

# Генетический полиморфизм ферментов метаболизма эстрогенов у больных с миомой матки

А. В. Прудников<sup>1</sup>, Е. В. Почос<sup>2</sup>, О. Н. Михайлова<sup>1, 3</sup>, Л. Ф. Гуляева<sup>1, 3</sup>, В. В. Ляхович<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Новосибирский государственный университет,

<sup>2</sup> Клиника Научного центра клинической и экспериментальной медицины СО РАМН,

<sup>3</sup> НИИ Молекулярной биологии и биофизики СО РАМН, Новосибирск

Исследован генетический полиморфизм ферментов метаболизма эстрогенов: цитохромов P450 (CYP)1A1 и 1A2, CYP19 (Ароматаза), сульфотрансфераза (SULT)1A1 у 170-ти женщин с миомой матки и у 170-ти здоровых женщин. Достоверных различий в частоте встречаемости мутантных аллелей генов CYP1A1 (MspI полиморфизм) и CYP19 (C264→T) у больных и здоровых женщин выявлено не было. Частота мутантного аллеля гена CYP1A2 (A734→C) была выше (21,8 %, OR=0,71, P=0,097) у больных женщин по сравнению с группой контроля (16,5 %). Частота гетерозиготного генотипа CYP1A2\*1A/1F (38,8 %, OR=1,29, P=0,37) была также выше по сравнению со здоровыми женщинами (32,9 %). Выявлено достоверное снижение частоты встречаемости мутантного аллеля гена SULT1A1 (G638→A) у женщин с миомой (34,7 %, OR=0,60, P=0,001) по сравнению с группой контроля (47,1 %). Кроме того, наблюдается снижение частоты встречаемости гомозигот мутантного типа у больных: 9,4 (OR=0,25, P=0,000006) по сравнению с группой контроля (29,4 %). Также наблюдается снижение частоты встречаемости гетерозиготного генотипа SULT1A1\*1/2 в группе с доброкачественными новообразованиями (50,6 %, OR=1,88, P=0,006) по сравнению с группой контроля (35,3 %). Полученные результаты свидетельствуют о возможном вовлечении ферментов SULT1A1 и CYP1A2 в патогенез миомы матки. Тогда в группу риска этого заболевания попадают женщины, имеющие сочетание дикого SULT1A1 и мутантного CYP1A2 генотипов.

**Ключевые слова:** миома матки, ферменты метаболизма эстрогенов, генетический полиморфизм.

Миома матки — доброкачественная, гормонозависимая опухоль, развивающаяся из мышечной ткани. Это заболевание встречается у 15—27 % женщин старше 30 лет. Однако, в последнее время миома матки нередко встречается в возрасте 20—25 лет, а при профилактических осмотрах эту опухоль впервые выявляют лишь у 1—2,5 % женщин этого возраста. Кроме того, миома может возникать снова у 7—28 % больных, а иногда перерождаться в злокачественную опухоль.

Риск этого заболевания существенно возрастает после 35—40 лет [1]. Среди факторов риска возникновения миомы матки выделяют наследственную предрасположенность, многочисленные травмы матки (аборты, воспалительные заболевания и т. п.), нарушения баланса поло-

вых гормонов (миомы часто сочетаются с другими дисгормональными заболеваниями — дисфункцией яичников, гиперплазией эндометрия, эндометриозом, мастопатией) [2].

Сведения о взаимосвязи между особенностями метаболизма эстрогенов и риском возникновения гормонозависимых опухолей, в частности миомы матки, можно на сегодняшний день считать твердо установленными. Предполагается, что подобный эффект эстрогенов связан с их стимулирующим действием на процессы клеточной пролиферации в органах-мишенях. Метаболизм эстрогенов осуществляется двумя основными ферментативными системами:

1. Система синтеза гормонов. Эстрогены образуются путём конверсии андрогенов в результате сложной цепи биохимических преобразований. Ключевую

роль в конечной цепи превращений играет фермент Ароматаза (цитохром P450 19-го семейства, CYP19);

2. Система окисления эстрогенов, осуществляемая цитохромом P450. В последние годы в этом процессе доказана роль таких форм цитохрома P450, как CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, которые окисляют эстрогены с образованием субстратов для 2-й фазы метаболизма, либо с образованием генотоксичных хинонов. Дальнейшая деградация метаболитов гормонов осуществляется с помощью сульфотрансферазы (SULT). Любое нарушение в одной из этих систем вызывает изменение в содержании эстрогенов, что может быть одной из причин возникновения опухоли.

