

12. Tyuzikov, I.A. Optimizaciya diagnostiki zabolevaniy jedinstvennoy pochki u muzhchin na osnovе mezhdisciplinarnogo podhoda / I.A. Tyuzikov, A. P. Ivanov // Klinicheskaya nefrologiya. – 2013. – № 2. – S 25-29. (In Russ.).
13. Tyuzikov, I.A. Sistemnyy metaboliicheskiy faktor patogeneza zabolevaniy jedinstvennoy pochki u muzhchin (pilotnoe issledovanie) / I.A. Tyuzikov, A. P. Ivanov // Urologiya. – 2012. – № 3. – S. 11-14. (In Russ.).
14. SHormanov, I.S. Farmakologicheskaya podderzhka adaptivnykh vozmozhnostey organizma v usloviya eksperimental'noy kooperatsionnoy gostressa / I.S. SHormanov [i dr.] // Medicinskiy vestnik Bashkortostana. – 2016. – Tom.11, №2 (62). – S.47-52
15. Guzmán, D.C. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21052943> / D.C. Guzmán [et al.] // Arch Pharm Res. – 2010. – 33(10). C 1671-1677. (In Russ.).
16. Kérdö, I. Einausdaten der Blutzirkulation kalkulierter Index zur Beurteilung der vegetativen Tonuslage / I. Kérdö // Acta neurovegetativa. – 1966. – Bd. 29 (2). P. 250-268.
17. Kolik, L.G. Efficacy of peptide anxiolytic selank during modeling of withdrawal syndrome in rats with stable alcoholic motivation / L.G. Kolik, A.V. Nadorova, M.M. Kozlovskaya // Bull Exp Biol Med. – 2014. – 157(1). P. 52-55.
18. Kurra, V. Hyperuricemia, oxidative stress, and carotid artery tone in experimental renal insufficiency / V. Kurra [et al.] // Am J Hypertens. – 2009. – 22(9). P. 964-970.
19. Kvetnansky, R. Stress-triggered changes in peripheral catecholaminergic systems / R. Kvetnansky, X. Lu, M.G. Ziegler // Adv Pharmacol. – 2013. – 68. P. 359-397.
20. Levin, O. Phyto-adaptogens--protection against stress? / O. Levin // Harefuah. – 2015. – 154(3). P. 183-186.
21. Zung, W.W.K. A rating instrument for anxiety disorders / W.W.K. Zung // Psychosomatics. – 1971. – 12. P. 371-379.

УДК 575:618

© Коллектив авторов, 2020

И.Р. Гилязова<sup>1,2,3</sup>, М.А. Бермишева<sup>1,3</sup>, Е.А. Климентова<sup>1,3</sup>,  
Р.И. Сафиуллин<sup>2</sup>, А.А. Измайлов<sup>2</sup>, В.Н. Павлов<sup>2</sup>, Э.К. Хуснутдинова<sup>1,2,3</sup>  
**АНАЛИЗ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ СИНДРОМА ВЕРНЕРА  
У ПАЦИЕНТОВ С МЕТАСТАТИЧЕСКИМ РАКОМ ПОЧКИ**

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт биохимии и генетики» Уфимского федерального  
исследовательского центра Российской академии наук, г. Уфа

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, г. Уфа

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург

Ген WRN участвует в репликации, репарации, рекомбинации и поддержании теломер. Биаллельная инактивация гена приводит к развитию синдрома Вернера.

**Цель:** осуществить скрининг мутации гена WRN\*р.1406X больных метастатическим раком почки.

**Материал и методы.** В исследование было включено 67 больных метастатическим раком почки основной и 445 индивидов контрольной группы. Детекцию мутаций гена WRN проводили с помощью анализа кривых плавления (HRM) на приборе CFX96 Real-Time PCR Analyzer (BioRad) с применением красителя Eva Green.

**Результаты и обсуждение.** В результате проведенного скрининга среди пациентов с метастатическим раком почки мутация WRN\*р.1406X не идентифицирована. Поиск данной мутации в группе контроля позволил выявить шесть индивидов, носителей мутантного варианта р.1406X в гене WRN (1,35%). В экзоне 4-го гена WRN у 44 пациентов с раком почки (65,6%) обнаружена миссенс-мутация – замена валина на изолейцин р.V114I, которая согласно анализу функциональной значимости по 10 предсказательным программам, обладает низкой степенью патогенности.

**Выводы.** Показано, что мутация WRN\*р.1406X не является причиной развития метастатического рака почки.

**Ключевые слова:** метастатический рак почки, синдром Вернера, ген WRN, мутация.

I.R. Gilyazova, M.A. Bermisheva, E.A. Klimentova,  
R.I. Safiullin, A.A. Izmailov, V.N. Pavlov, E.K. Khusnutdinova  
**ANALYSIS OF MUTATIONS IN THE WERNER SYNDROME GENE  
IN METASTATIC RENAL CANCER PATIENTS**

The WRN gene is involved in replication, repair, recombination, and telomere support. Biallelic inactivation results in the development of Werner syndrome.

