

## Влияние однонуклеотидных полиморфизмов генов АКТ1 (rs2498796) и HEY2 (rs13328928) на риск развития рака эндометрия у женщин Республики Татарстан

Рушанья Исмагиловна Габидуллина<sup>1\*</sup>, Фикрет Рагим оглы Нухбала<sup>1</sup>,  
Гульназ Акрамовна Смирнова<sup>2</sup>, Юлия Игоревна Орлова<sup>1</sup>,  
Арсений Ахнафович Шакиров<sup>1</sup>, Елена Валерьевна Валеева<sup>1</sup>,  
Айсылу Фоатовна Ахметзянова<sup>3</sup>, Гузель Рифатовна Фахрутдинова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия;

<sup>2</sup>Городская клиническая больница №7, г. Казань, Россия;

<sup>3</sup>Республиканский клинический онкологический диспансер, г. Казань, Россия

### Реферат

**Цель.** Провести анализ распространённости вариантов полиморфизма генов АКТ1 (rs2498796) и HEY2 (rs13328928) и определить ассоциации выявленных полиморфизмов с риском возникновения эндометриальной аденокарциномы у женщин, проживающих на территории Республики Татарстан.

**Методы.** В исследование включена 161 жительница Республики Татарстан. Основную группу составили 60 пациенток с раком эндометрия (эндометриальной аденокарциномой), контрольная группа была сформирована из 101 женщины без патологии эндометрия. Возраст обследуемых пациенток составил от 41 до 91 года. Определение однонуклеотидного полиморфизма генов АКТ1 (rs2498796) и HEY2 (rs13328928) было проведено методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Выполнен  $\chi^2$ -тест, а также оценён показатель отношения шансов.

**Результаты.** Установлено, что шанс развития рака эндометрия оказался выше у носителей гомозиготного генотипа Т/Т гена АКТ1 (rs2498796) без статистической значимости (отношение шансов 1,61, 95% доверительный интервал 0,61–4,21,  $p=0,62$ ). Гомозиготный генотип С/С гена с мутантным аллелем С гена HEY2 (rs13328928) при раке эндометрия встречается с частотой 0,383 против 0,287 у женщин контрольной группы ( $\chi^2=1,70$ ,  $p=0,43$ ). Шанс развития рака эндометрия оказался выше у носительниц гомозиготного генотипа С/С без статистической значимости (отношение шансов 1,54, 95% доверительный интервал 0,79–3,03,  $p=0,43$ ).

**Вывод.** У 161 жительницы Республики Татарстан, включённой в исследование, ассоциации мутантных аллелей генов АКТ1 (rs2498796) и HEY2 (rs13328928) с риском развития рака эндометрия не были выявлены; при этом распространённость аллелей и генотипов оказалась сопоставима с европейской.

**Ключевые слова:** рак эндометрия, генетический полиморфизм, наследственная предрасположенность.

**Для цитирования:** Габидуллина Р.И., Нухбала Ф.Р., Смирнова Г.А. и др. Влияние однонуклеотидных полиморфизмов генов АКТ1 (rs2498796) и HEY2 (rs13328928) на риск развития рака эндометрия у женщин Республики Татарстан. *Казанский мед. ж.* 2019; 100 (5): 769–773. DOI: 10.17816/KMJ2019-769.

### Influence of a single-nucleotide polymorphism of АКТ1 (rs2498796) and HEY2 (rs13328928) genes on the risk of endometrial cancer in women of the Republic of Tatarstan

R.I. Gabidullina<sup>1</sup>, F.R. Nukhbalal<sup>1</sup>, G.A. Smirnova<sup>2</sup>, Yu.I. Orlova<sup>1</sup>, A.A. Shakirov<sup>1</sup>, E.V. Valeeva<sup>1</sup>,  
A.F. Akhmetzyanova<sup>3</sup>, G.R. Fakhrutdinova<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Kazan State Medical University, Kazan, Russia;

<sup>2</sup>City Clinical Hospital No. 7, Kazan, Russia;

<sup>3</sup>Tatarstan Regional Clinical Cancer Center, Kazan, Russia

### Abstract

**Aim.** To analyze the prevalence of different polymorphisms of АКТ1 gene (rs2498796) and HEY2 gene

(rs13328928) and to determine the association of revealed polymorphisms with the risk of endometrioid carcinoma in women living in the Republic of Tatarstan.

