

3. Мартов, А.Г. Папиллярные опухоли лоханки и мочеточника: что современная эндоурология может предложить пациенту и врачу? / А.Г. Мартов, Д.В. Ергаков // *Материалы XVI Конгресса Российского общества урологов (20-22 октября 2016)*. – Уфа, 2016. – С. 193-194.
4. Эндоскопическое удаление папиллярных опухолей верхних мочевыводящих путей / Г.Н. Аюбян [и др.] // *Урология*. – 2016. – № 6. – С. 100-106.
5. The Expanded Use of Percutaneous Resection for Upper Tract Urothelial Carcinoma: A 30-Year Comprehensive Experience / P. Motamedinia [et al.] // *J Endourology*. – 2016. – Vol. 30, №3. – P. 262-267.
6. Arthur D. Smith, Glenn Preminger, Gopal Badlani, Louis R. Kavoussi. *Smith's Textbook of Endourology*, 3rd Edition, 2012.
7. Transitional-cell carcinoma of the renal pelvis: ureteroscopic and percutaneous approach / E.N. Liatsikos [et al.] // *Journal of Endourology*. – 2001. – Vol. 15, no. 4. – P. 377-383.
8. Percutaneous nephroscopic management of upper urinary tract transitional cell carcinoma: recurrence and long-term followup / J. Palou [et al.] // *The Journal of Urology*. – 2004. – Vol. 172, no. 1. – P. 66-69.
9. Checkup and management of upper urinary tract tumours in 2010: An update from the committee of cancer from the French National Association of Urology / M. Roupert [et al.] // *Prog Urol*. – 2010. – Vol. 20(4). – P. 260-271.

УДК 616.65-006.6-092-07:575.174

© Коллектив авторов, 2017

И.Р. Гилязова, Г.Б. Кунсбаева, А.Т. Мустафин,  
А.А. Измайлов, А.О. Папоян, В.Н. Павлов, Э.К. Хуснутдинова  
**РОЛЬ НЕКОТОРЫХ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА  
5-АЛЬФАРЕДУКТАЗЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**  
<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», г. Уфа  
<sup>2</sup>ФГБУН «Институт биохимии и генетики» Уфимского научного центра РАН, г. Уфа  
<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, г. Уфа

В клетках предстательной железы тестостерон, первичный андроген у мужчин, превращается с помощью фермента 5 $\alpha$ -редуктазы 2-го типа, который кодируется геном SRD5A2, в его наиболее активную форму – дигидротестостерон. Дигидротестостерон необходим для роста простаты и имеет в пять раз более высокую связывающую аффинность для рецепторов андрогенов по сравнению с тестостероном. Мы предположили, что полиморфные варианты в гене SRD5A2 могут влиять на риск развития рака предстательной железы, и проанализировали три полиморфных варианта в гене SRD5A2 – A49T, V89L и (TA)<sub>n</sub> у 291 пациента с диагнозом рак предстательной железы и у 417 здоровых индивидов (контрольная группа). Обнаружено, что только полиморфный вариант V89L гена SRD5A2 вносит определенный вклад в патогенез рака предстательной железы.

**Ключевые слова:** рак предстательной железы, 5- $\alpha$ -редуктаза 2-го типа, дигидротестостерон, ген SRD5A2.

I.R. Gilyazova, G.B. Kunsbaeva, A.T. Mustafin,  
A.A. Izmaylov, A.O. Papoyan, V.N. Pavlov, E.K. Khusnutdinova  
**THE ROLE OF SOME POLYMORPHIC VARIANTS  
OF 5-ALPHAREDUCTASE GENE IN PATHOGENESIS OF PROSTATE CANCER**

In the prostate testosterone, a primary androgen in males, is converted into its most active form, dihydrotestosterone (DHT) by 5 $\alpha$ -reductase type 2, encoded by the SRD5A2 gene. Dihydrotestosterone is necessary for prostatic growth and has five times higher binding affinity than testosterone for androgen receptors. We hypothesized that polymorphic variations in the SRD5A2 gene may affect the risk of prostate cancer and analyzed three polymorphisms in the SRD5A2 gene-A49T, V89L and (TA)<sub>n</sub> in 291 prostate cancer patients and 417 healthy individuals. We found out, that only V89L polymorphism of the SRD5A2 gene contributes to the prostate cancer pathogenesis.