**Objective.** To screen the mutation WRN \* p. R1406X in patients with metastatic kidney cancer.

**Material and methods.** The study included 67 metastatic renal cancer patients and 445 control individuals. Detection of WRN gene mutations was performed using melting curve analysis (HRM) on the CFX96 Real-Time PCR Analyzer (Bio Rad) using the Eva Green dye.

**Results and discussion.** As a result of the screening WRN \*c.R1406X mutation wasn't revealed among patients with metastatic kidney cancer. The search for this mutation in the control group revealed six individuals who carried the mutant variant WRN \*c.R1406X (1.35%) in the Russian group. In exon 4 of the WRN gene in 44 patients with renal cancer (65.6%) we found a missense mutation p. V114I. According to the analysis of functional significance using 10 predictive programs, p. V114I has a low degree of pathogenicity.

**Conclusion.** It is shown that the WRN \*c.R1406X mutation is not the cause of metastatic renal cancer.

**Key words:** metastatic renal cancer, Werner syndrome, WRN gene, mutation.

Онкоурологические заболевания являются серьезной медицинской, социальной и экономической проблемой [1-3]. В их патогенезе особое внимание уделяется ряду генов, супрессоров опухолевого роста, участвующих в подавлении активности онкогенов. Известно, что

изменение активности данных генов может приводить к развитию и прогрессированию опухоли. Одним из таких генов является ген WRN. Продукт гена WRN/RECQL2 играет важную роль в репликации ДНК и поддержании целостности генома. Инактивация обеих аллелей

лей гена WRN приводит к синдрому Вернера – редкому аутосомно-рецессивному расстройству, характеризующемуся ранним появлением многочисленных симптомов и заболеваний, связанных со старением, в том числе рака. Мутации в гене WRN могут приводить к синтезу укороченных белков, которые не могут локализоваться в ядре, или эти мутации в гене способны дестабилизировать белок, обладающий геликазной и экзонуклеазой активностью [4].

Хотя мутации в гене WRN напрямую не связаны с онкоурологическими заболеваниями, существуют работы, посвященные анализу генов WRN и RECQL5 при онкологических заболеваниях мочеполовой системы [5,6]. Учитывая то, что поиск мутаций в данном гене у пациентов с онкоурологическими заболеваниями и у здоровых индивидов из РФ ранее не проводился, целью данного исследования являлся анализ мутаций в гене WRN для идентификации их роли в развитии метастатического рака почки.

#### **Материал и методы**

В работе использованы образцы периферической крови пациентов с первично-выявленным метастатическим раком почки и гистологически подтвержденным диагнозом светлоклеточный рак почки (N=67). Исследование было одобрено локальным биоэтическим комитетом ИБГ УФИЦ РАН. В качестве контрольной группы в исследование включены здоровые индивиды, первостепенные родственники которых не имели онкологических заболеваний (N=445). Забор материала осуществлялся сотрудниками кафедры урологии клиники БГМУ. Все пациенты охарактеризованы по гистологическому типу опухоли, TNM-классификации и стадии заболевания.

Детекцию мутаций гена WRN проводили с помощью высокоточного анализа кинетики плавления продуктов амплификации (HRM) на приборе CFX96 Real-Time PCR Analyzer (BioRad). В каждый эксперимент были включены положительный и отрицательный контроли. В качестве положительного контроля использовали образец ДНК с идентифицированной ранее мутацией p.R1406X [4].

Анализ функциональной значимости выявленных изменений проводили с использованием *in silico* предсказательных программ (SIFT, PolyPhen-2, LRT, Mutation Assessor, MutationTaster, phyloP, GERP++, PROVEAN, VEST3, MetaSVM) из dbNSFP v.3.0a.

#### **Результаты и обсуждение**

Мы провели скрининг WRN\*p.R1406X у 67 больных метастатическим раком почки и у 445 здоровых лиц для оценки частоты гете-

розиготного носительства данной мутации в нашем регионе у лиц русской, татарской и башкирской этнической принадлежности. Генотипирование было успешно проведено на всех образцах ДНК, но среди пациентов с метастатическим раком почки мутация WRN\*p.R1406X не идентифицирована. Поиск данной мутации в группе контроля (n=445) позволил выявить (%) в группе русских шесть индивидов – носителей мутантного варианта p.R1406X в гене WRN (1,35).

В экзоне 4-го гена WRN у 44 (65,6%) пациентов с раком почки обнаружена миссенс-мутация (замена валина на изолейцин p.V114I), которая, согласно анализу функциональной значимости по 10 предсказательным программам, обладает низкой степенью патогенности.

