

Фактор, индуцируемый гипоксией: анализ полиморфизма генов HIF1A и HIF1B и их функциональная роль в развитии миомы матки

Барышева Е.М.^{1,2}, Зайцев С.М.¹, Горяинова Н.В.¹, Пономарева Л.А.¹, Полшведкина О.Б.^{1,3}, Иванова О.Ю.¹, Бушуева О.Ю.¹

1 — ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
305041, г. Курск, ул. К. Маркса, д.3

2 — ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

3 — БУЗ «Научно-клинический многопрофильный центр медицинской помощи матерям и детям имени З. И. Круглой»
302028, г. Орёл, ул. Октябрьская, д.4.

В исследование были включены 584 пациентки с миомой матки и 391 женщина контрольной группы. Генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) генов *HIF1A* и *HIF1B* (rs2301106, rs2301113, rs1951695, rs2057482, rs4899056 *HIF1A* и rs3738493, rs10847 *HIF1B*) было проведено методом ПЦР в режиме реального времени. Выявлен протективный эффект rs10847 *HIF1B* относительно риска развития миомы матки (OR=0,78, 95%CI=0,63–0,95; p=0,016). Обсуждаются молекулярные механизмы связи rs10847 *HIF1B* с патогенезом миомы матки.

Ключевые слова: миома матки, однонуклеотидный полиморфизм, фактор, индуцируемый гипоксией, *HIF1A*, *HIF1B*.

Для цитирования: Барышева Е.М., Зайцев С.М., Горяинова Н.В., Пономарева Л.А., Полшведкина О.Б., Иванова О.Ю., Бушуева О.Ю. Фактор, индуцируемый гипоксией: анализ полиморфизма генов *HIF1A* и *HIF1B* и их функциональная роль в развитии миомы матки. *Медицинская генетика* 2020; 19(6): 49-51

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.49-51

Автор для корреспонденции: Барышева Екатерина Михайловна; e-mail: ekatbarysheva@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Федерального государственного бюджетного учреждения «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» (Фонд содействия инновациям). Договор №11338ГУ/2017.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Hypoxia-inducible factor: analysis of the HIF1A and HIF1B single nucleotide polymorphisms and their functional role in development of uterine fibroids

Barysheva E.M.^{1,2}, Zaitsev S.M.¹, Goryainova N.V.¹, Ponomareva L.A.¹, Polshvedkina O.B.^{1,3}, Ivanova O.Yu.¹, Bushueva O.Yu.¹

1 — Kursk State Medical University of the Ministry of Public Health of Russian Federation
305041 K. Marx str., 3, Kursk, 305041, Russia

2 — First St. Petersburg State Medical University named after Academician I.P. Pavlova of the Ministry of Health of the Russian Federation
Lev Tolstoy str., 6-8, St. Petersburg, 197022, Russia

3 — Scientific and clinical multi-center health services to mothers and children name of Z.I. Krugloy
Oktyabrskaya Street, 4, Oryol, 302028, Russia

A total of 584 patients with uterine fibroids and 391 healthy controls were recruited for the study. Genotyping of single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the *HIF1A* and *HIF1B* genes (rs2301106, rs2301113, rs1951695, rs2057482, rs4899056 *HIF1A* and rs3738493, rs10847 *HIF1B*) was performed using real-time PCR. The protective effect of rs10847 *HIF1B* against the risk of uterine fibroids was revealed (OR=0.78, 95%CI=0.63-0.95; P=0.016). The molecular mechanisms of the involvement of rs10847 *HIF1B* to the pathogenesis of uterine fibroids are discussed.

Keywords: uterine fibroids, single nucleotide polymorphism, hypoxia-inducible factor, *HIF1A*, *HIF1B*.