В последнее время расширяются исследования, связанные с поиском и характеристикой полиморфных вариантов ДНК в кодирующих и некодирующих районах генов, в той или иной степени вовлечённых в развитие новообразований. Эти исследования показывают, что полиморфизм ДНК даже вне кодирующей области, может быть связан с ослаблением или усилением функции гена. Определение таких вариантов ДНК в группах риска позволяет своевременно выявить начало заболевания или проводить профилактическую терапию. Именно поэтому полиморфные варианты генов, кодирующих ферменты метаболизма эстрогенов, могут увеличивать риск новообразований репродуктивной сферы. К таким кандидатам можно отнести гены цитохрома P450: CYP1A1, CYP1A2, CYP19 и SULT1A1.

Найден CYP1A1\*1A/2A (MspI) полиморфизм гена CYP1A1 в 3'-фланкирующем районе. Он представляет собой однонуклеотидную замену (SNP) T6235C. В результате этого активность фермента увеличивается в несколько раз [3]. Установлен CYP1A2\*1A/1F полиморфизм гена CYP1A2, представляющий собой SNP A→C в 734 положении от старта транскрипции. Эта мутация при-

водит к значительному снижению активности соответствующего белка. Показана взаимосвязь MspI полиморфизма гена CYP1A1 с риском возникновения рака молочной железы [4]. Выявлены межпопуляционные различия как по частоте встречаемости полиморфных вариантов данных генов, так и по их взаимосвязи с риском возникновения различных типов опухолей [5, 6]. Показано снижение индуцибельности CYP1A2 в случае наличия CYP1A2\*1F аллеля [5]. На сегодняшний день найдено 11 полиморфных вариантов гена CYP19. Выявлена мутация C→T в 264-м кодоне (Arg264Cys полиморфизм), приводящая к замене аминокислоты Arg на Cys в соответствующем белке, что, однако, не приводит к изменению его активности [7]. Тем не менее, показана ассоциация этого полиморфизма с риском возникновения рака предстательной железы [7]. Для сульфотрансферазы SULT1A1 показана нуклеотидная замена G638→A, приводящая к замене Arg213 на His (SULT1A1\*1/2 полиморфизм). Такая мутация приводит к значительному снижению активности (до 85 %) фермента у лиц, гомозиготных по мутантному His аллелю [8]. Данный генотип является фактором риска возникновения рака молочной железы [9], в особенности у курящих женщин, употребляющих алкоголь или имеющих нарушения эндокринного обмена.

Установление взаимосвязи между определённым генотипом и формой заболевания поможет в выявлении генетической предрасположенности, что является важным фактором для формирования групп риска. В связи с этим, **целью работы** является выявление мутантных аллелей генов CYP1A1, CYP1A2, CYP19 и SULT1A1 у больных женщин с миомой матки.

## Материалы и методы

Суспензия клеток буккального эпителия женщин с доброкачественными новообразованиями репродуктивной сис-

темы, а также здоровых женщин, предоставлена специалистами Областного онкологического диспансера г. Новосибирска. Забор материала проводился с письменного согласия больных и протоколировался по стандартам этического комитета РФ. Группа исследования составила 170 женщин в возрасте 45—65 лет с диагнозом миома матки. Группу контроля составили 170 женщин без гинекологической патологии.

Генотипирование материала проводили методом ПДРФ-анализа (полиморфизм длины рестрикционных фрагментов) продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР) специфических участков генома. Используются следующие ферменты рестрикции:

1. Для CYP1A1: эндонуклеаза рестрикции MspI;
2. Для CYP1A2: эндонуклеаза рестрикции ApaI;
3. Для CYP19: эндонуклеаза рестрикции SfaNI;
4. Для SULT1A1 эндонуклеаза рестрикции HhaI.