**Key words:** prostate cancer, 5- $\alpha$ -reductase 2 type, dihydrotestosterone, SRD5A2 gene.

Рак предстательной железы (РПЖ) – одно из наиболее часто встречающихся злокачественных новообразований у мужчин среднего и пожилого возраста [1]. Злокачественные новообразования предстательной железы в 2013 г. составили 12,1% всех злокачественных новообразований мужского населения и заняли 2-е ранговое место в структуре онкологической заболеваемости, уступая лишь опухолям бронхолегочной системы [1]. Абсолютное число людей с впервые установленным диагнозом рак предстательной железы в России в течение десятилетия (2003-2013) ежегодно стабильно росло, достигнув к 2013 г. уровня в 31569 заболевших. Показа-

тель первичной заболеваемости РПЖ за период 2003-2013 гг. увеличился более чем вдвое, прирост его составил +127,42%.

Злокачественные новообразования предстательной железы встречаются чаще у пожилых мужчин, что представляет большую проблему в развитых странах, где процент пожилых мужчин достаточно высок [2]. Факторами риска развития РПЖ являются: наличие РПЖ у ближайших родственников, возраст, увеличенное потребление животного жира и др.[3]. Выявление болезни на ранних стадиях является первоочередной задачей клиницистов. Широкое внедрение в повседневную практику определения простатиче-

ского специфического антигена (ПСА) в сочетании с трансректальной мультифокальной биопсией предстательной железы (ПЖ) под ультразвуковым наведением позволило выявлять большее число заболеваний на ранних стадиях. Быстрые темпы роста заболеваемости заставляют углубленно изучать механизмы гормональной регуляции и молекулярные основы заболевания. Поиск генетических маркеров часто основывается на свойствах гена и путях метаболизма его белковой продукции. Развитие РПЖ неразрывно связано с влиянием андрогенов на фундаментальные внутриклеточные процессы клеток ПЖ, такие как пролиферация и апоптоз, реализующиеся через ряд вторичных посредников. Одним из них является ген 5 $\alpha$ -редуктазы – 5 $\alpha$ R (SRD5A2), кодирующий фермент 5 $\alpha$ R. Активность 5 $\alpha$ -редуктазы наиболее важна для превращения тестостерона в дегидротестостерон, который является основным андрогеном предстательной железы.

R.K. Ross и соавт. выявили различия в активности 5 $\alpha$ -редуктазы у западных и азиатских мужчин [4]. N.M. Makridakis и соавт. связывают высокий риск развития как локализованного, так и распространенного рака простаты у афроамериканцев и латиноамериканцев с мутациями гена SRD5A2, который кодирует 5 $\alpha$ -редуктазу [5,6]. Андрогены (тестостерон – ТТ, дигидротестостерон – ДГТ) принадлежат к группе стероидных гормонов. Основным циркулирующим андрогеном является ТТ, который синтезируется в клетках Лейдига. Процесс биосинтеза ТТ регулируется лютеинизирующим гормоном гипофиза. Более 97% ТТ находятся в связанном состоянии, и только 3% являются биологически активной формой, играя важную роль в дифференцировке, росте и функции ПЖ [7]. В клетках ПЖ ТТ превращается в более активный внутриклеточный андроген 5 $\alpha$ -ДГТ при непосредственном участии фермента 5 $\alpha$ R 1- и 2-го типов. В настоящее время хорошо изучены два типа 5 $\alpha$ R. Для 1-го типа характерна нейтральная рН среды с преимущественной локализацией в коже головы, печени и преобладанием низкой концентрации в ПЖ. Фермент 5 $\alpha$ R кодируется одноименным геном SRD5A1, который локализуется на коротком плече хромосомы 5p15. Второй тип фермента 5 $\alpha$ R представлен в тканях ПЖ, семенных пузырьках и коже гениталий и имеет высокую концентрацию в ПЖ. Данный фермент кодируется геном SRD5A2, который состоит из 5 экзонов и 4 интронов и расположен на коротком плече хромосомы 2p23 [8,9]. Широко известны, по крайней мере, 3 полиморфных варианта гена 5 $\alpha$ R 2-го типа, а именно:

A49T – замещение аланина на треонин в кодоне 49, V89L – замещение валина на лейцин в кодоне 89, а также динуклеотидные (ТА)<sub>n</sub>-повторы. Оба полиморфных варианта – A49T и V89L – локализируются в 1-м экзоне гена SRD5A2, в то время как (ТА)<sub>n</sub>-повторы (тимин-аденин-динуклеотидный повторы) расположены в 3'-нетранслируемой области гена. Считается, что генотип \*Val/Val обладает более высокой активностью по сравнению с генотипами \*Val/Leu и \*Leu/Leu [9]. M. Tong и соавт. [10] исследовали ассоциацию между полиморфным вариантом A49T гена SRD5A2 и риском развития РПЖ, однако каких-либо статистически значимых различий выявлено не было. В исследовании S. Cicek и соавт., включавшем 920 человек, изучали 5 полиморфных вариантов гена SRD5A2. В результате данной работы обнаружена ассоциация полиморфного варианта гена SRD5A2 – V89L с повышением риска развития РПЖ (отношение шансов – OR=2,35, p=0,001) и его агрессивных форм (OR = 1,63, p=0,06). Эти исследования подтвердили тот факт, что полиморфный вариант V89L гена SRD5A2 может влиять на риск развития РПЖ. Фермент 5 $\alpha$ R2 традиционно считался основным клинически значимым энзимом, так как присутствовал в больших концентрациях в тканях ПЖ и проявлял высокую связывающую способность к ТТ по сравнению с ферментом 5 $\alpha$ R1 [11]. (ТА)<sub>n</sub>-динуклеотидные повторы к настоящему времени изучены недостаточно. Известны 3 основных аллеля (ТА)<sub>0</sub>, (ТА)<sub>9</sub>, (ТА)<sub>18</sub>, которые наиболее распространены в большинстве популяций [12]. Результаты научных исследований показали, что редкий аллель ограничивается популяцией афроамериканцев [13], которая имеет более высокий уровень заболеваемости раком предстательной железы по сравнению с мужчинами азиатского, американского и европейского происхождения [14]. Предполагается, что наличие длинного аллеля, возможно, ассоциировано с повышенной ферментативной активностью [12]. По данным ряда авторов, полиморфные варианты вышеперечисленных генов могут оказывать влияние на канцерогенез [15], однако результаты проведенных исследований весьма противоречивы. Учитывая вышеизложенное, нами проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта A49T, V89L, (ТА)<sub>n</sub>-повторов в гене SRD5A2 у пациентов с РПЖ и здоровых индивидов.

#### Материал и методы

Материалом для молекулярно-генетического анализа послужили образцы ДНК, выделенные из лимфоцитов периферической венозной крови стандартным феноль-

но-хлороформным методом. Группу исследования составил 291 больной РПЖ, находившийся на стационарном лечении и прооперированный в 2008–2014 гг. в урологических отделениях клиники БГМУ, Республиканской клинической больницы им. Куватова (г. Уфа). Забор образцов проводился сотрудниками кафедры урологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России в соответствии со стандартами биоэтического комитета, разработанными Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» [<http://www.amedpharm.ru/ru/activities/etika/32.html>].

Клинический диагноз рак предстательной железы основывался на данных анамнеза, клинического обследования (объективного осмотра, лабораторных и инструментальных методов исследования), результатах ультразвуковой диагностики (УЗИ) и гистологического исследования биопсийного материала. Все случаи РПЖ классифицированы по TNM-классификации согласно требованиям Международного противоракового союза. Средний возраст пациентов составил  $63 \pm 10$  лет. Контрольную группу составили 417 здоровых индивидов без признаков онкопатологии и нормальным уровнем простатспецифического антигена (около 4 нг/мл), которые по полу, возрасту, этнической принадлежности соответствовали группе больных. Все обследованные были жителями Республики Башкортостан. По этнической принадлежности группа больных РПЖ распределилась следующим образом: русские – 45,82%, татары – 32,67%, башкиры – 21,51%. В группе контроля русских было 26,62%, татар – 49,64%, башкир – 23,74%. Для генотипирования полиморфных вариантов A49T, V89L и (TA)<sub>n</sub>-повторов гена SRD5A2 использовались ПЦР- и ПЦР-ПДФ-анализы. При попарном сравнении частот аллелей и генотипов в группах больных и контроля применялся критерий  $\chi^2$  для таблиц сопряженности  $2 \times 2$  с поправкой Йэйтса на непрерывность (<http://www.biometrika.tomsk.ru>). В случае наличия достоверных различий в исследуемых выборках проводилась оценка показателя отношения шансов (odds ratio, OR), а также границ его 95% доверительного интервала (CI95%). При всех использованных методах анализа статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ .

#### Результаты и обсуждение

Мы проанализировали три полиморфных варианта в гене SRD5A2 – A49T, V89L и (TA)<sub>n</sub> – у пациентов с установленным диагно-

зом рак предстательной железы и здоровых индивидов контрольной группы.