For citation: Barysheva E.M., Zaitsev S.M., Goryainova N.V., Ponomareva L.A., Polshvedkina O.B., Ivanova O.Yu., Bushueva O.Yu. Hypoxia-inducible factor: analysis of the *HIF1A* and *HIF1B* single nucleotide polymorphisms and their functional role in development of uterine fibroids. *Medical genetics*. 2020; 19(6): 49-51 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.49-51

Corresponding author: Barysheva Ekaterina Mikhailovna; e-mail: ekatbarysheva@yandex.ru

Funding. This work was financially supported by the Federal State Budgetary Institution "Fund for the Promotion of the Development of Small Forms of Enterprises in the Scientific and Technical Field" (Innovation Promotion Fund). Contract No. 11338ГУ/2017.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

Миома матки (ММ) является наиболее частой доброкачественной опухолью, возникающей у 40–70% женщин и существенно влияющей на качество жизни и репродуктивное здоровье [1]. ММ – моноклональная опухоль, которая развивается из гладкомышечных клеток миометрия, однако, точные молекулярные механизмы ММ остаются не до конца изученными. В последние годы растет число доказательств того, что гипоксия играет важную роль в патогенезе данного заболевания, поскольку клетки ММ отличаются высокой степенью гипоксии и имеют ограниченную кислородную среду, что обеспечивает защиту от апоптоза и поддерживает пролиферативный ресурс опухоли [2].

Целью нашей работы стал анализ однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) генов субъединиц индуцируемого гипоксией фактора – *HIF1A* и *HIF1B* в аспекте их ассоциации с предрасположенностью к ММ.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужила выборка женщин Центральной России, преимущественно Курской области, общей численностью 975 человек (584 больных ММ и 391 относительно здоровая женщина соответствующего возраста, без клинических и УЗИ-признаков ММ) [3]. Исследование было одобрено Региональным этическим комитетом КГМУ. ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови. Генотипирование пяти SNP гена *HIF1A* (rs2301106, rs2301113, rs1951695, rs2057482, rs4899056) и трех SNP гена *HIF1B* (rs3738493, rs10847) было проведено методом ПЦР в режиме «реального времени». Анализ ассоциаций генотипов проводили методом логистической регрессии в программе SNPStats, для оценки связи с заболеванием пользовались результатами лог-аддитивной регрессионной модели с поправками на возраст и курение. Значение $p \leq 0,05$ принималось как статистически значимое. Для изучения регуляторного потенциала SNP использовали онлайн-ресурс atSNP, оценивающий связывающую способность транскрипционных факторов (ТФ) с участками ДНК в области SNP в зависимости от носительства референсного/альтернативного аллеля [4]. Для поиска генных онтологий, связанных с биологическими функциями ТФ, использовали инструмент Gene Ontology.

Результаты

Мы обнаружили протективный эффект rs10847 *HIF1B* (замены С>Т) относительно риска развития

ММ: OR=0,78, 95%CI=0,63–0,95; $p=0,016$. Последующий анализ регуляторного потенциала rs10847 выявил, что референсный аллель С создает участки связывания с ДНК для 6 ТФ: PAX4, MEF2A, ATF1, HOMEZ, ZNF524, BRCA1. При этом альтернативный аллель Т создает участки связывания с ДНК для 9 ТФ: JUN, CREB1, SPZ1, BCL, NR3C1, ELF1, RAR, REST, RFX1. Анализ представленности биологических процессов в Gene Ontology, обнаружил, что ТФ, связывающиеся с вариантным аллелем Т (протективным относительно развития ММ согласно полученным нами результатам), включены в совместную регуляцию пролиферации фибробластов (GO:0048145; FDR=0,02), положительную регуляцию программируемой гибели клеток (GO:0043068; FDR=0,03), клеточный ответ на гормональный стимул (GO:0032870; FDR=0,03), положительную регуляцию процесса апоптоза (GO:0043065; FDR=0,03), негативную регуляцию пролиферации клеточной популяции (GO:0008285; FDR=0,03), клеточный ответ на стимул трансформирующего фактора роста-бета (GO:0071560; FDR=0,04), ответ на токсичное вещество (GO:0009636; FDR=0,04). Все перечисленные биологические процессы связаны с патогенезом ММ. Следует отметить, что ТФ, связывающиеся с аллелем С, не характеризуются ни одним общим биологическим процессом. Следовательно, одним из возможных механизмов протективной роли rs10847 в развитии ММ является появление в результате замены С>Т участков связывания ДНК для ТФ, играющих важную роль в биологических процессах, напрямую связанных с молекулярными механизмами регуляции ключевых патогенетических процессов развития ММ. Однако требуются дальнейшие исследования роли гипоксии и факторов ее генетической детерминации на тканевом материале, в частности, анализ экспрессионного профилирования и эпигенетические исследования.