*Выделение геномной ДНК.* Геномная ДНК выделялась методом высоко-солевого осаждения белков (Salting-out protein method) из буккального эпителия больных и здоровых женщин. Клетки были ресуспендированы в 125 мкл буфера (0,1 М Трис-НСl, 0,01 М NaCl, 0,1 М EDTA, pH 8,0) с добавлением 125 мкл лизирующего буфера (0,1 М Трис-НСl, 0,01 М NaCl, 0,1 М EDTA, 1 % SDS, pH 8,0). К суспензии добавлялся раствор протеиназы К («Лаборатория Медиген», Россия) до конечной концентрации 150 мкг/мл. Реакционная смесь инкубировалась при 55°C в течение 2-х часов. После этого к смеси добавлялся раствор NaCl до конечной концентрации 1,5 М, смесь охлаждалась на льду и центрифугировалась в течение 15 мин при 13200 об/мин. ДНК из супернатанта осаждалась изопропиловым спиртом. Смесь инкубировалась при минус 20°C в течение одного часа, затем вновь цен-

трифугировалась в течение 15 мин при 12000 об/мин. Осадок промывался дважды 80 % этиловым спиртом. Для проведения ПЦР осадок ресуспендировался в 75 мкл буфера TE (10 мМ Трис-НСl, 1 мМ EDTA, pH 8,0).

*Аmplификация фрагментов геномной ДНК.* Амплификацию специфических участков исследуемых генов проводили методом ПЦР с использованием амплификатора «Терцик» («ДНК Технологии», Россия). Для этого использовались олигонуклеотидные праймеры, синтезированные в «Лаборатории Медиген» (Россия). Структуры праймеров:

CYP1A1 прямой 5'-TAGGAGTCTTGTCTCATGCC-3',  
обратный 5'-GCACTTAAGCAGTCTGTTTGGAG-3';  
CYP1A2 прямой 5'-TGAGGCTCCTTCCAGCTCTCA-3',  
обратный 5'-GAAGCTCTGTGGCCGAGAAGG-3';  
CYP19 прямой 5'-CGCTAGATGTCTAAACTGAG-3',  
обратный 5'-CATATGTGGCATGGGAATTA-3';  
SULT1A1 прямой 5'-GGGTCTCTAGGAGAGGTGGC-3',  
обратный 5'-GCTGTGGTCCATGAACTCCT -3'.  
ПЦР проводилась в буфере, содержащем 10 мМ Трис-НСl, 1,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 50 мМ KCl, pH 8,3. Объем реакционной смеси составлял 20 мкл с содержанием ~100 нг геномной ДНК, 2 мкл 10x ПЦР-буфера, 20 пмоль каждого праймера, 0,2 ммоль каждого дезоксирибонуклеозидтрифосфата и 2 ед. акт. Taq-ДНК-полимеразы («Лаборатория Медиген», Россия). ПЦР проводилась при следующих условиях: начальная денатурация 3 мин при 95°C, далее 35 циклов: денатурация 3 мин при 95,0°C, отжиг праймеров 15 сек при 55,0°C, элонгация 15 сек при 72,0°C.

*Гидролиз ДНК эндонуклеазами рестрикции.* Гидролиз продуктов ПЦР эндонуклеазами рестрикции проводили при следующих условиях: для MspI использовался буфер, содержащий 10 мМ Трис-НСl, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1 мМ DTT, pH 7,6 (при 25°C); для ApaI-буфер, содержащий 33 мМ Tris-acetate, 10 мМ Mg(Ас)<sub>2</sub>, 66 мМ KAc, 10 мг/мл BSA, 1 мМ DTT, pH 7,9 (при 25°C); для SfaNI-буфер, содержащий 50 мМ Трис-НСl, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 100 мМ NaCl, 1 мМ DTT, pH 7,6 (при

25°C); для HspAI-буфер, содержащий 33 мМ Tris-acetate, 10 мМ Mg(Ас)<sub>2</sub>, 66 мМ КАс, 1 мМ DTT, рН 7,9 (при 25°C).

Объём реакционной смеси составлял 17 мкл с добавлением ~1 мкг ПЦР-продукта и 1,5 ед. акт. соответствующей эндонуклеазы рестрикции. Смесь инкубировали в течение 3—5 часов при 37°C в зависимости от активности ферментов.

*Анализ продуктов рестрикции.* Анализ продуктов рестрикции проводили методом вертикального гель-электрофореза в 8 % полиакриламидном геле в буфере TBE (0,05 М Tris-HCl, 0,02 М EDTA, рН 8,0). Гель-сканирование проводили в УФ свете с помощью видеосистемы «DNA Analyzer» (Россия).

