

## CERCETĂRI FUNDAMENTALE

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ  
ФАКТОРЫ В РИСКЕ  
ВОЗНИКНОВЕНИЯ РАКА ЛЕГКОГО

*Владимир Шуткин<sup>1</sup>, Евгений Имянитов<sup>2</sup>,  
Валентина Стратан<sup>1</sup>, Георге Цыбырни<sup>1</sup>,  
Георге Дука<sup>3</sup>, Сергей Бреништер<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Институт онкологии Молдовы,

<sup>2</sup> НИИ онкологии им. проф. Н.Н. Петрова,  
Санкт-Петербург, Россия,

<sup>3</sup> Академия наук Республики Молдова

Рак легкого является актуальной социально-биологической проблемой. Значение ее возрастает в связи с неуклонным ростом заболеваемости и смертности от рака легкого во многих экономически развитых регионах мира [18, 28, 37, 42, 46, 82]. Этот рост заболеваемости раком легкого в настоящее время оказывается столь значительным, что его называют *феноменальным, изумительным, потрясающим*. Недаром еще в 1977 году E. Winder, S. Hecht [89] считали, что борьба против рака является государственным делом. Актуальность данной проблемы для Р. Молдова приобретает особую остроту в связи с выходом рака легкого у мужчин на первое место в структуре заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований [4, 5, 10, 11, 12, 14].

В России ежегодно от рака легкого погибает свыше 60000 человек, что составляет 20% всех умерших от злокачественных опухолей [6]. В Санкт-Петербурге рак легкого сохраняет первое место в структуре смертности от новообразований [10].

Отсутствие заметных достижений в борьбе против рака легкого в значительной мере обусловлено недостаточным уровнем диагностики. До сих пор у подавляющего большинства лиц заболевание распознается в поздних стадиях развития, при которых возможности современных методов лечения не могут быть реализованы в полной мере [6]. По этой причине общий показатель 5-летней выживаемости среди радикально оперированных на протяжении последних десятилетий прогрессирует медленно, составляя 20-25% [15,16].

Наследственная природа рака наиболее изучена при таких злокачественных новообразованиях, как эмбриональные опухоли у детей (ретино- и нефробластомы); колоректальный рак; рак органов

женской репродуктивной системы (рак молочной железы, яичников); медуллярный рак щитовидной железы [3]. Проблема рака легкого с этих позиций остается не разработанной.

В 1994 году на основании клинических, клинико-генеалогических и молекулярно-генетических исследований нами впервые были выделены два патогенетических варианта рака легкого: наследственный и экологический [17]. В основу работы были положены данные, касающиеся около 2000 больных раком легкого, находившихся на обследовании и лечении в НИИ онкологии им. проф. Н.Н. Петрова МЗ РФ (Санкт-Петербург).

Рак легкого занимает в онкологии исключительную позицию – это редкий пример злокачественного заболевания с, казалось бы, твердо установленными и очерченными этиологическими факторами. Действительно, в подавляющем большинстве случаев возникновение рака легкого можно связать с курением; кроме того, данное новообразование может быть ассоциировано с другими канцерогенными агентами, находящимися во вдыхаемом воздухе – пылью асбеста, выхлопными газами и т.д. [7, 11, 78]. Тем не менее, если бы взаимосвязь между ингаляцией канцерогена и возникновением рака легкого была полной, курение табака вряд ли оставалось бы популярной привычкой. Действительно, ни сигаретный дым, ни другие внешние воздействия не являются абсолютными факторами риска в масштабе человеческих популяций. Чувствительность к раку легкого-ассоциированным веществам значительно варьирует от индивидуума к индивидууму, и, по-видимому, опосредуется преимущественно генетическими факторами [20, 53, 83, 84].

В настоящее время доказано, что основной причиной возникновения рака легкого является курение, которое обуславливает 80% случаев заболевания. Однако, участь онкологических больных углована не всем курильщикам и это позволяет говорить о существовании индивидуальной предрасположенности к раку легкого. Такая индивидуальная предрасположенность, по всей вероятности, связана с полиморфизмом генов, продукты которых принимают участие в метаболизме канцерогенов табачного дыма [22, 26]. Очевидное сочетание факторов наследственности (генный полиморфизм) и факторов окружающей среды (табачный дым) делает рак легкого интересной

моделью в изучении индивидуальной онкологической предрасположенности.

Чрезвычайно важно подчеркнуть, что рак легкого возникает далеко не у всех людей, подвергшихся воздействиям канцерогенов, в том числе содержащихся в табачном дыме. Этот факт предполагает существование генетических факторов риска. Изучение механизмов канцерогенеза установило, что причиной злокачественной трансформации клеток является накопление разнообразных мутаций, локализованных, в частности, в онкогенах и генах-супрессорах. Онкогены кодируют белки, играющие важную роль в процессах позитивной регуляции клеточного деления и дифференцировки. Если их экспрессия избыточна или протекает в измененном виде, то эти белки индуцируют неконтролируемую пролиферацию клеток. Гены-супрессоры или антионкогены ответственны за синтез белков, осуществляющих негативный контроль клеточного деления или индукцию апоптоза. Мутации в супрессорных генах носят инактивирующий характер [8].

Другой механизм индивидуальной предрасположенности к развитию рака легкого связан с полиморфизмом генов, продукты которых принимают участие в метаболизме канцерогенов, в том числе и табачного дыма [22, 26]. Неодинаковая активность ферментов, принимающих участие в их метаболизме, определяется различиями на уровне генома. Генетическая вариабельность в пределах одного вида получила название *генетического полиморфизма* (ГП). «Полиморфным признаком называется менделевский (моногенный) признак, по которому в популяции присутствует по крайней мере два фенотипа и предположительно, по крайней мере, два генотипа, причем ни один из них не является редким, т.е. не встречается с частотой менее 1-2%» [13].

На молекулярном уровне ГП проявляется в виде небольших различий в нуклеотидных последовательностях ДНК, совместимых с нормальной функцией генома, но приводящих к определенным вариациям в структуре белков. ГП может затрагивать ДНК-последовательности, кодирующие синтез белка, т.е. экзоны структурных генов. Однако значительно чаще речь идет об изменениях в интронах – некодирующих участках ДНК, составляющих до 90-95% всего генома. ГП может быть качественным, если происходят замены нуклеотидов, либо количественным, если в ДНК варьирует число нуклеотидных повторов различной протяженности. Качественный полиморфизм представлен, в основном, однонуклеотидными заменами, выявляемыми после рестрикции ДНК эндону-

клеазами рестрикции (ДНК-рестрикционный полиморфизм). Если в сайте узнавания происходит замена, то фермент не распознает его. Присутствие или отсутствие сайта рестрикции выявляется при анализе полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) и визуализируется на электрофорезе. Несравненно реже встречаются другие качественные вариации нуклеотидных последовательностей, такие как инсерции, делеции, дубликации, транслокации, хроматидные перестройки. Количественный генетический полиморфизм представлен вариациями числа tandemных повторов: 1-2-х (микросателлитная ДНК), либо 3-4-х или более нуклеотидов на повторяющую единицу (минисателлитная ДНК). Повторы ДНК, имеющие значительно большую протяженность и вариабельную по нуклеотидному составу внутреннюю структуру – это вариабельные tandemные повторы (ВТП).

#### ***Полиморфизм гена CYP1A1 и предрасположенность к раку легкого***

Во многих исследованиях, изучавших связь курения с риском возникновения рака легкого, отмечалось, что канцерогены табачного дыма повышают активность ферментов, участвующих в их метаболизме. В частности, было показано, что активность арилгидроксикарбондегидроксилазы (АГГ) резко возрастает под влиянием полициклических ароматических углеводородов (ПАУ). Этот фермент кодируется геном CYP1A1, локализованным на длинном плече 15 хромосомы (15q22q-24). Он состоит из 7 экзонов и 6 интронов общей протяженностью 5810 п.о. [46]. Между повышенной активностью АГГ и увеличенным риском возникновения карцином бронхов у курильщиков была обнаружена корреляция [68, 69]. С помощью ДНК-рестрикционного полиморфизма, используя эндонуклеазу рестрикции MspI, в данном гене выявили замену тимина на цитозин в 6235 нуклеотиде (T6235C). Наблюдаемая повышенная активность АГГ у курильщиков связана с этой мутацией.

Поиски MspI полиморфизма в гене CYP1A1 и его связь с риском возникновения рака легкого привлекли большое количество исследователей [22, 39, 56, 86]. Hirvonen A. и соавт. [39], проведя исследование в группах курящих, куда входили 118 здоровых доноров, 77 больных раком легкого и 30 пациентов с неонкологическими заболеваниями легкого, не обнаружили у них различий в распределении аллелей гена CYP1A1.

Изучение распределения генотипов и аллелей

гена MspI/CYP1A1 у жителей Санкт-Петербурга среди здоровых доноров и больных раком легкого показало отсутствие статистически достоверных различий. В то же время было выявлено увеличение встречаемости m2 аллеля гена CYP1A1 у больных плоскоклеточным раком легкого (ПкРЛ) [2, 87].

