

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *VEGFA* (C-2578A, C+936T) У ПАЦИЕНТОК С РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Шевченко А.В.¹, Коненков В.И.¹, Голованова О.В.¹,
Благодатских А.Е.¹, Гарбуков Е.Ю.², Стахеева М.Н.²

¹ Учреждение Российской академии медицинских наук НИИ Клинической и Экспериментальной лимфологии СО РАМН, г. Новосибирск

² Учреждение Российской академии медицинских наук НИИ онкологии Томского научного центра СО РАМН, г. Томск

Резюме. Ангиогенез играет важнейшую роль в росте, прогрессии и метастазировании многих солидных опухолей. Основным фактором регуляции процесса ангиогенеза является фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF). Цель настоящего исследования состояла в оценке ассоциации функциональных полиморфизмов C-2578A и C+936T гена *VEGFA* с риском развития РМЖ. В результате исследования нами установлена ассоциация полиморфизма -2578AA и -2578CC /+936CC *VEGFA* с развитием РМЖ. Выявлены особенности распределения генотипов *VEGFA* у пациенток с лимфогенным метастазированием и различным менструальным статусом.

Ключевые слова: рак молочной железы, полиморфизм *VEGFA*, лимфогенное метастазирование, менструальный статус.

Shevchenko A.V., Konenkov V.I., Golovanova O.V., Blagodatskikh A.E., Garbukov E.Yu., Stakheeva M.N.
VEGFA GENE POLYMORPHISM (C-2578A, C+936T) IN PATIENTS WITH BREAST CANCER

Abstract. Angiogenesis plays the major role in growth, progression and metastasis of different solid tumors. Vascular endothelium growth factor (VEGF) is a basic factor of angiogenesis regulation. The aim of present study was to evaluate possible correlations between C-2578A and C+936T *VEGFA* gene functional polymorphisms, and risk of breast cancer development. An association of -2578AA and -2578CC /+936CC *VEGFA* polymorphisms with incidence of breast cancer was revealed in our study. Distinct features of *VEGFA* genotype distribution were found for women with lymphogenic metastases and differences in menstrual status. (*Med. Immunol.*, 2012, vol. 14, N 1-2, pp 87-94)

Keywords: breast cancer, *VEGFA* gene polymorphism, lymphogenic metastases, menstrual status.

Введение

Неоангиогенез или формирование новых микрососудов на основе уже существующей в ткани сети сосудов, является необходимым для роста опухоли и развития метастазов. Вновь сформированные кровеносные сосуды снабжают опухоль питательными веществами и кислородом, выводят продукты метаболизма клеток опухоли, гене-

рируют паракринные стимулы, и обеспечивают потенциальные маршруты распространения опухоли. Таким образом, индуцированный опухолью ангиогенез играет важную роль в прогрессии опухолевого роста и метастазировании [6].

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) индуцирует образование новых сосудов в опухоли путем стимулирования, деления и миграции эндотелиальных клеток близлежащих сосудов [9]. VEGF специфически связывается с двумя трансмембранными тирозин-киназными рецепторами (VEGFR) на эндотелиальных клетках для трансдукции внутриклеточного сигнала, необходимого для ангиогенеза [10]. В ряде исследований показано, что повышенный уровень VEGF в периферической крови и усиление экспрессии VEGF в опухолевых тканях коррелирует с повы-

Адрес для переписки:

Шевченко Алла Владимировна,
ГУ НИИ клинической и экспериментальной
лимфологии СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2.
Тел.: (383) 227-01-94.
Факс: (383) 227-01-96.
E-mail: shalla64@mail.ru

шением плотности микрососудистой сети опухолевого узла и, как следствие этого, с агрессивным ростом опухоли и низкой постоперационной выживаемостью больных. Экспрессия VEGF в злокачественных опухолях сочетается с увеличением количества метастазов и укорочением безрецидивной выживаемости при ряде типов опухолей, включая РМЖ [11].

Ген VEGF человека расположен на хромосоме бр21.3 и содержит восемь экзонов, отделенных семью интронами [26]. По крайней мере 30 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в этом гене были описаны в литературе. Функциональные полиморфные сайты, влияющие на уровень продукции белка, выявлены как в области промотора 5'нетранслируемого региона, так и в 3'нетранслируемом регионе гена [27]. Ряд исследований выявил ассоциацию полиморфизма гена VEGF с заболеваниями, в которых ангиогенез играет значимую роль в патогенезе, а именно: диабетическая ретинопатия [3], почечно-клеточная карцинома [1], рак простаты [7], меланома [13] и пр.

Исследования ассоциации VEGF полиморфизма с риском развития РМЖ на сегодняшний день противоречивы и вероятно связаны со многими факторами, в том числе и с популяционными особенностями.