**Methods.** 161 female citizens of Tatarstan were enrolled. The study group included 60 patients with endometrial cancer (endometrioid carcinoma) and the control group enrolled 101 women without endometrial pathology. The age of the subjects ranged from 41 to 91 years. The single-nucleotide polymorphism of AKT1 gene (rs2498796) and HEY2 gene (rs13328928) was determined by real-time polymerase chain reaction. We ran a  $\chi^2$  test and evaluated the odds ratio.

**Results.** The risk of endometrial cancer was higher in carriers of homozygous T/T genotype of AKT1 gene (rs2498796) without statistical significance (OR=1.61, 95% CI=0.61–4.21, p=0.62). Homozygous C/C genotype of HEY2 gene (rs13328928) with the mutant allele C was observed in endometrial cancer group with a frequency of 0.383 and 0.287 in the control group ( $\chi^2=1.70$ , p=0.43). The risk of endometrial cancer was higher in the group of homozygous C/C genotype without statistical significance (OR=1.54, 95% CI=0.79–3.03, p=0.43).

**Conclusion.** Among 161 females citizens of the Republic of Tatarstan included into the study, the associations of the mutant alleles of AKT1 gene (rs2498796) and HEY2 gene (rs13328928) with the risk of endometrial cancer were not identified; the prevalence of alleles and genotypes was found to be comparable with the European one.

**Keywords:** endometrial cancer, genetic polymorphism, hereditary predisposition.

**For citation:** Gabidullina R.I., Nukhbala F.R., Smirnova G.A. et al. Influence of a single-nucleotide polymorphism of AKT1 (rs2498796) and HEY2 (rs13328928) genes on the risk of endometrial cancer in women of the Republic of Tatarstan. *Kazan medical journal*. 100 (5): 769–773. DOI: 10.17816/KMJ2019-769.

Рак эндометрия — четвёртый по распространённости рак у женщин в развитых странах и наиболее распространённый рак женской репродуктивной системы [1]. Заболеваемость с начала 1990-х годов увеличилась на 50% и продолжает расти. В России ежегодно регистрируют более 21 тыс. больных раком тела матки. За период с 2007 по 2012 гг. прирост абсолютного числа заболевших составил 16,4% [2].

В настоящее время риск возникновения рака эндометрия в течение жизни составляет 1 случай на 41 женщину. В связи с ростом частоты ожирения в ближайшие несколько десятилетий прогнозируется увеличение заболеваемости раком эндометрия до уровня эпидемии среди женщин в период менопаузы с пиком в 70–74 года [3]. Вызывает беспокойство растущая тенденция пролиферативных заболеваний эндометрия у молодых женщин. Приходится с сожалением констатировать, что на современном этапе диагностика рака эндометрия основана на инвазивном тестировании, а стратегия скрининга для групп населения общего или высокого риска не разработана [4].

В 2016 г. были опубликованы результаты исследования Т.Н. Cheng и соавт. из Исследовательского центра генетики человека (Оксфордский университет, Великобритания), которые провели полногеномный поиск ассоциаций (GWAS) в 7737 случаях рака эндометрия и 37 144 случаях контроля среди женщин европеоидной расы. Метаанализ выявил семь локусов риска рака эндометрия, имеющих общегеномное значение, которые регулируют экспрессию белков или микроРНК<sup>1</sup> с известной или предполагаемой ролью в онкоге-

незе. Выявленные SNP (от англ. single nucleotide polymorphism — полиморфизмы одиночных нуклеотидов), среди которых полиморфизм генов AKT1 (rs2498796) и HEY2 (rs13328928), могут обуславливать ~5% наследственного относительного риска рака эндометрия [5].