На немецкой популяции изучался полиморфизм 2-х областей CYP1A1 гена у 142 больных раком легкого и у 171 пациента с неонкологическими заболеваниями легкого [32]. Одна мутация была обнаружена в сайте рестрикции MspI-эндонуклеазы. Встречаемость генотипов с данной мутацией у больных и здоровых была сходной. Также не было выявлено различий в носительстве мутантных аллелей у пациентов с опухолями различного гистологического строения. Вторая точечная мутация A4889G в 7 экзоне, приводящая к замене изолейцина на валин в кодируемом белке, была описана Hayashi S. и соавт. [44]. Данная мутация не меняет активности АГГ, однако из-за нарушения связывания белка с гемом снижается способность фермента к индукции, приводящая к накоплению ПАУ-ДНК аддуктов в лейкоцитах у курильщиков. Изучение частоты генотипов и аллелей CYP1A1 гена в исследованиях Drakoulis N. и соавт. [32] выявило двукратное увеличение мутации A4889G у онкологических пациентов по сравнению со здоровыми субъектами (OR=2,16) (CI:0,96-5,11 P=0,033). Авторы проанализировали анамнез курения у пациентов больных раком легкого. Было обнаружено, что мутантные аллели встречались, главным образом, у некурящих (20%) (OR=7,52, P=0,006). Эта работа продемонстрировала связь риска возникновения рака легкого с мутацией A/G в гене CYP1A1. Кроме того, авторы показали, что гомозиготные носители такой мутации имеют повышенный риск возникновения рака легкого даже при таких слабых канцерогенных воздействиях, как пассивное курение.

На большой группе больных раком легкого и здоровых Le Marchand L. и соавт. [58] также исследовали генетический полиморфизм двух областей гена CYP1A1: в сайте действия эндонуклеазы рестрикции MspI и в 7 экзоне, где произошла замена А на Г. С целью повышения достоверности исследования авторы использовали второй контроль: одновременно изучали ген GSTM1 как известный генетический маркер предрасположенности к мелкоклеточному раку легкого (МкРЛ). Авторы изучили 341 образец ДНК пациентов больных раком легкого и 456 образцов ДНК, выделенных из лимфоцитов периферической крови здоровых людей. Группы были тщательно подобраны с уче-

том не только пола, возраста, этнического происхождения, но и социального положения, и особенностей питания. Было показано, что частота мутаций как в MspI-сайте, так и в 7 экзоне гена CYP1A1 у больных раком легкого всех гистологических типов, кроме мелкоклеточного, сходна с частотой, выявленной в контрольной популяции. У пациентов с МкРЛ при наличии мутантных аллелей в MspI-сайте риск МкРЛ возрастал в 2,4 раза и в 3 раза, если у пациента наблюдалась делеция в гене GSTM1. Таким образом, используя большую выборку обследованных, авторам удалось установить связь между наличием “неблагоприятных” MspI-аллелей гена CYP1A1 и предрасположенностью к МкРЛ. Частота вариантных аллелей с мутацией A4889G в данном гене у пациентов с МкРЛ также была выше, чем в контрольной группе, хотя не достигала статистически значимых различий.

В другом исследовании Le Marchand L. и соавт. [57] использовали базу данных International Collaborative Study on Genetic Susceptibility to Environmental Carcinogens (GSEC) и исследовали модифицирующее влияние курения на риск развития рака легкого на большой группе участников, в которую входили 1950 онкологических больных и 2617 контрольных индивидуумов. Применив мета-анализ, авторы показали, что у гетерозиготных и гомозиготных носителей мутации A4889G в гене CYP1A1 риск рака легкого повышен (OR=1,15 CI 0,95-1,39; OR=1,50 CI:0,97-1,46, соответственно), а наблюдаемые различия статистически достоверны (P=0,03). Авторы указали также, что у европейцев по сравнению с азиатами риск возникновения ПкРЛ выше, чем аденокарцином (АК).

В серии работ, выполненных Kawajiri K. и соавторами [52], была изучена связь между наличием мутаций в MspI-сайте гена CYP1A1 и риском возникновения рака легкого. Присутствие данной мутации определяли в образцах ДНК 151 больного раком легкого и 375 здоровых. В контрольной группе у 44% обследованных мутации не выявили. У 45% обнаружили гетерозиготный и у 11% – гомозиготный генотипы с мутацией в этой области. Другая картина наблюдалась при изучении онкологических больных. Мутация в 2-х аллелях этого гена была обнаружена у 21% обследованных, что в 2 раза превышало значения, полученные в контрольной группе. Частота распределения генотипов у больных с опухолями других локализаций (желудка, толстой кишки, молочной железы) была аналогична здоровой популяции. Эти авторы изучали также мутацию A4889G в указанном гене. Оказалось, что у носителей вариантных аллелей предрасположенность к раку легкого возрас- тала в

3,3 раза. Авторы обнаружили также, что у таких лиц опухоль может возникнуть при потреблении гораздо меньшего количества сигарет, чем у лиц, не имеющих мутации.

Однако существуют данные, отрицающие значение мутаций в гене CYP1A1 для риска возникновения рака легкого. Так, не обнаружили связи между полиморфным генотипом MspI/CYP1A1 и риском возникновения рака легкого в работе Shields P. и соавт. [74], изучавших афроамериканскую и белую популяции. Исследование проводилось на 56 больных раком легкого и сходных по возрасту, полу, социальному положению 46 индивидуумах, составляющих 2 контрольные группы. В одну группу входил 31 человек с хроническими обструктивными заболеваниями легкого и курильщики, потребляющие более 40 пачек/год, в другую – 15 онкологических больных без рака легкого. Было обнаружено, что у афроамериканцев мутантные аллели среди пациентов больных раком легкого встречались чаще, чем у белых. Однако небольшая выборка внутри каждой группы не позволила обнаружить статистически значимых различий между больными раком легкого и контролем.

Изучение связи риска рака легкого с полиморфизмом гена CYP1A1 на японской популяции, проведенное Kihara M. и соавторами, также не выявило различий в частоте мутаций как в MspI-области, так и в 7 экзоне у больных раком легкого и здоровых лиц [54]. Гомозиготный ген с мутациями в MspI-сайте и 7 экзоне встречались у больных раком легкого по сравнению с контролем в 16,5% vs. 17,8% и 5,3% vs. 6,0%, соответственно. В этой же работе авторы показали, что комбинация нулевого варианта гена GSTM1 с мутантным генотипом MspI/CYP1A1 увеличивает риск возникновения ПкРЛ и МкРЛ у курящих мужчин в 16,4 раза, а при наличии мутаций в обоих сайтах гена CYP1A1 – в 21,9 раз.

Таким образом, данные литературы о встречаемости мутаций в гене CYP1A1 неоднозначны. Расхождение результатов исследований у разных авторов может быть связано с изучением различных этнических групп. Так, в исследованиях, выполненных на норвежской и финской популяциях, показана низкая представленность гомозиготных мутантных аллелей у здоровых (1,15%-1,6%, соответственно) [39, 86]. У здоровых белых американцев те же аллели встречались в 2,1%-6,2% [56,74]. В то же время, в японской популяции у здоровых варианты MspI-аллели выявлялись у 11%-17,8% обследованных [52, 54]. Как показали исследования, у европейцев гомозиготный geno-

тип с мутацией в MspI-сайте обнаруживали в 5-10 раз реже, чем у азиатов. В связи с этим, для получения достоверных результатов при определении предрасположенности к раку легкого требуется 10-кратное увеличение выборки по сравнению с исследованиями на японской популяции.

Учитывая противоречивость данных о связи полиморфизма гена CYP1A1 с предрасположенностью к раку легкого, с помощью мета-анализа были проанализированы ранее опубликованные работы, вышедшие из разных научных лабораторий мира. Было установлено, что у носителей хотя бы одного мутантного аллеля в гене CYP1A1 риск рака легкого несколько повышается (OR=2,36 CI:1,16-4,81) [88].

В ряде работ, в том числе выполненных в лаборатории молекулярной онкологии НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова, было показано, что увеличение вариантных аллелей гена CYP1A1 характерно для определенной нозологической единицы опухолей легких – ПкРЛ. Курение оказывает влияние на риск возникновения опухолей легкого того же типа. Соответственно, у больных ПкРЛ выявлена связь между наличием в генотипе CYP1A1 мутантных аллелей и возрастанием риска таких опухолей при курении [2, 66]. Такой закономерности у пациентов с АК не отмечено. У некурящих пациентов с АК-носителей вариантных аллелей риск развития данного онкологического заболевания возрастал по сравнению с носителями аллелей дикого типа (OR=2,7). Однако модифицирующего влияния курения на риск возникновения АК не было обнаружено ни у курящих носителей аллелей дикого типа (m1), ни мутантных (m2) (OR=1,6) [19, 26].

