFR gene are associated with an increased risk of breast cancer in a Han Chinese population in Gansu province. *IUBMB Life*. 2016 Jul; 68 (7): 526–34. doi: 10.1002/iub.1509.
 19. Lin J., Lee I.M., Song Y., Cook N.R., Selhub J., Manson J.E., Buring J.E., Zhang S.M. Plasma homocysteine and cysteine and risk of breast cancer in women. *Cancer Res*. 2010. Mar. 15; 70 (6): 2397–2405. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3648.

Поступила 4.12.16
Принята в печать 28.02.17

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Александр Викторович Марковский, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики, Научно-исследовательский институт молекулярной медицины, Читинская государственная медицинская академия (г. Чита, Россия). E-mail: sorcerer-asy@mail.ru. SPIN-код: 2064-9000.

Наталья Николаевна Страмбовская, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией молекулярной генетики, доцент кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики, Научно-исследовательский институт молекулярной медицины, Читинская государственная медицинская академия (г. Чита, Россия). E-mail: strambovskaia@yandex.ru SPIN-код: 7107-3650.

Павел Петрович Терешков, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией экспериментальной и клинической биохимии и иммунологии, Научно-исследовательский институт молекулярной медицины, Читинская государственная медицинская академия (г. Чита, Россия). E-mail: tpp6915@mail.ru. SPIN-код: 5228-8808.

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить

MOLECULAR-GENETIC AND SERUM DISORDERS MARKERS OF FOLATE METABOLISM IN PATIENTS PROLIFERATIVE DISEASE AND BREAST CANCER

A.V. Markovsky, N.N. Strambovskaia, P.P. Tereshkov

Chita State Medical Academy, Chita, Russia
39A, Gorkogo Street, 672090-Chita, Russia. E-mail: pochta@chitgma.ru

Abstract

Aim: to study the relationship between homocysteine, cysteine and glutathione in blood serum and various single nucleotide polymorphisms (SNPs) of genes involved in folate metabolism in patients with proliferative breast disease and breast cancer. **Material and methods.** The study included 112 patients with proliferative breast lesions and breast cancer in Transbaikalia. The control group consisted of 144 women having no breast cancer. Blood levels of homocysteine, cysteine and glutathione were evaluated by HPLC (high performance

liquid chromatography). Genotyping was performed by polymerase chain reaction with the detection of amplification product in real-time. **Results.** Molecular-genetic testing revealed no association between breast disease and genetic polymorphisms of *MTHFR*(C677T), *MTHFR*(A1298C), *MTR*(A2756G), *MTRR*(A66G) in women with proliferative breast lesions and breast cancer, however, in contrast to the control group, the concentrations of homocysteine and glutathione were increased.

Key words: proliferative disease and breast cancer, genetic polymorphism, predisposition, thiol concentration.