Продемонстрировано влияние полиморфизмов *C-2578A* и *C+936T*, картированных в регуляторных областях гена *VEGFA* на уровень его экспрессии и уровень медиатора в плазме здоровых доноров и больных РМЖ. Причем, аллель *-2578C* связывают с повышенным уровнем экспрессии гена *VEGFA* [24], а аллель *+936T* – со сниженным уровнем продукции VEGF и его низким содержанием в плазме [23].

Основываясь на биологических функциях VEGF и его значении в патологических процессах и, предполагая, что функциональный полиморфизм гена *VEGF* может быть ассоциированным с риском развития и особенностями течения РМЖ, мы провели анализ полиморфизма гена *VEGF* в позициях *-2578* промоторного региона и в позиции *+936* 3'нетранслируемого региона у пациенток с РМЖ и у здоровых женщин Западной Сибири.

Материалы и методы

Образцы ДНК женщин, больных РМЖ, были предоставлены НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН (г. Томск), образцы ДНК здоровых женщин – НИИ терапии СО РАМН (г. Новосибирск). В исследование включены 389 больных операбельным раком молочной железы стадии T₁₋₄N₀₋₃M₀, получавших лечение в НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН в 1996-2007 годах. Средний возраст женщин на момент заболевания составил 51,5

лет (20-79 лет). У 140 женщин сохранен менструальный цикл, 246 находились в менопаузе. При гистологическом исследовании операционного материала у 305 человек был диагностирован инфильтрирующий протоковый, у 51 – инфильтрирующий дольковый рак. В семейном анамнезе 142 женщин выявлены онкопатологии различной локализации у родственников 1-3 степени родства. Анализировались первичные документы – истории болезни и амбулаторные карты больных. Сведения о сопутствующих заболеваниях и отягощенности семейного анамнеза взяты со слов пациента или из выписки из истории болезни или справки о предыдущем лечении, при их наличии у больного. Донорская группа из 287 женщин соответствовала исследуемой группе больных по возрасту и не имела в анамнезе онкологических заболеваний.

Работа проведена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности, получено разрешение локального этического комитета НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН.

Генотипирование полиморфизмов *C-2578A* и *C+936T VEGFA* осуществляли методом рестрикционного анализа продуктов амплификации (ПДРФ-анализ), с использованием специфичных праймеров [4,16] и эндонуклеаз рестрикции *Bgl II* и *Fae I* (СибЭнзим, Новосибирск). Электрофорез проводили в 2% агарозном геле. Риск развития РМЖ у носителей различных генотипов *VEGFA* оценивали с помощью критерия отношения шансов (OR)

Статистическая обработка результатов включала тестирование распределения частот генотипов на соответствие равновесию Харди–Вайнберга, расчет частот генотипов регуляторных регионов генов. Об ассоциации генотипов с предрасположенностью к развитию патологии судили по величине отношения шансов (odds ratio, OR) и его 95% доверительного интервала (95% CI), достоверность различий между группами проводили методом точной оценки Фишера [5]

Результаты

Впервые охарактеризовано распределение частот генотипов *VEGFA* в популяции практически здоровых женщин сибирского региона. Частоты генотипов *C-2578A* и *C+936T VEGFA* в группе популяционного контроля соответствует распределению частот в европеоидных популяциях. Распределение частот генотипов *VEGFA* соответствует равновесию Харди–Вайнберга в обеих исследуемых группах. Сравнение частот *C-2578A* генотипов в группах женщин, больных РМЖ и практически здоровых женщин выявило статистически значимое повышение частоты генотипа *-2578AA* в группе больных РМЖ: 26,5% против

18,8% (OR = 1,55, p 0,025). Различий в распределении частот C+936T генотипов в оппозиционных группах установлено не было. Анализ распределения частот сложного генотипа C-2578A /C+936T выявил снижение частоты -2578CC /+936CC среди женщин больных РМЖ: 13,24% против 21,0% (OR = 0,57, p 0,014) (табл. 1).

Анализ особенностей распределения генотипов VEGFA у пациенток с различным менструальным статусом выявил определенные закономерности (табл. 2). Так, отношения шансов развития патологии достоверно выше у пациенток с сохраненным менструальным статусом и гетерозиготным генотипом VEGFA -2578 относительно пациенток с перименопаузой и постменопаузой и данным генотипом (OR = 1,76, p 0,011). Достоверных различий в распределении частот генотипов в позиции VEGFA +936 между группами не обнаружено. При анализе сложного генотипа C-2578A /C+936T показано, что частота -2578 AA/+936CT и -2578CC /+936CC генотипа снижена у пациенток с сохраненным менструальным статусом (OR = 0,14, p 0,003 и OR = 0,39, p 0,014 соответственно), а генотип -2578CC/+936TT, напротив, ни разу не встречается в оппозиционной группе (OR = 12,78, p 0,045). Следует, однако, отметить, что при таком высоком значении отношения шансов, генотип VEGFA -2578CC/+936TT в группе риска встречался только у 2,19% пациенток, что требует более детального анализа дан-

ной ассоциированности на большем количестве больных.