Изучение механизмов канцерогенеза показало, что превращение нормальных клеток в злокачественные сопровождается повышенным уровнем мутаций в гене-супрессоре p53. В этой связи представляется важным обнаружение большего количества мутаций в этом гене у пациентов с ПкРЛ, чем у больных с АК. Как известно, уровень мутаций в гене p53 влияет на взаимодействие бенз(а)пирен-7,8-диол-9,1-эпоксида (БПДЕ) с гуанином горячих кодонов, характерных для рака легкого [9; 31]. Наличие мутантных аллелей в гене CYP1A1 и связанная с ними повышенная активность АГГ приводит к увеличению БПДЕ- ДНК аддуктов и как следствие – мутаций в p53 [72].

Таким образом, данные литературы и наши исследования свидетельствуют о возможности использования сведений о полиморфизме гена CYP1A1 при оценке индивидуальной предрасположенности к раку легкого, особенно к его плоскоклеточному типу.

### **Полиморфизм глутатион-S-трансферазы M1 и предрасположенность к раку легкого**

Глутатион-S-трансферазы – мультифункциональные белки, катализирующие реакцию между глутатионом и электрофильными компонентами. В суперсемействе глутатион-S-трансфераз выделяют 5 семейств, обозначенных как  $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\pi$ ,  $\theta$  и микросомальные глутатион-S-трансферазы. Глутатион-S-трансферазы разных семейств катализируют различные субстраты и контролируются несколькими генами, расположенными на разных хромосомах: GST  $\alpha$  локализована на 6 хромосоме (6p12), GST  $\mu$  – на 1 (1q 13), GST  $\pi$  – на 11 (11q13), GST  $\theta$  – на 22 (22q11), на хромосоме 12 – микросомальная GST.

Семейство GST класса  $\mu$  представлено кластером из 5 генов: GSTM1, GSTM2, GSTM3, GSTM4, GSTM5, обладающими одними путями регуляции экспрессии. Полиморфизм гена GSTM1 существует в необычной форме – в виде делеции аллеля. Носительство двух делецированных аллелей называется нулевым генотипом и в разных этнических и расовых группах выявляется у 25-55% обследуемых. В частности, у европейцев процент носителей GSTM1 (0)- аллелей составляет 51-54%, реже (43-44%) такой вариант генотипа встречается у японцев, и приблизительно в 1,5 раза реже данный аллель наблюдается среди афро-американцев (25-34%) [26, 59].

В связи с тем, что глутатион-S-трансфераза M1 участвует в инактивации целого ряда канцерогенов, рядом авторов было высказано предположение о том, что индивидуумы с нулевым вариантом GSTM1 гена обладают повышенной предрасположенностью к целому ряду онкологических заболеваний, индуцированных канцерогенами окружающей среды, такими как курение, экспозиция с асбестом или ультрафиолетом, агрохимические удобрения (рак легкого, рак мочевого пузыря, рак кожи) [74, 75, 81]. Повышенный риск онкологических заболеваний у носителей генотипа GSTM1(-) связан с низкой активностью фермента GSTM1. Значительное количество канцерогенов из окружающей среды по системе кровотока попадает в другие органы, в том числе в печень. Здесь происходит их активация соответствующими ферментами. Поступая в кровь, активированные канцерогенные вещества могут вызывать развитие рака других локализаций. В подтверждении этой гипотезы приводятся данные о том, что канцерогенные электрофильные метаболиты у индивидуумов с генотипом GSTM1(-) попадают из печени в кровоток в значительно большем количестве, чем у носителей GSTM1(+). Кроме того, показана ассоци-

ация между GSTM1(-) генотипом и увеличенным риском злокачественных опухолей других органов, таких как мочевой пузырь, простата, опухоли головы и шеи, а также меланомы [38, 50].

Однако наибольший интерес онкологов привлек генотип GSTM1(-) как ген, причастный к риску рака легкого. Так, Nakajima T. и соавт. [65] исследовали активность GST в ткани легкого и показали, что наиболее высокая активность глутатион-S-трансфераз выявлена в реснитчатом эпителии бронхов. Низкая активность фермента, связанная с отсутствием соответствующих аллелей в кодирующем его гене, может быть благоприятна для развития плоскоклеточного рака легкого из клеток эпителия бронхов. Строгая ассоциация между нулевым генотипом GSTM1 и риском рака легкого наблюдалась в исследованиях, выполненных на японской, европейской и афро-американской популяциях [1, 23, 25, 26, 35, 40, 54, 62, 64]. Однако London S. и соавт. [59], изучавшие такую связь на 356 больных раком легкого и 716 здоровых, не выявили подобной закономерности, хотя и отметили повышенный риск рака легкого у малокурящих. Следует отметить обобщающую работу, опубликованную Houlston R.S. [41]. Автор проанализировал 23 публикации, в которых была рассмотрена связь риска возникновения рака легкого и статуса GSTM1, определяемого как фенотипически, так и генотипически. Объединив результаты 4-х функциональных исследований, автор выявил ассоциацию риска рака легкого с низкой ферментативной активностью GSTM1 (OR=2,54 CI:1,74-3,72). В то же время, в генотипических исследованиях риск возникновения рака легкого, связанный с делецией GSTM1 гена, был ниже (OR=1,13 CI:1,03-1,25). Для различных этнических групп эта величина варьировала от 1,08 (CI:0,97-1,22) у европейцев до 1,38 (CI:1,12-1,69) у азиатов. В результате проделанной работы автор приходит к заключению, что статус GSTM1 не влияет на риск возникновения рака легкого.

В аналогичном исследовании, опубликованном в 2002 году, были суммированы данные 43 работ, взятых из Medline, в которых изучалась связь полиморфизма гена GSTM1 с предрасположенностью к раку легкого [26]. Авторы проанализировали данные о 7463 пациентах, больных раком легкого, и 10789 контрольных участников. Результаты показали небольшое увеличение риска рака легкого при делециях аллелей в GSTM1 гене (OR=1,17 CI:1,07-1,27). Попытки поиска причин расхождения результатов между исследованиями разных авторов оказались безуспешными.

Причины расхождения результатов могут быть

связаны с различным распределением аллелей в разных этнических группах. Так, встречаемость Dral-аллелей у представителей белых и афроамериканцев различалось незначительно: гомозиготный общий аллель присутствовал у 93% и 87%, а минорный – у 7% и 13% обследованных, соответственно [22, 40]. На японской популяции эти значения были равны 69% и 31%, соответственно [51]. Полученные различия были статистически достоверны ( $P < 0,05$ ). Другая причина расхождения результатов может быть обусловлена несбалансированностью групп по полу и возрасту [33]. С другой стороны, среди здоровых доноров 40-50% могут являться “потенциальными” онкологическими больными [71]. Следовательно, различия в реальной генетической предрасположенности между группами здоровых доноров и больными раком легкого не всегда выражены в достаточной степени.

Поэтому в молекулярно-эпидемиологических исследованиях, выполненных в лаборатории молекулярной онкологии НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова, использовалась дополнительная контрольная группа лиц пожилого возраста, не имеющих онкологических заболеваний – “онкологически-толерантная” группа. Так, в работе Белогубовой Е.В. и соавт. [1] была показана ассоциация между отсутствием аллелей в GSTM1 гене и предрасположенностью к раку легкого. Частота GSTM1 нулевого варианта у больных с опухолями легкого выявлялась в 59% случаев, а у здоровых – в 53%. Как следует из этих данных, наблюдаемые различия были невелики и не достигали порога статистической значимости. Пытаясь прояснить ситуацию, авторы в отличие от традиционных исследований “опыт-контроль” использовали дополнительную контрольную группу – доноров старше 75 лет [23]. Этим индивидуумов, доживших до преклонного возраста без развития неоплазм, можно считать толерантными к возникновению злокачественных заболеваний. Данный подход показал, что различия в частоте генотипа GSTM(-) при сравнении группы больных с группой пожилых доноров более значительны, чем при сравнении этих же пациентов с традиционной группой сравнения (средневозрастные доноры). Таким образом, применение адекватной контрольной группы позволило выявить положительную связь между риском возникновения рака легкого и нулевым вариантом генотипа GSTM1.

Benhamou S. и соавт. [26] пытались также выяснить роль GSTM1 как модификатора риска рака легкого в связи с курением. Был проведен анализ 9500 участников из 21 исследования

“случай-контроль”, данные о которых были получены из International Collaborative Study on Genetic Susceptibility to Environmental Carcinogens (GSEC). Результаты исследований не обнаружили увеличения риска рака легкого у курильщиков-носителей генотипа GSTM1(-).

Учитывая то обстоятельство, что рак легкого возникает при сочетанном влиянии наследственности (генетический полиморфизм) и факторов внешней среды (курение), изучение группы некурящих позволяет подчеркнуть роль генетического фактора в риске развития опухолей легкого. Такое исследование было предпринято по заказу Международного Агентства по изучению рака (МАИР). Авторы проанализировали генотипы гена GSTM1 122 некурящих пациентов больных раком легкого и 121 здорового. Было найдено, что частота нулевого варианта GSTM1 у некурящих сходна с частотой генотипов, встречающихся у курящих. Однако авторы делают оговорку, что в данном случае нельзя исключить влияние пассивного курения на риск возникновения рака легкого [61].