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы Epi-Info 6. В качестве критерия, определяющего, является ли исследуемый признак фактором риска заболевания, использовано отношение шансов (odds ratio, OR):

$$OR = \frac{A/B}{C/D}$$

где А и В — процент носителей мутантного аллеля и дикого аллеля в опытной группе соответственно, С и D — процент носителей мутантного аллеля и дикого

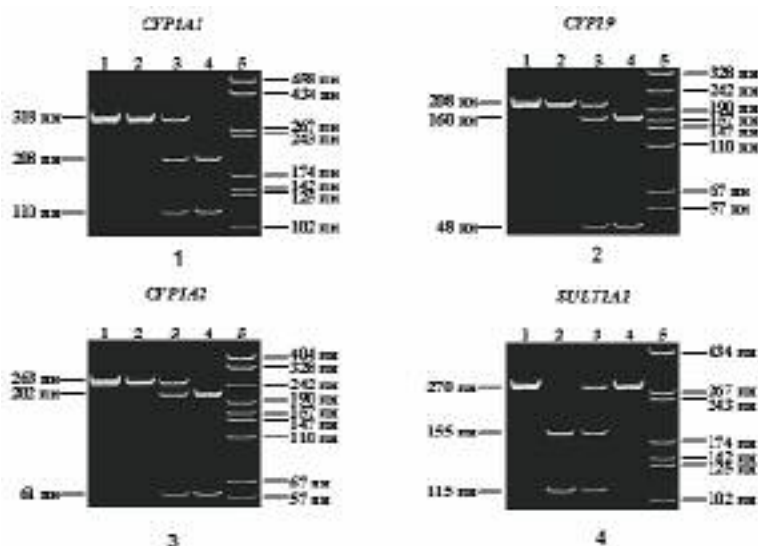
аллеля в контрольной группе соответственно.

Для оценки достоверности различий между выборками использовался критерий  $\chi^2$ .

## Результаты исследования и обсуждение

Известно, что одним из важных факторов в развитии миомы является нарушение гормонального баланса, в частности усиление образования эстрогенов. Поэтому в данном исследовании были взяты гены ферментов метаболизма эстрогенов: CYP1A1, CYP1A2, CYP19 и SULT1A1. Типичная картина электрофоретического разделения продуктов рестрикции амплифицированных участков исследуемых генов приведена на рис. 1.

Как видно из табл. 1, в группе женщин с доброкачественными новообразованиями наблюдается незначительное снижение частоты мутантного аллеля (8,2 %) по сравнению с контролем (11,9 %), но различия недостоверны (OR=0,66, P=0,15). Также для этой группы наблюдается снижение частоты гетерозиготного генотипа CYP1A1\*1A/2A (16,5 %) по сравнению с контролем (23,8 %),



**Рис. 1.** Электрофоретическое разделение продуктов рестрикции фрагментов ПЦР генов CYP1A1, CYP1A2, CYP19 и SULT1A1.

1 — ПЦР-продукт; 2 — гомозигота дикого типа; 3 — гетерозигота по мутантному аллелю; 4 — гомозигота по мутантному аллелю.

**ТАБЛИЦА 1. Частоты аллелей и генотипов диких и полиморфных вариантов генов CYP1A1, CYP1A2, CYP19, SULT1A1 у обследованных лиц**

Исследуемые гены	Основная группа			Контрольная группа
	n (абс., %)	OR (95% CI)	p	
<i>CYP1A1</i>				
Частоты аллелей				
T	312 (91,8)	1,51(0,88—2,58)	0,15	296 (88,1)
C	28 (8,2)	0,66(0,39—1,14)	0,15	40 (11,9)
Частоты генотипов				
T/T	142 (83,5)	1,58(0,89—2,81)	0,12	128 (76,2)
T/C	28 (16,5)	0,63(0,36—1,12)	0,12	40 (23,8)
C/C	0 (0,0)			0 (0,0)
Всего	170			168
<i>CYP1A2</i>				
Частоты аллелей				
A	266 (78,2)	1,41(0,94—2,11)	0,097	284 (83,5)
C	74 (21,8)	0,71(0,47—1,06)	0,097	56 (16,5)
Частоты генотипов				
A/A	100 (58,8)	0,70(0,45—1,09)	0,15	114 (67,1)
A/C	66 (38,8)	1,29(0,83—2,01)	0,37	56 (32,9)
C/C	4 (2,4)			0 (0,0)
Всего	170			170
<i>CYP19</i>				
Частоты аллелей				
C	326 (94,8)	1,00(0,49—2,05)	0,98	326 (94,8)
T	18 (5,2)	1,00(0,49—2,05)	0,98	18 (5,2)
Частоты генотипов				
C/C	154 (89,5)	0,76(0,36—1,58)	0,74	158 (91,9)
C/T	18 (10,5)	1,89(0,85—4,23)	0,19	10 (5,8)
T/T	0 (0,0)			4 (2,3)
Всего	172			172
<i>SULT1A1</i>				
Частоты аллелей				
G	222 (65,3)	1,67(1,22—2,33)	0,001	180 (52,9)
A	118 (34,7)	0,60(0,43—0,82)	0,001	160 (47,1)
Частоты генотипов				
G/G	68 (40,0)	1,22(0,79—1,90)	0,41	60 (35,3)
A/G	86 (50,6)	1,88(1,19—2,97)	0,006	60 (35,3)
A/A	16 (9,4)	0,25(0,13—0,48)	0,000006	50 (29,4)
Всего	170			170

