

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-1-84-95>

Поиск ассоциаций полиморфных вариантов генов *MTHFR*, *MET*, *CHEK2*, идентифицированных в ходе секвенирования нового поколения, с раком шейки матки

К.В. Ленкова¹, Р.М. Минязева², В.Л. Ахметова^{1,3}, И.Р. Гилязова^{1,2}, Р.И. Хусаинова^{1,4}, И.Р. Миннихметов⁴

¹Институт биохимии и генетики ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; Россия, 450054 Уфа, пр-кт Октября, 71;

²ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 450008 Уфа, ул. Ленина, 3;

³ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий»; Россия, 450008 Уфа, ул. Карла Маркса, 12;

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России; Россия, 117292 Москва, ул. Дмитрия Ульянова, 11

Контакты: Ксения Вячеславовна Ленкова ms.kv.kl@mail.ru

Введение. Рак шейки матки по распространенности занимает 4-е место среди злокачественных новообразований у женщин в мире, и заболеваемость им неуклонно растет. Предполагается, что формирование ассоциированного с вирусом папилломы человека рака шейки матки зависит от генетических и эпигенетических факторов, однако молекулярный патогенез данной патологии еще не установлен. Недавно полученные данные свидетельствуют о том, что герминальные замены не только увеличивают риск развития рака, но и влияют на прогрессирование опухоли и формируют картину соматических изменений при злокачественном новообразовании.

Цель исследования – поиск герминальных вариантов генов *MTHFR*, *MET* и *CHEK2* и оценка их значимости в формировании генетической предрасположенности к раку шейки матки.

Материалы и методы. Проанализирована ДНК 108 женщин с раком шейки матки. В группу сравнения вошла 51 пациентка с элиминацией вируса папилломы человека и 333 условно здоровых женщины. В когорте больных проведено исследование с использованием методов секвенирования нового поколения (next generation sequencing NGS) и разработанной нами кастомной панели, нацеленной на гены, участвующие в опухолеобразовании. Также проанализирована клиническая значимость выявленных замен на основе данных литературы, баз данных и с помощью биоинформатических методов. Для вариантов с.677С>Т и с.1298А>С гена *MTHFR*, с.2962С>Т гена *MET*, с.972G>С гена *CHEK2* проведены дополнительные ассоциативные исследования.

Результаты. Выявлено, что полиморфные варианты с.972G>С и с.1312С>А гена *CHEK2* обладают патогенным потенциалом. Из 11 обнаруженных в результате исследования замен в гене *MET* варианты с.2962С>Т, с.2975С>Т и с.3895G>С являются вероятно патогенными. Выявлена ассоциация аллеля Т локуса с.2962С>Т гена *MET* ($p = 0,002$; $\chi^2 = 9,8$) и аллеля С локуса с.972G>С гена *CHEK2* ($p = 0,05$; $\chi^2 = 3,8$) с риском развития рака шейки матки.

Заключение. В ходе исследования выявлена группа герминальных замен в генах *MTHFR*, *MET* и *CHEK2* с неясным клиническим значением. Определено, что патогенный потенциал в отношении формирования рака шейки матки имеют замены с.972G>С и с.1312С>А гена *CHEK2* и с.2962С>Т, с.2975С>Т, с.3895G>С гена *MET*. Также выявлены ранее не описанные ассоциации локусов с.2962С>Т гена *MET* и с.972G>С гена *CHEK2* с данной патологией.

Ключевые слова: рак шейки матки, генетическая предрасположенность, онкогенетика, секвенирование нового поколения, вирус папилломы человека, *MTHFR*, *MET*, *CHEK2*

Для цитирования: Ленкова К.В., Минязева Р.М., Ахметова В.Л. и др. Поиск ассоциаций полиморфных вариантов генов *MTHFR*, *MET*, *CHEK2*, идентифицированных в ходе секвенирования нового поколения с раком шейки матки. Успехи молекулярной онкологии 2025;12(1):84–95.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-1-84-95>

Search for associations of polymorphic variants of the *MTHFR*, *MET*, *CHEK2* genes, identified through next-generation sequencing, with cervical cancer

K.V. Lenkova¹, R.M. Minyazeva², V.L. Akhmetova^{1,3}, I.R. Gilyazova^{1,2}, R.I. Khusainova^{1,4}, I.R. Minniakhmetov⁴

¹ Institute of Biochemistry and Genetics of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences; 71 Oktyabrya Prospekt, Ufa 450054, Russia;

² Bashkir State Medical University, Ministry of Health of Russia; 3 Lenina St., Ufa 450008, Russia;

³ Ufa University of Science and Technology; 12 Karl Marks St., Ufa 450008, Russia;

⁴ National Medical Research Center of Endocrinology, Ministry of Health of Russia; 11 Dmitriya Ulyanova St., 117292 Moscow, Russia

Contacts: Kseniya Vyacheslavovna Lenkova ms.kv.kl@mail.ru

Introduction. Worldwide, cervical cancer is the 4th most common cancer in women, and morbidity continues to grow. Supposedly, development of human papilloma virus-associated cervical cancer depends on genetic and epigenetic factors, but molecular pathogenesis of this pathology has not yet been established. Recently obtained data show that germline substitutions not only increase the risk of cancer but also affect tumor progression and form the picture of somatic changes in this malignant neoplasm.

Aim. To investigate germline variants of the *MTHFR*, *MET* and *CHEK2* genes and evaluate their significance in development of genetic predisposition towards cervical cancer.

Materials and methods. DNA of 108 women with cervical cancer was analyzed. The comparison group included 51 patients with human papilloma virus elimination and 333 relatively healthy women. In the patient cohort, an analysis was performed using next-generation sequencing (NGS) and a custom panel aimed at genes participating in tumor designed by us. Additionally, clinical significance of the identified substitutions was evaluated using literature data, databases and bioinformatics methods. Additional association studies were performed for c.677C>T and c.1298A>C variants of the *MTHFR* gene, c.2962C>T variant of the *MET* gene, c.972G>C variant of the *CHEK2* gene.

Results. It was observed that polymorphic variants c.972G>C and c.1312C>A of the *CHEK2* gene have pathogenic potential. Among 11 substitutions in the *MET* gene identified during the study, variants c.2962C>T, c.2975C>T and c.3895G>C are liable to be pathogenic. Correlations between T locus allele c.2962C>T of the *MET* gene ($p = 0.002$; $\chi^2 = 9.8$) and C locus allele c.972G>C of the *CHEK2* gene ($p = 0.05$; $\chi^2 = 3.8$) with the risk of cervical cancer development were found.