Рядом исследователей была предпринята попытка установить связь носительства нулевого генотипа GSTM1 с гистологическим типом рака легкого. El-Zein R. и соавт. [34], изучавшие частоту распределения генотипа GSTM1(-) у 22 пациентов с плоскоклеточным раком легкого и у 26 с аденокарциномой легкого, обнаружили, что такой вариант генотипа встречался у 9 (40,9%) обследованных с плоскоклеточным раком легкого против 10 (39,5%) – с аденокарциномой. Аналогичное распределение генотипа GSTM1 (-) у больных раком легкого наблюдалось и у Houlston R. [41]. Таким образом, различий в частоте встречаемости пациентов с плоскоклеточным раком легкого и аденокарциномой в зависимости от генотипа GSTM1 не выявлено.

Существование универсального механизма повышения уровня канцерогенных метаболитов не только в тканях-мишенях (легочная ткань), но и в других органах, определяет актуальность изучения полиморфизма GSTM1 гена не только при оценке риска развития рака легкого, но и других неоплазм.

Изучение “слабых” факторов генетической предрасположенности является трудной задачей, так как выявление “пограничных” отклонений требует безукоризненного дизайна эксперимента. [63]. Традиционный путь к улучшению информативности выводов состоит в увеличении численности сравниваемых групп. Тем не менее, подобное экстенсивное расширение исследования не всегда приносит результаты, адекватные затратам

времени и ресурсов, особенно если анализируется какой-либо новый полиморфизм. Альтернативный подход подразумевает повышение демонстративности данных за счёт более жёсткого отбора пациентов и контролей. В частности, многие исследователи пытаются максимально сбалансировать сравниваемые группы по таким параметрам, как пол, возраст, экспозиция к канцерогенам и т.д. [73]. В работах, исходящих из лаборатории молекулярной онкологии НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова [8,23,87], авторы предложили новую стратегию, включающую сопоставление когорт с экстремальными характеристиками онкологического риска. Онкологически-толерантная группа была представлена пожилыми донорами, в т.ч. пожилыми донорами-курильщиками. Онкологически-предрасположенную группу составляли больные раком легкого. Следует оговориться, что, к сожалению, авторам не удалось привлечь к исследованию достаточного числа некурящих больных раком легкого, которые, очевидно, иллюстрируют наибольшую степень генетической восприимчивости к данному заболеванию. Здоровые доноры в настоящем эксперименте играли роль популяционного стандарта. Авторы предполагали, что если статус GSTM1 действительно играет роль в формировании предрасположенности к раку легкого, то различия в частотах GSTM1-генотипов будут наиболее выраженными между больными раком легкого (особенно некурящими) и пожилыми донорами (особенно курящими), а здоровые доноры будут занимать промежуточное положение по этому показателю. Эта предпосылка полностью подтвердилась экспериментальными данными. Более того, сравнение больных раком легкого с пожилыми донорами оказалось более эффективным, чем традиционное сопоставление пациентов и здоровых доноров.

Результаты авторов о роли полиморфизма GSTM1 в предрасположенности к раку легкого хорошо согласуются с аналогичными работами, как в качественном, так и в количественном аспектах. Действительно, большинство исследователей обнаруживает некоторую ассоциацию между GSTM1-дефицитом и риском развития рака легкого. Однако, эта ассоциация весьма слаба, поэтому сравнение больных раком легкого и здоровых доноров редко позволяет получить статистически достоверные результаты, и вывод о причастности GSTM1 делается скорее на совокупном анализе десятков молекулярно-эпидемиологических исследований, чем на основе каких-либо отдельных публикаций [21]. В работе Белогубовой Е.В. [1] больные раком легкого также не продемон-

стрировали достоверных отклонений от здоровых доноров, хотя тенденция к преобладанию GSTM1-негативного варианта, безусловно, наблюдалась. Однако, привлечение к сравнительному анализу дополнительной, онкологически-толерантной контрольной группы – пожилых доноров – позволило получить статистически значимые результаты [2].

В заключении можно отметить, что данные лаборатории молекулярной онкологии НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова [8,23,87] подтверждают протекторную роль GSTM1, GSTM1(+) генотип, по всей видимости, увеличивает шансы дожить до преклонного возраста без каких-либо онкологических патологий. Более того, авторы показали целесообразность использования дополнительной контрольной группы, а именно пожилых онкологически здоровых доноров для изучения слабых факторов предрасположенности к неоплазиям.

#### *Комбинация генотипов CYP1A1 и GSTM1 и предрасположенность к раку легкого*

Исследователи пытались также обнаружить влияние двух полиморфных генов CYP1A1 и GSTM1 на риск возникновения рака легкого. Интерес к комбинации этих генов связан с тем, что мутантный ген CYP1A1 кодирует высокоиндуцибельный фермент АГГ, активирующийся под воздействием ПАУ табачного дыма. В то же время, генотип GSTM1(O) кодирует одноименный фермент с низкой детоксикационной активностью. Такое сочетание приводит к накоплению в легочной ткани активных канцерогенов, что значительно повышает риск онкологического заболевания этого органа [42].

Так, Alexandrie A. и соавт. [19] на шведской популяции выявили связь риска рака легкого, особенно ПкРЛ, с наличием редкого аллеля MspI/CYP1A1 и делеции в GSTM1 гене. В контрольной группе такая комбинация генов встречалась у 16%, у пациентов больных раком легкого – у 17%, с ПкРЛ – у 28% обследованных. Исследование комбинации генотипа GSTM1(-) и мутаций в гене CYP1A1 на японской популяции также показало заметное увеличение риска рака легкого. Так, если CYP1A1 был представлен гетерозиготой (mlm2), то риск рака легкого повышался в 16,4 раза, при гомозиготе (m2m2) – в 21,9 раза [54]. В другой работе, также выполненной на японской популяции, авторы выявили предрасположенность к раку легкого у лиц с делеционным генотипом GSTM1 и носителей двух мутаций в CYP1A1 гене: одна в MspI-сайте, другая – связанная с заменой А на G.

Авторы выяснили, что больные раком легкого с такими изменениями в генах курили значительно меньше пациентов, имеющих изменения в каком-то одном из генов, однако не избежали онкологического заболевания [64]. Синергизм у носителей двух упомянутых выше мутаций наблюдали на французской и китайской популяциях [29, 82].

Исследование о сочетанном влиянии генов CYP1A1 и GSTM1 на риск развития рака легкого, проведенное в лаборатории молекулярной онкологии НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова, показало, что комбинация m2-содержащего генотипа CYP1A1 и “дефицитного” варианта GSTM1 увеличивает риск рака легкого в два раза, чем каждый из перечисленных полиморфизмов в отдельности [8, 24].

В ряде работ было выявлено, что генетические различия для рака легкого у курильщиков были более заметны при низкой дозе потребления сигарет (курительный индекс < 800), чем при высокой (> 800) [52, 54, 59, 74]. Кроме того, было показано, что риск рака легкого, возрастающий у пассивного курильщика при курении одного из супругов на 16% и на 15% в присутствии курильщиков на работе, уменьшается, если курят и дома, и на работе [27]. Таким образом, видно, что способность ряда наследственных факторов модифицировать влияние курения на риск развития рака легкого выражена только при умеренном потреблении сигарет. У тяжелых курильщиков носительство “благоприятных” генных вариантов неспособно смягчить негативный эффект курения. Экспозиция малыми дозами канцерогена, с какими встречаются некурящие, позволит точнее оценить роль генетических факторов в развитии рака легкого. В современном обществе число некурящих – как среди здоровой популяции, так и среди больных раком легкого – значительно меньше курящих. Для получения статистически адекватных сопоставлений это обстоятельство создает дополнительные трудности при подборе рандомизированных групп в исследованиях по схеме “случай-контроль”. Следует отметить также, что пенетрантность генов, кодирующих ферменты, вовлеченные в метаболизм канцерогенных веществ, мала, что также затрудняет получение статистически достоверных различий.

Чтобы избежать такого рода трудностей и иметь возможность исследовать большие популяции, была создана International Collaborative Study on Genetic Susceptibility to Environmental Carcinogens (GSEC). В этой группе участвуют ведущие специалисты, сфера интересов которых – изучение риска возникновения опухолей под влиянием

канцерогенов окружающей среды. Сотрудники использовали опубликованные такого рода сведения, суммировали их, рандомизировали и подвергали статистической обработке. Так, Hung R. и соавт. [43] собрали сведения из 14 опубликованных работ и попытались оценить связь риска развития рака легкого у некурящих европейцев с полиморфизмом генов CYP1A1 и GSTM1. После рандомизации данных и исключения тех, кто не соответствовал тесту Egger, в группу пациентов больных раком легкого включили 302 человека, в контрольную – 1631 (здоровые и пациенты с обструктивными хроническими заболеваниями легкого – ОХЗЛ). Выполненные авторами расчеты показали, что полиморфный генотип MspI/CYP1A1 не влиял на предрасположенность к раку легкого (OR=1,0 CI:0,775,43). Однако сочетание мутантного генотипа MspI/CYP1A1 и нулевого варианта GSTM1 повышало риск рака легкого (OR=2,44 CI:0,94 6,35).

