

На правах рукописи

ЛЕНКОВА КСЕНИЯ ВЯЧЕСЛАВОВНА

**ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСНОВ
ФОРМИРОВАНИЯ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ**

1.5.7 – генетика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Уфа – 2025

Работа выполнена в лаборатории молекулярной генетики человека в Институте Биохимии и Генетики – обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (ИБГ УФИЦ РАН).

Научный руководитель:
кандидат биологических наук

Минниахемтов Илдар Рамилевич

Официальные оппоненты:

Любченко Людмила Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом молекулярной генетики и клеточных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения «Национального медицинского исследовательского центра Радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Глотов Андрей Сергеевич, доктор биологических наук, заведующий отделом геномной медицины им. В.С. Баранова Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта».

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва, ул. Москворечье, 1.

Защита диссертации состоится «4» марта 2026 года в «12:00» часов на заседании аттестационной комиссии при Уфимском федеральном исследовательском центре Российской академии наук по адресу: 450054, г. Уфа, Проспект Октября, 71, конференц-зал ИБГ УФИЦ РАН (ком. №406). С диссертацией можно ознакомиться на сайтах ВАК РФ (<https://vak.minobrnauki.gov.ru>) и УФИЦ РАН (<http://ufaras.ru>).

Автореферат разослан «___»_____. г.

Учёный секретарь диссертационного совета
24.1.218.01
доктор биологических наук, доцент

Гульназ Фаритовна Корытина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Рак шейки матки (РШМ) (МКБ-10 – C53.0, C53.1, C53.8, C53.9) – многофакторное онкологическое заболевание, развивающееся из эпителия шейки матки и начинающееся с диспластических изменений, которые со временем могут прогрессировать в инвазивный рак (Димитриади и др., 2020).

По оценочным данным, в 2022 году во всём мире зарегистрировано 662 301 новый случай РШМ и 348 874 случая смерти (Zhou et al., 2025). РШМ занимает 4 место в структуре женских онкологических заболеваний, а уровень заболеваемости тесно коррелирует с уровнем социально-экономического развития. В развитых странах он составляет 7,1 случая на 100 000 женщин, тогда как в развивающихся достигает 40,1 случая на 100 000. Такая разница обусловлена доступностью вакцинации против вируса папилломы человека высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР) – основного этиологического фактора РШМ – и эффективностью скрининговых программ ранней диагностики (Xu et al., 2025).

До 90% ВПЧ-инфекций спонтанно элиминируются без какого-либо лечения (Довлетханова и др., 2023), а сама малигнизация, согласно современным данным, может занимать до 40 лет (Wang et al., 2020). Канцерогенез шейки матки инициируется персистирующей ВПЧ-инфекцией ВКР, особенно при сочетании с иммуносупрессивными состояниями пациентки и воздействием канцерогенных факторов (Bowden et al., 2023).

В настоящее время доказано, что существенный наследственный компонент также вносит вклад в риск развития РШМ (Ramachandran et al., 2021). Это свидетельствует о влиянии генетических факторов, при том, что ключевые молекулярные механизмы заболевания остаются недостаточно изученными. В связи с этим выявление генов молекулярно-генетической предрасположенности к РШМ и разработка на их основе прогностических маркеров ранней диагностики является важной задачей современной профилактической медицины.

Учитывая отсутствие надёжных молекулярных маркеров развития РШМ (кроме факта носительства ВПЧ ВКР), актуальным остаётся поиск генетических маркеров предрасположенности, которые в совокупности с ВПЧ-статусом позволяют повысить эффективность профилактики, диагностики и мониторинга течения заболевания.

Степень разработанности темы исследования. Ранее основной фокус в изучении ВПЧ-ассоциированного рака шейки матки был направлен преимущественно на сам вирус и те молекулярные механизмы, которые запускают канцерогенез под его воздействием. Однако за последние десятилетия история исследования генетики рака шейки матки существенно расширилась за счёт изучения наследственного компонента в патогенезе заболевания. Исследование наследуемости РШМ развивалось последовательно: от анализа генов-кандидатов к проведению

полногеномных ассоциативных исследований, а затем – к детальному изучению вариабельности генома с использованием современных методов секвенирования.

В настоящее время существует необходимость создания прогностических систем, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью, которые могли бы служить вспомогательным инструментом наряду с клинико-лабораторной диагностикой ВПЧ-инфекции и цитологическим исследованием соскоба шейки матки для прогноза исходов течения ВПЧ-инфекции и раннего выявления риска малигнизации.

Цель исследования. Целью исследования является комплексная оценка вклада вирусологических факторов и наследственной вариабельности генома в риск развития рака шейки матки с идентификацией генетических маркеров и вирусологических характеристик для последующей оптимизации ранней диагностики и профилактики.

Задачи исследования:

1. Определение распространённости ВПЧ инфекции, идентификация спектра и частот онкогенных типов вируса у женщин из Республики Башкортостан с оценкой частоты спонтанной элиминации/перsistенции ВПЧ.
2. Поиск герминалных вариантов замен нуклеотидной последовательности ДНК, выявленных при таргетном NGS секвенировании 48 генов, с оценкой их значимости (*in silico*) при раке шейки матки.
3. Оценка микросателлитной нестабильности в соматической ДНК пациенток с герминалными вероятно патогенными мутациями в генах системы репарации неспаренных оснований ДНК (MMR) на основе анализа 5 микросателлитных локусов (MSI): NR-21, BAT26, BAT-25, NR-24, NR-27.
4. Поиск ассоциаций частых вариантов 17 генов (rs1042522 гена *TP53*, rs1801133 и rs1801131 гена *MTHFR*, rs17879961 и rs1060502712 гена *CHEK2*, rs56391007 и rs34589476 гена *MET*, rs1058808 и rs1136201 гена *ERBB2*, rs1208 и rs1801280 гена *NAT2*, rs3822214 гена *KIT*, rs1799939 гена *RET*, rs144848 и rs4987117 гена *BRCA2*, rs1799950 и rs1799967 гена *BRCA1*, rs2229070 гена *ABL1*, rs1140475 гена *EGFR*, rs619203, rs529156 и rs529038 гена *ROS1*, rs1799971 гена *OPRM1*, rs4149056 гена *SLO1D1*, rs8192709 гена *CYP2B6*, rs6030, rs4524, rs1046712, rs6025, rs9332607 и rs6035 гена *F5*), выявленных при таргетном NGS секвенировании 48 генов, с риском развития рака шейки матки.
5. Выполнение репликативных исследований по результатам GWAS для вариантов генов *CLPTM1L* (rs27069), *PAX8* (rs10175462) и *CDC42* (rs2268177) с риском развитием рака шейки матки на популяции из Республики Башкортостан.
6. Определение генетических маркеров предрасположенности к раку шейки матки с целью оптимизации ранней диагностики и профилактики заболевания.

Научная новизна. Впервые для Республики Башкортостан реализован pilotный популяционный скрининг ВПЧ у 28 928 женщин с проспективным мониторингом течения инфекции; оценены спектр и распространённость генотипов

ВПЧ, что позволило стратифицировать когорту на группы персистирующего носительства и спонтанной элиминации. Впервые в Российской Федерации выполнено репликационное исследование ассоциаций вариантов *CLPTM1L* rs27069, *PAX8* rs10175462, *CDC42* rs2268177, ранее выявленных в GWAS РШМ, на независимой выборке с учётом статуса ВПЧ (перsistенция/элиминация). Впервые для региона охарактеризован спектр редких герминальных вариантов в панели из 48 генов у пациенток с РШМ; идентифицированы патогенные и вероятно патогенные варианты, а также описаны варианты с неопределенной клинической значимостью (VUS) с выделением подгруппы потенциально патогенных. Проведён поиск ассоциаций частых вариантов в 20 генах с риском РШМ для женщин из Республики Башкортостан (дизайн «случай-контроль»). Впервые для онкогинекологической когорты региона оценена микросателлитная нестабильность (MSI) опухолевой ДНК у носительниц герминальных dMMR-вариантов по панели локусов NR-21, BAT-26, BAT-25, NR-24, NR-27. Сформирована кандидатная панель маркеров предрасположенности к РШМ, объединяющая вирусологические (типовий спектр и перsistенция ВПЧ) и генетические показатели, ориентированная на оптимизацию программ раннего выявления и профилактики в регионе.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Поиск наследственного компонента ВПЧ-зависимого рака шейки матки является значимой и до настоящего времени нерешённой задачей. Анализ распространенности ВПЧ и его типов, выполненный в рамках этой работы, еще раз подчеркнули необходимость внедрения новых предикторных инструментов. Нами были выделены редкие патогенные варианты, выявленные у пациенток с ВПЧ- зависимым раком шейки матки. Кроме этого, в задачи исследования входило изучение полиморфных вариантов с последующей разработкой прогностических моделей риска развития рака шейки матки. Полученные данные позволили выявить потенциальную применимость и релевантность метода для разработки персонализированной генетической диагностики рака шейки матки в клинической практике и системе профилактики Российской Федерации.