Conclusion. During the study, a group of germline substitutions in the *MTHFR*, *MET* and *CHEK2* genes with unclear clinical significance was identified. It was shown that substitutions c.972G>C and c.1312C>A in the *CHEK2* gene and c.2962C>T, c.2975C>T, c.3895G>C in the *MET* gene have pathogenic potential in the context of cervical cancer. Additionally, previously unknown associations between loci c.2962C>T of the *MET* gene and c.972G>C of the *CHEK2* gene with this pathology were described.

Keywords: cervical cancer, genetic predisposition, oncogenetics, next-generation sequencing, human papilloma virus, *MTHFR*, *MET*, *CHEK2*

For citation: Lenkova K.V., Minyazeva R.M., Akhmetova V.L. et al. Search for associations of polymorphic variants of the *MTHFR*, *MET*, *CHEK2* genes, identified through next-generation sequencing, with cervical cancer. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2025;12(1):84–95. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-1-84-95>

ВВЕДЕНИЕ

Рак шейки матки (РШМ) по распространенности занимает 4-е место в структуре онкологических заболеваний у женщин. В 2022 г. данная патология диагностирована у 660 тыс. женщин, около 350 тыс. пациенток умерли от этого заболевания [1]. По прогнозам, без своевременного вмешательства смертность от РШМ к 2030 г. увеличится на 88 %, что подчеркивает острую необходимость принятия профилактических мер [2].

Основным этиологическим агентом развития РШМ является вирус папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска [3]. В 90 % случаев ВПЧ-инфекция регрессирует спонтанно в течение 2 лет [4]. Предполагается, что формирование ВПЧ-ассоциированного РШМ зависит от генетических и эпигенетических факторов, однако молекулярный патогенез заболевания еще не установлен [5].

Недавно полученные данные свидетельствуют о том, что герминальные замены не только увеличивают риск развития рака, но и влияют на прогрессирование опухоли и формируют картину соматических изменений при злокачественных новообразованиях [6, 7]. Полиморфные варианты гена *MTHFR*, включая С677Т (rs1801133) и А1298С (rs1801131), приводят к снижению активности фермента метилентетрагидрофолатредуктазы, который играет решающую роль в метаболическом пути фолата, синтезе и метилировании ДНК [8]. Результаты метаанализа К. Yi и соавт. показали, что вариант С677Т гена *MTHFR* не ассоциирован с риском развития РШМ, но полиморфизм А1298С гена *MTHFR* может быть связан с ним [9]. Данные, полученные в ходе более позднего метаанализа, позволяют предположить, что варианты С677Т и А1298С гена *MTHFR* коррелируют с риском

возникновения распространенных гинекологических раковых заболеваний, в том числе РШМ [10].

Патогенные герминальные мутации в гене *CHEK2* входят в число наиболее частых изменений при различных опухолях. Их ассоциация с высоким риском развития злокачественных новообразований подтверждена для таких гендерно-специфичных опухолей, как рак молочной и предстательной желез [11]. *MET* является протоонкогеном, который контролирует развитие, пролиферацию, инвазию, метастазирование, ангиогенез, хеморезистентность, эпителиально-мезенхимальный переход и формирование опухолевого микроокружения раковых клеток. Его успешно используют в качестве биомаркера для диагностики, определения прогноза выживаемости, риска возникновения рецидива после хирургического вмешательства, а также в качестве терапевтической молекулярной мишени [12].

Цель исследования — поиск герминальных замен в генах *MTHFR*, *MET* и *CHEK2* и оценка их значимости в формировании генетической предрасположенности к РШМ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выборки. Проанализирована ДНК 108 женщин с РШМ, не состоящих в кровном родстве и проживающих в Республике Башкортостан. Обследование, окончательное установление диагноза и лечение пациенток проводились на базе ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер» Минздрава Республики Башкортостан (г. Уфа). Медиана возраста пациенток составила 50 лет. ВПЧ-статус по умолчанию считался положительным. Все больные получали лечение согласно актуальным клиническим рекомендациям. У 89,11 % женщин исследуемой выборки была плоскоклеточная карцинома, у 7,92 % — аденокарцинома, у 2,97 % — опухоли других гистологических типов. В исследуемую группу вошли представители 3 наиболее распространенных на территории Республики Башкортостан этнических групп: русские, татары и башкиры.

В качестве группы сравнения для изучения полиморфных локусов гена *MTHFR* использована ДНК 51 женщины с элиминацией ВПЧ (носительство вируса у них не привело к его персистенции и развитию РШМ). Факт вирусоносительства установлен в рамках пилотного проекта по скринингу ВПЧ высокого канцерогенного риска [13]. В дальнейшем больные находились под наблюдением гинеколога по месту прикрепления до спонтанной элиминации ВПЧ. В течение всего периода наблюдения результаты цитологического исследования шейки матки (NILM) пациенток были хорошими, что указывает на отсутствие патологических изменений цервикального эпителия.

В группу сравнения для изучения однонуклеотидных замен в генах *MET* и *CHEK2* вошли 51 женщина с элиминацией ВПЧ и 333 условно здоровых женщины.

Выделение ДНК. Геномная ДНК выделена из лимфоцитов периферической крови методом фенольно-

хлороформной экстракции по Mathew. Количество и чистоту полученной ДНК оценивали с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 (Invitrogen; Thermo FisherScientific, Сингапур), флуориметра Qubit 3.0 (Invitrogen, Thermo FisherScientific, Сингапур) и электрофореза на 1,5 % агарозном геле.