REFERENCES

1. Sharma P., Senthilkumar R.D., Brahmachari V., Sundaramoorthy E., Mahajan A., Sharma A., Sengupta S. Mining literature for a comprehensive pathway analysis: A case study for retrieval of homocysteine related genes for genetic and epigenetic studies. *Lipids in Health and Disease*. 2006; 5: 1–19.
2. Zetterberg H., Coppola A., D'Angelo A., Palmér M., Rymo L., Blennow K. No association between the *MTHFR*A1298C and transcobalamin C776G genetic polymorphisms and hyperhomocysteinemia in thrombotic disease. *Thromb Res*. 2002 Nov 1; 108 (2–3): 127–31.
3. Tul'tseva S.N. Effect of homocysteine level and polymorphism of the C677T gene of methylenetetrahydrofolate reductase on the risk of developing retinal vein occlusion. *Oftal'mologicheskie vedomosti*. 2011; 4 (2): 50–61.
4. Davis C.D., Uthus E.O. DNA methylation, cancer susceptibility, and nutrient interactions. *Exp. Biol. Med*. 2004; 229 (5): 988–995.
5. Widner B., Leblhuber F., Frick B., Laich A., Artner-Dworzak E., Fuchs D. Moderate hyperhomocysteinemia and immune activation in Parkinson's disease. *J. Neural. Transm*. 2002; 109 (12): 1445–52.
6. Cardoso F., van't Veer L.J., Bogaerts J., Slaets L., Viale G., Delaloge S., Pierga J.Y., Brain E., Causeret S., DeLorenzi M., Glas A.M., Goulinopoulos V., Goulioti T., Knox S., Matos E., Meulemans B., Neijenhuis P.A., Nitz U., Pas-salacqua R., Ravdin P., Rubio I.T., Saghachian M., Smilde T.J., Sotiriou C., Stork L., Straehle C., Thomas G., Thompson A.M., van der Hoeven J.M., Vuytsteke P., Bernards R., Tryfonidis K., Rutgers E., Piccart M. 70-Gene signatures as an aid to treatment decisions in early-stage breast cancer. *N Engl J Med*. 2016; 375: 717–729.
7. Sparano J.A., Gray R.J., Makower D.F., Pritchard K.I., Albain K.S., Hayes D.F., Geyer C.E. Jr., Dees E.C., Perez E.A., Olson J.A. Jr., Zujewski J., Lively T., Badve S.S., Saphner T.J., Wagner L.L., Whelan T.J., Ellis M.J., Paik S., Wood W.C., Ravdin P., Keane M.M., Gomez Moreno H.L., Reddy P.S., Goggins T.F., Mayer I.A., Brufsky A.M., Toppmeyer D.L., Kaklamani V.G., Atkins J.N., Berenberg J.L., Sledge G.W. Prospective validation of a 21-gene expression assay in breast cancer. *N Engl J Med*. 2015; 373: 2005–2014.
8. Dutov A.A., Nikitin D.A., Fedotova A.A. HPLC determination of plasma/serum homocysteine and cysteine with UV detection and solid-phase extraction on a polymeric sorbent. *Biomedical Chemistry*. 2010; 56 (5): 609–615. [in Russian]
9. Markovskiy A.V., Strambovskaya N.N. Polymorphism of genes of folate metabolism proteins and breast cancer in Zabaykal'e. *Vrach-aspirant*. 2015; 70 (3.2): 230–234. [in Russian]
10. Ma J., Stampfer M.J., Christensen B., Giovannucci E., Hunter D.J., Chen J., Willett W.C., Selhub J., Hennekens C.H., Gravel R., Rozen R. A polymorphism of the methionine synthase gene: association with plasma folate, vitamin B12, homocysteine, and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1999; 8 (9): 825–829.
11. Rasmussen K., Muller J. Total homocysteine measurement in clinical practice. *Ann Clin Chem*. 2000; 37 (5): 627–648.
12. Costello J.F., Plass C. Methylation matters. *J Med Genet*. 2001; 38: 285–303.
13. Ueland P.M., Refsum H. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease and drug therapy. *J Lab Clin Med*. 1989. Nov; 114 (5): 473–501. [in Russian]
14. Kulinskiy V.I., Kolesnichenko L.S. System of glutation. *Biomedical Chemistry*. 2009; 55 (3): 255–277. [in Russian]
15. Balendiran G.K., Dabur R., Fraser D. The role of glutathione in cancer. *Cell Biochem Funct*. 2004; 22 (6): 343–52.
16. Zhang S.M., Willett W.C., Selhub J., Manson J.E., Colditz G.A., Hankinson S.E. A prospective study of plasma total cysteine and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2003 Nov; 12 (Pt 1): 1188–93.
17. Wu J.T., Wu L., Wilson W. Increased levels of plasma homocysteine in patients with various carcinomas. *Ir J Med Sci*. 1995; 164: 29A.
18. Song A., Zhao L., Li Y., Wu L., Li Y., Liu X., Lan S. Haplotypes of the *MTHFR* gene are associated with an increased risk of breast cancer in a Han Chinese population in Gansu province. *IUBMB Life*. 2016 Jul; 68 (7): 526–34. doi: 10.1002/iub.1509.
19. Lin J., Lee I.M., Song Y., Cook N.R., Selhub J., Manson J.E., Buring J.E., Zhang S.M. Plasma homocysteine and cysteine and risk of breast cancer in women. *Cancer Res*. 2010. Mar. 15; 70 (6): 2397–2405. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3648.

Received 4.12.16
Accepted 28.02.17

ABOUT THE AUTHORS

Markovsky Alexandr V., Researcher, Laboratory of Molecular Genetics, Research Institute of Molecular Medicine, Chita State Medical Academy (Chita, Russia). E-mail: sorcerer-asy@mail.ru SPIN-code: 2064-9000.

Strambovskaya Natalia N., MD, PhD, Head of Laboratory of Molecular Genetics, Associate Professor of the Department of Neurology, Neurosurgery and Medical Genetics, Research Institute of Molecular Medicine, Chita State Medical Academy (Chita, Russia). E-mail: strambovskaya@yandex.ru SPIN-code: 7107-3650.

Tereshkov Pavel P., MD, PhD, Head of Laboratory of Experimental and Clinical Biochemistry and Immunology, Research Institute of Molecular Medicine, Chita State Medical Academy, (Chita, Russia). E-mail: tpp6915@mail.ru. SPIN-code: 5228-8808.

Authors declare lack of the possible conflicts of interests