A49T – это один из наиболее часто изучаемых локусов гена SRD5A2. При исследовании этого полиморфного варианта у пациентов с раком предстательной железы и у лиц контрольной группы обнаружено, что все изученные образцы ДНК пациентов и здоровых индивидов несли лишь наиболее частый аллель – аллель SRD5A2\*A. Известно, что замена аланина на треонин в 49-м положении аминокислотной последовательности белка (A49T) повышает активность стероидов 5-альфа-редуктазы. Аминокислотная замена A49T повышает риск клинически значимого заболевания в 7,2 раза у африканских мужчин по сравнению с американскими ( $p=0,001$ , 95% CI=2.17-27.9) и в 3,6 раза у мужчин латиноамериканского происхождения ( $p=0,04$ ; 95% CI=1,09-12,3). Этот полиморфный вариант был зарегистрирован среди европейских мужчин и азиатов, но ассоциации с риском развития рака простаты выявлено не было [16, 17]. Исследования, проведенные Li X. с соавт. показали, что носители аллеля 49T имеют риск развития более высоких стадий РПЖ по сравнению с носителями аллеля 49A [18].

Таким образом, результаты нашего исследования показали, что полиморфный вариант A49T гена SRD5A2 не вносит значительного вклада в формирование предрасположенности к раку предстательной железы в нашем регионе.

Сравнительный анализ распределения частот генотипов полиморфного варианта V89L гена SRD5A2 между больными РПЖ и здоровыми индивидами в группах башкир и русских не выявил статистически достоверных результатов ( $p > 0,05$ ). При сравнении распределения частот генотипов полиморфного варианта V89L гена SRD5A2 в этнической группе татар обнаружено, что генотип \*V/\*V встречался у 47,56% пациентов с РПЖ и 34,78% здоровых индивидов. Частота генотипа \*L/\*L была существенно ниже у больных по сравнению с контролем (8,54% и 15,94% соответственно), различия были статистически достоверными ( $\chi^2 = 5,07$   $p=0,02$  OR=2.81 (95% CI=1.12-7.35)). Частоты генотипа \*V/\*L были сходными в обеих исследованных группах (43,9% и 49,28% соответственно). Сравнительный анализ частот распределения аллелей полиморфного локуса V89L гена SRD5A2 показал, что аллель SRD5A2\*L является аллелем риска развития РПЖ в этнической группе татар ( $\chi^2=4,67$ ,  $p=0,03$ , OR=1,56, (95% CI=1.04-2.33)) и русских ( $\chi^2=3,76$ ,  $p=0,05$ , OR=1.48 (95% CI=0.99-2.19)), а

аллель SRD5A2\*V является протективным в отношении развития РПЖ у русских ( $\chi^2=3,76$ ,  $p=0,05$ ,  $OR=0,68$ ,  $(95\%CI=0,46-1,00)$ ). По литературным данным наибольшая частота аллеля SRD5A2\*L обнаружена в популяциях Азии (54,8%), в европейских популяциях она составляет 30,4%, у афроамериканцев – 23,1%. Самая низкая частота данного аллеля наблюдается у африканцев (18,8%). Кроме того, мы провели анализ вариации числа ТА-динуклеотидных повторов данного гена. Обнаружено, что генотип (ТА)0/(ТА)0 является наиболее распространенным как в группе контроля (88,14%), так и в группе больных РПЖ

(81,29%) во всех этнических группах. Частоты генотипа (ТА)0/(ТА)9 также были сходными в обеих исследованных группах (17,69% и 11,86% соответственно). Генотип (ТА)9/(ТА)9 был выявлен только в группе больных РПЖ и с очень низкой частотой (1,02%). Необходимо отметить, что генотип (ТА)9/(ТА)9 встречался в группе больных РПЖ только у двух индивидов русской и одного индивида татарской этнической принадлежности. Вышеизложенные результаты свидетельствуют о том, что полиморфный вариант V89L гена SRD5A2 вносит определенный вклад в патогенез рака предстательной железы.

#### Сведения об авторах статьи:

**Гилязова Ирина Ришатовна** – к.б.н., н.с. лаборатории молекулярной генетики человека ФГБУН «Институт биохимии и генетики» УНЦ РАН. Адрес: 450054, г. Уфа, ул. Проспект Октября, 71. E-mail: gilyasova\_irina@mail.ru.

**Кунсбаева Гульназ Бахтияровна** – аспирант кафедры генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВО БГУ. Адрес: 450074, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32. E-mail: kuncbaevagulnaz@mail.ru.

**Мустафин Артур Тагирович** – к.м.н., доцент кафедры урологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

**Измайлов Адель Альбертович** – д.м.н., профессор кафедры урологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

**Папоян Анушаван Оганесович** – врач-уролог клиники БГМУ. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Шафиева, 2.