Секвенирование нового поколения и полимеразная цепная реакция. Исследование выборки женщин с РШМ проведено с использованием разработанной нами кастомной панели секвенирования нового поколения (next generation sequencing NGS), состоящей из 48 генов, которая содержит гены *MTHFR*, *MET*, *CHEK2*. Подготовка библиотек образцов для проведения NGS-анализа выполнена с помощью набора реагентов KAPA Hyper Cap Workflow v 3.0 (Roshe Diagnostics, Германия). Все этапы пробоподготовки мультиплексных, гибридизированных, обогащенных библиотек проведены в соответствии с инструкцией производителя. NGS выполнено с помощью секвенатора нового поколения MiSeq Series (Illumina, США) и набора реагентов MiSeq Reagent Kit v2 (300 циклов) (Illumina, США). Анализ клинической значимости найденных замен с неопределенной значимостью проводили с использованием баз данных ClinVar и предсказательных программ SIFT, PolyPhen, MetaLR, CADD и MutationAssessor. Сведения о распространенности замен взяты из базы данных GnomAD с учетом рекомендаций Американского колледжа медицинской генетики и геномики (American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG) [14–16]. Если данные были противоречивыми, мы проводили предсказательный функциональный анализ белковых продуктов, который осуществляли с помощью ресурсов для построения пространственной модели белка (SWISS-MODEL), определения изменений в нем (DynaMut2) и анализа структуры и функций доменов и регионов, на которые пришелся эффект замены основания (UniProt, AlphaFold). Веб-сервер DynaMut2 точно предсказывает эффект мутаций в контексте трехмерной структуры белка и позволяет выявить молекулярные последствия одиночных мутаций для сворачивания, стабильности и динамики белка на основании прогнозирования изменений свободной энергии Гиббса ($\Delta\Delta G$) и температуры плавления (ΔT_m), т. е. в результате изменений вибрационной энтропии [17]. С помощью DynaMut2 мы определили предсказанное изменение стабильности (predicted stability change). Если оно было отрицательным, значит, замена аминокислоты приводит к снижению стабильности белка. Однако наряду со всеми данными важным критерием для оценки значимости замены была ее частота.

Анализ исследованных локусов в группе пациентов с РШМ и контрольных группах проведен методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с использованием технологии TaqMan. Локусы rs1801133 и rs1801131 гена *MTHFR* генотипированы с помощью набора реактивов компании «Синтол» (Россия) согласно инструкции производителя с применением детекти-

рующего амплификатора CFX96 (BioRad, США), локусы rs34589476 гена *MET* и rs1060502712 гена *CHEK2* — с помощью реактивов ООО «ДНК-Синтез» (Россия) согласно протоколу производителя с использованием системы детекции продуктов ПЦР в реальном времени ДТ-прайм («ДНК-Технология», Россия).

Статистический анализ. Для статистической обработки данных использовали веб-ресурс Plink с набором инструментов для полногеномного анализа ассоциаций (<https://zzz.bwh.harvard.edu/plink/data.shtml>). Анализ проведен с помощью инструментов операционной системы Microsoft Windows, включая Excel и Notepad. Для определения статистической значимости различий между группами применяли χ^2 -критерий. Кроме того, были рассчитаны отношения шансов (ОШ).

Все анализы учитывали двусторонний уровень значимости. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Если при расчетах вдоль любой из диагоналей таблицы сопряженности присутствовали нули, то использовали также поправку Холдейна–Энскомба:

к значениям каждой ячейки соответствующей подтаблицы 2×2 перед расчетом ОШ добавляли 0,5 [18].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ полиморфных вариантов в гене *MTHFR*.

В ходе NGS обнаружены относительно частые варианты генов *MTHFR*, *CHEK2* и *MET*. Мы изучили частоту их встречаемости в контрольных группах женщин, а также ассоциации исследованных локусов с РМШ.

Полиморфный вариант p.(Ala222Val) гена *MTHFR* (c.677C>T, rs1801133, chr1: 11856378) согласно базе данных Variant Interpreter (Illumina, США) является патогенным, а вариант p.(Glu429Ala) (c.1298A>C, rs1801131, chr1: 11854476) — условно-патогенным. Сравнительный анализ частот вариантов данного полиморфизма между выборками пациенток с РМШ и женщин с элиминацией ВПЧ не выявил статистически значимых различий для аллеля Т ($p = 0,96$) и генотипа ТТ ($p = 0,75$) локуса rs1801133 гена *MTHFR* (табл. 1, рис. 1), а также аллеля С ($p = 0,475$) и генотипа СС ($p = 0,655$) локуса rs1801131

Таблица 1. Результаты сравнительного анализа распределения частот аллелей и генотипов локуса rs1801133 гена *MTHFR* ($n = 159$)

Table 1. Results of comparative analysis of frequency distribution of alleles and genotypes of rs1801133 locus of the *MTHFR* gene ($n = 159$)

Группа Group	Частота вероятно рискового аллеля Т Frequency of likely risky allele T	Значение показателей Parameter values	Число генотипов, абс. (частота) Number of genotypes, abs. (frequency)			Значение показателей Parameter values
			ТТ	ТС	СС	
Рак шейки матки ($n = 108$) Cervical cancer ($n = 108$)	0,287	χ^2 -критерий = 0,003; $p = 0,96$; ОШ 1,207 (95 % ДИ 0,720–2,022) χ^2 -test = 0,003; $p = 0,96$; OR 1.207 (95 % CI 0.720–2.022)	7 (0,065)	48 (0,444)	53 (0,491)	χ^2 -критерий = 0,59; $p = 0,75$; χ^2 -test = 0,59; $p = 0,75$
Элиминация вируса папилломы человека ($n = 51$) Elimination of human papilloma virus ($n = 51$)	0,284		2 (0,039)	25 (0,490)	24 (0,471)	

Примечание. Здесь и в табл. 2, 4, 6: ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал.

Note. Here and in tables 2, 4, 6: OR — odds ratio; CI — confidence interval.

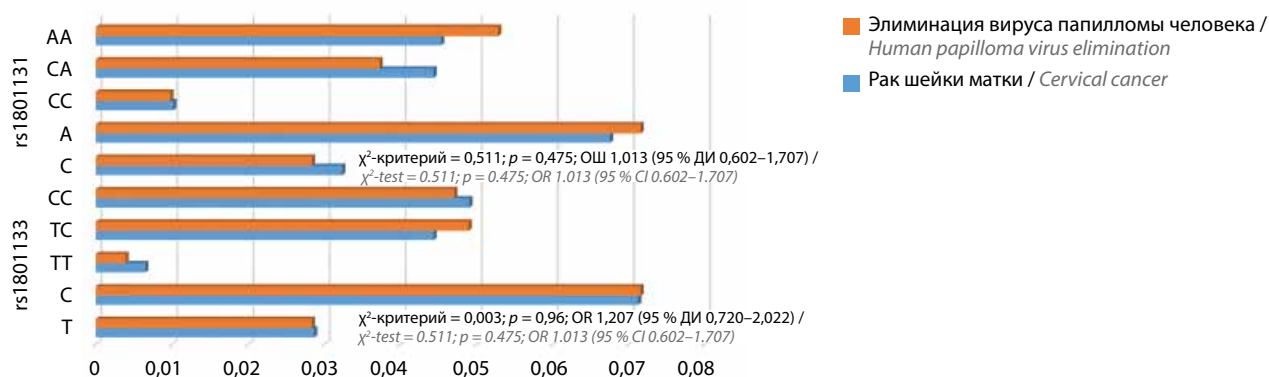


Рис. 1. Результаты сравнительного анализа распределения частот аллелей и генотипов локусов rs1801131 и rs1801133 гена *MTHFR*. ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал

Fig. 1. Results of comparative analysis of frequency distributions of alleles and genotypes of rs1801131 and rs1801133 loci of the *MTHFR* gene. OR — odds ratio; CI — confidence interval

Таблица 2. Результаты сравнительного анализа распределения частот аллелей и генотипов локуса rs1801131 гена *MTHFR* ($n = 159$)
Table 2. Results of comparative analysis of frequency distribution of alleles and genotypes of rs1801131 locus of the *MTHFR* gene ($n = 159$)

Группа Group	Частота вероятно рискового аллеля C Frequency of likely risky allele C	Значение показателей Parameter values	Число генотипов, абс. (частота) Number of genotypes, abs. (frequency)			Значение показателей Parameter values
			CC	CA	AA	
Рак шейки матки ($n = 108$) Cervical cancer ($n = 108$)	0,324	χ^2 -критерий = 0,511; $p = 0,475$; ОШ 1,013 (95 % ДИ 0,602–1,707)	11 (0,102)	48 (0,444)	49 (0,454)	χ^2 -критерий = 0,845; $p = 0,655$ χ^2 -test = 0,845; $p = 0,655$
Элиминация вируса папилломы человека ($n = 51$) Elimination of human papilloma virus ($n = 51$)	0,284	χ^2 -test = 0,511; $p = 0,475$; OR 1.013 (95 % CI 0.602–1.707)	5 (0,098)	19 (0,373)	27 (0,529)	

гена *MTHFR* (табл. 2, см. рис. 1). Вероятно, патогенность вариантов гена *MTHFR* в первую очередь связана с метаболизмом фолатов [8], а не с развитием РШМ. Поскольку не обнаружено тенденции к ассоциации с предрасположенностью к РШМ, мы посчитали нецелесообразным расширение выборки контрольных образцов.

Анализ полиморфных вариантов в генах *CHEK2* и *MET*.

Согласно результатам исследования у 19,44 % (21/108) пациенток с РШМ обнаружены варианты изменений нуклеотидной последовательности генов *MET* и *CHEK2* с различной клинической значимостью. Всего в генах *MET* и *CHEK2* обнаружено 17 вариантов, в том числе 11 — в гене *MET*, 6 — в гене *CHEK2*, при этом 16 из 17 замен были относительно редкими (менее 5 % случаев).

В гене *CHEK2* выявлены 6 однонуклеотидных полиморфных вариантов (SNP), все они описаны ранее в литературе, или о них имеются упоминания в базах данных. Условно-патогенный миссенс-вариант p.Ile157Thr в гене *CHEK2* (с.470A>G, rs17879961) также описан ранее [13]. Синонимический вариант 1116C>T (p.Ser372=) и интронная замена с.684-107T>G согласно базе данных ClinVar доброкачественны. К вариантам с неизвестной клинической значимостью относятся замены с.972G>C, с.1312C>A и с.1117T>C (табл. 3). Согласно результатам анализа замены с.972G>C и с.1312C>A условно-патогенны, а замена с.1117T>C имеет неизвестную клиническую значимость даже после проведения предсказательного анализа. Для патогенной замены с.972G>C проведено дополнительное исследование.

Миссенс-вариант p.Cys324Trp в гене *CHEK2* (с.972G>C, rs1060502712, chr22: 29095862) неизвестного значения согласно ClinVar, в гетерозиготном состоянии обнаружен у 1 женщины (частота замены — 0,005) с манифестом плоскоклеточного РШМ (T3b1N1M0) в 52 года. Предсказательные компьютерные алгоритмы при анализе *in silico* показали противоречивые данные. С использованием pdb-файла, несущего информацию о нормальной структуре белка, построенной с помощью

SWISS-MODEL, с последующим анализом изменения аминокислотной последовательности в программе DynaMut2 мы выяснили, что данная замена приводит к дестабилизации белка CHEK2 с показателем предсказанного изменения стабильности $-1,5$ ккал/моль ($\Delta\Delta G^{\text{stability}}$). При этом последовательность аминокислот в позициях 321–340 (EATCKLYFYQMLLAVQYLNE) приходится на Helix-структуру белка, что говорит о ее функциональной значимости. Согласно базе данных структур белков AlphaFold замена цистеина в 324-м положении белка «дикого типа» CHEK2 вероятно патогенна (средний показатель патогенности AlphaMissense составляет 0,837). Основным критерием для выбора варианта для дополнительного исследования была большая разница в частоте замены между нашей выборкой и общемировой: 0,005 против 0,000002, что свидетельствует о патогенном потенциале замены. Для аллеля С локуса rs1060502712 гена *CHEK2*, несмотря на его редкую встречаемость, при использовании поправки Холдейна–Энскомба продемонстрирована ассоциация с риском развития РМШ ($p = 0,05$) (табл. 4). В связи с крайней редкостью этого варианта трудно сделать выводы о его вкладе в патогенез РШМ, опираясь исключительно на результаты ассоциативного анализа. Однако, если учитывать область белка, на которую приходится эффект замены, данные DynaMut2 и выявленную ассоциацию с аллелем С, замена с.972G>C гена *CHEK2* может обладать патогенным потенциалом.

В гене *MET* выявлены 11 изменений, 6 из которых описаны ранее, а 5 вариантов не описаны, или данных о них очень мало. Вариант с.1966-18T>G приходится на некодирующую область гена и недоступен алгоритмам анализа структуры белка. Замены с.2962C>T, с.2975C>T, с.3895G>C вероятно патогенны, с.1063G>A и с.979G>C вероятно доброкачественны, с.818C>A, с.406G>A, с.4142C>T, с.979G>A и с.2302A>T имеют противоречивый потенциал патогенности, даже после применения используемых нами алгоритмов (табл. 5). Для замены с.2962C>T проведено дополнительное исследование.