Учитывая, что в группе пациенток с сохраненным менструальным статусом наблюдается значительный разброс по возрасту, мы разбили группу пациенток с сохраненным менструальным статусом на подгруппы до 35 лет и после 35 лет (табл. 3). Возраст всех пациенток с перименопаузой и с постменопаузой превышал 35 лет. Распределение частот генотипов VEGFA в двух группах с сохраненным менструальным статусом не зависело от возраста. Имеется тенденция к увеличению частоты гетерозиготных генотипов -2578 AC (OR = 3,42, p 0,053) и -2578 AC /+936 CT (OR = 3,58, p 0,053) в группе с сохраненным менструальным статусом у женщин молодого возраста относительно женщин в перименопаузе. Причем, отношения шансов развития патологии достоверно выше у пациенток с гетерозиготным генотипом VEGFA -2578 с сохраненным менструальным статусом, чем у пациенток с перименопаузой и постменопаузой одной возрастной группы – после 35 лет (OR = 1,63 p 0,036) (табл. 3). Частота -2578 AA/+936CT и -2578 CC /+936 CC генотипов снижена у пациенток с сохраненным менструальным статусом (OR = 0,15, p 0,007 и OR = 0,044, p 0,038 соответственно).

Распределение частот генотипов VEGFA у пациенток с РМЖ с учетом статуса региональных лимфатических узлов показано в таблице 4. Риск лимфогенного метастазирования снижен у па-

ТАБЛИЦА 1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ ГЕНОТИПОВ VEGFA В ПОПУЛЯЦИИ ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН СИБИРСКОГО РЕГИОНА И ПАЦИЕНТОК С РМЖ

VEGFA	Пациентки с РМЖ %	Здоровые	95% CI	p
C-2578A	N = 389	N = 287		
AA	26,5	18,8	1,05 < 1,55 < 2,29	0,025
AC	51,9	53,7	0,68 < 0,93 < 1,28	0,71
CC	21,6	27,5	0,50 < 0,73 < 1,05	0,09
C+936T	N = 389	N = 241		
CC	69,4	73,0	0,58 < 0,84 < 1,22	0,378
CT	28,0	22,8	0,89 < 1,32 < 1,95	0,176
TT	2,6	4,2	0,23 < 0,61 < 1,61	0,387
C-2578A/ C+936T	N = 385	N = 238		
AA/CC	19,3	15,5	0,82 < 1,29 < 2,04	0,290
AA/CT	7,0	3,4	0,92 < 2,17 < 5,28	0,081
AA/TT	0,5	0,4	0,09 < 1,24 < 4,64	1,00
AC/CC	36,6	36,6	0,71 < 1,00 < 1,42	0,945
AC/CT	14,3	13,4	0,65 < 1,07 < 1,76	0,861
AC/TT	1,3	2,1	0,15 < 0,51 < 2,47	0,517
CC/CC	13,2	21,0	0,37 < 0,57 < 0,90	0,014
CC/CT	7,0	6,3	0,56 < 1,12 < 2,27	0,857
CC/TT	0,8	1,3	0,10 < 0,62 < 3,84	0,679

ТАБЛИЦА 2. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ ГЕНОТИПОВ *VEGFA* У ПАЦИЕНТОК С РМЖ С РАЗНЫМ МЕНСТРУАЛЬНЫМ СТАТУСОМ

VEGFA	Код статуса 1	Код статуса 2	95% CI	P
<i>C-2578A</i>	N = 140	N = 246		
AA	22,9	28,5	0,45 < 0,74 < 1,24	0,280
AC	60,7	46,7	1,13 < 1,76 < 2,74	0,011
CC	16,4	24,8	0,34 < 0,60 < 1,05	0,073
<i>C+936T</i>	N = 139	N = 248		
CC	72,7	67,8	0,78 < 1,27 < 1,05	0,371
CT	24,4	29,8	0,46 < 0,76 < 1,25	0,310
TT	2,9	2,4	0,28 < 1,20 < 4,88	0,750
<i>C-2578A/ C+936T</i>	N = 137	N = 245		
AA/CC	21,9	18,0	0,74 < 1,28 < 2,22	0,424
AA/CT	1,5	9,8	0,02 < 0,14 < 0,61	0,003
AA/TT	0	0,8	0,00 < 0,00 < 7,30	0,538
AC/CC	43,1	33,1	0,97 < 1,53 < 2,41	0,066
AC/CT	17,5	12,2	0,84 < 1,50 < 2,78	0,227
AC/TT	0,7	1,6	0,02 < 0,44 < 4,24	0,658
CC/CC	7,3	16,7	0,18 < 0,39 < 0,85	0,014
CC/CT	5,8	7,8	0,29 < 0,74 < 1,84	0,622
CC/TT	2,2	0	5,34 < 12,78 < 22,28	0,045

Примечание. Код статуса 1 – менструальный статус сохранен, код статуса 2 – перименопауза (до 5 лет) + постменопауза (более 5 лет).