однако различия также недостоверны (OR=1,29, P=0,37). Гомозиготных вариантов мутантного типа обнаружено не было ни в одной из групп.

При статистическом анализе полиморфных вариантов гена CYP1A2 у больных женщин наблюдается увеличение частоты встречаемости мутантного аллеля (21,8 %, OR=0,71, P=0,097) по сравнению с группой контроля (16,5 %), так и гетерозиготного генотипа CYP1A2\*1A/1F (38,8 %, OR=1,29, P=0,37) по сравнению с группой контроля (32,9 %), однако достоверных различий не обнаружено.

Для CYP19 различий по частоте встречаемости мутантного аллеля обнаружено не было: 5,2 % (OR=1,00, P=0,98) в группе с доброкачественными новообразованиями по сравнению с 5,2 % в контрольной группе. По частоте встречаемости генотипов наблюдается увеличение частоты гетерозиготного генотипа у больных, но различия недостоверны.

Для SULT1A1 выявлены достоверные различия по частоте встречаемости мутантного аллеля в группе с доброкачественными патологиями. Наблюдается снижение частоты его встречаемости (34,7 %, OR=0,60, P=0,001) по сравнению с группой контроля (47,1 %). Кроме

того, наблюдается снижение частоты встречаемости гомозигот мутантного типа у больных: 9,4 (OR=0,25, P=0,000006) по сравнению с группой контроля (29,4 %). Также наблюдается снижение частоты встречаемости гетерозиготного генотипа SULT1A1\*1/2 в группе с доброкачественными новообразованиями (50,6 %, OR=1,88, P=0,006) по сравнению с группой контроля (35,3 %). Это говорит о возможном вовлечении SULT1A1 в гормональный канцерогенез.

Кроме того, выборка проанализирована по частотам встречаемости совокупностей генотипов (табл. 2). Все приведённые различия между контрольной и основной группами достоверны. Максимальные различия наблюдаются при сочетании генотипов CYP1A2(A/A) и SULT1A1(A/A): 3,5 % (OR=0,14, P=0,000004) в группе с доброкачественной трансформацией, по сравнению с группой контроля (20,5 %), а также при сочетании CYP1A2(A/A), CYP19(C/C) и SULT1A1(A/A): 4,8 (OR=0,23, P=0,0003), 3,5 % (OR=0,17, P=0,00004) в группе с доброкачественной трансформацией, по сравнению с группой контроля (18,1 %).

Многие исследования, посвящённые установлению взаимосвязи между полиморфизмом генов и патологическими процессами, в ряде случаев показывают существование такой корреляции. Это может говорить о влиянии того или иного варианта данного гена на процесс возникновения этих патологий, причём этот процесс может вовлекать один или несколько механизмов. При исследовании гормонозависимых опухолей показаны ассоциации между частотами определённых мутантных аллелей и риском возникновения патологии. Так, например, наличие мутантного аллеля SULT1A1\*2 в сочетании с курением и неблагоприятной экологической обстановкой может в большей степени благоприятствовать возникновению гормонозависимой опухоли [8].

Некоторые полиморфные варианты гена CYP19 ассоциированы с высокой частотой возникновения рака молочной железы, однако их роль в отношении миомы тела матки не изучалась. Имеются данные об ассоциации полиморфизма MspI гена CYP1A1 с раком молочной железы [4]. Для популяции о. Гавайи найдены ассоциации полиморфизмов генов CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 с раком яичников [5, 6]. Более того, выявлены межпопуляционные различия как по частоте встречаемости полиморфизмов данных генов, так и по их ассоциации с различными видами новообразований [6].