Цель исследования — провести анализ распространённости вариантов полиморфизма генов AKT1 (rs2498796) и HEY2 (rs13328928) и определить ассоциации выявленных полиморфизмов с риском возникновения эндометриоидной аденокарциномы у женщин, проживающих на территории Республики Татарстан.

Для анализа ассоциаций в исследование включена группа из 60 женщин с эндометриоидной аденокарциномой (основная группа) и группа из 101 женщины без патологии эндометрия (контрольная группа). Возраст обследуемых пациенток составил от 41 до 91 года, средний возраст в основной группе 61,3±8,8 года, в группе контроля — 65,5±5,4 года (p > 0,05).

Критериями включения женщин в исследование стали проживание в Республике Татарстан, европеоидная раса, выявление на момент исследования эндометриоидной аденокарциномы или отсутствие патологии эндометрия. Критериями исключения пациенток из исследования были полипы эндометрия, гиперплазия эндометрия и сочетанные виды рака. Набор женщин в группы осуществлялся по результатам гистологического исследования операционного материала.

Протокол исследования был одобрен этическим комитетом Казанского государственного

<sup>1</sup> РНК — рибонуклеиновая кислота

**Таблица 1.** Мультипликативная модель наследования АКТ1 (rs2498796)

Аллели	РЭ	Контроль	$\chi^2$	p	ОШ	
	n=60	n=101			Значение	95% ДИ
Аллель С	0,642	0,678	0,45	0,5	0,85	0,53–1,37
Аллель Т	0,358	0,322			1,18	0,73–1,89

Примечание: тест  $\chi^2$ ; p — значимость различий между группами; РЭ — группа пациенток с раком эндометрия; ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал.

**Таблица 2.** Общая модель наследования для АКТ1 (rs2498796)

Генотипы	Случаи	Контроль	$\chi^2$	p	ОШ	
	n=60	n=101			Значение	95% ДИ
Генотип С/С	0,433	0,455	0,94	0,62	0,91	0,48–1,74
Генотип С/Т	0,417	0,446			0,89	0,47–1,70
Генотип Т/Т	0,150	0,099			1,61	0,61–4,21

Примечание: тест  $\chi^2$ ; p — значимость различий между группами; ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал.

медицинского университета. Протокол №6 от 25.06.2019. Исследование проводили в соответствии с принципами Хельсинкской декларации. Участие женщин было конфиденциальным.

Выделение дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) из лейкоцитов венозной крови пациенток проводили с помощью наборов реагентов «Проба Репид-Генетика» ООО «ДНК-Технология» (Москва, Россия). Использовали детектирующий амплификатор ДТ-96 (Москва, Россия). Определение полиморфизмов генов проведено методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с помощью наборов реактивов фирмы НПК «СИНТОЛ» (Москва, Россия).

При проведении статистической обработки полученных результатов был использован пакет прикладных программ InStat 3 Graph Pad, а также программное обеспечение Microsoft Office Excel 2013 (15) для Microsoft Windows.

Проверка гипотезы о законе распределения выполнена с использованием критериев Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. Для количественных данных нормального распределения использованы параметрические методы (средняя величина  $\pm$  стандартное отклонение —  $M \pm m$ ). Для определения статистической значимости различий средних величин при нормальном распределении применяли t-критерий Стьюдента. За уровень значимости в исследовании был принят уровень  $p < 0,05$ . Проведены оценка подчинения распределения генотипов выборки равновесию Харди–Вайнберга и  $\chi^2$ -тест, а также оценён показатель отношения шансов (ОШ).

При анализе однонуклеотидных полиморфизмов гена АКТ1 было выявлено, что мутантный

аллель Т у жительниц Республики Татарстан, страдающих раком эндометрия, встречается с одинаковой частотой в сопоставлении с женщинами контрольной группы. Частота аллеля Т составила 0,358 и 0,322 соответственно ( $\chi^2=0,45$ ,  $p=0,5$ ; табл. 1). Частота аллеля С также не имела статистических различий между группами и составила у женщин с раком эндометрия 0,642, при отсутствии патологии эндометрия — 0,678 ( $\chi^2=0,45$ ,  $p=0,5$ ).