пациенток с *-2578 AC/+936CT* гетерозиготным генотипом (OR = 0,47, p 0,024) вне зависимости от менструального статуса и у пациенток в перименопаузе относительно пациенток с лимфогенным метастазированием с сохраненным менструальным статусом (OR = 0,32, p 0,015) (табл. 5). Частота гетерозиготного варианта *-2578 AC* снижена (OR = 0,44, p 0,012) а частота *-2578 AA/+936CT*, напротив, увеличена до 6,48% в группе пациенток в перименопаузе с лимфогенным метастазированием относительно женщин с сохраненным менструальным статусом и отсутствием метастазов, где данный генотип не встретился ни разу.

Обсуждение

Ассоциации полиморфизма *VEGF* гена с риском развития патологии уделяется большое внимание в связи с тем, что *VEGF* – один из наиболее мощных ангиогенных факторов развития опухолевых тканей. В ряде исследований оценивалась ассоциированность *VEGF* полиморфизма с риском развития и характером протекания рака молочной железы [25]. Причем, одни из них выявляют различия между пациентками и здоровыми [15], в других исследованиях представлены ассоциации с наличием гормонального статуса больных РМЖ женщин, в третьих особенности полиморфизма связывают с наличием или отсутствием метастазирования [17]. Однако в ряде

исследований представлены результаты, опровергающие какую либо связь полиморфизма гена *VEGFA* с заболеванием, либо индивидуальными особенностями течения болезни [8]. Различия в представленных исследователями результатах, вероятно, связаны не только с неоднородностью исследуемых групп, но и с определенными популяционными различиями. В результате проведенного нами исследования полиморфизма двух позиций 5' *C-2578A* и 3' *C+936T* некодируемых регионов *VEGFA* гена установлено увеличение риска развития РМЖ у носителей генотипа *-2578AA* с низкой транскрипционной активностью и не обнаружено ассоциации полиморфизма *C+936T* с развитием РМЖ относительно здоровых. Анализ сложного генотипа *C-2578A/C+936T* выявил достоверно выраженное снижение частоты высокоэкспрессирующего генотипа *-2578CC/+936CC* в группе женщин больных РМЖ. Таким образом, носительство высокоэкспрессирующих генотипов *VEGFA* в нашей группе не связано с повышенным риском развития РМЖ, однако может быть ассоциировано с определенными особенностями внутри группы пациенток, например с возрастом или менструальным статусом, либо факторами течения опухолевого процесса и, в частности, процесса метастазирования.

В нашей группе повышенный риск развития патологии выявлен у женщин с сохраненным менструальным статусом и гетерозиготным ге-

ТАБЛИЦА 3. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ ГЕНОТИПОВ VEGFA У ПАЦИЕНТОК С РМЖ С РАЗНЫМ МЕНСТРУАЛЬНЫМ СТАТУСОМ С УЧЕТОМ ВОЗРАСТА

VEGFA	Код 1	Код 2	Код 3	95% CI 1/2	95% CI 1/3	95% 2/3
C-2578A	N = 16	N = 124	N = 246			
AA	2	24,2	28,5	0,07 < 0,45 < 2,25	0,05 < 0,36 < 1,72	0,47 < 0,80 < 1,35
AC	12	58,9	46,7	0,58 < 2,10 < 8,22	0,99 < 3,42 < 12,95	1,03 < 1,63 < 2,58
CC	2	16,9	24,8	0,10 < 0,70 < 3,62	0,07 < 0,43 < 2,08	0,34 < 0,62 < 1,11
C+936T	N = 15	N = 124	N = 248			
CC	60	74,2	67,8	0,15 < 0,52 < 1,81	0,22 < 0,71 < 2,35	0,82 < 1,37 < 2,28
CT	33,3	23,4	29,8	0,44 < 1,64 < 5,80	0,34 < 1,18 < 3,91	0,42 < 0,72 < 1,21
TT	6,7	2,4	2,4	0,31 < 2,88 < 24,84	0,35 < 2,88 < 21,45	0,19 < 1,00 < 4,59
C-2578A/ C+936T	N = 15	N = 122	N = 245			
AA/CC	13,3	23,0	18,0	0,08 < 0,52 < 2,64	0,11 < 0,70 < 3,45	0,77 < 1,36 < 2,40
AA/CT	0	1,6	9,8	0,00 < 0,00 < 35,96	NS	0,02 < 0,15 < 0,69
AA/TT	0	0	0,8	NS	NS	NS
AC/CC	46,7	42,6	33,1	0,36 < 1,18 < 3,87	0,55 < 1,77 < 5,61	0,94 < 1,50 < 2,41
AC/CT	33,3	15,6	12,2	0,71 < 2,71 < 10,01	0,99 < 3,58 < 12,49	0,68 < 1,32 < 2,56
AC/TT	0	0,8	1,6	NS	NS	0,02 < 0,50 < 4,78
CC/CC	0	8,2	16,7	NS	NS	0,20 < 0,44 < 0,96
CC/CT	0	6,6	7,8	NS	NS	0,32 < 0,83 < 2,09
CC/TT	6,7	1,6	0	0,00 < 4,29 < 67,03	NS	NS

Примечание. Код 1 – менструальный статус сохранен, возраст до 35 лет; код 2 – менструальный статус сохранен, возраст после 35 лет; код 3 – перименопауза (до 5 лет) + постменопауза (более 5 лет), возраст после 35 лет. Данные указаны в процентах.