Методология исследования состоит в использовании системного подхода на основе комплекса молекулярно-генетических и клинических методов, а также анализа литературных данных отечественных и зарубежных авторов в области генетики рака шейки матки. Для молекулярно-генетического исследования были выбраны следующие методы исследования: выделение ДНК методом фенольно-хлороформной экстракцией и коммерческими наборами, ВПЧ-digene-тест, полимеразная цепная реакция синтеза ДНК (ПЦР) в режиме «реального времени», метод секвенирования и секвенирования нового поколения, а также различные варианты биоинформационического анализа, работа с базами данных и применение методов статистического анализа. Дополнительным методом исследования послужил иммуногистохимический анализ.

Положения, выносимые на защиту:

1. Частота носительства ВПЧ инфекции среди женщин 30-39 лет составила 10,3%, средний уровень вирусной нагрузки – 287,9 RLU/COV, у 21 женщины (0,69%) выявлен рак шейки матки.
2. Самые распространённые типы ВПЧ ВКР в исследуемом регионе 16, 51 и 56, а 56,6% ВПЧ-инфицированных женщин являются носителями как минимум трех типов вируса, не выявлено прямой зависимости между вирусной нагрузкой, элиминацией вируса и количеством типов ВПЧ в образце.
3. Идентифицированы герминальные патогенные варианты в генах *APC*, *BRCA2*, *BRAF*, *MSH2*, *MSH6* у пациенток с раком шейки матки.
4. Выявлены ранее не описанные ассоциации полиморфных вариантов генов *MET*, *CHEK2*, *ERBB2*, и *NAT2* с раком шейки матки, варианта p.Pro72Arg гена *TP53* с ранней манифестацией рака шейки матки, а варианта p.Glu429Ala гена *MTHFR* – с трехлетней выживаемостью.
5. Репликация GWAS исследований выявила ассоциации с аллелем G полиморфного локуса rs27069 гена *CLTP1L* и с аллелем T и генотипом TT локуса rs2268177 гена *CDC42* с раком шейки матки.
6. Установлена прогностическая роль генотипа TT полиморфного варианта rs2268177 гена *CDC42* в развитии рака шейки матки и с более чем 2-3 кратным увеличением заболеваемости.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов подтверждается применением современных молекулярно-генетических методов и объемом проделанной работы. Результаты исследования согласуются с данными, представленными в отечественной и зарубежной литературе. Выводы полностью и в строгой логической последовательности соответствуют поставленным задачам и отражают полученные результаты.

Личный вклад автора в проведенные исследования. Определение темы диссертационной работы, цели и задач исследования проводились автором совместно с научным руководителем к.б.н., доцентом И.Р. Минниахметовым. Автор самостоятельно изучил отечественную и зарубежную литературу по теме диссертации, лично написал рукопись данной работы, а также непосредственно участвовал в подготовке материалов к публикациям и их написании. Соискатель самостоятельно проводил экспериментальную работу, обрабатывал, анализировал и обобщал полученные результаты.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, в том числе 1 статья в журнале, индексируемом WOS, 2 статьи в журналах, индексируемых Scopus, и 4 статьи в журналах, входящих в перечень ВАК.

Соответствие научной квалификационной работы паспорту научной деятельности. Работа «Исследование молекулярно-генетических основ формирования рака шейки матки» соответствует формуле специальности 1.5.7 –

«Генетика». В работе исследованы молекулярно генетические аспекты рака шейки матки, а также изучена возможность их использования в качестве маркеров риска развития данной патологии у пациентов. Области исследования: «Генетика человека. Медицинская генетика. Наследственные болезни», «Молекулярные и цитологические основы наследственности», «Онкогенетика».

Структура и объем работы. Научно-квалификационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и обсуждения, выводов и списка литературы, включающего 206 работ зарубежных и отечественных авторов. Работа изложена на 190 страницах, содержит 13 рисунков и 36 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Материалы исследования. Материалом исследования послужили образцы соскоба эпителиальных клеток шейки матки 28 928 женщин в возрасте 30-39 лет, обследованных в рамках пилотного проекта по скринингу рака шейки матки (2019 г.) с применением ВПЧ-тестирования (Digene HPV Test, Hybrid Capture Technology, Qiagen, США). Для 219 женщин с целью оценки распространенности вируса было проведено типирование ВПЧ. Для выделения групп с персистенцией и элиминацией ВПЧ спустя некоторое время повторно было обследовано 70 женщин, с последующим выделением их герминальной ДНК. В исследовании использовалась герминальная ДНК 495 женщин: 111 пациенток с клиническим диагнозом РШМ, 51 с зафиксированной элиминацией ВПЧ, 333 условно-здоровых женщин. Для дополнительного исследования так же была использована соматическая ДНК опухолевой ткани 4 пациенток с выявленными вероятно патогенными герминальными заменами в системе генов dMMR.

Методы исследования. В работе использовалась ДНК, выделенная из соскоба шейки матки, для получения данных о носительстве ВПЧ и его генотипов при помощи набора «Ампли Прайм РИБО-преп» (НекстБио, Россия). Геномная ДНК женщин с клиническим диагнозом РШМ и из групп сравнения была выделена методом фенольно-хлороформной экстракции по Метью (Mathew, 1984). Кроме того, для выделения и очистки ДНК из образцов FFPE опухолевой ДНК у пациенток с выявленными патогенными и вероятно патогенными герминальными вариантами в генах системы reparации неспаренных оснований для последующего анализа микросателлитной нестабильности использовали наборы «Extract DNA FFPE» (Евроген, Россия).

Для детекции и типирования ВПЧ в образцах соскоба эпителия шейки матки применялись технология гибридного захвата ВПЧ-digene-тест и полимеразная цепная реакция в режиме «реального времени» (ПЦР-РВ) с использованием наборов «HPV КВАНТ-21» (ДНК-Технология ТС, Россия) и детектирующего амплификатора «ДТ-

прайм-96» (ДНК-Технология, Россия) и «АмплиПрайм ВПЧ ВКР 14» (НекстБио, Россия) и амплификатора «CFX-96» (Bio-RadLaboratories, США). Исследование полиморфных вариантов герминальной ДНК проводилось согласно протоколу фирмы производителя с использованием ПЦР-РВ при помощи набора реагентов компании «Синтол» (Синтол, Россия) с использованием детектирующего амплификатора «CFX96» и «ДНК-Синтез» (ДНК-Синтез, Россия) с помощью системы детекции продуктов ПЦР в реальном времени «ДТ-прайм», а также методом секвенирования нового поколения с использованием разработанной нами совместно с «Рош Диагностика Рус» (Рош Диагностика Рус, Россия) кастомной NGS панели, состоящей из 48 генов и на платформе Illumina (MiSeq, США) с последующей обработкой данных при помощи специализированных баз данных и *in silico*-инструментов.

Анализ микросателлитной нестабильности выполнялся методом иммуногистохимии с помощью автоматического иммуногистостейнера Ventana BenchMark ULTRA и антител к белкам системы репарации неспаренных оснований (MMR) (Roche Diagnostics, Германия) и методом фрагментного анализа на генетическом анализаторе 3500xL (AppliedBiosystems, США). В исследовании был применён широкий спектр биоинформационических инструментов для прогноза эффекта мутаций и оценки изменений конформации белков (SIFT, MutationAssessor, PolyPhen-2, MetaLR, CADD, SWISS-MODEL, DynaMut2, PrimateAI-3D, SpliceAI) и баз данных (ClinVar, OncoBRCA, Ensembl, gnomAD, UniProt, AlphaFold), а также использовались стандартные методы статистической обработки, включая программное обеспечение PLINK и R-Studio.