Таким образом, оценка комбинации генов, кодирующих ферменты фазы I и фазы II метаболизма ксенобиотиков, определяет актуальность дальнейшего изучения данной проблемы в плане оценки индивидуального риска новообразований не только легких, но и других органов.

В связи с тем, что рак – мультифакторное и многостадийное заболевание, очевидно, что предрасположенность к нему не может быть сведена к изменениям только упомянутых генов CYP1A1 и GSTM1. В то же время, по имеющимся на сегодняшний день сведениям об участии продуктов этих генов – арилгидроксикарбонгидроксилазы и глутатион-S-трансферазы – в инициации процесса злокачественной трансформации могут служить отправной точкой в изучении сложных механизмов канцерогенеза и определении индивидуальной предрасположенности к новообразованиям.

#### ***Кодированные полиморфизмы генов апоптоза в риске возникновения рака легкого***

Апоптоз играет важную роль в гибели клеток с поврежденным ДНК, что защищает организм от развития рака. Некоторые данные указывают, что нормальные вариации в цепи апоптозных генов могут привести к субоптимальному функционированию систем программируемой клеточной гибели и, следовательно, к увеличению риска развития рака. Предполагается, что лица с субоптимальным функционированием систем программируемой клеточной гибели могут иметь повышенную предрасположенность к раку легкого вследствие неполноценной элиминации мутированных

клеток. Изучение полиморфных участников генов апоптоза остается пока на начальном этапе [48].

Хотя рак легкого не является частью высоко пенетрируемого одногенного ракового синдрома, нормальные генетические вариации у человека вполне вероятно играют существенную роль в восприимчивости к заболеванию. К примеру, неблагоприятные комбинации одного нуклеотида гена полиморфизма (SNPs), вовлеченные в метаболизм канцерогенов табачного дыма, выявили высоко модифицирующий риск рака легкого. В настоящее время проводится систематическое изучение причастности генов репарации ДНК и апоптоза к формированию риска рака легкого [8, 48, 55, 73].

Другой класс полиморфных кандидатов, которые требуют внимания, составляют гены, участвующие в апоптозном ответе к повреждению ДНК. Было предположено, что отсутствие суицидального ответа в результате угнетения репарации структуры ДНК может способствовать возникновению новых онкоассоциированных мутаций, ведущих к развитию рака. Некоторые фенотипические исследования показали ассоциацию между низким функционированием систем программируемой клеточной гибели и высоким риском развития рака, но также были представлены отрицательные доклады. Есть доклады, описывающие разную локализацию апоптических генов SNPs у пациентов больных раком легкого, но широкие систематические исследования в данном направлении нуждаются в продолжении [45, 48, 67, 77, 84].

Исследование было направлено на анализ ассоциаций между кодирующими SNPs в генах апоптоза и предрасположенностью к раку легкого. Предварительный отбор кандидатов SNPs был проведен сравнением субъектов с «экстремальными» уровнями предрасположенности и толерантности к раку легкого. Группа больных раком легкого была составлена из некурящих пациентов, или с малой экспозицией к курению в сочетании с ранним возрастом установления заболевания. Ожидалось, что реальные аллели риска будут иметь выраженную гиперпрезентацию в данной группе пациентов, хотя действительную степень данного эффекта сложно определить. Исследования по предрасположенности к раку молочной железы доказали, что возможность определения вариантов, предрасполагающих к раку молочной железы, повышена в несколько раз у выбранных категориях пациентов [49]. Однако, схожие подсчеты частоты аллелей, ассоциированных с большим риском рака легкого, против экологической группы больных раком легкого более сложны из-за нехватки хорошо доказанных ген-заболевание

взаимодействий и соответствующих данных наборов случай-контроль. С другой стороны, исследования рака легкого имеют уникальную возможность обогащения категории контроля пациентов. Недавние наблюдения указывают, что курящие имеют пониженный шанс достигнуть зрелого возраста без заболевания рака легкого [70]. В настоящее время точное прогнозирование уровня эффекта очень сложно, в результате заболеваний, связанных с курением, и разной продолжительностью жизни в разных географических регионах. Тем не менее, некоторые авторы будут ожидать выраженную деплецию, предрасполагающую к развитию риска генотипов рака легкого, в группе пожилых здоровых доноров, сильно курящих. Данные допущения  $OR=3$  и  $p<0.1$  могут быть рассмотрены как возможный порог в стадии «сравнения крайностей», и в работе Ulybina Yu. M. et al. [87] авторы имели достаточно возможностей определения SNP кандидатов для расширенного исследования.

Три SNPs были определены методом «сравнения крайностей» (Casp5 Val318 Leu, Casp8 His302 Asp и DR4 Lys441 Arg). Примечательно, что все три перечисленных генотипа продемонстрировали  $OR >1$  как в российской, так и в молдавской группах «случай-контроль». Однако, ассоциации, выявленные в ходе комбинированного анализа по Mantel-Haenszel, не достигли уровня статистической значимости. Биологическая функция протеина caspase-5 вполне понятна. Caspase-5 имеет определенную роль в разных аспектах воспаления [60]; в дополнение Casp5 ген был неоднократно выявлен как цель мутации в наборе человеческих раков [76]. В сравнении, роль caspase-8 в программируемой клеточной гибели была исследована на достаточно высоком уровне. Интересно, что носители His-аллелей для Casp8 His302 Asp были доложены, как имеющие малый риск развития рака молочной железы [30]. DR4 служат связью лиганд-индукцией апоптоза; некоторые данные указывают, что DR4 может быть вовлечен в предрасположенность к развитию опухоли [36].

Если Ulybina Yu. M. et al. [87] полагают, что данный полиморфизм безоговорочно предрасполагает к развитию рака легкого с  $OR=1.2$ , для доказательства данной ассоциации авторы должны провести анализ 3000 случаев рака легкого и 3000 контролей.

Коллекция такого размера, на сегодняшний день, не может быть собрана в одном институте, но может быть охвачена в мультицентрических исследованиях [43]. Кроме размера набора другое потенциальное ограничение исследования связано с методикой выбора SNP. Исследование Ulybina

Yu. M. et al. [87] опирается на список кодирующих несинонимичных SNPs в апоптозных генах, составленный в 2005 году [48]. Число идентифицированных SNPs продолжает расти в результате систематических исследований, и есть новые интересные кандидаты, которые должны быть изучены, кроме запланированных в исследовании. Например, NCBI SNP база данных (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>) содержит некоторые новые доказанные кодирующие полиморфизмы, которые характеризуются сравнительно высокой частотой (>5%), и тем не менее притягивают внимание на первый взгляд [Boo Arg21Leu(rs2231292), Casp 1 His15Arg(rs1042743), Casp7 Glu4Asp(rs11593766), Casp 9 Arg176Gly(rs2308949), DcR2 Pro345Thr(rs34622674), DcR2 Ser310Leu(rs1133782), FasL Val266Leu(rs35178418), XIAP Phe133Ser(rs28382722)]. Более того, функциональное влияние не кодирующих генов полиморфизма менее понятно по сравнению с SNPs, несомненно, что отношение генотип – фенотип не ограничено только аминокислотной вариацией. Интересно, что недавно проведенные широкомасштабные геномные анализы рака, ассоциированного SNPs, привели к идентификации нескольких связанных с риском полиморфизмов, включая некоторые, находящиеся по соседству апоптозных генов, без связи в цепи аминокислот, были уже представлены [77, 80]. Не кодирующие апоптоз SNPs гены не были рассмотрены в данном исследовании. И наконец, эти исследования не рассматривали значение SNPs комбинаций в определении предрасположенности к заболеванию. Возможно, что определенные SNPs изменяют предрасположенность к раку только в частном генетическом контексте, однако более многочисленный набор образцов и широкий подгрупповой анализ необходим для выявления токовых ген-ген взаимодействий.