Анализ общей модели наследования (табл. 2) показал, что гомозиготный генотип Т/Т с мутантным аллелем Т гена АКТ1 при эндометриодной аденокарциноме встречается с частотой 0,150 против 0,099 у женщин контрольной группы ( $\chi^2=0,94$ ,  $p=0,62$ ). Шанс развития рака эндометрия оказался выше у носительниц гомозиготного генотипа Т/Т без статистической значимости [ОШ=1,61, 95% доверительный интервал (ДИ) 0,61–4,21,  $p=0,62$ ].

Гомозиготный вариант С/С SNP гена молекулы АКТ1 встречался одинаково часто у женщин основной и контрольной групп и составил соответственно 0,433 и 0,455 ( $\chi^2=0,94$ ,  $p=0,62$ ). Шанс развития рака эндометрия при генотипе С/С был одинаковым у женщин обеих групп (ОШ=0,91, 95% ДИ 0,48–1,74,  $p=0,62$ ).

Гетерозиготный генотип С/Т наблюдали с частотой 0,417 у пациенток с эндометриодной аденокарциномой и 0,446 у женщин без патологии эндометрия ( $\chi^2=0,94$ ,  $p=0,62$ ). При выявлении варианта С/Т гена АКТ1 шанс развития рака эндометрия составил 0,89, (95% ДИ 0,47–1,70,  $p=0,62$ ). Распределение частот генотипов подчинялось закону Харди–Вайнберга.

**Таблица 3.** Мультипликативная модель наследования HEY2 (rs13328928)

Аллели	РЭ	Контроль	$\chi^2$	p	ОШ	
	n=60	n=101			Значение	95% ДИ
Аллель С	0,583	0,530	0,87	0,35	1,24	0,79–1,96
Аллель Т	0,417	0,470			0,80	0,51–1,27

Примечание: тест  $\chi^2$ ; p — значимость различий между группами; РЭ — группа пациенток с раком эндометрия; ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал.

**Таблица 4.** Общая модель наследования для HEY2 (rs13328928)

Генотипы	Случаи	Контроль	$\chi^2$	p	ОШ	
	n=60	n=101			Значение	95% ДИ
Генотип С/С	0,383	0,287	1,70	0,43	1,54	0,79–3,03
Генотип С/Т	0,400	0,485			0,71	0,37–1,35
Генотип Т/Т	0,217	0,228			0,94	0,43–2,03

Примечание: тест  $\chi^2$ ; p — значимость различий между группами; ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал.

При анализе однонуклеотидных полиморфизмов гена HEY2 было выявлено, что мутантный аллель С у жительниц Республики Татарстан, страдающих раком эндометрия, встречается с одинаковой частотой в сопоставлении с женщинами контрольной группы. Частота аллеля С составила 0,583 и 0,530 соответственно ( $\chi^2=0,87$ ,  $p=0,35$ ; табл. 3). Частота аллеля Т также не имела статистических различий между группами.

Анализ общей модели наследования (табл. 4) показал, что шанс развития рака эндометрия оказался выше у носительниц гомозиготного генотипа С/С без статистической значимости (ОШ=1,54, 95% ДИ 0,79–3,03,  $p=0,43$ ).

Гомозиготный вариант Т/Т SNP гена молекулы HEY2 встречался одинаково часто у женщин основной и контрольной групп. Шанс развития рака эндометрия при генотипе Т/Т был одинаковым у женщин обеих групп (ОШ=0,94, 95% ДИ 0,43–0,03,  $p=0,43$ ).