Рисунок 1 – Дизайн исследования

Исследование состояло из 3 основных направлений: проведение ВПЧ тестирования с оценкой распространенности и типов ВПЧ и выделение группы женщин с элиминацией ВПЧ, репликация некоторых полиморфных локусов, ассоциированных с РШМ в результате GWAS, и проведение NGS-исследования для женщин, больных РШМ, с последующим анализом клинической значимости герминальных замен. Заключительный этап исследования – анализ данных с оценкой прогностически значимых биомаркеров РШМ (рисунок 1).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Распространенность вируса папилломы человека и его типов среди женщин из Республики Башкортостан

В ходе анализа распространённости ВПЧ установлено, что общая частота ВПЧ-позитивных женщин в исследуемой выборке составила 10,6%. Наибольший уровень инфицированности регистрировался среди женщин младше 30 лет и достигал 24,9%. В группе 30-39 лет частота выявления ВПЧ высокого онкогенного риска составила 10,3%, тогда как в старшей возрастной группе показатель не превышал 8,1%. Средний уровень вирусной нагрузки по всей выборке составил 319,97 условных единиц свечения, что соответствует высокой вирусной нагрузке (более 3×10^7). Максимальное значение – 361,1 – было отмечено у женщин старше 39 лет, минимальное – 287,9 – в группе 30-39 лет. У 5,4% женщин с положительным ВПЧ-тестом была диагностирована патология шейки матки; среди них у 21 женщины (0,69% от общей выборки) выявлен рак шейки матки на ранних стадиях (20 случаев cancer in situ и 1 случай cancer IA).

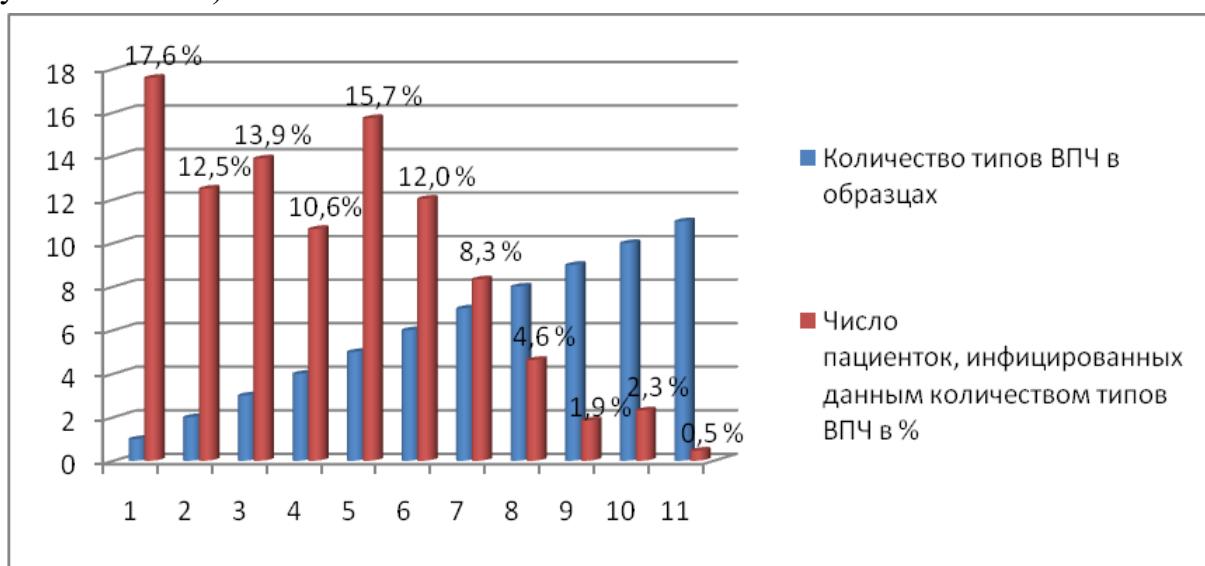


Рисунок 2 – Распределение количества типов ВПЧ, одновременно выявленных у женщин из Республики Башкортостан

У инфицированных пациенток выявлено 17 различных генотипов ВПЧ, при этом число одновременно обнаруженных типов варьировало от 1 (17,6% случаев) до 11 (0,5%) (рисунок 2). Более половины (56,6%) ВПЧ-позитивных женщин являлись носительницами как минимум трёх типов вируса. Прямой связи между вирусной

нагрузкой и числом типов ВПЧ в образце не выявлено. У пациентки, инфицированной 11 генотипами, вирусная нагрузка составляла 1 810,73 условных единиц свечения, тогда как у женщин с одним типом ВПЧ она достигала 2 197,56 и выше. У носительниц 10 типов вируса уровень вирусной нагрузки колебался в пределах от 181,08 до 1 625,05 условных единиц свечения.

У 59,8% пациенток был выявлен ВПЧ 16-го типа, тогда как ВПЧ 18-го типа обнаружен лишь у 23,7% инфицированных женщин из Республики Башкортостан. ВПЧ 51-го и 56-го типов распространены среди 40% обследованных пациенток каждый. При этом высокоонкогенные типы ВПЧ 51 и 58, которые занимают лидирующие позиции по распространённости, не входят в число генотипов, против которых разработаны существующие вакцины. Мы также установили, что ни один из широко применяемых в настоящее время методов диагностики не может служить надёжным прогностическим маркером исхода заболевания на ранних стадиях, до появления выраженной клинической симптоматики. Дополнительно следует отметить, что вакцинация не охватывает полный спектр циркулирующих в регионе типов ВПЧ, что формирует существенный пробел в системе профилактических мероприятий (таблица 1).

Таблица 1. Спектр и частоты распространённости типов вируса папилломы человека среди ВПЧ-положительных женщин из Республики Башкортостан

№ пп	Типы ВПЧ	Частоты, %	№ пп	Типы ВПЧ	Частоты, %
Высокого онкогенного риска					
1	VVV 16	59,8% (131)	10	35	22,3% (49)
2	51	40,1% (88)	11	66	17,3% (38)
3	56	38,8% (85)	12	68	14,6% (32)
4	V 31	32,8% (72)	13	V 45	13,2% (29)
5	39	30,6% (67)	14	V 52	13,2% (29)
6	V 58	27,8% (61)	15	73	7,3% (16)
7	V 33	27,4% (60)	16	53	6,4% (14)
8	59	26% (57)	17	82	2,3% (5)
9	VVV 18	23,7% (52)	18	26	0
Низкого онкогенного риска					
1	44	5,5% (12)	—	—	—
2	VV 6	2,7% (6)	—	—	—
3	VV 11	0	—	—	—

Известно, что на сегодняшний день существует три рекомбинантные вакцины против ВПЧ: «Церварикс» (против ВПЧ 16 и 18), «Гардасил» (против ВПЧ 6, 11, 16 и 18 типов) и «Гардасил-9» (против ВПЧ 6, 11, 16, 18 типов, 31, 33, 45, 52 и 58) (Мусралиева и др., 2025). В таблице 1 цветовой схемой отмечены красным символом

«V» типы ВПЧ, против которых эффективна вакцина «Церварикс», желтым «V» - «Гардасил», зеленым «V» - «Гардасил-9». Красной заливкой схематически выделены типы, против которых на сегодняшний день не разработано вакцин, в том числе высокоонкогенные 51 и 58 типы ВПЧ, занимающие верхние строчки в таблице. Используя подсчет, основанный на учете абсолютного числа типов ВПЧ в выборке показано, что обнаружено 885 высокоонкогенных типов вируса в 219 пробах, вакцинация даже девятивалентной вакциной охватит только 49% онкогенных типов (434 из 885). Для низкоонкогенных типов этот показатель составил около 33% (6 из 18).