Взаимосвязь полиморфных вариантов генов с риском возникновения патологии в большинстве случаев связана с усилением или снижением функции соответствующего фермента. Так, например, в случае полиморфизма MspI гена CYP1A1, происходит усиление активности фермента, что приводит к повышенному образованию гидроксиметаболитов эстрогенов, которые являются реактивными интермедиатами в реакции их катаболизма. Повышение их уровня может приводить к возникновению опухоли через механизм метаболической активации цитохромами P450. Нарушения в кодирующей области гена также может привести к изменению активности фермента. Так, например, CYP1A2\*1A/1F полиморфизм гена CYP1A2 представляет собой SNP A→C в 1-м интроне гена, но активность фермента может меняться [6]. Показаны варианты генетического полиморфизма, не приводящие к изменению активности фермента, тем не менее, некоторые из них ассоциированы с риском возникновения различных типов опухолей. Так, например, показана ассоциация нефункционального (не приводящего к изменению активности) полиморфизма Arg264Cys гена CYP19 с риском возникновения рака представительной железы [7]. Механизм этого явления до конца не ясен и в настоящее время активно изучается.

**ТАБЛИЦА 2. Частоты встречаемости совокупностей генотипов генов CYP1A1, CYP1A2, CYP19 и SULT1A1**

Генотип	Основная группа			Контрольная группа
	n (абс., %)	OR (95% CI)	p	
CYP1A1(T/T)+ CYP1A2(C/A)				46 (27,7)
CYP1A1(T/T)+ CYP1A2(A/A)				80 (48,2)
CYP1A1(T/C)+ CYP1A2(A/A)	16 (9,4)	0,40(0,20—0,80)	0,007	34 (20,5)
CYP1A1(T/C)+ CYP19(C/C)	24 (14,1)	0,55(0,30—1,01)	0,049	38 (22,9)
CYP1A1(T/T)+ SULT1A1(G/A)	74 (43,5)	2,04(1,27—3,31)	0,003	46 (27,4)
CYP1A1(T/T)+ SULT1A1(A/A)	14 (8,2)	0,31(0,15—0,62)	0,0004	38 (22,6)
CYP1A2(A/A)+ CYP19(C/C)				108 (63,5)
CYP1A2(C/A)+ SULT1A1(G/A)	38 (22,4)	1,88(1,02—3,49)	0,04	22 (13,3)
CYP1A2(C/A)+ SULT1A1(G/G)				16 (9,8)
CYP1A2(A/A)+ SULT1A1(A/A)	6 (3,5)	0,14(0,05—0,37)	0,000004	34 (20,5)
CYP19(C/C)+ SULT1A1(A/A)	14 (8,2)	0,29(0,14—0,57)	0,0002	40 (23,8)
CYP1A1(T/T)+ CYP1A2(C/A)+CYP19(C/C)				40 (24,1)
CYP1A1(T/T)+ CYP1A2(A/A)+CYP19(C/C)				76 (45,8)
CYP1A1(T/C)+ CYP1A2(A/A)+CYP19(C/C)	16 (9,4)	0,44(0,22—0,86)	0,02	32 (19,3)
CYP1A1(T/T)+ CYP1A2(C/A)+SULT1A1(G/G)				12 (7,1)
CYP1A1(T/T)+ CYP1A2(A/A)+SULT1A1(A/A)	6 (3,5)	0,22(0,08—0,60)	0,001	24 (14,3)
CYP1A1(T/T)+CYP19(C/C) +SULT1A1(G/A)	66 (38,8)	1,66(1,02—2,69)	0,04	46 (27,7)
CYP1A1(T/T)+CYP19(C/C) +SULT1A1(A/A)	14 (8,2)	0,39(0,18—0,79)	0,006	32 (19,3)
CYP1A2(C/A)+CYP19(C/C) +SULT1A1(G/G)				14 (8,4)
CYP1A2(A/A)+CYP19(C/C) +SULT1A1(A/A)	6 (3,5)	0,17(0,06—0,43)	0,00004	30 (18,1)
CYP1A1(T/T)+CYP1A2(C/A) +CYP19(C/C)+SULT1A1(G/G)				10 (6,0)
CYP1A1(T/T)+CYP1A2(A/A) +CYP19(C/C)+SULT1A1(A/A)	6(3,5)	0,24(0,08—0,65)	0,002	22 (13,3)

В настоящей работе предпринят комплексный подход, когда для исследования была взята группа генов, участвующих, как в синтезе, так и в распаде эстрогенов. Был проведён статистический анализ частоты встречаемости каждого генотипа и комбинации различных генотипов. Сочетание их с эпидемиологиче-

скими факторами (курение, загрязнение окружающей среды) поможет выявить группы риска, обладающие повышенной чувствительностью к данной патологии. Это объясняется участием продуктов исследуемых генов в детоксификации ряда химических соединений, в том числе и канцерогенных веществ.