Гетерозиготный генотип С/Т наблюдали с частотой 0,400 у пациенток с эндометриоидной аденокарциномой и 0,485 у женщин без патологии эндометрия ( $\chi^2=1,70$ ,  $p=0,43$ ). При выявлении варианта С/Т гена HEY2 шанс развития рака эндометрия составил 0,71 (95% ДИ 0,37–1,35,  $p=0,43$ ). Распределение частот генотипов подчинялось закону Харди–Вайнберга.

Исходя из полученных данных, статистически значимых различий частоты полиморфизмов SNP по гену молекулы AKT1 (rs2498796) и гену молекулы HEY2 у жительниц Республики Татарстан, страдающих раком эндометрия, и сопоставимой контрольной группы не установлено. Распространённость аллелей и генотипов

SNP генов AKT1 (rs2498796) и HEY2 (rs13328928) оказалась сопоставима с европейской [6].

Рост заболеваемости раком эндометрия обуславливает необходимость в дальнейших исследованиях и разработке программы скрининга для женского населения как в целом, так и в группе риска. Генетические и молекулярные исследования представляют в этом плане большой интерес. Проведённое исследование полногеномных ассоциаций (GWAS) позволило выявить семь локусов, ассоциированных с риском развития рака эндометрия, в том числе SNP генов AKT1 (rs2498796) и HEY2 (rs13328928) [5].

Учитывая, что американские, латинские, азиатские и кавказские популяции могут существенно различаться по результатам генетического тестирования [6], нами была проведена оценка распространённости вариантов полиморфизма генов AKT1 (rs2498796) и HEY2 (rs13328928), а также анализ ассоциаций выявленных полиморфизмов с риском возникновения эндометриоидной аденокарциномы у женщин, проживающих на территории Республики Татарстан.

Известно, что активированный ген AKT1 фосфорилирует нижестоящие субстраты, регулирующие рост клеток, метаболизм, апоптоз, ангиогенез и является онкогеном [7]. Установлено, что AKT1 ассоциирован со злокачественными новообразованиями щитовидной [8], молочной [9] и предстательной [10] желёз, также известна его роль в развитии рака желудка [11] и эндометрия [12]. Более того, доказан терапевтический потенциал ингибиторов AKT1 в подавлении роста злокачественных опухолей человека. Так, учёные из Северо-Западного университета Чикаго (США) сообщили о досто-

верном снижении инвазии и распространения опухоли в ответ на терапию аллостерическим ингибитором АКТ при раке эндометрия [12].

Установлено, что ген HEY2 участвует в эмбриональном развитии сердечно-сосудистой системы, а также доказана его роль в нейрогенезе [13]. Заболевания, связанные с HEY2, включают стеноз и атрезию трёхстворчатого клапана сердца [14].

В 2018 г. O'Mara и соавт. опубликовали результаты метаанализа GWAS, включавшего 12 906 случаев рака эндометрия и 108 979 сопоставимых контрольных случаев среди женщин европейского происхождения из 17 исследований, полученных через Консорциум ассоциации рака эндометрия (ЕСАС), Консорциум по эпидемиологии рака эндометрия (Е2С2) и Биобанк Великобритании [15]. В этом более расширенном исследовании, включавшем в том числе предыдущие результаты Т.Н. Cheng и соавт. (2016), было выявлено, что первоначальные ассоциации SNP гена АКТ1 [rs2498796 ОШ=1,17 (1,07–1,17);  $P=3,6 \times 10^{-8}$ ] [5] не достигли общегеномного значения [rs2498796 ОШ=1,07 (1,03–1,11)  $P=6,3 \times 10^{-5}$ ]. Гетерогенность опубликованных результатов по ассоциации SNP гена HEY2 с раком эндометрия значительно возросла и составила 55% [15]. В свете этого полученные нами результаты в определённой степени сопоставимы с результатами наиболее крупного к настоящему времени геномного исследования рака эндометрия.