Репликативное исследование локусов генов *CLPTM1L* (rs27069), *PAX8* (rs10175462) и *CDC42* (rs2268177), ассоциированных с РШМ в результате GWAS.

Полногеномный поиск ассоциаций (genome-wide association studies, GWAS) представляет собой мощный метод выявления однонуклеотидных полиморфизмов, ассоциированных с развитием рака шейки матки. В мировых полногеномных исследованиях ассоциаций (GWAS) были идентифицированы значимые связи с генами *PAX8*, *LINC00339*, *CDC42*, *CLPTM1L*, а также с локусами *HLA* и *GSDM-B* (Koel et al., 2023).

Таблица 2 – Результаты исследования локусов *CLPTM1L* (rs27069), *PAX8* (rs10175462) и *CDC42* (rs2268177) у пациенток с раком шейки матки

Ген	Координата	Рисковый аллель	Результат	Рисковый генотип	Результат
<i>CLPTM1L</i>	rs27069	G	p=0,043 $\chi^2=4,098$ ОШ=1,395 ДИ 95%=1,01–1,929	GG	$\chi^2=4,172$ p=0,124
<i>PAX8</i>	rs10175462	G	p=0,217 $\chi^2=1,526$ ОШ=1,212 ДИ 95%=0,893–1,643	GG	$\chi^2=1,54$ p=0,463
<i>CDC42</i>	rs2268177	T	p=3,751e-005 $\chi^2=16,99$ ОШ=1,945 ДИ 95%=1,413–2,676	TT	$\chi^2=17,35$ p=0,0002

Примечательно, что большинство выявленных ассоциаций локализованы в инtronных областях генов, что косвенно указывает на их возможную регуляторную роль. Известно, что полиморфные варианты – включая те, что обнаруживаются в

рамках GWAS – сегрегируют по-разному в различных этнических группах, и эти различия могут существенно влиять на фенотипические проявления их эффекта. На территории России ранее не проводились репликативные исследования GWAS по выявлению генетической предрасположенности к ВПЧ-ассоциированному РШМ. В ходе репликативного исследования трех полиморфных вариантов в группе пациенток с клиническим диагнозом РШМ и группе сравнения нами было показано, что – rs10175462 гена *PAX8* – ассоциации с заболеванием не выявлено. Этот результат подчёркивает, что генетические предикторные инструменты необходимо адаптировать под конкретные популяции, особенно если они не были представлены в исходных выборках GWAS (Россия, Китай, Индия, страны Африки и Южной Америки).

В то же время изученные полиморфные варианты гена *CDC42* и гена *CLPTM1L*, связанного с резистентностью к цисплатину, демонстрируют потенциальную перспективность для включения в генетическую предикторную панель, применимую для нашей популяции (таблица 2).

Результаты анализа замен, выявленных методом секвенирования нового поколения у женщин с клиническим диагнозом рак шейки матки из Республики Башкортостан

Еще одним важным инструментом выявления предрасположенности к раку шейки матки является применение секвенирования следующего поколения (NGS) для изучения герминальных вариантов у пациенток с этим заболеванием. Один из подходов включает выявление патогенных и вероятно патогенных замен. Согласно литературным данным, доля выявляемых патогенных и вероятно патогенных замен зависит от состава таргетной панели генов и составляет в среднем около 5%. Так, исследование Хао Вэня и соавт., посвящённое анализу патогенных и вероятно патогенных вариантов зародышевой линии в 62 генах предрасположенности к раку в китайской популяции, показало распространённость данных вариантов на уровне 6,4% (23 из 358) среди пациенток с РШМ (Qiu et al., 2022).

В проведённом нами исследовании с использованием кастомной NGS-панели, включающей 48 генов, из которых 28 относятся к категорииprotoонкогенов и генов-супрессоров опухолевого роста, в когорте женщин с клиническим диагнозом РШМ было выявлено 10 004 нуклеотидные замены. Среди них 9 652 составляли однонуклеотидные варианты (SNV), 145 – инсерции, и 207 – делеции. В среднем на один образец герминальной ДНК приходилось 92 замены в исследуемых участках.

На первичном этапе аннотации, выполненном с использованием ресурса Variant Interpreter (Illumina, США), лишь 148 вариантов в генах, вовлечённых в процессы опухолеобразования, были отнесены к категории замен с потенциально недоброкачественным значением (VUS, LP, P). Последующая проверка по литературным источникам и специализированным базам данных показала, что 23,6% из них соответствуют доброкачественным вариантам, тогда как 70,9% относятся к

категории VUS, и их клиническая значимость требует дальнейшего изучения. Всего 7 замен (4,7%) были классифицированы как патогенные или вероятно патогенные (таблица 3). Кроме того, полиморфный вариант rs1042522 гена *TP53* ассоциирован в ряде исследований с повышенным риском развития РШМ.

В результате проведённого нами анализа было показано, что среди выявленных патогенных и вероятно патогенных вариантов значимыми для РШМ являются следующие: c.2507C>G, p.Ser836Ter гена *APC*, c.9154C>T, p.Arg3052Trp гена *BRCA2*, c.1592G>T, p.Trp531Leu гена *BRAF*, c.350G>A, p.Trp117Ter гена *MSH2*, c.3261dupC, p.Phe1088LeufsTer5 гена *MSH6*. При этом нами было продемонстрировано (по данным ассоциативного анализа), что полиморфизм c.470T>C, p.Ile157Thr гена *CHEK2* не является патогенным в отношении риска развития РШМ. А вариант c.2116delG, p.Asp706GlyfsTer11 гена *MSH2* доброкачественен на основании анализа микросателлитной нестабильности в опухолевой ткани пациентки.

В структуре выявленных генетических вариантов на замены в гене *CHEK2* приходится 6 из 148 (4,0%). При этом 5 из них относят к категории VUS, а одна является патогенной. Миссенс вариант c.470A>G, p.Ile157Thr в гене *CHEK2* (rs17879961, chr22:29121087) в гетерозиготном состоянии обнаружен у 3 женщин (2,7%). По данным «oncoBRCA» данный вариант патогенен или вероятно патогенен для нескольких видов рака. В качестве дополнительного исследования мы решили попробовать изучить частоту данной замены в группе сравнения, которая представляла собой здоровых женщин, в анамнезе которых была зафиксирована спонтанная элиминация ВПЧ, на основании чего мы пришли к выводу, что они не предрасположены к персистентному типу вирусонасительства, а как следствие к РШМ. В результате, нами были получены данные о том, что 3 (5,88%) из 51 женщины из группы сравнения являлись носителем варианта c.470A>G в гене *CHEK2* в гетерозиготном состоянии. На основании того, что частота встречаемости патогенного варианта выше в группе сравнения (5,88%), чем в группе пациенток с РШМ (2,7%), мы сделали вывод, что данная мутация доброкачественна для РШМ и не ассоциирована с риском его развития.

Таблица 3 - Спектр и частоты патогенных и вероятно-патогенных вариантов вprotoонкогенах и генах онко-супрессоров

Ген	Вариант	Позиция (GRCh37)	Частота гетерозигот (%)	Значимость варианта
<i>CHEK2</i>	c.470T>C p.Ile157Thr	chr22:29121087	0,027	Вероятно патогенная
<i>APC</i>	c.2507C>G p.Ser836Ter	chr5:112173798	0,009	Патогенная
<i>BRCA2</i>	c.9154C>T p.Arg3052Trp	chr13:32954180	0,009	Патогенная

Ген	Вариант	Позиция (GRCh37)	Частота гетерозигот (%)	Значимость варианта
<i>BRAF</i>	c.1592G>T p.Trp531Leu	chr7:140476814	0,009	Вероятно патогенная
<i>MSH2</i>	c.350G>A p.Trp117Ter	chr2:47635679	0,009	Патогенная
<i>MSH2</i>	c.2116delG p.Asp706GlyfsTer11	chr2:47703614	0,009	Патогенная
<i>MSH6</i>	c.3261dupC p.Phe1088LeufsTer5	chr2:48030639	0,009	Патогенная

Создающая терминирующий кодон замена c.2507C>G в гене *APC* и миссенс вариант c.1592G>T в гене *BRAF* были обнаружены в сочетанном состоянии у пациентки 1959 года рождения, обратившейся за медицинской помощью в 2021 году по поводу рецидива РШМ. Впервые диагноз был установлен в 2020 году и звучал как РШМ ст4 гр4 с метастазами в подвздошные лимфоузлы и метастазами по брюшине (T4N1M1) (по МКБ-10: C53.8). Пациентка скончалась в ноябре 2021 года, заболевание протекало достаточно агрессивно и стремительно. Такое сочетанное носительство двух мутаций в генах супрессора опухоли и серин/ треониновых протеинкиназ не описано ранее в литературе.