ТАБЛИЦА 4. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ ГЕНОТИПОВ VEGFA У ПАЦИЕНТОК С РМЖ С УЧЕТОМ ЛИМФАГЕННОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ

VEGFA	Пациентки с наличием пораженных лимфоузлов (%)	Пациентки с отсутствием пораженных лимфоузлов (%)	95%CI
C-2578A	N = 167	N = 209	
AA	28,2	23,9	0,76 < 1,25 < 2,03
AC	49,1	54,6	0,52 < 0,80 < 1,23
CC	22,7	21,5	0,64 < 1,07 < 1,80
C+936T	N = 167	N = 209	
CC	74,2	65,1	0,97 < 1,55 < 2,49
CT	23,4	32,1	0,40 < 0,65 < 1,05
TT	2,4	2,8	0,19 < 0,83 < 3,39
C-2578A/ C+936T	N = 166	N = 206	
AA/CC	22,3	16,0	0,86 < 1,50 < 2,62
AA/CT	5,4	7,8	0,27 < 0,68 < 1,69
AA/TT	0,6	0,5	0,01 < 1,24 < 45,77
AC/CC	38,6	34,9	0,75 < 1,17 < 1,82
AC/CT	9,6	18,5	0,24 < 0,47 < 0,92
AC/TT	1,2	1,5	0,10 < 0,83 < 6,14
CC/CC	13,3	13,6	0,51 < 0,97 < 1,84
CC/CT	8,4	6,3	0,59 < 1,37 < 3,20
CC/TT	0,6	0,9	0,02 < 0,62 < 8,76

нотипом VEGFA -2578 AC. Снижен риск развития опухоли у женщин с сохраненным менструальным статусом и генотипами -2578AA /+936CT и -2578CC /+936CC относительно группы женщин с этими генотипами, но в стадии пере- или постменопаузы. Данные закономерности сохраняются и при сравнении групп с разным менструальным статусом, но одной возрастной группы – после 35 лет, что позволяет сделать предположение об ассоциированности данных генотипов имен-

но с менструальным статусом, а не возрастом пациенток. Для подтверждения этой гипотезы необходимо в дальнейшем провести аналогичное исследование в группах здоровых женщин с различным менструальным статусом. Наличие в этих комбинациях аллельных вариантов как с высокой, так и с низкой экспрессирующей активностью гена не позволяет однозначно связать развитие заболевания с уровнем экспрессии гена. Однако, при исследовании одной из анализи-

ТАБЛИЦА 5. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ ГЕНОТИПОВ VEGFA У ПАЦИЕНТОК С РМЖ С ЛИМФАГЕННЫМ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ С РАЗНЫМ МЕНСТРУАЛЬНЫМ СТАТУСОМ