Таким образом, нами впервые изучена ассоциация полиморфных вариантов генов субъединиц индуцируемого гипоксией фактора *HIF1A* и *HIF1B* с предрасположенностью к развитию ММ. В работе обсуждается роль гипоксии в развитии заболевания, молекулярные механизмы связи rs10847 *HIF1B* с патогенезом заболевания, а также перспективы дальнейших исследований в данном направлении.

Литература

1. Stewart E.A., Cookson C.L., Gandolfo R.A., Schulze-Rath R. Epidemiology of uterine fibroids: a systematic review. *BJOG*. 2017;124(10):1501–1512. doi:10.1111/1471-0528.14640.
2. Zhou S., Yi T., Shen K., Zhang B., Huang F., Zhao X. Hypoxia: the driving force of uterine myometrial stem cells differentiation into leiomyomas. *PLoS One*. 2015;10(12):e0142888. doi:10.1371/journal.pone.0142888.

- myoma cells. *Med Hypotheses*. 2011;77(6):985–986. doi:10.1016/j.mehy.2011.08.026.
3. Кудрявцева О.К., Барышева Е.М., Сорокина М.В., Полшведкина О.Б., Иванова Н.В., Полоников А.В., Бушуева О.Ю. Анализ взаимосвязи полиморфизма A/G (rs1801310) гена GSS с развитием миомы матки: пилотное исследование. *Медицинская генетика*. 2017;16(2):37–39.
 4. Пономаренко И.В. Отбор полиморфных локусов для анализа ассоциаций при генетико-эпидемиологических исследованиях. Научный результат. *Медицина и фармация*. 2018. 2018;4(2):40–54. doi: 10.18413/2313-8955-2018-4-2-0-5.
- References**
1. Stewart E.A., Cookson C.L., Gandolfo R.A., Schulze-Rath R. Epidemiology of uterine fibroids: a systematic review. *BJOG*. 2017;124(10):1501–1512. doi:10.1111/1471-0528.14640.
 2. Zhou S., Yi T., Shen K., Zhang B., Huang F., Zhao X. Hypoxia: the driving force of uterine myometrial stem cells differentiation into leiomyoma cells. *Med Hypotheses*. 2011;77(6):985–986. doi:10.1016/j.mehy.2011.08.026.
 3. Kudryavtseva O.K., Barysheva E.M., Sorokina M.V., Polshvedkina O.B., Ivanova N.V., Polonikov A.V., Bushueva O.Y. Analiz vzaimosvyazi polimorfizma A/G (rs1801310) gena GSS s razvitiem miomy matki: pilotnoe issledovanie. [The analysis of relationship between the A/G (rs1801310) polymorphism of the GSS gene and the development of uterine myoma: a pilot study]. *Medicinskaya genetika [Medical Genetics]*. 2017;16(2):37–39. (In Russ.).
 4. Ponomarenko I.V. Otbor polimorfnyh lokusov dlya analiza associacij pri genetiko-epidemiologicheskikh issledovaniyah. [Selection of polymorphic loci for association analysis in genetic-epidemiological studies]. *Nauchnyj rezul'tat. Medicina i farmaciya [Research Result. Medicine and Pharmacy]* 2018;4(2):40–54 (In Russ.).