Белки BRCA1 и BRCA2 играют ключевую роль в регуляции репарации ДНК и поддержании целостности генома (Shiloh et al., 2001). В нашем исследовании было выявлено 16 (10,81%) замен в данных генах, одна из которых являлась патогенной. Миссенс вариант замены c.9154C>T, p.Arg3052Trp в гене *BRCA2* (rs45580035, chr13:32954180) в гетерозиготном состоянии обнаружен у 1 женщин (0,92%). Согласно всем использованным базам данных данная замена патогенна для предрасполагающего к раку синдрому, наследственным формам рака молочной железы и раку яичников. Данная замена выявлена у пациентки с манифестацией плоскоклеточного РШМ (T3N1M0) в возрасте 58 лет с летальным исходом в течении 2 лет.

17 из 148 замен (11,4%) выявленных в результате нашего исследования были обнаружены в генах системы репарации неспаренных оснований (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6* и *PMS2*). При этом 3 из 17 замен оказались патогенными. Вариант c.350G>A, p.Trp117Ter в гене *MSH2* (rs786202083, chr2:47635679) в гетерозиготном состоянии обнаружен у 1 женщин (0,92%). Замена представляет собой нонсенс-вариант, заменяющий триптофан на преждевременный стоп-кодон (TGG>TAG). Ожидается, что это приводит к потере нормальной функции белка в виду его усечения, либо ввиду нонсенс-опосредованного распада мРНК. Данная мутация обнаружена у женщины 48 лет с сочетанием РШМ и рака тела матки. У пациентки по результатам иммуногистохимического исследования опухоли тела матки установлена

микросателлитная нестабильность и на сегодняшний день она получает 9 линию иммунотерапии с удовлетворительным терапевтическим ответом.

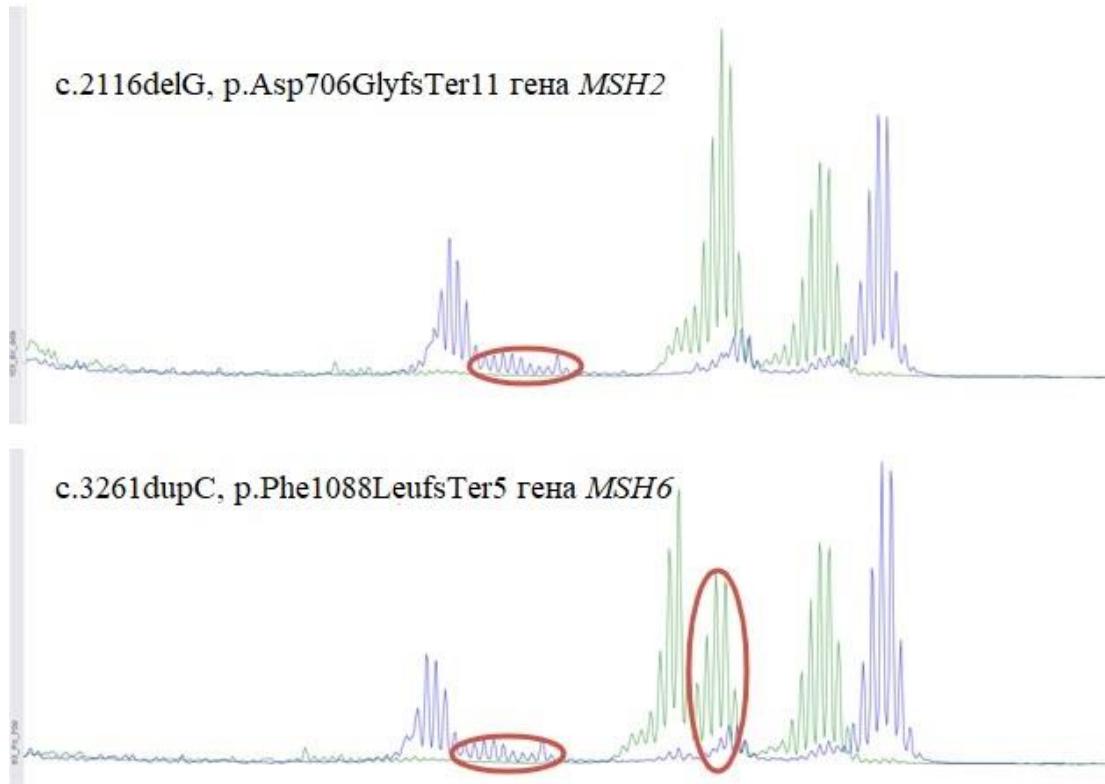


Рисунок 3 – Метод фрагментного анализа на генетическом анализаторе 3500xL с исследованием 5 микросателлитных локусов (MSI):NR-21 BAT-26 BAT-25 NR-24 NR-27.

Микроделеция c.2116delG, p.Asp706GlyfsTer11 со сдвигом рамки считывания в гене *MSH2* в геномной координате chr2:47703614, обнаруженная у женщины с плоскоклеточным РШМ, и вариант c.3261dupC, p.Phe1088LeufsTer5 со сдвигом рамки считывания в гене *MSH6* в геномной координате chr2:48030639, обнаруженный у пациентки с умеренно-дифференцированным инвазивным ПР, на момент проведения исследования классифицировались как вероятно патогенные. Для дифференцировки клинической значимости герминалных вариантов в генах системы репарации неспаренных оснований (MMR) был применён фрагментный анализ пяти микросателлитных локусов (MSI): NR-21, BAT-26, BAT-25, NR-24, NR-27. В результате анализа установлено, что у пациентки с вариантом c.3261dupC гена *MSH6* определяются признаки микросателлитной нестабильности, проявляющиеся в выявлении двух аллельных вариаций исследуемых локусов в опухоли. Это соответствует статусу MSI-High. В противоположность этому, для варианта c.2116delG гена *MSH2* была обнаружена только одна аллельная вариация, что указывает на статус MSI-Low, и такая опухоль расценивается как микросателлитно стабильная (рисунок 3).

Таким образом, несмотря на то, что оба варианта – с.3261dupC и с.2116delG – были переклассифицированы в ходе работы из вероятно патогенных в патогенные, полученные данные позволяют заключить, что герминальный вариант с.3261dupC в гене *MSH6* действительно является патогенным и оказал влияние на развитие заболевания, тогда как вариант с.2116delG гена *MSH2*, вероятно, не имеет клинически значимого эффекта в контексте РШМ. Эти данные согласуются с клинической картиной пациенток: так женщина со статусом MSI-Low достигла семилетней выживаемости, в то же время женщина со статусом MSI-High не достигла двухлетней. Согласно литературным данным без таргетного лечения присутствие микросателлитной нестабильности в опухоли имеет негативный прогноз.

Исключив из анализа варианты с неясным клиническим значением, локализованные в инtronных областях, мы выделили 54 редкие замены категорий VUS, LP и P согласно ресурсу Variant Interpreter, которые, однако, классифицируются как VUS, LB или B по данным других источников. Эти варианты локализованы в генах, ассоциированных с опухолеобразованием, встречались менее чем у 5% пациенток и подлежали дальнейшему *in silico* анализу с использованием биоинформационических инструментов.

На основании согласующихся результатов нескольких независимых биоинформационических алгоритмов (*in silico*) варианты с.3061C>T, p.Arg1040Trp гена *ABL1*, с.2039G>A, p.Arg680Gln гена *EGFR*, с.6733C>T, p.Gly2245Ser гена *ROS1*, с.3895G>C, p.Gly1299Arg гена *MET* и с.1196C>T, p.Pro399Leu гена *MSH6* могут быть классифицированы как вероятно патогенные. Кроме этого, нами были обнаружены новые ассоциации с полиморфными вариантами из категории с неясной клинической значимостью (VUS).