Таблица 3. Варианты гена SNEK2 у женщин с раком шейки матки (РШМ), проживающих на территории Республики Башкортостан
Table 3. SNEK2 gene variants in women with cervical cancer living in the Republic of Bashkortostan

Вариант (геномная сборка человека GRCh37) Variant (human genome build GRCh37)	Частота замены в выборке больных (РШМ) Substitution frequency in the patient cohort (cervical cancer)	Частота по базе данных GnomAD Frequency per the GnomAD database	Патоген- ность по базе ClinVar Pathogenicity per the ClinVar database	Локализация в белке Location in the protein	Используемые предикторные программы Used prediction software	Патогенность с точки зрения замены аминокислоты в белке по базе AlphaFold Pathogenicity in the context of amino acid substitution in a protein database per the AlphaFold database	Стабильность и гибкость белка после замены аминокислоты согласно программе DunaMut2, ккал/моль (ΔΔGstability) Protein stability and flexibility after amino acid substitution per DunaMut2 software, kcal/mol (ΔΔGstability)	Результат Result
с.972G>C, p.(Cys324Trp), rs1060502712, chr22: 29095862	1 (0,005)	0,000002	VUS	Helix-структура Helix structure	SIFT, PolyPhen – P; CADD, MetaLR, MutationAssessor – B	0,897 (LP)	–1,5 (LP)	LP (согласно несколь- ким критериям) LP (per some criteria)
с.1312C>A, p.(Asp438Tyr), rs200050883, chr22: 29091178	1 (0,005)	0,0004	VUS, LB	Протеинкиназ- ный домен Protein kinase domain	SIFT, PolyPhen – P; CADD, MetaLR, MutationAssessor – B	0,409 (VUS)	–0,5 (LP)	LP (согласно DunaMut2) LP (per DunaMut2)
с.1117T>C, p.(Lys373Glu), rs74751600, chr22: 29091840	1 (0,005)	0,0006	VUS	T-петля, активи- рующая фосфоли- рование T-loop activating phosphorylation	SIFT, PolyPhen – P; CADD, MetaLR, MutationAssessor – B	0,900 (LP)	1,0 (LB)	VUS (данные противоречивы) VUS (contradictory data)

Примечание. Здесь и в табл. 5: V – доброкачественные замены; LB – вероятно доброкачественные замены; P – патогенные замены; LP – условно-патогенные замены; VUS – вари-
анты с неопределенным значением.
Note. Here and in table 5: B – benign substitutions; LB – likely benign substitutions; P – pathogenic substitutions; LP – liable to be pathogenic substitutions; VUS – variants of unknown significance.

Таблица 4. Результаты сравнительного анализа распределения частот аллелей и генотипов локуса rs1060502712 гена *CHEK2* ($n = 492$)
Table 4. Results of comparative analysis of frequency distribution of alleles and genotypes of rs1060502712 locus of the *CHEK2* gene ($n = 492$)

Группа Group	Частота вероятно рискового аллеля C Frequency of likely risky allele C	Значения показателей с использованием поправки Холдейна–Энскомба Parameter values with Haldane–Anscombe correction	Число генотипов, абс. (частота) Number of genotypes, abs. (frequency)		
			CC	CG	GG
Рак шейки матки ($n = 108$) Cervical cancer ($n = 108$)	1 (0,005)	χ^2 -критерий = 3,8; $p = 0,05$; ОШ 5,92 (95 % ДИ 0,78–45,1) χ^2 -test = 3,8; $p = 0,05$; OR 5.92 (95 % CI 0.78–45.1)	0 (0)	1 (0,009)	107 (0,991)
Контроль ($n = 384$) Control ($n = 384$)			0 (0)	0 (0,0)	384 (1,0)

Миссенс-вариант p.Arg988Cys в гене *MET* (с.2962C>T, rs34589476, chr7: 116411923) в гетерозиготном состоянии обнаружен у 3 (2,7 %) русских женщин с плоскоклеточным РШМ. Эта замена приходится на 14-й экзон гена *MET*, а изменения в нем и амплификация гена *MET* играют решающую роль в возникновении рака [19]. Несмотря на то что данные ClinVar указывают на доброкачественный характер замены, а предсказательные программы противоречивы, поскольку частота этого варианта в когорте пациенток с РШМ достаточно высока (0,014) и отличается от таковой в базах данных (0,005), мы проанализировали его ассоциацию с предрасположенностью к РШМ с использованием расширенной группы контроля. Выявлены статистически значимые различия в распространенности аллеля Т ($p = 0,002$; $\chi^2 = 9,8$) между группами сравнения, что позволяет сделать вывод о значимости данного варианта в развитии РШМ (табл. 6).

ОБСУЖДЕНИЕ

В последнее время проведен ряд исследований, направленных на поиск герминальных замен у пациентов с РШМ для определения генов предрасположенности к заболеванию и их влияния на течение заболевания [20–22], однако их результаты пока незначительны. Популярными сегодня исследования с использованием NGS-технологий открывают возможности для получения большого массива данных, которые, однако, сложно интерпретировать. В данной работе на примере генов *MTHFR*, *MET* и *CHEK2* мы рассмотрели различные алгоритмы анализа влияния однонуклеотидных замен на структуру белка и развитие заболевания. Однако наше исследование имеет ряд ограничений, которые следует учитывать при интерпретации результатов. Прежде всего из-за относительно малого размера выборки (108 пациенток с РШМ и 51 женщина с элиминацией ВПЧ) статистическая мощность исследования невелика, что может негативно влиять на обобщаемость результатов. Отсутствие данных о конкретных

типах ВПЧ с учетом их различного онкогенного потенциала также ограничивает глубину анализа механизмов развития РШМ. Кроме того, учет только спонтанной элиминации ВПЧ, без хирургических вмешательств, оставляет вопрос о факторах, способствующих возникновению РШМ, таких как иммунный статус, без ответа. Такие ограничения подчеркивают необходимость дальнейших исследований для подтверждения и уточнения наших выводов.

Согласно результатам нашей работы полиморфные варианты с.677C>Т и с.1298A>С гена *MTHFR*, выявленные в результате NGS-анализа с использованием кастомной панели, не ассоциированы с риском развития РШМ.

Анализ герминальных однонуклеотидных замен в гене *CHEK2* с неоднозначным эффектом, обнаруженных у пациенток с РШМ, показал, что замена p.(Cys324Trp) (с.972G>C, rs1060502712, chr22: 29095862) гена *CHEK2* является вероятно патогенной и демонстрирует ассоциацию аллеля С с риском развития РМШ ($p = 0,05$), несмотря на то что он встречается редко. При этом на основе данных ClinVar две группы исследователей (Labcorp Genetics, США и Color Diagnostics, LLC DBA Color Health, США) пришли к выводу, что имеющих в настоящее время сведений для определения роли этого варианта в развитии онкологических заболеваний недостаточно. С помощью DynaMut2 выявлено, что замена p.(Asp438Tyr) гена *CHEK2* (с.1312C>A, rs200050883, chr22: 29091178) имеет дестабилизирующий эффект, а это предполагает ее патогенность. Однако согласно базе данных структур белков AlphaFold замена аспарагиновой кислоты в 438-м положении белка «дикого типа» *CHEK2* имеет неопределенную значимость (средний показатель патогенности AlphaMissense — 0,409). К тому же эта замена не влияет на повышение риска развития рака молочной железы и поэтому вероятно доброкачественна [23], однако ее ассоциацию с возникновением других злокачественных опухолей еще предстоит определить.