**Павлов Валентин Николаевич** – д.м.н., профессор, член-корр РАН, зав. кафедрой урологии с курсом ИДПО, ректор ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

**Хуснутдинова Эльза Камилевна** – д.б.н., проф., ВрИО директора ФГБУН «Институт биохимии и генетики» УНЦ РАН. Адрес: 450054, г. Уфа, ул. Проспект Октября, 71.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Каприн, А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2013 году (заболеваемость и смертность) / А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2015. – 250 с.
- Parkin, D.M. Cancer burden in the year 2000: the global picture / D.M. Parkin, F.I. Bray, S.S. Devesa // Eur J Cancer. – 2001. – Vol. 37(8). – P.64-66.
- Раснер, П.И. Гормональная терапия рака предстательной железы. Оценка эффективно-стинеoadьювантной терапии бикалутамидом / П.И. Раснер, Д.Ю. Пушкарь, А.В. Говоров // Современная онкология. – 2008. – № 10(4). – С.55-59.
- Ross, R.K. Androgen metabolism and prostate cancer: establishing a model of genetic susceptibility / R.K. Ross, M.C. Pike, G.A. Coetzee // Cancer Research. – 1998. – Vol. 58. – P. 4497-44504.
- Makridakis, N.M. Association of missense substitution in SRD5A2 gene with prostate cancer in African-American and Hispanic men in Los Angeles, USA / N.M. Makridakis, R.K. Ross, M.C. Pike // Lancet. – 1999. – Vol. 354. – P. 975-978.
- Makridakis, N.M. Biochemical and pharmacogenetic dissection of human steroid 5 $\alpha$ -reductase type II / N.M. Makridakis, E. di Salle, J.K. Reichardt // Pharmacogenetics. – 2000. – Vol. 10. – P. 407-413.
- Edward P.G. Molecular biology of the androgen receptor / P.G. Edward // J Clin Oncol. – 2002. – Vol. 20(13). – P.3001-3015.
- Longer (TA) $_n$  Repeat but Not A49T and V89L Polymorphisms in SRD5A2 Gene May Confer Prostate Cancer Risk in South Indian Men / R. Singh [et. al.] // Journal of Andrology. – 2009. – Vol. 30(6). – P.703-710.
- Polymorphisms of HPC2/ELAC2 and SRD5A2 (5 $\alpha$ -reductase type II) genes in prostate cancer / M. İzmirlı [et al.] // BJMG. – 2011. – Vol. 14(1). – P.31-36.
- Association of polymorphism in testosterone 5-alpha-reductase II genotype and prognosis factors of prostate cancer / M. Tong [et al.] // Zhonghua Yi Xue Za Zhi. – 2005. – V.25-85(19). – P.1319-21.
- Клиническое значение полиморфизмов генов 5 $\alpha$ -Редуктазы и андрогенорецепторов при раке предстательной железы / О.Б. Лоран [и др.] // Онкоурология – 2009. – № 1. – С. 48-52.
- Somatic mutations at the SRD5A2 locus encoding prostatic steroid 5 $\alpha$ -reductase during prostate cancer progression / A. Akalu [et al.] // J Urol. – 1999. – V.161. – P. 1355-1358.
- Genetic variability of the human SRD5A2 gene: implications for prostate cancer ris / J.K. Reichardt [et al.] // Cancer Res. – 1995. – Vol. 55. – P. 3973- 3975.
- Cancer Incidence in Five Continents / D.M. Parkin [et al.] // Lyon, France, IARC. – 1997. – Vol. 2.
- Type 1 and Type 2 5 $\alpha$ -Reductase Expression in the Development and Progression of Prostate Cancer / L.N. Thomas [et al.] // Eur Urol. – 2007. – Vol. 52(4). – P.1082-1087.
- SRD5A2 gene polymorphisms and the risk of benign prostatic hyperplasia but not prostate cancer / V.K. Choubey [et al.] // Asian Pac J Cancer Prev. – 2015. – Vol. 16(3). – P. 1033-1036.
- Steroid 5-alpha-reductase type 2 (SRD5A2) V89L and A49T polymorphisms and sporadic prostate cancer risk: a meta-analysis / Q Li [et al.] // Mol Biol Rep. – 2013. – Vol. 40(5). – P. 3597-3608. doi: 10.1007/s11033-012-2434-x. Epub 2013 Jan 1.
- Meta-analysis of three polymorphisms in the steroid-5-alpha-reductase, alpha polypeptide 2 gene (SRD5A2) and risk of prostate cancer / X. Li [et al.] // Mutagenesis. – 2011. – Vol. 26(3). – P. 371-83. doi: 10.1093/mutage/geq103.