## ВЫВОД

В результате проведённого нами исследования у 161 жительницы Республики Татарстан, в отличие от женщин в европейской популяции, ассоциации мутантных аллелей гена АКТ1 (rs2498796) и гена HEY2 (rs13328928) с риском развития рака эндометрия не были выявлены. При этом распространённость аллелей и генотипов оказалась сопоставима с европейской.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Siegel R., Ma J., Zou Z., Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J. Clin.* 2019; 69 (1): 7–34. DOI: 10.3322/caac.21551.

2. Клинические рекомендации «Рак тела матки» Министерства здравоохранения Российской Федерации. М. 2018; 32 с. [Klinicheskie rekomendatsii "Rak tela matki" Ministerstva zdravookhraneniya Rossiyskoy Federatsii. (Clinical recommendations "Uterine body cancer" of the Ministry of Health of the Russian Federation.) Moscow. 2018; 32 p. (In Russ.)]

3. Cancer Research UK. *Cancer Research UK Uterine Cancer Statistics*. 2014. <https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/uterine-cancer/incidence#heading-One> (access date: 20.07.2019).

4. Hutt S., Tailor A., Ellis P. The role of biomarkers in endometrial cancer and hyperplasia: a literature review. *Acta. Oncol.* 2019; 58 (3): 342–352. DOI: 10.1080/0284186X.2018.1540886.

5. Cheng T.H., Thompson D.J., O'Mara T.A. Five endometrial cancer risk loci identified through genome-wide association analysis. *Nat. Genet.* 2016; 48 (6): 667–674. DOI: 10.1038/ng.3562.

6. Hinchcliff E.M., Bednar E.M., Lu K.H., Rauh-Hain J.A. Disparities in gynecologic cancer genetics evaluation. *Gynecol. Oncol.* 2019; 153 (1): 184–191. DOI: 10.1016/j.ygyno.2019.01.024.

7. АКТ1 Gene. *GeneCards*. URL: [www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=AKT1](http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=AKT1) (access date: 20.07.2019).

8. Matson D.R., Hardin H., Buehler D., Lloyd R.V. AKT activity is elevated in aggressive thyroid neoplasms where it promotes proliferation and invasion. *Exp. Mol. Pathol.* 2017; 103 (3): 288–293. DOI: 10.1016/j.yexmp.2017.11.009.

9. López-Cortés A., Leone P.E., Freire-Paspuel B. et al. Mutational Analysis of Oncogenic AKT1 Gene Associated with Breast Cancer Risk in the High Altitude Ecuadorian Mestizo Population. *Biomed. Res. Int.* 2018; 71: 1–10. DOI: 10.1155/2018/7463832.

10. Liu J.M., Cheng S.H., Xia C. Association between single nucleotide polymorphisms in AKT1 and the risk of prostate cancer in the Chinese Han population. *Genet. Mol. Res.* 2017; 16 (1): 1–9. DOI: 10.4238/gmr16019469.

11. Ghatak S., Lalnunhlimi S., Lalrohli F. et al. Novel AKT1 mutations associated with cell-cycle abnormalities in gastric carcinoma. *Per. Med.* 2018; 15 (2): 79–86. DOI: 10.2217/pme-2017-0053.

12. Kandath C., Schultz N., Cherniack A.D. et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature*. 2013; 497 (7447): 67–73. DOI: 10.1038/nature12113.

13. Jordan V.K., Rosenfeld J.A., Lalani S.R., Scott D.A. Duplication of HEY2 in cardiac and neurologic development. *Am. J. Med. Genet. A.* 2015; 167A (9): 2145–2149. DOI: 10.1002/ajmg.a.37086.

14. Sarkozy A., Conti E., D'Agostino R. et al. ZFPM2/FOG2 and HEY2 genes analysis in nonsyndromic tricuspid atresia. *Am. J. Med. Genet. A.* 2005; 133A (1): 68–70. DOI: 10.1002/ajmg.a.30534.

15. O'Mara T.A., Glubb D.M., Amant F. Identification of nine new susceptibility loci for endometrial cancer. *Nat. Commun.* 2018; 9 (1): 3166. DOI: 10.1038/s41467-018-05427-7.