Наличие множества подтипов рака также усложняет исследования детерминирующих патологии SNPs. Рак легкого может служить особенно ценным примером таких типов сложностей. Некоторые исследователи также давно обсуждают специфические особенности рака легкого у некурящих; этот подтип рака легкого считается действительно особенным заболеванием. Недавние клинические исследования ингибиторов (gefitinib или erlotinib) эпидермального фактора роста (EGFR) привели к идентификации ранее неизвестных внутригенных мутаций в гене EGFR, который ассоциирован с выраженным опухолевым ответом на лечение. Интересно, что данные мутации показали выраженную зависимость возникновения рака легкого у некурящих больных,

однако gefitinib и erlotinib показали более высокую терапевтическую эффективность рака легкого у некурящих по сравнению с курящими. Это неожиданное клиническое открытие привлекло пристальное внимание на сравнение молекулярных особенностей опухолей легких у некурящих по сравнению с курящими. Есть некоторые свидетельства, указывающие на то, что не связанный с курением рак легкого может развиваться под воздействием совершенно других механизмов, и соответственно опосредован отдельными группами факторов риска [83, 85]. В работе Ulybina Yu. M. et al. [87] авторы предложили новую стратегию, включающую сопоставление когорт с экстремальными характеристиками онкологического риска. Онкологически-толерантная группа была представлена пожилыми донорами, в том числе пожилыми донорами-курильщиками. Онкологически-предрасположенную группу составляли больные раком легкого. Однако некоторые авторы не исключают возможность более глубокой категоризации рака легкого, что возможно будет востребовано в будущих молекулярно-эпидемиологических исследованиях. В данном контексте авторы могут сделать параллель с более изученными типами рака, т.е. раком молочной железы (РМЖ). Недавние исследования указывают на то, что данное заболевание состоит из нескольких молекулярных вариантов, и, поразительно, что эстроген-зависимый рак молочной железы, кажется, имеет различные особые факторы риска по сравнению с гормон-независимым заболеванием [63, 80].

Исследование Ulybina Yu. M. et al. [87] включало 2-этапный дизайн для системного анализа кодирующих несинонимичных SNPs-апоптозных генов. Три генотипа (Leu/Leu гомозиготы для Casp5 Val318Leu полиморфизм, His носители для Casp8 His302 Asp полиморфизм и Arg носители для DR4 Lys441Arg полиморфизм) продемонстрировали ассоциацию с риском рака легкого в ходе предварительного сопоставления «экстремальных» групп онкологической предрасположенности и толерантности. Примечательно, что все три перечисленных генотипа продемонстрировали  $OR > 1$  как в российской, так и в молдавской группах случай–контроль. Хотя ассоциации, выявленные в ходе комбинированного анализа по Mantel–Haenszel, не достигли уровня статистической значимости, полученные данные показывают на целесообразность широкомасштабного генотипирования полиморфизмов генов Casp5, Casp8 и DR4 в рамках существующих международных консорциумов.

В заключении следует отметить, что на осно-

вании данных литературы и наших исследований вывод об участии генетических факторов в развитии рака легкого вполне логичен. Из изложенного выше ясно, что одним из достижений в области изучения рака легкого следует признать доказательство его этиологической гетерогенности, то есть существование наследственных и ненаследственных патогенетических вариантов заболевания даже в рамках одной и той же локализации. Поэтому идентификация наследственных форм рака легкого путем поисков надежных молекулярно-генетических маркеров является перспективным направлением и ставит одну из задач, решение которой следует признать основополагающим этапом медико-генетического консультирования с целью улучшения своевременной диагностики и результатов лечения.

В целом, на основе изучения генетических факторов предрасположенности к раку легкого появилась возможность ставить вопрос о ранней (доклинической) диагностике и профилактике данного заболевания путем организации специализированного медико-генетического консультирования.

Тестирование генов предрасположенности к раку легкого у клинически здоровых родственников больных раком будет иметь огромное значение, так как такой подход полностью изменит тактику медико-генетического консультирования, основная задача которого будет сводиться к выявлению лиц-носителей онкопатологических генов, предрасполагающих к развитию конкретных форм рака легкого, что, в свою очередь, позволит с научной обоснованностью проводить все этапы генетического консультирования, включая определение генотипов консультируемых, расчет риска развития рака легкого, раннюю диагностику и профилактику онкологических заболеваний в целом. Результаты внедрения такого подхода к ранней диагностике и профилактике рака легкого позволят рекомендовать его в качестве модели для создания в общей системе противораковой борьбы нового направления – системы онкологической помощи семьям,отягощенным злокачественными новообразованиями.

#### Литература

1. Белогубова Е.В., Того А.В., Кондратьева Т.В. с соавт. *Полиморфизм гена GSTM1 в группах предрасположенности и резистентности к раку легкого*. *Вопр. онкол.*, 2000, т. 46, с. 549-554.
2. Белогубова Е.В., Того А.В., Суворова И.К. с соавт. *Распределение аллелей гена CYP1A1 у больных раком легкого, доноров среднего возраста и пожилых*

*онкологически-здоровых индивидуумов*. *Вопр. онкол.*, 2004, т. 50, № 2, с. 165-168.

3. Гарькавцева Р.Ф., Казубская Т.П., Амосенко Р.А., с соавт. *Генодиагностика, прогнозирование развития и профилактика наследственных форм злокачественных заболеваний*. III съезд онкологов и радиологов СНГ, Минск, 2004, с. 58-63.

4. Давыдов М.И. с соавт. *Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ*. Вестник РОНЦ им. Блохина. РАМН №2, 2010, том 21, Приложение 1, с. 4-6.

5. Давыдов М.И. *Эволюция онкохирургии и ее перспективы*. III Съезд онкологов и радиологов СНГ, Минск, 2004, с. 36-42.

6. Давыдов М.И. с соавт. *Немелкоклеточный рак легкого (современные подходы к лечению)*. *Врач: ежемесячный научно-практический и публицистический журнал / Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова*, 2007, № 1, с. 24-27.

7. Залуцкий И.В., Аверкин Ю.И., Артемова Н.А. с соавт. *Основные тенденции динамики заболеваемости злокачественными новообразованиями в Республике Беларусь*. IV съезд онкологов и радиологов СНГ, избранные лекции и доклады, Баку, 2006, с. 52-56.

8. Имянитов Е.Н., Хансон К.П. *Молекулярная онкология: клинические аспекты*. Санкт-Петербург, 2007, 211 с.

9. Копнин Б.П. *Опухолевые супрессоры и мутаторные гены*. Канцерогенез, Москва, 2000, с. 75-92.

10. Мерабишвили В.М. *Злокачественные новообразования в Санкт-Петербурге*. Злокачественные новообр. на избранных территориях. Мин. здрав., НИИ онкологии, СПб, 2006, 40 с.

11. Напалков Н.П. *Демографический процесс и злокачественные заболевания*, III съезд онкологов и радиологов СНГ, Минск, 2004, с. 15-30.

12. Трахтенберг А.Х., Колбанов К.И. *Реконструктивные бронхопалстические операции при злокачественных опухолях легких*. 3-я Московская Международная конференция по торакальной хирургии – 2005, Москва, с.123-126.

13. Фогель Ф., Матульски А. *Генетика человека*. Пер. с англ. Москва: Мир, 1990, 366 с.

14. Харченко В.П., Чхиквадзе В.Д., Гваришвили А.А. *Реконструктивные операции в лечении опухолей легких*. 3-я Московская Международная конференция по торакальной хирургии, 2005, Москва, с.126-129.

15. Чиссов В.И. с соавт. *Злокачественные новообразования в России*. 2008, с. 172.

16. Чиссов В.И. с соавт. *Злокачественные новообразования в России*. 2009, с. 177.

17. Шуткин В.А. *Патогенетические варианты рака легкого*. Автореф. дис. докт. мед. наук. С., Петербург, 1994, 42 с.

18. Ahmedin J., Thun M. J., Lynn A. et al. *Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975 – 2005, Featuring Trends in Lung Cancer, Tobacco Use, and Tobacco Control*. J. Natl. Cancer Inst., 2008, vol. 100, p. 1672 – 1694.