Таблица 5. Варианты гена MET у женщин с раком шейки матки, проживающих на территории Республики Башкортостан
Table 5. MET gene variants in women with cervical cancer living in the Republic of Bashkortostan

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Вариант (геномная сборка человека GRCh37) Variant (human genome build GRCh37)	Частота замены в выборке больных (РШМ) Substitution frequency in the patient cohort (cervical cancer)	Частота по базе данных GnomAD Frequency per the GnomAD database	Патоген- ность по базе ClinVar Pathogenicity per the ClinVar database	Локализация в белке Location in the protein	Используемые предикторные программы Used prediction software	Патогенность с точки зрения замены аминокислоты в белке Pathogenicity in the context of amino acid substitution in a protein per the AlphaFold database	Стабильность и гибкость белка после замены аминокислоты согласно программе DunaMut2, ккал/моль ($\Delta\Delta G_{stability}$) Protein stability and flexibility after amino acid substitution per DunaMut2 software, kcal/mol ($\Delta\Delta G_{stability}$)	Результат Result
c.2962C>T, p.(Arg988Cys), rs34589476, chr7: 116411923	3 (0,014)	0,005	B, LB	Юкстамембран- ный домен Juxtamembrane domain	SIFT-P, PolyPhen, MetaLR, CADD, MutationAssessor – B	0,229 (LB)	–0,12 (LP)	LP (согласно данным ассоциативного анализа ($p = 0,001$) и DunaMut2) LP (per association analysis data ($p = 0,001$) and DunaMut2)
c.2975C>T, p.(Thr1010Ile), rs56391007, chr7: 116411990	3 (0,014)	0,012	VUS, B	Юкстамембран- ный домен Juxtamembrane domain	SIFT, PolyPhen – P; MutationAssessor – LP; CADD, MetaLR – B	0,532 (VUS)	–0,57 (LP)	LP (согласно общим критериям) LP (per general criteria)
c.818C>A, p.(Thr273Asn), rs368144654, chr7: 116339956	1 (0,005)	0,0004	VUS, LB	Консервативный домен Sema, участвующий в стабилизации структуры белка Conservative domain Sema stabilizing protein structure	PolyPhen – LP; SIFT, MetaLR, CADD, MutationAssessor – B	0,173 (LB)	–0,82 (LP)	VUS (данные противоречивы) VUS (contradictory data)

Окончание табл. 5
End of table 5

1	2	3	4	5	6	7	8	9
c.406G>A, p.(Val136Ile), rs199701987, chr7: 116339544	1 (0,005)	0,0003	VUS, B, LB	Консервативный домен Sema, участвующий в стабилизации структуры белка Conservative domain Sema stabilizing protein structure	SIFT, PolyPhen, MetaLR, CADD, MutationAssessor – B	0,331 (LB)	–0,1 (LP)	VUS (данные противоречивы) VUS (contradictory data)
c.1063G>A, p.(Glu355Lys), rs561295443, chr7: 116340201.	1 (0,005)	0,00004	VUS, LB	Консервативный домен Sema, участвующий в стабилизации структуры белка Conservative domain Sema stabilizing protein structure	PolyPhen – P; SIFT, MetaLR, CADD, MutationAssessor – B	0,293 (LB)	0,34 (LB)	LB (согласно нескольким критериям) LB (per several criteria)
c.3895G>C, p.(Gly1299Arg), rs2117108658, chr7: 116435805	1 (0,005)	6,195e-7	Не описана Not described	Helix-структура белка Protein helix structure	SIFT, PolyPhen, MetaLR – P; MutationAssessor – LP; CADD – B	0,994 (LP)	–0,85 (LP)	LP (согласно нескольким критериям) LP (per several criteria)
c.4142C>T, p.(Thr1381Ile), rs2117113682, chr7: 116436147	1 (0,005)	0,000002	VUS	Регион взаимодействия с RANBP9 Region of interaction with RANBP9	SIFT – VUS; PolyPhen, MetaLR– P; CADD, MutationAssessor – B	0,107 (LB)	–0,25 (LP)	VUS (данные противоречивы) VUS (contradictory data)
c.979G>A, p.(Ala327Thr), rs2116602432, chr7: 116340117	1 (0,005)	Не описана	Не описана Not described	Helix-структура белка Protein helix structure	MutationAssessor – VUS; SIFT, PolyPhen, CADD, MetaLR – B	0,179 (LB)	–0,27 (LP)	VUS (данные противоречивы) VUS (contradictory data)
c.979G>C, p.(Ala327Pro), rs2116602432, chr7: 116340117	1 (0,005)	Не описана	Не описана Not described	Helix-структура белка Protein helix structure	PolyPhen – P; SIFT, CADD, MetaLR, MutationAssessor – B	0,179 (LB)	0,09 (LB)	LB (согласно нескольким критериям) LB (per several criteria)
c.2302A>T, p.(Asn786Tyr), rs45516592, chr7: 116399482	1 (0,005)	Не описана	Не описана Not described	IPT/TIG-домен IPT/TIG domain	SIFT – P; PolyPhen, CADD, MetaLR – B; MutationAssessor – LP	0,267 (LB)	–0,06 (LP)	VUS (данные противоречивы) VUS (contradictory data)

Таблица 6. Результаты сравнительного анализа распределения частот аллелей и генотипов локуса rs34589476 гена *MET* ($n = 492$)**Table 6.** Results of comparative analysis of frequency distribution of alleles and genotypes of rs34589476 locus of the *MET* gene ($n = 492$)

Группа Group	Частота вероятно рискового аллеля T Frequency of likely risky allele T	Значения показателей с использованием поправки Холдейна—Энскомба Parameter values with Haldane— Anscombe correction	Число (частота) генотипов, абс. Number (frequency) of genotypes, abs.		
			ТТ	ТС	СС
Рак шейки матки ($n = 108$) Cervical cancer ($n = 108$)	0,0139	χ^2 -критерий = 9,8; $p = 0,002$; ОШ 10,76 (95 % ДИ 1,69 – 68,73)	0 (0)	3 (0,028)	105 (0,972)
Контроль ($n = 384$) Control ($n = 384$)	0	χ^2 -test = 9,8; $p = 0,002$; OR 10.76 (95 % CI 1.69 – 68.73)	0 (0)	0 (0)	384 (1,0)