VEGFA	Сохраненный менструальный статус		Пере-постменопауза		95% CI		95% CI		95% CI		95% CI	
	Наличие метастазов (%)	Отсутствие метастазов (%)	Наличие метастазов (%)	Отсутствие метастазов (%)	Колонка1/Колонка2	Колонка3/Колонка4	Колонка1/Колонка4	Колонка3/Колонка4	Колонка1/Колонка4	Колонка3/Колонка4	Колонка1/Колонка2	Колонка3/Колонка4
	1	2	3	4								
C-2578A	N = 60	N = 74	N = 108	N = 133								
AA	26,7	17,6	28,7	27,8	0,69 < 0,71 < 4,23	0,57 < 1,04 < 1,91	0,45 < 0,94 < 1,97	0,86 < 1,89 < 4,19				
AC	55,0	66,2	46,3	47,4	0,29 < 0,62 < 1,33	0,56 < 0,96 < 1,65	0,70 < 1,36 < 2,62	0,23 < 0,44 < 0,85				
CC	18,3	16,2	25,0	24,8	0,43 < 1,16 < 3,11	0,54 < 1,01 < 1,89	0,29 < 0,68 < 1,54	0,76 < 1,72 < 3,94				
C+936T	N = 60	N = 73	N = 108	N = 134								
CC	75	68,5	73,1	64,2	0,60 < 1,38 < 3,18	0,84 < 1,52 < 2,75	0,81 < 1,67 < 3,51	0,62 < 1,25 < 2,53				
CT	23,3	27,4	24,1	33,6	0,34 < 0,81 < 1,90	0,34 < 0,63 < 1,15	0,28 < 0,60 < 1,27	0,40 < 0,84 < 1,75				
TT	1,7	4,1	2,8	2,2	0,02 < 0,40 < 4,44	0,19 < 1,24 < 7,87	0,01 < 0,74 < 9,45	0,09 < 0,67 < 5,13				
C-2578A/ C+936T	N = 59	N = 72	N = 108	N = 132								
AA/CC	23,7	18,1	21,3	15,2	0,56 < 1,40 < 3,58	0,74 < 1,52 < 3,09	0,60 < 1,35 < 3,05	0,54 < 1,23 < 2,80				
AA/CT	3,4	0	6,5	12,1	NS	0,18 < 0,50 < 1,36	0,03 < 0,25 < 1,15	< 10,71 <				
AA/TT	0	0	0,9	0,7	NS	NS	NS	NS				
AC/CC	42,3	43,1	36,1	31,1	0,46 < 0,97 < 2,07	0,71 < 1,25 < 2,23	0,82 < 1,63 < 3,23	0,39 < 0,75 < 1,44				
AC/CT	13,6	22,2	8,3	15,2	0,20 < 0,55 < 1,51	0,20 < 0,51 < 1,25	0,33 < 0,88 < 2,28	0,12 < 0,32 < 0,83				
AC/TT	0	1,4	1,9	1,5	NS	0,12 < 1,23 < 12,41	NS	0,07 < 1,34 < 80,14				
CC/CC	8,5	6,9	15,7	17,4	0,29 < 1,24 < 5,28	0,42 < 0,89 < 1,85	0,12 < 0,44 < 1,27	0,83 < 2,50 < 9,08				
CC/CT	6,8	5,5	9,3	6,8	0,25 < 1,24 < 6,23	0,50 < 1,39 < 3,91	0,21 < 0,99 < 3,75	0,47 < 1,73 < 7,87				
CC/TT	1,7	2,8	0	0	0,02 < 0,60 < 8,79	NS	NS	NS				

руемых нами полиморфной позиции (C+936T) ранее были представлены аналогичные результаты, а именно – снижение риска развития РМЖ у женщин в перименопаузе с +936TT генотипом относительно женщин общей группы или женщин в постменопаузе [17]. Исследователи связывают это с более низким уровнем VEGF в плазме крови [22]. В нашем исследовании эти группы были объединены. Кроме того, с пониженным риском развития РМЖ связывают +936CT полиморфизм [17], что подтверждается нашими результатами, но в составе сложного -2578/+936 генотипа.

До конца не ясен механизм влияния полиморфизма в данной позиции на уровень экспрессии гена. Рассматриваются несколько возможных вариантов: (а) транскрипционная теория – замена C- на -T может изменять потенциальный сайт связывания транскрипционного фактора либо приводит к потере специфичной последовательности для фактора транскрипции [12]; (б) посттранскрипционная теория – замена C- на -T может приводить к изменению структуры mRNA [20]; (в) C+936T полиморфизм может находиться в неравновесном сцеплении с каким-либо полиморфизмом в другой позиции гена [23].

С другой стороны, есть данные, что нет какой-либо ассоциированности РМЖ и полиморфизма нескольких полиморфных позиций VEGF, включая C+936T вариант. Однако в это исследование были включены во-первых, пациентки как с семейными формами РМЖ, так и с индивидуально заболевшие, во-вторых, группы были смешанные и сформированы из пациенток Польши, Германии, Швеции, что может иметь определенные популяционные особенности [15].

При анализе позиции VEGF-2578 в нашем исследовании, у пациенток с РМЖ без учета их менструального статуса возрастает частота низкоэкспрессирующего генотипа VEGF-2578 AA относительно здоровых.

Ранее была показана ассоциированность этой полиморфной позиции с позицией -634 GG гена VEGF и корреляция -634GG и -2578AA генотипов с менее агрессивным течением опухолевого процесса. Возможно, это объясняется тем, что -634GG и -2578AA генотипы свя-

зывают с более низкой экспрессией гена *VEGF* и, соответственно с низкими сывороточными уровнями *VEGF* [21]. Кроме того, показано, что выживаемость пациенток с *VEGF-2578 AA* генотипом выше, чем с противоположным генотипом [19].

При анализе этой полиморфной позиции между группами больных женщин с сохраненным менструальным статусом относительно больных в стадии пере- и постменопаузы мы наблюдаем увеличение гетерозиготного генотипа в этой позиции, что сохраняется и с учетом возраста пациенток. Для женщин в постменопаузе Американской Ассоциации Рака было показано достоверное повышение частоты *VEGF-2578 CC* генотипа при исследовании 380 случаев инвазивного рака молочной железы [14]. Стоит отметить, что при популярном в современных исследованиях метаанализе при объединении групп пациенток с РМЖ необходимо учитывать такой фактор, как менструальный статус больных женщин.