Известно, что изменения нуклеотидной последовательности в гене WRN сопровождаются развитием злокачественных опухолей различных типов. Так, распространенность дефицита гомологичной рекомбинации с повреждением ДНК (HR-DDR), в том числе гена WRN, свойственна для большого количества опухолевых линий [7].

В исследовании [6] показана ассоциация WRN\* Leu1074Phe с риском развития рака предстательной железы у китайских мужчин. Кроме того, при раке предстательной железы описана новая герминальная мутация G327X [8]. Кроме того, выявлена корреляция редкого генотипа Arg/Arg WRN Cys1367Arg с увеличением риска развития рака молочной железы. В результате полногеномного секвенирования в гене WRN был установлен высокопатогенный вариант c.4108delA (p.N1370Tfs\*23) у родственных индивидов с отягощением в виде различных типов злокачественных опухолей (рак легкого, эндометриальный рак). Ранее нами было выявлено, что вариант мутации гена WRN\*p.R1406X не вносит вклад в риск развития рака молочной железы [4]. Данное исследование также не подтвердило ассоциацию обнаруженных нами мутаций в гене WRN с раком почки.

#### **Заключение**

Исследованиями последних лет показано, что WRN связывается с множеством других белков, включая RPA, DNA-PKcs и TRF2, позволяющих предположить, что WRN участвует в репликации, репарации, рекомбинации и поддержании теломер ДНК. Кроме того, выявлено, что истощение WRN индуцирует разрывы двухцепочечной ДНК и стимулирует апоптоз и остановку клеточного цикла в моделях микросателлитной нестабильности (MSI) [9]. Результаты, полученные в нашем исследовании, дока-

зывают, что варианты мутации WRN\*р.R1406X и WRN\*р.V114I не вносят вклад в развитие рака почки. Несомненно, необходимо проведение исследований для выявления новых мутаций в гене WRN и уточнения значения геликазы в развитии урологических злокачественных опухолей, в том числе рака почки.

*Работа заняла призовое место в конкурсе научно-исследовательских работ, проводимом в рамках проекта № 20-015-20013*

*организации Международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты иммунологии, генетики и инфектологии», получившего поддержку ФГБУ «Российский фонд фундаментальных исследований» (РФФИ). Исследование выполнено при поддержке РФФИ № 17-44-020050 р\_а, а также с использованием оборудования ЦКП «Биомика» и УНУ «КОДИНК».*

#### Сведения об авторах статьи:

**Гилязова Ирина Ришатовна** – к.б.н., с.н.с. лаборатории молекулярной генетики человека ФГБУН «Институт биохимии и генетики» УФИЦ РАН; доцент кафедры медицинской генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, с.н.с. ФГБОУ ВО СПбГУ. Адрес: 450054, г. Уфа, проспект Октября, 71. E-mail: gilyasova\_irina@mail.ru.

**Бермишева Марина Алексеевна** – к.б.н., с.н.с. лаборатории молекулярной генетики человека ФГБУН «Институт биохимии и генетики» УФИЦ РАН, с.н.с. ФГБОУ ВО СПбГУ. Адрес: 450054, г. Уфа, проспект Октября, 71. E-mail: berm\_marina@mail.ru.

**Климентова Елизавета Алексеевна** – м.н.с. лаборатории молекулярной генетики человека ФГБУН «Институт биохимии и генетики» УФИЦ РАН, н.с. ФГБОУ ВО СПбГУ. Адрес: 450054, г. Уфа, проспект Октября, 71. E-mail: lissa987@yandex.ru.

**Сафиуллин Руслан Ильясевич** – д.м.н., профессор кафедры урологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: 021gen@mail.ru.

**Измайлов Альберт Аделевич** – студент 6 курса ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: 021gen@mail.ru.

**Павлов Валентин Николаевич** – член-корр. РАН, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой урологии, ректор ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел. 8(347)272-41-73. E-mail: vrpavlov3@yandex.ru.