19. Alexandrie A.K., Sundberg M.I., Seidegard J. et al. *Genetic susceptibility to lung cancer with special emphasis on CYP1A1 and GSTM1: a study on host factors in relation to age at onset, gender and histological cancer types*. Carcinogenesis, 1994, vol. 15, p. 1785-1790.
20. Bass A. J. et al. *SOX2 is an amplified lineage-survival oncogene in lung and oesophageal squamous cell carcinomas*. Nature Genet, 2009, vol. 10 (1038), p. 465.
21. Baranova H., Perriot J., Albuissou E. et al. *Peculiarities of the GSTM1 0/0 genotype in French heavy smokers with various types of chronic bronchitis*, Hum Genet, 1997, vol 99, p 822-826.
22. Bartsch H., Nair U., Risch A. et al. *Genetic polymorphism of CYP genes, alone or in combination, as a risk modifier of tobacco-related cancers*. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev, 2000, vol. 9, p. 3-28.
23. Belogubova E.V., Togo A.V., Karpova M.B. et al. *A novel approach for assessment of cancer predisposing roles of GSTM1 and GSTT1 genes: use of putatively cancer resistant elderly tumor-free smokers as the referents*. Lung Cancer, 2004, vol. 43, p. 259-266.
24. Belogubova E.V., Ulibina Yu.M., Suvorova I.K. et al. *Combined CYP1A1/GSTM1 at-risk genotypes are overrepresented in squamous cell lung carcinoma patients but underrepresented in elderly tumor-free subjects*. J. Cancer Res. Clin. Oncol., 2006, vol. 132, p. 327-331.
25. Belogubova E. V., Togo A. V., Kondratieva T. V et al. *GSTM1 genotypes in elderly tumour free smokers and nonsmokers* // Lung Cancer, 2000, vol. 154, p. 189-195.
26. Benhamou S., Lee W. J., Alexandrie A.K. et al. *Meta and pooled analyses of the effects of glutathione S-transferase M1 polymorphisms and smoking on lung cancer risk*. Carcinogenesis, 2002, vol. 23, p. 1343-1350.
27. Boffetta P., Agudo A., Ahrens W. et al. *Multicenter case-control study of exposure to environmental tobacco smoke and lung cancer in Europe*. J. Natl. Cancer Inst., 1998, vol. 90, p. 14401-14450.
28. Benjamin S., Smith G. L., Arti Hurria et al., *Future of Cancer Incidence in the United States: Burdens Upon an Aging, Changing Nation* Annals of Oncology, 2009, vol. 27 Nr. 17, p. 2758-2765.
29. Chen S., Xue R., Xu L. et al. *Polymorphisms of the CYP1A1 and GSTM1 genes in relation to individual susceptibility to lung carcinoma in Chinese population* // Mutat. Res.- 2001.- Vol. 458. -P.41-47.
30. Cox A., Dunning A. M. et al. *Breast Cancer Association Consortium, A common coding variant in CASP8 is associated with breast cancer risk*. Nat. Genet., 2007, vol. 39, p. 352-358.
31. Denissenko M.F., Pao A., Tang M.S. et al. *Preferential formation of benzo [a] pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in P53*. Science, 1996, vol. 274, p.430-432.
32. Drakoulis N., Cascorbi I., Brockmoller J., et al. *Polymorphisms in the human CYP1A1 gene as susceptibility factors for lung cancer: exon-7 mutation (4889 A to G), and a T to C mutation in the 3'-flanking region*. Clin. Invest., 2000, vol. 72, p. 240-248.
33. Dresler C.V., Fratelli C, Babb J. et al. *Gender differences in genetic susceptibility for lung cancer*. Lung Cancer, 2000, vol. 30, p. 153-160.
34. El-Zein R, Zwischenberger J.B., Wood T.G., et al. *Combined genetic polymorphism and risk for development of lung cancer*, Mutat Res., 1997, vol. 381, p. 189-200.
35. Ford J.G., Li Y., O'Sullivan M.M. et al. *Glutathione S-transferase M1 polymorphism and lung cancer risk in African Americans*. Carcinogenesis, 2000, vol. 21, p. 1971-1975.
36. Frank B., Hemminiki K., Shanmugan K.S., et al. *Association of death receptor 4 halotype 626C-683C with an increased Brest cancer risk*. Carcinogenesis, vol. 26, 2005, p. 1975-1977.
37. Gazdar A.F., Thun M.J. *Lung cancer; smoke exposure, and sex*. J. Clin. Oncol., 2007, vol. 25 (5), p. 469 – 471.
38. Geisler S.A., Olshan A.F. *GSTM1, GSTT1 and the risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: A miniReview*. Am.J.Epidemiol., 2001, vol. 154, p. 95-105.
39. Hirvonen A., Husgafvel-Pursiainen K., Anttila S. et al. *Polymorphism in CYP1A1 and CYP2D6 genes: possible association with susceptibility to lung cancer*. Environ. Health Perspectives, 1993, vol. 101 (Suppl. 3), p. 109-112.
40. Hirvonen A., Husgafvel-Pursiainen K., Anttila S et al. *The GSTM1 null genotype as a potential risk modifier for squamous cell carcinoma of the lung*. Carcinogenesis, 1993, vol. 14, p. 1479-1481.
41. Houlston R.S. *Glutathione-S-Transferase M1 status and Lung Cancer Risk*. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 1999, vol. 8, p. 675-682.
42. Hung R.J., Boffetta H., Brockmoller J. et al. *CYP1A1 and GSTM1 genetic polymorphisms and lung cancer risk in Caucasian nonsmokers: a pooled analysis*. Carcinogenesis, 2003, vol. 24, p. 875-882.
43. Hung R.J., McKay J.D. et al. *Susceptibility locus for lung cancer maps to nicotinic acetylcholine receptor subunit genes on 15q25*. Nature, 2008, vol. 452, p. 633-637.
44. Hayashi S., Watanabe J., Nakachi K. et al. *Genetic linkage of lung cancer-associated MspI polymorphism with amino acid replacement in the heme binding region of the human cytochrome P 450 1A1 gene*. J. Biochem., 1991, vol. 110, p. 407-411.
45. Jang J.S., Kim K.M., Kang K.H. et al. *Polymorphisms in the surviving gene and the risk of lung cancer*, Lung Cancer, 2008, vol. 60, p. 31-39.
46. Jaiswal A.K., Gonzalez F.J., Nebert D.W. *Human P450 gene sequence and correlation of mRNA with genetic differences in benzo (alfa) pyrene metabolism*. Nucleic Acids Res, 1985, vol. 13, p. 4503-4520.
47. Janssen-Heijnen M., Houterman S. et al. *Prognosis for long-term survivors of cancer*. Annals of Oncology, 2007, vol. 18, p. 1408-1413.
48. Imyanitov E., Hanson K., Zhivotovsky B. et al. *Polymorphic variations in apoptotic genes and cancer predisposition*. Cell Death Differ., 2005, vol. 12, p. 1004-1007.
49. Imyanitov E.N., Cornelisse C.J., Devilee P. et al.

*Searching for susceptibility alleles: emphasis on bilateral breast cancer.* Int. J. Cancer, 2007, vol. 121, p. 921-923.

50. Kanetsky P.A., Holmes R., Walker A et al. *Interaction of Glutathione S-Transferase M1 and T1 Genotypes and Malignant Melanoma.* Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 2001, vol. 10, p. 509-513.

51. Kato S., Shields P.G., Caharaso N.E. et al. *Cytochrome P450IIE1 Genetic Polymorphisms, Racial Variation, and Lung Cancer Risk.* Cancer Res., 1992, vol. 52, p. 6712-6715.

52. Kawajiri K., Egushi H., Nakachi K. et al. *Association of CYP1 A1 germ line polymorphisms with mutations of the P gene in lung cancer.* Cancer Res., 1996, vol. 56, p. 72-76.

53. Khalil A.M. et al. *Many human large intergenic noncoding RNAs associate with chromatin-modifying complexes and affect gene expression.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2009, vol. 106, p. 11667-11672.

54. Kihara M., Kihara M., Noda K. *Risk of smoking for squamous and small cell carcinomas of the lung modulated by combinations of CYP1A1 and GSTM1 gene polymorphisms in a Japanese population.* Carcinogenesis, 1995, vol. 16, p. 2331-2336.

55. Kiyohara C., Yoshimasu K., Takayama K. et al. *Lung cancer susceptibility: are we on our way to identifying a high-risk group.* Future Oncol., 2007, vol. 6, p. 617-627.

56. Kelsey K.T., Wiencke J.K., Spitz M.R. *A race-specific genetic polymorphism in the CYP1A1 gene is not associated with lung cancer in African Americans.* Carcinogenesis, 1994, vol. 15, p. 1121-1124.

57. Le Marchand L., Guo C., Benhamou S. et al. *Pooled analysis of CYP1A1 exon 7 polymorphisms and lung cancer (United States).* Cancer Causes Control, 2003, vol. 14, p. 339-346.

58. Le Marchand L., Sivaraman I., Pierce L et al. *Association of CYP1A1, GSTM1 and CYP2E1 polymorphisms with lung cancer suggest cell type specificities to tobacco carcinogens.* Cancer Res., 1998, vol. 58, p. 4858-4863.

59. London S.J., Daly A.K., Cooper J. et al. *Polymorphism of glutathione S-transferase M1 and lung cancer risk among African-Americans and Caucasians in Los Angeles County, California.* J. Natl. Cancer Inst., 1995, vol. 87, p. 1246-1253.

60. Martinon F., Tschopp J. *Inflammatory caspases and inflammasomes: master switches of inflammation.* Cell Death Differ., 2007, vol. 14, p.10-22.

61. Malats N., Camus Radon A.M., Nyberg F. et al. *Lung cancer risk of GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphism.* Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 2000, vol. 9, p. 827-833.

62. McWilliams J.E., Sanderson B.J., Harris E.L. et al. *Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) deficiency and lung cancer risk.* Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 1995, vol. 4, p. 589-594.

63. Millikan R.C., Newman B., Tse C.K. et al. *Epidemiology of basal-like breast cancer.* Breast Cancer Res. Treat., 2008, vol.109, p. 123-139.

64. Nakachi K., Imai K., Hayashi S. et al.

*Polymorphisms of the CYP1 A1 and glutathione-S-transferase genes associated with susceptibility of lung cancer in relation to cigarette dose in a Japanese population.* Cancer Res., 1993, vol. 53, p. 2994-2999.

65. Nakajima T., Elovaara E., Anttila S. et al. *Expression and polymorphism of glutathione S-transferase in human lungs: risk factors in smoking related lung cancer.* Carcinogenesis, 1995, vol. 16, p. 707-711.