В гене *MET* определены 3 замены, обладающие патогенным потенциалом. Вариант p.(Gly1299Arg) (с.3895G>C, rs2117108658, chr7: 116435805) не описан в ClinVa и встречается крайне редко (6,195e-7), но согласно предсказательным компьютерным программам является патогенным. Среди редких замен наиболее часто наблюдаются замены p.(Thr1010Ile) (с.2975C>T, rs56391007, chr7: 116411990) и p.(Arg988Cys) (2962C>T, rs34589476, chr7: 116411923) в гене *MET* (по 3 случая). Суммарная частота их встречаемости достигает 5,5 %. У 5 из 6 женщин был плоскоклеточный РШМ, у 1 — аденосквамозная карцинома. При этом у носителей замены p.(Arg988Cys) заболевание протекает менее агрессивно. Такие пациентки достигли 3-летней выживаемости и находятся до сих пор под наблюдением. Выживаемость же носителей варианта p.(Thr1010Ile) составила от 8 до 24 мес.

Согласно данным Д.В. Тайнер и соавт., варианты R970C и T992I гена *MET*, также обозначаемые как R988C и T1010I, могут быть факторами предрасположенности к раку при их сочетании с онкогеном, который управляет клеточной пролиферацией, но не влияют напрямую на онкотрансформацию [24]. Таким образом, с учетом патогенеза РШМ эти замены могут быть заменами предрасположенности к РШМ и усиливать онкогенный эффект ВПЧ. Ранее сообщалось, что герминальный вариант T1010I гена *MET*, который встречается менее чем у <1 % людей в популяции, наблюдался у 2 % пациентов с метастатическим раком молочной железы в иммортализованной линии эпителиальных клеток молочной железы MCF-10A, что вызвало выраженные функциональные последствия, включая повышенное образование колоний, миграцию опухолевых клеток и инвазию *in vitro* [25]. Вариант с.2962C>T (R988C) в гене *MET* был обнаружен в клетках плоскоклеточной карциномы легкого [26] и у пациентов с лимфопрлиферативными заболеваниями [27]. Функциональные исследования этого варианта про-