**Хуснутдинова Эльза Камилевна** – д.б.н., профессор, и.о. директора Института биохимии и генетики УФИЦ РАН, заведующая кафедрой медицинской генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, главный научный сотрудник ФГБОУ ВО СПбГУ. Адрес: 450054, г. Уфа, проспект Октября, 71. E-mail: elzakh@mail.ru.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Роль генетических факторов в формировании злокачественных новообразований мочевого пузыря / В.Н. Павлов [и др.] // Онкоурология. – 2008. – Т.2, №4. – С.35-39. DOI: 10.17650/1726-9776-2008-4-2-35-39
2. Генетические факторы риска развития рака мочевого пузыря / В. Н. Павлов [и др.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2010. – №. 2. – С. 30-33.
3. Хасанова, Г.М. Социально-медицинская работа в различных сферах жизнедеятельности / Г.М. Хасанова, З.Л. Сизоненко, З.А. Янгуразова – Уфа: РИЦ БашГУ, 2010. – 191 с.
4. Нонсенс-мутация р.R1406X гена WRN не является фактором риска развития рака молочной железы / М.А. Бермишева [и др.] // Генетика. – 2019. – Т. 55, № 7. – С. 826-831.
5. Altered RECQL5 expression in urothelial bladder carcinoma increases cellular proliferation and makes RECQL5 helicase activity a novel target for chemotherapy / K. Patterson [et al.] // Oncotarget. – 2016. – Vol.7, №46. – P. 76140-76150. DOI: 10.18632/oncotarget.12683.
6. Single nucleotide polymorphism WRN Leu1074Phe is associated with prostate cancer susceptibility in Chinese subjects / L. Wang [et al.] // Acta Med Okayama. – 2011. – Vol.65, №5. – P.315-23.
7. Prevalence of homologous recombination-related gene mutations across multiple cancer types / A.L. Heeke [et al.] // JCO Precis Oncol. – 2018. doi: 10.1200/PO.17.00286.
8. Prostatic carcinoma with neuroendocrine differentiation harboring the EWSR1-FEV fusion transcript in a man with the WRN G327X germline mutation: A new variant of prostatic carcinoma or a member of the Ewing sarcoma family of tumors? / C.A. Febres-Aldana [et al.] // Pathol Res Pract. – 2020. – Vol.216, №2. – P.152758. doi: 10.1016/j.prp.2019.152758.
9. WRN helicase is a synthetic lethal target in microsatellite unstable cancers. / E.M. Chan [et al.] // Nature. – 2019. – Vol.568, №7753. – P.551-556. doi: 10.1038/s41586-019-1102-x.

## REFERENCES

1. Pavlov V.N., Izmaylova S.M., Izmaylov A.A., Viktorova T.V. Role of the genetic factors in the formation of malignant neoplasia of urinary bladder. Cancer Urology. 2008;4(2):35-39. (In Russ.) <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2008-4-2-35-39>
2. V.N. Pavlov, A.A. Izmailov, T.V. Viktorova, S. M. [et al.]. Bladder cancer genetic risk factors.//Experimental and clinical urology. 2010; (2): 30-33. (in Russ.)
3. Khasanova, G.M. Sotsial'no-meditsinskaya rabota v razlichnykh sferakh zhiznedeyatel'nosti (Socio-medical work in various fields of life) / G.M. Khasanova, Z.L. Sizonenko, Z.A. Yangurazova – Ufa: RITs BashGU, 2010. – 191 s. (in Russ.)
4. Bermisheva, M.A., Gilyazova, I.R., Akhmadishina, L.Z. [et al.]. A WRN Nonsense Mutation, p.R1406X, is Not a Risk Factor of Breast Cancer. Russ J Genet 55, 899–903 (2019). (In Russ.) <https://doi.org/10.1134/S1022795419070056>
5. Patterson, K., Arya, L., Bottomley, S. [et al.]. Altered RECQL5 expression in urothelial bladder carcinoma increases cellular proliferation and makes RECQL5 helicase activity a novel target for chemotherapy. Oncotarget. 2016; 7(46), 76140-76150. (in Eng.) DOI: 10.18632/oncotarget.12683.
6. Wang, L., Kaku, H., Huang, P. [et al.]. Single nucleotide polymorphism WRN Leu1074Phe is associated with prostate cancer susceptibility in Chinese subjects. Acta Med Okayama. 2011; 65(5), 315-23. (in Eng.)
7. Heeke, A.L., Pishvaian, M.J., Lynce, F. [et al.]. Prevalence of homologous recombination-related gene mutations across multiple cancer types. JCO Precis Oncol. 2018; 2018. doi: 10.1200/PO.17.00286. Epub 2018 Jul 23 (in Eng.)
8. Febres-Aldana, C.A., Krishnamurthy, K., Delgado, R. [et al.]. Prostatic carcinoma with neuroendocrine differentiation harboring the EWSR1-FEV fusion transcript in a man with the WRN G327X germline mutation: A new variant of prostatic carcinoma or a member of the Ewing sarcoma family of tumors? // Pathol Res Pract. 2020; 216(2), 152758. (in Eng.) doi: 10.1016/j.prp.2019.152758.
9. Chan, E.M., Shibue, T., McFarland, J.M. [et al.]. WRN helicase is a synthetic lethal target in microsatellite unstable cancers. Nature. 2019 Apr;568(7753):551-556. (in Eng.) doi: 10.1038/s41586-019-1102-x. Epub 2019 Apr 10.