66. Nan Song, Wen Tan, Deyin Xing et al. *CYP1A1 polymorphism and risk of lung cancer in relation to tobacco smoking: a case-control study in China.* Carcinogenesis, 2001, vol. 22, p. 11-16.

67. Park J.Y., Park J.M., Jang J.S. et al. *Caspase 9 promoter polymorphisms and risk of primary lung cancer.* Hum. Mol. Genet., 2006, vol. 15, p. 1963-1971.

68. Pasquini R., Sforzolini G.S., Cavaliere A. et al. *Enzymatic activities of human lung tissue: relationship with smoking habits.* Carcinogenesis, 1988, vol. 9, p. 1411-1416.

69. Peterson D.D., McKinney C.E., Ikeya K. et al. *Human CYP1 A1 gene: cosegregation of the enzyme inducibility phenotype and an RYLPJ.* Am. J. Hum. Genet., 1990, vol. 48, p. 720-725.

70. Proctor R.N. *Tobacco and the global lung cancer epidemic.* Nat. Rev. Cancer, 2001, vol. 1, p. 82-86.

71. Ries L.A.G., Kosary C.L., Hankey B.F. et al. *SEER cancer statistics review 1973-1993: tables and graphs.* National Cancer Institute- Bethesda - 1996.

72. Rusin M., Butkiewicz D., Malusecka E. et al. *Molecular epidemiological study of nonsmallcell lung cancer from an environmentally polluted region of Poland.* Br. J. Cancer, 1999, vol. 80, p. 1445-1452.

73. Schwartz A.G., Prysak G.M., Bock C.H. et al. *The molecular epidemiology of lung cancer.* Carcinogenesis-2007, vol. 28, p. 507-518.

74. Shields P.G., Caporaso N.E., Falk R.T. et al. *Lung cancer, race, and CYP1A1 genetic polymorphism.* Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 1993, vol. 2, p. 481-485.

75. Smith G.B., Harper P.A., Wong J.M. et al. *Human lung microsomal cytochrome P-4501 A1 (CYP1A1) activities: impact of smoking status and CYP1A1, arylhydrocarbon receptor, and glutathione-S-transferase M1 genetic polymorphism.* Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 2001, vol. 10, p. 839-853.

76. Soung Y.H., Jeong E.G., Ahn C.H. et al. *Mutational analysis of caspase 1, 4, and 5 genes in common human cancer.* Hum. Pathol., 2008, vol. 29, p. 895-900.

77. Spinola M. et al. *Association of the PDCD5 locus with lung cancer risk and prognosis in smokers.* J. Clin. Oncol., 2006, vol. 24, p. 1672-1678.

78. Spitz M.R., Hong W.K., Amos C.I. et al. *A risk model for prediction of lung cancer.* J. Natl. Cancer Inst., 2007, vol. 99 ( 9 ), p. 715 – 726 .

79. Spitz M.R., Amos Ch. I., Qiong Dong et al. *The CHRNA5-A3 Region on Chromosome 15q24-25.1 Is a Risk Factor Both for Nicotine Dependence and for Lung Cancer.* J. Natl. Cancer Inst., 2008, vol. 100, p. 1552 – 1556.

80. Stacey S.N., Manolescu A., Sulem P. et al. *Common variants on chromosome 5p12 confer susceptibility to*

*estrogen receptor-positive breast cancer*. Nat. Genet., 2008, vol. 40, p. 703-706.

81. Strange R.C., Lear J.T., Fryer A.A. *Glutathione S-transferase polymorphisms: influence on susceptibility to cancer*. Chem. Biol. Interact., 1998, vol. 111-112, p. 351-364.

82. Stucker I., Jacquet M., de Waziers I. et al. *Relation between inducibility of CYP1A1, GSTM1 and lung cancer in a French population*. Pharmacogenetics, 2000, vol.10, p. 617-627.

83. Subramanian J., Govindan R. *Lung cancer in never smokers: a review*. J. Clin. Oncol., 2005, vol. 25, p. 561-570.

84. Sun T., Gao Y., Tan W. et al. *A six-nucleotide insertion-deletion polymorphism in the CASP8 promoter is associated with susceptibility to multiple cancers*. Nat. Genet., 2007, vol. 39, p. 605-613.

85. Sun S., Schiller J.H., Gazdar A.F. *Lung cancer in never smokers - a different disease*. Nat. Rev. Cancer., 2007, vol. 7, p. 778-790.

86. Tefre T., Ryberg D., Haugen A. et al. *Human CYP1A1 (cytochrome P(1)450) gene: lack of association between the Msp I restriction fragment length polymorphism and incidence of lung cancer in a Norwegian population*. Pharmacogenetics, 1991, vol.1, p. 20-25.

87. Ulybina Yu. M., Kuligina E. Sh., Mitiushkina N.V. et al. *Coding polymorphisms in Casp5, Casp8 and DR4 genes may play a role in predisposition to lung cancer*. Cancer Letters, 2009, vol. 278, p. 183-191.

88. Vineis P., Veglia F., Benhamou S. et al. *CYP1A1 T<sup>3801</sup>C polymorphism and lung cancer: a pooled analysis of 2451 cases and 3358 controls*. Int. J. Cancer, 2003, vol. 104, p. 650-657.

89. Wynder E., Hecht S. *Lung Cancer*, Geneva, 1977, 30 p.

### Summary

The manifestative combination of hereditary factors (genetic polymorphism) and surrounding area factors (tobacco smoke) enable lung cancer an interesting model of investigation of individual oncologic predisposition. It was investigated the role of unfavourable alleles of polymorph gene, the end product of which take part in metabolism of tobacco smoke carcinogens in predisposition risk of lung cancer. It was revealed, that mutant allele with exchange of T6235C in CYP1A1 gene, coding AGG-ferment (arilhydrooxcarbonehydroxylase) activating PAY (the polycyclic aromatic hydrocarbons), is associated with lung cancer predisposition, especially to squamous cell carcinoma. It is bring data about small prevalence of deletion in GSTM1 gene, coding the similar ferment of faze II of xenobiotic metabolism by lung cancer patients, which point to connection with the risk of appearance of this pathology. It is communicated, that unfavorable significance of mutant allele CYP1A1 gene, increasing in combination with a loss genotype GSTM1. In the study is revealed, that apoptotic polymorphic genes Casp5, Casp8 and DR4 deserve to be

taking into consideration in broad scale research of lung cancer risk modifier.

### Резюме

Очевидное сочетание факторов наследственности (генный полиморфизм) и факторов окружающей среды (табачный дым) делает рак легкого интересной моделью в изучении индивидуальной онкологической предрасположенности. Исследована роль неблагоприятных аллелей полиморфных генов, продукты которых принимают участие в метаболизме канцерогенов табачного дыма в риске возникновения рака легкого. Показано, что мутантный аллель с заменой T6235C в гене CYP1A1, кодирующий А ГГ- фермент (арилгидрооксикарбондегидроксилаза), активирующий ПАУ (активирующий полициклические ароматические углеводороды), ассоциирован с предрасположенностью к раку легкого, особенно к плоскоклеточному раку легкого. Приводятся данные о небольшом преобладании делеций в гене GSTM1, кодирующем одноименный фермент фазы II метаболизма ксенобиотиков у больных раком легкого, что указывает на связь с риском возникновения данного заболевания. Сообщается также, что неблагоприятная значимость мутантного аллеля в гене CYP1A1, усиливается при сочетании с дефицитным генотипом GSTM1. В работе показано, что полиморфные гены апоптоза Casp5, Casp8 и DR4 заслуживают рассмотрения в широкомасштабных исследованиях модификаторов риска рака легкого.

### Rezumat

Combinarea factorilor de risc ereditar (polimorfismul genetic) și factorilor mediului ambiant (fumul de țigară) face cancerul pulmonar un model interesant al studiului predisunerii oncologice ereditare. Este studiat rolul alelelor nefavorabile ale genelor polimorfice, produsele cărora iau parte activă în metabolismul cancerigenilor fumului de țigară în riscul apariției cancerului pulmonar. A fost demonstrat că alela mutantă cu transpoziția T6235C în gena CYP1A1, care codifică AGG-fermentul (arilhydrooxcarbonehydroxylaza), activator al hidrocarburilor aromatice policiclice, este asociată cu predispoziția către cancerul pulmonar, îndeosebi forma morfologică pavimentoasă. Sunt prezentate datele despre o mică predominare a deleției în gena GSTM1, ferment ce codifică faza II a metabolismului xenobioticilor la pacienții cu cancer pulmonar, fapt ce atenționează asupra riscului apariției patologiei în cauză. A fost comunicat, de asemenea, despre valoarea nefavorabilă a alelei mutante în gena CYP1A1, ce crește în combinație cu genotipul deficitar GSTM1. În lucrare este demonstrat că genele polimorfice ale apoptozei Casp5, Casp8 și DR4 trebuie investigate în studii în cohortă largită multicentrică internațională ale modifcatorilor riscului cancerului pulmonar.