В гене *ABL1* замена с.3061C>T, p.Arg1040Trp (rs776649059, chr9:133760738) была обнаружена в гетерозиготном состоянии у 1 женщины с манифестом плоскоклеточного РШМ в 30 лет (T3N1M0). Это изменение последовательности заменяет аргинин, который является основным и полярным, на триптофан, который является нейтральным и слабополярным, в кодоне 1040 белка *ABL1*. Данный вариант не описан в литературе. Заболевание привело к летальному исходу в течении двух лет. Замена крайне редкая. По данным SpliceAI не оказывает влияния на сплайсинг. На основании того, что предсказательные программы характеризуют замену как неоднозначную (SIFT – VUS; PolyPhen, MetaLR – P; MutationAssessor, CADD – B), AlphaMissense как неоднозначную (VUS 0,274), а DynaMut2 (LP-0,32) и PrimateAI-3D (0,76 при ген-специфическом пороге 0,73) как вероятно патогенную, трудно сделать выводы о вкладе данной замены в патогенез РШМ. Однако с учетом раннего манифеста заболевания и того, что больше *in silico* инструментов свидетельствуют о патогенности замены, мы считаем ее вероятно патогенной для РШМ.

Замена с.2039G>A, p.Arg680Gln (rs373336251, chr7:55240795) гена *EGFR* была обнаружена в гетерозиготном состоянии у 1 женщины с манифестирувшим

плоскоклеточного РШМ IIБ стадии в 54 года (T2aN0M0). В результате однонуклеотидной замены в 17 экзоне гена *EGFR*, происходит замена аргинина на глутамин, аминокислоту с очень схожими свойствами, в 680 кодоне. Имеется некая разница в распространенности замены между нашей выборкой и общемировой. По данным SpliceAI не оказывает влияния на сплайсинг. Предсказательные программы характеризуют вариант скорее патогенным (SIFT, MutationAssessor – VUS; PolyPhen, MetaLR, CADD – P), AlphaMissense неопределенным (VUS 0,551), а DynaMut2 (LP-0,58) и PrimateAI-3D (0,77 при ген-специфическом пороге 0,71) вероятнее всего патогенным. Таким образом мы имеем основания предположить патогенность данной замены и то, что она внесла свой вклад в развитие РШМ у пациентки. Кроме того, данная замена описана как найденная у пациентов с раком молочной железы, подозрительных на наследственные опухолевые синдромы (Penkert et al., 2018).

Замена c.6733C>T, p.Gly2245Ser (rs142264513, chr6:117622137) гена *ROS1* была обнаружена в гетерозиготном состоянии у 2 женщин с манифестацией плоскоклеточного РШМ в 27 и 37 лет, что безусловно можно считать ранним началом заболевания. Данная замена доброкачественна согласно предикторным программам (SIFT, PolyPhen, MutationAssessor, MetaLR, CADD – B), AlphaMissense (LB 0,087). Однако, согласно SpliceAI данный вариант относится к вариантам сплайсинга (потеря акцептора 0,44/потеря донора 0,52), что предполагает его патогенность. Данный вариант был обнаружен у пациенток с наследственным раком молочной железы (Isidori et al., 2020; Torrezan et al., 2018).

Миссенс-вариант c.3895G>C, p.Gly1299Arg в гене *MET* (rs2117108658, chr7:116435805) в гетерозиготном состоянии обнаружен у 1 женщины с плоскоклеточным РШМ с манифестацией в 67 лет (T2aN0M0). Это изменение последовательности заменяет глицин, который является нейтральным и неполярным, на аргинин, который является основным и полярным. По данным SpliceAI не оказывает влияния на сплайсинг. Данные ClinVar противоречивы, а предсказательные программы свидетельствуют скорее о патогенном характере замены (SIFT, PolyPhen, MetaLR – P; MutationAssessor – LP; CADD – B), согласно AlphaMissense (LP 0,995), DynaMut2 (LP -0,85) и PrimateAI-3D (0,91 при ген-специфическом пороге 0,72) так же патогенна. В совокупности замена вероятно патогенна.

Миссенс-вариант c.1196C>T, p.Pro399Leu в гене *MSH6* (rs878853701, chr2:48026318) в гетерозиготном состоянии обнаружен у 1 женщины с манифестацией плоскоклеточного РШМ в 29 лет (T3N1M0). В результате замены, которая приходится на 4 экзон гена, пролин в кодоне 399 заменен лейцином, аминокислотой со схожими свойствами. Данные ClinVar неопределенные, данные предсказательных программ скорее говорят в пользу патогенности варианта (SIFT, MetaLR, PolyPhen, MutationAssessor – P; CADD, REVEL – B), согласно AlphaMissense (LP 0,923) и DynaMut2 (LP -0,5) замена патогенна, согласно PrimateAI-3D (0,77 при ген-специфическом пороге 0,90) доброкачественна. Замена не описана в литературе,

но исходя из общих данных и раннего манифеста заболевания мы считаем замену вероятно патогенной.

Особый интерес среди вариантов с неясной клинической значимостью представляет миссенс-вариант c.2962C>T, p.Arg988Cys гена *MET* (rs34589476, chr7:116411923), выявленный в гетерозиготном состоянии у 3 (2,7%) женщин русской этнической принадлежности с плоскоклеточным РШМ. Несмотря на относительно благоприятные результаты *in silico* прогноза, данный вариант, локализованный в функционально значимом юкстамембранным домене MET, считается фактором генетической предрасположенности, особенно при его сочетании с онкогенными драйверами пролиферации, хотя сам по себе он не оказывает прямого трансформирующего действия (Tyner et al., 2010). Это позволяет предположить, что в контексте патогенеза РШМ вариант p.Arg988Cys может потенцировать онкогенный эффект ВПЧ и способствовать реализации канцерогенного процесса. Дополнительным аргументом является то, что данный вариант, относительно часто выявленный в когорте пациенток, не был обнаружен в группах сравнения, что может свидетельствовать о его повышенной пенетрантности (таблица 4).

Таблица 4 – Результаты ассоциативного анализа вариантов с неясной клинической значимостью, продемонстрировавших статистически значимые ассоциации

Ген	Координата	Рисковый аллель	Результат	Рисковый генотип	Результат
<i>MET</i>	rs34589476	T	p=0,002 $\chi^2=9,8$ ОШ=10,76 ДИ 95%=1,69–68,73	не определен	не определен
<i>CHEK2</i>	rs1060502712	C	p=0,05 $\chi^2=3,8$ ОШ = 5,92 ДИ 95%=0,78–45,1	не определен	не определен
<i>ERBB2</i>	rs1058808	G	p = 0,046 $\chi^2 = 3,97$ ОШ = 1,52 95% ДИ = 1,01–2,31	GG	$\chi^2=5,51;$ p=0,063
<i>NAT2</i>	rs1208	A	p=0,3 $\chi^2=1,09$ ОШ=1,24 ДИ 95%=0,83–1,84	AA	$\chi^2=7,88;$ p=0,02

Ген	Координата	Рисковый аллель	Результат	Рисковый генотип	Результат
NAT2	rs1801280	T	p=0,34 $\chi^2=0,91$ ОШ=1,21 ДИ 95% = 0,82–1,81	TT	$\chi^2=8,15;$ p=0,02

Полиморфизмы c.972C>G, p.Cys324Trp в гене *CHEK2* (rs1060502712, chr22:29095862), c.3508C>G, p.Pro1170Ala гена *ERBB2* (rs1058808, chr17:37884037), c.803G>A, p.Arg268Lys гена *NAT2* (rs1208, chr8:18258316) и c.341T>C, p.Ile114Thr гена *NAT2* (rs1801280, chr8:18257854), которые продемонстрировали ассоциацию с риском развития РШМ (таблица 4), были ассоциированы в ряде исследований с онкологическими заболеваниями разных локализаций. Несмотря на отсутствие выявленных ассоциаций с генетической предрасположенностью к развитию РШМ для ряда других вариантов, нами было показано, что генотип GG полиморфизма c.215C>G, p.Pro72Arg гена *TP53* связан с более ранней манифестацией заболевания, а полиморфизм c.1298A>C, p.Glu429Ala гена *MTHFR* коррелирует с сниженной выживаемостью пациенток. Ассоциация rs1801131 гена *MTHFR* с более тяжёлым течением заболевания (для аллеля C:p=0,004, $\chi^2=8,37$; для генотипа CC:p=0,01, $\chi^2=8,69$) указывает на то, что вариант p.Glu429Ala может рассматриваться как потенциальный прогностический маркер течения РШМ.