На данном этапе работы выявлена достоверная ассоциация частоты встречаемости мутантного аллеля *SULT1A1\*2* (His аллель) с развитием миомы матки. Наблюдается снижение частоты его встречаемости у больных по сравнению с группой контроля. Кроме того, у больных регистрируется снижение частоты гетерозигот и гомозигот мутантного типа по сравнению со здоровыми женщинами (табл. 2). Известно, что сульфотрансферазы участвуют не только в детоксификации эстрогенов и ксенобиотиков, но и в биоактивации потенциальных канцерогенов, таких как ароматические амины и фенолы [10]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что у больных женщин повышена активность *SULT1A1*. Тогда возможно предположить, что в патогенез этого заболевания вовлечены факторы окружающей среды. Для других исследованных генотипов достоверных различий не выявлено. Тем не менее, результаты, полученные для комбинаций генотипов, могут свидетельствовать о совокупности эстрогензависимого и химически индуцированного (обусловленного биоактивацией экзогенных ксенобиотиков) механизма образования миомы матки. В пользу этого утверждения говорит тот факт, что максимальные различия по частоте встречаемости комбинаций генотипов обнаружены для совокупности *CYP1A2\*1A* и *SULT1A1\*2* аллелей. Таким образом, можно заключить, что в группу риска развития миомы матки попадают женщины, имеющие сочетание дикого *SULT1A1* и мутантного *CYP1A2* геноти-

пов. Для формирования полной картины о таких группах необходимо дальнейшее определение аллельных вариантов генов метаболизма эстрогенов у женщин.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Day Baird D., Dunson D. B., Hill M. C. et al. High cumulative incidence of uterine leiomyoma in black and white women: ultrasound evidence // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2003. Vol. 188, № 1. P. 100—107.
2. Luoto R., Kaprio J., Rutanen E. M. et al. Heritability and risk factors of uterine fibroids — the Finnish Twin Cohort study // *Maturitas.* 2000. Vol. 37, № 1. P. 15—26.
3. Kawajiri K., Nakachi K. Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphism of the cytochrome P450 1A1 gene // *FEBS Lett.* 1990. Vol. 263, № 1. P. 131—133.
4. Ishibe N., Hankinson S. E., Coltitz G. A. et al. Cigarette smoking, cytochrome P450 1A1 polymorphisms, and breast cancer risk in the Nurses' Health Study // *Cancer Res.* 1998. Vol. 58, № 4. P. 667—671.
5. Sachse C., Bhambra U., Smith G. et al. Polymorphisms in the cytochrome P450 CYP1A2 gene (*CYP1A2*) in colorectal cancer patients and controls: allele frequencies, linkage disequilibrium and influence on caffeine metabolism // *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2003. Vol. 55, № 1. P. 68—76.
6. Goodman M. T., McDuffie K., Kolonel L. N. et al. Case-control study of ovarian cancer and polymorphisms in genes involved in catecholestrogen formation and metabolism // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2001. Vol. 10, № 3. P. 209—216.
7. Modugno F., Weissfeld J. L. Allelic variants of aromatase and the androgen and estrogen receptors: toward a multigenic model of prostate cancer risk // *Clin. Cancer Res.* 2001. Vol. 7, № 10. P. 3092—3096.
8. Raftogianis R. B., Wood T. C., Otterness D. M. et al. Phenol sulfotransferase pharmacogenetics in humans: association of common *SULT1A1* alleles with TS PST phenotype // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997. Vol. 239, № 1. P. 298—304.
9. Zheng W., Xie D., Cerhan J. R. et al. Sulfotransferase 1A1 polymorphism, endogenous estrogen exposure, well-done meat intake, and breast cancer risk // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2001. Vol. 10, № 2. P. 89—94.
10. Raftogianis R. B., Wood T. C., Weinshilboum R. M. Human phenol sulfotransferases *SULT1A2* and *SULT1A1*: genetic polymorphisms, allozyme properties, and human liver genotype-phenotype correlations // *Biochem. Pharmacol.* 1999. Vol. 58, № 4. P. 605—616.