демонстрировали, что замена R988C при введении в зависимую от интерлейкина-3 (IL-3) клеточную линию мелкоклеточного рака легкого регулировала пролиферацию клеток, что приводило к небольшой, но значимой независимости от факторов роста [28]. Кроме этого, показано, что мутация R988C усиливает онкогенез, а именно придает *in vitro* повышенную туморогенность, а также восприимчивость к опухолям легкого у мышей. Это указывает на то, что R988C является мутацией с усилением функции белка [27]. Кроме того, эффект замен с.2962C>T и с.2975C>T приходится на юкстамембранный домен *MET*, который регулирует лигандзависимую интернализацию белка MET как следствие фосфорилирования Y1003 в ответ на связывание фактора роста гепатоцитов (HGF), что приводит к убиквитинированию и деградации MET. Предполагается, что мутации в юкстамембранном домене приводят к накоплению MET на поверхности клетки и постоянной сигнализации, ведущей к опухолеобразующей активности [29]. Для варианта с.2962C>T мы выявили ассоциацию аллеля T с риском развития РШМ ($p = 0,002$; $\chi^2 = 9,8$). Таким образом, варианты с.2975C>T и 2962C>T в гене *MET*, по нашему мнению, нуждаются в дальнейшем исследовании для подтверждения их значимости в предрасположенности к РШМ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение влияния герминальных вариантов нуклеотидных замен с использованием различных биоинформатических инструментов является одним из основных путей изучения патогенеза РШМ. В лечении и профилактике онкологических заболеваний необходимо применять индивидуальный подход, а дальнейшее исследование молекулярно-генетических механизмов развития рака, в том числе РШМ, служит необходимым условием для разработки персонализированных подходов к профилактике и терапии злокачественных новообразований.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- World Health Organization. Human papillomavirus and cancer Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/human-papilloma-virus-and-cancer>.
- Беглярзаде С.А., Мухаметова Р.Р., Жао Б. Перспективы комплексного скрининга и терапии рака шейки матки. Креативная хирургия и онкология 2024;14(1):60–8. DOI: 10.24060/2076-3093-2024-14-1-60-68
- Beglyarzade S.A., Mukhametova R.R., Zhao B. Prospects for comprehensive screening and treatment of cervical cancer. *Kreativnaya hirurgiya i onkologiya = Creative Surgery and Oncology* 2024;14(1):60–8. (In Russ.). DOI: 10.24060/2076-3093-2024-14-1-60-68
- Okunade K.S. Human papillomavirus and cervical cancer. *J Obstet Gynaecol* 2020;40(5):602–8. DOI: 10.1080/01443615.2019.1634030
- Бриль Ю.А., Раевская О.А. «Бозоны Хиггса» цервикальной неоплазии. Гинекология, акушерство, бесплодный брак 2019; 3:74–81. Bril Yu.A., Raevskaya O.A. “Higgs bosons” of cervical neoplasia. *Ginekologiya, akusherstvo, besplodnyi brak = Gynecology, Obstetrics, Infertility marriage* 2019;3:74–81. (In Russ.).
- Ленкова К.В., Хусайнова Р.И., Миннихметов И.Р. Молекулярно-генетические основы рака шейки матки. Молекулярная медицина 2023;4:25–33. DOI: 10.29296/24999490-2023-04-04
- Lenkova K.V., Khusainova R.I., Minniakhmetov I.R. Molecular and genetic bases of cervical cancer. *Molekulyarnaya meditsina = Molecular Medicine* 2023;4:25–33. (In Russ.). DOI: 10.29296/24999490-2023-04-04
- Chanock S.J. How the germline informs the somatic landscape. *Nat Genet* 2021;53(11):1523–5. DOI: 10.1038/s41588-021-00960-6
- Srinivasan P., Bandalamudi C., Jonsson P. et al. The context-specific role of germline pathogenicity in tumorigenesis. *Nat Genet* 2021;53(11):1577–85. DOI: 10.1038/s41588-021-00949-1
- Hajiesmaeil M., Tafvizi F., Sarmadi S. The effect of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms on susceptibility to human papilloma virus infection and cervical cancer. *Infect Genet Evol* 2016;46:1–6. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.10.012
- Yi K., Yang L., Lan Z. et al. The association between MTHFR polymorphisms and cervical cancer risk: a system review and meta analysis. *Arch Gynecol Obstet* 2016;294(3):579–88. DOI: 10.1007/s00404-016-4037-6
- Wang Z., Li K., Ouyang L. et al. Effects of methylenetetrahydrofolate reductase single-nucleotide polymorphisms on breast, cervical, ovarian, and endometrial cancer susceptibilities. *Chronic Dis Transl Med* 2021;12(7):169–81. DOI: 10.1016/j.cdtm.2021.06.003
- Stolarova L., Kleiblova P., Janatova M. et al. CHEK2 germline variants in cancer predisposition: stalemate rather than checkmate. *Cells* 2020;12(9):2675. DOI: 10.3390/cells9122675
- Yang X., Liao H.Y., Zhang H.H. Roles of MET in human cancer. *Clin Chim Acta* 2022;15:525:69–83. DOI: 10.1016/j.cca.2021.12.017
- Миннихметов И.Р., Забелин М.В., Ольков И.Г. Пилотный проект по скринингу рака шейки матки с применением ВПЧ-тестирования. Вопросы онкологии 2020;66(6):618–24. DOI: 10.37469/0507-3758-2020-66-6-618-624
- Minniakhmetov I.R., Zabelin M.V., Olkov I.G. A pilot project for cervical cancer screening using HPV testing. *Voprosy onkologii - Oncology Issues* 2020;66(6):618–24. (In Russ.). DOI: 10.37469/0507-3758-2020-66-6-618-624
- Richards S., Aziz N., Bale S. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17(5):405–24. DOI: 10.1038/gim.2015.30
- Abou Tayoun A.N., Pesaran T., DiStefano M.T. et al. Recommendations for interpreting the loss of function PVS1 ACMG/AMP variant criterion. *Hum Mutat* 2018;39(11):1517–24. DOI: 10.1002/humu.23626
- Brnich S.E., Abou Tayoun A.N., Couch F.J. et al. Recommendations for application of the functional evidence PS3/BS3 criterion using the ACMG/AMP sequence variant interpretation framework. *Genome Med* 2019;12:3. DOI: 10.1186/s13073-019-0690-2
- Rodrigues C.H.M., Pires D.E.V., Ascher D.B. DynaMut2: assessing changes in stability and flexibility upon single and multiple point missense mutations. *Protein Sci* 2021;30(1):60–9. DOI: 10.1002/pro.3942
- Fleiss J.L., Levin B., Paik M.C. Statistical methods for rates and proportions 3rd edn. Hoboken, New Jersey John Wiley and Sons, Inc., 2003. 200 p.
- Mo H.N., Liu P. Targeting *MET* in cancer therapy. *Chronic Dis Transl Med* 2017;19;3(3):148–53. DOI: 10.1016/j.cdtm.2017.06.002
- Qiu L., Feng H., Yu H. et al. Characterization of the genomic landscape in cervical cancer by next generation sequencing. *Genes (Basel)* 2022;13(2):287. DOI: 10.3390/genes13020287
- Wen H., Xu Q., Sheng X. et al. Prevalence and landscape of pathogenic or likely pathogenic germline variants and their association with somatic phenotype in unselected chinese patients with gynecologic cancers. *JAMA Netw Open* 2023;3;6(7):e2326437. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2023.26437
- Lenkova K., Khusainova R., Minyazeva R. et al. Germline variants in proto-oncogenes and tumor suppressor genes in women with cervical cancer. *Biomedicines* 2024;12(11):2454. DOI: 10.3390/biomedicines12112454
- Kumpula T.A., Koivuluoma S., Soikkonen L. et al. Evaluating the role of CHEK2 p.(Asp438Tyr) allele in inherited breast cancer predisposition. *Fam Cancer* 2023;22(3):291–4. DOI: 10.1007/s10689-023-00327-2
- Tyner J.W., Fletcher L.B., Wang E.Q. et al. MET receptor sequence variants R970C and T992I lack transforming capacity. *Cancer Res* 2010;1;70(15):6233–7. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0429
- Agarwal D., Hatzis C., Pusztai L. Functional polymorphisms in cancer. *Oncoscience* 2015;20;2(2):73–4. DOI: 10.18632/oncoscience.129
- Guyard A., Danel C., Théou-Anton N. et al. Morphologic and molecular study of lung cancers associated with idiopathic pulmonary fibrosis and other pulmonary fibroses. *Respir Res* 2017;15;18(1):120. DOI: 10.1186/s12931-017-0605-y
- MTjin E.P., Groen R.W., Vogelzang I. et al. Functional analysis of HGF/MET signaling and aberrant HGF-activator expression in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2006;15;107(2):760–8. DOI: 10.1182/blood-2005-05-1929
- Ma P.C., Kijima T., Maulik G. et al. c-MET mutational analysis in small cell lung cancer: novel juxtamembrane domain mutations regulating cytoskeletal functions. *Cancer Res* 2003;1;63(19):6272–81.
- Liu S., Meric-Bernstam F., Parinyanitkul N. et al. Functional consequence of the MET-T1010I polymorphism in breast cancer. *Oncotarget* 2015;20;6(5):2604–14. DOI: 10.18632/oncotarget.3094

Вклад авторов

К.В. Ленкова, Р.М. Минязева, В.Л. Ахметова, И.Р. Гилязова: проведение исследований;
Р.И. Хусаинова, И.Р. Миннихметов: разработка дизайна исследования, написание текста статьи.

Authors' contributions

K.V. Lenkova, R.M. Minzyaeva, V.L. Akhmetova, I.R. Gilyazova: conducting the research;
R.I. Khusainova, I.R. Minniakhmetov: developing the research design, article writing.

ORCID авторов / ORCID of authors

К.В. Ленкова / K.V. Lenkova: <https://orcid.org/0000-0001-5903-0085>
Р.М. Минязева / R.M. Minzyaeva: <https://orcid.org/0000-0001-5542-9531>
В.Л. Ахметова / V.L. Akhmetova: <https://orcid.org/0000-0002-1874-0774>
И.Р. Гилязова / I.R. Gilyazova: <https://orcid.org/0000-0001-9499-5632>
Р.И. Хусаинова / R.I. Khusainova: <https://orcid.org/0000-0002-8643-850X>
И.Р. Миннихметов / I.R. Minniakhmetov: <https://orcid.org/0000-0002-7045-8215>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Статья подготовлена без спонсорской поддержки.

Funding. The article was prepared without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике Института биохимии и генетики ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук» (протокол № 19 от 25.11.2021).

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

The study protocol was approved by the biomedical ethics of the Institute of Biochemistry and Genetics of the of Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences (protocol No. 19 dated 25.11.2021).

The patients gave written informed consent to participate in the study.