Оценка прогностической роли выявленных маркеров в развитии рака шейки матки

Заключительным этапом нашего исследования стала оценка прогностической роли выявленных маркеров в развитии рака шейки матки на основе полиморфных вариантов, связанных с риском возникновения ВПЧ-ассоциированного рака шейки матки. Для оптимизации параметров классификации был проведён ROC-анализ и выбран оптимальный порог отсечения, обеспечивающий необходимый баланс между чувствительностью и специфичностью модели. Качество классификации оценивалось с помощью площади под ROC-кривой (AUC), а также путём определения чувствительности и специфичности при выбранном пороге. Для построения модели были отобраны полиморфные варианты rs1058808, rs1208, rs1801280, rs27069 и rs2268177, поскольку ранее для них были продемонстрированы ассоциации с риском развития заболевания. Так же в модель был включен SNP rs10175462, так как на малой группе сравнения для него была показана тенденция к ассоциации. В результате этого нами была получена модель, значимый эффект в которой обнаружен только для генотипа AT rs2268177 (p = 0,0145) (таблица 5, рисунок 4).

Коэффициент 0,92829 означает, что этот генотип увеличивает логарифм шансов положительного исхода. Для остальных генотипов р-значения значительно выше 0,05, что говорит об отсутствии статистически значимого влияния. Однако коэффициент для генотипа rs2268177 очень большой (17,7) с огромной стандартной ошибкой (1103), что указывает на нестабильность оценки. Это вероятнее всего связано с тем, что этот генотип не встречается в группе здоровых индивидов, из-за чего модель не может адекватно оценить его эффект. Для генотипа AT rs2268177 OR=e $0,92829 \approx 2,53$. Это значит, что наличие генотипа AT увеличивает шансы развития рака шейки матки примерно в 2,5 раза по сравнению с референсным генотипом AA.

Таблица 5 – Оценка прогностической роли rs1058808, rs1208, rs1801280, rs27069, rs2268177 и rs10175462 в развитии рака шейки матки

Coefficients:				
	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	-1,60876	1,49529	-1,076	0,2820
rs1058808CG	-0,21589	0,61518	-0,351	0,7256
rs1058808GG	-0,06876	0,60753	-0,113	0,9099
rs1208GA	0,18198	0,60222	0,302	0,7625
rs1208GG	-0,58336	1,16898	-0,499	0,6178
rs1801280TC	0,62270	1,18011	0,528	0,5977
rs1801280TT	0,83222	1,19485	0,697	0,4861
rs27069AG	0,31690	0,59257	0,535	0,5928
rs27069GG	0,90243	0,61289	1,472	0,1409
rs10175462GA	0,30110	0,51091	0,589	0,5556
rs10175462GG	0,24056	0,51371	0,468	0,6396
rs2268177AT	0,92829	0,37959	2,445	0,0145 *
rs2268177TT	17,70689	1103,17245	0,016	0,9872

Далее с целью подтверждения полученных данных и оценки прогностической роли выявленных маркеров в персистенции ВПЧ мы отобрали полиморфные варианты rs2268177, rs27069 и rs10175462. В качестве группы сравнения в данной модели использовались данные генотипирования группы условно-здоровых женщин с элиминацией ВПЧ. В результате этого нами была получена модель, в которой интерсепт, то есть константа или логарифм шансов при всех предикторах, равных нулю составляет -2,1011, что в терминах логистической регрессии означает, что при всех предикторах, равных нулю, логарифм шансов положительного исхода равен -2,1011. При преобразовании логарифма шансов в вероятность мы получаем, что при нулевых значениях всех предикторов вероятность персистенции ВПЧ около 10,9%. Малое р-значение говорит о том, что этот интерсепт статистически значим, и его

включение в модель оправдано. Коэффициенты для генотипов АТ и ТТ для rs22681772 значимо увеличивают логарифм шансов положительного исхода. Особенно ТТ — с большим коэффициентом (1,2560), что говорит о более сильном эффекте (рисунок 5, таблица 6).

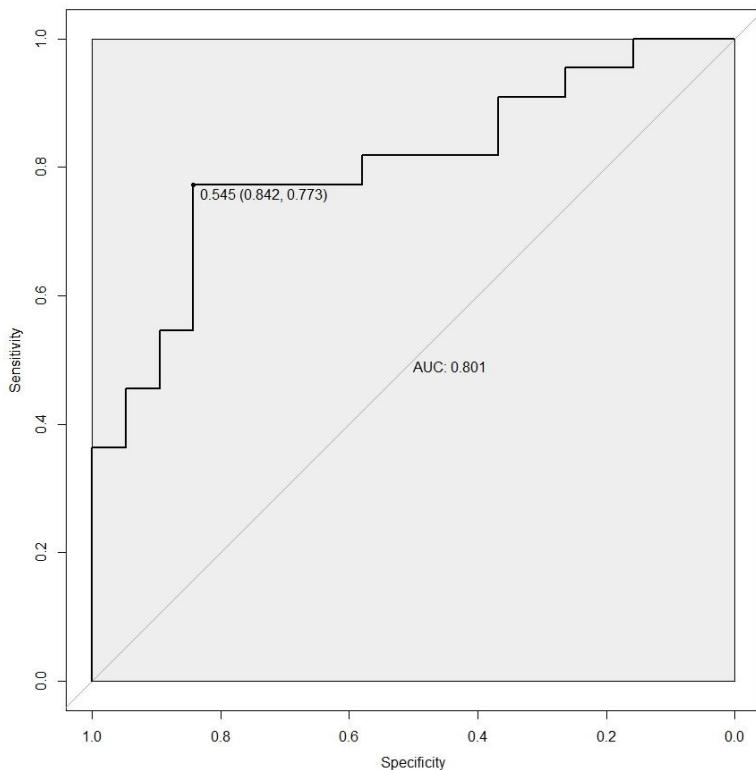


Рисунок 4 – Оценка прогностической роли rs1058808, rs1208, rs1801280, rs27069, rs2268177 и rs10175462 в развитии рака шейки матки

Анализ коэффициентов для rs27069 и rs10175462 демонстрирует, что все р-значения $>0,05$, значит, эти генотипы не оказывают статистически значимого влияния на вероятность события в вашей модели, что согласуется с данными, полученными в предыдущей прогностической модели.

Таблица 6 – Оценка прогностической роли rs27069, rs2268177 и rs10175462 в персистенции ВПЧ-инфекции

Coefficients:				
	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	-2,1011	0,4850	-4,332	1,48e-05 ***
rs27069AG	0,2683	0,4185	0,641	0,52148
rs27069GG	0,4232	0,4213	1,004	0,31516
rs10175462AG	0,2594	0,3520	0,737	0,46109
rs10175462GG	0,2800	0,3697	0,757	0,44878
rs22681772AT	0,6175	0,2631	2,347	0,01893 *
rs22681772TT	1,2560	0,4141	3,033	0,00242 **