Показано, что опухолевая ткань экспрессирует *VEGF*, стимулирующий экспрессию *VEGFRs*, на поверхности моноцитов (предшественники остеокластов) при метастазировании в костную ткань, что подтверждает участие *VEGF* в процессе метастазирования [2].

Анализ распределения частот генотипов у пациенток с наличием лимфогенного метастазирования и без него выявил снижение частоты сложного гетерозиготного варианта гена *VEGF-2578AC/+936CT* у пациенток с наличием метастазов до 9,64% относительно пациенток без метастазирования, где этот генотип встречался с частотой 18,45%. Протективный эффект данного генотипа сохраняется и у пациенток с метастазированием в пере- и постменопаузе относительно пациенток без метастазирования с сохраненным менструальным статусом. Peter Krippel показал, что *+936T* аллельный вариант гена является протективным в отношении метастазирования. Пациентки с гистологической градацией опухоли 1-2 и с *+936CT+TT* генотипом имели достоверно низкий риск метастазирования ($p = 0,007$) при десятилетнем наблюдении, чем пациентки с *+936CC* генотипом. Вероятно, что протективный эффект *VEGF +936T* варианта гена может объясняться слабым ангиогенезом, обусловленным низкой экспрессией *VEGF*. Причем подобный протективный эффект не наблюдался у пациенток с 3-4 гистологической градацией опухоли, что можно связать с изменением сигнальных путей опухолевой ткани в зависимости от ее дифференциации [18].

Полученные нами результаты являются pilotными в популяции Западной Сибири и предполагают дальнейшее исследование с учетом

клинических особенностей развития неопластического процесса в данной группе. Учитывая полученные ранее результаты и результаты наших исследований, более вероятно, что полиморфизм *VEGFA* ассоциирован с агрессивностью протекания опухолевых процессов, чем с предрасположенностью к РМЖ. Однако, выявленные в ряде исследований закономерности ответа на терапию, ассоциированные с определенными генотипами *VEGF* гена [19], ассоциированные, в том числе, и с разной промоторной активностью, свидетельствуют об актуальности дальнейших исследований с целью выявления информативных маркеров, ассоциированных с характером течения заболевания и чувствительностью к химиотерапии рака молочной железы при многофакторном расчете прогноза развития заболевания.

Список литературы

1. Abe A., Sato K., Habuchi T., Wang L., Li Z., Tsuchiya N., Ohyama C., Satoh S., Ogawa O., Kato T. Single nucleotide polymorphisms in the 3' untranslated region of vascular endothelial growth factor gene in Japanese population with or without renal cell carcinoma // *Tohoku J. Exp Med.* – 2002. – Vol. 198. – P. 181-190.
2. Aldridge S.E., Lennard T.W.J., Williams J.R., Birch M.A. Vascular endothelial growth factor acts as an osteolytic factor in breast cancer metastases to bone // *British Journal of Cancer.* – 2005. – Vol. 92. – P. 1531-1537.
3. Awata T., Inoue K., Kurihara S., Tomoko O., Masaki W., Kouichi I., Ikuo I., Shigehiro K. A common polymorphism in the 5'-untranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes // *Diabetes.* – 2002. – Vol. 51. – P. 1635-1639.
4. Banyasz I., Szab S., Bokodi G., Vannay V., Vsrhelyi B., Szab A., Tulassay T., Rig J. Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in severe pre-eclampsia // *Molecular Human Reproduction.* – 2006. – Vol. 12 (4). – P. 233-236.
5. Bland J.M., Altman D.G. Education and debate. The odds ratio // *BMJ.* – 2000. – Vol. 320. – P. 1468.
6. Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases // *Nature.* – 2000. – Vol. 407. – P. 249-257.
7. Carron S.L., Edwards S., Evans P.R., Gibbs R., Dearnaley D.P., Dowe A., Southgate C., Easton D.F., Eeles R.A., Howell W.M. Influence of cytokine gene polymorphisms on the development of prostate cancer // *Cancer Res.* – 2002. – Vol. 62. – P. 3369-3372.
8. Clar H., Krippel P., Renner W., Langsenlehner T., Clar V., Windhager R.,

Langsenlehn U. Association of polymorphisms of angiogenesis genes with breast cancer // *Breast Cancer Rec Treat.* – 2009. – Vol. 113. – P. 197-198.

9. Ferrara N., Gerber H.P. The role of vascular endothelial growth factor in angiogenesis // *Acta Haematol.* – 2001. – Vol. 106. – P. 148-156.

10. Ferrara N., Gerber H.P., Le Couter J.. The biology of VEGF and its receptors // *Nat Med.* – 2003. – Vol. 9. – P. 669-676.