A. V. Prudnikov, E. V. Pochos, O. N. Mikhailova, L. F. Gulyaeva, V. V. Lyakhovich

#### Genetic polymorphism of estrogen metabolizing enzymes in female with hysteromyoma

Genetic polymorphism of estrogen metabolizing enzymes: cytochrome P450 (*CYP*)1A1 and 1A2, *CYP*19 (Aromatase), sulfotransferase (*SULT*)1A1 in 170 females with hysteromyoma and 170 females without this pathology was estimated. There weren't significant differences between frequencies of mutant alleles of *CYP*1A1 gene (*Msp*I polymorphism) and *CYP*19 gene (*C264→T*) in hysteromyoma and healthy patients. Mutant allele frequency of *CYP*1A2 gene was higher (21,8 %, *OR*=0,71, *P*=0,097) in patients with myoma in comparison with control group (16,5 %). Frequency of heterozygote genotype *CYP*1A2\*1A/1F (38,8 %, *OR*=1,29, *P*=0,37) was also higher in comparison with healthy women (32,9 %). Significant decrease of mutant allele frequency of *SULT*1A1 gene (*G638→A*) in experimental group (34,7 %, *OR*=0,60, *P*=0,001)



in comparison with control group (47.1 %) was shown. Except, we found decrease of mutant-type homozygotes frequency in patients with hysteromyoma: 9.4 (OR=0.25, P=0.000006) in comparison with healthy women (29.4 %), and decrease frequency of heterozygote genotype SULT1A1\*1/2 in experimental group (50.6 %, OR=1.88, P=0.006) in comparison with control group (35.3 %). Our results suggests about possible involving SULT1A1 and CYP1A2 enzymes in hysteromyoma pathogenesis. Then in group of higher risk include women with combinations of wild SULT1A1 and mutant CYP1A2 genotypes.

**Keywords:** hysteromyoma, estrogen metabolizing enzymes, genetic polymorphism.

## Использование эфферентной иммунотерапии в лечении больных с рассеянным склерозом

*Л. В. Титова*

Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии  
СО РАМН, Новосибирск

---

Изучено состояние общего иммунного статуса и экспрессия м-РНК интерлейкина 1, 4, 6, 10, фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- $\alpha$ ) у больных с рассеянным склерозом (РС) до лечения и после применения в программе лечения данного заболевания эфферентных методов детоксикации (модифицированный плазмаферез, модифицированный лимфоцитаферез) по сравнению с традиционной консервативной терапией. Обследовано 149 человек с рассеянным склерозом. Основой для анализа эффективности проводимого лечения была динамика показателей общего иммунного статуса, неврологического статуса. Субпопуляции лимфоцитов определяли с помощью моноклональных антител иммунофлуоресцентным методом, частоту экспрессии указанных генов цитокинов определяли в мононуклеарных клетках периферической крови методом обратнo-транскриптазной полимеразной цепной реакции. Предложенные эфферентные технологии достоверно эффективнее корригировали нарушение специфической реактивности организма и неврологический дефицит в сравнении с методами терапии в контрольной группе. Среди эфферентных технологий метод аппаратного лимфоцитафереза показал наиболее значимые возможности как в коррекции неврологических нарушений, так и в коррекции расстройств специфической реактивности организма.

**Ключевые слова:** рассеянный склероз, эфферентные методы лечения, иммунотерапия.

Рассеянный склероз — приобретенная, воспалительная, демиелинизирующая болезнь центральной нервной системы (ЦНС), при которой одни клетки иммунной системы вторгаются и уничтожают миелин, жировой материал, который изолирует нервы в головном и спинном мозге, а другие клетки ЦНС осуществляют стойкое склеротическое повреждение вокруг очага демиелинизации [1]. Согласно современным представлениям, в основе патологического процесса при рассеянном склерозе (РС) лежат локальные воспалительные и аутоиммунные реакции, развивающиеся в белом веществе мозга [2]. При этом ха-

рактерным является разрушение оболочки нервных волокон (миелина). На сегодняшний момент исследования по проблеме РС не определили однозначно и достоверно этиологию заболевания. Наиболее обоснованной считается мультифакториальная теория, подразумевающая необходимость воздействия внешнего фактора, вероятнее всего инфекционного, на лиц с генетической предрасположенностью [3]. В результате исследований, проведенных в последние годы, сформировалась точка зрения, что предпосылкой к развитию заболевания является несостоятельность иммунного ответа, причем ключевым фактором является не сам вирус, а реакция на его