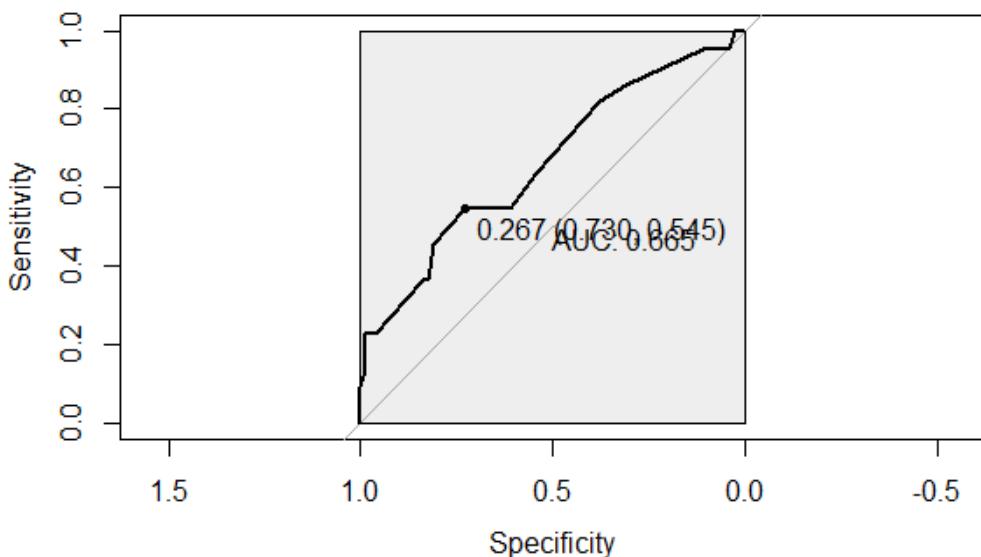


Рисунок 5 – Оценка прогностической роли rs27069, rs2268177 и rs10175462 в персистенции ВПЧ-инфекции

Анализ для генотипа ТТ rs22681772 показал, что коэффициент изменения логорифма шансов составил 1,2560. Чтобы получить отношение шансов (ОШ, odds ratio, OR), нужно взять экспоненту: $OR=e^{1,2560} \approx 3,51$. Это значит, что наличие генотипа ТТ увеличивает шансы персистенции ВПЧ примерно в 3,5 раза по сравнению с референсным генотипом.

ВЫВОДЫ

1. Частота инфицирования ВПЧ ВКР среди женщин возрастной категории 30-39 лет в исследуемом регионе России составила 10,3%, а средний уровень вирусной нагрузки составил 287,9 отношения RLU/COV в общей выборке, что соответствует высокой вирусной нагрузке.
2. 56,6% ВПЧ-инфицированных женщин являются носителями как минимум трех типов вируса, самые распространённые из которых 16, 51 и 56. Не выявлено прямой зависимости между вирусной нагрузкой, элиминацией вируса и количеством типов ВПЧ в образце.
3. Выявлена группа редких герминальных патогенных вариантов у пациенток с раком шейки матки: c.2507C>G, p.Ser836Ter гена *APC*, c.9154C>T, p.Arg3052Trp гена *BRCA2*, c.1592G>T, p.Trp531Leu гена *BRAF*, c.350G>A, p.Trp117Ter гена *MSH2*, c.3261dupC, p.Phe1088LeufsTer5 гена *MSH6*. При использовании *in silico* инструментов мы показали, что варианты c.3061C>T, p.Arg1040Trp гена *ABL1*, c.2039G>A, p.Arg680Gln гена *EGFR*, c.6733C>T, p.Gly2245Ser гена *ROS1*, c.3895G>C, p.Gly1299Arg в гене *MET* и c.1196C>T, p.Pro399Leu в гене *MSH6* являются вероятно патогенными.

4. Выявлены ранее не описанные ассоциации с риском развития рака шейки матки для вариантов c.2962C>T, p.Arg988Cys в гене *MET* и c.972C>G, p.Cys324Trp гена *CHEK2*, c.3508C>G, p.Pro1170Ala гена *ERBB2*, c.803G>A, p.Arg268Lys и c.341T>C, p.Ile114Thr гена *NAT2*.
5. Установлена связь полиморфного варианта c.215C>G, p.Pro72Arg гена *TP53* с ранней манифестацией рака шейки матки, а вариант c.1298A>C, p.Glu429Ala гена *MTHFR* с трехлетней выживаемостью.
6. В результате исследования полиморфных вариантов, ассоциированных в результате GWAS исследования с риском развития РШМ, получены статистически значимые ассоциации с рисковым аллелем G полиморфного локуса rs27069 гена *CLTP1L* и с рисковым аллелем Т и генотипом TT локуса rs2268177 гена *CDC42*, однако не было выявлено ассоциации с полиморфизмом rs10175462 гена *PAX8*.
7. Выявлена важная прогностическая роль полиморфного варианта rs2268177 гена *CDC42* в развитии рака шейки матки. Наличие рискового генотипа увеличивает шансы возникновения рака шейки матки примерно в 2,5 раза, а персистенции ВПЧ в 3,5 раза по сравнению с референсным генотипом.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Ленкова К.В.** Молекулярно-генетические основы рака шейки матки / К.В. Ленкова, Р.И. Хусаинова, И.Р. Минниахметов. // Молекулярная медицина. – 2023. – Т. 4. – С. 25-33. doi: 10.29296/24999490-2023-04-04 (BAK, RSCI).
2. **Lenkova K.** Germline variants in proto-oncogenes and tumor suppressor genes in women with cervical cancer / K. Lenkova, R. Khusainova, R. Minyazeva, et al. // Biomedicines. – 2024. – Vol. 12, №. 11. – P. 2454. doi: 10.3390/biomedicines12112454 (Scopus, WoS CC).
3. **Ленкова К.В.** Поиск ассоциаций полиморфных вариантов генов *MTHFR*, *MET*, *CHEK2*, идентифицированных в ходе секвенирования нового поколения, с раком шейки матки / К.В. Ленкова, Р.М. Минязева, В.Л. Ахметова, и др. // Успехи молекулярной онкологии. – 2025. – Т. 12. – №. 1. – С. 84-95. doi: 10.17650/2313-805X-2025-12-1-84-95 (BAK, Scopus).
4. **Ленкова К.В.** Поиск генов предрасположенности к раку шейки матки с оценкой распространённости онкогенных типов вируса папилломы человека у женщин из Республики Башкортостан / К.В. Ленкова, Г.З. Лялина, Р.К. Минязева, и др. // Российский онкологический журнал. - 2025. – Т. 30. – №1. – С. 5–16. doi: 10.17816/onco642735 (BAK, RSCI).

Другие публикации в сборниках материалов конференций:

5. **Ленкова К.В.** Изучение спектра и частоты ВПЧ у женщин из Республики Башкортостан / К.В. Ленкова, И.Р. Минниахметов. // Материалы Международного

молодежного научного форума «Ломоносов-2022». Секция «Генетика» [Электронный ресурс]. – 2022.

6. **Ленкова К.В.** Поиск генетической предрасположенности к раку шейки матки / К.В. Ленкова, Р.К. Минязева, Р.И. Хусаинова, и др. // Эндокринная хирургия. – 2023. – Т. 17, № 4. – С. 47. doi: 10.14341/serg12870 (BAK, RSCI).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

РШМ – Рак шейки матки

ВПЧ – Вирус папилломы человека

ВКР – Высокого канцерогенного риска

ДНК – Дезоксирибонуклеиновая кислота

ПЦР – Полимеразная цепная реакция

GWAS – Полногеномный поиск ассоциаций (genome-wide association studies)

SNV — Однонуклеотидный генетический вариант (single Nucleotide Variant).

NGS – Секвенирование следующего поколения (Next generation sequencing)

В – Варианты с доброкачественным клиническим значением (Variant of benign)

LB – Варианты с вероятно доброкачественным клиническим значением (Variant of likely benign)

VUS – Варианты с неопределенным клиническим значением (Variant of uncertain significance)

LP – Варианты с вероятно патогенным клиническим значением (Variant of likely pathogenic)

Р – Варианты с патогенным клиническим значением (Variant of pathogenic)

RLU/COV – единица измерения, выражается в интенсивности свечения, измеряемой на люминометре, и выражается в условных единицах свечения

FFPE – метод сохранения биологических образцов, при котором ткань фиксируется формалином (раствором формальдегида) и заключена в парафин (Formalin-Fixed Paraffin-Embedded)

dMMR – Дефицит системы репарации неспаренных оснований ДНК (MMR)

MSI – Микросателлитная нестабильность, состояние клетки, характеризующееся повышенной частотой мутаций в коротких повторяющихся последовательностях ДНК (микросателлитах).