11. Foekens J.A., Peters H.A., Grebenchtchikov N., Look M.P., Meijer-van Gelder M.E., Geurts-Moespot A., van der Kwast T.H., Sweep C.G.J., Klijn J.G.M. High tumor levels of vascular endothelial growth factor predict poor response to systemic therapy in advanced breast cancer // *Cancer Res.* – 2001. – Vol. 61. – P. 5407-5414.

12. Hadaschik D., Hinterkeuser K., Oldak M., Pfister H.J., Smola-Hess S. The Papillomavirus E2 protein binds to and synergizes with C/EBP factors involved in keratinocyte differentiation // *J. Virol.* – 2003. – Vol. 77. – P. 5253-5265.

13. Howell W.M., Bateman A.C., Turner S.J., Collins A., Theaker J.M. Influence of vascular endothelial growth factor single nucleotide polymorphisms on tumour development in cutaneous malignant melanoma // *Genes Immun.* – 2002. – Vol. 3. – P. 229-232.

14. Jacobs E. J., Feigelson H. S., Bain E.B., Brady K.A., Rodriguez C., Stevens V.L., Patel A.V., Thun M.J., Calle E.E. Polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene and breast cancer in the Cancer Prevention Study II cohort // *Breast Cancer Research.* – 2006. – Vol. 8(22). – <http://breast-cancer-research.com/content/8/2/R22>

15. Jin Q., Hemminki K., Enquist K., Lenner P., Grzybowska E., Klaes R., Henriksson R., Chen B., Pamula J., Pekala W., Zientek H., Rogozinska-Szczepka J., Utracka-Hutka B., Hallmans G., Frsti A. Vascular endothelial growth factor polymorphisms in relation to breast cancer development and prognosis // *Clin Cancer Res.* – 2005. – Vol. 11. – P. 3647-3653.

16. Kim J.K., Oh D., Kwak S.Y., Han J.H., Chung Y.S., Kim N.K. Genetic Polymorphism of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF C936T) in the Korean Population // *Korean J. Biol Sci.* – 2003. – Vol. 7. – P. 261-264.

17. Krippel P., Langsenlehner U., Renner W., Yazdani-Biuki B., Wolf G., Wascher T.C., Paulweber B., Haas J., Samonigg H. A common 936 C/T gene polymorphism of vascular endothelial growth factor is associated with decreased breast cancer risk // *Int J. Cancer.* – 2003. – Vol. 106. – P. 468-471.

18. Krippel P., Langsenlehner U., Samonigg H., Renner W., Koppel H. Vascular Endothelial Growth Factor in Predicting Outcome in Breast Cancer // *Clin Cancer Res.* – 2004. – Vol. 10. – P. 8752-8753.

19. Lynn K.D., Roland C.L., Brekken R.A. VEGF and Pleiotrophin Modulate the Immune Profile of Breast Cancer // *Cancers.* – 2010. – Vol. 2. – P. 970-988.

20. Mazumder B., Seshadri V., Fox P.L. Translational control by the 3'-UTR: the ends specify the means // *Trends Biochem Sci.* – 2003. – Vol. 28. – P. 91-98.

21. Mohammadi M., Ollier W.E., Hutchinson I.V. A functional association study of VEGF gene promoter polymorphisms with VEGF expression by stimulated pbm cell // *Hum Immunol.* – 2003. – Vol. 64. – P. 125.

22. Nobuhiko K., Qiuyin C., Wanqing W., Xiao-Ou S., Fan J., Yu-Tang G., Wei Z. Population-Based Case-Control Study of VEGF Gene Polymorphisms and Breast Cancer Risk among Chinese Women // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2006. – Vol. 15. – P. 1148-1152.

23. Renner W., Kotschan S., Hoffmann C., Obermayer-Pietsch B., Pilger E. A common 936 C/T mutation in the gene for vascular endothelial growth factor is associated with vascular endothelial growth factor plasma level // *J. Vasc Res.* – 2000. – Vol. 37. – P. 443-448.

24. Shahbazi M., Fryer A.A., Pravica V., Brogan I.J., Ramsay H.M., Hutchinson I.V., Harden P.N. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms are associated with acute renal allograft rejection // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2002. – Vol. 13. – P. 260-264.

25. Smith K.C., Bateman A.C., Fussell H.M., Howell W.M. Cytokine gene polymorphisms and breast cancer susceptibility and prognosis // *Eur. J. Immunogenet.* – 2004. – Vol. 31. – P. 167-173.

26. Vincenti V., Cassano C., Rocchi M., Persico G. Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3 // *Circulation.* – 1996. – Vol. 93. – P. 1493-1495.

27. Watson C.J., Webb N.J., Bottomley M.J., Brenchley P.E. Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene: correlation with variation in VEGF protein production // *Cytokine.* – 2000. – Vol. 12. – P. 1232-1235.

поступила в редакцию 15.06.2011

отправлена на доработку 26.06.2011

принята к печати 15.08.2011